

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH  
BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Všeobecné zemědělství

Katedra: Katedra veterinárních disciplín

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Endoparazitární infekce koní**

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Martin Kváč, Ph.D.**

Vypracovala: **Pavla Wagnerová**

České Budějovice, duben 2011

Wagnerová, P., 2011. Endoparazitární infekce koní [Endoparasites of horses]. 90 pp., University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Agriculture, Czech Republic.

**Annotation:**

A total of 587 faecal samples were collected from 98 horses of different age from three farms with various breeding system (pasture, stable and combination) in the South Bohemia, Czech Republic during three consecutive years (from 2009 to 2011), and screened for the presence of endoparasites, especially these inhabiting gastrointestinal tract and lung, using standard parasitological methods including flotation, sedimentation and staining methods. Moreover presence of *Encephalitozoon* spp. was detected using genus specific nested PCR. Small strongyles were the most common nematodes among studied horses. The age of animals was evaluated as a risk factor in relation to *Eimeria leuckarti*, *Strongyloides westeri* and *Parascaris equorum* infection in foals. The resistance of small strongyles (Cyathostominae) to benzimidazol anthelmintics has been revealed only on one of the visited farm. Most of examined animals were mono-infected. The breeding of horses in the stable represent management system with lowest risk in relation to parasitic infection of animals. Molecular analysis revealed the presence of human pathogenic *Encephalitozoon cuniculi* genotype I in horses.

Prohlašuji, že diplomovou práci na téma „**Endoparazitární infekce koní**“ jsem vypracovala samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů uvedených v seznamu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne

.....

Pavla Wagnerová

Ráda bych tímto poděkovala svému školiteli doc. Ing. Martinu Kváčovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při zpracování diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat všem pracovníkům Laboratoře veterinární a humánní protistologie za pomoc při práci v laboratoři. Rovněž chci poděkovat majitelům koní za poskytnutí vzorků a potřebné informace. Neméně mé poděkování patří také celé mojí rodině.

Tato práce vznikla za podpory grantového projektu Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (022/2010/Z) a výzkumného záměru Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (MSM6007665806).

## OBSAH

<b>1. ÚVOD .....</b>	<b>7</b>
<b>2. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....</b>	<b>7</b>
2.1. Paraziti a parazitární infekce koní .....	7
2.1.1. Mikrosporidie.....	9
2.1.2. <i>Eimeria leuckarti</i> .....	10
2.1.3. Velcí strongylidi (Strongylinae) .....	12
2.1.4. Malí strongylidi (Strongylida: Cyathostominae) .....	16
2.1.5. <i>Strongyloides westeri</i> .....	22
2.1.6. <i>Parascaris equorum</i> (Ascaridata).....	24
2.1.7. <i>Dictyocaulus arnfieldi</i> (Dictyocaulidae).....	28
2.1.8. <i>Oxyuris equi</i> (Oxyurata) .....	31
2.1.9. Tasemnice (Cestoda, Cyclophyllidea) .....	32
2.2.1. Anthelmintika .....	38
2.2.1.1. Mýty o koňských anthelmintikách.....	38
2.2.1.2. Pravidla aplikace anthelmintik.....	38
2.2.1.3. Alternativní preparáty .....	38
2.2.1.4. Antiparazitární programy.....	39
2.2.1.5. Rezistence parazitů na anthelmintika.....	40
<b>3. CÍLE .....</b>	<b>41</b>
<b>4. MATERIÁL A METODIKA .....</b>	<b>42</b>
4.1. Charakteristika sledovaných chovů.....	42
4.1.1. Chov slovenského teplokrevníka ve Vlčevsi .....	42
4.1.2. Sportovní a obchodní stáj Kavalo Tábor .....	43
4.1.3. Soukromá stáj Tábor .....	43
4.2. Odběr vzorků pro parazitologické vyšetření .....	44
4.3. Parazitologické vyšetření.....	44
4.3.1. Flotačně-koncentrační metoda dle Sheathera .....	44
4.3.2. Sedimentace pomocí metody MIFC .....	45
4.3.3. Sedimentace pomocí metody AMS .....	46
4.3.4. Barvení oocyst kryptosporidií dle Miláčka a Vítovce .....	46
4.3.5. Larvoskopie dle Baermanna .....	47

4.3.6. Účinnost a rezistence na anthelmintika .....	47
4.3.7. Hodnocení intenzity infekce jednotlivých druhů parazitů .....	48
4.3.8. Molekulární detekce a genotypizace <i>Encephalitozoon</i> spp. ....	49
4.3.8.1. Izolace DNA.....	49
4.3.8.2. Molekulární identifikace <i>Encephalitozoon</i> spp.....	49
4.3.8.3. Gelová elektroforéza .....	50
4.3.8.4. Příprava vzorků na sekvenci a sekvence .....	51
<b>5. VÝSLEDKY .....</b>	<b>52</b>
5.1. Vliv chovu a technologie na výskyt a prevalenci parazitů .....	53
5.2. Vliv věku na výskyt a prevalenci jednotlivých parazitů .....	58
5.3. Vliv ročního období na výskyt a prevalenci parazitů .....	60
5.4. Intenzita infekce, monoinfekce vs. smíšené infekce .....	62
5.5. Účinnost a rezistence na anthelmintika .....	64
5.6. Genotypizace mikrosporidií .....	67
<b>6. DISKUZE .....</b>	<b>68</b>
6.1. Vliv chovu a použité technologie na výskyt, prevalenci a intenzitu parazitárních infekcí .....	68
6.2. Vliv ročního období na výskyt parazitů .....	70
6.3. Výskyt rezistence na anthelmintika.....	70
6.4. Vliv věku na výskyt <i>S. westeri</i> , <i>P. equorum</i> a <i>E. leuckarti</i> .....	72
6.5. Monoinfekce vs. smíšené infekce .....	75
6.6. Nález mikrosporidie <i>Encephalitozoon cuniculi</i> .....	76
<b>7. ZÁVĚR.....</b>	<b>77</b>
<b>8. SEZNAM LITERATURY .....</b>	<b>78</b>

## 1. ÚVOD

Paraziti mohou velmi negativně ovlivňovat zdravotní stav, pohodu a výkonnost koní. Nejvíce ohroženou skupinou bývají hříbata a mladí koně odchovávaní pastevním způsobem. Koně postižení masivní parazitární infekcí nápadně hubnou, mají zježenou srst, často se u nich objevují průjmy a intermitentní koliky. V některých případech bez včasné terapie končí parazitární infekce pro hostitele smrtí. Z těchto důvodů je velmi důležité věnovat parazitům koní náležitou pozornost.

Postupy, kterými lze snížit či úplně omezit výskyt parazitů nejen v chovech koní, lze rozdělit na veterinární (aplikace antiparazitárních přípravků) a chovatelská opatření, zajišťující snížení nebo zamezení možnosti kontaktu koní s infekčními vývojovými stádii parazitů. Cílem komplexu opatření skládajícího se z antiparazitárního programu, založeného na znalosti epizootologie parazitů a z vhodně navrženého chovatelského managementu, zahrnujícího péči o pastviny a výběhy, dodržování základních hygienických zásad ve stájích a přilehlých prostorách, je přerušení vývojového cyklu parazitů a ozdravení chovů.

Vzhledem k tomu, že v řadě případů jsou parazitární infekce koní často opomíjené a aplikace antiparazitárních léčiv většinou nevychází z aktuální znalosti extenzity a intenzity parazitárních infekcí v chovech koní, budeme se v této práci zabývat výskytem endoparazitárních infekcí koní v závislosti na věku a způsobu chovu. Dále bude posouzena rezistence nalezených parazitů k používaným antiparazitikům.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Paraziti a parazitární infekce koní

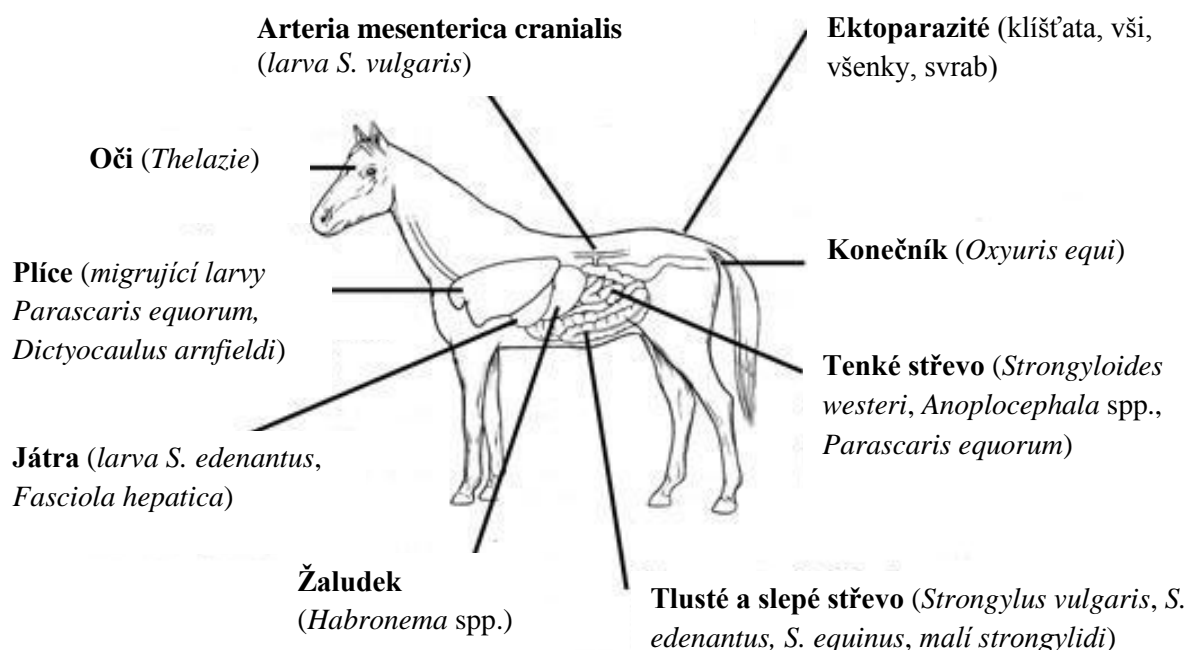
Paraziti koní mají úzkou hostitelskou specifitu a kůň je pro ně téměř vždy definitivním hostitelem. Problematika parazitární infekce koní představuje velmi důležitou součást veterinární medicíny. Kůň je hostitelem několika desítek druhů vnitřních a vnějších parazitů, z nichž přibližně 40 druhů je považováno za časté parazity a řada z nich má nesporný klinický význam (Koudela 2008a). V tabulce 1 je uveden seznam aktuálně nejzávažnějších endoparazitů koní. Vedle tradičních parazitů jako jsou helminti, se v současné době objevují také noví, klinicky významní paraziti, jako například vícehostitelská kokcidie *Sarcocystis neurona*,

původce koňské protozoální myeloencefalitidy (EMP). V obrázku č. 1 je uveden přehled lokalizace nejčastějších parazitů koní.

**Tabulka 1. Seznam aktuálně nejzávažnějších endoparazitů koní (upraveno dle Koudela 2008a)**

Pořadí	Parazit/paraziti
1.	Malí strongylidi, podčeleď <i>Cyathostominae</i>
2.	<i>Parascaris equorum</i>
3.	<i>Anoplocephala</i> spp.
4.	Velcí strongylidi, podčeleď <i>Strongylinae</i>
5.	<i>Oxyuris equi</i>
6.	Střečci rodu <i>Gasterophilus</i>
7.	<i>Strongyloides westeri</i>
8.	<i>Habronema</i> spp., <i>Drachsia megastoma</i>
9.	<i>Eimeria leuckarti</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Giardia intestinalis</i>
10.	<i>Sarcocystis neurona</i>

**Obrázek 1. Lokalizace nejčastějších parazitů koní (upraveno dle Foreyt 2001)**



V následujícím textu se budeme věnovat pouze druhům a rodům vnitřních parazitů koní, které byly nalezeny během našeho terénního sledování.



### **2.1.1. Mikrosporidie**

Mikrosporidie jsou obligátní intracelulární paraziti, kteří infikují široké spektrum bezobratlých a obratlovců včetně člověka (Didier et Weiss 2006). Je známo přibližně 1200 druhů mikrosporidií patřících do 150 rodů (Keeling et Fast 2002). Největší náchylnost k infekci mají imunodeficientní jedinci (Weber et al. 2000). Mezi hlavní rody infikující lidi patří *Encephalitozoon* spp. a *Enterocytozoon bieneusi*.

*Encephalitozoon cuniculi* je nalézán především u králíků, potkanů, toulavých psů (Snowden 2004) a mnoha druhů ptáků (Wasson et Pepper 2000). O výskytu *Encephalitozoon cuniculi* u koní je v literatuře velmi málo údajů.

#### **Taxonomie**

V současné době jsou mikrosporidie řazeny do říše Fungi (Keeling et al. 2000; Keeling 2003).

#### **Morfologie**

Spóry mikrosporidií jsou oválného tvaru, jejich velikost se pohybuje mezi 1 - 20 µm. Elektronendzní exospory mají na povrchu proteinovou vrstvu, elektronendzní endospory jsou tvořené chitinem a plazmatickou membránou obklopující cytoplazmu, vakuoly, membránu polaroplastu a vystřelovací aparát (Cali 1991). Mikrosporidie mají eukaryotní jádro, intracelulární membránový systém a chromozomy, nemají mitochondrie, peroxisomy a Golgiho komplex.

#### **Vývojový cyklus**

Vývojový cyklus je přímý, skládající se ze tří fází - inkreční, proliferativní a fáze sporogonie (Cali et Takvorian 1999) a může probíhat uvnitř parazitoformní vakuoly (např. *Encephalitozoon* spp.) nebo v cytoplazmě hostitelské buňky (např. *Enterocytozoon bieneusi*, *Nosema* spp.).

K přenosu infekce dochází z jednoho hostitele na druhého, některé mikrosporidie mohou během svého vývoje vystřídat dva druhy hostitelů. Nejčastěji se zralá spora dostává do těla pozřením či vdechnutím, méně častá je oční či transplacentární infekce (Canning et Lom 1986). Mikrosporidie prochází během svého vývoje merogonií a sporogonií. Při merogonii vzniká meront dozrávající ze sporoplazmy, následuje období růstu, kdy vznikají dceřiné buňky merozoity morfologicky identické s merontem. Při sporogonii se sporonti, odvození z merozoitů, vyvíjejí ze

sporoblast s částečně vytvořeným vystřelovacím aparátem dozrávajícím v infekční spory (Vávra et Larrison 1999).

### **Diagnostika**

Diagnostika je obtížná, jelikož spory mikrosporidií jsou velmi malé. Původně se k detekci používala transmisní elektronová mikroskopie, ale po vzniku nových barvicích technik vhodných pro světelnou mikroskopii a molekulárních metod jako nested - PCR, její význam upadá.

### **Patogeneze a klinické příznaky *E. cuniculi***

*Encephalitozoon cuniculi* způsobuje mozkovou encefalitidu a záněty ledvin u imunokompetentních králíků a potkanů (Wasson et Pepper 2000). U masožravců se vyskytuje u nenarozených mláďat v prenatálním vývoji, postihuje mozek, ledviny, játra a plíce (Szabo et Shaddock 1987).

Výskyt *E. cuniculi* u koní je spojován s reprodukčními problémy klisen, objevují se placentitidy a aborty (van Rensburg et al. 1991; Patterson-Kane et al. 2003). *Encephalitozoon cuniculi* byla demonstrována pouze u abortovaných plodů samčího pohlaví plemene Clydesdale v Jihoafrické republice (van Rensburg et al. 1991), Quarter horse v USA (Patterson-Kane et al. 2003) a Lipicán v Maďarsku (Szeredi et al. 2007). U klisny plemene Clydesdale nebyla placentitida zaznamenána (van Rensburg et al. 1991), ale klisna plemene Quarter horse, která porodila v 9. měsíci gestace, měla rozsáhlý zánět placenty (Patterson-Kane et al. 2003).

#### **2.1.2. *Eimeria leuckarti***

*Eimeria leuckarti* je monoxenní kokcidie, jejímž hostitelem jsou kůň a osel. Infekce způsobená *E. leuckarti* je příležitostně pozorována u dospělých koní, častěji se s ní však setkáváme u koní mladších jednoho roku (Bauer 1990).

### **Taxonomie**

*Eimeria leuckarti* je řazena do říše Protozoa, kmen Apicomplexa (Sporozoa), Čeleď Eimeriidae.

## **Morfologie**

Oocysty jsou ovoidního nebo hruškovitého tvaru na konci mírně zploštělé o velikosti  $70 - 90 \times 49 - 69 \mu\text{m}$ . Mají silný tmavě hnědý obal s jasným a typickým mikropylem. Sporocysty jsou podlouhlé,  $30 - 43 \times 12 - 15 \mu\text{m}$  velké. Sporozoit měří  $35 \mu\text{m}$  a leží podélně ve sporocystě, globulární částice se nachází na širším konci (Taylor et al. 2007).

## **Vývojový cyklus**

Kompletní vývojový cyklus *Eimeria leuckarti* není znám. Lokalizace merogonie dosud nebyla popsána (Taylor et al. 2007). Gamogonie probíhá v mukóze tenkého střeva. První oocysty se objevují v trusu po uplynutí 15 - 33 dní od infekce a vylučování trvá asi jeden až dva týdny. Oocysty jsou po vyloučení z hostitele neinfekční, doba sporulace oocyst je velmi dlouhá, trvá 3 - 6 týdnů (Lukešová 1997).

## **Rozšíření**

*Eimeria leuckarti* je rozšířena kosmopolitně. Infekce způsobené touto kokcií byly popsány celosvětově - v Kanadě (Barker et Remmler 1972), Japonsku (Sutoh et al. 1976), Irsku (Sheanah 1976), Novém Zélandu (Johnstone et al. 1982), v Africe (Levine 1986), Německu (Beelitz et al. 1994), Austrálii (Reppas et Collins 1995), Itálii (Batteli et al. 1995) a České republice (Lukešová 1997).

V současné době se prevalence této kokcií v evropských zemích, včetně České republiky, pohybuje kolem 1-2 % (Lukešová 1997). Naopak v USA (Montana) a v Brazílii (Sao Paulo) byly popsány prevalence dosahující 59 % a 65 % (McQuery et al. 1977; Figueiredo et al. 1993), v Mexiku 67 % (Güiris et al. 2010). U hříbat v Kentucky byla nalezena vysoká prevalence až 85 % (Lyons et al. 2007c).

## **Diagnostika**

Lze použít sedimentaci nebo flotaci obsahující koncentrovanější cukerný roztok (Taylor et al. 2007), jelikož oocysty *Eimeria leuckarti* jsou velké a těžké a obtížněji flotují.

## **Patogeneze a klinické příznaky**

Infekce kokcií z rodu *Eimeria* může v chovech koní způsobit intermitentní průjmy. Bemrick et al. (1979) a White et al. (1988) zaznamenali z významných

klinických příznaků také ikterus a výrazné ztráty hmotnosti. Při masivních infekcích dochází ke vzniku katarálních enteritid provázených vodnatým průjmem. Podle jiných autorů je patogenita kokcií druhu *Eimeria leuckarti* stále diskutabilní (Lukešová 1997).

### **Terapie**

K terapii se používají preparáty na bázi sulfonamidů (Chineme et al. 1979; Merritt 1982).

### **2.1.3. Velcí strongylidi (Strongylinae)**

Skupinu velkých strongylidů koní tvoří pouze zástupci podčeledi *Strongylinae*, a to druhy patřící do rodu *Strongylus*. Ve srovnání s velkým počtem druhů malých strongylidů je počet zástupců této skupiny hlístů nízký a zahrnuje následující druhy - *Strongylus vulgaris* (Loos, 1990), *Strongylus edentatus* (Loos, 1990) a *Strongylus equinus* (Muller, 1780).

### **Taxonomie**

Velcí strongylidi jsou řazeni do říše Helminthes, kmenu Nemahelminthes, třídy Nematoda, čeledi Strongyloidea, podčeledi Strongylinae a rodu *Strongylus*.

### **Morfologie (Jurášek et al. 1993).**

Všechny druhy rodu *Strongylus* mají velkou ústní kapsulu a rozlišují se podle počtu, velikosti a tvaru zubů.

#### ***Strongylus vulgaris***

Na dně téměř okrouhlé ústní kapsuly se nachází dva ouškovité oválné zuby. Samec je dlouhý 14 - 17 mm a samice 20 - 21 mm. Vajíčka strongylidního typu jsou velká 80 - 93 × 47 - 54 μm.

#### ***Strongylus edentatus***

Na dně téměř okrouhlé ústní kapsuly jsou 4 zuby, z toho dva jsou hrubší a kratší a zbylé dva tenčí a delší. Samec dorůstá velikosti 27 - 37 mm a samice 35 - 50 mm. Vajíčka mají rozměry 72 - 92 × 41 - 54 μm.

### ***Strongylus equinus***

Ústní kapsula neobsahuje žádné zuby. Samec má 22 - 26 mm a samice 32 - 45 mm. Vajíčka mají rozměr 75 - 92 × 41 - 54 μm.

### **Vývojový cyklus**

Vývojový cyklus velkých strongylidů je přímý. S trusem do vnějšího prostředí odchází vajíčka, z kterých se za několik dní v závislosti na klimatických podmínkách líhnou L<sub>1</sub> larvy. V rozmezí 4 - 14 dní (dle podmínek) se z L<sub>1</sub> larev stávají infekční L<sub>3</sub> larvy. Kůň se nakazí per orálně, larvy pronikají přes stěnu tenkého a tlustého střeva do vnitřních orgánů. Během *extraintestinální* migrace se larvy dvakrát svlékají a poté se navrací do tlustého střeva. L<sub>4</sub> larvy *S. vulgaris* pronikají do malých arterií a migrují po endotelu cév do *arteria mesenterica cranialis*, která je predilekčním místem jejich lokalizace. Zde se po několika měsících svlékají a pohlavně nezralé L<sub>5</sub> larvy jsou zaneseny arteriální krví do stěny střeva, kde vytváří uzlík velikosti hrachu. Po prasknutí uzlíku se larvy dostávají do lumen střeva, kde pohlavně dozrávají. Prepatentní perioda trvá 6 - 7 měsíců (Koudela 2008a).

Postinvazní larvy *S. equinus* pronikají do stěny slepého a tlustého střeva, vytváří zde uzlíky a asi po sedmi dnech se svlékají. L<sub>4</sub> larvy podstupují *extraintestinální* migraci do dutiny peritonea a odtud skrz Glissonovo pouzdro do jater. Některé L<sub>4</sub> larvy dospívají na L<sub>5</sub> v játrech. Asi po 6 týdnech pronikají larvy L<sub>4</sub> a L<sub>5</sub> do pankreatu a odtud do lumen tlustého střeva. Způsob a cesty jejich pronikání není úplně objasněn. Prepatentní perioda trvá 8 - 9 měsíců (Jurášek et al. 1993).

Larvy *S. edenantus* pronikají portálním systémem do parenchymu jater. Přibližně za 2 měsíce migrují L<sub>4</sub> larvy do peritonea. Jejich lokalizace je primárně v ligamentu jater a v pravé slabině, kde v pobřišnici vytvářejí hematomy. Za 4 - 5 měsíců se svlékají na larvy L<sub>5</sub>, které migrují subperitoneálně do stěny střeva, kde dochází k vývoji hnisavých uzlíků. Prepatentní perioda trvá 10 - 12 měsíců (Taylor et al. 2007).

### **Rozšíření**

V minulosti, kdy nebylo použití anthelmintik běžné, se velcí strongylidi, zejména *S. vulgaris* a *S. edenantus*, vyskytovali u koní poměrně často, zatímco *S. equinus* byl detekován ojediněle (Rommel et al. 2000). V současné době jsou ve srovnání s *S.*

*vulgaris* přirozené infekce koní způsobené *S. edentatus* a *S. equinus* vzácné (Bonneau et al. 2009).

Do poloviny 80. let byli velcí strongylidi nejčastějšími vnitřními parazity, kteří infikovali až 50 % všech koní. Starší údaje dokonce uvádějí prevalenci mezi 70 - 100 % (Jurášek et al. 1993). Vysoká účinnost anthelmintik, zejména ivermectinu, používaných v minulosti i současné době, výrazně snížila jejich výskyt (Herd 1990). Přesto kontrola výskytu velkých strongylidů u koní nadále zůstává důležitým aspektem, který je třeba zvážit při výběru účinného anthelmintika (Brady et al. 2009).

### **Diagnostika**

Standardní metodou používanou pro odhalení vajíček v trusu je flotace. Vajíčka velkých strongylidů jsou tenkostěnná a obsahují blastomery v různém vývojovém stupni. Flotační diagnostikou lze však těžko odhalit rozdíl mezi vajíčky velkých a malých strongylidů. K těmto účelům lze využít larvoskopii dle Baermanna. V současné době jsou velmi často k odhalení strongylidní infekce využívány PCR metody založené na amplifikaci malé ribozomární podjednotky (Campbell et al. 1995; Gasser et al. 1996; Hung et al. 1999).

Rektálně lze u menších koní odhalit verminózní aneurysma při palpaci *arteria mesenterica cranialis* (Greatorax 1977), vhodnou technikou je také sonografické vyšetření (Wallace et al. 1989). Značné úsilí bylo vloženo do vývoje serologických zkoušek k odhalení IgG(T) protilátek specifických proti *S. vulgaris* (Klei et al. 1983), bohužel ostatní strongylidní druhy mají podobné protilátky, proto se tato metoda nepoužívá.

### **Patogeneze a klinické příznaky**

Vzhledem k dlouhé prepatentní periodě trvající 6 - 11 měsíců jsou patologické změny v různých orgánech a tkáních způsobené larvami strongylidů při extraintestinální migraci často velmi vážné (McCraw et Slocombe 1976, 1977, 1985). Nejpatogennější jsou L<sub>4</sub> larvy druhu *Strongylus vulgaris*, které pronikají stěnou střeva do drobných artérií, odtud proti proudu krve až do *arteria mesenterica cranialis* a aorty. Během migrace larev je poškozován endotel cév a dochází ke vzniku verminózních aneurysmat a trombů. Následkem migrace larev *S. vulgaris* může dojít až k ruptuře stěny velkých artérií ztenčených aneurysmaty, s následným

vnitřním krvácením a úhynem koně (Koudela 2008a). U vysoce vnímavých jedinců může už infekce přesahující počet 200 L<sub>3</sub> larev *S. vulgaris* působit letálně (Rommel et al. 2000) a infekce přesahující 750 L<sub>3</sub> larev je pro hostitele smrtelná (Reinmeyer et Nielsen 2009). Larvy *S. equinus* při migraci poškozují stěnu střeva a vyvolávají zánětlivé procesy, při průniku infekce do dutiny břišní dochází k rozsáhlým peritonitidám.

Klinické příznaky závisí na stupni vývoje larev, intenzitě napadení a celkovém zdravotním stavu jedince. Objevují se lehké, těžké a intermitentní formy kolik. Lehké koliky jsou doprovázeny občasným neklidem, častým kálením, nechutenstvím, apatií a většinou dochází ke spontánnímu vyléčení. Naopak těžké koliky se projevují prudkými kolikovými bolestmi, kdy kůň často zaujímá až nepravidelné polohy např. psí posed, bolesti nabývají na intenzitě a končí úhynem koně. Nejčastějším projevem způsobeným *S. vulgaris* je intermitentní kolika. Postižení koně se potí, válí, ohlíží se po břicho. Mají zrychlený pulz a střevní peristaltiku. Výskyt arteriálních lézí způsobených *S. vulgaris* je spojován s narůstajícím rizikem ischemických kolik (Taylor et al. 2007).

### **Terapie a prevence**

V současné době se k terapii používají běžně dostupná benzimidazolová a ivermectinová anthelmintika (Klei et al. 2001). Rezistence vůči benzimidazolům, běžná u malých strongylidů, zatím nebyla prokázána. Je to připisováno delšímu generačnímu intervalu velkých strongylidů (Brady et al. 2009).

Lze využít přípravek Equimax, pastu nebo odčervovací tablety. Oba přípravky byly vyhodnoceny jako bezpečné a účinné s pozoruhodným terapeutickým účinkem při zmírnění arteriálních lézí infikovaných koní (Bonneau et al. 2009).

Použitím anthelmintik s makrocyclickými laktony v intervalu kratším šesti týdnů, došlo k eradikaci velkých strongylidů z několika chovů v Severní Americe (Herd 1990).

V tabulce 2 je uveden způsob aplikace některých anthelmintik účinných proti larvám *S. vulgaris* v AMC - *arteria mesenterica cranialis* (Reinmeyer et Nielsen 2009).

**Tabulka 2. Anthelmintika proti larvám *S. vulgaris* v AMC (Reinmeyer et Nielsen 2009)**

<b>Účinná látka</b>	<b>Název přípravku</b>	<b>Dávka</b>	<b>Způsob podání</b>
Fenbendazole	Panacur Power Pak	10 mg/kg	jednou denně po pět dní
Ivermectin	Equalan, Zimectrin aj.	200 ug/kg	Jednorázově
Moxidectin	Quest, Quest plus	400 ug/kg	Jednorázově

#### **2.1.4. Malí strongylidi (Strongylida: Cyathostominae)**

Malí strongylidi zahrnují početnou skupinu parazitů koní čítajících kolem 60 druhů, patřících do podčeledí *Cyathostominae*, *Strongylinae* a *Gyalocephalinae*. V současné době jsou považovány za nejdůležitější skupinu koňských parazitů (Herd 1990; Love et al. 1999; Lyons et al. 2000; Kaplan 2002; Kuzmina et al. 2008) vyskytující se celosvětově prakticky u všech pasených koní (Traversa et al. 2010).

#### **Taxonomie**

Malí strongylidi jsou řazeni do říše Helminthes, kmenu Nemahelminthes, třídy Nematoda, čeledi Strongyloidea, podčeledi Cyathostominae a rodu *Cyathostomum*, *Cylicocyclus*, *Cylicodontophorus*, *Cylicostephanus*.

#### **Vývojový cyklus: (Bodeček 2008)**

Vývojový cyklus malých strongylidů je přímý. Pohlavně dospělé samice produkují tenkostěnná vajíčka, která odcházejí z hostitele trusem. Vajíčka jsou oválného tvaru a dosahují velikosti mezi 90 - 120  $\mu\text{m}$ . Z vajíček se ve vnějším prostředí za 48 hodin líhnou  $L_1$  larvy, které se dvakrát svlékají v infekční stádium  $L_3$ .

K infekci hostitele dochází fekálně - orální cestou, tzn. pozřením infekčních  $L_3$  larev spolu s pastvou nebo kontaminovaným krmivem či vodou. Rizikovou skupinu představují na pastvě zejména ročci, kteří se nakazí od dospělých koní vylučujících vajíčka v trusu. Malí strongylidi neprodělávají extraintestinální migraci jako v případě velkých strongylidů. Jednotlivé druhy však preferují různé úseky střeva. Nicméně je vývoj úzce vázán na tlusté střevo. Probíhá v jeho mukóze a submukóze, kde se  $L_3$  larvy po 6 - 12 dnech svlékají na  $L_4$  larvy, které následně dospívají ve sliznici tlustého střeva po dobu jednoho až dvou měsíců. Toto období vývoje se



nazývá histiotropní fáze. Po té se L<sub>4</sub> larvy vracejí do lumen tlustého střeva, kde dochází ke kopulaci a následnému vylučování vajíček samičkami. Velikost dospělců malých strongylidů se pohybuje od 5 - 20 mm. Prepatentní perioda trvá 6 - 12 týdnů a patentní perioda až 2,5 roku.

Významná vlastnost larev malých strongylidů je hypobióza, schopnost pozastavení vývoje v průběhu histiotropní fáze. Encystované L<sub>3</sub> larvy mohou zůstat v hypobiotickém stavu ve sliznici tlustého střeva až po dobu tří let. Fenomén hypobiózy není dosud objasněn. Předpokládá se, že je podmíněn řadou faktorů, mezi které patří infekční dávka, virulence jednotlivých druhů, sezónní vlivy, imunitní odpověď hostitele a také aplikace anthelmintik. Eliminace dospělců v lumen střeva po aplikaci anthelmintik je pravděpodobně stimulem, který podnítl uvolňování encystovaných larev. Masivní uvolňování hypobiotických larev je považováno za nejzávažnější příčinu vzniku klinické cyatostomózy.

Teplota a vlhkost jsou velmi důležité pro vývoj larev L<sub>1</sub> v trusu a migraci a rozšiřování L<sub>3</sub> larev po pastvinách (Mfitilodze et Hutchinson 1987; Stromberg 1997; Baudena et al. 2000; Langrová et al. 2003; Ramsey et al. 2004; Briggs et al. 2004c). Zatímco L<sub>1</sub> larvy se živí bakteriemi přímo z trusu, L<sub>3</sub> larvy potravu nepřijímají a žijí z energetických zásob, které při vysokých teplotách velmi rychle spotřebovávají a hynou následkem vyhladovění a vyčerpání (Briggs et al. 2004c; Koudela 2008a). Ideální teplota pro přežívání larev na pastvinách se pohybuje mezi 5 - 10 °C, dokáží však přežít i pod sněhem dokud teploty neklesnou pod -5 °C. Při ukončení pastevní sezóny v říjnu mohou přežít zimu, zvláště je-li mírnější, a nakazit koně, kteří jsou vyhnáni na pastvinu zjara dalšího roku. V oblastech s velmi horkým létem a mírnou deštivou zimou jsou koně vystaveni největšímu riziku infekce od listopadu do března (Briggs et al. 2004c).

Migrační dynamiku L<sub>3</sub> larev významně ovlivňují dešťové srážky a také typ a charakteristika trav rostoucích na pastvinách (Viana 1999; Couto et al. 2008). Prudké dešťové srážky, vyskytující se zejména v letním období, dokáží vymýt L<sub>3</sub> larvy uzavřené v trusu a rozšířit je po celé pastvině. Také rosa je důležitým faktorem podílejícím se na migraci (Langrová et al. 2003). Larvy, využívající k pohybu vodní film, klouzavým pohybem migrují několik desítek centimetrů z trusu směrem horizontálním a na vrcholky trav směrem vertikálním (Koudela 2008a). Životaschopnost volně žijících larev se v závislosti na vlhké nebo suché periodě roku pohybuje mezi 2 - 15 týdny (Couto et al. 2008). Největší aktivita infekčních L<sub>3</sub> larev

na pastvě je mezi osmou hodinou ranní a pátou hodinou večerní (Langrová et al. 2003; Couto et al. 2008). To potvrzuje, že koně, kteří se v tuto dobu na pastvě vyskytují, jsou více infikováni malými strongylidy.

### **Rozšíření a druhové spektrum**

Obecně lze konstatovat, že každý pastevně odchovávaný kůň je infikován alespoň jedním druhem malých strongylidů (Reinemeyer et al. 1984). Strongylidní infekce se vyskytuje téměř výhradně u pasených stád, méně bývají napadeni koně ve stáji nebo koně chovaní v horkých a suchých oblastech světa (Briggs et al. 2004c).

Ve studii, kterou provedl Traversa et al. (2010), byly zkoumány druhy malých strongylidů rozšířené v Itálii, Velké Británii a Německu. Jednotlivé druhy byly rozlišovány molekulárním testem - *Reverse line blot assay*. Ve všech třech zemích bylo detekováno 13 velmi rozšířených druhů patřících do 4 rodů a to: *Coronocylus coronatus*, *Coronocylus labiatus*, *Coronocylus labratus*, *Cyathostomum catinatum*, *Cyathostomum pateratum*, *Cylicocylus ashworthi*, *Cylicocylus goldi*, *Cylicocylus insigne*, *Cylicocylus nassatus*, *Cylicostephanus calicatus*, *Cylicostephanus leptostomum*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cylicostephanus minutus*. Největší výskyt pak byl zaznamenán u 5 druhů - *C. nassatus* (87 %), *C. longibursatus* (86,2 %), *C. catinatum* (81,3 %), *C. goldi* (78,4 %), *C. pateratum* (75,5 %). Tyto druhy byly nejrozšířenější v každé ze tří sledovaných zemí v současné studii, ale také v dřívějších studiích v Ohiau (Reinemeyer et al. 1984), Louisianě (Chapman et al. 2002) a v Austrálii s výjimkou *C. pateratum* (Boxell et al. 2004). V Německu byla prokázána vyšší druhová rozmanitost oproti Itálii. Němečtí koně měli v průměru  $\geq 5$  druhů malých strongylidů, zatímco italské  $\leq 3$  druhy.

Nízká druhová rozmanitost v Itálii zřejmě souvisí s častým používáním anthelmintik a výskytem rezistentních druhů vůči těmto anthelmintikům. Rezistentní druhy tak mohou přispívat k potlačení ostatních v populaci. Na druhové skladbě se však stejnou měrou mohou podílet klimatické a geografické podmínky.

### **Diagnostika**

Přesná identifikace malých strongylidů je rozhodující pro poznání jejich biologie, epidemiologie a patogenity spojené se vznikem onemocnění (Traversa et al. 2010). Většina dříve provedených studií zaměřených na druhovou variabilitu využívala diagnostiku post mortem (Reinemeyer et al. 1984), to však vyžadovalo obětování

koní a takto získaná data měla pouze omezený rozsah (Ionita et al. 2010). Dnes se určování druhů post mortem využívá velice málo. Flotací a modifikovanou metodou dle Mc Mastera ve většině případů nedokážeme odlišit rozdíl mezi vajíčky velkých a malých strongylidů. Ta jsou si navzájem vzhledově i velikostně velice podobná. Odlišnosti mezi velkými a malými strongylidy lze odhalit larvoskopií podle Baermanna. Identifikace touto metodou je však velmi obtížná a časově náročná. Proto nedávné studie začaly využívat k rozpoznání jednotlivých druhů molekulární diagnostiku. Oblast 26S - 18S rDNA byla vybrána jako molekulární marker pro genotypizaci 16 druhů malých strongylidů. Reverse line blot test byl vyvinut k identifikaci 13 -ti nejběžnějších druhů malých strongylidů a zároveň k odlišení od velkých strongylidů (Traversa et al. 2007). Studie provedené Čerňanskou et al. (2009) na Slovesku a Traversou et al. (2009) v Itálii prokázaly vhodnost testu pro druhovou identifikaci malých strongylidů, kteří přežili ošetření anthelmintikem.

### **Patogeneze a klinické příznaky**

Infekce malými strongylidy se u koní projevuje různými klinickými příznaky. Mezi nejčastější patří intermitentní průjmy, nechutenství, hubnutí, zvětšené břicho, apatie, zježená srst (Love et al. 1992). Napadení koně mají nižší výkonnost, občas se u nich objevují koliky. Vážné onemocnění zvané cyatostomóza se objevuje po náhlém uvolnění velkého množství encystovaných larev ze submukózy tlustého střeva (Love et al. 1999; Briggs et al. 2004c).

Dospělci malých strongylidů způsobují epiteliální patologické změny v místech přichycení na sliznici tlustého střeva. Působením enzymů ústního ústrojí dochází k obnažení krevních kapilár v submukóze a uvolňování krve, kterou se paraziti živí. Nejzávažnější patologické změny způsobují larvy během histiotropní fáze, kdy dochází k opouzdření larvy tkání. Vzniklá cysta je obklopena buňkami zánětlivého infiltrátu. Sliznice v okolí cysty je atrofická až nekrotická. V případě synchronního uvolňování encystovaných larev je sliznice tlustého střeva překrvená, edematózní s četnými krváceninami (Bodeček 2008). Postižený kůň trpí těžkými průjmy, nespecifickými kolikami, nápadně hubne, objevují se subkutánní otoky na spodině břicha a končetinách. I po včasném podání anthelmintika je pouze 50 % šance na vyléčení (Eysker et al. 1990; Love et McKeand 1997). Cyatostomóza má sezónní charakter, nejčastěji se objevuje během podzimu až jara (Briggs et al. 2004c; Bodeček 2008).

Patogeneze jednotlivých druhů malých strongylidů je stále neznámá, zejména kvůli smíšené infekci těmito parazity (Klei et Chapman 1999).

### **Terapie a prevence**

Lékem volby byly v minulosti často látky ze skupiny benzimidazolů jako thiabendazol, albendazol, kambendazol, fenbendazol, flubendazol, mebendazol, oxfendazol nebo oxibendazol. Benzimidazoly jsou považovány za širokospektrální endoparazitika s nízkou toxicitou, nízkým dávkováním a širší účinností proti střevním parazitům. Jejich chemická povaha je umožňuje použití v celé řadě lékových forem, např. suspenze, pasta, pelety a prášek. Jedná se o velmi bezpečná anthelmintika, teratogenní efekt je znám pouze u kambendazolu u klisen v prvním trimestru gravidity (Bodeček et Koudela 2008).

Tyto vlastnosti zapříčinily jejich velmi časté užívání. Podávali se opakovaně, bez znalosti aktuálního parazitického zatížení koní, často v 6 - 8 týdenních intervalech, což vedlo k rozvoji rezistence téměř ve všech zemích světa. Rezistence byla zaznamenána např. napříč státy USA, v Kanadě, Anglii, Skotsku, Dánsku, Německu, Česku nebo Rakousku. K rezistenci rovněž přispěly i subterapeutické dávky anthelmintik. Obecně platí, že je lepší mírně předávkovat, než podat dávku nižší než je stanovená k určité hmotnosti koně (Bodeček et Koudela 2008).

Rezistence na benzimidazoly byla prokázána u všech 13 -ti nejrozšířenějších druhů malých strongylidů (Drudge et al. 1983a; Bürger et Bauer 1987; Eysker et al. 1988; Slocombe 1991; Tolliver et al. 1993; Lyons et al. 1996; Traversa et al. 2010). Fenbendazol sice patří mezi benzimidazoly nicméně jeho účinnost při opakované aplikaci larvicidních dávek je dostatečná. Doporučovaná dávka je 7,5 - 10 mg/kg jednou denně po dobu 5 dní per os (Bodeček 2008). Larvicidní efekt má rovněž moxidectin v dávce 0,4 mg/kg (Briggs 2004c). Jednorázová aplikace této účinné látky likviduje většinu encystovaných larev. Rezistence malých strongylidů na moxidectin byla popsána pouze u oslů ve Velké Británii (Trawford et al. 2005).

Nižší larvicidní účinnost má ivermectin, kde jednorázová aplikace nemá zpravidla uspokojivé výsledky. Lze jej však použít v kombinaci s fenbendazolem, kdy aplikace ivermectinu následuje vždy po pětidenní kúře, tj. 6., 21. a 36. den (Bodeček 2008). U ivermectinu nebyla prokázána rezistence vůči malým strongylidům, ale v nedávné studii provedené v Německu bylo zaznamenáno zkrácení doby, kdy se začala znovu objevovat strongylidní vajíčka v trusu (Von Samson - Himmelstjerna et al. 2007;

Lyons et al. 2009). Také v Brazílii u A1/1 byla zaznamenána snížená účinnost u ivermectinu a moxidectinu za 4 týdny od odčervení - u IVM 5 – 65 % účinnost, u MOX – 16 % účinnost (Molento 2008). Ochranná lhůta u ivermectinu by měla trvat 6 - 8 týdnů, u moxidectinu 12 týdnů a benzimidazolů 4 - 6 týdnů.

Dnes je doporučován při terapii malých strongylidů selektivní postup ošetření anthelmintiky (Gomez et Georgi 1991; Duncan et Love 1991; Krecek et al. 1994; Kaplan 2002; Matthee et Mc Geoch 2004) jako hranice pro ošetření je brána hodnota FEC (fecal egg count) 100 - 200 EPG (egg per gram) (Herd 1993; Coles et al. 2003).

Jednoznačné určení hranice EPG, jako stupně ovlivňujícího zdraví, výkonnost a užítkovost, neexistuje (Brady et al. 2009). Nichols et al. (2008) demonstroval zvýšení živé hmotnosti a zlepšení výkonu u ošetřených koní ze stáda s průměrnými počty 94 - 125 EPG.

Selektivní postup kontroly zvířat je v první řadě směřován za účelem redukce parazitického zatížení pastvin. Ošetřována jsou pouze zvířata, která ve flotaci uvolňují více než 150 EPG FEC. Celkový počet ošetřovaných koní většinou nepřevyší 1/3 stáda, což výrazně sníží počet nutných léčebných zásahů. Ve srovnání s jinými současnými postupy, tento pomáhá zachovat účinnost jednotlivých anthelmintik (Traversa et al. 2010). Zároveň se zvyšuje podíl koní, kteří nebyli ošetřeni anthelmintiky. Vývojová stadia v tělech těchto zvířat, která nepřišla do styku s anthelmintikem, jsou nazývána jako refugia. Hlavní část refugií ale představují volně žijící vývojová stadia parazitů na pastvinách (Soulsby 2007; Traversa et al. 2010). Refugia poskytují důležitou skupinu senzitivních genů v populaci. Udržování adekvátní skladby parazitického refugia může výrazně zpomalit vývoj rezistence na anthelmintika, tato vlastnost byla experimentálně potvrzená u ovcí (Dobson et al. 2001). Ošetření by mělo být omezeno na období aktivní migrace, množení a přenosu parazitů do hostitele, nemělo by tedy probíhat v chladných zimních měsících a v horkém a suchém létě. Nejdůležitější je vyvarovat se intervalovému ošetření každých 6 - 8 týdnů bez znalosti aktuální skladby parazitů jednotlivých koní (Soulsby 2007).

Klíčovým bodem, který musíme vzít v úvahu při selektivním postupu ošetření je věk zvířat. Mladší kategorie koní mívají často větší počty EPG, jsou rychleji reinfikováni a všeobecně náchylnější k propuknutí klinických příznaků choroby. Proto není selektivní cílové ošetření doporučováno u odstávců a ročků. Tito mladí koně vyžadují častější ošetření anthelmintiky až do doby než je jejich imunitní

system plně vyvinut, jako hranice pro použití anthelmintika je brán počet  $\leq 100$  EPG (Traversa et al. 2010).

### **2.1.5. *Strongyloides westeri***

Strongyloidóza je stájová choroba hřibat, která jsou chována společně se staršími koňmi - nositeli nákazy (Jurášek et al. 1993). Infekce se udržuje hlavně v teplých a vlhkých oblastech, u nás zejména při nevhodných zoohygienických podmínkách ve stájích. Infekční larvy jsou málo odolné proti vysušení, ve vlhkém prostředí však migrují po stěnách a žlabech stáje. Hostitel je přijímá orálně nebo pronikají skrz kůži. *Strongyloides westeri* (Ihle, 1917) nejčastěji parazituje u hřibat do jednoho roku věku. Většina přirozeně infikovaných hřibat začíná uvolňovat vajíčka *S. westeri* v trusu kolem 2. týdne života. Infekce zpravidla končí ve věku 20 - 25 týdnů (Lyons et al. 1973).

#### **Taxonomie**

*Strongyloides westeri* je řazen do říše Helminthes, kmenu Nemaehelminthes, třídy Nematoda, čeledi Rhabditoidea a rodu *Strongyloides*.

#### **Morfologie (Jurášek et al. 1993)**

*Strongyloides westeri* je velmi tenký vláskovitý nematod dorůstající délky 6 - 8 mm. Adultní stádia nacházíme v tenkém střevě hřibat. Vajíčka jsou tenkostěnná, oválného tvaru, o velikosti  $45 - 54 \times 25 - 33$   $\mu\text{m}$ . V čerstvém trusu obsahují vajíčka larvu ve tvaru U, larva však velmi brzy opouští obal vajíčka, takže ve starších vzorcích lze pozorovat už jen vylíhnuté larvy. V hostiteli parazitují pouze partenogenetické samice.

#### **Biologie a vývojový cyklus**

Druhy rodu *Strongyloides* jsou známy tím, že mají parazitickou a volně žijící generaci. Prepatentní perioda  $L_3$  larev se pohybuje mezi 8 - 12 dny (Lyons et al. 1973). Hlavním zdrojem infekce hřibat jsou parazitická stádia  $L_3$  přijatá z mléka klisny (Lyons et al. 1969, 1973). Pravděpodobně nižší stupeň infekce připadá na infekční  $L_3$  stádia, která jsou přijímána krmivem nebo penetrují kůží (Lyons et al. 1973). Závažné je nakažení hřibat laktogenní cestou. Larvy, které se dostávají do

organismu matky, jsou zadrženy a nevyvíjejí se. Po ohřebení se tyto larvy aktivují a dostávají se do mléka. Intrauterinní nakažení plodu nebylo u koní zjištěno (Lyons et al. 1973).

Vajíčka ovulovaná parazitickými samicemi jsou partenogenetická. Z vajíček s jedním kompletním chromozomem v zárodku se o několik hodin později líhnou *rabditoidní* larvy L<sub>1</sub>, které se opakovaně svlékají až vzniká infekční *filariformní* larva L<sub>3</sub>. Z vajíček s větším počtem chromozomů (2n, 3n) se líhnou larvy, z kterých se vyvinou volně žijící samice a samci. Po kopulaci vznikají z vajíček buď další generace volně žijících samců a samic, nebo infekční larvy L<sub>3</sub>.

### **Rozšíření**

Před nástupem účinných anthelmintik dosahoval výskyt *S. westeri* u hříbat až 90 % (Todd et al. 1949; Lyons et al. 1973). Dnes je to již podstatně méně, v Kentucky 6 % (Lyons et al. 1992). Podobná studie provedená opět v Kentucky u plnokrevných hříbat potvrzuje velmi nízkou prevalenci, ze 733 odebraných vzorků bylo 11 pozitivních, tzn. 1,5 %. Věk infikovaných hříbat se pohyboval v rozpětí 32 - 152 dní. Počet infikovaných klisniček (7) převažoval nad hřebečky (4) (Lyons et Tolliver 2003).

### **Diagnostika**

Na vyšetření vajíček se nejčastěji používá klasická flotační technika. Přítomnost larev se zjišťuje pomocí larvoskopie dle Baermanna. Larvy lze nalézt v mléku klisen pomocí stejné techniky. Vyšší kumulaci larev přenášených trans-mamilární cestou lze zjistit v mléce infikovaných klisen v ranních vzorcích mléka (88,5 %) od 4. do 47. dne po ohřebení. Za zmínku stojí, že larvy *S. westeri* se nevyskytují v mlezivu (Lyons et al. 1973). Post mortem při pitvě lze zjistit larvy i dospělé v tenkém střevě hříbat.

### **Patogeneze a klinické příznaky**

Silně infikovaná hříbata vykazují slabost, vyčerpání, hubnutí až kachexii, objevuje se u nich těžký průjem akutního charakteru. Starší koně nemusí vykazovat klinické příznaky nasvědčující infekci *S. westeri*.

Dospělci *S. westeri* jsou nalezáni v duodenu a jejunu, kde způsobují záněty, otoky a léze na sliznici. Vznikají katarální enteritidy s poruchami trávení a vstřebávání

živin. Migrující larvy skrz plíce mohou způsobovat hemorragii a respirační potíže. Penetrací kůží vznikají dermatitidy (Taylor et al. 2007).

### **Terapie a prevence**

K terapii se používají preparáty na bázi benzimidazolů a ivermektinů. Doporučuje se podat klisně anthelmintikum v den porodu nebo do tří dnů po ohřebení (Lyons et al. 1992). Fenbendazol je účinný na adultní stádia *S. westeri* v tenkém střevě v dávce vyšší než je terapeutická ( $\geq 50$  mg / kg) (Drudge et al. 1983b). Ivermectin způsobuje zastavení nebo snížení prostupu larev skrz mléčnou žlázu (Ludwig et al. 1983). Rozsáhlé použití ivermectinu a thiabendazolu pravděpodobně přispělo k rapidnímu snížení výskytu *S. westeri* u hříbat (Lyons et al. 1992).

Ve stájích chovných klisen s hříbaty by měly být dodržovány optimální zootechnické podmínky. Pravidelné vyvážení hnoje a denní přistýlání by mělo být samozřejmostí, stejně jako pravidelná dezinfekce a vápnění porodních boxů. Chov na hluboké podestýlce v kombinaci s vysokou stájovou vlhkostí vytvoří optimální podmínky pro přežívání larev *S. westeri*.

### **2.1.6. *Parascaris equorum* (Ascaridata)**

Infekce *Parascaris equorum* je celosvětovým problémem. Tato škrkavka je druhově specifická, vyskytuje se u koní, oslů a zeber. Na rozdíl od strongylidů a tasemnic infikuje především mladé koně do věku 15 - 18 měsíců. U dospělých koní se s infekcí *P. equorum* setkáváme jen velmi zřídka. Kolem 6. měsíce stáří se u hříbat začíná vyvíjet specifická imunita vůči těmto parazitům, která je plně funkční od druhého roku věku (Clayton 1986; Briggs et al. 2004a).

### **Taxonomie**

*Parascaris equorum* je řazena do říše Helminthes, kmenu Nemaelminthes, třídy Nematoda, čeledi Ascaridoidea a rodu *Ascaris*.

### **Biologie a vývojový cyklus**

*Parascaris equorum* je považována za největšího vnitřního parazita koní. Samička dorůstá délky až 40 cm a samec 18 - 25 cm. Kvůli své velikosti byly škrkavky vůbec prvními intestinálními parazity rozpoznány člověkem (Briggs et al. 2004a).



Vývojový cyklus všech škrkavek je přímý (Clayton 1978). Kůň se nakazí perorálně. Po spolknutí infekčního vajíčka s larvou L<sub>3</sub> se tyto larvy uvolní v tenkém střevě. Následně dochází k *enterohepatopulmonární* migraci, kdy po penetraci stěnou tenkého střeva migrují larvy vrátničnou žílou do jater (Koudela 2008a). V játrech dospívají do dalšího stádia a zanechávají po sobě bílé žilkování (Boyle et Houston 2006). Krevním řečištěm postupují dále do plic a plicních alveol. Migrují dýchacími cestami skrz průdušinky, průdušky a průdušnici. Tento proces vždy vyvolává u hostitele kašel. Po vykašlání jsou následně spolknuty a dostávají se zpět do střeva, kde se rozmnožují. Prepatentní perioda trvá 10 - 12 týdnů. Samička denně vylučuje desítky tisíc silnostěnných vajíček, která odcházejí s trusem do vnějšího prostředí. Vajíčka mají typickou morfologii a velikost 100 µm. Ve vajíčku se za 7 - 14 dní vylíhne larva, která je chráněná silnostěnným obalem před vnějšími vlivy. Nejrychlejší vývoj infekční larvy nastává při teplotách 25 - 35 °C. Vajíčko obsahující larvu přežívá v půdě velmi dlouhou dobu - 5 i více let, odolává suchu i mrazu (Burks 1998).

### **Rozšíření**

Vajíčka *P. equorum* běžně nalzáme v prostředí, kde se vyskytují hřibata, odstávcata a ročci. *Parascaris* je jedním z mála parazitů, proti kterému se v určitém věku vyvíjí získaná imunita. Na rozdíl od strongylidů je přenos infekce vázán na stájové prostředí (Kilani et al. 2003). Vajíčka mají na svém povrchu lepidý proteinový obal, který jim umožňuje ulpívat na různých typech povrchů. Tento silný obal je chrání před účinky chemických i fyzikálních dezinfekčních prostředků. Vajíčka ulpívají i v hřívě a na vemeni chovných klisen, proto se doporučuje před příchodem do porodního boxu klisnu omýt (Briggs et al. 2004a).

Prevalence infekce *Parascaris* se pohybuje mezi 31 - 61 % u koní mladších jednoho roku (Lyons et al. 1981, 1985) a 25 % u koní starších jednoho roku (Austin et al. 1990). U hřibat v Austrálii byla zaznamenána prevalence 5 - 15 % (Mfitilodze et Hutchinson 1989; Bucknell et al. 1995), v Polsku 26 % (Gawor 1995), v Kentucky 39 % (Lyons et al. 2006), v Brazílii 5 % (Pereira et Vianna 2006) a v Iránu 12,2 % (Tavassoli et al. 2010).

## **Diagnostika**

Pro detekci vajíček *P. equorum* se běžně používají klasické koprologické metody. Lze použít flotační metody nebo modifikovanou metodu dle Mc Mastera, která se využívá hlavně pro odhalení strongylidní infekce. Je velmi obtížné nalézt migrující larvy v játrech a plicích u živého koně. Krevní zkoušky nejsou spolehlivé, protože zvyšující se počet eosinofilů nenasvědčuje pouze parazitární infekci (Boyle et Houston 2006).

## **Patogeneze a klinické příznaky**

Malý počet parazitů má na zdraví hostitele jen nepatrný vliv. Těžké infekce vyvolávají hubnutí, zpomalený růst, postižení koně mají zježenou srst a velké břicho. Objevují se nespecifické koliky. Během migrační fáze vývojového cyklu lze u hříbat pozorovat respirační obtíže, zvýšenou teplotu a výtok z nosu (Briggs et al. 2004a; Boyle et Houston 2006). Patogenita dospělců spočívá především v možnosti mechanického ucpání střeva. Velké množství škrkavek může způsobovat obstrukci tenkých střev, až jejich rupturu vedoucí k rozvoji terapeuticky nezvládnutelné peritonitidy (Koudela 2008a). K mechanickému ucpání často dochází po podání účinného anthelmintika, což podporují výsledky několika studií, v nichž muselo být chirurgicky ošetřeno více než 50 % hříbat napadených škrkavkami, kterým bylo podáno 6 dní před zákrokem anthelmintikum (Reinmeyer et Nielsen 2009). V další studii, 24 h po podání anthelmintika, se u 72 % hříbat objevily příznaky koliky (Cribb et al. 2006).

## **Terapie a prevence**

Historicky první odčervovací přípravek s účinností proti škrkavkám byl používán piperazin, vyvinutý v roce 1950 (Briggs et al. 2004a). Po roce 1970 se začaly používat látky ze skupiny benzimidazolů. Benzimidazoly obsahují v současné době na trhu dostupné přípravky jako Panacur, Telmin, Helmigal, Fenbione, Antiverm aj. Tyto přípravky působí proti dospělcům škrkavek v tenkém střevě v dávce 10 mg/kg.

První ošetření anthelmintikem by mělo proběhnout kolem druhého měsíce věku hříběte, jelikož prepatentní perioda u *Parascaris equorum* trvá cca 10 týdnů. Minimální interval mezi dospíváním ve střevě a produkcí vajíček je 56 dní. U těžkých infekcí hříbat se doporučuje podávat Panacur v poloviční dávce 5 mg/kg, aby se předešlo obstrukci tenkých střev a následné ruptuře. Po tomto částečném

ošetření by mělo za týden následovat odčervení fenbendazolem v dávce 10 mg/kg. Někteří veterinární lékaři doporučují podávat současně s anthelmintikem malé množství oleje. Přítomnost a účinnost oleje na absorpci a distribuci anthelmintika však není známa (Briggs et al. 2004a). Zatím se neobjevila žádná studie u koní, která by zaznamenala rezistenci *Parascaris equorum* na anthelmintika ze skupiny benzimidazolů (Brady et Nichols 2009).

Ivermectin má účinnost i proti migrujícím larvám v játrech a plicích, není však doporučován pro velmi mladá hříbata. Přípravek Equest není schválen k použití u hříbat mladších šesti měsíců stáří (Briggs et al. 2004a).

Makrocyclické laktony byly vysoce účinné proti škrkavkám v relativně nižších dávkách, v současné době je u nich zaznamenána rezistence (Boersema et al. 2002; Hearn et Peregrine 2003; Kaplan et al. 2006; Lyons et al. 2006; Schougaard et Nielsen 2007; Slocombe et al. 2007a).

Rezistence na ivermectin u škrkavek byla poprvé popsána v roce 2002 v severní Evropě a Kanadě. V roce 2003 se vyskytla možnost rezistence u ivermectinu na texaské farmě u hříbat plemene QH s 85 % účinností použitého přípravku (Craig et al. 2006). Dále byla potvrzena rezistence na IVM (ivermectin) a MOX (moxidectin) v Nizozemí u koňských stád, kde se 10 let používalo stejné anthelmintikum, účinnost proti strongylidům zůstala zachována (Boersema et al. 2002). V práci Lyonse et al. (2007a) byla zkoumána účinnost fenbendazolu, ivermectinu, oxibendazolu a pyrantelu pamoate na *P. equorum* na pěti farmách v Kentucky. V této studii byla zjištěna excelentní účinnost na škrkavky u oxibendazolu, poněkud nižší u fenbendazolu, nízká u pyrantelu pamoate, který byl podáván dokonce v dvojitých dávkách a prakticky nulová u ivermectinu. Tyto studie ukazují, že rezistence *Parascaris equorum* vůči makrocyclickým laktonům je celosvětově rozšířená. V tabulce 3 je uvedena aplikace vybraných anthelmintik účinných proti *P. equorum*.

Důležitou prevencí podle Boyleho et Houstona (2006) proti napadení hříbat *P. equorum* je důsledná zoohygiena stájí a pastvin. Ideální je odstraňování hnoje v týdenním intervalu ze stájí mladých koní a mytí pod vysokým tlakem. Vajíčka *P. equorum* jsou odolná vůči většině dezinfekčních přípravků. Pastviny by měly být zatíženy omezeným počtem koní, ročky a odstávčata bychom měli od sebe oddělit a zabránit nadměrnému spásání, při přikrmování senem a jádrem vhodnými opatřeními minimalizovat fekální znečištění krmiva a vody.

**Tabulka 3. Vybraná anthelmintika s účinností proti *Parascaris equorum***

Účinná látka	Název přípravku	dávka	Způsob podání
Fenbendazole	Panacur power pac, Safeguard	10 mg/kg	Jednorázově per os
Mebendazole	Antiverm	8 mg/kg	Jednorázově per os
Oxibendazole	Anthelcide EQ	10 mg/kg	Jednorázově per os
Ivermectin	Noromectin, ecomectin, zimectrin, equalan aj.	200 ug /kg	Jednorázově per os
Moxidectin	Equest, Equest plus	400 ug /kg	Jednorázově per os
Piperazine	Various	88 mg /kg	Jednorázově per os
Pyrantel pamoate	Strongid	6,6 mg /kg	Jednorázově per os
Pyrantel tartráte	Strongid c, Continuex 2X	2,64 mg /kg	Denně do krmiva

### 2.1.7. *Dictyocaulus arnfieldi* (Dictyocaulidae)

*Dictyocaulus arnfieldi* Cobbold, 1884 (Railiet et Henry, 1907) parazituje v bronších a bronchiolích oslů, koní a zeber. Tento parazit je kosmopolitně rozšířený (Jurášek et al. 1993).

#### Taxonomie

*Dictyocaulus arnfieldi* je řazen do říše Helminthes, kmenu Nemaelminthes, třídy Nematoda a čeledi Dictyocaulidae.

#### Morfologie (Jurášek et al. 1993)

Samec dorůstá velikosti 25 - 42 mm a má krátkou burzu. Dorzální žebra jsou na distálním konci dvojlaločná. Spikuly jsou dlouhé 199 - 250  $\mu\text{m}$ , gubernákulum je ovoidní. Samice, 43 - 68 mm velká, má krátký a mírně ohnutý konec ocasu. Vulva ústí v zadní třetině těla. Eliptická vajíčka dosahují velikosti 80 - 100  $\times$  50 - 60  $\mu\text{m}$  a jsou embryonovaná. Larvy  $L_1$  se líhnou v plicích nebo trusu a jsou dlouhé 420 - 480  $\mu\text{m}$ . Dospělce je možné nalézt i v průduškách.

#### Biologie a vývojový cyklus

Ovovivipární samice produkují vajíčka, z kterých se v plicích uvolňují larvy  $L_1$ . Migrují do trachey, zvířata je vykašlávají, poté polykají a do vnějšího prostředí se dostávají v trusu. Většinou v trusu nacházíme právě larvy  $L_1$ , někdy však můžeme nalézt i vajíčka (Mackay et Urguhart 1979; Jurášek et al. 1993) Larvy jsou vyplněné

tmavohnědými granulami. Granula slouží pro výživu larev, které ve vnějším prostředí nepřijímají potravu. Za optimálních podmínek se larvy dvakrát svlékají a v průběhu 5 - 7 dní se mění na infekční L<sub>3</sub> larvy (Jurášek et al. 1993). Infekční L<sub>3</sub> larvy přijaté hostitelem (orální infekce) penetrují střevní stěnou do mezenterických lymfatických uzlin a mění se na larvy L<sub>4</sub>. Larvy L<sub>4</sub> jsou zaneseny krví a lymfou do plic, kde se po porušení krevních kapilár dostávají do alveol a bronchů. Zde se naposledy svlékají a dospívají na larvy L<sub>5</sub>. Vývin L<sub>5</sub> larev trvá asi týden a je většinou doprovázen patrnými klinickými příznaky. Vývojový cyklus je přímý a prepatentní perioda trvá 12 týdnů (Round 1976; Clayton et Duncan 1981).

### **Rozšíření**

Přirozeným hostitelem *D. arnfieldi* je osel, u něhož mohou být tyto paraziti akumulováni v plicích ve velkých počtech bez zjevných klinických příznaků (Nicholls et al. 1979). Infekce je běžná v nepříznivých, chladných klimatických podmínkách s hojně se vyskytujícími srážkami, kde se koně pasou společně s osly (Boyle et Houston 2006). U koní samotných je tento parazit nalézán zřídka, ale existují zprávy o napadení koní *D. arnfieldi*, přestože jejich pastvina nebyla nikdy osly využívána. Na farmě v Kentucky v roce 1983 a 1984 zaznamenali z celkového počtu 34 koní 23 pozitivních na *D. arnfieldi*. Tito koně nebyli nikdy vystaveni společnému soužití s osly (Lyons et al. 1985). Před rokem 1983 v Kentucky bylo zaznamenáno při pitvě přibližně 11 % koní infikovaných *D. arnfieldi* (Lyons et al. 1985). V různých studiích provedených u oslů byl zaznamenán 50 - 80 % výskyt *D. arnfieldi* (Klei 1986). Při experimentální pitvě koní provedené v roce 2000 a 2001 v Kentucky nebyl zaznamenán žádný výskyt *D. arnfieldi* (Lyons et al. 2003). Časté používání ivermectinu v posledních letech má za následek nižší výskyt parazitické pneumonie způsobené *D. arnfieldi* (Boyle et Houston 2006).

### **Diagnostika**

Výsledky biochemických rozborů krve mohou být u koní postižených parazitickou pneumonií v normálních hodnotách. Zvýšené mohou být jaterní enzymy. K odhalení parazitické pneumonie slouží velmi dobře cytologické vyšetření nebo stěry sliznic. Naopak endoskopické vyšetření velmi zřídka vizuálně zachytí dospělce *D. arnfieldi* (Boyle et Houston 2006). Pro detekci vajíček a larev *D. arnfieldi* lze úspěšně využít koprologické metody. Lze použít klasickou flotační

metodu nebo modifikovanou metodu dle Mc Mastera. Nejprokazatelnější metodou pro odhalení infekce *D. arnfieldi* je larvoskopie dle Baermanna. U uhynulých zvířat při podezření na parazitickou pneumonii lze při pitvě odebrat vzorek plic a rovněž použít techniku dle Baermanna (Boyle et Houston 2006).

### **Patogeneze a klinické příznaky (Boyle et Houston 2006)**

*Dictyocaulus arnfieldi* infikuje koně všech věkových kategorií. Nejčastěji však bývají postiženi koně mezi 5. - 8. rokem života. Výskyt migrujících larev a dospělců v plicním parenchymu aktivuje buněčnou a humorální imunitu. Přímé poškození plicního parenchymu dospělci *D. arnfieldi* vede až k chronické katarální bronchitidě, ohniskově se vyskytujícím otokům a hemorragii (Beech 1979). Adultní stádia parazitů v plicní tkáni tlumí druhotné obranné mechanismy, tím dochází k zeslabení mukózní stěny, což má za následek sníženou schopnost filtrace částic, zároveň se snižuje počet plicních makrofágů. Toto vede k sekundární imunopresi, čímž je usnadněna kolonizace sekundárních bakteriálních infekcí (Burks 1998). Typické šedo zelené lymfatické noduly jsou často rozptýlené na povrchu plic (Nicholls et al. 1979).

Klinické příznaky se mohou vyvinout velmi brzy, už 12. den po infekci L<sub>3</sub> larev. Mezi typické klinické příznaky patří chronický kašel a bilaterální hlenohnisavý výtok z nozder. Příznaky infekce jsou obvykle pozorovány u dospělých koní, ale jsou známy i případy infekce *D. arnfieldi* u čtyřměsíčních hříbat.

### **Terapie a prevence**

Nejúčinnější způsob prevence je vyhnout se společné pastvě koní a oslů. Jelikož existuje možnost přenosu i mezi koňmi samotnými, je důležité dodržovat správný pastevní management, spočívající v odstraňování trusu, sekání spasků a minimalizovat krmění ze země. Mezi účinnou terapii parazitické pneumonie dříve patřily látky ze skupiny benzimidazolů. Dnes jsou v boji proti infekci *D. arnfieldi* hojně využívány makrocyclické laktony (ivermectin, moxidectin) úspěšně působící na migrující larvy i dospělé (Boyle et Houston 2006).

### **2.1.8. *Oxyuris equi* (Oxyurata)**

*Oxyuris equi* (Schrank, 1788) parazituje u koní, oslů, mul a zeber. Místem jeho lokalizace je tlusté a slepé střevo, vzácněji je nalézán i v tenkém střevě.

#### **Taxonomie**

*Oxyuris equi* je řazen do říše Helminthes, kmenu Nemahelminthes, třídy Nematoda a čeledi Oxyuroidea.

#### **Morfologie (Jurášek et al. 1993)**

Dospělé samice dosahují délky až 10 cm. Mají bílou barvu, jejich zužující se ocas může být až 3 × delší než zbytek těla. Na hlavovém konci se nachází 6 bradavek, jícen není dostatečně vyvinut, tvoří bulbus. Vulva je lokalizována v přední části těla. Samci jsou výrazně menší, jejich velikost je pouze do jednoho cm. Jsou světle žluté barvy. Mají jednu jehlicovitou spikulu, která je 120 - 150 μm dlouhá a na ocasním konci jsou dva páry velkých a několik malých papil. Vajíčka *O. equi* jsou ovoidního tvaru, mírně zploštělá k jedné straně a na jednom pólu vybavena mukoidní zátkou ve tvaru U. Velikost vajíček je 85 - 95 × 40 - 45 μm.

#### **Vývojový cyklus (Jurášek et al. 1993)**

Vývojový cyklus *O. equi* je přímý. Kůň se nakazí perorálně, spolknutím infekčních vajíček spolu s krmivem nebo vodou, vzájemným olizováním nebo olizováním předmětů. L<sub>3</sub> larvy se z vajíček v tenkém střevě uvolní a migrují do mukózy céka a kolonu, kde se z nich za 8 - 10 dní stanou larvy L<sub>4</sub>. Tyto larvy mají velkou ústní kapsulu a živí se mukózou. Dospělci se živí střevním obsahem. Dospělé samice migrují po oplození do rekta a vylučují vajíčka v perianální oblasti hostitele. Vývin vajíček je rychlý, za 3 - 5 dní obsahují infekční L<sub>3</sub> larvu. Shluky vajíček jsou viditelné i pouhým okem jako želatinózní pásy. Při postupném vysychání se tyto želatinózní pásy, obsahující 6000 - 8000 vajíček, lámou a padají na zem. Dost často ulpívají na žlabech, napáječkách, stěnách a dochází tak ke kontaminaci velké části stáje i pastvin. Prepatentní perioda trvá 4 - 5 měsíců.

## **Rozšíření**

Nejvyšší procento nákazy je v období zimního ustájení ve společných stájích s nedostatečnou zoohygienu. Vysoká intenzita infekce nastává též v důsledku reinfekce, napadání bývají často jedinci se slabým imunitním systémem. Rozšíření nákazy je kosmopolitní. V Polsku byla nalezena prevalence 36 % (Gawor 1995), v Austrálii 7 % (Bucknell et al. 1995), v Řecku 4,1 % (Sotiraki et al. 1997). V Brazílii dosahovala prevalence *O. equi* až 90 % (Pereira et Vianna 2006), v Iránu 22,6 % (Tavassoli 2010) a v Mexiku 2,8 % (Güiris 2010).

## **Diagnostika**

Světle žluté shluky vajíček v perianální oblasti lze diagnostikovat pouhým okem. Ve flotaci se objevují zřídka, proto se při diagnostice využívá perianálních stěrů.

## **Patogeneze a klinické příznaky**

Klinické příznaky jako hubnutí, průjmy a koliky se objevují vzácně. Při migraci samic a vylučování vajíček dochází k silnému svědění, což vyvolává u koní škrábání a neklid. Dochází tak k lokálním zánětům v okolí řitní krajiny, vznikají dermatitidy a ekzémy. Koně si často vydrbou kořen ocasu (Taylor et al. 2007), což může být zaměňováno s příznakem nemoci zvané letní vyrážka.

## **Terapie a prevence**

K terapii se používají širokospektrální benzimidazolová a ivermectinová anthelmintika. Účinná prevence spočívá v dostatečné zoohygienu stájí, zahrnující každodenní místování a nastýlání boxů a dezinfekci prostoru pro krmení a napájení.

### **2.1.9. Tasemnice (Cestoda, Cyclophyllidea)**

Kůň je definitivním hostitelem tří druhů tasemnic z čeledi Anoplocephalidae: *Anoplocephala perfoliata*, *Anoplocephala magna* a *Paranoplocephala mamillana*. Koňským tasemnicím nebyl dlouho přikládán velký význam. Byly považovány za neškodné a zřídka se vyskytující. Teprve nedávné studie však potvrdily souvislost mezi napadením *A. perfoliata* a vznikem kolikových onemocnění (Beroza et al. 1983, 1986; Proudman et Edwards 1993; Proudman et al. 1998, 2003; Matthews et al. 2004; Gasser et al. 2005).



## **Taxonomie**

*Anoplocephala* spp. je řazena do říše Helminthes, kmenu Platyhelminthes, třídy Cestoda, čeledi Anoplocephalidae a rodu *Anoplocephala*.

## **Morfologie**

### ***Anoplocephala perfoliata***

Dospělá tasemnice *A. perfoliata* měří 3 - 8 cm a je 1,5 až 2 cm široká. Kulovitý skolex *A. perfoliata* je vybaven čtyřmi kulovitými přísavkami a dosahuje velikosti až 3 mm. Jako jediná z tasemnic koní má *A. perfoliata* na skolexu kaudálně za přísavkami lalůčky (lapety), které jsou podobné oušku a velké asi 0,5 až 1 mm. V hostiteli jsou dospělé tasemnice uchyceny nejvíce v céku (80 %), v oblasti ileocekální chlopně (18 %) a vzácněji ve ventrálních slohách velkého kolonu. Průměrný počet tasemnic je 100 kusů, ale při masivních infekcích může počet tasemnic dosáhnout až 800 kusů (Koudela 2008a).

### ***Anoplocephala magna***

*Anoplocephala magna* dosahuje délky až 80 cm a parazituje v kaudální části tenkého střeva (Jurášek et al. 1993), v současné době se vyskytuje sporadicky.

### ***Paranoplocephala mamillana***

*Paranoplocephala mamillana* měří pouze 0,5 - 6 cm a je ze všech koňských tasemnic nejméně patogenní.

Vajíčka tasemnic měří 60 - 80  $\mu\text{m}$  a jejich tvar připomíná polygon.

## **Vývojový cyklus**

Vývojový cyklus koňských tasemnic je nepřímý. To znamená, že část svého života se tasemnice čeledi Anoplocephalidae vyvíjejí v mezihostiteli, až do doby než jsou schopné infikovat definitivního hostitele. Mezihostiteli jsou roztoči z čeledí Oribatidae (Georgi et Georgi 1990; French et Chapman 1992; Lyons et al. 1997), Galumnidae a Carabodidae. Zvyšující se výskyt tasemnic připisují někteří autoři klimatickým změnám, které přímo ovlivňují množení roztočů (Geering et Johnson 1990). Vajíčka od infikovaných koní odcházejí s trusem do vnějšího prostředí, kde je pozrou detritičtí roztoči, kteří žijí na pastvinách ve velkých počtech a jsou důležitou součástí potravního řetězce. Vajíčka mají 60 - 80  $\mu\text{m}$  a jejich tvar připomíná polygon. Po proniknutí do tělní dutiny roztoče se z vajíčka uvolní onkosféra a za 1 - 4 měsíce se vyvine do infekčního stádia zvané cysticerkoid. Kůň se nakazí pozřením

infikovaného roztoče spolu s pastvou. Cysticerkoid se přichytí na sliznici střeva a vyvíjí se v dospělou tasemnici. Prepatentní perioda trvá 6 - 8 týdnů (Koudela 2008b). Všechny tasemnice jsou hermafrodité.

### **Rozšíření**

První zmínky o napadení koní tasemnicemi se objevily v 18. století v Severní Americe. V této době byla převládajícím druhem nalezeným u koní *A. magna*, *A. perfoliata* se vyskytovala velmi vzácně. Naopak, v současnosti převládá *A. perfoliata*, která se běžně vyskytuje u koní po celém světě (Matthews et al. 2004; Gasser et al. 2005). Údaje o rozšíření koňských tasemnic se u jednotlivých autorů liší v závislosti na metodě detekce a geografické poloze dané země. Studie, které provedl Bain et Kelly (1977); Slocombe (1979); Lyons et al. (1984); uvádějí prevalenci v rozsahu 18 - 82 % v jednotlivých zemích v závislosti na geografické oblasti. Prevalence v Idahu se pohybuje kolem 38,3 %, v Tenesse kolem 68,1 %, v USA je celkové rozšíření *A. perfoliata* cca 52,3 % (Marchiondo et al. 2006). V Řecku byla nejčastějším parazitem nalezeným u pasených koní s celkovou prevalencí 26 % (Papazahariadou et al. 2009). V Jižní Korei byla poprvé zaznamenána až v roce 2001, jako následek importu koní ze zahraničí (Ryu et al. 2001). Vysoké hodnoty prevalence byly většinou zjištěny post mortem (Gasser et al. 2005; Slocombe et al. 2007b), podstatně nižší hodnoty jsou uváděny při použití koprologických metod.

V zatím jediné prevalenční studii zpracované v České republice bylo flotačně vyšetřeno celkem 342 koní různého věku, pohlaví a plemene s celkovou prevalencí *A. perfoliata* dosahující 6,73 % (Vojtková et al. 2006).

### **Diagnostika**

Infekce tasemnicemi lze u koní zjistit pomocí metod koprologických, sérologických, nebo nově pomocí řetězové polymerázové reakce (PCR).

Koprologická metoda stanovení vajíček v trusu patří mezi klasické parazitologické techniky. Pro detekci tasemnic je však považována za nepřesnou a málo citlivou (French et al. 1994). Citlivost běžně používaných testů se pohybuje v rozsahu 8 - 61 % (Meana et al. 1998; Williamson et al. 1998). Ihler et al. (1995), Nillson et al. (1995) a Meana et al. (1998) potvrdili, že koprologická metoda má omezenou pravděpodobnost odhalení tasemnic u koní, kteří jsou infikováni méně než 100 jedinci. Naopak zvláště užitečná je u koní s masivní intenzitou infekce

(Matthews et al. 2004; Gasser et al. 2005). Jedním z důvodů malé citlivosti koprologické diagnostiky je fakt, že se u druhu *A. perfoliata* děloha neotvírá bezprostředně po oddělení zralých proglotid od strobila, což vysvětluje nízké promísění vajíček v trusu (Koudela 2008b). V souvislosti s tím Nillson et al. (1995) poukázal na chybějící vztah mezi počtem jedinců tasemnic a uvolňovanými vajíčky, který byl již dříve pozorován některými autory (Proudman et Edwards 1992). Další příčinou nízké sensitivity je intermitentní vylučování proglotid.

Serologická diagnostika využívající přítomnosti anti - 12/13 kDa IgG(T) protilátek, případně koproantigenů vykazuje senzitivitu v rozmezí 70 - 95 % (Matthews et al. 2004; Kania et Reinemeyer 2005). Tento test je sice užitečný pro určení stupně ohrožení, ale nedokáže odhalit aktuální infekci, neboť protilátky se mohou vyskytovat i po odstranění parazitů (Kania et Reinemeyer 2005; Traversa et al. 2008).

Slibnou budoucnost v diagnostice anoplocefalózy naznačuje řetězová polymerázová reakce (PCR) nedávno navržená pro diagnostiku tasemnic koní (Drogemuller et al. 2004). Pomocí PCR je možné identifikovat DNA z povrchu vajíček *A. perfoliata* v trusu infikovaných zvířat a stanovit aktuální infekci (Vojtková et al. 2006; Koudela 2008b). Přestože PCR překonává svou senzitivitou klasické metody, není možné pomocí ní prokázat intenzitu infekce.

### **Patogeneze a klinické příznaky**

*Anoplocephala pefoliata* byla po mnohá staletí považována za málo patogenní, protože nebyl znám vztah mezi napadením tímto parazitem a kolikovým onemocněním. V současnosti jsou koliky jedním z nejdůležitějších onemocnění u koní končících často smrtí (Tinker et al. 1997). Jelikož je *A. perfoliata* jednou z příčin vážných kolikových onemocnění, je jí věnována v současné době značná pozornost.

*Anoplocephala perfoliata* žije přisátá na povrchu sliznice střeva, kde způsobuje těžké záněty a většinou je přichycena v oblasti ileocekální chlopně. Tasemnice u koní nemigrují, a proto je jejich výskyt úzce vázán na střevo. Často se ve střevech koní vyskytuje více jedinců, kteří žijí nahloučeni do jednoho místa, v důsledku čehož může dojít při masivní infekci až k perforaci střeva a následné smrti (Briggs et al. 2004d; Koudela 2008b).

Shlukováním jedinců se vzniklý zánět rozšíří do submukózy, kde dochází k poruchám krvení a nervové regulace, tím se postupně ztenčuje stěna střeva (Fogarty et al. 1994). Vyskytují se nekrotické zánětlivé léze a vředy v mukóze a submukóze ileocékální chlopně a céka (Ryu et al. 2001; Vojtková et al. 2006). Silné infekce jsou často doprovázeny intermitentními kolikami, progresivním hubnutím a anémií. Koně s nízkým počtem tasemnic v těle (méně než 100 jedinců) nemusí vykazovat příznaky onemocnění.

Mezi intestinální poškození zapříčiněná *A. perfoliata* patří střevní invaginace, intramurální hematom, střevní divertikl, intestinální obturace a perforace střeva (Barclay et al. 1982; Beroza et al. 1985; Cosgrove et al. 1986; Owen et al. 1988; Proudman et Edwards 1992; Proudman et al. 1998; Biglietti et Garbagnati 2000).

Střevní invaginace (intususcepcce) jsou akutního i chronického charakteru a často se vyskytují při napadení tasemnicemi. Dochází ke změnám polohy střevních kliček ve směru jejich podélné osy, při které se střevní trubice převrátí a ve směru peristaltiky se teleskopicky vsune do sousedního oddílu (Vojtková et al. 2006). Tasemnice produkují enzym acetylcholinesterázu, který zřejmě způsobí lokální omezení střevní peristaltiky. Nejčastěji dochází k ileocékální invaginaci (Koudela 2008b). Postižení koně mívají středně silné kolikové bolesti, při chronické formě je nejnápadnějším příznakem ztráta váhy a celkově zhoršující se zdravotní stav. Invaginace jsou řešitelné pouze operativně a přesnou diagnózu lze zjistit většinou až při laparotomii nebo pitvě. Perforace duodena způsobená *A. magna* u devítiměsíčního hřebečka byla popsána Oliverem et al. (1977). Koně napadení *A. perfoliata* měli 26 krát vyšší pravděpodobnost vzniku ileální impakce a 8 krát častěji se u nich vyskytovaly spastické koliky, přičemž 22 % spastických kolik přímo souviselo s napadením *A. perfoliata* (Proudman et al. 1998; Proudman 2003).

### **Terapie a prevence**

Přípravky ze skupiny makrocyclických laktonů nemají na tasemnice žádný vliv (Vojtková et al. 2006; Papazahariadou et al. 2009). Mnoho veterinárních lékařů doporučovalo použít proti tasemnicím pyrantel v dvojité dávce oproti nematodním hlísticím. Mechanismus účinku pyrantelu spočívá v působení na nikotinové acetylcholinové receptory, způsobující spastickou paralýzu svalové tkáně parazita a jeho vyloučení trusem (Bodeček 2008).

Jeho účinnost testoval Marchiondo et al. (2006). Byla zjištěna vysoká účinnost dosahující 92 - 98 %. Podávání pyrantelu pamoat a tartrát koním všech věkových kategorií, včetně březích klisen, je bezpečné. V ČR není pyrantel pro koně registrován.

Také u praziquantelu byla prokázána vysoká účinnost proti *A. perfoliata* a zřídka se vyskytující *P. mamillana*. Jelikož praziquantel je vysoce účinný pouze proti tasemnicím a motolicím (Slocombe 2007b), odčervovací přípravky se vyrábí v kombinaci s makrocyclickými laktony (ivermectin, moxidectin) k pokrytí celého spektra parazitů koní. Praziquantel se podává koním v dávkách 0,75 - 1,0 mg / kg ž.hm. Není doporučeno podávat praziquantel březím klisnám, zvláště v poslední třetině březosti. Jediným na trhu dostupným přípravkem pro březí klisny je Equimax od firmy Virbac. V tabulce 4 jsou uvedena vybraná anthelmintika používaná proti tasemnicím koní.

**Tabulka 4. Přehled vybraných anthelmintik s účinností proti tasemnicím**

Účinná látka	Název přípravku	Dávka	Způsob podání
Ivermectin/praziquantel	Equimax, Zimectrin gold	200 µg/kg IVM, 1,5mg/kg PRZ	Jednorázově per os
Moxidectin/praziquatel	Equest pramox, Equest plus tape gel	400 µg/kg MOX, 2,5 mg/kg PRZ	Jednorázově per os
Pyrantel pamoate	Strongid, Tape care plus, Strongyle care paste	6,6 mg/kg	Jednorázově per os
Pyrantel tartrate	Strongid C, continuex 2X	2,64 mg/kg	Denně do krmiva
Pyrantel embotape	Embotape	38 mg/kg	Jednorázově per os

## 2.2. Postupy aplikace účinných léčiv (Proudman 2003)

1) Objeví-li se ve stádě několik koní infikovaných tasemnicemi, předpokládá se, že napadení mohou být všichni. Zvláště, je-li infekce určena flotační technikou, která má nižší senzitivitu. Proto se doporučuje odčervit všechny koně ze stáda. Čas ošetření není důležitý, protože tasemnice nevykazují sezónnost. Někteří autoři však uvádí, že vyšší riziko infekce je na podzim a zjara (Little 1999; Barragry 1996), proto se doporučuje provést ošetření v tomto období.

2) Uplatňuje se ošetření pouze u aktuálně infikovaných koní. Doporučuje se serologická metoda stanovení protilátek proti *A. perfoliata*.

Tasemnice potřebují pro svůj vývoj nezbytně mezihostitelské roztoče, kteří se vyskytují na pastvinách. Z důvodů prevence je vhodné věnovat stavu pastvin náležitou pozornost. Jedná se o kultivaci, přisevy, jako efektivní se jeví odstraňování trusu a také využívání pastviny např. skotem (Briggs et al. 2004d; Hinney 2009).

### **2.2.1. Anthelmintika**

V současné době je na trhu dostupné velké množství odčervovacích přípravků pro koně z celkem pěti chemických tříd. Patří sem chemická třída benzimidazolů, heterocyklických komponentů, makrocyklických laktonů, tetrahydropyrimidinů a isoquinoline - praziquantelu.

#### **2.2.1.1. Mýty o koňských anthelmintikách (Briggs et al. 2004f)**

- 1) Jediný způsob, jak zajistit spolehlivý účinek, je aplikace nosojícnovou sondou.
- 2) Preparáty jsou pro koně toxické.
- 3) Preparáty se nesmí podávat březím klisnám.
- 4) Rostlinné a přírodní produkty mají stejný účinek jako komerční anthelmintika bez použití toxických chemických látek.
- 5) Aplikace méně často a pokaždé jiným preparátem zabrání rozvoji rezistence na anthelmintika.

#### **2.2.1.2. Pravidla aplikace anthelmintik (Dražan 2001; Brady et Nichols 2009)**

- 1) Před podáním preparátu je důležité znát živou hmotnost koně.
- 2) Poddávkování může rychle navodit vznik rezistence vůči preparátu, je lepší mírně předávkovat.
- 3) Nechat si dělat pravidelná koprologická vyšetření pro získání parazitického statusu jednotlivých koní a následný výběr anthelmintika.
- 4) Omezit použití anthelmintika na nejnižší možnou míru.
- 5) Odčervit nově příchozí koně před zařazením do stáda.

#### **2.2.1.3. Alternativní preparáty**

Zahrnují různé preparáty většinou rostlinného charakteru např. česnek, tabák a dýňová semínka obsahující aminokyselinu cucurbitin, která je botaniky považována

za přírodní anthelmintikum. Účinnost rostlinných anthelmintik však nebyla nikdy oficiálně zkoumána (Briggs et al. 2004e).

Příslibem do budoucna je využití netobiminu. Netobimin, obsahující účinnou látku albendazol, je úspěšně využíván k terapii motolic, tasemnic a plicnivek u přežvýkavců. Jeho využití u koní jako potenciálního anthelmintika je předmětem vědeckého výzkumu (Gokbulut et al. 2009).

#### **2.2.1.4. Antiparazitární programy**

Současné equinní parazitární programy zahrnují cílenou a selektivní aplikaci anthelmintik (targeted dosing), strategické dávkování (strategic dosing), intervalové dávkování a pomalou a rychlou rotaci mezi jednotlivými třídami anthelmintik (Love 2003; Blanek et al. 2006). Posledním programem, využívaným zejména v USA, je kontinuální podávání pyrantelu v krmivu. V Evropě není každodenní přidávání pyrantelu do krmné dávky povoleno.

##### **A) Intervalové dávkování**

Zahrnuje podávání anthelmintika všem koním po celý rok v 6 - 8 týdenních intervalech v závislosti na znovuobjevení se vajíček v trusu (egg reappearance period). Interval se liší dle jednotlivých chemických tříd (Chandler et Love 2002). U ivermectinu se začínají znovuobjevovat vajíčka v trusu po 6 - 8 týdnech, u moxidectinu po 12 týdnech a u benzimidazolů po 4 - 6 týdnech.

Tento program je určen pro chovy, ve kterých se často obměňují koně včetně mladých zvířat. Je samozřejmě obchodně zajímavý pro farmaceutické firmy, které nabízejí prostřednictvím internetu upozornění na termín aplikace a anthelmintikum, které by bylo vhodné podat (Bodeček et Koudela 2008).

##### **B) Strategické dávkování**

Cílem tohoto programu je zamezit kontaminaci pastvin infekčními stádií parazitů. Vychází ze znalosti klimatických podmínek na pastvinách a jejich vlivu na rozvoj stádií parazitů. Anthelmintika jsou proto nejčastěji podávána všem koním na začátku a konci pastevní sezóny (Bodeček et Koudela 2008).

### **C) Cílené a selektivní dávkování**

Spočívá v cílené aplikaci anthelmintik dle počtu vajíček v trusu. Pokud počet vajíček přesáhne hodnotu 200 EPG mělo by být aplikováno anthelmintikum.

### **D) Pomalá rotace**

Spočívá v aplikaci jedné třídy anthelmintika po celý rok, další rok se používají preparáty z odlišné chemické třídy. Je navrhováno podat ivermectin 1. rok, 2. rok aplikovat pyrantel a 3. rok fenbendazol (Brady et Nichols 2009). Tento program je doporučován ke snížení vývoje rezistence vůči anthelmintikům (Herd 1993).

### **E) Rychlá rotace**

Zahrnuje podání anthelmintika z různých chemických tříd 3 - 6 ročně. Použití různých tříd anthelmintik během roku minimalizuje dlouhodobější vystavení parazitů jedné třídě anthelmintik. V případě rozvoje rezistence k jedné třídě, ošetření anthelmintikem z jiné třídy v krátkodobém časovém úseku eliminuje rezistentní populaci (Brady et Nichols 2009).

#### **2.2.1.5. Rezistence parazitů na anthelmintika**

Jako rezistence je definována schopnost parazitů přežít terapeutickou dávku léčiva v porovnání s jinou citlivou populací stejného druhu (Briggs et al. 2004b; Bodeček et Koudela 2008). Paraziti zároveň dědí schopnost odolávat anthelmintiku po jeho opakovaném podání. Za rezistenci je považována situace, kdy 10 - 14 dnů po podání anthelmintika je průměrná redukce počtu vajíček menší než 90 %. Mezi významné parazity koní, u kterých byla oznámena rezistence alespoň na 1 třídu anthelmintik, patří *Parascaris equorum* a malí strongylidi (Brady et Nichols 2009).



### 3. CÍLE

- Vyhodnotit výskyt, prevalenci a sezónní dynamiku parazitů koní ve vybraných chovech.
- Posoudit účinnost podávaných anthelmintik, příp. zaznamenat rezistenci parazitů vůči některým z nich.
- Zhodnotit vliv zootechnických podmínek ve sledovaných chovech na intenzitu parazitárních infekcí.
- Vyhodnotit vliv věku na výskyt jednotlivých druhů parazitů.

## **4. MATERIÁL A METODIKA**

V letech 2009 až 2011 bylo provedeno parazitologické vyšetření koní různých věkových kategorií v chovech ve Vlčevsi a v Táboře.

### **4.1. Charakteristika sledovaných chovů**

#### **4.1.1. Chov slovenského teplokrevníka ve Vlčevsi**

##### **Způsob chovu**

Chovatelé se zabývají především chovem slovenského teplokrevníka, v menší míře také chovem skotu v ekologickém zemědělství. Farma se rozkládá v areálu bývalého zemědělského družstva a přísluší k ní 50 ha luk a pastvin. Celkem se tu nachází 60 koní všech věkových kategorií. Chovné klisny s hříbaty, odstávčata, klisny a hřebci do 3 let věku využívají od května do listopadu 4 velké pastviny. V zimním období jsou tyto kategorie koní ustájeny ve volných stájích. Boxovou stáj mají k dispozici plemenní hřebci, sportovní koně a klisny před ohřebením. Boxy jsou prostorné o rozměrech 5 × 5 metrů.

##### **Krmení koní**

###### Letní období

Koně využívají zejména pastvu, kam jsou dodávány pouze minerální lizy. Napájejí se z přírodních zdrojů, nebo je jim voda na pastvinu dovážena. Koně ustájení v boxech dostávají po celý rok stejnou krmnou dávku, skládající se ze sena a směsi ječnoovesného šrotu, otrub, vojtěškových úsušků a minerálních doplňků dle individuálních potřeb. Krmení i voda se jim podává 2 × denně do plastových věder.

###### Zimní období

Mladí hřebci jsou krmeni senem a krmnou slámou. Chovné klisny s hříbaty dostávají seno, jetelotravní senáž a na dosycení slámu.

##### **Péče a ošetřování koní**

Boxovým koním se místuje a nastýlá obden, klisnám a hřebcům ve volných stájích se pouze přistýlá. Anthelmintika dostávají všichni koně 1 - 2 × ročně, hříbata

častěji. Většinou se používají látky ze skupiny benzimidazolů (Helmigal), v menší míře ivermectiny (Cevamec). Vakcinace proti chřipce a tetanu se neprovádí, s výjimkou sportovních koní. Rovněž chovné klisny se nevakcinují proti EHV 1,4. Novorozená hříbata jsou očkována proti ochromě.

#### **4.1.2. Sportovní a obchodní stáj Kavalo Tábor**

##### **Způsob chovu**

Stáj Kavalo Tábor se specializuje na nákup mladých koní, jejich výcvik a následný prodej. Celkem se ve stáji nachází 12 - 17 koní, jsou ustájeni v boxech 4 × 3 a 3 × 3 metry. Do výběhu chodí v letním období pouze 2 koně - frízský hřebec Artuš a starší valach českého teplokrevníka Furel. Ostatní jsou pouštěni ráno do kolotoče a odpoledne probíhá výcvik na jízdárně v délce 1 - 1,5 h.

##### **Krmení koní**

Koně mají stejnou krmnou dávku po celý rok. Dostávají seno v celkové dávce cca 7 kg a mačkaný oves dle zátěže. Minerální doplňky jsou dodávány pouze koním s vyšší sportovní výkonností. Krmení probíhá ráno a večer, voda je k dispozici *ad libitum*.

##### **Péče a ošetřování koní**

Místuje a nastýlá se 2 × denně. Anthelmintika s účinnou látkou obsahující ivermectin (Equimectrin, Bimectin) jsou podávána 1 - 2 × ročně. Jelikož jsou koně využíváni ke sportovním účelům, musí být každoročně očkováni proti chřipce a jednou za dva roky sérologicky vyšetřeni na infekční anémii.

#### **4.1.3. Soukromá stáj Tábor**

##### **Způsob chovu**

Stáj se nachází v objektu ŠS VOŠ a SZeŠ Tábor v Měšicích a kapacitně odpovídá třem koním. Klisna s hříbětem je ustájena v prostorném boxu 4 × 4 m, valach má k dispozici 2,5 × 3 m. Koně chodí denně do travnatého výběhu o výměře 0,7 ha, kde tráví dle počasí 6 - 14 hod.

## **Krmení koní**

### Letní období

Přes den využívají pastvu, večer jsou dokrmováni senem. Jádro s vitamino - minerálními doplňky je jim podáváno 2 × denně. Vodu mají po celý den *ad libitum*.

### Zimní období

Do výběhu je dováženo seno a voda. Směs ječnoovesného šrotu, lněného semene, sladovnického květu, vojtěškových úsušků a vitamino - minerálních doplňků je podávána 2 × denně v množství dle zátěže.

## **Péče a ošetřování koní**

Koním se každodenně místuje a nastýlá pilinami a slámou. Ošetření anthelmintiky je prováděno 2 - 4 × ročně. Nejčastěji se používá účinná látka ivermectin (Noromectin), byl však používán i fenbendazol (Panacur) a praziquantel (Equimax).

Každoročně jsou koně vakcinováni proti chřipce a tetanu. Klisna byla v době březosti očkována proti EHV 1,4. Sérologické vyšetření krve probíhá v dvouletých intervalech na infekční anémii.

## **4.2. Odběr vzorků pro parazitologické vyšetření**

Odběry vzorků probíhaly v průběhu roku 2009 a 2011 ve dvou až čtyřtýdenních intervalech. Čerstvý trus byl individuálně odebírán z podestýlky z boxu, z pastviny ihned po vykání, případně přímo z rekta. Vzorky byly uloženy do plastových vzorkovnic a bezprostředně po odběru uskladněny v přepravním chladícím boxu, až do vyšetření byly uchovávány v chladničce při teplotě 4 - 6 °C.

## **4.3. Parazitologické vyšetření**

### **4.3.1. Flotačně-koncentrační metoda dle Sheathera**

#### **Pracovní postup**

1. Trus velikosti lískového ořechu důkladně zhomogenizovat s přidavkem vody.
2. Suspenzi přecedit přes čajové sítko do centrifugační zkumavky (10 ml).
3. Centrifugovat 5 minut při 2500 g.

4. Slít supernatant.
5. Přidat k sedimentu cca 2 ml sheatherova roztoku a důkladně homogenizovat.
6. Doplnit sheatherův roztok cca 1 cm pod okraj zkumavky.
7. Centrifugovat 5 minut při 2500 g.
8. Pomocí mikrobiologické kličky odebrat (3 - 5 ×) povrchovou blanku a přenést ji na podložní sklíčko.
9. Překrýt vzorek krycím sklíčkem.
10. Prohlídnout celý preparát světelným mikroskopem při zvětšení 100 - 400 ×.

### **Příprava zásobního Sheatherova roztoku**

Sheatherův roztok je roztok cukru o specifické hmotnosti 1,158 g.cm<sup>-3</sup>.

### **Pracovní postup:**

1. Zahřát 259 ml deionizované vody a 405 g cukru.
2. Přidat 7,29 g fenolu.

### **4.3.2. Sedimentace pomocí metody MIFC**

Principem metody je sedimentace těžkých vajíček trematod na dně zkumavky. Metoda je dobře využitelná pro detekci kokcidie *Eimeria leuckarti* u koní.

1. Roztok MIFC
  - 500 ml H<sub>2</sub>O
  - 50 ml 40 % formaldehydu
  - 400 ml 0,1 % roztoku mertiolátu sodného (0,4 g /400 ml 96 % etanolu)
  - 10 ml glycerinu
2. Lugolův roztok
  - 1 g krystalického jodu
  - 2 g KJ
  - 100 ml H<sub>2</sub>O

### **Pracovní postup:**

1. Vzorek trusu velikosti lískového ořechu důkladně zhomogenizovat s 5 ml roztoku MIF a 1 ml Lugolova roztoku, slít přes gázu do silnostěnné centrifugační zkumavky.
2. Přidat 2 ml éteru.

3. Zkumavku zazátkovat a protřepat.
4. Obsah nechat 2 min. stát a následně 1 min. centrifugovat při 1500 g.
5. Slít supernatant až po sediment, z kterého Pasteurovou pipetou přenést kapku na podložní sklíčko.
6. Preparát prohlížet pod světelným mikroskopem při zvětšení 100 - 200 ×.

#### **4.3.3. Sedimentace pomocí metody AMS**

##### 1. Roztok AMS (Hustota roztoku - 1,080)

- 115,2 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - bezvodý
- 540 ml HCl
- 660 ml H<sub>2</sub>O

##### 2. Roztok tritonu

- 16,5 ml Triton X 100
- 33,5 ml H<sub>2</sub>O

#### **Pracovní postup**

1. Ve zkumavce s 6 ml roztoku AMS rozmíchat trus velikosti hrachu.
2. Přidat 3 kapky roztoku tritonu a 3 ml éteru.
3. Roztřepat, centrifugovat 2 min. při 2000 g.
4. Prohlížet sediment při zvětšení 100 - 200 ×.

#### **4.3.4. Barvení oocyst kryptosporidií dle Miláčka a Vítovce**

Zásobní roztoky:

##### 1. Roztok anilin-karbol-methyl-violeti

- 0,6 g methylvioleti
- 1 ml anilinu
- 1 g fenolu
- 30 ml 96 % alkoholu
- 70 ml deionizované vody

## 2. Roztok tartrazinu

- 1 % roztok tartrazinu v 1 % kyseliny octové

## 3. Kyselina sírová

- 2 % kyselina sírová

### **Pracovní postup:**

1. Trus rozetřít na podložní sklíčko a fixovat methanolem v plameni.
2. Obarvit anilin-karbol-methyl-violetí po dobu 30 min.
3. Omýt pod tekoucí vodou.
4. Na cca 2 min. ponořit do 2 % kyseliny sírové.
5. Omýt pod tekoucí vodou.
6. Barvit po dobu 1 - 2 min. v roztoku tartrazinu.
7. Omýt pod tekoucí vodou.
8. Po osušení prohlížet světelným mikroskopem při zvětšení  $1000 \times$  za použití imerzního oleje.

### **4.3.5. Larvoskopie dle Baermanna**

Používá se při zjišťování larev v trusu, trávě nebo orgánech hostitele. U koní se dá velmi dobře využít pro detekci plicních nematod - *Dictyocaulus arnfieldi*.

### **Pracovní postup:**

1. Do sedimentační sklenice kónického tvaru vložit čajové sítko.
2. Vzorek trusu v množství 5 - 20 g zabalit do gázy a položit na sítko.
3. Nádobu naplnit teplou vodou o teplotě  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  tak, aby polovina vzorku zůstala pod vodou.
4. Vzorek v nádobě nechat stát při pokojové teplotě 6 hodin.
5. Larvy na dně nádoby odebrat pomocí Pasteurovy pipety.
6. Preparát prohlížet pod světelným mikroskopem při zvětšení  $100 \times$ .

### **4.3.6. Účinnost a rezistence na anthelmintika**

Ke zjištění rezistence na anthelmintika je používán FECRT (test redukce počtu vajíček v trusu). Porovnávají se počty EPG získané ze vzorků těsně před ošetřením a

7 - 14 dní po ošetření (Brady et Nichols 2009). Ze zjištěných hodnot se spočítá % účinnosti anthelmintika.

Pravidla pro interpretaci výsledků FECRT (Briggs et al. 2004):

1. Více než 90 % pokles v počtu EPG znamená, že látka byla účinná.
2. 80 – 90 % pokles - rezistenci můžeme očekávat.
3.  $\leq 80$  % pokles - rezistence se definitivně vyskytla, účinná látka selhala.

#### 4.3.7. Hodnocení intenzity infekce jednotlivých druhů parazitů

Intenzita infekce jednotlivých detekovaných druhů parazitů, vyjma kryptosporidií, byla vyhodnocena semikvantitativní metodou (Tabulka 5). U tasemnic druhu *Anoplocephala* spp. nekoreluje počet parazitujících jedinců s počtem detekovaných vajíček. Z těchto důvodů byly vzorky hodnoceny pouze jako pozitivní. Zjišťování počtu EPG nemá tedy diagnostický význam.

**Tabulka 5. Intenzita infekce dle počtu EPG**

Paraziti	Intenzita infekce			
	Negativní (0)	Slabá (+)	Střední (++)	Silná (+++)
<b>Malí strongylidi</b>	0	$\leq 50$	51 - 300	$\geq 301$
<b>Velcí strongylidi</b>	0	$\leq 50$	51 - 300	$\geq 301$
<i>Parascaris equorum</i>	0	$\leq 500$	501 - 1000	$\geq 5001$
<i>Eimeria leuckarti</i>	0	$\leq 50$	51 - 500	$\geq 501$
<i>Dictyocaulus arnfieldi</i>	0	$\leq 50$	101 - 500	$\geq 501$
<i>Oxyuris equi</i>	0	$\leq 50$	51 - 300	$\geq 301$
<i>Strongyloides westeri</i>	0	$\leq 500$	501 - 5000	$\geq 5001$

Intenzita infekce kryptosporidií byla hodnocena dle množství oocyst ve vzorku natřeném na sklíčku. Hmotnost trusu, použitá k nátěru, byla zjištěna rozdílem hmotností sklíčka s natřeným vzorkem trusu a hmotností čistého sklíčka. Intenzita infekce byla odhadována na základě počtu oocyst v gramu trusu (Kváč et al. 2007).



### 4.3.8. Molekulární detekce a genotypizace *Encephalitozoon* spp.

#### 4.3.8.1. Izolace DNA

Izolace DNA byla prováděna pomocí modifikovaného postupu komerčně dodávaného kitu PSP Spin Stool DNA Kit (Invitex).

#### Pracovní postup:

1. K 200 µg vzorku trusu přidat 1 ml lyzačního pufru a vzorek homogenizovat. skleněnými kuličkami o průměru 0,5 mm pomocí homogenizátoru FastPrep - 24 (MP Biomedicals, USA) po dobu 60 s a rychlosti 5 m/s.
2. DNA extrahovat podle návodu výrobce kitu.
3. Získanou DNA skladovat při -20 °C.

#### 4.3.8.2. Molekulární identifikace *Encephalitozoon* spp.

Pro detekci specifické DNA *Encephalitozoon* spp. byl použit nested PCR protokol amplifikující 3' konec z SSU rRNA genu (malá ribozomální podjednotka), ITS (internal transcribed spacer) a 5' konec z LSU rRNA genu (velká ribozomální podjednotka).

#### POUŽITÉ CHEMIKÁLIE:

- **deoxyribonukleosid trifosfáty** (200 µM dNTP's, 10 mM roztok, Top-Bio, Česká republika)
- **10× koncentrovaný pufr pro Taq purple DNA polymerázu** (Top-Bio, Česká republika)
- **Taq purple DNA polymeráza** (1 U/µl, Top-Bio, Česká republika)
- **PCR H<sub>2</sub>O** (Top-Bio, Česká republika)
- **MgCl<sub>2</sub>** (25 mM, Top-Bio, Česká republika)
- **bovinní sérový albumin** (BSA, Sigma-Aldrich, Česká republika)
- **primery** (10 µM, Generi Biotech, Česká republika)

### Primární primery

Forward: MSP1 5' - TGA ATG(G,T)GT CCC TGT -3'

Reverse: MSP2A 5' - TCA CTC GCC GCT ACT -3'

### Sekundární primery

Forward: MSP3 5' - GGA ATT CACACC GCC CGT C(A,G)(C,T) TAT -3'

Reverse: MSP4A 5' - CCA AGC TTA TGC TTA AGT (C,T)(A,C)A A(A,G)G GGT -3'

### **Složení reakční směsi**

Reakční směs pro jeden vzorek o celkovém objemu 30 µl byla složena z: 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 50 mM KCl; 20 mM Tris - HCl (pH 9); 0,2 mM dNTPs; 50 pmol každého z primerů; 2,5 U Taq polymerázy; 2,5 µl BSA (bovine serum albumin) (0,1 g/10 ml) a 3 µl genomové DNA.

### **PCR protokol**

Požadované úseky templátové DNA byly amplifikovány v termocycleru (Bioer, Krd, ČR). Po počáteční denaturaci 94 °C 3 minuty, bylo provedeno celkem 35 cyklů sestávajících z denaturace 94 °C po 45 s, nasedací teploty 54 °C po 45 s a extenze 72 °C po 60 s, s finální extenzí 72 °C 7 minut. Pro amplifikaci sekundárního PCR produktu byly použity 3 µl primárního PCR produktu a nasedací teplota 55 °C.

#### **4.3.8.3. Gelová elektroforéza**

Získané PCR produkty byly vizualizovány pomocí elektroforézy na 2 % agarózovém gelu s přidavkem ethidium-bromidu. K vizualizaci je využito UV záření o vlnové délce 302 nm.

#### **POUŽITÉ CHEMIKÁLIE:**

- **50× TAE pufr** (242 g tris báze, 47,1 ml ledové kyseliny octové, 100 ml 0,5 M EDTA)
- **agaróza** (Serva)
- **ethidium-bromid** (Sigma)
- **100 bp DNA Ladder** (O'Gene Ruler™)

**Pracovní postup:**

1. Smíchat agarózu s 1× TAE pufrem (výsledná koncentrace je 1%), nechat rozpustit v mikrovlnné troubě a zchladit pod tekoucí vodou na teplotu cca 50 °C.
2. Přidat ethidium-bromid.
3. Do předem připravené formy nalít gel, vložit hřeben a nechat ztuhnout.
4. Gel vložit do elektroforetické vany naplněné 1× TAE pufrem. Do jamek gelu nanést všechny produkt sekundární PCR.
5. Nastavit napětí na 70 V a spustit na dobu potřebnou pro separaci fragmentů DNA.
6. Pro vizualizaci DNA fragmentů použít UV transiluminátor.

**4.3.8.4. Příprava vzorků na sekvenci a sekvence**

V případě pozitivního výsledku byly jednotlivé PCR produkty vyříznuty z gelu a extrahovány pomocí Gel extraction kitu (Qiagen) dle návodu výrobce a poté vysušeny pomocí vakuového evaporizátoru.

**Pracovní postup:**

1. Přidat ke každému vysušenému vzorku PCR produktu 14 µl destilované vody.
2. Do dvou mikrozkušavek nepipetovat po 6,5 µl naředěného PCR produktu.
3. Do jedné z mikrozkušavek přidat 1 µl sekundárního forward primeru, do druhé 1 µl reverse primeru o koncentraci 2,5 pmol/1 µl.
4. Takto připravené vzorky byly odeslány k osekvenování do Laboratoře genomiky, BC AV ČR, v. v. i. - Ústav molekulární biologie rostlin.

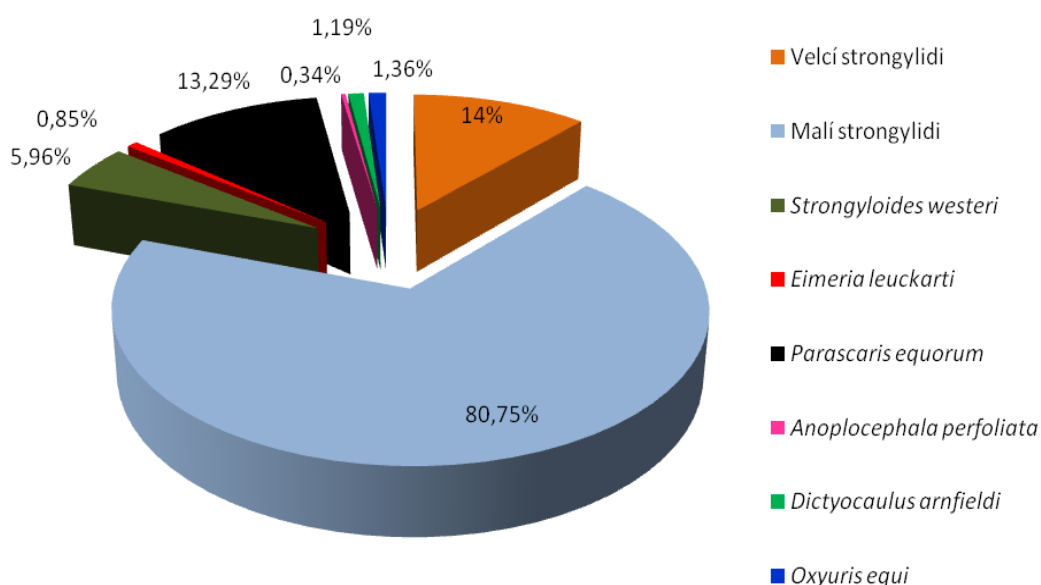
Výsledné sekvence byly ručně upraveny v programu Chromas Pro Version 1.5 (Technelysium Pty. Ltd, Qld, Australia) a konsenzus sekvencí byl srovnán pomocí programu ClustalX 2.0.12 (<ftp://ftp-igbmc.ustrasbg.fr/pub/ClustalX/>) a výsledný alignment byl ručně editován v programu BioEdit 7.0.5.3. (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Námi získané sekvence byly porovnány s referenčními sekvencemi uloženými v GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>).

## 5. VÝSLEDKY

V letech 2009 až 2011 bylo odebráno celkem 587 vzorků trusu od 98 koní - 26 hřebců, 21 valachů, 51 klisen ze tří různých chovů lišících se způsobem chovu, technologií ustájení a managementem chovaných koní. V chovu Vlčeves bylo odebráno 467 vzorků, ze sportovní stáje Kavalo 82 vzorků a z chovu v Táboře 38 vzorků.

V průběhu parazitologického sledování bylo detekováno celkem 9 druhů různých parazitů. V grafu 1 je uvedeno procentuální zastoupení jednotlivých druhů/skupin parazitů. Nejrozšířenějšími parazity byli zjištěni malí strongylidi (81 %). Hlísti z čeledi Strongylidae (velcí strongylidi) se na celkové prevalenci podíleli 14 %. Naopak nejméně často byla detekována *Eimeria leuckarti* (0,85 %) a tasemnice rodu *Anoplocephala* (0,34 %).

**Graf 1.** Procentuální podíl výskytu jednotlivých parazitů u sledovaných koní



Ve všech chovech se na celkové prevalenci nejvíce podíleli malí strongylidi. Ve sportovní stáji Kavalo Tábor byli kromě výše zmíněných parazitů detekováni také *Parascaris equorum*, *Anoplocephala perfoliata* a *Dictyocaulus arnfieldi*. Ve Vlčevsi byli zastoupeni velcí strongylidi, *Parascaris equorum*, *Strongyloides westeri*,

minoritně se vyskytovali *D. arnfieldi*, *O. equi* a *E. leuckarti*. V Táboře 12/12 byl zaznamenán i výskyt *P. equorum*, *A. perfoliata*, *S. westeri* a *D. arnfieldi* (tabulka 6).

**Tabulka 6. Extenzita výskytu parazitů ve sledovaných chovech**

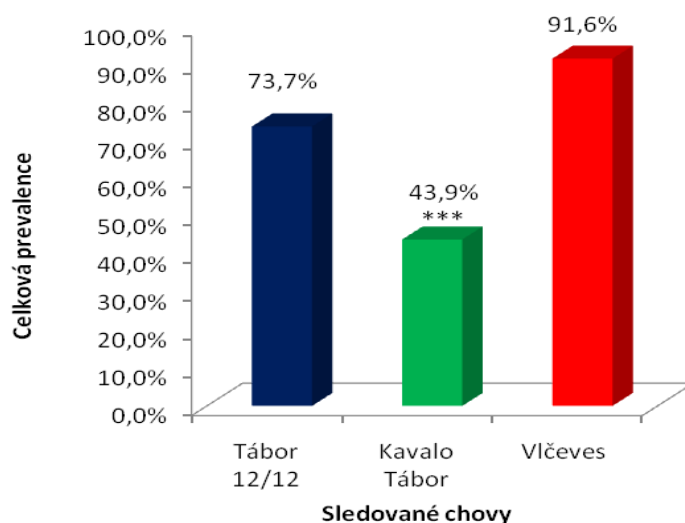
Chov	Počet vyšetřených vzorků	Pozitivní vzorky (%)							
		MS	VS	PE	SW	AP	DA	OE	EL
Tábor	38	73,9	0	7,9	2,6	5,3	2,6	0	0
Kavalo	82	43,9	0	1,2	0	1,2	1,2	0	0
Vlčeves	467	87,8	17,1	15,8	7,3	0	0,9	1,5	1,1

### 5.1. Vliv chovu a technologie na výskyt a prevalenci parazitů

Extenzita výskytu parazitů v jednotlivých chovech je zobrazena v grafu 2. Nejvyšší výskyt parazitů ze sledovaných stájí byl zjištěn u koní chovaných ve Vlčevesi (91,6 %). Ve stáji Tábor 12/12 bylo z celkového počtu 38 vyšetřených vzorků trusu 28 (73,7 %) parazitologicky pozitivních. Nejnižší celková prevalence byla zjištěna u koní chovaných ve sportovní stáji Kavalo Tábor (43,9 %). Na základě zpracování dat byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi chovy ( $P < 0,001$ ). Chov Kavalo Tábor je z hlediska parazitárních infekcí nejméně rizikový.

**Graf 2.** Celková prevalence parazitů ve sledovaných chovech

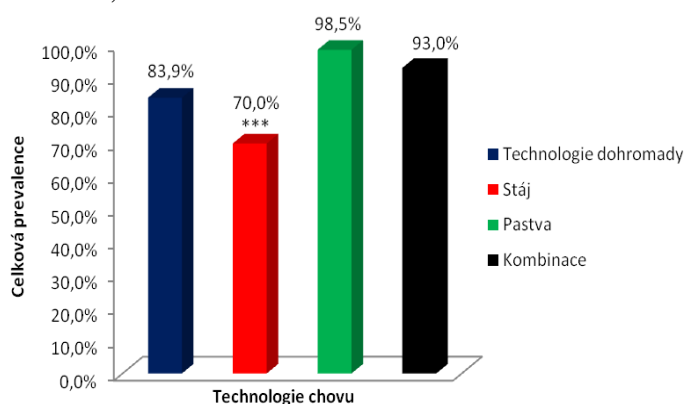
\*\*\* $P < 0,001$



Z celkového počtu 98 vyšetřených zvířat bylo 56 (počet vyšetřených vzorků  $n = 236$ ) ustájeno v klasickém boxovém ustájení, 22 ( $n = 213$ ) využívalo kombinace pastvy, stáje a volné stáje a 20 ( $n = 138$ ) bylo chováno na pastvě a v zimních měsících ve volné stáji. Graf 3 zachycuje prevalenci v těchto různých technologiích. Nejvíce pozitivních vzorků ( $n = 136$ ) z celkového počtu ( $n = 138$ ) pocházelo od koní z pastvy. Na základě zpracování dat byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi technologiemi s  $P < 0,001$  ( $\chi^2 = 72,14$ ), jako nejméně rizikový byl označen stájový způsob chovu.

**Graf 3.** Vliv způsobu chovu na prevalenci parazitů v různých technologiích

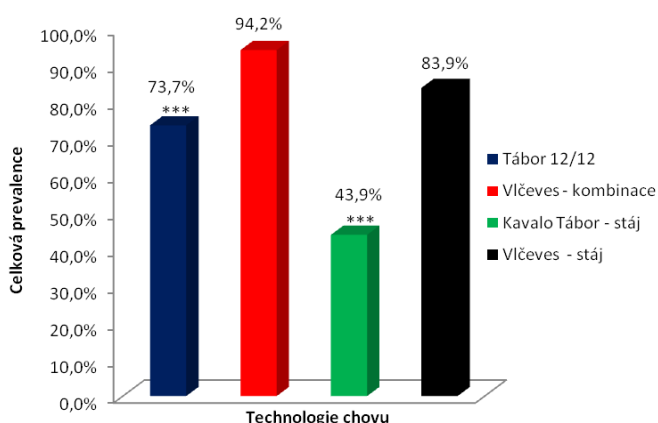
\*\*\* $P < 0,001$



Při srovnávání stejných technologií (stáj Kavalo vs. stáj Vlčeves, pastva a stáj Tábor vs. pastva a stáj Vlčeves) v různých chovech vycházela v obou případech jako rizikovější technologie chovu koní ve Vlčevsi. Na základě analýzy dat byl prokázán statisticky významný rozdíl ( $P < 0,001$ ) mezi stejnými technologiemi (graf 4). Nejméně pozitivních vzorků (36) bylo získáno ze sportovní stáje Kavalo, kde jsme zaznamenali i nejnižší počet infikovaných koní (Tabulka 7).

**Graf 4.** Porovnání technologií ve sledovaných chovech

\*\*\* $P < 0,001$



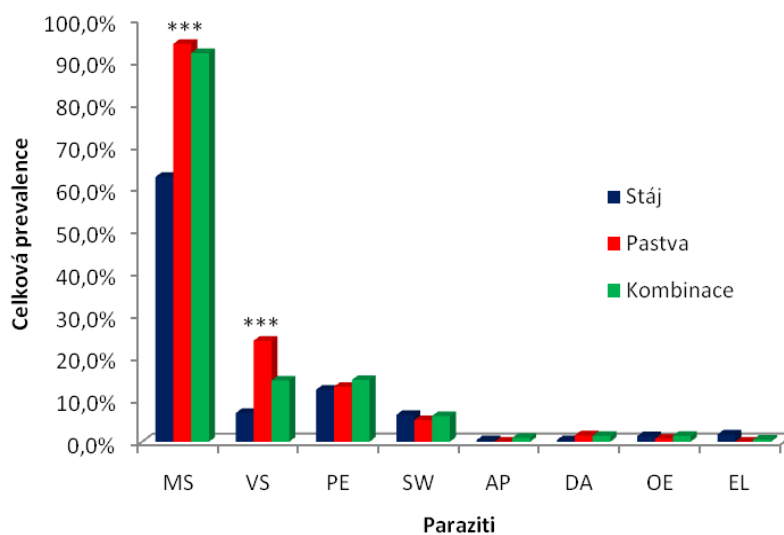
**Tabulka 7. Průměrný počet infikovaných koní v průběhu sledování**

Chovy + technologie	Počet sledovaných koní	Prevalence	Počet infikovaných koní
Kavalo	21	43,9 %	9
Tábor 12/12	3	73,7 %	2
Vlčeves - stáj	35	83,7 %	29
Vlčeves - pastva	20	98,5 %	20
Vlčeves - kombinace	19	94,2 %	18

Výskyt a prevalence jednotlivých druhů/skupin parazitů v závislosti na technologii chovu zobrazuje graf 5. Technologie se mezi sebou lišily s  $P < 0,001$  v prevalenci velkých a malých strongylidů, nejméně infikovaných vzorků pocházelo ze stáje. Výskyt ostatních druhů parazitů se v jednotlivých technologiích statisticky významně nelišil. *Anoplocephala perfoliata* nebyla detekována u koní na pastvě.

**Graf 5.** Výskyt a prevalence parazitů v jednotlivých technologiích

\*\*\*  $P < 0,001$

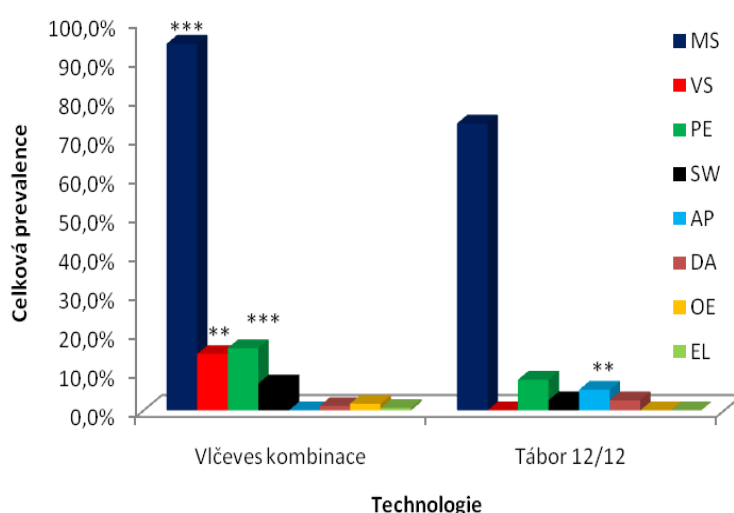


MS - Malí strongylidi, VS - Velcí strongylidi, PE - *Parascaris equorum*, SW - *Strongyloides westeri*, AP - *Anoplocephala perfoliata*, DA - *Dictyocaulus arnfieldi*, OE - *Oxyuris equi*, EL - *Eimeria leuckarti*

Na základě statistického porovnání dat získaných v chovech (Vlčeves vs. Tábor), v nichž byli koně na pastvě i ve stáji vyplývá, že obecně vyšší prevalence parazitů se vyskytovaly u koní ve Vlčevsi (graf 6). Statisticky významný rozdíl ( $P < 0,001$ ) ve výskytu byl potvrzen u malých strongylidů a *Parascaris eqourum* v chovu ve Vlčevsi, u *A. perfoliata* ( $P < 0,01$ ) v tábořském chovu a velkých strongylidů ( $P < 0,01$ ) ve Vlčevsi.

**Graf 6.** Porovnání výskytu a prevalence parazitů v chovech využívající stejnou technologii - kombinace pastva/stáj

\*\*\*  $P < 0,001$  \*\*  $P < 0,01$



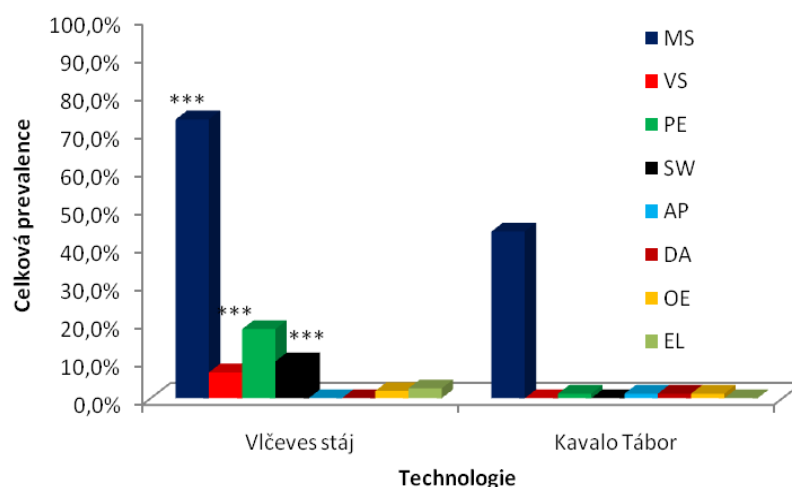
MS - Malí strongylidi, VS - Velcí strongylidi, PE - *Parascaris equorum*, SW - *Strongyloides westeri*, AP - *Anoplocephala perfoliata*, DA - *Dictyocaulus arnfieldi*, OE - *Oxyuris equi*, EL - *Eimeria leuckarti*

Výskyt a prevalence parazitů v chovech využívající stájovou technologii zachycuje graf 7. Statisticky významně vyšší prevalence ( $P < 0,001$ ) byly zaznamenány u *Parascaris equorum*, *Strongyloides westeri*, malých a velkých strongylidů u koní ve Vlčevsi. Rozdíl ve výskytu ostatních druhů parazitů nebyl statisticky průkazný, přesto *Anoplocephala perfoliata* byla detekována pouze ve stáji Kavalo Tábor, na rozdíl od *Eimeria leuckarti*, jejíž výskyt byl zaznamenán ve stájovém způsobu chovu ve Vlčevsi.



**Graf 7.** Porovnání výskytu a prevalence parazitů v chovech využívající stájovou technologii chovu

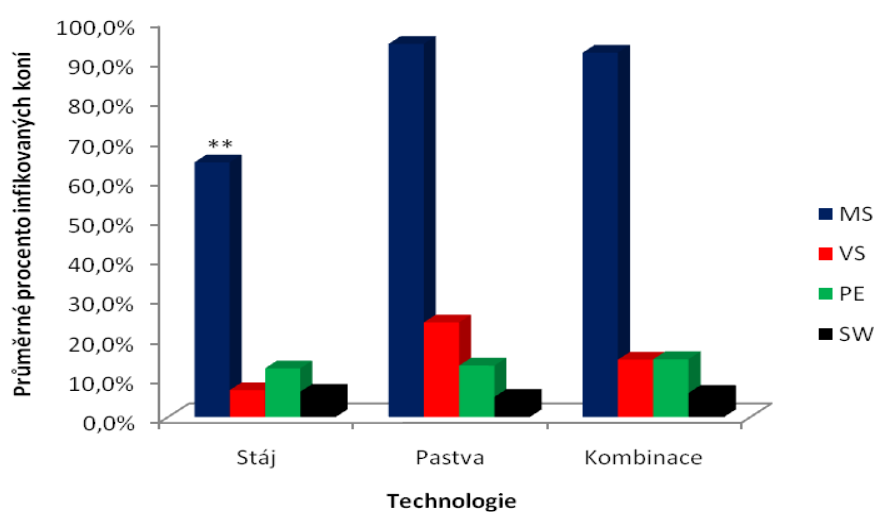
\*\*\*  $P < 0,001$



Téměř všichni koně na pastvě ( $n = 19$ , 94,2 %) z celkového počtu ( $n = 20$ ) byli infikováni malými strongylidy. V kombinovaném ustájení jsme průměrně zaznamenali 20 z celkového počtu ( $n = 22$ ) a ve stájích 36 koní infikovaných malými strongylidy z celkového počtu ( $n = 56$ ). Stájový chov se od ostatních statisticky významně lišil v nižším počtu infikovaných koní malými strongylidy ( $P < 0,01$ ), u ostatních druhů parazitů statisticky významný rozdíl nebyl (graf 8).

**Graf 8.** Průměrný počet (%) infikovaných koní v průběhu sledování (24 odběrů)

\*\*  $P < 0,01$



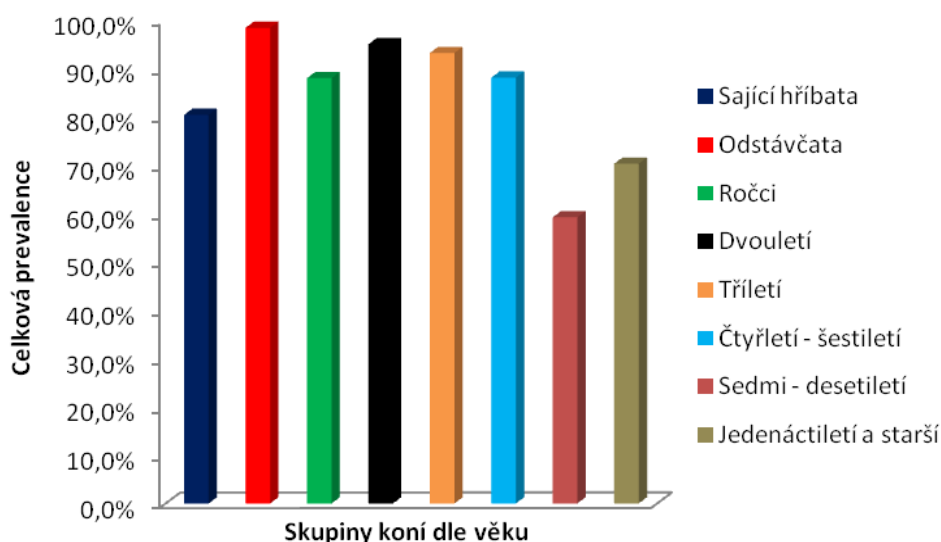
MS - Malí strongylidi, VS - Velcí strongylidi, PE - *Parascaris equorum*, SW - *Strongyloides westeri*

## 5.2. Vliv věku na výskyt a prevalenci jednotlivých parazitů

K vyhodnocení vlivu věku byli koně rozděleni do následujících kategorií - sající hříbata, odstávčata, ročci, dvouletí, tříletí, čtyřletí až šestiletí, sedmiletí až desetiletí, jedenáctiletí a starší. Od sajících hříbat jsme odebrali 56 vzorků, od odstávčat 62 vzorků, od ročků 50, od dvouletých 60, od tříletých 74, od čtyřletých - šestiletých 135, od sedmi - desetiletých 76 a od jedenáctiletých a starších koní 74 vzorků.

U odstávčat byla zjištěna nejvyšší celková prevalence (98,4 %). U dvouletých bylo zaznamenáno 57 (95 %) pozitivních vzorků u tříletých 69 (93,2 %). Skupina ročků a čtyřletých až šestiletých se v prevalenci nelišila (88,0 %). Nejnižší prevalence (59,2 %) byla detekována u sedmi - desetiletých koní (graf 9).

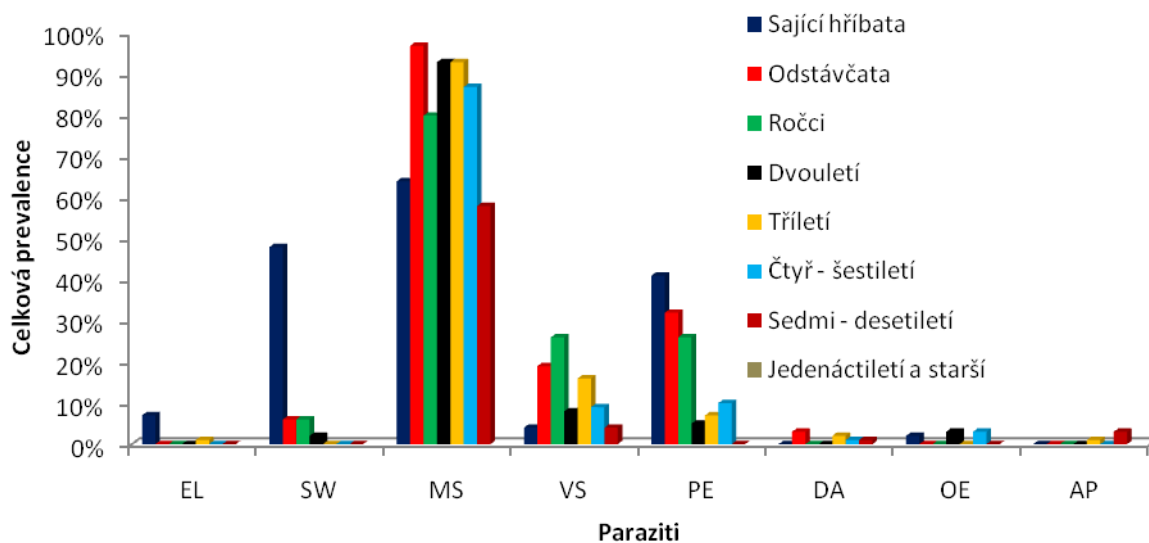
**Graf 9.** Celková prevalence parazitů v závislosti na věku koní



Obecně lze konstatovat, že hlísti ze skupiny malých strongylidů se ve vysokém procentu vyskytovali u všech sledovaných věkových kategorií, a to bez statisticky významného rozdílu.

V případě *Strongyloides westeri*, *Parascaris equorum* a *Eimeria leuckarti* byla zaznamenána nejvyšší prevalence u sajících hříbat (graf 10). U odstávčat převažovali malí strongylidi (97 %), u ročků velcí strongylidi (26 %). Tasemnice druhu *Anoplocephala perfoliata* byla detekována u starších zvířat (tříletí a sedmi - desetiletí koně). Vyšší prevalence *Dictyocaulus arnfieldi* se vyskytovala u odstávčat a *Oxyuris equi* u dvouletých a čtyřletých - šestiletých koní (graf 10).

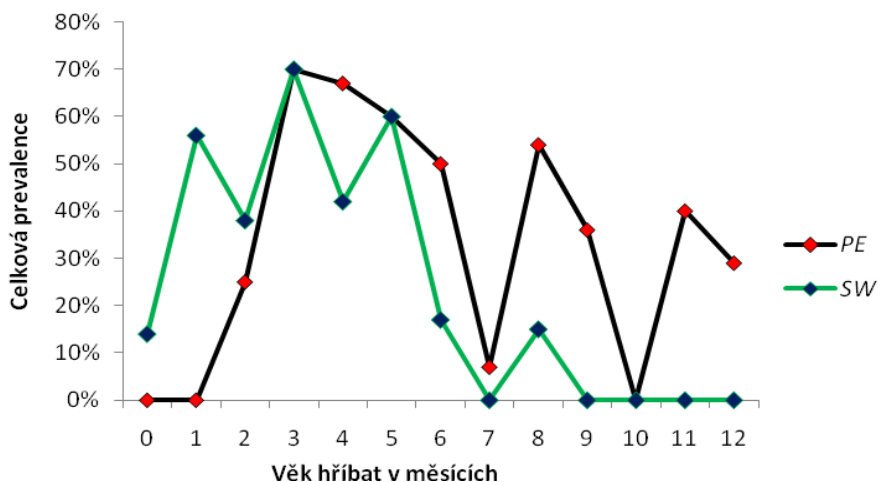
**Graf 10.** Výskyt a prevalence parazitů u jednotlivých věkových kategorií koní



EL - *Eimeria leuckarti*, SW - *Strongyloides westeri*, MS - Malí strongylidi, VS - Velcí strongylidi, PE - *Parascaris equorum*, DA - *Dictyocaulus arnfieldi*, OE - *Oxyuris equi*, AP - *Anoplocephala perfoliata*

Průběh prevalence *Strongyloides westeri* a *Parascaris equorum* u hříbat do 1 roku věku je uveden v grafu 11. Vysoká prevalence (70 %) u obou parazitů byla zjištěna u tříměsíčních hříbat. Prevalence *Strongyloides westeri* u tří - pětíměsíčních hříbat byla statisticky významně nejvyšší ( $P < 0,05$ ). Od pátého měsíce věku hříbat výskyt *S. westeri* prudce klesal (z 60 % na 17 %). U devítíměsíčních a starších hříbat nebyl tento parazit zaznamenán (graf 11). Pokles ve výskytu *Parascaris equorum* lze pozorovat od šestého měsíce věku. Výrazně nízká procenta u sedmiměsíčních a desetiměsíčních hříbat infikovaných škrkavkou *Parascaris equorum* pravděpodobně souvisí s podáním anthelmintik.

**Graf 11.** Prevalence *Strongyloides westeri* (SW) a *Parascaris equorum* (PE) u hříbat



Někteří paraziti byli detekováni u velmi mladých hříbat např. *Strongyloides westeri* u 19 denního hříběte. Malí strongylidi byli poprvé zaznamenáni v 17 dnech věku hříběte. *Parascaris equorum* a *Eimeria leuckarti* byla nalezena až u tříměsíčních hříbat (tabulka 8).

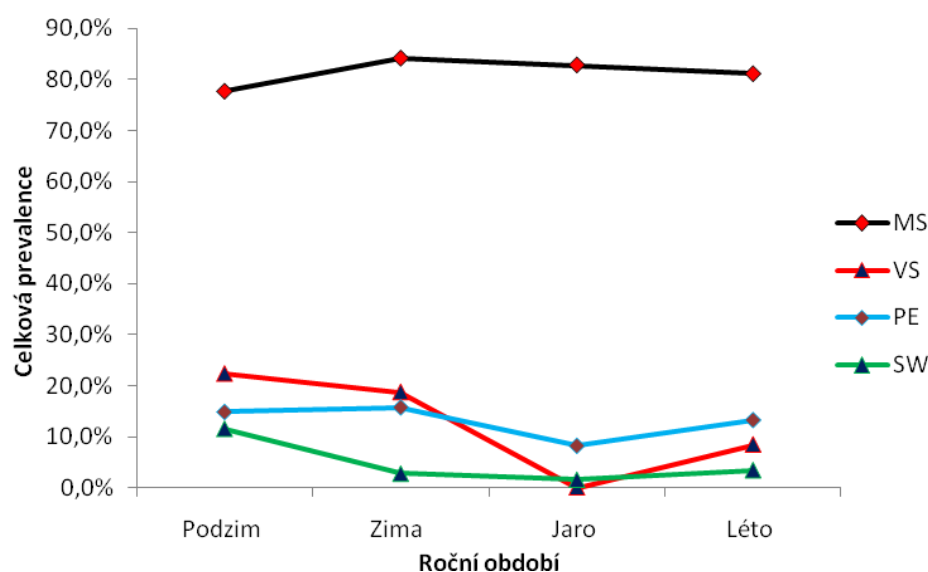
**Tabulka 8. První zaznamenané parazitární infekce u hříbat**

Kůň	Pohlaví	Chov	Věk (dny)	SW	MS	PE	EL
Amája	klisna	Vlčeves - stáj	19	poz.	neg.	neg.	neg.
Quicky	klisna	Vlčeves - stáj	17	neg.	poz.	neg.	neg.
Eleonora	klisna	Vlčeves - pastva	77	poz.	poz.	poz.	neg.
Leontýn	hřebec	Vlčeves - stáj	92	neg.	neg.	neg.	poz.

### 5.3. Vliv ročního období na výskyt a prevalenci parazitů

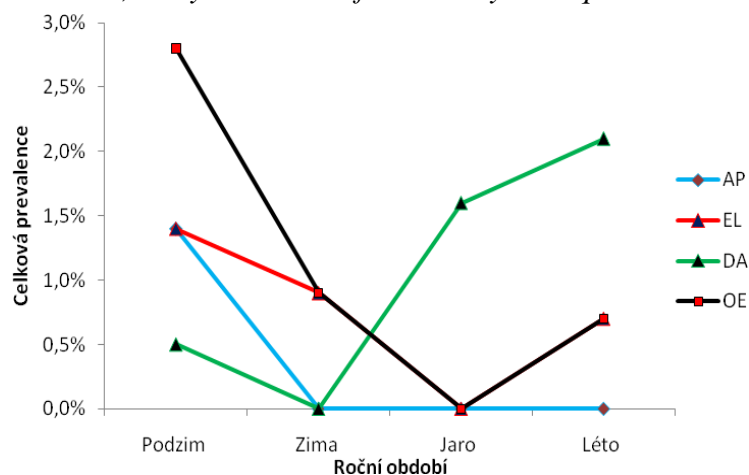
Cílem bylo posoudit sezónní dynamiku jednotlivých druhů parazitů, které se vyskytovaly v průběhu sledování ve všech chovech. U malých strongylidů nebyly v průběhu roku zaznamenány žádné výrazné výkyvy. Nejnižší infekce *P. equorum* se vyskytovala na jaře, avšak bez statisticky průkazného rozdílu. Významný rozdíl ( $P < 0,001$ ) v závislosti na ročním období byl prokázán pouze u velkých strongylidů a *S. westeri*, kteří se vyskytovali výrazně více na podzim (graf 12).

**Graf 12.** Vliv ročního období na výskyt a prevalenci malých a velkých strongylidů, *Parascaris equorum* a *Strongyloides westeri*



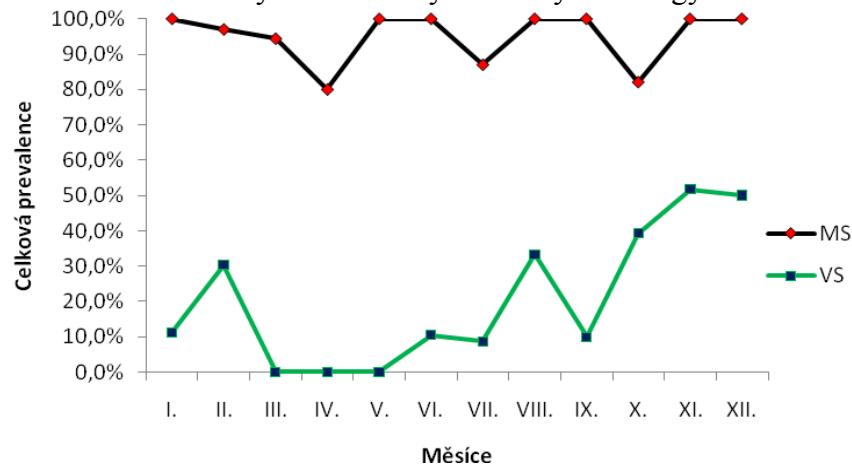
U ostatních druhů parazitů byl jejich výskyt v závislosti na roční době statisticky neprůkazný. Přesto *Anoplocephala perfoliata* byla detekována pouze na podzim, *E. leuckarti* nebyla zaznamenána na jaře, na rozdíl od *D. arnfieldi*, který byl detekován hlavně na jaře a *O. equi* zejména na podzim (graf 13).

**Graf 13.** Vliv ročního období na výskyt *Anoplocephala perfoliata*, *Eimeria leuckarti*, *Dictyocaulus arnfieldi* a *Oxyuris equi*



Sezónní dynamika malých a velkých strongylidů koní z Vlčevse je znázorněna graficky (graf 14). Klisny (n = 9) pobývaly od června do prosince nepřetržitě na pastvině, v prosinci byly přesunuty do volné stáje s přístupem do výběhu. Hřebci (n = 11) se z pastviny do volného ustájení stahovali až v lednu. Téměř všechny vzorky odebrané od této skupiny koní byly po celý rok pozitivní na malé strongylidy, 100 % výskyt byl zaznamenán v květnu (n = 17), červnu (n = 19), srpnu (n = 6), září (n = 30), listopadu (n = 29) a prosinci (n = 8). Dynamika malých strongylidů během roku nebyla tedy statisticky průkazná. Velcí strongylidi se u koní na pastvě vyskytovali zejména v říjnu, listopadu, prosinci a únoru.

**Graf 14.** Sezónní dynamika velkých a malých strongylidů u koní na pastvě

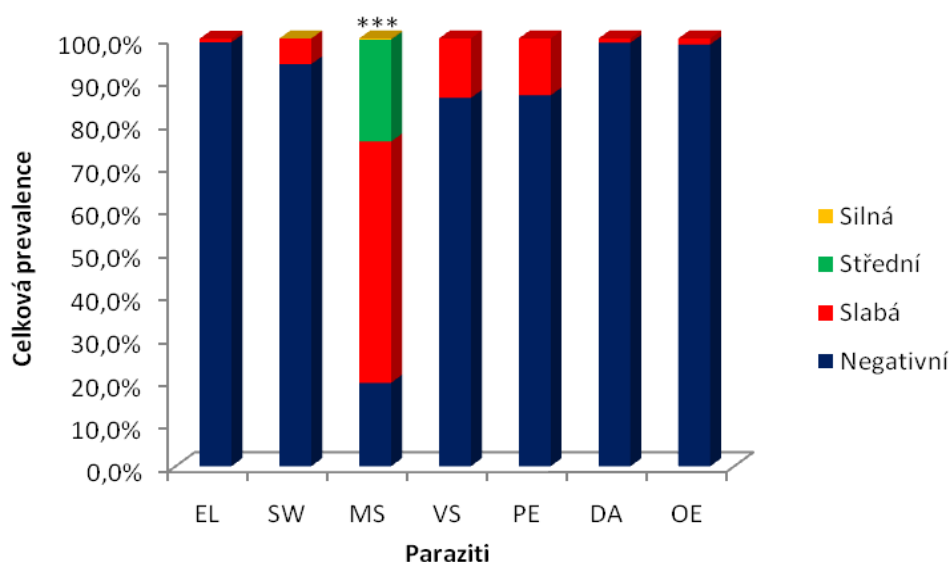


#### 5.4. Intenzita infekce, monoinfekce vs. smíšené infekce

Z celkového počtu 587 vzorků bylo pouze 5 (0,6 %) se slabou intenzitou infekce způsobenou *Eimeria leuckarti*, 6 (1,0 %) s *Dictyocaulus arnfieldi*, 8 (1,4 %) s *Oxyuris equi* a 35 (6,0 %) se *Strongyloides westeri*, ostatní vzorky byly negativní. Slabá a střední intenzita infekce statisticky významně převažovala ( $P < 0,001$ ) u malých strongylidů. Dva vzorky (0,3 %) vykazovaly silnou intenzitu infekce ( $> 300$  EPG), u ostatních druhů parazitů nebyla silná infekce objevena. Statisticky významný rozdíl v silné infekci způsobené malými strongylidy prokázán nebyl. U velkých strongylidů a *Parascaris equorum* byla zaznamenána pouze slabá intenzita infekce dosahující 13,5 % (graf 15).

**Graf 15.** Intenzita infekce u jednotlivých druhů parazitů

\*\*\*  $P < 0,001$



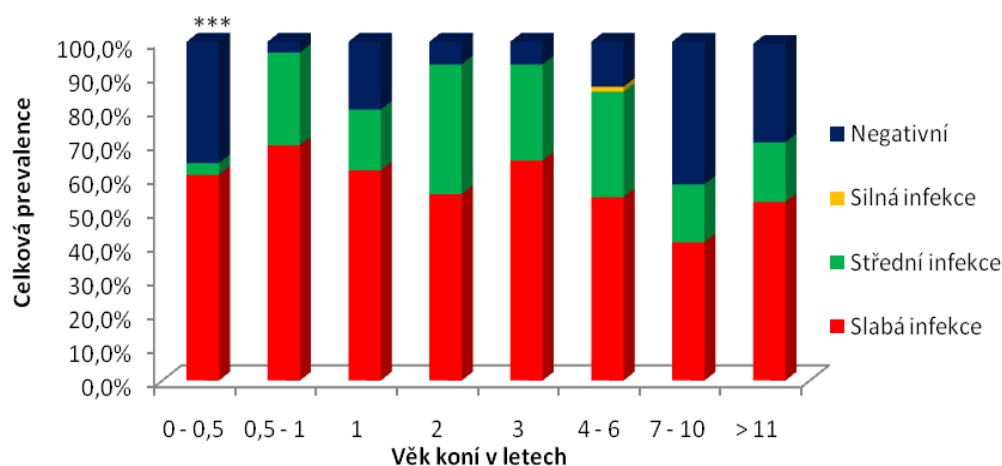
EL - *Eimeria leuckarti*, SW - *Strongyloides westeri*, MS - Malí strongylidi, VS - Velcí strongylidi, PE - *Parascaris equorum*, DA - *Dictyocaulus arnfieldi*, OE - *Oxyuris equi*, AP - *Anoplocephala perfoliata*

U osmi věkových skupin koní byla zkoumána závislost věku na intenzitu infekce malých strongylidů (graf 16). Nejnižší počet pozitivních vzorků ( $n = 2$ ) z celkového počtu ( $n = 56$ ) se střední intenzitou infekce měla hříbata. Nejvyšší počet pozitivních vzorků se střední intenzitou infekce ( $n = 23$ ) z celkového počtu ( $n = 60$ ) pocházel od dvouletých koní. Silná infekce (2 vzorky) byla prokázána pouze u kategorie koní čtyř - šestiletých. Slabá infekce převažovala u odstávčat (69,4 %) a tříletých koní

(64,9 %). Nejvíce negativních vzorků (42,1 %) bylo detekováno u kategorie sedmi - desetiletých koní.

**Graf 16.** Intenzita infekce malých strongylidů v závislosti na věku koní

\*\*\*  $P < 0,001$



Z celkového počtu ( $n = 492$ ) pozitivních vzorků byly u 331 (67,3 %) vzorků prokázány monoinfekce a u 161 (32,7 %) smíšené infekce. Monoinfekce tedy statisticky významně převažovaly ( $P < 0,001$ ) nad smíšenými infekcemi (tabulka 9). Monoinfekce způsobené malými strongylidy převládaly ( $P < 0,001$ ) nad ostatními monoinfekcemi (tabulka 9). Smíšené infekce o dvou druzích parazitů byly významně vyšší ( $P < 0,001$ ) než druhově početnější infekce (tabulka 9).

**Tabulka 9. Monoinfekce × smíšené infekce**

EL - *Eimeria leuckarti*, SW - *Strongyloides westeri*, MS - Malí strongylidi, VS - Velcí strongylidi, PE - *Parascaris equorum*, DA - *Dictyocaulus arnfieldi*, OE - *Oxyuris equi*, AP - *Anoplocephala perfoliata*

Počet vyšetřených vzorků - 587 (100 %)		
Počet pozitivních vzorků - 492 (83,8 %)		Negativní. - 95 (16,2 %)
Monoinfekce - 330 (67,1 %)	Smíšené infekce - 162 (32,9 %)	
MS - 313 (94,8 %) VS - 5 (1,5 %) PE - 5 (1,5 %) EL - 2 (0,6 %) SW - 5 (1,5 %)  <b><math>P &lt; 0,001</math></b>	MS + VS - 61 (37,7 %) MS + SW - 10 (6,2 %) MS + PE - 47 (29,0 %) MS + AP - 2 (1,2 %) MS + DA - 5 (3,1 %) MS + OE - 6 (3,8 %) SW + EL - 1 (0,6 %) VS + MS + OE - 1 (0,6 %)	MS + SW + PE - 14 (8,7 %) MS + VS + PE - 8 (4,9 %) MS + AP + DA - 1 (0,6 %) MS + VS + SW - 1 (0,6 %) VS + MS + EL - 1 (0,6 %) MS + VS + PE + SW - 3 (1,8 %) MS + SW + PE + OE + EL - 1 (0,6 %)

## 5.5. Účinnost a rezistence na anthelmintika

V chovu ve Vlčevsi byla používána především anthelmintika - Helmigal, Antiverm, Fenbione ze skupiny benzimidazolů, pouze koním s masivní parazitární infekcí na základě našich výsledků koprologického vyšetření byl aplikován Cevamec (účinná látka - ivermectin). Ve sportovní stáji Kavalo byl používán Bimectin a Equimectrin (oba ivermectin), dle výsledků vyšetření byl u jednoho koně doporučen Equimax (ivermectin + praziquantel). V Táboře byl koním podáván především Noromectin (ivermectin) a případně Panacur (fenbendazol). Klisně po pozitivním nálezu *Anoplocephala perfoliata* byl aplikován Equimax (ivermectin + praziquantel).

Účinnost přípravku Panacur (fenbendazol) u klisničky Cascaya (CS) u níž byli detekováni malí strongylidi a *Parascaris equorum* je uvedena v tabulce 10. Po aplikaci Panacuru došlo během 9 dnů po léčbě k více než 90 % poklesu intenzity infekce. Případná rezistence na přípravek Noromectin (ivermectin) byla sledována u klisny Centy (A1/1), 100% pokles v počtu EPG (egg per gram) znamená, že látka byla účinná.

Účinnost, respektive rezistence parazitů na jednotlivá anthelmintika, používaná ve sledovaných chovech je zachycena v tabulce 10. Klisny, po podání přípravku Fenbion (fenbendazol), byly 13 dní po aplikaci pozitivní na velké i malé strongylidy. U klisny Laguna nebyl zjištěn žádný pokles EPG (počet vajíček na gram trusu) velkých strongylidů a u malých strongylidů došlo pouze k 48 % redukci. Také v případě anthelmintik Antivermu a Helmigalu (mebendazol) byla jejich účinnost na malé strongylidy velmi nízká. Na základě těchto výsledků je zřejmé, že ve sledovaném chovu se vyskytuje populace malých strongylidů s rezistencí na benzimidazoly. Naopak po aplikaci přípravků na bázi ivermectinu (Bimectin, Cevamec, Noromectin) byla ve všech případech zjištěna 100% účinnost proti malým strongylidům. U dvou koní z tábořských chovů byl sledován vliv anthelmintika Equimax s účinnými látkami praziquantel a ivermectin na *Anoplocephala perfoliata*. Na základě vyšetření trusu 38 dnů po aplikaci nebyla zjištěna rezistence tasemnic proti zmíněnému anthelmintiku.



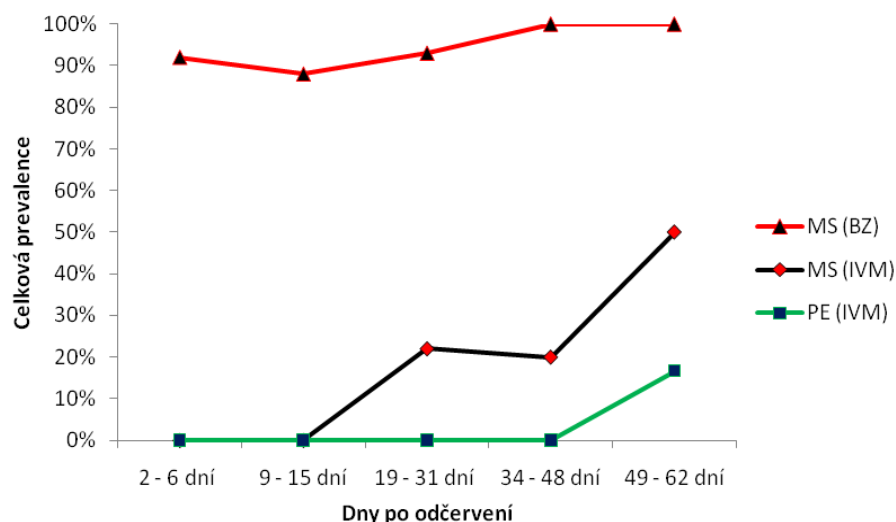
**Tabulka 10. Sledování účinnosti podávaných anthelmintik na základě testu redukce počtu vajíček (FECRT)**

Kůň	Chov	Dny po aplikaci	Přípravek	Nález před aplikací max. 30 dní			Nález po aplikaci					
				Počet vajíček na gram trusu			MS	VS	PE	MS	VS	PE
				MS	VS	PE	MS	VS	PE			
Cascaya	Tábor 12/12	9	Panacur	25	0	11	2	0	1			
Qeeny	Vlčeves	13	Fenbion	*	*	*	2	0	0			
Laguna	Vlčeves	13	Fenbion	68	2	0	35	2	0			
Elmero B	Vlčeves	15	Antiverm	0	0	0	0	0	0			
Emily	Vlčeves	14	Antiverm	24	3	26	11	0	0			
Vexta B	Vlčeves	14	Helmigal	91	0	0	40	0	0			
Eleonora	Vlčeves	14	Helmigal	78	2	92	5	0	0			
Brenda B	Vlčeves	14	Helmigal	69	0	0	30	0	0			
Colorado Spring	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Casio	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Holly	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Leon	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Furel	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Artuš	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Preganus	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Barbados	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Bali	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Barbar	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Sonet	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Hagrip	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Aquela	Kavalo	9	Bimectin	*	*	*	0	0	0			
Paladin	Vlčeves	17	Cevamec	*	*	*	0	0	0			
Loriana	Vlčeves	17	Cevamec	214	0	0	0	0	0			
Chico	Tábor	10	Noromectin	88	0	0	0	0	0			
Centa	Tábor 12/12	9	Noromectin	69	0	0	0	0	0			

\* data nejsou známa

Procento pozitivních vzorků po podání benzimidazolových preparátů zaznamenaných v chovu ve Vlčevesi a v Táboře 12/12 v různém časovém období po aplikaci je uvedeno v grafu 17. Celkem 11 (92 %) vzorků bylo 2 - 6 dní po podání anthelmintika pozitivních na malé strongylidy, 7 (88 %) vzorků 9 - 15 dní po podání, 13 (93 %) vzorků 19 - 31 dní po podání a 17 (100 %) vzorků 34 - 48 dní po podání. Z výsledků je zřejmé, že v důsledku vzniklé rezistence na benzimidazolové anthelmintikum došlo k opětovnému nárůstu počtu EPG ve velmi krátkém období a aplikace měla na malé strongylidy prakticky nulový efekt. V případě ivermectinových preparátů byl u 20 % koní zjištěn zkrácený časový interval mezi aplikací a znovuoobjevením vajíček v trusu (ERP) malých strongylidů dehelmintizovaných koní (30 dnů). U *Parascaris equorum* byla zaznamenána vysoká účinnost s dlouhou dobou ochrany (48 dnů).

**Graf 17.** Účinnost benzimidazolových a ivermectinových anthelmintik



MS (BZ) - % poz. vzorků na malé strongylidy po aplikaci benzimidazolů

MS (IVM) - % poz. vzorků na malé strongylidy po aplikaci ivermectinů

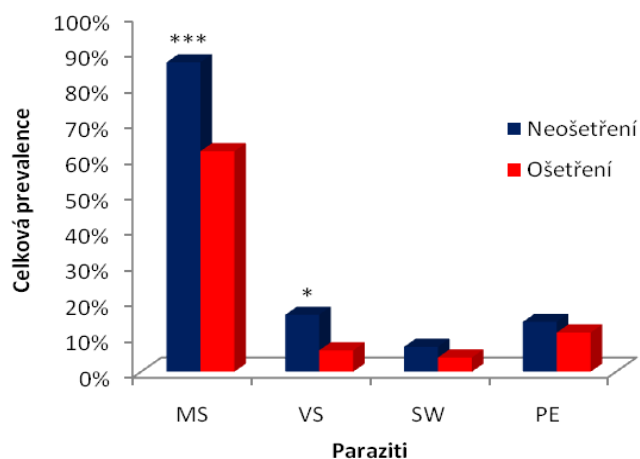
PE (IVM) - % poz. vzorků na *Parascaris equorum* po aplikaci ivermectinů

V grafu 18 je uveden rozdíl v prevalenci detekovaných parazitů u koní ošetřených vs. neošetřených anthelmintikem. Do skupiny neošetřených koní byli zařazováni ti koně, kterým nebylo déle jak 90 dní podáno anthelmintikum. Ze skupiny neošetřených koní bylo odebráno 448 vzorků a od ošetřených 139 vzorků. Z výsledků je patrné, že u zvířat ze skupiny neošetřených koní byla zjištěna statisticky významně vyšší prevalence malých strongylidů ( $P < 0,001$ ) a velkých strongylidů ( $P < 0,05$ ).

**Graf 18.** Vliv aplikace anthelmintik na celkovou prevalenci sledovaných parazitů.

MS - Malí strongylidi, VS - Velcí strongylidi, SW - *Strongyloides westeri*, PE - *Parascaris equorum*

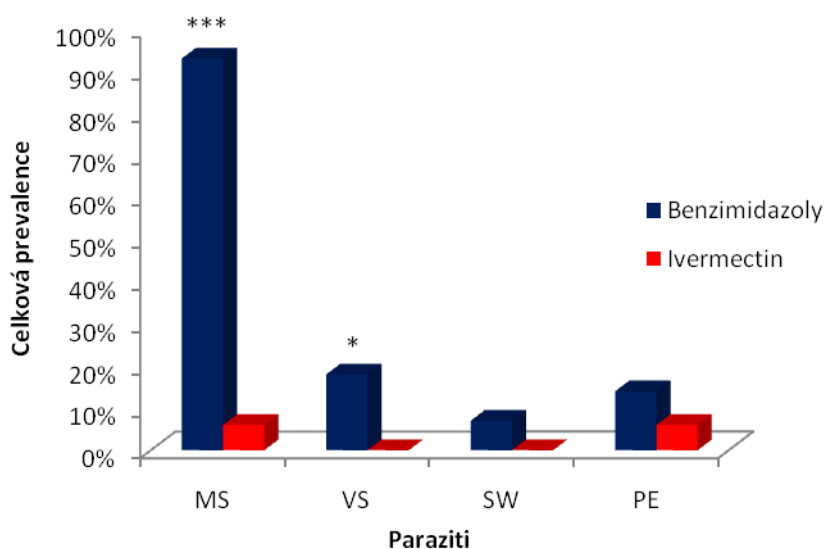
\*\*\*  $P < 0,001$  \*  $P < 0,05$



Účinnost benzimidazolových a ivermectinových anthelmintik na prevalenci sledovaných parazitů u koní ošetřených je znázorněn v grafu 19. Celkem bylo odebráno 120 vzorků od koní ošetřených benzimidazolovým anthelmintikem, z nichž 28 pocházelo od koní maximálně do jednoho měsíce po ošetření. Celkově 183 vzorků pocházelo od koní ošetřených ivermectinem. K vyhodnocení bylo použito 31 vzorků, rovněž do jednoho měsíce po ošetření. Z grafu je patrné, že výrazně lépe jsou na tom koně, kteří byli ošetřeni ivermectinovým anthelmintikem. Statisticky významný rozdíl byl prokázán v účinnosti ivermectinu na malé strongylidy ( $P < 0,001$ ) a velké strongylidy ( $P < 0,05$ ).

**Graf 19.** Účinnost benzimidazolových a ivermectinových anthelmintik na prevalenci sledovaných parazitů

\*\*\*  $P < 0,001$  \*  $P < 0,05$



## 5.6. Genotypizace mikrosporidií

Z celkového počtu 41 náhodně vybraných vzorků trusu pocházejících z námi sledovaných chovů, byla v 17 vzorcích (41 %) detekována přítomnost DNA mikrosporidií rodu *Encephalitozoon* pomocí nested PCR a za použití rodově specifických primerů. Porovnáním získaných sekvencí s referenčními sekvencemi uloženými v GenBank byl u všech pozitivních koní prokázán druh *Encephalitozoon cuniculi* genotyp I.

## 6. DISKUZE

Ve sledovaných chovech dosahovali nejvyšší prevalence až 81 % malí strongylidi, to potvrzuje názor, že jsou nejvýznamnějšími endoparazity koní (Lyons at al. 1999; Love et al. 1999) infikující prakticky všechny věkové kategorie koní (Reinemeyer et al. 1984). V Německu byli nalezeni na 98,4 % farem s velmi vysokou prevalencí (Hinney 2009). V Řecku se prevalence malých strongylidů pohybovala u sledovaných koní pouze na úrovni 25,6 % (Papazahariadou 2009), přesto patřili, stejně jako v Polsku (Kornaš et al. 2010), mezi nejčastěji nalézané parazity.

### 6.1. Vliv chovu a použité technologie na výskyt, prevalenci a intenzitu parazitárních infekcí

Jako významný faktor, podílející se na prevalenci a intenzitě zejména strongylidních infekcí, byly hodnoceny zootechnické podmínky ve sledovaných chovech, dále způsob a technologie chovu koní. Z hlediska zootechnického vycházel jako nejrizikovější chov slovenského teplokrevníka ve Vlčevsi, kde jsme zaznamenali vysokou prevalenci (87,8 %) i intenzitu strongylidních infekcí, na rozdíl od stájového způsobu chovu koní ve sportovní a obchodní stáji Kavalo Tábor, který byl ze všech sledovaných chovů nejméně rizikový. Naše výsledky jsou obdobné výsledkům, ke kterým dospěli Lind et al. (1999), kde koně z chovných stájí měli významně vyšší počty EPG než koně pocházející z obchodních stájí a tréninkových středisek.

Výskyt velkých strongylidů byl zaznamenán u několika koní z vlčevského chovu, další dva sledované chovy byli prostí těchto parazitů. Také v Německu byli velcí strongylidi, konkrétně *Strongylus vulgaris* detekováni pouze v jediném chovu (Hinney 2009). Infekce velkými strongylidy u námi sledovaných koní zřejmě souvisí s minimálním využitím anthelmintik, zejména ivermectinu.

Malí strongylidi převažovali v chovu Vlčeves u koní v pastevním režimu (98,5 %) a skupiny koní využívající kombinaci pastvy a stáje (94,2 %), koně stojící v boxech byli infikováni méně (83,9 %). Kilani et al. (2003) a Traversa et al. (2010) zdůrazňují spojitost pastvy s vyšším rizikem infekce strongylidními hlísticemi a tasemnicí z rodu *Anoplocephala* spp., stejně jako Larsen et al. (2002), který dokládá, že zařazení trvalé pastvy v odchovu koní významně zvyšuje riziko strongylidní infekce.

Kornaš et al. (2010) poukázal na to, že obecně vyšší % parazitárních infekcí se objevuje u kategorií koní chovaných pastevním způsobem než u koní ustájených. Statisticky prokazatelná infekce strongylidními hlísticemi u většího počtu koní ze stáje než z pastvy byla popsána pouze v Řecku (Papazahariadou et al. 2009). Nižší výskyt strongylidů u pasených koní v této oblasti je připisován vývoji získané imunity vůči těmto parazitům.

Nejčastějším parazitem u řeckých koní na pastvě byla *A. perfoliata*, jejíž vývojový cyklus je nepřímý přes mezihostitelského roztoče z čeledi Oribatidae (French et Chapman 1992; Lyons et al. 1997; Koudela 2008b) vyskytujícího se ve velkých počtech právě na pastvinách. Během našeho sledování byla *A. perfoliata* detekována pouze u klisny z chovu v Táboře, využívající kombinovanou technologii pastvy i stáje, a u mladého valacha ze sportovní stáje Kavalo. Klisna z tábořského chovu byla pravděpodobně infikována od koní využívajících pastvinu v předchozích letech. Vajíčka *A. perfoliata* totiž dokáží na pastvině přežít 9 měsíců i déle (Koudela 2008b). U tříletého valacha ze sportovní stáje Kavalo byl výskyt *A. perfoliata* prokázán krátce po jeho nákupu, infikovat se tedy musel v předchozím půsoišti, tudíž je vyloučen výskyt roztočů s cysticerkoidy ve stáji. V chovu ve Vlčevsi nebyla *A. perfoliata* u žádné kategorie koní detekována.

Absenci *A. perfoliata* u koní na pastvě (Vlčeves) si lze vysvětlovat tím, že do stáda nejsou zařazováni noví koně. Jedná se o uzavřenou populaci. V průběhu pastevní sezóny dochází ke střídání pastvin, u stáda klisen je využívána i oplůtková pastva. Z důvodu častého přesunu koní na nové pastviny, nedochází k tak velkému infekčnímu tlaku z hlediska parazitárních infekcí. Občasné využití pastvin skotem také výrazně snižuje riziko infekce *A. perfoliata*, jak popsal i Hinney (2009). Ani u ostatních dvou skupin koní v jiné technologii (stáj, kombinace) se v průběhu sledování *A. perfoliata* nevyskytovala, souvisí to s minimálním pohybem koní. Nyní dochází k častějšímu nákupu koní než v minulých letech, je tedy možné se domnívat, že *A. perfoliata* se v chovu Vlčeves dříve nebo později objeví. Dosažená nízká prevalence ve sledovaných chovech může souviset i s nízkou citlivostí flotačních technik (French et al. 1994), kdy je uváděno, že vajíčka *A. perfoliata* pro svou vyšší specifickou hmotnost se nepadno při flotaci dostávají do povrchové blanky (Lukešová 1997). Z důvodu dvouletého terénního sledování souboru stejných koní však tento názor nesdílíme.

U infikovaných koní se neprojeví žádné klinické příznaky, které by poukázaly na výskyt tohoto parazita, proto se domníváme, že koně byli infikováni nízkým počtem tasemnic. Masivní infekce jsou provázeny intermitentními kolikami, progresivním hubnutím, anémií, průjmem a peritonitidou (Vojtková et al. 2006).

## 6.2. Vliv ročního období na výskyt parazitů

Vliv ročního období na výskyt *A. perfoliata* nebyl sice statisticky významný, přesto jsme infekci prokázali pouze na podzim. Vyslovenou teorii, že roztoči z čeledi Oribatidae vykazují větší aktivitu v letních měsících, a proto jsou koně infikováni zejména v pozdním létě a na podzim (Briggs et al. 2004d), dokládá i tato práce.

Nejvyšší výskyt (100 %) malých strongylidů u koní na pastvě byl zaznamenán v listopadu, prosinci, květnu, červnu, srpnu a září, nejnižší naopak v dubnu, červenci a říjnu. Pokles v červenci může souviset s výskytem vysokých teplot, které jsou nepříznivé pro přežívání  $L_3$  larev (Briggs et al. 2004c; Koudela 2008a). Změny v sezónní dynamice byly však u těchto i ostatních skupin koní z jiných technologií tak malé, že je nelze považovat za prokazatelné a lze říct, že výskyt malých strongylidů se v průběhu roku výrazně neměnil. Dosažené výsledky se shodují s výsledky koní v Itálii, kde se rovněž neprojevovaly významné výkyvy v sezónní dynamice, zatímco ve Velké Británii byl zaznamenán významný pokles v počtu FEC od března do května a v Německu od srpna do září (Traversa et al. 2010). V Polské studii byli koně méně infikováni od listopadu do ledna, zde to zřejmě souviselo s předchozím ošetřením anthelmintiky a stájovým způsobem chovu v zimním období (Kornaš et al. 2010). Výskyt velkých strongylidů a *Strongyloides westeri* byl zaznamenán hlavně na podzim, s roční dobou to však příliš nesouvisí. V případě *S. westeri* přikládáme daleko větší význam věku hříbat (podzim = věk 3 - 5 měsíců) a u velkých strongylidů s největším zaznamenaným výskytem v říjnu a listopadu 2009, mělo na postupnou eradikaci parazitů vliv ivermectinové anthelmintikum (Cevamec).

## 6.3. Výskyt rezistence na anthelmintika

Rezistence malých strongylidů na benzimidazoly nebyla v chovu ve Vlčevsi přímo prokázána testem FECRT (test redukce počtu vajíček v trusu), jelikož nebyl znám počet EPG v den ošetření, ale u většiny koní pouze 14 dní po ošetření.

Výsledná účinnost všech tří přípravků (Fenbion, Antiverm, Helmigal) spočítaná z % pozitivních vzorků byla však tak nízká, že lze o rezistenci uvažovat. Za zmínku stojí, že v tomto chovu jsou používána výhradně benzimidazolová anthelmintika s minimálním využitím ivermectinů, proto by bylo vysoce nepravděpodobné neprokázání rezistence. Rezistence na anthelmintika je přirozená biologická adaptace parazitů vznikající jako následek pravidelného ošetření koní. Současnou doporučovanou strategií k jejímu omezení je využití selektivní léčby a udržování refugií - senzitivních genů v populaci (Nielsen et al. 2007).

V Čechách byla rezistence zaznamenána ve 12 chovech (Chroust 2000; Langrová et al. 2002) a dále v 5 chovech na Moravě (Nováková et Koudela 2006). Dále byla popsána např. v Polsku (Ramisz et Betlejewska 1993), Ukrajině (Kuzmina et Kcharchenko 2008), v USA, zahrnující Kentucky (Lyons et al. 1996, 2007b; Lyons et Tolliver 2003), Pensylvánii (Uhlinger et Johnstone 1985), Georgii (Tarigo - Martine et al. 2001; Kaplan et al. 2004), Louisianu (Chapman et al. 1996; Kaplan et al. 2004), Floridu (Woods et al. 1998), Tennessee (Reinemeyer et al. 2003) a Texas (Brady et al. 2008), a mnoha dalších zemích (Kaplan 2002; Kaplan 2004). V evropských zemích se rezistence vyskytuje na 70 % i více farem (Boersema et al. 1991; Fisher et al. 1992; Ihler 1995; Dorny et al. 2000; Varady et al. 2000; Wirtherle et al. 2004).

V případě ivermectinových preparátů byl u 20 % koní zjištěn zkrácený časový interval (30 dní) mezi aplikací a znovuobjevením vajíček v trusu (ERP) malých strongylidů dehelmintizovaných koní. Někteří autoři definují ERP jako dobu, za kterou se počty vajíček vrátí na 20 % hodnoty FEC před ošetřením anthelmintikem (Tarigo - Martine et al. 2001), jiní uvádí první pozitivní vzorky po ošetření (Dudeney et al. 2008; Lyons et al. 2008; Molento et al. 2008), další se řídí průměrným počtem FEC stanoveným na 100 - 200 EPG (Boersema et al. 1996; Mercier et al. 2001) V našem sledování jsme vycházeli z pozitivních vzorků po dehelmintizaci, protože hodnoty FEC před ošetřením jsme většinou neměli k dispozici. Ve studii provedené před 15 lety byl interval mezi aplikací a znovuobjevením vajíček v trusu stanoven na 6 - 9 týdnů, přičemž průměrná účinnost přípravku se pohybovala na úrovni > 90 % 63 dní po ošetření (Borgsteede et al. 1993). U sledovaných koní v roce 2001 trval tento interval 6 týdnů (Tarigo - Martine et al. 2001) a v roce 2007 u koní v Německu byl ještě zkrácen na < 5 týdnů (Von Samson - Himmelstjerna et al. 2007). Postupné

zkracování periody mezi aplikací a znovuobjevením vajíček v trusu signalizuje vznikající rezistenci (Sangster 1999; Lyons et al. 2008).

Světově rozšířená rezistence *P. equorum* na anthelmintika ze skupiny makrocyclických laktonů (Boersema et al. 2002; Schougaard et Nielsen 2007) se ve sledovaném chovu (Vlčeves) nevyskytuje, zejména kvůli výše zmíněnému minimálnímu využití. Vysokou účinnost jsme potvrdili u fenbendazolu (92 %) i ostatních látek ze skupiny benzimidazolů na *P. equorum*, stejně jako Slocombe et al. (2007a) a Lindgren et al. (2008), kde se účinnost fenbendazolu pohybovala na úrovni 100 %. Vliv přípravku Equimax (praziquantel + ivermectin) na *A. perfoliata* byl testován u dvou koní. Kontrolní vyšetření prokázalo negativní výsledky. Praziquantel tedy vykázal vysokou účinnost, jakou popsali i další autoři (Traversa et al. 2008).

#### **6.4. Vliv věku na výskyt *S. westeri*, *P. equorum* a *E. leuckarti***

Významným ukazatelem, důležitým při napadení parazity *S. westeri*, *P. equorum* a *E. leuckarti* zejména ve vlčeveském chovu, byl věk sledovaných koní. Kilani et al. (2003) poznamenal, že výskyt *P. equorum* a *S. westeri* nesouvisí s pastevní aktivitou, ale nejdůležitější roli hraje právě stáří koní. Souvislost věku a napadení tasemnicemi *A. perfoliata* se nepodařilo prokázat i z důvodu nízkého počtu infikovaných koní (n = 2). Vojtková et al. (2006) rovněž neshledala věk jako významný faktor při napadení koní tasemnicemi. Někteří autoři se však přiklánějí k názoru, že častěji bývají infikováni mladí koně do věku 4 - 5 let (French et Chapman 1992; Proudman 2003).

Přestože strongylidní infekce by neměla příliš záviset na věku koní, nejvyšší prevalence byla zaznamenána u odstávčat, dvouletých a tříletých koní. Lind et al. (1999) rovněž popisuje vyšší prevalenci u dvouletých a tříletých koní, Kornáš et al. (2010) u ročků a dvouletých, Höglund et al. (2007) u ročků až pětiletých koní ve Švédsku a Larsen et al. (2002) u mladých koní. Naopak Francisco et al. (2009) zaznamenal pokles počtu EPG ve vztahu ke stáří koní (tříletí méně než desetiletí). V našich výsledcích měla kategorie sedmi - desetiletých koní nejnižší prevalenci (59,2 %) malých strongylidů ze všech sledovaných skupin. Vůbec první infekce tímto parazitem byla prokázána teprve u 17 - denního hříběte. Tento pozitivní nález lze označit za střevní pasáž související s koprofágií v raném věku hříběte. Prepatentní perioda je totiž výrazně delší, trvá 6 - 12 týdnů (Bodeček 2008).



*Strongyloides westeri* byl u nás detekován u hříbat a mladých koní ve stáji, na pastvě i v kombinovaném ustájení. Infekce mírně převažovala u mladších kategorií hříbat ve stáji (6,35 %). V kombinovaném ustájení byla nalezena v celkové prevalenci 6,1 % a na pastvě v 5,1 %. Vyšší výskyt pozitivních vzorků ve stájích tedy potvrzuje teorii, že strongyloidóza je stájová choroba vyskytující se především při nevhodných zootechnických podmínkách chovu (Jurášek et al. 1993). Výzkum prováděný v Řecku uvádí, že byli infikováni pouze koně z pastvin v celkové prevalenci 5,5 % (Papazahariadou et al. 2009), která se shoduje s prevalencí u námi vyšetřených hříbat na pastvě. Výskyt *S. westeri* byl zaznamenán u pěti hříbat na pastvě, sedmi ve stáji a šesti v kombinovaném ustájení (pastva / stáj), přičemž infekce převažovala u sajících hříbat do půl roku věku v prevalenci 48 %, u odstávčat a ročků byla zaznamenána v 6 %. Zajímavostí je výskyt tohoto parazita u 2,5 - leté klisny Ladyland (Vlčeves - pastva), protože *S. westeri* by se měl převážně vyskytovat u hříbat do stáří jednoho roku (Jurášek et al. 1993). Prevalence zaznamenaná u sajících hříbat výrazně přesahuje dosaženou prevalenci u hříbat v Kentucky - 6 % (Lyons et al. 1992) a 1,5 % (Lyons et Tolliver 2003). Infekce se poprvé vyskytla u 19 - denního hříběte, což potvrzuje názor Lyonse et al. (1973), že infikovaná hříbata uvolňují vajíčka v trusu kolem druhého týdne stáří. Přenos infekce u takto mladých hříbat je vázán především na mléčnou žlázu (Lyons et al. 1969, 1973). Nejvyšší výskyt *S. westeri* byl nalezen u tříměsíčních (70 %) a pětíměsíčních hříbat (60 %). Nalezená vysoká prevalence ve sledovaném chovu (Vlčeves) souvisí s minimálním využitím účinných anthelmintik, především nedochází k odčervení vysokobřezích klisen těsně před porodem a tím se zvyšuje riziko přenosu *S. westeri* laktogenní cestou.

*Eimeria leuckarti* byla detekována pouze ve Vlčevsi u tří hříbat (2 %) ze stáje ve věku 3 - 6 měsíců a tříletého hřebce (1 %) z pastvy. Dosažená prevalence se víceméně shoduje s výsledky jiných autorů - Bauer et Bürgur (1984) zaznamenali prevalenci v evropských zemích pod úrovní 1 %, dle De Souzy et al. (2009) se prevalence v Brazílii pohybovala na 0,5 %. Infekce způsobená *E. leuckarti* v dalších zemích dosahuje širokého rozpětí od 2 - 80 % např. v Řecku 3,1 - 6 % (Bakirci et al. 2004; Papazahariadou et al. 2009), v Německu u hříbat 64,9 - 80 % a klisen 3,33 % (Beelitz et al. 1994, 1996), v Polsku 6,7 - 9,18 % (Gundlach et al. 2006; Studzińska et al. 2008), v Turecku 4,5 % (Uslu et Guclu 2007) a v USA - Kentucky 41 - 85 % (Lyons et al. 1988, 2004, 2007c) a v Montaně u hříbat 59 % (Mc Queary et al. 1977).

Jen jedno hříbě (M: Leontýna × O: Quick Lauro Z) během sledování vykazovalo klinické příznaky v podobě vodnatého průjmu a celkové slabosti. Podobné klinické příznaky popisuje i Studzińska et al. (2008), kdy se u čtyř infikovaných hříbat projevila celková slabost, z toho u dvou zvýšená teplota a dočasný průjem. Jiní autoři popisují výskyt *E. leuckarti* vesměs bez klinických příznaků (Lyons et al. 2007c).

Ačkoli se v literatuře objevují zprávy o infekci *E. leuckarti* především u hříbat a mladých koní a pouze příležitostně u starších koní (Dunlap 1970; McQueary et al. 1977; Bauer et Bürguer 1984; Bauer 1990), ve studii De Souzy et al. (2009) bylo více pozitivních nálezů u dospělých zvířat. Naše výsledky dokládají fakt, že častěji jsou infikováni mladí koně, zejména hříbata do odstavu. První infekce zaznamenaná Lyonsem et al. (1988) se vyskytla u 15 - denního hříběte, po té byla detekována u 28 denního hříběte (Beelitz et al. 1994). Prepatentní perioda však trvá 31 dní (McQueary 1977), což je v kontrastu s výše uvedeným. Lyons et al. (1988) zároveň uvedl, že průměrně se první infekce objevují u hříbat v 70 dnech stáří. V našem chovu jsme první infekci zaznamenali déle - v 92 dnech věku hříběte.

Škrkavku *Parascaris equorum* jsme prokázali ve všech třech chovech, avšak statisticky významně ( $P < 0,001$ ) nejvyšší prevalence (15,8 %) byla zaznamenána ve vlčeveském chovu, v Táboře u sledovaných koní dosahovala úrovně 7,9 % a ve sportovní stáji Kavalo pouze 1,2 %. Tyto výsledky jednoznačně souvisí s věkem chovaných koní, kdy ve Vlčevsi převažují mladší kategorie koní, zatímco ve sportovní stáji Kavalo převládají starší koně. Použitá technologie neměla významný vliv na výskyt *P. equorum*, dosahované prevalence se pohybovaly na přibližně stejné úrovni (12,3 - 14,6 %). U většiny koní jsme výskyt *P. equorum* detekovali více než jednou - v Táboře bylo infikováno pouze 1 hříbě, poprvé ve věku 4 měsíce a celkem jsme u něj infekci zaznamenali 3 ×. Ve stájovém způsobu chovu (Vlčeves) bylo pozitivních 10 koní, v kombinovaném ustájení 9 a na pastvě 4 koně, u většiny z nich jsme infekci prokázali opakovaně. Nejčastější výskyt *P. equorum* (celkem 7 ×) byl zaznamenán u klisny Aristy v rozpětí věku 3,68 - 4,37 roku. V Kentucky bylo nalezeno 62 pozitivních hříbat více než jednou, z toho 55 bylo pozitivních dvakrát, 6 hříbat třikrát a 1 hříbě čtyřikrát (Lyons et Tolliver 2004). Nejvyšší prevalence v chovu Vlčeves byla zachycena u sajících hříbat (41 %), 32 % u odstávčat, 26 % u ročků, trochu překvapivě i u kategorie čtyřletých až šestiletých koní v 10 % a v jednom případě u 11 - leté klisny v kombinovaném ustájení. Naše prevalence se

přibližně shoduje s prevalencí u hříbat (22,4 - 39 %) v Kentucky (Lyons et Tolliver 2004; Lyons et al. 2006).

Nález u starších koní může souviset s nedostatečnou imunitou vůči *P. equorum*. Tito koně se zřejmě v mládí s *P. equorum* nesetkali a tudíž nedošlo k aktivaci získané imunity. Hříbata bývají nejčastěji infikována ve věku přibližně čtyř měsíců, což se shoduje s našimi výsledky, kdy největší prevalence dosahovala kategorie tříměsíčních (70 %), čtyřměsíčních (67 %) a pětíměsíčních (60 %), po té s postupujícím věkem následoval prudký pokles v intenzitě infekce. Nejvyšší intenzita infekce převážně trvá 1 - 2 měsíce. Imunita se vyvíjí od 6. měsíce věku hříbat a je plně funkční v 18 - 24. měsících (Clayton 1986; Briggs et al. 2004a).

Poprvé byla *P. equorum* detekována u hříběte (chov Vlčeves) ve věku 77 dní, prepatentní perioda trvající 10 - 12 týdnů vypovídá o tom, že hříbě muselo přijmout infekční dávku ve velmi raném věku. Přenos infekce laktogenní cestou byl již dříve vyloučen. U starších koní se také v převážné většině případů *P. equorum* nevyskytuje, takže nejpravděpodobnější způsob přenosu infekce je od hříbat předchozí generace, která využívala stejnou pastvinu i stáj. Vajíčka *P. equorum* zůstávají infekční po velmi dlouhou dobu a jsou odolná vůči vnějším podmínkám (Burks 1998). Spekulací však zůstává, jak dlouho musí být pastvina bez koní, aby se stala z parazitologického hlediska bezpečnou. Experimentální studie provedená u *Ascaris suum*, potvrdila, že pouze 10 % prasat bylo infikováno v podmínkách, kde se nevyskytovala prasata déle jak 8 - 18 měsíců (Kraglund 1999). Larsen et Roepstorff (1999) označili dobu 4 - 12 měsíců za dostatečnou z hlediska minimalizace přenosu infekce *A. suum*. Tyto podobné studie lze využít i u *P. equorum* (Lindgren et al. 2008). Zamezení přístupu koní na místa s největším selekčním tlakem infekce *P. equorum* (pastva, stáj) v délce 6 - 12 měsíců by mělo být dostačující. V mírných klimatických oblastech jsou vajíčka *P. equorum* infekční především od jara do pozdního podzimu, kdy se hříbata a mladí koně vyskytují ve velkých počtech ve výběžích a na pastvinách (Clayton et Duncan 1979).

## 6.5. Monoinfekce vs. smíšené infekce

Ve sledovaných chovech převládaly monoinfekce (67,1 %) nad smíšenými infekcemi (32,9 %). V celkovém počtu 330 pozitivních vzorků, v nichž byli paraziti detekováni pouze v monoinfekci, z 94,8 % převažovali malí strongylidi, jen 1,5 %

připadalo na velké strongylidy, *Parascaris equorum* a *Strongyloides westeri*. Přesto nelze tvrdit, vzhledem k velkému počtu druhů malých strongylidů, že u sledovaných koní převažovala infekce jen jedním druhem. U většiny koní byly totiž zaznamenány smíšené infekce těmito parazity (Klei et Chapman 1999), např. v Německu byli sledovaní koně infikováni v průměru  $\geq 5$  druhy malých strongylidů, zatímco v Itálii  $\leq 3$  druhy (Traversa et al. 2010).

Ve studii, kterou provedli Larsen et al. (2010) bylo 59 % vyšetřených koní pozitivních pouze na malé strongylidy, přičemž průměrný věk koní dosahoval 8,7 let. *Parascaris equorum* vylučovalo 79 (40 %) sledovaných koní, z toho 84 % mělo smíšenou infekci s malými strongylidy (Larsen et al. 2010). K podobným výsledkům jsme dospěli i v naší práci. U koní se smíšenými infekcemi převládaly infekce malých a velkých strongylidů (37,7 %) a malých strongylidů a *P. equorum* (29,0 %).

## **6.6. Nález mikrosporidie *Encephalitozoon cuniculi***

Mikrosporidie *Encephalitozoon cuniculi* genotype I byla detekována z náhodně vybraných vzorků koní pouze v jediném chovu (Vlčeves). Na základě imunologických, biochemických a molekulárních studií byly popsány tři genotypy *E. cuniculi*: genotyp I původně izolovaný z králíků (Shaddock 1969), genotyp II z myši, později byl identifikován jako přirozená infekce u polárních lišek (Didier et al. 1995) a genotyp III původně izolován u psů (Shaddock et al. 1978), později popsán v USA u pacienta s AIDS (Didier et al. 1996).

O výskytu *E. cuniculi* u koní je všeobecně málo informací, přesto je dáván do souvislosti s poruchami březosti klisen, zvláště v její poslední třetině, kdy se objevují aborty a rozsáhlé záněty placenty (Van Rensburg et al. 1991; Patterson-Kane et al. 2003; Szeredi et al. 2007). V našem sledování bylo zmetání zaznamenáno v první třetině březosti u klisny Lady Roberta. Jelikož ale v té době klisna vykonávala VZK (výkonnostní zkoušky klisen), bylo zmetání připisováno nadměrnému zatížení.

## 7. ZÁVĚR

- Malí strongylidi jsou nejčastějšími endoparazity koní, zvýšený výskyt byl zaznamenán u koní na pastvě.
- Jako nejméně rizikový z hlediska parazitárních infekcí byl označen stájový způsob chovu koní ve sportovní stáji.
- Věk byl hodnocen jako významný faktor při výskytu *Strongyloides westeri*, *Parascaris equorum* a *Eimeria leuckarti*.
- Rezistence na benzimidazoly byla zaznamenána v chovu, kde se k léčbě parazitárních infekcí používají anthelmintika výhradně na této bázi.
- Monoinfekce převládaly u sledovaných koní nad smíšenými infekcemi.
- Byla prokázána 40% prevalence mikrosporidie *Encephalitozoon cuniculi* genotype I u vyšetřených koní.

## 8. SEZNAM LITERATURY

- Austin, S. M., Di Pietro, J. A., Foreman, J. H., 1990.** *Parascaris equorum* infections in horses. Comp. Contin. Educ. Pract. Vet. 12, 1110 - 1119
- Bain, S. A., Kelly, J. D., 1977.** Prevalence and pathogenicity of *Anoplocephala perfoliata* in a horse population in South Auckland. N. Z. Vet. J. 25, 27 - 28
- Bakirci, S., Cirak, V. Y., Gülegen, E., Karacak, A., 2004.** Parasites found by faecal examination in horses in Gemlik Military Stud farm. Acta Par. T. 28, 35 - 37
- Barclay, W. P. T., Philips, J., Foerner, J., 1982.** Intussusception associated with *Anoplocephala perfoliata* infection in 5 horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 180, 752 - 753
- Barker, I. K., Remmler, O., 1972.** The endogenous development of *Eimeria leuckarti* in ponies. J. Parasitol. 58, 112 - 122
- Barragry, T., 1996.** Equine tapeworms. Ir. Vet. J. 49, 92 - 93
- Batelli, G., Galuppi, R., Pietrobelli, M., Tampieri, M. P., 1995.** *Eimeria leuckarti* (Flesch, 1883) Reichenow 1940 from Equus caballus in Italy. Parasitologia 37, 215 - 217
- Baudena, M. A., Chapman, M. R., French, D. D., Klei, T. R., 2000.** Seasonal development and survival of equine cyathostome larvae on pasture in South Louisiana. Vet. Parasitol. 88, 51 - 60
- Bauer, C., 1990.** Prevalence of *Eimeria leuckarti* and intensity of faecal oocyst output in a herd of horses during a Summer grazing season. Vet. Parasitol. 30, 11 - 15
- Bauer, C., Bürguer, H. J., 1984.** Zur biologie von *Eimeria leuckarti* (Flesch, 1883) der Equiden. Berl. Muench. Tieraerztl. Wochenschr. 97, 367 - 372
- Beech, J., 1979.** Disease of the lung. Vet. Clin. North. Am. 1, 149 - 163
- Beelitz, P., Goebel, E., Gothe, R., 1996.** Spectrum of species and incidence of endoparasites in foals and their mother mares from breeding farms with and without anthelmintic prophylaxis in upper Bavaria. Tierarztl. Prax. 24, 48 - 54
- Beelitz, P., Rieder, N., Goethe, R., 1994.** *Eimeria leuckarti* in foals and their mothers in upper Bavaria. Tierarztl. Prax. 22, 377 - 381
- Bemrick., W. J., Leary, T. P., Barnes, D. M., 1979.** *Eimeria leuckarti* in five Minnesota horses. Vet. Med. Small. Anim. Clin. 74, 77 - 80
- Beroza, G. A., Barclay, W. P., Phillips, T. N., Foerner, J. J., Donawick, W. J., 1983.** Cecal perforation and peritonitis associated with *Anoplocephala perfoliata* infection in three horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 183, 804 - 806
- Beroza, G. A., Williams, R., Marcus, L. C., Mille, P., 1986.** Prevalence of tapeworm infection and associated large bowel disease in horses. Proc. Equine Colic Symposium, Athens, GA, 21 - 25
- Biglietti, G., Garbagnati, B., 2000.** Cecocolic intussusception in a thorough-bred yearling. Equine Pract. 22, 26 - 27
- Blanek, M., Brady, H. A., Nichols, W. T., Hutcheson, D. P., Jackson, S. P., Pond, K. R., 2006.** Investigation of anthelmintic resistance and deworming regimens in horses. Prof. Anim. Scientist. 22, 346 - 352
- Bodeček, Š., 2008.** Cyatostomóza u koní. Aktuální parazitózy koní, 9 - 14
- Bodeček, Š., Koudela, B., 2008.** Veterinární a chovatelská opatření proti vnitřním parazitům u koní. Aktuální parazitózy koní, 24 - 34
- Boersema, J. H., Borgsteede, F. H., Eysker, M., Elema, T. E., Gaasenbeek, C. P., van der Burg, W. P., 1991.** The prevalence of anthelmintic resistance of horse strongyles in The Netherlands. Vet. Q. 13, 209 - 217

- Boersema, J. H., Eysker, M., Maas, J., vanderAar, W. M., 1996.** Comparison of the reappearance of strongyle eggs in foals, yearlings, and adult horses after treatment with ivermectin or pyrantel. *Vet. Q.* 18, 7 - 9
- Boersema, J. H., Eysker, M., Nas, J. W., 2002.** Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *Vet. Rec.* 150, 279 - 281
- Bonneau, S., Maynard, L., Tomczuk, K., Eun, H. M., 2009.** Anthelmintic efficacies of a tablet formula of ivermectin-praziquantel on horses experimentally infected with free *Strongylus* species. *Parasitol. Res.* 105, 817 - 823
- Borgsteede, F. H., Boersma, J. H., Gaasenbeek, C. P., 1993.** The reappearance of eggs in faeces of horses after treatment with ivermectin. *Vet. Q.* 15, 24 - 26
- Boxell, A. C., Gibson, K. T., Hobbs, R. T., Thompson, R. C., 2004.** Occurrence of gastrointestinal parasites in horses in metropolitan Perth, Western Australia. *Aust. Vet. J.* 82, 91 - 95
- Boyle, G. A., Houston, R., 2006.** Parasitic pneumonitis and treatment in horses. *Clin. Tech. Equine Pract.* 5, 225 - 232
- Brady, H. A., Nichols, W. T., 2009.** Drug resistance in equine parasites : an emerging global problem. *J. Equine Vet. Sci.* 29, 285 - 295
- Brady, H. A., Nichols, W. T., Blaneck, M., Hutchison, D. P., 2008.** Parasite resistance and the effects of rotational deworming regimens in horses: medicineinfectious diseases. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.* 54, 1 - 6
- Briggs, K., Reinemeyer, C., French, D., Kaplan, R., 2004a.** Ascarids: a growing problem. *The Horse* 3, 10 - 14
- Briggs, K., Reinemeyer, R. C., French, D., Kaplan, R., 2004b.** Resistant worms. *The Horse* 9, 39 - 43
- Briggs, K., Reinemeyer, R. C., French, D., Kaplan, R., 2004c.** Strongyles: the worst of worms. *The Horse* 4, 15 - 18
- Briggs, K., Reinemeyer, R. C., French, D., Kaplan, R., 2004d.** Tapeworms : an underrated threat. *The Horse* 2, 6 - 9
- Briggs, K., Reinemeyer, C., French, D., Kaplan, R., 2004e.** Dewormer adjuncts (Parasite primer 10). *The Horse* 10, 44 - 46
- Briggs, K., Reinemeyer, C., French, D., Kaplan, R., 2004f.** Drugs for the deworming war (Parasite primer 8). *The Horse* 8, 36 - 38
- Bucknell, D. G., Gasser R. B., Beveridge I., 1995.** The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. *Int. J. Parasitol.* 25, 711 - 724
- Burks, B. S., 1998.** Parasitic pneumonitis in horses. *Comp. Contin. Educ. Pract. Vet.* 20, 378 - 383
- Bürger, H. J., Bauer, C., 1987.** Efficacy of four anthelmintic agents against benzimidazole - resistant cyathostomes of horses. *Vet. Rec.* 120, 293 - 296
- Cali, A., 1991.** General microsporidian features and recent findings on AIDS isolates. *J. Protozol.* 38, 625 - 630
- Cali, A., Takvorian, P., 1999.** Developmental morphology and life cycle of the microsporidia, in M Wittner and L. Weiss, editors, *The microsporidia and microsporidiosis*, American Society of microbiology, Washington, DC, 85 - 128
- Campbell, A. J. D., Gasser, R. B., Chilton, N. B., 1995.** Differences in a ribosomal DNA sequence of *Strongylus* species allows identification of single eggs. *Int. J. Parasitol.* 25, 359 - 365
- Canning, E. U., Lom, J., 1986.** *The microsporidia of vertebrates.* Academic Press, Inc., NY, USA
- Clayton, H. M., 1978.** Ascariasis in foals. *Vet. Rec.* 24, 553 - 556

- Clayton, H. M., 1986.** Ascarids: recent advances. *Vet. Clin. North. Am. (Equine Pract.)* 2, 313 - 328
- Clayton, H. M., Duncan, J. L., 1979.** The migration and development of *Parascaris equorum* in the horse. *Int. J. Parasitol.* 9, 285 - 292
- Clayton, H. M., Duncan, J. L., 1981.** Natural infection with *Dictyocaulus arnfieldi* in pony and donkey foals. *Res. Vet. Sci.* 31, 278 - 280
- Coles, G. C., Eysker, M., Hodgkinson, J. E., Matthews, J. B., Kaplan, R. M., Klei, T. K., Sangster, N. C., 2003.** Anthelmintic resistance and use of anthelmintics in horses. *Vet. Rec.* 153, 636
- Cosgrove, J. S., Sheeran, J. J., Saintry, T. J., 1986.** Intussusception associated with *Anoplocephala perfoliata* in a two year old thoroughbred. *Ir. Vet. J.* 40, 35 - 36
- Couto, M. C. M., Quinelato, S., Santos, N. C., Souza, S. L., Sampaio, M. B. I., Rodriquez, A. L. M., 2008.** Environmental influence in cyathostominae ecology. *Vet. Med.* 53, 243 - 249
- Craig, M. T., Diamond, L. P., Ferwerda, S. M., Thompson, A. J., 2006.** Evidence of ivermectin resistance by *Parascaris equorum* on a Texas horse farm. *J. Equine Vet. Sci.* 27, 67 - 71
- Cribb, N. C., Coté, N. M., Bouré, L. P., 2006.** Acute small intestinal obstruction associated with *Parascaris equorum* infection in young horses : 25 cases (1985 - 2004). *N. Z. Vet. J.* 54, 338 - 343
- Čerňanská, D., Paoletti, B., Králová-Hromadová, I., Iorio, R., Cudeková, P., Millilo, P., Traversa, D., 2009.** Application of reverse line blot hybridization assay for the species-specific identification of cyathostomins (Nematoda, Strongylida) from benzimidazole-treated horses in Slovak Republic. *Vet. Parasitol.* 160, 171 - 174
- De Souza, P. N. B., Bomfim, T. C. B., Huber, F., Abboud, L. C. S., Gomes, R. S., 2009.** Natural infection of *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. and *Eimeria leuckarti* in free groups of equines with different handlings in Rio de Janeiro, Brazil. *Vet. Parasitol.* 160, 327 - 333
- Didier, E. S., Rogers, L. B., Orenstein, J. M., Baker, M. D., Vossbrinck C. R., van Gool T., Hartskeerl R., Soave R., Beaudet L. M. 1996.** Characterization of *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* isolates cultured from nasal mucosa and bronchoalveolar lavage fluids of two AIDS patients. *J. Eukaryot. Microbiol.* 43, 34 - 43
- Didier, E. S., Vossbrinck, C. R., Baker, M. D., Rogers, L. B., Bertucci, D. C., Shaddock, J. A., 1995.** Identification and characterization of three *Encephalitozoon cuniculi* strains. *Parasitology* 111, 411 - 421
- Didier, E. S., Weiss, L. M., 2006.** Microsporidiosis: current status. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 19, 485 - 492
- Dobson, R. J., Besier, R. B., Barnes, E. H., Love, S. C. J., Visard, A., Bell, L. F., Le Jambre, L. F., 2001.** Principles for the use of macrocyclic lactones to minimise selection for resistance. *Aus. Vet. J.* 79, 756 - 761
- Dorny, P., Meijer, I., Smets, K., Vercruyse, J., 2000.** A survey of anthelmintic resistance on Belgian horse farms. *Vlaams. Diergeneesk. Tijdschr.* 69, 334 - 337
- Dražan, J., 2001.** Ochrana koní proti parazitům. *Fauna* 21, 68
- Drogemuller, M., Beeliz, P., Pfister, K., Schneider, T., Samson-Himmelstjerna, G., 2004.** Amplification of ribosomal DNA of Anoplocephalidae: *Anoplocephala perfoliata* diagnosis by PCR as a possible alternative to coprological methods. *Vet. Parasitol.* 124, 205 - 215



- Drudge, J. H., Lyons, E. T., Swerczek, T. C., Tolliver, S. C., 1983a.** Cambendazole for strongyle control in a pony band: selection of a drug - resistant population of small strongyles and teratologic implications. *Am. J. Vet. Res.* 44, 110 - 114
- Drudge, J. H., Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Kubis, J. H., 1983b.** Clinical trials with febendazole and oxibendazole for *Strongyloides westeri* infection in foals. *Am. J. Vet. Res.* 42, 526 - 527
- Dudeney, A., Campbell, C., Coles, G., 2008.** Macrocyclic lactone resistance in cyathostomins. *Vet. Rec.* 163, 163 - 164
- Duncan, J. L., Love, S., 1991.** Preliminary observations on an alternative strategy for the control of horse strongyles. *Equine Vet. J.* 23, 226 - 228
- Dunlap, J. S., 1970.** *Eimeria leuckarti* infection in the horse. *J. Am. Vet. Assoc.* 156, 623 - 625
- Eysker, M., Boersema, J. H., Kooyman, F. N., 1990.** Seasonality inhibited development of cyathostomine nematodes in Shetland ponies in the Netherlands. *Vet. Parasitol.* 36, 259 - 264
- Eysker, M., Boersema, J. H., Kooyman, F. N. J., Berghen, P., 1988.** Possible resistance of small strongyles from female ponies in the Netherlands against albendazole. *Am. J. Vet. Res.* 49, 995 - 999
- Figueiredo, L. M. A., Sequeira, J., Bandarra, E. P., Gandolfi, W., 1993.** Intussusception ceco-colica in equine association of *Eimeria leuckarti*. *Rev. Brasil. de Parasitol. Vet.* 2, 71 - 72
- Fisher, M. A., Jacobs, D. E., Grimshaw, W. T., Gibbons, L. M., 1992.** Prevalence of benzimidazole-resistance in equine cyathostome populations in south east England. *Vet. Rec.* 130, 315 - 318
- Fogarty, U., del Piero, F., Purnell, R. E., Mosurski, K. R., 1994.** Incidence of *Anoplocephala perfoliata* in horses examined at an Irish abattoir. *Vet. Rec.* 134, 515 - 518
- Foreyt, J. W., 2001.** Veterinary parasitology reference manual. Blackwell publishing professional Iowa, 235 pp
- Francisco, I., Arias, M., Cortiñas, F. J., Francisco, R., Mochales, E., Dacal, V., Suárez, J. L., Uriarte, J., Morrondo, P., Sánchez-Andrade, R., Díez- Baños, P., Paz-Silva, A., 2009.** Intrinsic factors influencing the infection by helminth parasites in horses under an oceanic climate area (NW Spain). *J. Parasitol. Res.* 5
- French, D. D., Chapman, M. R., 1992.** Tapeworms of the equine gastrointestinal tract. *Comp. Cont. Ed. Prac. Vet.* 14, 655 - 662
- French, D. D., Chapman, M. R., Klei, T. R., 1994.** Effects of treatment with ivermectin for five years on the prevalence of *Anoplocephala perfoliata* in the free Louisiana pony herds. *Vet. Rec.* 135, 63 - 65
- Gasser, R. B., Stevenson, L. A., Chilton, N. B., Nansen, P., Bucknell, D. G., Beveridge, I., 1996.** Species markers for equine strongyles detected in intergenomic rDNA by PCR-RFLP. *Mol. Cell. Probes.* 10, 371 - 378
- Gasser, R. B., Williamson, R. M., Beveridge, I., 2005.** *Anoplocephala perfoliata* of horses - significant scope for further research, improved diagnosis and control. *Parasitology* 131, 1 - 13
- Gawor J. J., 1995.** The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. *Vet. Parasitol.* 58, 99 - 108
- Geering, R. R., Johnson, P. J., 1990.** Equine tapeworms more prevalent. *Vet. Rec.* 127, 96
- Georgi, J. R., Georgi, M. E., 1990.** Parasitology for Veterinarians, 5th edn., W. B. Saunders, Philadelphia, PA, 412 pp

- Gokbulut, C., Cirak, Y. V., Senlik, B., Yildirim, F., McKellar, Q. M., 2009.** Pharmacological assessment of netobimin as a potential anthelmintic for use in horses. Plasma disposition, faecal excretion and efficacy. *Res. Vet. Sci.* 86, 514 - 520
- Gomez, H. H., Georgi, J. R., 1991.** Equine helminth infections: control by selective chemotherapy. *Equine Vet. J.* 23, 198 - 200
- Greator, J. C., 1977.** Diagnosis and treatment of verminous aneurysma formativ in the horse. *Vet. Rec.* 101, 184 - 187
- Güiris, D. M. A., Rojas, M. N. H., Berovides, V. A., Sosa, P. J., Pérez, E. M. E., Cruz, A. E., Chávez, H. C., Moguel, A. J. A., Jimenez - Coello, M., Ortega - Pacheco, A., 2010.** Biodiversity and distribution of helminths and protozoa in naturally infected horses from the biosphere reserve “La Sierra Madre de Chiapas”, México. *Vet. Parasitol.* 170, 268 - 277
- Gundlach, J. L., Sadzikowski, A. B., Studzińska, M. B., 2006.** Protozoan invasions of horses. *Ann. Univ. Mariae Curie - Skłodowska Vet.* 59, 532 - 535
- Hearn, F. P., Peregrine, A. S., 2003.** Identification of foals infected with *Parascaris equorum* apparently resistant to ivermectin. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223, 482 - 485
- Herd, R. P., 1993.** Control strategies for ruminant and equine parasites to counter resistance, encystment, and ecotoxicity in the USA. *Vet. Parasitol.* 48, 327 - 336
- Herd, R. P., 1990.** The changing Word of worms - the rise of the cyathostomes and the decline of *Strongylus vulgaris*. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.* 12, 732 - 736
- Hinney, B., 2009.** Prevalenz von helminthen und riskfaktoren für ihre Befallsstärke bei Pferden in Brandenburg (Prevalence of helminths in horse farms in the federal state Brandenburg and risk factors for a high endoparasitic burden). Thesis, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany, 134 pp
- Höglund, J., Ljungstrom, B. L., Nilsson, O., Lundquist, H., Osterman, E., Uggla, A., 2007.** Occurrence of *Gasterophilus intestinalis* and some parasitic nematodes of horses in Sweden. *Acta Vet. Scand.* 38, 157 - 165
- Hung, G. C., Gasser, R. B., Beveridge, I., Chilton, N. B., 1999.** Species-specific amplification by PCR of ribosomal DNA from some equine strongyles. *Parasitology* 119, 69 - 80
- Chandler, K. L., Love, S., 2002.** Patterns of faecal egg counts following spring dosing with either fenbendazole or moxidectin. *Vet. Rec.* 151, 269 - 270
- Chapman, M. R., French, D. D., Klei, T. R., 2002.** Gastrointestinal helminths of ponies in Louisiana: a comparison of species currently prevalent with those 20 years ago. *J. Parasitol.* 88, 1130 - 1134
- Chapman, M. R., French, D. D., Monahan, C. M., Klei, T. R., 1996.** Identification and characterization of a pyrantel pamoate resistant cyathostome population. *Vet. Parasitol.* 66, 205 - 212
- Chineme, C. M., Tulpule, S. S., Jamdar, M. U., 1979.** Enteritis associated with *Eimeria leuckarti* infection in donkeys. *Vet. Rec.* 105, 126
- Chroust, K., 2000.** Occurrence of anthelmintic resistance in strongylid nematodes of sheep and horses in Czech Republic. *Vet. Med. - Czech* 45, 233 - 239
- Ihler, C. F., 1995.** A field survey on anthelmintic resistance in equine small strongyles in Norway. *Acta Vet. Scand.* 36, 135 - 143
- Ihler, C. F., Rootwelt, V., Heyeraas, A., Dolvik, N. I., 1995.** The prevalence and epidemiology of *Anoplocephala perfoliata* infection in Norway. *Vet. Res. Commun.* 19, 487 - 494
- Ionita, M., Howe, D. K., Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Kaplan, M. R., Mitrea, L. I., Yeargan, M., 2010.** Use of reverse line blot assay to survey small strongyle

- (Strongylida: Cyathostominae) populations in horses before and after treatment with ivermectin. *Vet. Parasitol.* 168, 332 - 337
- Johnstone, A. C., Pearce, H. G., Charleston, W. A. G., 1982.** First report of *Eimeria leuckarti* infection in a horse in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 30, 104 - 105
- Jurášek, V., Dubinský, P., Bírová, V., Borošková, Z., Breza, M., Csizsmárová, G., Čorba, J., Goldová, M., Hanzelová, V., Juriš, P., Krupice, I., Leciak, V., Novela, M., Peřko, B., 1993.** Veterinární parazitologie. Příroda, 209 pp
- Kania, A. S., Reinmeyer, R. C., 2005.** *Anoplocephala perfoliata* coproantigen detection a preliminary study. *Vet. Parasitol.* 127, 115 - 119
- Kaplan, R. M., 2002.** Anthelmintic resistance in nematodes of horses. *Vet. Res.* 33, 491 - 507
- Kaplan, R. M., 2004.** Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends Parasitol.* 20, 477 - 481
- Kaplan, R. M., Klei, T. R., Lyons, E. T., Lester, G., Courtney, CH., French D. D., et al. 2004.** Prevalence of anthelmintic resistant cyathostomes on horse farms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 225, 903 - 910
- Kaplan, R. M., Reinemeyer, C. R., Slocombe, O., Murray M. J., 2006.** Confirmation of ivermectin resistance in a purportedly resistant Canadian isolate of *Parascaris equorum* in foals. *Proc. Mtg. Am. Assoc. Vet. Parasitol.* 51, 69
- Keeling, P. J., 2003.** Congruent evidence from alpha-tubulin and beta-tubulin gene phylogenies from a zygomycete origin of microsporidia. *Fung. Gen. Biol.* 38, 298 - 309
- Keeling, P. J., Fast, N. M., 2002.** Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Annu. Rev. Microbiol.* 56, 93 - 116
- Keeling, P. J., Luker, M. A., Palmer, J. D. 2000.** Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi. *Mol. Biol. Evol.* 17, 23 - 31
- Kilani, M., Guillot, J., Polack, B., Chermette, R., 2003.** Helminthoses digestives. In: Lefèvre, P.- C., Blancou, J., Chermette, R. (Eds.), "Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes". 2. Maladies Bactériennes, Mycoses, Maladies parasitaires 2. Lavoisier, Paris, 1309 - 1424
- Klei, T. R., 1986.** Other parasites recent advances. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 2, 329 - 335
- Klei, T. R., Chapman, M. R., 1999.** Immunity in equine cyathostome infections. *Vet. Parasitol.* 85, 123 - 136
- Klei, T. R., Chapman, M. R., Torbert, B. J., 1983.** Antibody responses of ponies initial and challenge infection of strongylus vulgaris. *Vet. Parasitol.* 12, 187 - 198
- Klei, T. R., Rehbein, S., Visser, M., Langhoff, W. K., Champman, M. R., French, D. D., Hanson, P., 2001.** Re-evaluation of ivermectin efficacy against equine gastrointestinal parasites. *Vet. Parasitol.* 98, 315 - 320
- Kornaš, S., Cabaret, J., Skalska, M., Nowosad, B., 2010.** Horse infection with intestinal helminths in relation to age, sex, Access to grass and farm systém. *Vet. Parasitol.* 174, 285 - 291
- Koudela, B., 2008a.** Vnitřní parazité koní. Aktuální parazitózy koní, 1 - 8
- Koudela, B., 2008b.** *Anoplocephala perfoliata* - skrytý parazit koní. Aktuální parazitózy koní, 15 - 19
- Kraglund, H. O., 1999.** Survival, development and dispersal of the free living stages of *Ascaris suum*, *Oesophagostomum dentatum* and *Trichuris suis* at the pasture. Ph D Thesis, Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark, 124 pp

- Krecek, R. C., Guthrie, A. J., Nieuwenhuizen, L. V., Booth, L. M., Nieuwenhuizen, L. C. V., 1994.** A comparison between the effects of conventional and selective antiparasitic treatments on nematode parasites of horses from two management schemes. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 65, 97 - 100
- Kuzmina, A. T., Kharchenko, O. V., 2008.** Anthelmintic resistance in cyathostomins of brood horses in Ukraine and influence of anthelmintic treatments of strongylid community structure. *Vet. Parasitol.* 154, 277 - 288
- Kváč, M., Ondráčková, Z., Květoňová, D., Sak, B., Vítovec, J., 2007.** Infectivity and pathogenicity of *Cryptosporidium* isolates from pigs at slaughterhouse in South Bohemia, Czech Republic. *Parasitol. Res.* 104, 425 - 428
- Langrová, I., Borovský, M., Jankovská, I., Navrátil, J., Slavík, V., 2002.** The benzimidazole resistance of cyathostomes on five horse farms in Czech Republic. *Helmintologia* 39, 211 - 216
- Langrová, I., Jankovská, I., Borovská, M., Fiala, T., 2003.** Vliv klimatu na migraci infekčních larev malých strongylidů. *Vet. Med.* 48, 18 - 24
- Larsen, M. M., Lendal, S., Chriel, M., Olsen, S. N., Bjorn, H., 2002.** Risk factors for high endoparasitic burden and the efficiency of a single anthelmintic treatment of Danish horses. *Acta Vet. Scand.* 43, 99 - 106
- Larsen, M. M., Ritz, CH., Petersen, S. L., Nielsen, M. K., 2010.** Determination of ivermectin efficacy against cyathostomins and *Parascaris equorum* on horse farms using selective therapy. *Vet. J.* 188, 44 - 47
- Larsen, M. N., Roepstorff, A., 1999.** Seasonal variation in development and survival of *Ascaris suum* and *Trichuris suis* eggs on pastures. *Parasitology.* 119, 209 - 220
- Levine, N. D., 1986.** The taxonomy of sarcocystis (Protozoa, Apicomplexa) species. *J. Parasitol.* 72, 372 - 382
- Lind, E. O., Høglund, J., Ljungstrom, B. L., Nilsson, O., Ugglå, A., 1999.** A field survey on the distribution of strongyle infections of horses in Sweden and factors affecting faecal egg counts. *Equine Vet. J.* 31, 68 - 72
- Lindgren, K., Ljungvall, ö., Nilsson, O., Ljungström, B. D., Lindahl, C., Höglund, J., 2008.** *Parascaris equorum* in foals and their environment on a Swedish stud farm, with notes on treatment failure ivermectin. *Vet. Parasitol.* 151, 337 - 343
- Little, S. E. 1999.** Adult tapeworms in horses: clinical significance. *Comp. Continuing Educ. Pract. Vet.* 21, 356 - 360
- Love, S., 2003.** Treatment and prevention of intestinal parasite - associated disease. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 19, 791 - 806
- Love, S., Mair, T. S., Hillery, M. H., 1992.** Chronic diarrhoea in adult horses : a review of 51 referred cases. *Vet. Rec.* 130, 217 - 219
- Love, S., McKeand, J. B., 1997.** Cyathostomiasis: practical instance of treatment and control. *Equine Vet. Educ.* 9, 253 - 256
- Love, S., Murphy, D., Mellor, D., 1999.** Pathogenicity of cyathostome infection. *Vet. Parasitol.* 85, 113 - 122
- Ludwig, K. G., Craig, T. M., Bowen, J. M., Ansari, M. M., Ley, W. B., 1983.** Efficacy of ivermectin in controlling *Strongyloides westeri* infection in foals. *Am. J. Vet. Res.*, 44, 314 - 316
- Lukešová, D., 1997.** Zkušenosti s nálezy protozoí rodu *Eimeria*, *Cryptosporidium*, *Giardia* a tasemnic rodu *Anoplocephala* u koní. *Veterinářství* 3, 92 - 94
- Lyons, E. T., Drudge, J. H., Tolliver, S. C., 1969.** Parasites from mare's milk. *Bloodhorse* 95, 2270 - 2271
- Lyons, E. T., Drudge, J. H., Tolliver, S. C., 1973.** On the life cycle of *Strongyloides westeri* in the equine. *J. Parasitol.* 59, 780 - 787

- Lyons, E. T., Drudge, J. H., Tolliver, S. C., 1988.** Natural infection with *Eimeria leuckarti*: prevalence of oocysts in feces of horse foals on several farms in Kentucky during 1986. Am. J. Vet. Res. 49, 96 - 98
- Lyons, E. T., Drudge, J. H., Swerczek, T. W., 1981.** Prevalence of *Strongylus vulgaris* and *Parascaris equorum* in Kentucky Thoroughbreds at necropsy. J. Am. Vet. Med. Assoc. 179, 818 - 819
- Lyons, E. T., Drudge, J. H., Tolliver, S. C., Swerczek, T. W., Crowe, M. W., 1984.** Prevalence of *Anoplocephala perfoliata* and lesions of *Draschia megastoma* in thoroughbreds in Kentucky at necropsy. Am. J. Vet. Res. 45, 996 - 999
- Lyons, E. T., Swerczek, T. W., Tolliver, S. C., 2003.** Parasitologic examination of the eyes, esofagus, lungs, rumen, and feces of cattle and of the small intestine of horses at necropsy in central Kentucky, USA, in 2000 and 2001. Comp. Parasitol. 70, 55 - 59
- Lyons, E. T., Swerczek, T. W., Tolliver, S. C., Bair, H. D., Drudge, J. H., Ennis, L. E., 2000.** Prevalence of selected species of internal parasites in equids at necropsy in central Kentucky (1995 - 1999). Vet. Parasitol. 92, 51 - 62
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., 2003.** Field test data on small strongyles in evaluation of activity of fenbendazole given once a day for 5 consecutive days to Thoroughbred yearlings on two farms in Kentucky in 2002 and 2003. Parasitol. Res. 91, 312 - 315
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., 2004.** Prevalence of parasites eggs (*Strongyloides westeri*, *Parascaris equorum*, and strongyles) and oocysts (*Eimeria leuckarti*) in the feces of thoroughbred foals on 14 farms in central Kentucky in 2003. Parasitol. Res. 92, 400 - 404
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Collins, S. S., 2006.** Field studies on endoparasites of Thoroughbred foals on seven farms in central Kentucky in 2004. Parasitol. Res. 98, 496 - 500
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Collins, S. S., 2007b.** Study (1991 to 2001) of drug resistant population B small strongyles in critical tests in horses in Kentucky at the termination of a 40 - year investigation. Parasitol. Res. 101, 689 - 701
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Collins, S. S., 2009.** Probable reason why small strongyle EPG counts are returning „early“ after ivermectin treatment of horses on a farm in Central Kentucky. Parasitol. Res. 104, 569 - 574
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Drudge, J. H., 1985.** Lungworms (*Dictyocaulus arnfieldi*): prevalence in live equids in Kentucky. Am. J. Vet. Res. 46, 921 - 923
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Drudge, J. H., 1999.** Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. Vet. Parasitol. 85, 113 - 122
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Drudge, J. H., 1985.** Prevalence of some internal parasites recovered of Thoroughbreds born in 1982 in Kentucky. Am. J. Vet. Res. 46, 679 - 683
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Drudge, J. H., Collins, S. S., 1997.** Tapeworms in horses Bulletin. VET-32, University of Kentucky Cooperative Extension Service, 7 pp
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Drudge, J. H., Granstrom, D. E., Collins, S. S., 1992.** Natural infection of *Strongyloides westeri* prevalence in horse foals on several farms in central Kentucky in 1992. Vet. Parasitol. 50, 101 - 107
- Lyons, E. T., Tolliver, S., Drudge, J., Stamper, S., Swerczek, T., Granstrom, D. E., 1996.** A study (1977- 1992) of population dynamics endoparasites featuring benzimidazole - resistant small strongyles in shetland ponies. Vet. Parasitol. 66, 75 - 86

- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Drudge, J. H., Stamper, S., Swerczek, T. W., Granstrom, D. E., 1996.** Critical test evaluation (1977–1992) of drug efficacy against endoparasites featuring benzimidazole-resistant small strongyles (population S) in Shetland ponies. *Vet. Parasitol.* 66, 67 - 73
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Ionita, M., Collins, S. S., 2007a.** Evaluation of parasiticidal activity of fenbendazole, ivermectin, oxibendazole, and pyrantel pamoate in horse foals with emphasis on ascarids (*Parascaris equorum*) in field studies on five farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitol. Res.* 103, 287 - 291
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Ionita, M., Lewellen, A., Collins, S. S., 2008.** Field studies indicating reduced activity of ivermectin on small strongyles in horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitol. Res.* 103, 209 - 215
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Rathgeber, R. A., Collins, S. S., 2007c.** Parasite field study in central Kentucky on thoroughbred foals (born in 2004) treated with pyrantel tartrate daily and other parasiticides periodically. *Parasitol. Res.* 100, 473 - 478
- Mackay, R. J., Urguhart K. A., 1979.** An outbreak of eosinophil bronchitis in horses possibly associated with *Dictyocaulus arnfieldi* infection. *Equine Vet. J.* 11, 110 - 112
- Marchiondo, A. A., White, G. V., Smith, L. L., Reinmayer, R. C., Dascanio, J. J., Johnson, G. E., Shugart, I. J., 2006.** Clinical field efficacy and safety of pyrantel pamoate paste (19,13% pyrantel base) against *Anoplocephala* spp. in naturally infected horses. *Vet. Parasitol.* 137, 94 - 102
- Matthee, S., McGeoch, M. A., 2004.** Helminths in horses: use of selective treatment for the control of strongyles. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 75, 129 - 136
- Matthews, J. B., Hodgkinson, J. E., Dowdall, S. M. J., Proudman, C. J., 2004.** Recent developments in research into the cyathostominae and *Anoplocephala perfoliata*. *Vet. Res.* 35, 371 - 381
- McCraw, B. M., Slocombe, J. O. D., 1976.** *Strongylus vulgaris* in the horse. *Can. Vet. J.* 17, 150 - 157
- McCraw, B. M., Slocombe, J. O. D., 1977.** *Strongylus edentatus*: Development and lesions from ten weeks postinfection to patency. *Can. J. Comp. Med.* 42, 340 - 356
- McCraw, B. M., Slocombe, J. O. D., 1985.** *Strongylus equinus*: Development and pathological effects in the equine host. *Can. J. Comp. Med.* 49, 372 - 383
- McQuery, C. A., Worley, D. E., Catlin, J. E., 1977.** Observations on the life cycle and prevalence of *Eimeria leuckarti* in horses in Montana. *Am. J. Vet. Res.* 38, 1673 - 1674
- Meana, A., Luzon, M., Corchero, J., Gomez - Bautista, M., 1998.** Reliability of coprological diagnosis of *Anoplocephala perfoliata* infection. *Vet. Parasitol.* 74, 79 - 83
- Meerit, A. M., 1982.** Chronic diarrhoea in: Mansmann, R. A., Mc Allister, E. S. (Eds.) Santa Barbara, CA, *Am. Vet. Publ.*, 547 pp
- Mercier, P., Chick, B., Alves-Branco, F., White, C. R., 2001.** Comparative efficacy, persistent effect, and treatment intervals of anthelmintic pastes in naturally infected horses. *Vet. Parasitol.* 99, 29 - 39
- Mfutilodze, M. W., Hutchinson, G. W., 1989.** Prevalence and intensity of non-strongyle intestinal parasites of horses in northern Queensland. *Aust. Vet. J.* 66, 23 - 26
- Mfutilodze, M. W., Hutchinson, G. W., 1987.** Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. *Vet. Parasitol.* 23, 121 - 133
- Molento, M. B., 2008.** Avermectin/milbemycin resistance in cyathostomes: current situation. *Proceeding Equine Parasite Drug Resistance Workshop* 11

- Molento, M. B., Antunes, J., Bentes, R. N., Coles, G. C., 2008.** Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. *Vet. Rec.* 162, 384 - 385
- Nielsen, M. K., Kaplan, R. M., Thamsborg, S. M., Monrad, J., Olsen, S. N., 2007.** Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *Vet. J.* 174, 23 - 32
- Nicholls, J. M., Clayton, H. M., Duncan, J. L., 1979.** Lungworm (*Dictyocaulus arnfieldi*) infection in donkeys. *Vet. Rec.* 23, 567 - 570
- Nichols, W. T., Edmonds, J., Edmonds, M., Johnson, E., Vaala, W., Brown, M., 2008.** Efficacy of an equine anthelmintic program. Proceedings Equine Parasite Drug Resistance Workshop
- Nillson, O., Ljungstrom, B. L., Höglun, J., Lundquist, H., Vogglä, A., 1995.** *Anoplocephala perfoliata* in horses in Sweden: prevalence, infection levels and intestinal lesion. *Acta. Vet. Scand.* 3, 319 - 328
- Nováková, K., Koudela, B., 2006.** Výskyt rezistence na anthelmintika v chovech koní na Moravě. *Veterinářství* 56, 20 - 23
- Oliver, D. F., Jenkins, C. T., Walding, J. P., 1977.** Duodenum rupture in a nine-month-old colt due to *Anoplocephala magna*. *Vet. Rec.* 101, 80
- Owen, R. A., Jagger, D. W., Quan-Taylor, R., 1988.** Prevalence of *Anoplocephala perfoliata* in horses and ponies in Clwyd, Powys and adjacent English marches. *Vet. Rec.* 123, 562 - 563
- Papazaharidou, M., Papadopoulos, E., Diakou, A., Ptochos, S., 2009.** Gastrointestinal parasites of stabled and grazing horses in Central and Northern Greece. *J. Equine Vet. Sci.* 29, 233 - 236
- Patterson-Kane, J. C., Caplazi, P., Rurangirwa, F., Tramontin, R. R., Wolfsdorf, K., 2003.** *Encephalitozoon cuniculi* placentitis and abortion in a quarterhorse mare. *J. Vet. Diagn. Invest.* 15, 57 - 59
- Pereira J. R., Vianna S. S. S., 2006.** Gastrointestinal parasitic worms in equines in the Paraíba Valley, State of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.* 140, 289 - 295
- Proudman, C. J., 2003.** Diagnosis, treatment, and prevention of tapeworm - associated colic. *J. Equine Vet. Sci.* 23, 6 - 9
- Proudman, C. J., Edwards, G. B., 1992.** Validation of a centrifugation / flotation technic for the diagnosis of equine cestodiasis. *Vet. Rec.* 131, 71 - 72
- Proudman, C. J., Edwards, G. B., 1993.** Are tapeworm associated with equine colic? *Equine Vet. Res.* 25, 224 - 226
- Proudman, C. J., French, N. P., Trees, A. J., 1998.** Tapeworm infection is significant risk factor for spasmodic colic in the horse. *Equine Vet. J.* 30, 194 - 199
- Ramisz, H. A., Betlejewska, K., 1993.** Resistant strain of small strongyles (Cyathostominae) of horses on Fenbendan. In: Proc. 14th Conf. WAAVP, Cambridge (abstract no. 278)
- Ramsey, Y. H., Chistley, R. M., Matthews, J. B., Hodgkinson, J. E., Mcgoldrick, J., Love, S., 2004.** Seasonal development of Cyathostominae larvae on pasture in a northern temperate region of the United Kingdom. *Vet. Parasitol.* 119, 307 - 318
- Reinemeyer, C. R., Farley, A. W., Clymer, B. C., 2003.** Comparison of cyathostome control and selection for benzimidazole resistance using larvicidal regimens of moxidectin gel or Panacur Powerpac paste. *J. Appl. Res. Vet. Med.* 1, 66 - 72
- Reinemeyer, C. R., Smith, S. A., Gabel, A. A., Herd, R. P., 1984.** The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the USA. *Vet. Parasitol.* 15, 75 - 83
- Reinemeyer, R. C., Nielson, M. K., 2009.** Parasitism and colic. *Vet. Clin. Equine* 25, 233 - 245

- Reppas, G. P., Collins, G. H., 1995.** *Eimeria* infections in free foals. *Aus. Vet.* 72, 63 - 64
- Rommel, M., Eckert, J., Kutzer, E., Körting, W., Schnieder, T., (Eds), 2000.** *Veterinärmedizinische Parasitologie*. 5th edn. Parey Verlag, Berlin, 915 pp
- Round, M. C., 1976.** Lungworm infection (*Dictyocaulus arnfieldi*) of horses and donkeys. *Vet. Rec.* 13, 393 - 395
- Ryu, S., Bak, U., Kim, J., Yoon, H., Seo, H., Kim, J. O., Park, J., Lee, CH., 2001.** Cecal rupture by *Anoplocephala perfoliata* in a thoroughbred horse in Seoul race park. South Korea. *J. Vet. Sci.* 2, 189 - 193
- Sangster, N. C., 1999.** Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectin/milbemycins? *Vet. Parasitol.* 85, 189 - 201
- Shaddock J. A., 1969.** *Nosema cuniculi*: *in vitro* isolation. *Science* 166, 516 - 517
- Shaddock J. A., Bendele R., Robinson G. R. 1978.** Isolation of the causative organism of canine encephalitozoonosis. *Vet. Pathol.* 15, 449 - 460
- Sheahan, B. J., 1976.** *Eimeria leuckarti* infection in a thoroughbred foal. *Vet. Rec.* 99, 213 - 214
- Schougaard, H., Nielsen, M. K., 2007.** Apparent ivermectin resistance of *Parascaris equorum* in foals in Denmark. *Vet. Rec.* 160, 439 - 440
- Slocombe, J. O., de Gannes, R. V., Lake, M. C., 2007a.** Macrocytic lactone-resistant *Parascaris equorum* on stud farms in Canada and effectiveness of fenbendazole and pyrantel pamoate. *Vet. Parasitol.* 145, 371 - 376
- Slocombe, J. O., Heine, J., Barutzki, D., Slacek, B., 2007b.** Clinical trials of efficacy of praziquantel horse paste 9 % against tapeworms and its safety in horses. *Vet. Parasitol.* 144, 366 - 370
- Slocombe, J. O. D., 1979.** Prevalence and treatment of tapeworms in horses. *Can. Vet. J.* 20, 136 - 140
- Slocombe, J. O. D., 1991.** Anthelmintic resistance in strongyles of equids. *Equine infection disease VI*
- Snowden, K. F., 2004.** Zoonotic microsporidia from animals and arthropods with a discussion of human infections. In: Lindsay, D. S., Weiss, L. M. (Eds.), *World Class Parasites, 9. Opportunistic Infections: Toxoplasma, Sarcocystis, and Microsporidia*. Kluwer Academic Press, Boston, MA, 123 - 134
- Sotiraki S. T., Badouvas A. G., Himonas C. A., 1997.** A survey on the prevalence of internal parasites on equines in Macedonia and Thessalia - Greece. *J. Equine Vet. Sci.* 17, 550 - 552
- Soulsby, L., 2007.** New concepts in strongyle control and anthelmintic resistance: The role of refugia. *Vet. J.* 174, 6 - 7
- Stromberg, B. E., 1997.** Environmental factors influencing transmission. *Vet. Parasitol.* 72, 247 - 264
- Studzińska, M. B., Tomczuk, K., Sadzikowski, A. B., 2008.** Prevalence of *Eimeria leuckarti* in young horses and usefulness of some coproscopical methods for its detection. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 52, 541 - 544
- Sutoh, M., Saheki, Y., Ishitani, R., Inui, S., Narita, M., Hamazaki, H., Yokota, T., 1976.** *Eimeria leuckarti* infection in foals. *Natl. Inst. Anim. Health. Q.* 16, 59 - 64
- Szabo, J. R., Shaddock, J. A., 1987.** Experimental encephalitozoonosis in neonatal dogs. *Vet. Pathol.* 24, 99 - 108
- Szeredi, L., Pospischil, A., Densoi, L., Mathis, A., Dobos - Kovács, M., 2007.** A case of equine abortion caused by *Encephalitozoon* sp. *Acta Vet. Hung.* 55, 525 - 532



- Tarigo-Martine, J. L., Wyatt, A. R., Kaplan, R. M., 2001.** Prevalence and clinical implications of anthelmintic resistance in cyathostomes in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218, 1957 - 1960
- Tavassoli, M., Dalir-Naghadeh, B., Esmaceli-Sani, S., 2010.** Prevalence of gastrointestinal parasites in working horses. *Pol. J. Vet. Sci.* 13, 319 - 324
- Taylor, M. A., Coop, R. L., Wall, R. L., 2007.** *Veterinary parasitology*, Publisher: Wiley-Blackwell; 3rd Edition edition, 904 pp
- Tinker, M. K., White, N. A., Lessard, P., Thatcher, C. D., Pelzer, K. D., Davis, B., Carmel, D., 1997.** Prospective study of equine colic incidence and mortality. *Equine Vet. J.* 29, 448 - 453
- Todd, A. C., Kelley, G. W., Wyant, Z. N., Hansen, N. F., Hull, F. E., 1949.** Worm parasites in thoroughbred sucklings and weanlings. A survey of incidence, development and control. *Ky. Agric. Exp. Sta. Bull.*, 541, 24 pp
- Tolliver, S. C., Lyons, E. T., Drudge, J. H., Stamper, S., Granstrom, D. E., 1993.** Critical tests of thiabendazole, oxbendazole, and oxfendazole for drug resistance of population B equine small strongyles (1989 – 1990). *Am. J. Vet. Res.* 54, 908 - 913
- Traversa, D., Fichi, G., Campigli, M., Rondolotti, A., Iorio, R., Proudman, C. J., Pellegrini, D., Perrucci, S., 2008.** A comparison of coprological, serological and molecular methods for the diagnosis of horse infection with *Anoplocephala perfoliata* (Cestoda, Cyclophyllidae). *Vet. Parasitol.* 152, 271 - 277
- Traversa, D., Iorio, R., Klei, T. R., Kharchenko, V. A., Gawor, J., Otranto, D., Sparagano, O. A., 2007.** New method for simultaneous species-specific identification of equine strongyles (Nematoda Strongylida) by reverse line blot hybridisation. *J. Clin. Microbiol.* 45, 2937 - 2942
- Traversa, D., Iorio, R., Otranto, D., Giangaspero, A. Millilo, P., Klei, T. R., 2009.** Species-specific identification of equine cyathostomes resistant to fenbendazole and susceptible to oxbendazole by macroarray probing. *Exp. Parasitol.* 121, 92 - 95
- Traversa, D., Millillo, P., Barnes, H., Von Samson - Himmelstjerna, G., Schurmann, S., Demeler, J., Otranto, D., Lia, P. L., Perrucci, S., di Regalbono, F. A., Beraldo, P., Amodie, D., Rohn, K., Cobb, R., Boeckh, A., 2010.** Distribution and species - specific occurrence of cyathostomins (Nematoda, Strongylida) in naturally infected horses from Italy, United Kingdom and Germany. *Vet. Parasitol.* 168, 84 - 92
- Trawford, A. F., Burden, F., Hodgkinson, J. E., 2005.** Suspected moxidectin resistance in cyathostomes in two donkey herds at the Donkey Sanctuary, UK. In: *Proceedings of the 20th International Conference of the World Association for the advancement of Veterinary Parasitology*, Christchurch, New Zealand, 16 - 20 October 2005, 196 pp
- Uhlinger, C., Johnstone, C., 1985.** Prevalence of benzimidazole-resistant small strongyles in horses in a southeastern Pennsylvania practice. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 187, 1362 - 1366
- Uslu, U. Guclu, F., 2007.** Prevalence of endoparasites in horses and donkeys in Turkey. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 51, 237 - 240
- Van Rensburg, I. B., Volkmann, D. H., Soley, J. T., Stewart, C. G., 1991.** *Encephalitozoon* infection in a still-born foal. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 62, 130 - 132
- Varady, M., Konigova, A., Corba, J., 2000.** Benzimidazole resistance in equine cyathostomes in Slovakia. *Vet. Parasitol.* 94, 67 - 74
- Vávra, J., Larsson, J. I. R., 1999.** Structure of the microsporidia. In: *The microsporidia and microsporidiosis*. Wittner M., Weiss L. (Eds.). American Society of Microbiology Press, Washington D. C., 7 - 84

- Viana, L. P., 1999.** Migratory capacity of cattle parasites Strongylidae in nematode infective larvae, in different grasses (in Portuguese). MSc Thesis. Seropedica, R. J., Brasil., 61 pp
- Vojtková, M., Mezerová, J., Koudela, B., 2006.** Výskyt a klinický význam tasemnice *Anoplocephala perfoliata*. Veterinářství 56, 24 - 28
- Von Samson - Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schürmann, S., Rohn, K., Schneider, T., Epe, C., 2007.** Cases of reduced cyathostomin egg - reappearance period and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. Vet. Parasitol. 144, 74 - 80
- Wallace, K. D., Selcer, B. A., Tyler, D. E., 1989 b.** Transrectal ultrasonography of the cranial mesenteric artery of the horse. Am. J. Vet. Res. 50, 1699 - 1703
- Wasson, K., Peper, R. L., 2000.** Mammalian microsporidiosis. Vet. Pathol. 37, 113 - 128
- Weber, R., Deplazes, P., Schwartz, D., 2000.** Diagnosis and clinical aspects of human microsporidiosis, Contrib. Microbiol. 6, 166 - 192
- White, M. R., Crowell, W. A, Guy, B. L., 1988.** Cecocolic intussusception in a foal with *Eimeria leuckarti* infection. Equine Pract. 10, 15 - 18
- Williamson, R. M., Beveridge, I., Gasser, R. B., 1998.** Coprological methods of the diagnosis of *Anoplocephala perfoliata* infection of horse. Aust. Vet. J. 76, 618 - 621
- Wirtherle, N., Schneider, T., von Samson-Himmelstjerna, G., 2004.** The prevalence of benzimidazole resistance on German horse farms. Vet. Rec. 154, 39 - 41
- Woods, T. F., Lane, T. J., Zeng, Q. Y., Courtney, CH., 1998.** Anthelmintic resistance on horse farms in north central Florida. Equine Pract. 20, 14 - 17