

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



Diplomová práce

Tlumení muelleriózy kozy domácí

Radomír Vaněk

Vedoucí práce: doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Tlumení muelleriózy kozy domácí.“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu použitých zdrojů na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Jaroslavu Vadlejchovi, Ph.D. za jeho vstřícný přístup, odborný dohled, čas a cenné rady, které mi ochotně poskytl při zpracování této diplomové práce.

Souhrn

Plicnivky jsou parazitičtí helminti patřící do skupiny Nematoda (hlístice), pro něž je typické, že se dospělí jedinci těchto hlístic vyskytují v průdušnicích, průdušinkách v samotných plicních sklípcích a v plicních cévách. Plicnivky mají protáhlé, oblé tělo, nitkovitého nebo větvenovitého tvaru. Jsou odděleného pohlaví a vývoj probíhá buď nepřímo přes mezihostitele, nebo přímo. Mezihostitelé jsou převážně suchozemští nebo vodní plži, žížaly, nebo i jiní bezobratlí. Do organismu hospodářských zvířat se larvy dostávají pozřením a to převážně z infikované pastvy. Larvy se dostávají do střeva, odkud jsou pomocí krve přeneseny do plic, kde dospívají a rozmnožují se. Vajíčka jsou vykašlávána a opětovně polknuta a spolu s výkaly se dostávají do vnějšího prostředí. Infikovaní jedinci, ztrácejí na váze, snižuje se mléčná produkce. I když toto onemocnění není ve většině případech smrtelné, tak i přesto způsobuje chovatelům velké ekonomické ztráty.

Cílem diplomové práce bylo ověřování účinku dvou anthelmintik s odlišnou účinnou látkou na průběh infekce plicnivkami u kozy domácí. Skupině koz, u kterých byla koprologickým vyšetřením prokázána přítomnost plicnivek *Muellerius capillaris*, byla postupně aplikována dvě anthelmintika s odlišnou účinnou látkou – benzimidazoly (BZ) a milbemyciny, které patří mezi makrocyclické lakotny (ML). Fenbendazol (BZ) (Panacur 2.5% susp.) v dávce 30 mg na kg živé hmotnosti, byl v potlačení infekce účinný. Průměrná hodnota redukce počtu larev (Faecal larval count reduction – FLCR) 7. den po aplikaci léčiva dosahovala 98,8 %. Tento terapeutický efekt byl však krátkodobý a 1 měsíc po aplikaci fenbendazolu počet larev ve výkalech (LPG) dokonce přesáhl hodnoty intenzity infekce před léčbou. Tento výsledek se opakoval i 60. den po aplikaci léčiva. Moxidectin (ML) (Cydectin LA, 2% inj.) v dávce 1 mg na kg živé hmotnosti, byl účinnější než fenbendazol (průměrný FLCR 14. den po aplikaci 99%), protože účinnost makrocyclických laktonů je z důvodu jejich lipofility hodnocen až 14. den po aplikaci léčiva. Moxidectin ale vykazoval i mnohem delší perzistentní účinek (FLCR 99 % 63. den po aplikaci). Tento příznivý výsledek je dán tím, že se moxidectin ukládá do tukové tkáně, odkud je postupně uvolňován. To má mimo jiné za následek delší ochranné lhůty pro maso a mléko. U moxidectinu není známá studie u koz, proto se vzorky testovaly v častějších intervalech. Ze srovnání účinnosti dvou anthelmintik vyplývá, že moxidectin je pro potlačení muelleriózy mnohem vhodnější. Při jeho použití u zvířat, jejichž produkty jsou určeny pro lidský konzum, je však potřeba počítat s odpovídajícími ochrannými lhůtami pro mléko, či maso.

Klíčová slova: plicnivky, moxidectin, fenbendazol, účinnost, dávka

Summary

Lungworms are parasitic helminths belonging to the Nematode (nematodes), for which it is typical that the adults of nematodes occur in the trachea, bronchioles, alveoli in themselves and in the pulmonary vasculature. Lungworms have elongated, round body, filiform or spindle-shaped. They are a separated gender and development takes place either indirectly through an intermediate host, or directly. Intermediate hosts are mainly terrestrial or aquatic snails, worms, or other invertebrates. To the organism of livestock ingesting the larvae come mostly from infected pasture. Larvae get into the intestine, where they are transferred into the lungs through the blood, where they get mature and reproduce. Eggs are expectorant and re-swallowed along with feces get into the external environment. Infected individuals lose weight, reduced milk production. Although this disease is not fatal in most cases, and yet causes great economic losses to farmers.

The aim of this thesis was the verification of the effect of two anthelmintics with different drugs on the course of infection in a goat Lungworms home. A group of goats that have been through feces examination showed the presence of lungworms *Muellerius capillaris*, Two anthelmintics were gradually applied with different active ingredient - benzimidazoles (BZ) and milbemycins, which are among the macrocyclic esurient (ML). Fenbendazole (BZ) (Panacur 2.5% susp.) At a dose of 30 mg per kg body weight was effective in suppressing the infection. The average reduction in the number of larvae (Faecal larval count reduction - FLCR) 7 days after the drug reached 98.8%. This therapeutic effect, however, was short and one month after administration of fenbendazole number of larvae in the feces (LPG) even exceeded the value of the intensity of infection before treatment. This result was repeated on the 60th day after the drug treatment.

Moxidectin (ML) (LA Cydectin, 2% inj.) At a dose of 1 mg per kg of body weight was more effective than fenbendazole (average FLCR 14th day after application, 99%), as the efficacy of the macrocyclic lactones, due to their lipophilicity rated to 14th day after drug application. But Moxidectin showed much longer persistent effect (99% FLCR 63rd day after application). This favorable result is due to the fact that moxidectin stored in fat tissue, where it is gradually released. Among some other results it has a longer withdrawal period for meat and milk. There is not a known study of moxidectin in goats, therefore the samples tested at more frequent intervals. A comparison of the efficacy of two anthelmintics suggests that moxidectin is more appropriate for suppression of muellerioze. While its used in animals whose

products are intended for human consumption it is needed to count with corresponding withdrawal periods for milk or meat.

Key words: Lungworms, moxidectin, fenbendazole, efficacy, dose.

Obsah

1. Úvod	1
2. Cíl práce:	2
3. Literární rešerše:	3
3.1. Morfologie plicnivek.....	4
3.1.1 Velké plicnivky	6
3.1.1.1. <i>Dictyocaulus filaria</i>	7
3.1.2. Malé plicnivky	8
3.1.2.1. <i>Muellerius capillaris</i>	9
3.1.2.2 <i>Protostrongylus rufescens</i>	11
3.1.2.3 <i>Cystocaulus ocreatus</i>	12
3.1.2.4 <i>Neostrogylus linearis</i>	13
3.2 Projevy onemocnění u zvířat.....	13
3.3 Epizootologie plicnivek	15
3.4 Diagnostika	17
3.4.1 Diagnostické metody.....	18
3.5 Mikroskopie	18
3.6 Léčba.....	19
3.6.1 <i>Dictyocaulus filaria</i>	19
3.6.2 <i>Muellerius capillaris</i>	21
3.7 Patologie.....	22
3.8 Prevence onemocnění.....	23
4. Materiál a metodika.....	25
4.1 Lokalita a hostitel.....	25
4.2 Parazitologické procedury.....	25
4.3 Hodnocení účinnosti léčiv	25
4.4 Patologické procedury	26
5. Výsledky	26
5.1 Fenbendazol	27
5.2 Moxidectin	29
5.3. Patologie.....	31
5.3.1 Histologie plic	31
5.3.2 Patologie plic.....	32

6. Diskuse.....	33
7. Závěr	37
8. Použitá literatura	38
9. Příloha	47

1. Úvod

Onemocnění způsobené parazity patří mezi závažná onemocnění nejen u hospodářských zvířat a vyskytují se po celém světě. Parazitují u zvířat po dobu jejich fylogenetického vývoje, jak dokazují paleoparazitické preparáty z nejrůznějších vývojových období.

U plicních hlístic (tzv. plicnivek) je hlavní pozornost věnována hospodářským zvířatům. Jedním ze zdrojů nákazy u hospodářských zvířat jsou volně žijící zvířata, která využívají jejich pastvu. Mezi rizikové oblasti patří pastva, která může být infikována buď divokými zvířaty, nebo nakaženými hospodářskými zvířaty. K nákaze plicnivkami dochází perorální cestou. Po požití se larvy prvního vývojového stádia dostanou do střeva a pomocí krve, nebo lymfy procházejí přes játra do plic, kde dospívají a množí se, larvy jsou následně vykašlávány a pak polknuty a pomocí výkalů se dostávají zpět do vnějšího prostředí. Vývoj probíhá buď přímo bez mezihostitele (velké plicnivky), nebo nepřímo přes mezihostitele (malé plicnivky). Mezihostiteli bývají různé druhy měkkýšů. Vývojová stádia velkých plicnivek jsou velmi odolná vůči nepříznivým podmínkám vnějšího prostředí, délka přežívání larev závisí na druhu hlístice. K přežívání plicnivek také napomáhá i mírné klima v České republice, kde larvální stádia dobře přežívají mírnou a vlhkou zimu.

2. Cíl práce:

Cílem této diplomové práce je ověření účinku dvou anthelmintik s odlišnou účinnou látkou (benzimidazoly a milbemyliny) na průběh infekce plicnivkami (*Muellerius capillaris*) u kozy domácí.

Vědecká hypotéza: milbemyliny mají vyšší účinnost při kontrole plicnivek koz, než benzimidazoly

3. Literární rešerše:

Plicnivky jsou parazitičtí helminti patřící do skupiny Nematoda (hlístice), pro něž je typické, že se dospělí jedinci těchto hlístic vyskytují v průdušnicích, průdušinkách, v samotných plicních sklípcích a v plicních cévách (Panuska,2006).

Jedná se o velmi početnou biologicky a morfologicky různorodou skupinu helmintů, kteří mají protáhlé oblé tělo, nitkovitého nebo větvenovitého tvaru. Jsou odděleného pohlaví a vývoj probíhá buď nepřímo přes meziphostitele (biohelminté) nebo přímo (geohelminté). Meziphostitelé jsou převážně suchozemští nebo vodní plži, žížaly, nebo i jiní bezobratlí. Plicnivky mají malou ústní kapsulu, samci mají vyvinuté párové spikuly i kopulační burzu. Nejvýznamnější jsou zástupci těchto čeledí: Dictyocaulidae, Protostrongylidae, Metastrongylidae, Angiostrongylidae, Crenosomatidae, Filaroididae (Panuska,2006).

Vajíčka nebo larvy se dostávají do průdušnic a jsou s hlenem vykašlávány z plic. Následně jsou polknuty a procházejí celým trávicím traktem a s výkaly se dostanou do vnějšího prostředí. Geohelminté se v prostředí několikrát svlékají a po té dostávají na traviny, ze kterých jsou pozřeny definitivním hostitelem. Biohelminté vyhledávají vhodného meziphostitele, například suchozemské nebo vodní plže a žížaly. V nich larvy prodělávají další vývoj a několikrát se svlékají. Definitivní hostitel se nakazí pozřením těchto meziphostitelů většinou během pastvy. Jakmile se larva dostane do střeva, proniká skrze střevní stěnu do mizních uzlin, odtud do mizního řečiště a následně do krevního oběhu. Krví jsou zaneseny do plic, kde pohlavně dospívají a migrují podle druhů do plicních sklípků, průdušnice nebo průdušinek. Zde kopulují a produkují vajíčka nebo rovnou larvy, které jsou vykašlávány, následně polknuty a celý cyklus se znova opakuje (Coles,2001).

3.1. Morfologie plicnivek

Tělo plicnivek bývá válcovité, protáhlé a na průřezu je kruhové (Taylor et al., 2007). Na povrchu těla se nachází několikvrstevná kutikula, která má velmi složitou strukturu. Syntáza této kutikuly probíhá v buňkách hypodermis. Tyto buňky tvoří tenkou vrstvu mezi kutikulou a svalovinou (Miller et al., 1996, Zajac et al., 2006). Spodní podkožní vrstva zasahuje do dutiny tělní a tvoří dva laterální vazy. Tyto vazy tvoří dorzální a ventrální kanál nesoucí nervy a vylučovací kanál. Uvnitř tělní dutiny je množství tekutiny, které se podílí na povrchovém napětí, dále má vliv na skladování živin a jejím rozvodu. V dutině tělní je také zavěšena převážná část vláknitých vnitřních orgánů (Taylor et al., 2007). Miller et al., (1996) upozorňují na přítomnost fagocytů a coelomonocytů, podílejících se s největší pravděpodobností na exkreční a obranné funkci.

U čeledi Dictyocaulidae se délka dospělců pohybuje od 4 do 10 centimetrů (Taylor et al., 2007). Schmidt et al., (2009) uvádějí, že u druhu *Dictyocaulus filaria* je velikost samců 80 milimetrů a pokud se jedná o samice, tak 100 milimetrů. Zajac et al., (2006) uvádějí délku těla u samců 4 až 5,5 centimetrů a samic 6 až 8 centimetrů.

U druhu *Muellerius capillaris* z čeledi Protostrongylidae mají dospělci délku asi 10 až 30 milimetrů a mají štíhlé tělo, které se na konci zužuje. U samců je délka těla od 12 do 24 milimetrů a u samic 18 až 30 milimetrů. Jedinci z této čeledi bývají označováni jako malé plicnivky, zatím co u větší druhy z čeledi Dictyocaulidae jsou označovány jako plicnivky velké (Taylor et al., 2007).

Co se svalové soustavy týká, tu mají plicnivky složenou z podélných svalů a je poměrně jednoduchá. Tyto svaly tvoří svalové svazky, které jsou uloženy v kvadrantech mezi výběžky hypodermis (Jurášek et al., 1993). Dále se zde nachází specifické svalové buňky asociované s pohlavní soustavou a trávicím traktem (Taylor et al., 2007).

Trávicí soustava u těchto parazitů je poměrně dobře vyvinutá, ale část živin může být přijímána i difúzí, tedy celým povrchem těla. Plicnivky mají ústní dutinu, za kterou se nachází hltan, ústící do tenkého střeva. Hltan zajišťuje příjem potravy a funguje jako takzvaná pumpa. Skládá se ze svalnaté a žláznaté části. Plicnivky mají rourovitě stočené střevo a lumen obsahuje mikrokoky, které zvětšují absorpční kapacitu buněk. Ve střevních buňkách jsou chromatinová granula (Taylor et al., 2007). Co se týká vylučování, je u samic střevo vyústěno análním

otvorem, ale u samců je společný vývod s pohlavní soustavou do kloaky, kde se otvírá ejakulační kanálek (Zajac et al., 2006, Schmid et al., 2009).

Vylučovací systém háďat (Chromadorea) se skládá ze dvou laterálních kanálků, který se v přední části spojuje exkrecním sinem, kde většinou ústí dvě žlázoové buňky (Taylor et al., 2007). Příčný kanál, který spojuje oba laterální kanálky, se otevírá do prostředí pomocí středního ventrálního kanálku a vylučovacích pórů. Tento pór má konstantní umístění v rámci druhu, proto je vhodný pro taxonomické určování druhů (Schmidt et al., 2009).

Nervová soustava je tvořena obhltanovým prstencem, z něj vybíhají nervové větve, které jsou asociovány s hlavovými chemosenzorickými a mechanosenzorickými papilami. Senzorické papily se vyskytují v zadní části těla u samců v oblasti pohlavních orgánů. U zástupců třídy Chromadorea jsou přítomny postnatální papily takzvané fazmidy (Zajac et al., 2006). V některých tělních částech se nacházejí i periferní ganglia (Taylor et al., 2007).

Plicivky jsou odděleného pohlaví (Taylor et al., 2007). Samci mají semenný váček, trubicovité varle a chámovod, kde ústí přídatné ejakulační žlázy. Varle má tři zóny a to zárodečnou, růstovou a skladovací (Schmidt et al., 2009). Kopulační orgán je složen ze spikulárního váčku, gubernakula, spikul a telamonu, který orientuje spikuly správným směrem. Přídatné samčí orgány se využívají k identifikaci druhů. Rozmnožování se děje tak, že se spikula zasunuje do pochvy samic a gubernakulum napomáhá ameboidním spermii se dostat do dělohy samice. Gubernakulum tvoří takzvané drážky, ve kterých se spikuly pohybují (Jurášek et al., 1993). U čeledi Protostrongylidae a druhu *Muellerius capillaris* bývá zadní konec dospělého samce spirálovitě stočený (Panuska, 2006), kde kopulační burza je malá a složená dovnitř (Taylor et al., 2007). U zástupců čeledi Dictyocaulidae je burza malá a symetrická (Schmid et al., 2009).

Samičí pohlavní soustava se skládá z vaječníků, vejcovodu, trubicovité dělohy a vaginy. Z vaječníků se dostávají vajíčka do dělohy, kde se začnou utvářet vnější vícevrstevné obaly (Taylor et al., 2007). K oplození vajíček dochází ve vejcovodu (Taylor et al., 2007, Zajac et al., 2006).

3.1.1 Velké plicnivky

Velké plicní hlístice patří mezi závažné původce onemocnění u přežvýkavců. V našich podmínkách, to znamená podmínkách mírného pásma, závažně ovlivňují zdravotní stav a tudíž i ekonomické výsledky hospodářských zvířat. Z těchto důvodů se na našem území začala parazitóza léčit již od 70. let minulého století (Chroust et al., 2005). Velké plicnivky jsou celosvětově rozšířené a výzkum probíhá v různých světových lokalitách. Koprologická vyšetření, nebo vyšetření post mortem, zmiňují následující často se vyskytující zástupce velkých plicnivek. Druhy *Dictyocaulus viviparus*, *D. filaria*, *D. capreolus*, *D. eckerti*, *D. arnfieldi* (Taylor et al., 2007). Všechny výše zmiňované druhy jsou zařazeny do následující taxonomie: říše Animalia, kmen Nematoda, třída Chromadorea, podtřída Chromadoria, řád Rhabditida, podřád Rhabditina, čeleď Dictyocaulidae, rod *Dictyocaulus* (Dietrich et al., 2009, Schmidt et al., 2009).

Dictyocaulus viviparus je významným parazitem skotu na pastvinách na celém světě. Infikovaný dobytek, který trpí parazitární bronchopneumonií, má velké ztráty na váze sníženou produkci a v některých případech má toto onemocnění za následek smrt infikovaného jedince. (Coles, 2001; Panuska, 2006).

Pastviny mohou larvy nebo vajíčka kontaminovat z různých zdrojů, například od dopravců zvířat, od nově nakoupených zvířat nebo z jiných biotických nebo abiotických faktorů. Pokud jsou larvy na pastvě přemnoženy a onemocnění se vyskytuje ve větší míře, je nezbytná léčba, aby se zabránilo finančním ztrátám. Pochopením vývojového cyklu těchto parazitických helmintů, jejich specifické geny a prvky epidemiologie, je důležité pro zvolení vhodného léčiva. Avšak ve srovnání s volně žijícími hlísticemi *Caenorhabditis elegans*, je stále překvapivě málo informací o tomto parazitovi. Vzhledem k morfologii *D. viviparus*, jsou jen dva popisy larev, které byly zveřejněny (Douvres a Lucker 1958; von Samson-Himmelstjerna a Schnieder 1999) a některé dospělé jedince zveřejnily (Divina et al, 2000; Lat-Lat et al 2010).

Přežvýkavci jsou hostiteli několika druhů plicnivek, které jsou schopny způsobovat onemocnění dýchacích cest. Mezi tyto plicnivky patří *D. viviparus* u skotu, *D. filaria* u ovcí a koz. K respiračním onemocněním způsobeným těmito parazity dochází méně často v Severní Americe než v jiných částech světa. Parazitární zápal plic v důsledku infekce *Dictyocaulus viviparus* byl hlášen jak u masného, tak u mléčného skotu ve Spojených státech (Bliss et Mayers, 1998).

Nejvíce patogenní plicnívkou malých přežvýkavců je druh *Dictyocaulus filaria*. Plicnívky rodu *Dictyocaulus filaria* a *Dictyocaulus viviparus* se častěji vyskytují ve vlhkém podnebí, kde mohou volně žijící vývojová stádia přežívat.

3.1.1.1. *Dictyocaulus filaria*

Vývojový cyklus *Dictyocaulus filaria* dospělci tohoto druhu žijí v průduškách a průdušnicích koz a ovcí. Vajíčka jsou dlouhá 112 až 135 mikrometrů a široká 52 až 67 mikrometrů. Tato vajíčka jsou vykašlávána a následně polknuta, dostávají se do tenkého střeva, kde se z nich líhnou larvy prvního stupně. Larvy prvního stupně se dostávají do prostředí s výkaly hostitele. V prostředí se larvy dvakrát svlékají a stávají se infekčními. Rychlost vývoje larev do třetího stádia závisí na vlhkosti a teplotě prostředí. Nicméně tento vývoj může být uskutečněn i do týdne. Infekční larvy se aktivně pohybují z fekálií do prostředí. Bývají neúmyslně požiteny pasoucím se hostitelem. Larvy se dostanou do tenkého střeva, kde odvrhnou ochranou kutikulu a do 18 hodin pronikají stěnou tenkého střeva. Potom vstupují do mezenterické lymfatické uzliny, kde zůstanou 6 dnů. Zde se vyvíjí do čtvrtého a pátého stádia. Od 7 dne larvy migrují přes přední dutou žílu do srdce a následně do plicních tepen. Larvy jsou v tkáni plic od 8 do 14 dne. Již od 12 dne paraziti přecházejí do dýchacích cest. (Vester et al, 1971).

Larvy pronikají přes stěny plicních sklípků do průdušinek a průdušek, kde buď pozastavují svůj vývoj nebo se vyvíjí do pohlavně dospělých jedinců. Dospělé jsou kolem 4 týdnů po infekci. Larvy prvního stádia mohou být viděny ve výkalech kolem 26 dne po infekci. Největší počet larev prvního stádia bývá 39 až 57 den po infekci (Goldberg, 1952).

Dictyocaulus filaria se nejčastěji vyskytuje ve vlhkých klimatických podmínkách. Larvy jsou schopné přežít 2 až 3 měsíce při mírných teplotách, ale jsou náchylné k vysychání. Opouzdřené larvy třetího vývojového stádia jsou odolnější k vysychání, než první a druhé stádium. Larvy jsou také odolné vůči chladu. Larvy v prvním a druhém stádiu jsou schopny odolat teplotám pod bodem mrazu až 12 dnů, pokud se jedná o larvy ve třetím stádiu, mohou přežívat až 19 dnů. Díky této odolnosti mohou tyto larvy přežít na pastvině i v zimním období. Jarní pastviny bývají kontaminované larvami z předcházejícího roku, které byly zadrženy u bahnic a ročků jsou zdrojem infekce převážně pro mladá vnímavá zvířata (Ayalev et al, 1974)

Výskyt larev může mít za následek onemocnění jehňat nebo kůzlat v průběhu druhé poloviny roku jejich první pastvy. Ovce a kozy jsou schopné rozvíjet silnou imunitu k reinfekci, onemocnění je častější u mladých zvířat. Imunita u dospělých koz a ovcí může trvat až 46

měsíců. Nicméně doba odolnosti závisí na úrovni a počtu larev, kterým jsou tyto zvířata vystavena. Zajímavé je, že se *Dictyocaulus filaria* mohou vytvořit v plicích telat, i když nevedou k infekci, které má za následek onemocnění (Wilson, 1970).

Individuální vnímavost k infekci *Dictyocaulus filaria* se liší u koz i ovcí. Kozy jsou náchylnější k infekci a bývají více postižené než ovce. Těžké infekce se mohou projevat různými klinickými příznaky u obou hostitelských druhů. Nejčastějším projevem dva až tři týdny po infekci je kašel, který je způsobený dospívajícími hlísticemi v průduškách a průdušnicích. Dalšími příznaky jsou povrchové zrychlené dýchání, plicní šelesty, bilaterální výtok z nosu, ztráta apetitu, a ztráta hmotnosti. Dále může dojít k bronchitidě, plicnímu edému, kolapsu plicní tkáně a rozedmě plic. Úmrtí nakažených zvířat je neobvyklé. Zánětlivé reakce se rozvíjejí tím, jak larvy migrují do plicních sklípků a makrofágů, leukocyty a eosinofily napadnou oblast larvální migrace do průdušinek a průdušek. Následné zrání dospělých jedinců vyústí v zánět průdušek, který se vyznačuje tím, že šíří bronchiolární epitel a infiltruje leukocyty a eosinofily. Aspirace vajíčka a larvy do průdušinek může mít za následek zápal plic. Atelektáza (nevzdušnost plicní tkáně) může nastat, když jsou průdušky blokovány parazity a hlenem. Komplikace zahrnují sekundární bakteriální infekce, které mohou mít za následek bakteriální zápal plic (Poynter, 1966).

3.1.2. Malé plicnivky

Malé plicnivky jsou také velice významní globální parazité, kteří zahrnují velké množství druhů a tím i velkou škálu hostitelů. Nejvýznamnější čeledí je čeled' Protostrongylidae, tato čeled' je rozšířena po celém světě a vykazuje dosti širokou hostitelskou přizpůsobivost. Na rozdíl od dictyokaulózy jsou tyto parazité heteroxenní, to znamená, že se zde uplatňuje mezihostitel (Taylor et al., 2007, Zajac et al., 2006). Čeled' Protostrongylidae uvádí následující taxonomii: říše Animalia, kmen Nematoda, třída Chromadorea, podtřída Chromadoria, řád Rhabditida, podřád Rhabditina, čeled' Protostrongylidae, s rody *Varestrongylus*, *Spiculocaulus*, *Cystocaulus*, *Elaphostrongylus*, *Protostrongylus*, *Muellerius*, *Neostrongylus* (Dietrich et al., 2009, Mitreva et al., 2005, Schmidt et al., 2009).

Na území České republiky i na celém světě se vyskytují následující druhy výše uvedených rodů. Nejvíce rozšířený je *Muellerius capillaris* má nepřímý vývoj (biohelmit) a za mezihostitele má suchozemské, nebo vodní měkkýše, plže, žížaly a tak dále. Definitivními hostiteli jsou ovce, kozy, mufloni a tak dále (Solomon et al., 1998). Dalším významným druhem

je *Protostrongylus rufescens*, který parazituje u ovcí, koz a jelenů. Plicnivka *Cystocaulus ovis*, se vyskytuje u ovcí a koz. *Neostrongylus linearis* se vyskytuje u ovcí, koz a muflonů. *Varestrongylus pneumaticus* u ovcí a koz.

3.1.2.1. *Muellerius capillaris*

Životní cyklus *Muellerius capillaris* je nepřímý. Druhy s nepřímým vývojovým cyklem (biohelmité) vyhledávají vhodného hostitele například suchozemské nebo vodní plže, žížaly a podobně. V nich larvy prodělávají další vývoj a několikrát se svlékají. Definitivní hostitel se nakazí pozřením těchto mezihostitelů, většinou během pastvy. Dospělí jedinci se vyskytují v plicním parenchymu ovce a kozy, a tvoří zde nečláňkovaná vajíčka o velikosti 100 až 200 micrometrů, která se líhnou v plicích. Larvy první fáze se uvolní a jsou vykašlávány z průdušnice, následně polknuty a dostávají se do střeva, odkud putují spolu s výkaly ven do prostředí. Larvy prvního stádia jsou odolné proti vysychání a teplotám pod bodem mrazu. Tyto larvy napadají měkkýše, aby se mohly dále vyvíjet. (Solomon et al., 1998).

U měkkýšů larvy prochází dalšími dvěma fázemi a dostávají se k infekčnímu třetímu stádiu. Rychlost vývoje do třetí etapy závisí na tom, který z mnoha vnímavých suchozemských měkkýšů je nakažen. Ovce a kozy se nakazí nechtěným pozřením měkkýšů, kteří obsahují infekční larvy třetího stádia. Larvy jsou uvolňovány z měkkýše při trávení a pronikají střevní stěnou do mezenterické lymfatické uzliny, odkud se dostává krví do srdce a pomocí plicních tepen do plic. Brzy po proniknutí do plic nastává čtvrté stádium larvy a dospělci se nacházejí v uzlicích v plicní tkáni. Následně uzlíky degenerují a dospělí mohou být nalezeni v průdušnicích. Dospělí jsou přítomni 25 až 38 den po infekci a můžou přežít ve vnějším prostředí až 4,5 roku (Rose, 1965).

Pozastavený endogenní vývoj může prodloužit prepatentní období o 5 až 6 týdnů. Životnost dospělých jedinců umožňuje dlouhodobou kontaminaci pastvin s larvami prvního stupně. Celoroční bylo prokázáno v Ontariu v Kanadě, v Madridu, Spojených státech amerických a ve Velké Británii. Infikování definitivních hostitelů závisí na přežití těchto larev na pastvě a na přítomnosti vhodných mezihostitelů. Parazit je schopen přežít po celou dobu života měkkýše a zůstávají životaschopné i po jeho smrti, ale jenom krátkou dobu. Měkkýši dále zvyšují možnost přenosu na pasoucí se definitivní hostitele. Kromě dostupnosti mezihostitele je prevalence ovlivněna ročním obdobím, věkem mléčných koz a akumulace larválního stádia v plicích. Prevalence 64 až 68% byla zaznamenána u mléčných koz

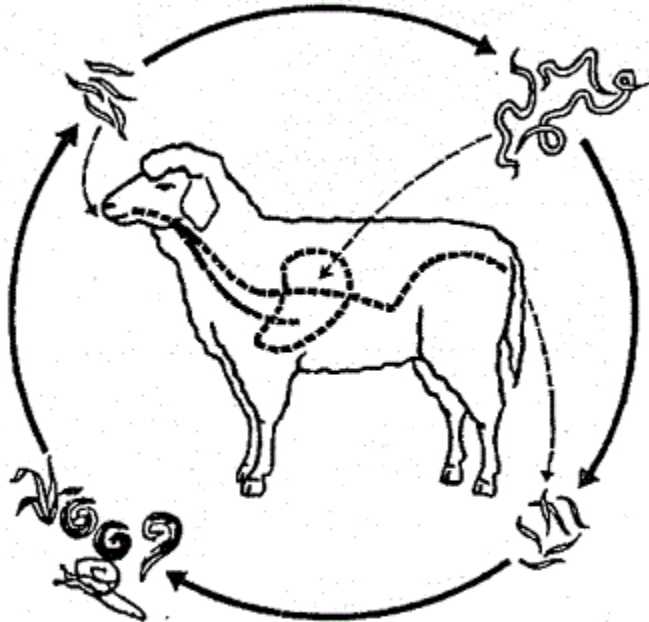
v Marylandu a Gruzii. Infekce *Muellerius capillaris* je spojena s klinickým onemocněním, a to zhoršením výměny plynů v plicích, snížením váhy, chovného výkonu a zvýšením úmrtnosti (Rose, 1965).

Infekce je více patogenní u koz, kde počet larev ve výkalech může být spojen s respiračními příznaky. Těžké infekce mohou vést k intersticiální pneumonii, bronchoalveolární pneumonii nebo fibrinové pleuritis. U ovcí se plicní léze jeví jako šedavé uzlíky, které sahají od méně než 1 milimetru do několika centimetrů a nejčastěji se vyskytují na dorzální straně bránice. Větší uzlíky (Noduly) obsahují dospělé a reprodukce schopné jedince a larvy. Zatím co menší uzliny obsahují zbytky nevyvinuté larvy nebo dospělé parazity (Beresford, 1967).

Infekce může vést k difúznímu ztluštění alveolární přepážky s infiltráty buněk. Byly pozorovány obě nodulární a lobulární léze u koz, které měli primární a sekundární infekci způsobenou *Muellerius capillaris*. Pozorovány byly také mírné buněčné reakce, které se vyskytly při primární infekci Leucophilia. V bronchoalveolárních prostorách byl parazit přítomen 2 týdny po infekci, kdy byl poprvé zaveden do plicní tkáně a pak opět v 7 až 9 týdnu, kdy bylo vyprodukováno mnoho vajíček. Tkáňové reakce v sekundární infekci byly závažnější v plicní tkáni došlo k vytvoření hyperplazie a granulomů kolem parazitů (Berrag et al., 1997).

Imunita byla prokázána u sekundární infekce delším prepatentním obdobím, bylo zjištěno, že se snížilo množství dospělých *Muellerius capillaris* a snížily se i počet larev ve stolici. Nicméně starší zvířata mohou mít větší počet plicnívek, vyskytuje se sekundární bakteriální zápal plic a může dojít k subklinickým infekcím způsobeným *Muellerius capillaris* (Gregory et al., 1985)

Obrázek č. 1 – Vývojový cyklus *Muellerius capillaris*.



Dostupné z:

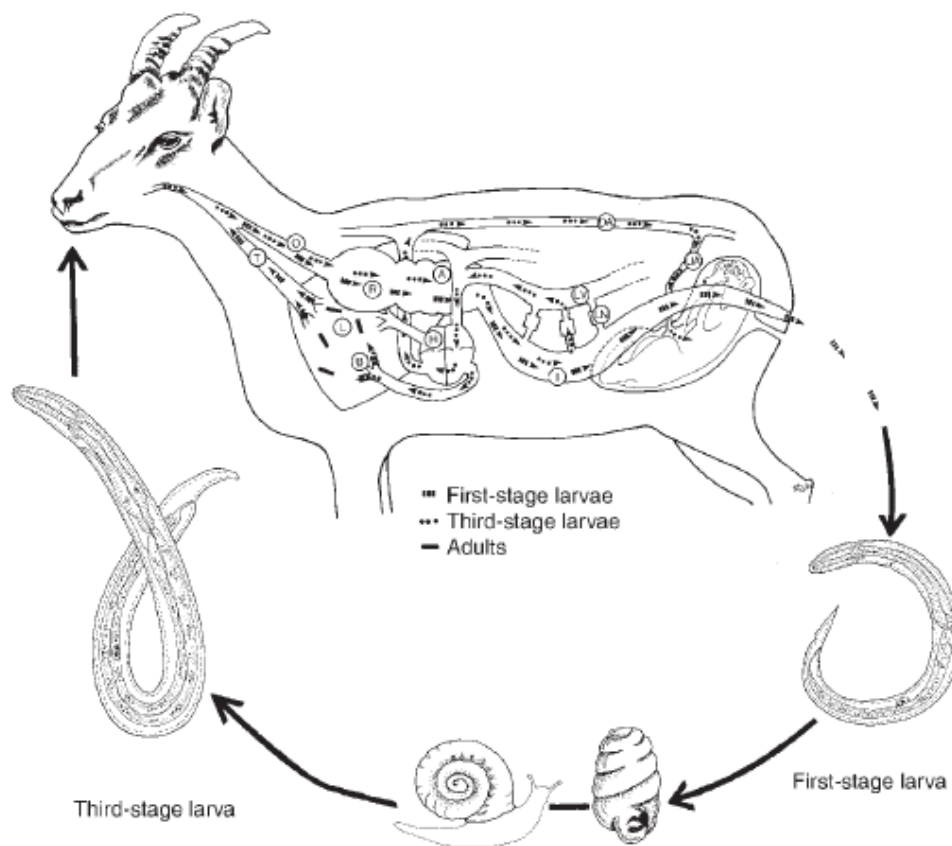
<http://www.asmexcriadoresdeovinos.org/empezar/nematodosis.html>

3.1.2.2 *Protostrongylus rufescens*

Podčeleď *Protostrongylus* obsahuje deset nebo více rodů malých plicnivek a příbuzných hlístic. Všechny tyto rody se vyskytují u přežvýkavců a v malé míře u zajíců. Mají přímý vývojový cyklus, mezihostitelem jsou měkkýši (Boev, 1961).

Protostrongylus rufescens se vyskytuje v průduškách ovcí, koz a muflonů. Vyskytuje se v Evropě, Asii, Africe, Severní Americe a Austrálii. Tělo je nitkovité a načervenalé. Ústa mají trojúhelníkový tvar, jícen je válcovitý. Larvy v prvním vývojovém stádiu měří 370 až 400

micrometrů. Mezihostitelé jsou měkkýši, například Páskovka žíhaná, jantarka obecná. U těchto mezihostitelů při teplotě 20 až 30 stupňů, larvy dosáhly třetího vývojového stádia za 46 až 49 dnů. Tyto larvy měřily 620 až 720 micrometrů. Mezihostitelé jsou následně pozřeni na pastvinách. Dospělí samci měří 16 až 46 milimetrů na délku a 120 až 70 micrometrů na šířku. Samice mají 25 až 65 milimetrů na délku a 150 až 290 micrometrů na šířku. Pochva je 1,1 až 1,3 milimetrů dlouhá a je oddělena od dělohy silným svěračem. Vajíčka mají velikost 40 až 85 micrometrů (Matekin et al., 1954).



Obrázek č. 2 - Vývojový cyklus *Protostrogylus rufescens* (Anderson, 2000)

3.1.2.3 *Cystocaulus ocreatus*

Tento parazit se vyskytuje v plicních sklípcích, alveolárních kanálcích a průduškách u koz a ovcí. Výskyt je Evropa, Asie a Afrika. Gerichter (1951) uvádí, že larvy jsou dlouhé 390 až 420 micrometrů. Larvy prvního stupně napadají mezihostitele měkkýše jako například slimáka pestrého (Žďárská, 1960). Žďárská (1960) uvádí, že larvy prvního stupně, které vnikly do mezihostitele, se staly infekční za 28 dní a při teplotě 26 až 28 stupňů. Larvy ve třetím vývojovém stádiu měřily 750 až 790 micrometrů.

Davtyan (1949) a Sagoyan (1950), uvádí, že infekční larvy napadly tenké a tlusté střevo definitivního hostitele a byly nalezeny v mezenterických a lymfatických uzlinách 36 až 46 hodin po infekci. Larvy se krví dostaly do jater a následně do plicní intersticiální tkáně. Po 13. dni se se přesunuly do plicních sklípků, kde 28 až 30 dnů dospívaly. Prepatentní období bylo 42 dnů (Gerichter, 1951).

Dospělí samci měří 12 až 16,5 milimetrů a samice 15 až 21,5 milimetrů na délku a na šířku 0,45 milimetrů.

3.1.2.4 *Neostromylus linearis*

Vyskytuje se v průduškách koz, ovcí, kamzíků. Larvy prvního vývojového stádia jsou 300 až 350 micrometrů dlouhé. Mezihostitelé jsou měkkýši jako například páskovka keřová nebo plamatka lesní, tyto larvy jsou zde do třetího stádia a pak jsou pozřeny definitivním hostitelem. (Müller, 1934). Boev (1975) zjistil larvy *Neostromylus linearis* v pásovce žíhané. Müller (1934) uvádí, že larvy dosáhly infekční fáze při teplotě 18 stupňů za 10 až 14 dnů to znamená, že se dostaly do druhého vývojového stádia. Třetí vývojové stádium následovalo 18 až 21 dnů. Larvy třetího vývojového stádia byly asi 500 micrometrů dlouhé. Prepatentní období u jehňat a kůzlat bylo 60 až 85 dnů (Rojo-Vazquez a Cordero del Campillo, 1974). Castañón-Ordonez (1982) nakazil 18 beránek, kteří byli zkoumáni v různém čase. Larvy byly nalezeny ve stěně slepého a tlustého střeva již dva dny po infekci. Následně byly přeneseny krví do jater a odtud do plic, největšího počtu larev bylo dosaženo 6. den po infekci. Čtvrté vývojové stádium se objevilo 8. den po infekci a dospělci od 10. dne po infekci.

Dospělí samci měří 5 až 8 milimetrů na délku a 28 až 49 micrometrů na šířku. Samice jsou o něco větší a to 13 až 17 milimetrů na délku a 40 až 72 micrometrů na šířku. Vajíčka měří 36 micrometrů (Rojo-Vazquez a Cordero del Campillo, 1974).

3.2 Projevy onemocnění u zvířat

Onemocnění plicnicemi je sezónní a závisí na množství a dostupnosti infekčních larev na pastvě (Panuska, 2006). Rychlost projevu příznaků a jejich rozsah závisí na počtu pozřených larev, na rychlosti přijímání a na množství larev, které se dostanou do plic. Větší prevalence je u mláďat, protože u dospělých se rychleji vyvíjí specifická imunita, která zabraňuje pozřeným larvám v dalším vývoji a eliminuje larvy v plicích (Chroust, 2006).

Nejrozšířenější jsou ohniska nákazy během mírné zimy a časného jara, larvy nejsou odolné vůči vysokým teplotám, proto se v horkém létě na pastvě téměř nevyskytují. Na

klinické onemocnění mají vliv jak časté srážky, tak nízké teploty (Eddi et al., 1989). Volně žijící zvěř se stává takzvaným rezervoárem plicnivek (Ploger, 2002). Pokud infekce pronikne do organismu, zvířata začnou zpočátku tvořit určitou imunitní odpověď proti onemocnění, ale není natolik významná, aby zabránila proniknutí onemocnění (Ploger, 2002, Zajac et al., 2006)

V některých případech pokud se do organismu dostane málo infekčních larev, které nejsou schopny vyvolávat infekci, nastává zpravidla další cyklus s nárůstem parazitů na pastvě. Onemocnění je velmi variabilní mezi věkem, mezi hostiteli je také různá reakce na infekci. Část této variability bude nepochybně dána genetickou variabilitou u hostitelů. (Kooyman et al., 2002).

Při rozvoji onemocnění dochází podle Breeze (1985) k fázím penetračním, prepatentním, patentním a postpatentním. Taylor et al., (2007) zmiňuje fáze tři, jedná se o prepatentní zahrnující 8. až 25. den infekce, patentní 26. až 60. den a nakonec postpatentní 61. až 90. den infekce. Penetrační fáze, u které neexistují žádné příznaky nebo neexistují výrazné patologické změny, probíhá 1. až 7. den po pozření larev. Larvy po pozření migrují do plic (Panuska, 2006).

Během prepatentní fáze se dostávají larvy plicnivek do plicní tkáně a průdušek, v této fázi se objevují významné klinické příznaky onemocnění a dochází zde k patologickým stavům. Léze v plicních tkáních se objevují již 7. den po infekci. Rozsah patologických lézí závisí na druhu parazita a na hostitelském druhu (Panayotova – Pencheva et al., 2010). Dýchací cesty jsou blokovány eozinofilními exsudáty, neboli zánětlivými extravaskulárními výpotky, je produkován nadměrný hlen a následuje alveolární kolaps, rozedma plic a silný kašel (Panuska, 2006). Plicnivé onemocnění může vyústit i v zápal plic a tím způsobit ekonomické ztráty (Pancieri et al., 2010).

Další fáze je patentní 25. až 35. den po infekci. V této fázi kladou dospělí jedinci vajíčka do průdušek a průdušnice. Díky těmto vajíčkům se může vyskytovat zápal plic. Epitel v místě, kde se vyskytují vajíčka, bývá z pravidla poškozen, dýchací cesty jsou zaplněny výpotky. Vzniká zánět průdušnice, průdušek a celých plic, který způsobuje dušnost, horečku, kašel, ztrátu kondice, emfyzematózní praskání a drsné zvuky při dýchání. Ve výkalech je velké množství larev prvního vývojového stádia (Panuska, 2006).

Poslední fáze je postpatentní 61 až 90. den. Během této fáze množství parazitů v plicích poklesne a ve stolici se objevují jen zřídka. Epitalizace několika alveolů a peribronchiální fibróza může přetrvávat. Snižuje se kašel, klesá dechová frekvence, zvíře začne přibírat na váze. Patologické změny způsobené infekcí může komplikovat plicní edém, hyperplazie alveolárního epitelu, intersticiální emfyzém a sekundární bakteriální infekce, která má za následek poruchu výměny plynů v plicích (Panuska, 2006, Zajac et al., 2006). Zánět se rozvíjí díky migraci larev do plicních sklípků, plazmatické buňky (makrofágy, eozinofily a leukocyty) napadají právě tyto zánětlivé oblasti (Zajac et al., 2006, Taylor et al., 2007). Smrt způsobená plicnivkami nastává jen výjimečně (Taylor et al., 2007). Podle Goldberga (1952) patří k dalším příznakům bilaterální výtok z nozder, ztráta chuti k jídlu a úbytek na váze, mělké a rychlé dýchání a plicní šelesty.

3.3 Epizootologie plicnivek

Onemocnění způsobené plicnivkami postihuje všechny věkové kategorie hostitelů, přičemž je vyšší inklinace této infekce k mláďatům, než k dospělým. Je to dáno tím, že se u dospělých jedinců rychleji vyvíjí získaná imunita neboli adaptivní imunita. Adaptivní imunita je odrazem vakcinace, nebo vzniká po prodělané infekci. Získaná imunita zabraňuje pozřným larvám v rozvoji a eliminuje larvy v plicích (Taylor et al., 2007).

Pokud se vyskytne infekční onemocnění, je kladen důraz na odhalení ohniska nákazy, na její úplnou eliminaci, nebo maximální potlačení. Na šíření ohniska nákazy i na samotném vzniku se velkou měrou podílejí kromě biotických faktorů i faktory abiotické.

Onemocnění způsobené plicnivkami je sezónní a působení abiotických faktorů tak hraje důležitou roli na vzrůstající, nebo klesající trend prevalence tohoto onemocnění v populaci zvířat (Panuska, 2006)

Plicnivky rozšiřují svá ohniska nákazy během mírné zimy a časného jara. V horkém a suchém létě infekční larvy na těchto pastvách téměř chybí (Eddi et al., 1989) Cabaret et al. (1986) Zaznamenal maximální prevalenci u mezihostitelů mezi únorem a březnem, u definitivních hostitelů to bylo v dubnu a květnu. V případě druhu *Dictiocaulus filaria* je rychlost vývoje z prvního stádia do třetího převážně závislá na teplotě vnějšího prostředí. Pokud je mírná teplota a zároveň vlhké klima, může tento vývoj trvat i méně jak týden (Panuska, 2006).

Larvy jsou z počátku ve vnějším prostředí neaktivní a jsou uzavřeny v takzvaných faeces, které mohou rozrušit například těžké deště. Příznivé podmínky ve vnějším prostředí mohou larvám zajistit životnost na 2 až 3 měsíce, což přispívá k dlouhodobé a často se opakující infekci v populacích (Ploeger, 2002).

U plicnivek je z epizootologického hlediska významné to, že určité druhy mohou parazitovat i u nespecifického hostitele. Tato schopnost pak zvyšuje pravděpodobnost jejich šíření. (Johnson et al., 2007).

Velké plicnivky se do okolního prostředí šíří pomocí sporangií hub *Pilobolus*, ve kterých se larva množí (Taylor et al., 2007). Tyto houby se vyskytují v hojné míře například v půdě, která je obohacena exkrementy. Sporangia usnadňují těmto larvám roztroušení do prostředí a zvyšují tak pravděpodobnost vniknutí do organismu definitivního hostitele.

I když životaschopnost malých plicnivek v prvním vývojovém stádiu dosahuje několika měsíců a jsou odolné vůči nízkým teplotám (Taylor et al., 2007), musí vyhledat mezihostitele, který je v tomto případě měkkýš. Rychlost vývoje z prvního do třetího stádia je rozdílná a záleží na tom, který z mnoha vnímavých měkkýšů je napaden. Larvy přežívají i po smrti mezihostitele, ale jen krátkou dobu, během které mohou být dostupné pro definitivní hostitele na pastvinách (Panuska, 2006). Přenos plicnivek na definitivního hostitele závisí na přežití larev, které jsou v prvním stádiu vývojového cyklu ve vnějším prostředí. Dále závisí na vhodném mezihostiteli, ve kterém jsou larvy přítomny po celou dobu jejich života (Panuska, 2006; Taylor et al., 2007).

Šíření plicnivek zahrnuje řadu dalších otázek, jako je například možnost společné pastvy hospodářských a volně žijících zvířat. Společná pastva totiž zahrnuje i rozšíření nákazy i na nespecifické hostitele, to znamená, že je zde vyšší prevalence a masivnější šíření. Díky nedostatečné aplikaci anthelmintik u divokých zvířat se tato zvířata stávají rezervoáry plicních hlístic (Ploeger, 2002).

Významnou roli má rezistence u definitivního hostitele, která brání v množení nebo ve vývoji (Taylor et al., 2007). Ve volné přírodě se geny pro rezistenci vyskytují ve větší míře. Tento výskyt je zdůvodňován tím, že geny pro rezistenci přetrvávají v populacích dlouhou dobu v polymorfním stavu. Jakmile vzroste zastoupení alel podmiňující rezistenci, sníží se díky tomuto jevu prevalence parazita a tím klesne selekční výhoda těchto alel (Schmidt et al., 2009).

Nelze předpokládat úplné vymýcení pliciviek, ale je důležité získanou imunitu definitivního hostitele, ať už jde o nespecifickou nebo specifickou, udržovat vakcinací a antiparazitárními přípravky v co možná nejvyšší míře (Panuska, 2006).

3.4 Diagnostika

Intravitální diagnostika infekcí způsobených plicivkami je založena na zjištění a rozpoznání klinických příznaků, znalosti místních parazitů a historii pastvy. Infekce může být potvrzena zjištěním larev prvního stádia v čerstvých výkalech nebo při pitvě, kde můžeme najít i dospělé jedince a změny způsobeny těmito parazity. Larvy prvního stádia jsou získávány ze stolice pomocí Bearmannovy metody (Eysker, 1997).

Bearmannova metoda detekce larev je metoda, která využívá jevu pozitivního termo a hydrotropismu, to znamená aktivní migrace larev z místa chladného a suchého do místa teplejšího a vlhčího. Vzorek trusu se umístí do gázy nebo sítko a musí být z jedné poloviny pod hladinu teplé vody v kónické nádobě, vzorek necháme stát po dobu minimálně 12 hodin. Larvy migrují ze vzorku ven a padají na dno, nádoby, odkud jsou pak odsáty. Tyto larvy jsou pozorovány v mikroskopu, v Burkerově komůrce a podle morfologických znaků určujeme druh larvy (Levine, 1980).

První stádium *Dictyocaulus filaria* měří 500 až 540 micrometrů na délku a na šířku do 25 micrometrů. Mají tupé zakončení těla a malou hlavu. Stejně jako *Dictyocaulus viviparus* mají tyto larvy charakteristické potravní granule v jejich střevních buňkách. První larvální stádium *Muellerius capillaris* měří 300 až 320 micrometrů na délku a na šířku od 14 do 15 micrometrů. Mají zvlněný ocas a malou hřbetní páteř (Levine, 1980).

Posmrtná diagnóza může být provedena identifikací plicivky a charakteristické plicivkové patologie při pitvě. Dospělé *Dictyocaulus filaria* získáváme z průdušnic a průdušek při pitvě. Dospělí samci jsou 25 až 80 milimetrů dlouzí. Dospělé samice dosahují délky 43 až 112 milimetrů a mají kuželovitě se zužující ocas. Dospělí *Muellerius capillaris* se nacházejí v plicním parenchymu. Dospělí samci měří 11 až 13 milimetrů na délku a tělo tvoří spirály. Dospělé samice jsou 19 až 23 milimetrů a široké 40 až 50 micrometrů a larvy mohou být viditelné v tkáňových řezech (Levine, 1980).

3.4.1 Diagnostické metody

Diagnostika plicnivkových infekcí u domácích zvířat se provádí tak, že se prokazuje přítomnost prvního larválního stádia ve stolici prostřednictvím Bearmannovy techniky. Všechny metody jsou založeny na skutečnosti, že jsou larvy hlístic aktivní, výkaly které je obsahují, umístíme do vody, kde se larvy vykrotí a uvolní se do sedimentu. Tradičnější formou Bearmannovy techniky, jsou výkaly umístěny do vodou naplněné nálevky a sedimentující larvy se izolují (Buchwalder, 1963, Henriksen, 1965).

3.4.1.1. Metoda s použitím kuželové baňky a gázy

Odebereme vzorek trusu, který rozmělníme, dále vezmeme gázu, kterou přichytíme na kuželovou baňku (šampusku), přidáme 100 mililitrů vody a necháme suspendovat po dobu asi 17-20 hodin. Po uplynutí této doby odstraníme gázu se zbytky výkalů, dále odstraníme vodu tak, aby v kuželové baňce zbylo 1-2ml sedimentu. Tento sediment pak vyšetřujeme mikroskopicky (Mc Kenna, 1999).

3.4.1.2 Metoda pomocí nálevky a síta

Odebereme určité množství trusu, který rozmělníme a umístíme na síto, které vložíme do nálevky s šířkou 15 centimetrů, celý aparát měří 25 centimetrů, na nálevce je navléknutá hadička se škrtidlem. Trus v sítu se musí plně ponořit pod hladinu kapaliny. Takto připravený vzorek necháme sedimentovat 17 – 20 hodin. Po uplynutí této doby odlejeme 15 mililitrů sedimentu do zkumavky. Ten pak odstředíme při 1000 otáčkách po dobu 5 minut. Odlijeme přebytečnou kapalinu a ponecháme sediment 1 - 2 mililitrů, který následně mikroskopicky vyšetříme (Mc Kenna, 1999).

3.5 Mikroskopie

Každý 1 – 2 mililitrů sedimentu se vloží do počítací komůrky. Přidá se pár kapek jódu, přiložíme krycí sklíčko a pozorujeme pod mikroskopem při 64 x velkém zvětšení (Mc Kenna, 1999).

3.6 Léčba

3.6.1 *Dictyocaulus filaria*

Parazitární bronchitidy u ovcí mohou být úspěšně léčeny anthelmintiky. Nicméně strategická aplikace musí být navržena s ohledem na epidemiologii parazita. Formulace albendazolu, levamisolu a ivermectinu jsou účinné proti *Dictyocaulus filaria* u ovcí viz tabulka 1. Dále moxidectin (1% injekční, 0,2% perorálním podáním v množství 0,2 miligramů na kilogram) doramectin (0,2 miligramu na kilogram intramuskulárně) Bylo prokázáno, že tato léčba je u ovcí účinná (Dorchies et al, 1996).

V současné době se pro kontrolu plicnivek u koz aplikuje levamisol (7,5 miligramů na kilogram perorálně a subcutálně) febendazol (5-10 miligramů na kilogram) a ivermectin (0,2 miligramu na kilogram), jsou uváděny jako účinné anthelmintika (Smith et Sherman, 1994).

Léčba zasahuje do imunity, takže by zvířata neměla být vracena na kontaminovanou pastvu. Mezi opatření je zahrnuto poskytnutí suché pastvy, aby se omezil rozvoj a přežití volně žijících larválních stádií. Léčení, nebo utracení nakažených zvířat výrazně snižuje kontaminaci pastvy. Starší zvířata, která mohou být imunní, ale jsou schopna produkovat larvy ve výkalech, by se měla pást odděleně od citlivých jehňat (Sreter et al, 1994).

Tabulka 1. – léčivo, množství a rezidua v mase u velkých plicnívek

Lék	Množství	Druh	Rezidua v mase
Fenbendazol	5 mg/kg PO	<i>D. viviparus</i>	8-16 dnů
Oxfendazol	4.5 mg/kg PO, IM	<i>D. viviparus</i>	7 dnů
Levamisol	8 mg/kg PO	<i>D. viviparus</i>	48 hod
	6 mg/kg SC	<i>D. filaria</i> <i>Dictyocaulus sp</i>	72 hod 7 dnů
Albendazol	10 mg/kg PO	<i>D. viviparus</i>	27 dnů
	7.5 mg/kg PO	<i>D. filaria</i>	7 dnů
Eprinomectin	0.5 mg/kg PO	<i>D. viviparus</i>	Není
Moxidectin	0.5 mg/kg PO	<i>D. viviparus</i>	Není
	0.2 mg/kg SC	<i>D. viviparus</i>	21 dnů
Doramectin	0.2 mg/kg SC, IM	<i>D. viviparus</i>	35 dnů
	0.5 mg/kg PO	<i>D. viviparus</i>	45 dnů
Ivermectin	0.2 mg/kg SC	<i>D. viviparus</i>	35 dnů
	0.5 mg/kg PO	<i>D. viviparus</i>	48 dnů
	0.2 mg/kg PO	<i>D. filaria</i>	11 dnů

Zkratky: PO – perorálně, IM – Intramuskulárně, SC – subkutánně.

3.6.2 *Muellerius capillaris*

Zatím se nevyskytují anthelmintika, která jsou používána vyloženě na *Muellerius capillaris*, nicméně několik je jich účinných při snižování počtu larev v prvním vývojovém stádiu (Tabulka 2). Je nutná opakovaná léčba těmito anthelmintiky, protože se mohou neustále vyskytovat tyto larvy ve výkalech, to zjistíme po koprologickém vyšetření. Anthelmintika mohou být účinnější proti dospělcům a méně účinné proti inhibovaným larvám. Larvy, co přežijí ošetření, pokračují ve vývoji a tvoří nové larvy prvního stupně. Anthelmintika nemusí odstranit všechny dospělé, ale můžou snížit jejich plodnost, což má za následek snížení počtu vylučovaných larev. Tato léčba a zamezení kontaktu s mezihostiteli a to na základě dobře odvodněné pastvy, přispívá ke zbavení se měkkýšů jakožto mezihostitelů a omezení infekce těmito parazity (Helle, 1986).

Tabulka 2 – léčivo, množství a hostitel u malých plicnivek.

Lék	Množství	Hostitel
Fenbendazol	30 mg/kg PO	Kozy
	2 × 15 mg/kg PO, po 48 hod	Kozy
	1.25–5.0 mg/kg PO denně 1-2 týdny	Kozy
	3 * 450 mg/kg po 48 hodinových intervalech	Kozy
Albendazol	1.0 mg/kg denně po dobu 14 dnů	Kozy
Ivermectin	0.2 mg/kg PO	Kozy
	0.2–0.3 mg/kg SC	Kozy
Moxidectin	0.2 mg/kg SC; PO	Ovce

Zkratky: PO – perorálně, SC – subkutánně.

Pro léčení se používají anthelmintika na bázi benzimidazolu, jako jsou například přípravky viz. (Tabulka 2), (Cabaret,1991).

Nově se na léčbu plicnívek začal používat eprinomectin, je to silný makrocyclický lakton s minimálním pronikáním reziduí do mléka u mléčných koz. Eprinomectin je slibovanou alternativou, co by mohla nahradit benzimidazol. Pro léčbu gastrointestinálních parazitů jako jsou *Teladorsagia circumcincta* a *Trichostrongylus colubriformis*, bylo skutečně prokázáno, že eprinomectin je účinný při snižování vajíček ve výkalech (Cringoli et al, 2004)

Pole Účinnost eprinomectin proti přirozené infekci *Muellerius capillaris* byla hodnocena u dospělých mléčných koz. Do výzkumu bylo celkem zahrnuto 13 zvířat. Zvířata byla léčena eprinomectinem (0,5 mg / kg), na jaře a znovu na podzim roku 2006 a monitoruje se výskyt larev plicnívek na gram stolice. Snižování plicnívek ve výkalech ve dnech 7, 21 a 42 po ošetření se vyhodnocovala účinnost eprinomectinu proti těmto parazitům. Snižování (p <0,01) v gramu výkalů pozorováno ve dnech 21 a 42. Tyto výsledky ukazují, že je eprinomectin vhodnou alternativou pro benzimidazolové léčení plicnívek u mléčných koz. Žádné nežádoucí účinky na eprinomectinu nebyly pozorovány (Geurden et Vercruyssen, 2007).

3.7 Patologie

Plicnívky jsou rozšířené helmintózy u domácích a volně žijících přežvýkavců a způsobují vážné zdravotní problémy téměř po celém světě. Tyto infekce jsou většinou spojeny s dýchacími poruchami s následným rozvojem fokální pneumonie a se sekundární bakteriální infekcí plic. Dále dochází k úbytku hmotnosti, snižuje se produktivita nakažených zvířat, to znamená nižší počet mláďat, menší produkce mléka, více potratů, nebo častější úmrtí novorozenců. Zvýšená úmrtnost je spojena s velkým počtem plicnívek v organismu. Byly studovány patologické rysy u tohoto onemocnění, výsledky ukazují, že různé druhy zánětlivých reakcí se vyskytují v lézích. Je mnoho druhů plicnívek, a liší se závažností a rozsahem patologických změn na plicních lézích (Berrag et al, 1997).

Parazitární léze se nacházejí v plicním ocasatém laloku a byly šířeny hlavně v hřbetním subpleurálním parenchymu. Plicní léze u koz infikovaných *Muellerius capillaris* byly pevné a šedivé barvy. U mladých zvířat byly nalezeny šedavé oblasti na plicním laloku. Zřídka se u koz vyskytují více přetížené šedé zóny, které se nacházejí v blízkosti plicní pohrudnice. Tyto léze u infekce *Muellerius capillaris* byly závažnější bez ohledu na věk zvířat. Ve většině případů se vytvořily pevné šedé až černé noduly, které zasahovaly velkou část plicního povrchu. Léze na plicích u muflonů infikovaných *Muellerius capillaris*, na povrchu plic bylo objeveno několik

typů šedých skvrn o různé velikosti, viz příloha (Obrázek 7 (a)) a dobře tvarované šedé noduly (Obrázek 7 (b)). Malé a tvrdé noduly o velikosti v průměru 1 – 5 milimetrů na pohrudnici, noduly byly vidět také v mufloních plicích (Obrázek 7 (c)). Uzlíkovité léze byly pozorovány v plicích kamzíků a ovcí tato zvířata byla nakažena *M. tenuispiculatus*, *N. linearis*, a *P. brevispiculum*. Dospělé *C. ocreatus* byly nalezeny v uzlicích, které mají jinou strukturu (Obrázek 7 (d)). Byly dobře odlišné od okolní tkáně, lehce vystupují nad serózní povrch viscerální pleury a nemají příliš hustou, spíš normální nebo měkkou konzistenci. Vnitřní dutiny byly naplněny kaseózní látkou. Byly nalezeny makroskopické abnormality v plicích infikovaných přežvýkavců. Infekce většími druhy plicivek spočívaly především v rozsáhlém přetížení tkáně podél průdušek, tkáň měla tmavě červené až šedé zbarvení (Obrázek 7 (e)). V těchto případech byly uvnitř průdušek nalezeny dospělé plicivky (Obrázek 7 (f)). Průdušky a bronchy obsahovaly odumřelé epitelové buňky, alveolární makrofágy, neutrofilů a parazity různého vývojového stupně, někdy obklopeny mírnou lymfatickou hyperplazií, viz příloha (Obrázky 8 (a) a 8(b)). Mnoho alveolů obsahovalo velké množství plicivek, a to převážně vajíčka a larvy prvního stupně. Dále se zde objevuje zánětlivý výpotek sestávající se z alveolárních makrofágů a neutrofilů. Nicméně zahušťování alveolárního septa nebylo pozorováno (Obrázek 8 (c)). Podobné abnormality byly pozorovány v plicích u ovcí a muflonů, pravidelně bylo pozorováno ztlustění alveolárního septa v důsledku hyperplazie pojivové tkáně a buněk hladkého svalstva, viz příloha (Obrázek 9 (a)). Také byly pozorovány parazitární granulomy sestávající z nekrotických center, kalcifikace, periferní lymfatické hyperplazie a obrovské buňky (Obrázek 9 (b) a 9 (c)). Byl prokázán vývoj obřích buněk, makrofágů a alveolitidy (Obrázek 9 (d) 3 (e) a 9 (f)). Lymfatická hyperplazie byla pozorovaná i u ovcí a muflonů. Hyperplastické lymfatické struktury byly situovány v blízkosti kolem průdušek a plic, viz příloha (Obrázek 10 (a) 10 (b) a 10 (c)). U některých zvířat byly pozorovány sklerotické oblasti (Obrázek 10 (d)), (Panayotova et Alexandrov, 2010).

3.8 Prevence onemocnění

U prevence je hlavním cílem zabránit disperzi parazitů ve volném prostředí, a to zejména vývojových stádií (Zajac et al., 2006). U preventivních opatření se musíme zaměřit na všechna vývojová stadia, aby bylo zabráněno dalšímu šíření těchto parazitů. Infekce často začínají jen z několika larev na pastvině. I přes toto malé množství parazitů, které u definitivního hostitele nemusí ani vyvolat onemocnění, se mohou larvy v hostiteli množit a jsou vylučovány opět do prostředí. Tito parazité jsou většinou vysoce plodní jedinci a zabezpečují dramatický nárůst infekčnosti pastvin (Ploeger, 2002). Pokud se jedná o parazity, kteří jsou

závislí na mezihostitelích, takzvaní biohelminti, je snaha přerušit i tyto vývojové cykly (Taylor et al., 2007). Pokud dojde k přerušení vývojového cyklu parazita, zamezíme tím jak nákaze hostitele, tak i další reprodukci parazita a tímto eliminujeme nákazu dalších potenciálních hostitelů.

Problematika prevence těchto parazitárních onemocnění zahrnuje několik otázek týkajících se dynamiky parazitóz v geografických oblastech (Chroust, 2006). Dále je důležité nemít společné pastvy hospodářských zvířat se zvířaty divoce žijícími. Optimalizace správné dávky léčiva, jejich přesné dávkování odpovídá skutečné živé hmotnosti napadeného zvířete. Léčivo musíme aplikovat ve vhodném termínu (Chroust et al., 2008). Pokud chceme dosáhnout větší účinnosti preventivního opatření proti parazitárním onemocněním je zapotřebí uvažovat také o možné migraci volně žijících zvířat, a to i v závislosti na ročním období. Před každým podáním léčiv by měla být provedena včasná a spolehlivá diagnostika, která zabraňuje neefektivní léčbě, popřípadě vzniku rezistence. Neefektivní léčba má za následek zbytečné zatěžování organismu léčiv, které není adekvátní, nebo mohou být podány zdravému zvířeti a vznikají nám ekonomické ztráty (Taylor et al., 2007). Dalším důležitým faktorem v preventivních opatřeních je sledování rezistence parazitů na aplikovaná antiparazitika. Tato antiparazitika musíme zavčasu obměňovat, tak aby se možná rezistence na tyto léčiva eliminovala nebo alespoň omezila.

Dlouhodobé sledování prevalence při správné diagnostice plicnivek a pravidelné léčení u přežvýkavců ukázaly, že se dá dostat až do stádia, kdy se v populaci ustálí populace parazitů a tím se vytvoří rovnováha v parazitohostitelském vztahu (Chroust et al., 2008).

Proto se snažíme porušovat tuto rovnováhu léčbou, která postihuje jedince celé populace a všech věkových kategorií. Důležité je provádět pravidelnou helmintologickou diagnostiku jak v exkrementech, prostředí nebo post mortem (Chroust, 2006).

4. Materiál a metodika

4.1 Lokalita a hostitel

Experiment byl prováděn ve výběhu Demonstrační a pokusné stáje České zemědělské univerzity v Praze. Tato lokalita (50.1298819N, 14.3687578E) patří do oblasti mírného klimatu... Výběh byl oplocený a sousedil s výběhem ovcí. Jeho plocha byla 50 × 17 metrů a většina výběhu byla travnatá. Do studie bylo zařazeno devět dospělých koz a jeden dospělý kozel. Jednalo se o křížence plemen burská koza, koza bílá krátkosrstá a koza hnědá. Kozy byly chovány skupinově, s volným přístupem na celou plochu výběhu. Ve výběhu se nacházel dřevěný přístřešek, do kterého byly kozy na noc zavírány a do něhož se mohly ukrýt v případě nepříznivých povětrnostních podmínek. V průběhu experimentu měly všechny kozy adlibitní přístup ke krmivu (2× denně seno a 1× denně jadrné krmivo) a vodě, která byla k dispozici z automatických napáječek.

4.2 Parazitologické procedury

Před začátkem pokusu byli všichni jedinci ve stádě koz nejdříve vyšetřeni na přítomnost plicnivek metodou podle McKenna (1999). Vždy alespoň 10 g rektálně odebraných vzorků výkalů od každého jedince bylo obaleno gázou a přichyceno na kónickou nádobu („šampusku“). Do této nádoby byla přidána vlažná kohoutková voda takového množství, aby larvy přítomné ve výkalech mohly migrovat do vodního prostředí. Po uplynutí 24 hodin byla gáza s výkaly odstraněna a tekutina v „šampusce“ pomocí vodní vývěvy odsáta tak, aby zůstala do výšky zhruba 5 cm. Sediment byl mikroskopicky (Olympus CX21) prohlížen na přítomnost larev plicnivek. Zjištěné larvy byly determinovány podle van Wyka a Mayhewa (2013) a intenzita infekce byla vyjádřena jako počet larev na 1 gram výkalu – LPG (larvae per gram). Přítomné larvy byly fotograficky zaznamenány.

4.3 Hodnocení účinnosti léčiv

Po prokázání přítomnosti plicnivek bylo všem jedincům podáno nejdříve anthelmintikum na bázi benzimidazolů – fenbendazol (Panacur 2.5% susp., Intervet International B.V.) v 6× vyšší dávce (30 mg FBZ na kg ž.h.) než je výrobcem doporučená dávka pro ovce. Účinnost léčiva byla podle Chartiera et al. (1995) vyhodnocena na základě testu FLCR (Faecal laval count reduction). 7. den po aplikaci daného léčiva byla všechna zvířata opět vyšetřena na přítomnost larev plicnivek a byla vyjádřena intenzita případné infekce. Účinnost léčiva, respektive redukce počtu larev, byla vypočítána v procentech podle následujícího vzorce: $FLCR = ((LPG_0 - LPG_7)/LPG_0) \times 100$. LPG₀ představovala intenzitu infekce plicnivkami před aplikací léčiva a LPG₇ intenzitu infekce 7. den po aplikaci léčiva.

V tomto testu každý jedinec slouží sám sobě jako kontrola. V experimentu byl kromě účinnosti daného léčiva sledován také perzistentní účinek, tzn. doba, po kterou bylo dané léčivo schopné účinně potlačit vylučování larev plicnívek anebo zamezit vzniku nové infekce. K tomuto účelu byla zjištěna FLCR ještě 30. a 60. den po aplikaci fenbendazolu. V případě, že hodnota FLCR byla $\geq 80\%$, bylo dané léčivo hodnoceno jako účinné. Naopak pokud byla FLCR $\leq 20\%$, bylo léčivo klasifikováno jako velmi nízké účinné.

Po uplynutí perzistentního účinku benzimidazolů bylo všem kozám zařazeným do experimentu aplikováno další anthelmintikum, tentokrát na bázi makrocyclických laktonů, respektive milbemycinů – moxidektin (Cydectin LA, 2% inj., Pfizer) v dávce 1mg/kg, což je dávka, která se doporučuje pro ovce. Celý proces sledování účinnosti léčiva, který byl proveden při testování fenbendazolu (benzimidazolů), byl zopakován pro moxidektin (milbemyciny).

4.4 Patologické procedury

Po skončení sledování účinnosti léčiv byly dva jedinci, konkrétně koza s nejvyšším LPG po léčbě a koza s nulovým LPG po léčbě poraženy a bylo provedeno pitevni vyšetření plicní tkáně na přítomnost larev plicnívek a případné patologické změny. Usmrcení zvířat proběhlo v souladu se Zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání. Z kadaverů byly vyjmuty plíce, které byly makroskopicky prohlíženy na případné patologické abnormality. Následně byly z plic odebrány vzorky tkáně na histopatologické vyšetření. Tento proces probíhal podle standardní metodiky. Vzorky plicní tkáně (cca 2 cm³) byly vyříznuty, fixovány v Bouinově fixáži, následně zabudovány do parafínu a na mikrotomu nařezány na 5 – 10 μm silné řezy. Tyto řezy byly nakonec obarveny hematoxylin-eozinem a prohlíženy pod mikroskopem (Olympus BX51). Přítomné patologie byly fotograficky zaznamenány.

5. Výsledky

Všechny kozy zařazené do experimentu byly na základě použité diagnostické metody vyhodnoceny jako pozitivní na přítomnost larev plicnívek – prevalence byla 100%. Podle morfologické determinace byl původcem plicní infekce pouze druh *Muellerius capillaris*. U všech sledovaných koz se jednalo o monoinfekci touto hlísticí. Intenzita infekce byla na začátku experimentu relativně nízká a dosahovala průměrných hodnot LPG $158,5 \pm 105,1$ (viz tabulka 1). Klinické příznaky onemocnění představoval zejména kašel, který však neodpovídal zjištěné intenzitě infekce.

5.1 Fenbendazol

Léčba anthelmintiky na bázi benzimidazolů byla na základě testu FLCR vyhodnocena jako úspěšná, protože 7. den po aplikaci léčiva došlo k redukci počtu larev o více než 80 %, a to u všech sledovaných jedinců (viz tabulka 2). Průměrná hodnota FLCR 7. den po aplikaci léčiva dosahovala $98,8 \pm 1,9$ %. Tento terapeutický efekt byl však krátkodobý a 1 měsíc po aplikaci fenbendazolu hodnoty LPG dokonce přesáhly původní hodnoty na začátku pokusu (viz tabulka 2). Obdobná situace byla sledována i 60. den po léčbě, i když u některých jedinců došlo k poklesu LPG. Tyto hodnoty však stále několikanásobně překračovaly intenzitu infekce zjištěnou před aplikací fenbendazolu.

Tab. 1. Intenzita infekce plicivkami *M. capillaris* u koz

koza č.	intenzita infekce (LPG)			
	den 0	7. den	30. den	60. den
01	150	42,72	1296	297,6
02	143	57,12	0	12,3
03	108	51,6	3	8,8
04	234	63	169	67,4
05	126	57,6	6750	2306
06	307	72	12	1,2
07	95	67,8	0	2,5
08	62	43,2	11	1069
09	380	86,4	0,16	0,5
10	86	21,6	30,6	95,4
11	53	22,2	0	10

Tab. 2. Účinnost fenbendazolu (Panacur 2,5% susp.), v dávce 30 mg na kg ž.h. sledovaná 7., 30. a 60. den po aplikaci léčiva. „E“ označuje (error) záporné hodnoty – tzn. hodnoty po léčbě byly vyšší než před aplikací léčiva

koza č.	redukce počtu larev (FLCR)		
	7. den	30. den	60. den
01	96,7	E	E
02	100	100	91,4
03	100	97,2	91,9
04	100	27,8	71,2
05	96	E	E
06	100	96,1	99,6
07	100	100	97,4
08	95,2	82,3	E
09	99,7	99,9	99,9
10	100	64,4	E
11	100	100	81,1

5.2 Moxidectin

Moxidectin patří mezi makrocyclické laktony, léčba tímto anthelmintikem byla na základě testu FLCR vyhodnocena jako úspěšná, protože 7. den po aplikaci léčiva došlo k redukci počtu larev o více než 80 %, jen u pěti koz. Moxidectin se stává účinným od 14. dne, a to u všech sledovaných jedinců (viz tabulka 4). Průměrná hodnota FLCR 14. den po aplikaci léčiva dosahovala $99 \pm 1\%$. Tento terapeutický efekt byl na rozdíl od fenbendazolu dlouhodobý. Jeden měsíc po aplikaci moxidectinu byly hodnoty LPG stále velice nízké a účinnost byla 100% (viz tabulka 4). Obdobná situace byla sledována i 63. den po léčbě a účinnost byla $99 \pm 1\%$.

Tab. 3. Intenzita infekce plicnivkami *M. capillaris* u koz

koza č.	intenzita infekce (LPG)				
	den 0	7. den	14. den	28. den	63. den
01	230	16	0,03	0	0,277
02	32	12	0	0	0
03	6	0	0	0	0,094
04	91	66	0	0	0
05	1143	2070	0,06	0	0
06	74	2	0	0	0,099
07	966	156	0,1	0	0
08	3	3	0,04	0	0
09	89	17	0	0	0
10	11	19	0	0	0

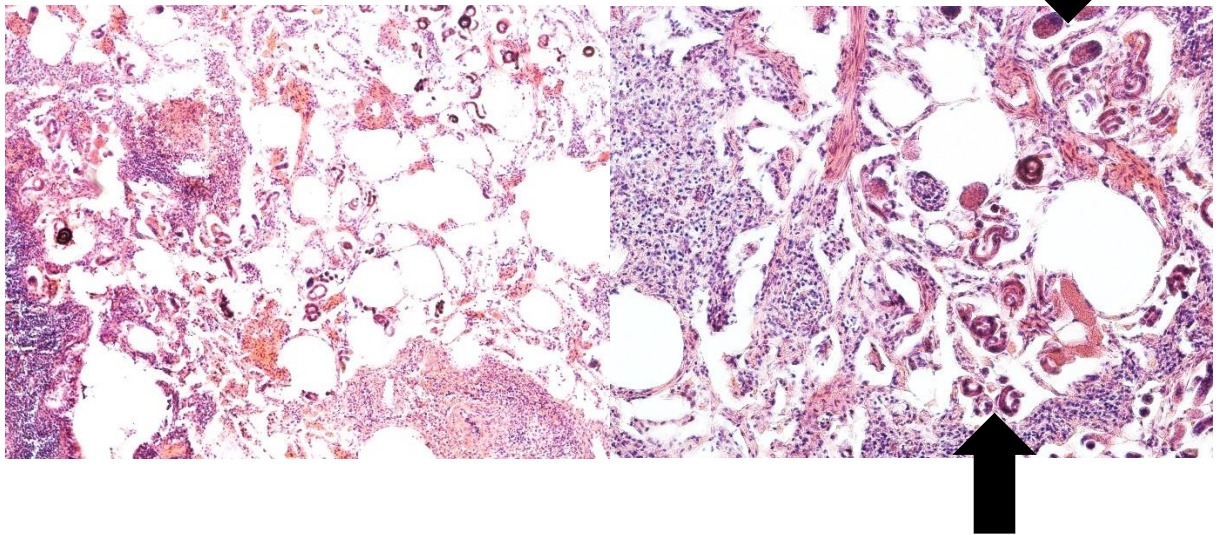
Tab. 4. Účinnost moxidectinu (Cydectin LA 2%, inj. Pfizer), v dávce 1 miligram na kilogram živé hmotnosti, byla sledovaná 7.,14., 28. a 63. den po aplikaci léčiva. „E“ označuje (error) záporné hodnoty – tzn. hodnoty po léčbě byly vyšší než před aplikací léčiva

koza č.	redukce počtu larev (FLCR)			
	7. den	14. den	28. den	63. den
01	92,7	100	100	99,9
02	60,6	100	100	100
03	100	100	100	98,5
04	26,9	100	100	100
05	E	100	100	100
06	98	100	100	99,9
07	88,8	100	100	100
08	E	98,4	100	100
09	80,5	100	100	100
10	E	100	100	100

5.3. Patologie

5.3.1 Histologie plic

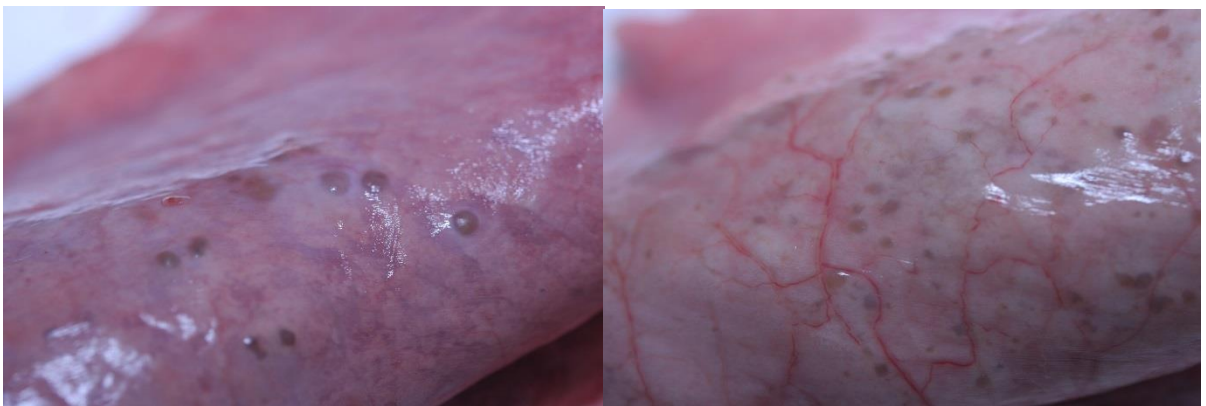
Histologická vyšetření nodulů obou koz prokázala výskyt morfologických abnormalit, které poukazují na probíhající (koza 1), či prodělanou (koza 2) verminózní pneumonii. Na vyšetřovaných řezech kozy 1, která i po léčbě vykazovala vysoké hodnoty LPG, byly viditelné parazitární útvary (vajíčka a larvy) – viz obrázek č. 3, které jsou obklopené výraznou zánětlivou infiltrací buněčnými elementy. Na histologických řezech nodulů kozy, která měla nulovou hodnotu LPG, byly také sledovány zánětlivé reakce, parazitární útvary však přítomné nebyly. Obrázek č. 3. – Histologie plic, horní šipka ukazuje na parazitární vajíčka a spodní šipka na dospělé larvy.



5.3.2 Patologie plic

Při makroskopické prohlídce byly na plicích obou kadaverů pouhým okem viditelné, noduly šedohnědé barvy. Tyto noduly byly pravidelného kulovitého tvaru (viz obrázek č. 4.), ostře ohraničené, tvrdé na pohmat a dosahovaly velikosti 2 – 5 mm. Byly lokalizovány v průběhu celého apikálního segmentu kaudálního laloku pravé i levé plíce. Četnost nodulů byla mnohem vyšší u jedince, který vykazoval vysoké hodnoty LPG. Barevně se postižená místa nelišila od zbytku plic. Po rozříznutí plicní tkáň bylo zjevné, že se noduly nenacházejí pouze na povrchu plic, ale že zasahují i relativně hluboko do tkáň (viz obrázek č. 4.).

Obrázek č. 4. - Plíce s noduly



6. Diskuse

Níže jsou popsány výsledky experimentu, který se dělal v Demonstrační a pokusné stáji České zemědělské univerzity v Praze. U tohoto experimentu jsme zjišťovali účinnost anthelmintik, a to konkrétně fenbendazol (Panacur 2.5% susp., Intervet International B.V.) v 6× vyšší dávce (30 mg FBZ na kg živé hmotnosti), než je výrobcem doporučená dávka pro ovce. Průměrná hodnota FLCR 7. den po aplikaci léčiva dosahovala $98,8 \pm 1,9$ %. Tento terapeutický efekt byl však krátkodobý a 1 měsíc po aplikaci fenbendazolu hodnoty LPG dokonce přesáhly původní hodnoty na začátku pokusu.

Rychard et Cabaret, (1992) uvádí, že hlavním faktorem, který snižuje počet larev ve výkalech, je fenbendazol v rozsahu od 3,4 do 9,6mg/kg živé hmotnosti. Na fenbendazol dobře reagují také alpská plemena, která byla v pozdní fázi březosti a měla nízké hladiny plicních hlístic. Nicméně účinnost byla nižší, než v našem případě, kdy jsme podávali fenbendazoly v dávce 30mg/kg živé hmotnosti, bez známek vedlejších příznaků. Toto také zjistili Taylor et al., (2007) uvádějí, že toxicita benzimidazolových léčiv je nízká. Bez negativních dopadů na zdravotní stav můžeme tato léčiva aplikovat až v desetkrát větším množství, než uvádí výrobce.

Taha et al., (1999) zjišťovali vliv metabolismu ovce a kozy na farmakokinetiku léčiva. Tento výzkum byl založen na různé dávce léčiva u koz a ovcí. Bylo zjištěno, že koza má přibližně dvakrát rychlejší metabolismus než ovce, proto je lepší podávat kozám dvakrát vyšší dávku než uvádí výrobce u ovcí. V našem případě se podávala 6x větší dávka fenbendazolu, než uvádí výrobce u ovcí.

Peña-Espinoza et al., (2014) uvádí, že po užití fenbendazolu v množství 5mg/kg došlo u 30 kůzlat k poklesu larev ve výkalech. Účinnost léčiva byla 49 až 56%. Výsledky v našem experimentu jsou odlišné a to až o 50%, z důvodu, že dávka, která se podávala u kůzlat, byla 6x nižší, než v našem experimentu.

Chartier et al., (1995) uvádějí, že při užívání febentelu a to konkrétně 5mg/kg, byl konečný počet larev *M. capillaris* ve výkalech 141mlečných koz takový, že: účinnost 7. den po aplikaci léčiva je 0 až 19% u 51,3% koz, účinnost 20 až 39% mělo 11,8% koz, účinnost 40 až 59% mělo 13,3 koz, účinnost 60 až 79% mělo 7% koz a konečně jako účinné, to znamená 80 až 100%, bylo zjištěno u 16,6% koz. Tyto výsledky jsou oproti našemu experimentu poněkud odlišné, je to z důvodu nízké dávky léčiva. V našem experimentu byla účinnost 7. den u všech koz téměř 100%

Banos et al., (1995) uvádějí, že albendazol v množství 5mg/kg-1 živé hmotnosti, je účinnost 86% na snížení malých plicních hlístic. Tato hodnota je zhruba o 14% nižší, než jsme zjistili při našem experimentu, je to z toho důvodu, že byla použita o 25mg/kg živé hmotnosti nižší dávka bezimidazolů.

Fleming at al., (2006) uvádějí, že lze prodloužit dobu účinnosti léčiva na bázi bezimidazolů tak, že se léčivo rozdělí na dvě dávky. V případě jednorázového podání se účinnost fenbendazolu zvýší z 50% na 92%, pokud se léčivo podává ve dvou dávkách po 12 hodinových intervalech. Tento postup jsme v našem experimentu nedělali, nicméně jsme dosáhli ještě vyšší účinnosti.

Marriner et al., (1981) zjistili, že maximální koncentrace fenbendazolu byla v krevní plazmě sledována za 24 až 36 hodin. Toto měření jsme neprováděli.

Dále jsme v experimentu hodnotili moxidectin (Cydectin LA, 2% inj., Pfizer) v dávce 1 mg/kg, což je dávka, která je doporučena pro ovce. U moxidectinu byla 7. den nižší účinnost, nicméně od 14 dne byla 100% s výjimkou jedné kozy, která měla hodnotu účinnosti 98,4%. Moxidectin na rozdíl od fenbendazolu je v 63 dni velice dobře účinný, jak dokazují výsledky, účinnost byla $99 \pm 1\%$. Tento příznivý výsledek je dán tím, že se moxidectin ukládá do tukové tkáně, odkud je postupně uvolňován. To má mimo jiné za následek delší ochranné lhůty pro maso a mléko.

Tato anthelmintika jsou silně lipofilní a ukládají se do tukové tkáně, odkud jsou postupně uvolňovány. S tím souvisí mimo jiné i delší ochranné lhůty u masa a mléka (Taylor et al., 2007). Moxidectin aplikovaný v perorální formě, podobně jako ivermectin dosahuje rychle svého maxima v krevní plazmě. Poločas rozpadu byl u ivermectinu sledován ještě 35 dnů po aplikaci (Ecomectin 1% inj.), u moxidectinu byl podobný efekt sledován ještě déle, a to až 42 dnů po aplikaci (Cydectin 2% inj.), (Shoop et al., 1995). Poločas rozpadu jsme v našem experimentu nepozorovali.

E. Papadopoulos at al., (2004) uvádí, že léčil dvě skupiny ovcí, každá skupina měla po 7 kusech. První skupina byla subkutánně léčena jedno procentním moxidectinem. Injekční roztok byl v dávce 0,2mg/kg-1 tělesné hmotnosti. Druhá skupina koz byla ošetřena orální aplikací, a to 0,1 procentním moxidectinem. Dávkování bylo stejné jako u injekčního roztoku. Tyto výsledky získali na základě vyšetřovaných výkalů a následného přepočtu na procenta. Po injekčním podání moxidectinu byla účinnost větší jak 96%, až do 100% v 21. dni. Co se týče orálního podávání moxidectinu byla účinnost větší jak 96% až do 24. dne a následně po tomto

dni byla účinnost 100%. Výsledky jsou téměř totožné s naším experimentem, kde jsme zjistili účinnost v případě injekčního podání ve 21. dni 100%, při použití 5x vyšší dávky moxidectinu než uvádějí E. Papadopoulos at al., (2004).

Peña-Espinoza et al., (2014) uvádějí, že po podání ivermectinu v dávce 0,2mg/kg perorálně a 0,2 až 0,3mg/kg živé hmotnosti, byla účinnost léčiva vyhodnocena na 81 až 83%. Při podání moxidectinu v dávce 0,2mg/kg živé hmotnosti, byla účinnost léčby vyhodnocena na rozmezí 98 až 100%. V našem experimentu, při podání moxidectinu v dávce 1mg/kg, jsme zjistili stejné výsledky, jako uvádějí Peña-Espinoza et al., (2014).

Rehbein et al., (1998) a Rehbein et Visser, (2002) zjistili, že u ivermectinu o dávce 5mg/kg je účinnost větší než 96%, to znamená snížení malých plicních hlístic o 96% (s výjimkou *M. capillaris*, pro kterou bylo zjištěno 44% účinnost). V našem případě jsme hodnotili moxidectin a jeho účinnost proti *M. capillaris*, díky těmto závěrům můžeme tvrdit, že je moxidectin účinnější než ivermectin a to až o 55%.

Moxidectin je nyní často používán v antiparazitárních programech u ovčích a kozích stád. Byly testovány obě farmaceutické formy léků (orální a subkutánní), které byly účinné proti parazitům, pokud byly podávány v dávce 0,2mg/kg-1 živé hmotnosti. E. Papadopoulos at al., (2004) uvádějí, že základě vyšetřených výkalů byly zjištěny čtyři druhy malých plicních hlístic. Bylo zjištěno, že je moxidectin účinný proti všem těmto druhům. Dokonce i *C. ocreatus*, u kterého se předpokládalo, že bude proti moxidectinu více odolný, protože se tento druh nachází uvnitř uzlin v plicním parenchymu, kam se mnohdy léky nedostanou v takovém množství, aby mohli plicní hlístice plně odstranit. Nicméně moxidectin tyto parazity efektivně odstranil (E. Papadopoulos at al., 2004). V našem případě jsme aplikovali 5x vyšší dávku moxidectinu než uvádějí E. Papadopoulos at al., (2004), ve výkalech u koz z našeho experimentu jsme po larvoskopickém vyšetření odhalili pouze monoinfekci *M. capillaris*, ale se stejným pozitivním výsledkem.

Mavrogianni et al., (2004) sledovali různé aspekty bezpečnosti moxidectinu. Bylo provedeno šest pokusů u kozy domácí, používaly se dvě lékové formy. Byla použita injekční aplikace 1% roztoku a 0,1% perorální podání. V experimentu 1 a 2 byl lék podáván dospělým kozám a kůzlatům v dávce 300, 600, 900 a 2x 300 μ g kg⁻¹. Ve 3 a 4 experimentu se léčivo aplikovalo kozám před zabřeznutím a březím kozám v dávce 300 μ g kg⁻¹. U posledního experimentu, to znamená 5 a 6, byla kozám podána společně s moxidectinem i vakcína flukicide v dávce 300 μ g kg⁻¹. Zvýšená prevalence k nežádoucím účinkům byla zjištěna u dospělých

koz, které dostaly dávku $900\mu\text{g kg}^{-1}$, 1% injekčního roztoku moxidektinu a u kůzlat, kterým bylo podáno 600 až $900\mu\text{g kg}^{-1}$, 1% injekčního roztoku. U perorální aplikace 0,1% moxidektinu v hodnotě $900\mu\text{g kg}^{-1}$ byly také pozorovány nežádoucí účinky.

Nejvýznamnější nežádoucí účinky byly ospalost, slinění, ataxie, odmítnutí kůzlat při sání. Tyto vedlejší příznaky se objevily do 4 až 8 hodin po podání léčiva, regrese nastala 36 hodin po aplikaci. Žádné jiné nežádoucí účinky nebyly pozorovány. U pokusných zvířat nebyly zaznamenány žádné nežádoucí účinky na reprodukční orgány a reprodukci. Mavrogiani et al., (2004) tedy učinili závěr, že lék je bezpečný pro použití ve všech věkových a reprodukčních fázích. V našem experimentu jsme podávali moxidektin v dávce 1mg/kg živé hmotnosti, při podávání této dávky nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky.

7. Závěr

Plicní hlístice zůstávají stále velkou hrozbou, a to i přes neustálý výzkum jejich biologie, vývojového cyklu, specifických genů, epidemiologie a nových léčiv. Tyto hlístice bývají často limitujícím faktorem úspěšného chovu pastevních koz. Pro potlačení této infekce se nejčastěji používá takzvaná chemická cesta, to znamená léčba anthelmintiky. Jedná se o nejlevnější formu a rychlou aplikaci léčiva. Nicméně se může vyskytovat problém s vytvořením rezistence na určité léčivo, stává se to hlavně v případě nevhodného dávkování léčiva nebo pokud se léčivo aplikuje příliš dlouhou dobu. Proto je důležité podávat přesné množství anthelmintik ve správné době. Je potřeba používat i preventivní metody, to znamená minimalizovat vystavení hostitele infekčním larvám a zvyšování obranyschopnosti hostitele pomocí kvalitního nedegradovaného proteinu do krmné dávky. Boj s plicnivkami je náročný a velmi obtížný, je třeba si uvědomit problematiku rezistence a raději, pokud je to možné, přejít k preventivnímu opatření.

Bylo by vhodné se nadále věnovat experimentům s podobným zaměřením a to především pro dosažení dalších srovnávacích výsledků. Je samozřejmé, že čím více se provede na dané téma experimentů, tím je možné získat objektivnější pohled na danou problematiku. Můžeme tak sledovat například rezistenci parazitů k těmto léčivům. Nebo srovnávat účinnost léčiva s jinými státy, kde se plicnivky vyskytují.

Naše vědecká hypotéza, že milbemyciny mají vyšší účinnost při kontrole plicnivek koz než fenbendazoly se potvrdila.

Parazitární onemocnění není jen regionálním problémem, ale je to problém celosvětového měřítka. Přestože se toto onemocnění nevztahuje na lidskou populaci, způsobuje velké ekonomické ztráty u hospodářských zvířat, která se nakazí z infikovaných pastvin. Z tohoto důvodu je důležité provádět pravidelnou dehelmintizaci.

Podle mého názoru by se další výzkum měl ubírat podobnou cestou, tím myslím další zkoumání účinnosti moxidektinu a nežádoucími účinky pro všechny věkové kategorie. Konkrétně u kozy domácí, protože je dosud málo studií o této problematice. Z dlouhodobého hlediska je nutné sledovat možnou vznikající rezistenci plicnivek na tyto anthelmintika.

8. Použitá literatura

- Anderson R.C., 2000, nematode parasites of vertebrates Their Development and Transmission 2nd Edition.
- Ayalew L, Frechette JL, Malo R, 1974 Seasonal fluctuation and inhibited development of populations of *Dictyocaulus filaria* in ewes and lambs. *Can J Comp Med* 38(4): 448–56.
- B. Berrag, A. Rhalem, H. Sahibi, P. Dorchies, and J. Cabaret, 1977, “Bronchoalveolar cellular responses of goats following infections with *Muellerius capillaris* (protostrongylidae, nematoda),” *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 58, no. 1, pp. 77–88.
- Banos, P.D., Pelayo, P.M., Gonzalez, E.B.C., Sandez, C.L., Penela, A.F., 1995. Assessment of albendazole treatment against ovine lungworms in north-west Spain (Es). *Rev. Vet. Mex.* 26, 117–121.
- Beresford-Jones WP. Observations on *Muellerius capillaris* (Mueller, 1889) Cameron, 1927 III. Experimental infection of sheep. *Res Vet Sci* 1967;8:272–9.
- Berrag B, Rhalem A, Sahibi H, 1997 Bronchoalveolar cellular responses of goats following infections with *Muellerius capillaris* (Protostrongylidae, Nematoda). *Vet Immunol Immunopathol*;58(1):77–88.
- Bliss DH, 1998, Myers GH. Lungworm (*Dictyocaulus*) outbreak in lactating dairy cows. *Large Anim Pract* ;19(2):20–3.
- Boev, S.N. 1975. *Protostrongylids. Fundamentals of Nematology*, Vol. 25. Academy of Science of the USSR. (Translated by Amerind Publishing Co., New Delhi, 1984.)
- Boev. S. N. 1961 In Galuzo I. G. et al., eds *Prirodna ochagovost, boleznet i vopross parazitologii*. 272-281.

Breeze R., 1985. Parasitic bronchitis and pneumonia. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1(2):277–87.

Brown, H.D., Matzuk, A.R., Ilves, I.R., Peterson, L.H., Harris, S.A., Sarett, L.H., Egerton, J.R., Yakstis, J.J., Campbell, W.C., Cuckler, A.C. 1961. Antiparasitic drugs. IV. 2-(4 – thiazolyl) – benzimidazole, a new anthelmintik. *Journal of the American Chemical Society*, 83, 1764 – 1765.

Buchwalder, R., 1963. Research on techniques of lungworm larvae detection in cattle and sheep. *Mh. Vet. Med.* 18, 457±460.

C Chartier, A Kulo, J Cabaret, I Pors, C Benoit, 1995, Individual fluctuations in efficacy of febantel against *Muellerius capillaris* in goats. *Vet Res*26, 116-123.

Cabaret, J., 1991. Efficacy of netobimin against *Muellerius capillaris* and resistant strain of digestive tract strongyles in dairy goats. *Am. J. Vet. Res.* 52, 1313–1315.

Cabaret, J., Pandey, V. 1986. The use of tracer lambs for monitoring protostrongylid infection on extensit pastures of Marroco. *Annals of veterinary research.* 1. 69 – 73.

Castanon-Ordenez, L. (1982) Ciclo interno de *Neostrogylus linearis* (Marotel, 1913) Gebauer, 1932 (Nematoda, Protostrongylidae) en la oveja. *Hygia Pecoris* 4, 21–31.

Coles G.C., 2001. The future of veterinary parasitology. *Vet Parasitol* 98:31–39

Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., Rubino, R., 2004. Effectiveness of eprinomectin pour-on against gastrointestinal nematodes of naturally infected goats. *Small Rumin. Res.* 55,209–213.

Davtyan, E.A., 1949. Cycle of development of lung nematodes of sheep and goats of Armenia. *Zoologicheskii Sbornik, Akademiya Nauk Armyanskoi SSR, Erevan, USSR* 6, 185–266. (In Russian.) *Dictyocaulus viviparus* infection and on resistance in calves. *Vet Rec* 107(12):271–5.

Dietrich, Ch., Sommer, R. 2009. How to become a parasite – lessons from the genomes of nematodes. *Trends in Genetics*. 5. 203 – 209.

Divina BP, Wilhelmsson E, Mattsson JG, Waller P, Höglund J., 2000. Identification of *Dictyocaulus* spp. in ruminants by morphological and molecular analyses. *Parasitology* 121:193–201

Dorchies P, Cardinaud B, Fournier R., 1996. Efficacy of moxidectin as a 1% injectable solution and a 0.1% oral drench against nasal bots, pulmonary and gastrointestinal nematodes in sheep. *Vet Parasitol* 65(1–2):163–8.

Douvres FW, Lucker JT, 1958. The morphology of the parasitic stages of the cattle lungworm, *Dictyocaulus viviparus*, in experimentally infected guinea pigs. *J Parasitol* 44:28–29

Downey NE., 2004 Effect of treatment with levamisole or fenbendazole on primary experimental. E. Papadopoulos , S. Sotiraki , C. Himonasa, G.C. Fthenakis, 2004. Treatment of small lungworm infestation in sheep by using moxidectin, *Veterinary Parasitology* 121, 329–336.

Eddi CS, Williams JC, Swalley RA., 1989. Epidemiology of *Dictyocaulus viviparus* in Louisiana (U.S.A.). *Vet Parasitol* 31(1):37–48.

Eddi, C., Williams, J., Swalley, R. 1989. Epidemiology of *Dictyocaulus viviparus* in Louisiana (U. S. A.). *Veterinary Parasitology*. 1. 37 – 4

Eysker M., 1997. The sensitivity of the Baermann method for the diagnosis of primary *Dictyocaulus viviparus* infections in calves. *Vet Parasitol* 69(1–2):89–93.

Fleming, S.A., Craig, T., Kaplan, R.M., Miller, J.E., Navarre, Ch., Rings, M. 2006. Anthelmintic resistance of gastrointestinal parasites in small ruminants. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(2), 435 – 444.

Gerichter, C.B., 1951. Studies on the lung nematodes of sheep in the Levant. *Parasitology* 41, 166–183.

Geurden T, Vercruyse J, 2007, Field efficacy of eprinomectin against a natural *Muellerius capillaris* infection in dairy goats

Goldberg A., 1952, Experimental infection of sheep and goats with the nematode lungworm *Dictyocaulus filaria*. *Am J Vet Res* 13(49):531–6.

Goldberg, A. 1952. Experimental infection of sheep and goats with the nematode lungworm *Dictyocaulus filaria*. *American journal of veterinary research*. 49. 531 – 53.

Gregory E, Foreyt WJ, Breeze R., 1985, Efficacy of ivermectin and fenbendazole against lungworms. *Vet Med* 80(2):114–7.

Helle O., 1986, The efficacy of fenbendazole and albendazole against the lungworm *Muellerius capillaris* in goats. *Vet Parasitol* 22(3–4):293–301.

Henriksen, S.A., 1965. An improved technique for the examination of faeces for larvae of lung worms. *Nord. Vet. Med.* 17, 446±454.

Höglund J, Gånheim C, Alenius S., 2003. The effect of treatment with eprinomectin on lungworms at early patency on the development of immunity in young cattle. *Vet Parasitol* 114(3): 205–14.

Chroust, K. 2006. Parazitózy u masných plemen skotu v marginálních oblastech a jejich tlumení. *Veterinářství*. 56. 430 – 437.

Chroust, K., Horak, F., Žižlavská, S. 2008. Vyznam spoločne pastvy skotu a ovci při tlumeniparazitov. Veterinařstvi. 58. 455 – 458.

Chroust, K., Vitula, F. 2005. Anthelminticka účinnost Cermixu premix na hlistice u zvěře. Veterinařstvi. 55. 707 – 713.

Jarrett WFH, McIntyre WIM, Urquhart GM., 1957. The pathology of experimental bovine parasitic bronchitis. J Pathol Bacteriol 73(1):183–93.

Jurašek, V., Dubinsky, P. 1993. Veterinarna parazitologia. Nakladatelstvi Priroda. Bratislava. 382 s. ISBN: 80 – 07 – 00603 – 6.

Kooyman, F., Yatsuda, A., Ploeger, H., Eysker, M. 2002. Serum IgE response in calves infected with the lungworm *Dictyocaulus viviparus* and its correlation with protection. Parasite immunology. 24. 47 – 56.

Lat-Lat H, Sani RA, Hassan L, Sheikh-Omar AR, Jeyabalan S, Hishammfariz M, Rohani K, Azlan E, Ramli P, 2010. Lungworm of cattle in Malaysia. Trop Biomed 27:236–240.

Levine ND., 1980. Lungworms and related nematodes. In: Nematode parasites of domestic animals and man. 2nd edition. Minneapolis (MN): Burgess Publishing Co.; 1980. p. 222–95.

Lyons ET, Hemken RD, Button FS., 1981. Overwintering of larvae of the cattle lungworm (*Dictyocaulus viviparus*) on pasture in Kentucky. J Am Vet Med Assoc 179(5):456–7.

Mansfield LS, Gamble HR, Baker JS, 1993. Lungworm infection in a sheep flock in Maryland. J Am Vet Med Assoc 202(4):601–6.

Stancheva M., Panayotova-Pencheva, Tsvyatkov M., Alexandrov, 2010. Some Pathological Features of Lungs from Domestic and Wild Ruminants with Single and Mixed Protostrongylid Infections.

Marriner, S:E., Bogan, J.A. 1981. Pharmacokinetics of fenbendazole in sheep. American Journal of Veterinary Research, 42(7), 1146 – 1148.

Matekin, P. V., Turligina, E. S., and Shalaeva, N. M. 1954. (Contribution to the biology of the larvae of protostrongylids of sheep and goats and epizootology of protostrongylosis in Central Asia.) Zoologicheskyy Zhurnal 33, 373-394. (In Russian.)

Mavrogianni, V.S., Fthenakis, G.C., Papadopoulou, E., Skoufos, J., Christodoulopoulos, G., Tzora, A. 2004. Safety and reproductive safety of moxidectin in goats. Small Ruminant Research 54, 33–41.

Mc Kenna, 1999. Comparative evaluation of two emigration/sedimentation techniques for the recovery of dictyocaulid and protostrongylid larvae from faeces. Veterinary Parasitology 80 (1999) 345-351.

McCraw BM, Menzies PI., 1986. Treatment of goats infected with the lungworm *Muellerius capillaris*. Can Vet J 27(8):287–90.

Mitreva, M., Blaxter, M., Bird, D., McCarter, J. 2005. Comparative genomics of nematodes. Trends in Genetics. 10. 573 – 581.

Müller, F.R., 1934. Ein Beitrag zur Entwicklung des Lungenwurmes *Neostongylus linearis* Marotel, 1913. *Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin* 2, 158–161.

Pancier, R., Confer, A. 2010. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. The Veterinary clinics of North America. Food animal practice. 2. 191 – 214.

Panuska C, 2006. Lungworms of ruminants. Vet Clin North Am Food Anim Pract 22:583–593

Peña-Espinoza M, Thamsborg SM, Demeler J, Enemark HL, 2014, Field efficacy of four anthelmintics and confirmation of drug-resistant nematodes by controlled efficacy test and pyrosequencing on a sheep and goat farm in Denmark. *Vet Parasitol.* 2014 Dec 15;206(3-4):208-15.

Ploeger, H. 2002. *Dictyocaulus viviparus*: re – emerging or never been away? *Trend in Parasitology.* 8. 329 – 331.

Poynter D., 1968. Parasitic bronchitis. In: Dawes B, editor. *Advances in parasitology*, Vol. 6. London and New York: Academic Press; p. 349–59.

Poynter D., 1966. Some tissue reactions to the nematode parasites of animals. In: Dawes B, editor. *Advances in parasitology*, Vol. 4. London and New York: Academic Press; 1966. p. 321–83.

Ranjan S, DeLay R., 2004 Therapeutic and persistent efficacy of moxidectin 1% nonaqueous injectable formulation against natural and experimentally induced lung and gastrointestinal nematodes in cattle. *Vet Parasitol*;120(4):305–17.

Rehbein, S., Batty, A.F., Barth, D., Visser, M., Timms, B.J., Barrick, R.A., Eagleson, J.S., 1998. Efficacy of an ivermectin controlled-release capsule against nematode and arthropod endoparasites in sheep. *Vet. Rec.* 142, 331–334.

Rehbein, S., Visser, M., 2002. Efficacy of ivermectin delivered via a controlled-release capsule against small lungworms (Protostrongylidae) in sheep. *J. Vet. Med. B* 49, 313–316.

Richard S, Cabaret J, 1992. Individual variations in efficacy of fenbendazole against the small lungworm *Muellerius capillaris* in dairy goats. *Small Ruminant Res* 8, 151-159.

Rock, D.W., DeLay, R.L., Gliddon, M.J. 2002. Chemistry, Pharmacology and Safety: Moxidectin. In Vercruysse, J., Rew, R.S. *Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy*. CABI Publishing, 75 – 93

- Rojo-Vazquez, F.A. and Cordero del Campillo, M., 1974. Le cycle biologique de *Neostrogylus linearis* (Marotel, 1913) Gebauer, 1932. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 49, 685–699.
- Rose JH., 1965. Some observations on the transmission of lungworm infection in a flock of sheep at pasture. *Res Vet Sci*;6:189–95.
- Sagoyan, I.S., 1950. Experimental cystocauliasis of sheep. *Trudi Armyanskogo Nauchno-Issledovatel'skogo Veterinarnogo Instituta, Arm GIZ, Erevan, USSR* 7, 127–139.
- Samson-Himmelstjerna G, Schnieder T., 1999. Morphology of inhibited larvae of the bovine lungworm *Dictyocaulus viviparus*. *J Helminthol* 73:79–83.
- Shop, W.L., Mrozik, H., Fisher, M.H. 1995. Structure and activity of avermectins and mylbemicins in animal health. *Veterinary Parasitologi*, 59(2), 139 – 156.
- Schmidt, G., Roberts, L. 2009. *Foundations of parasitology* . Eight edition. Published by McGraw – Hill. New York. 670 s. ISBN: 978 – 0 – 07 – 302827 – 9.
- Smith MC, Sherman DM., 1994. Respiratory system. In: *Goat medicine*. Malvern (PA): Lea & Febiger; p. 247–74.
- Solomon A, Ilan P, Itamar G., 1998. Desiccation tolerance of *Muellerius cf. capillaris* (Nematoda: Protostrongylidae) first-stage larvae. *J Parasitol*;84(4):802–5.
- Soulsby E.J.L., 1982. Nematodes. In: *Helminths, arthropods, and protozoa of domesticated animals*. 7th edition. London: Lea & Febiger; p. 262–9.
- Taylor, M., Coop, R., Wall, R. 2007. *Veterinary Parasitology*. Publishing Blackwell. 874 s. ISBN: 978 – 1 – 4051 – 1964 – 1.

Verster A, Collins HM, Anderson PJS., 1971. Studies on *Dictyocaulus filaria* IV. The morphogenesis of the parasitic stages in lambs. *Onderstepoort J Vet Res*;38(3):199–206.

Wilson GI., 1970. The strength and duration of immunity to *Dictyocaulus filaria* infection in sheep and goats. *Res Vet Sci*;11(1):7–17.

Winters J., Worley, D. 1975. Distribution and seasonal prevalence of bovine lungworm in selected areas in western Montana. *American journal of veterinary research*. 36. 327 – 329.

Zajac, A., Conboy, G. 2006. *Veterinary clinical parasitology*. American Association of Veterinary Parasitologists. 305 s. ISBN: 0 – 8138 – 1734 – X.

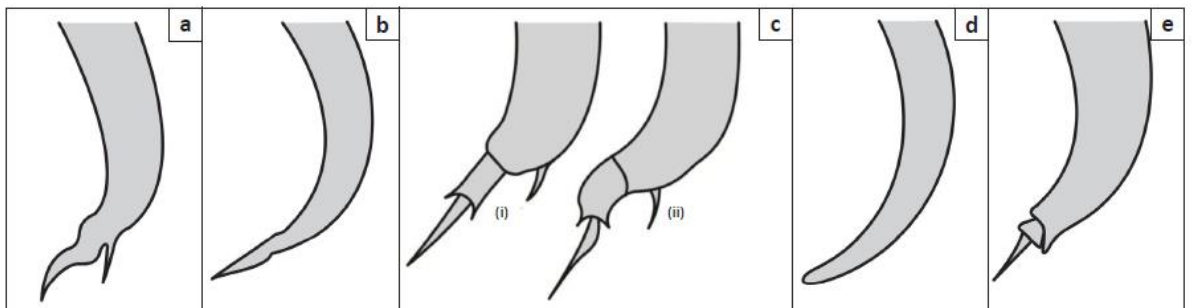
Ždarska, Z. 1960 Larvalni stadia cizopasných cervu z našich suchozemských plzu. *Ceskoslovenska Parasitologie* 7, 355–379. (In Czechoslovakian.).

9. Příloha

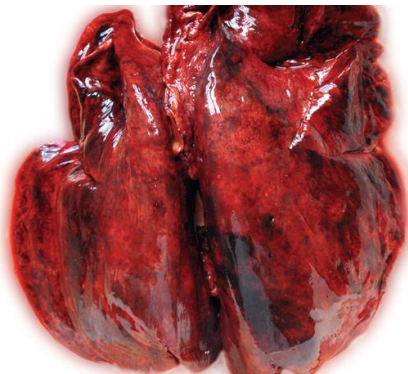
Obrázek č. 5 - Larva *Muellerius capillaris* v prvním vývojovém stádiu.



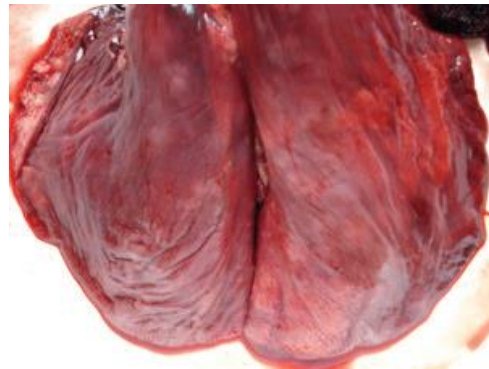
Obrázek č. 6 – Klíč k rozpoznání pěti druhů plicnivek: (a) *Muellerius capillaris*, (b) *Protostrongylus rufescens*, (c) *Cystocaulus ocreatus*, (d) a *Dictyocaulus Filaria* (e) *Neostrongylus linearis*.



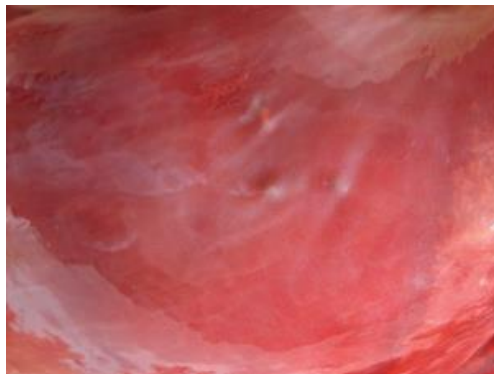
Obrázek č. 7 - Plíce přežvýkavců infikované plicnivkami. (a) Jsou to plíce muflona infikované *Muellerius capillaris*, mající tmavě šedé až černé přetížené oblasti. (b) Opět plíce muflona infikované *Muellerius capillaris*, jsou zde patrné dobře tvarované, tvrdé, šedé uzliny. (c) Plíce muflona, infekce *Muellerius capillaris*, jsou zde patrné malé tvrdé uzliny o velikosti 1 – 5 milimetrů nacházejí se pod pohrudnicí. (d) Ovčí plíce, infekce *Muellerius capillaris*, uzlíky mírně vystouplé a dobře odlišné od okolní tkáně. (e) Kozí plíce, infekce *Protostrongylus rufescens*, tmavě červené až šedé uzlíky v hustě osídlených oblastech. (f) Plíce koz, infekce *Protostrongylus rufescens*, Dospělí červi v průduškách.



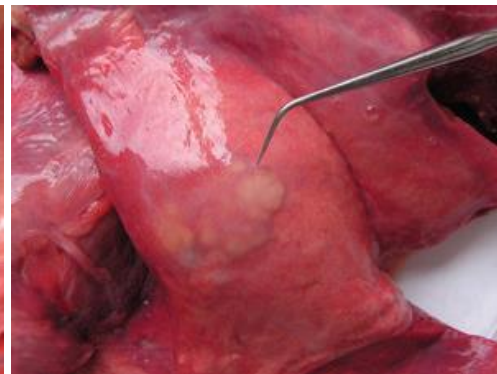
(a)



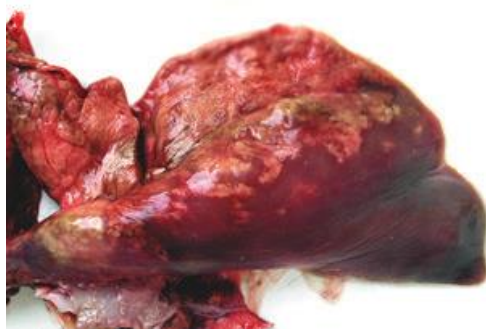
(b)



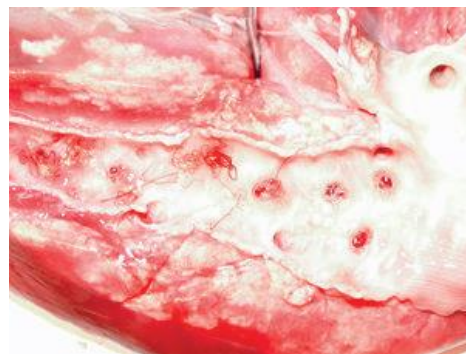
(c)



(d)

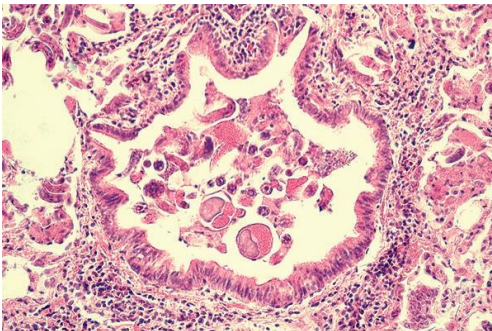
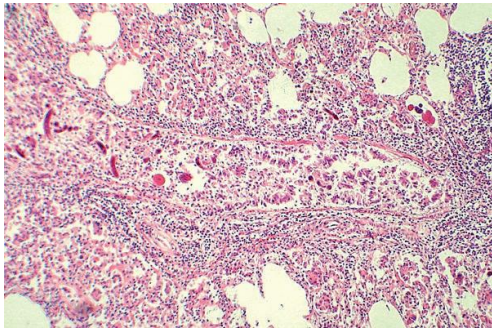


(e)

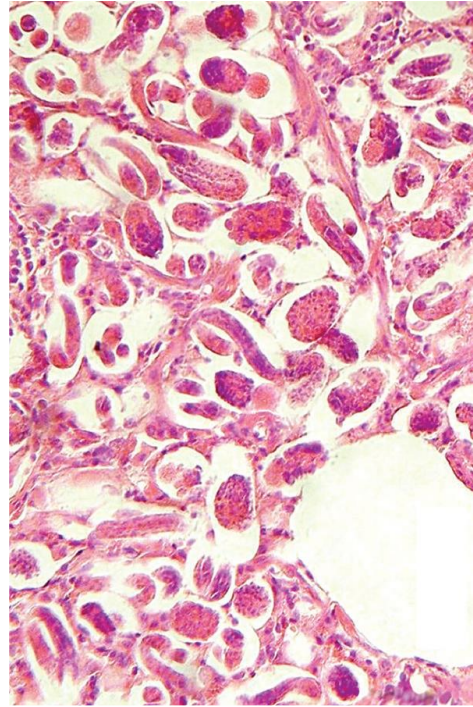


(f)

Obrázek č. 8 - Plíce koz infikované plicnivkami. (a) Uzlík s *Muellerius capillaris*, bronchiální lumen s larvami. (b) Lobulární léze *Muellerius capillaris*, bronchiální lumen s dospělými parazity, larvy, alveolární makrofágy, a mírná peribronchiolární lymfoidní hyperplazie. (c) Uzlík s *Muellerius capillaris*, plicní sklípky s vajíčky a prvním vývojovým stádiem bez ztlustění alveolárního septa.

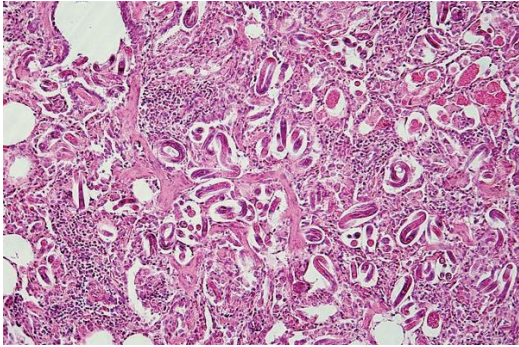


(b)

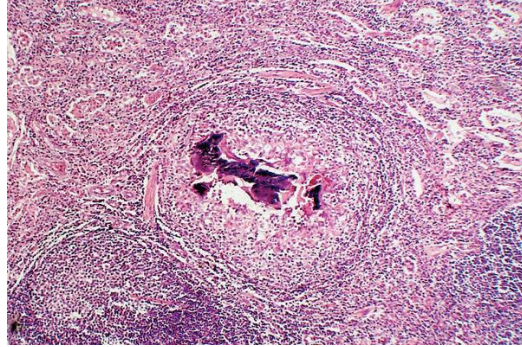


(c)

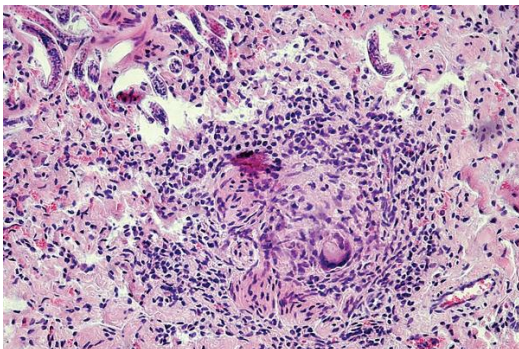
Obrázek č. 9 - (a) Ovčí plíce, uzlík s *Muellerius capillaris*, jsou zde alveoly s parazity, buňky hladkého svalstva, hyperplazie a zahušťování alveolárního septa. (b) Ovčí plíce, uzlíky s *Muellerius capillaris*, parazitární granulomy, s kalcifikací v nekrotickém centru a lymfoidní hyperplazie v periferii. (c) Plíce muflona, uzlíky s *Muellerius capillaris*, granulomy s obrovskými buňkami. (d) Ovčí plíce, lobulární léze s *P. hobmaieri*, serózní alveolitida. (e) Ovčí plíce, lobulární léze s *P. hobmaieri*, plicní sklípky s obrovskými buňkami. (f) Plíce muflona, uzlíky s *Muellerius capillaris*, alveolární makrofágy v plicních sklípcích.



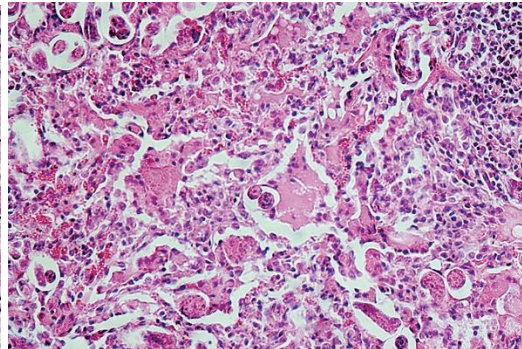
(a)



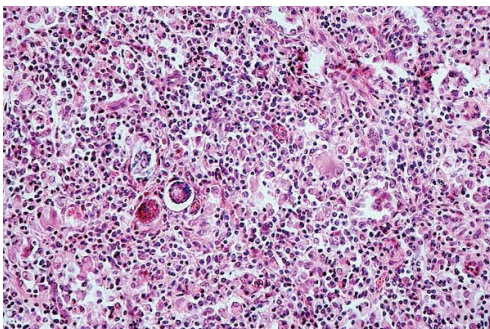
(b)



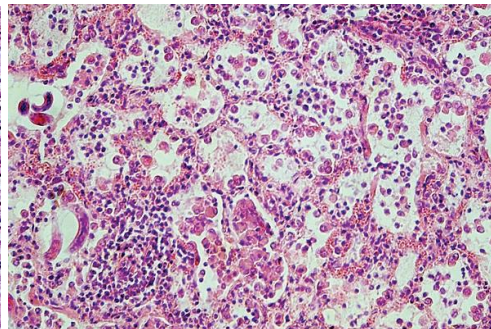
(c)



(d)

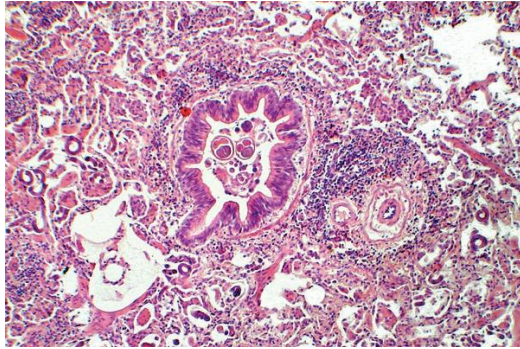


(e)

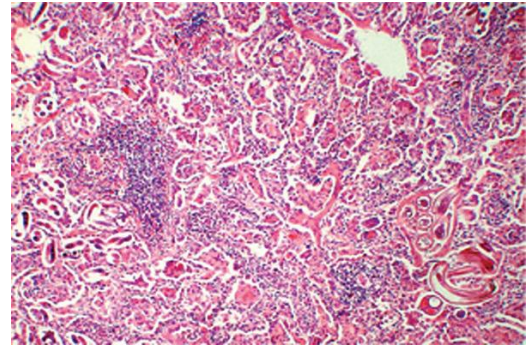


(f)

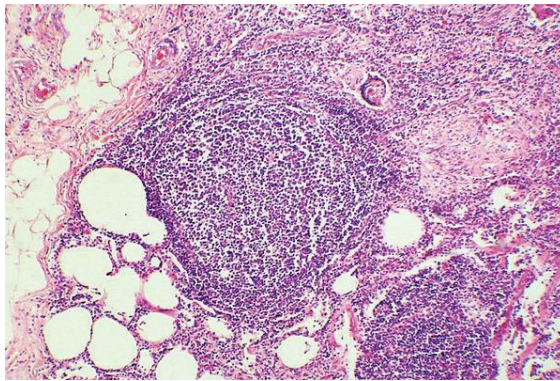
Obrázek č. 10 - Plíce ovčí infikované plicivkami. (a) uzlík s *Muellerius capillaris*, Peribronchiolárním lymfoidní hyperplazie. (b) Loburální léze s *P. hobmaieri*. Diseminovaná lymfoidní hyperplazie. (c) Intralobulární lymfoidní hyperplazie, tvorba lymfoidních uzlíků. (d) Loburální léze s *Muellerius capillaris*.



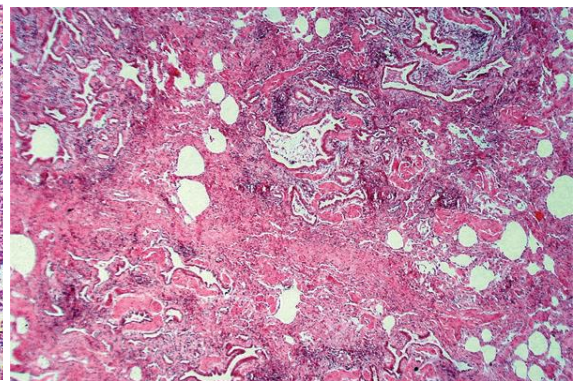
(a)



(b)



(c)



(d)