

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Ing. Adéla Brožová

.....
Katedra zoologie a rybářství

Vliv anthelmintických návnad na prevalenci
***Echinococcus multilocularis* u lišek obecných v ČR**

Effect of anthelmintic baits on prevalence
of *Echinococcus multilocularis* at red fox in CR

.....
autoreferát doktorské disertační práce

Studijní program: Zootechnika

Studijní obor: Obecná zootechnika

Školitel: doc. Ing. Ivana Jankovská, Ph.D.
Katedra zoologie a rybářství

Oponenti: prof. RNDr. Vladimír Bejček, Csc (FŽP, ČZU)
doc. Ing. Ivana Knížková, Csc. (VÚŽV, Praha Uhřetěves)
Ing. Jan Urban, PhD. (SZU-CEM)

Obhajoba doktorské disertační práce se koná dne: 11. 9. 2015
v 10 hod. na: Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze

S doktorskou disertační prací je možno se seznámit na děkanátě FAPPZ
ČZU v Praze.

P r a h a 2 0 1 5

SUMMARY

In 2012 the tapeworm *Echinococcus multilocularis* in naturally infected red fox were investigated in selected regions of Karlovy Vary. A total of 34 foxes were examined and the areas with the highest prevalence of *Echinococcus multilocularis* in red foxes were Šemnice and Sedlečko. In cooperation with the State Veterinary Administration of the Czech Republic, it was found that the red foxes (*Vulpes vulpes*) are infected with this tapeworm *Echinococcus multilocularis*.

In 2013 from January to December, in areas with the highest prevalence (Šemnice and Sedlečko), delivery baits containing the anthelmintic (80 g of fish flesh with 50 mg Praziquantel-Drontal plus flavour) in an amount of 50 baits per km². Baits was delivery every month.

In 2014 the inspection was carried out investigations and subsequent comparison prevalence of tapeworm in the monitored areas between 2012 and 2014, ie. before and after the delivery of anthelmintic baits. The observed prevalence of *Echinococcus multilocularis* in foxes before delivery baits was 80 % (12/15), after delivery baits was 10.5 % (2/19).

Furthermore, an analysis of infected intestinal tissue foxes and foxes uninfected with *Echinococcus multilocularis* for determining the concentrations of selected elements (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn). Red foxes with this tapeworm *Echinococcus multilocularis* exhibited in the intestinal mucosa higher levels of the following elements: chromium (Cr), copper (Cu), iron (Fe), manganese (Mn), nickel (Ni), zinc (Zn). Conversely concentration primarily toxic elements (Cd and Pb) in the intestine infected red foxes with *Echinococcus multilocularis* was lower than in the intestine red foxes without this parasite.

OBSAH

1. PŘEHLED O SOUČASNÉM STAVU POZNÁNÍ	4
1.1. Obecná charakteristika ostatních druhů rodu měchožil (<i>Echinococcus</i>).....	4
1.2. Měchožil bublinatý (<i>Echinococcus multilocularis</i>).....	5
1.3. Návnady s anthelmintiky	7
1.4. Vliv tasemnic na koncentrace prvků/těžkých kovů v těle hostitele.....	8
2. VĚDECKÉ HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE	10
Hypotézy práce.....	10
Cíle práce	10
3. MATERIÁL A METODY	11
4. VÝSLEDKY A DISKUZE	13
4.1. Výskyt měchožila bublinatého (<i>Echinococcus multilocularis</i>) u lišek obecných (<i>Vulpes vulpes</i>) v České republice	13
4.2. Vliv návnad s anthelmintikem na prevalenci měchožila bublinatého (<i>Echinococcus multilocularis</i>) u lišek obecných (<i>Vulpes vulpes</i>) v České republice.....	15
4.3. Vliv tasemnice měchožila bublinatého (<i>Echinococcus multilocularis</i>) na obsah prvků ve tkáni tenkého střeva lišky obecné (<i>Vulpes vulpes</i>)	16
5. ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ PRO VYUŽITÍ POZNATKŮ V PRAXI NEBO PRO DALŠÍ ROZVOJ OBORU .	20
6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	21
7. SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA K ŘEŠENÉ PROBLEMATICE	28

1. Přehled o současném stavu poznání

1.1. Obecná charakteristika ostatních druhů rodu měchožil (*Echinococcus*)

Tasemnice rodu měchožil (*Echinococcus*) jsou drobné tasemnice šelem. Jejich larvy jsou známé jako hydatidy (metacestodní larvální stádia), které se množí nepohlavně u různých druhů savců (včetně lidí). Dle autorů Eckert and Deplazes (2004) druhy rodu měchožil (*Echinococcus*) způsobují tři onemocnění, která se vyskytují u lidí. Cystická echinokokóza (původce měchožil zhoubný), alveolární echinokokóza (původce měchožil bublinatý) a polycystická echinokokóza (původce *Echinococcus vogeli*, *Echinococcus oligarthrus*). Dospělé tasemnice rodu měchožil (*Echinococcus*) jsou obvykle menší než sedm mm, živí se střevním obsahem svého definitivního hostitele a nenapadají tkáň. K dokončení svého vývoje musí být metacestodní larvální stádium vyvinuté u mezihostitele pozřeno definitivním hostitelem. Epidemiologicky důležití mezihostitelé jsou vždy častou kořistí šelem, které v životním cyklu všech druhů rodu měchožil (*Echinococcus*) hrají roli definitivních hostitelů (Romig, 2003). V posledních desítkách let bylo pozorováno zvýšení populací lišek obecných (*Vulpes vulpes*) v městských a příměstských oblastech mnoha zemí severní polokoule. Díky tomu pronikla tasemnice měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) do městského prostředí a tím zvýšila riziko nákazy lidí. Pro toto možné zvýšení rizika onemocnění alveolární echinokokózou je velmi důležité zhodnotit kontrolní a intervenční strategie. Taxonomie rodu měchožil (*Echinococcus*) je kontroverzní kvůli nedostatečným popisům a sympatrickým výskytům druhů a poddruhů. V minulosti bylo popsáno celkem 16 druhů a 13 poddruhů. Do nedávna byly všeobecně přijaty jako platné taxony pouze čtyři druhy, jmenovitě: měchožil zhoubný (*Echinococcus granulosus*), měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*), *Echinococcus oligarthrus* a *Echinococcus vogeli* (Kumaratilake and Thompson, 1982; Rausch and Bernstein, 1972). V minulém desetiletí byly objeveny/popsány dva nové druhy. Na Tibetské náhorní plošině (Qinghai-Tibet Plateau) byl objeven druh *Echinococcus shiquicus* u lišky horské-definitivní hostitel a pišťuchy černolící-mezihostitel. Druhým objeveným/popsaným druhem byl *Echinococcus felidis* parazitující u lvů, jehož zoonotický potenciál však zatím není znám (Xiao et al., 2005, 2006; Hüttner et al., 2008).

Dospělá tasemnice měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) dosahuje délky dva – šest mm a obvykle mívá tři články těla (Thompson, 1995). Onemocnění způsobené měchožilem zhoubným (*Echinococcus granulosus*) se nazývá cystická echinokokóza/hydatidóza. Toto onemocnění je způsobeno metacestodním larválním stádiem (hydatidou) různých kmenů či genotypů komplexu *Echinococcus granulosus* (Eckert and Deplazes, 2004). Onemocnění způsobené touto tasemnicí postihuje dva – tři miliony lidí, kteří žijí v endemických oblastech

severní a jižní Ameriky, Evropy, Afriky a Asie (Cummings et al., 2009). Životní cyklus měchožila zhoubného (*Echinococcus granulosus*) zahrnuje psy a ostatní psovité šelmy jako definitivní hostitele pro dospělé tasemnice, a domestikované a divoce žijící kopytníky jako mezihostitele pro metacestodní larvální stádia (Thompson, 1995). V minulosti bylo pomocí molekulárních studií, hlavně díky sekvencím mitochondriální DNA, identifikováno 10 genotypů či kmenů (G1 – G10) u druhů *Echinococcus granulosus* sensu lato (Bowles et al., 1995; Ito et al., 2007; Lavikainen et al., 2003; McManus and Thompson, 2003; Scott et al., 1997) a také lví kmen *Echinococcus felidis* (Hüttner et al., 2008).

Výskyt tasemnice *Echinococcus vogeli* je omezen na střední a jižní Ameriku (Eckert and Deplazes, 2004). Délka těla tasemnice *Echinococcus vogeli* se pohybuje v rozmezí 3,9 – 5,6 mm a obvykle má tři články těla (Thompson and McManus, 2001; Rausch and Bernstein, 1972).

Echinococcus vogeli je zachováván v životním cyklu, který zahrnuje psa pralesního (*Speothos venaticus*) jako přirozeného definitivního hostitele a hlodavce paku (*Cuniculus paca*) a aguti (*Dasyprocta* spp.) jako mezihostitele (D'Alessandro and Rausch, 2008; D'Alessandro et al., 1981).

Tasemnice *Echinococcus oligarthrus* je také omezená výskytem na střední a jižní Ameriku. Délka těla této tasemnice se pohybuje v rozmezí 2 – 3 mm a obvykle má tři články těla (Obr. 7). Mezi definitivní hostitele tasemnice *Echinococcus oligarthrus* patří divoké kočkovité šelmy Střední a Jižní Ameriky. Označení *Echinococcus oligarthrus* je pravděpodobně nesprávné a mělo by být změněno na *Echinococcus oligarthra* (Hüttner and Romig, 2009; Nakao et al., 2013).

V Číně (region Qinghai-Tibet) byla nalezena v roce 2005 tasemnice *Echinococcus shiquicus*. Dospělý jedinec byl nalezen pouze u lišky horské (*Vulpes ferrilata*), larvální stádium bylo nalezeno pouze u pišťuchy černolící (*Ochotona curzoniae*). U lidí zatím nebyla identifikovaná infekce způsobená touto tasemnicí (Xiao et al., 2005, 2006).

1.2. Měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*)

Thompson and McManus (2001) uvádějí, že se dospělá tasemnice *Echinococcus multilocularis* vyznačuje malou velikostí (1,2 – 4,5 mm) s průměrným počtem pět tělních článků. Dospělá tasemnice měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) žije převážně v kaudální třetině tenkého střeva definitivního hostitele. Ve střední Evropě je životní cyklus tasemnice *Echinococcus multilocularis* převážně sylvatický, zahrnující lišku obecnou (*Vulpes vulpes*) jako definitivního hostitele a různé druhy hlodavců jako mezihostitele (Eckert, 1996). Staebler et al. (2007) uvádí, že ve střední Evropě jsou nejběžnější mezihostitelé *Echinococcus multilocularis* hraboš polní (*Microtus arvalis*), hryzec vodní (*Arvicola terrestris*) a norník rudý (*Clethrionomys glareolus*). Eckert et al. (2001) uvádějí, že lidé, domestikovaná a divoká prasata, koně, psi a opice

byli popsáni jako odchylní hostitelé, kteří se mohou náhodně nakazit vajíčky měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*). Pozřené vajíčko mezihostitelem obsahuje larvu (onkosféru), která se uvolňuje v gastrointestinálním traktu a posléze se po penetraci střešní mukózy dostává do krevního oběhu, kterým migruje primárně do jater, kde se vyvíjí. Zdrojem růstu jsou tzv. zárodečné buňky, z nichž vznikají jednak zárodky tasemnic (protoskolexy) a jednak tzv. laminární membrána, která slouží ochraně parazita (Lenská a Svobodová, 2003). Schantz et al. (1995) a Eckert et al. (2000) uvádějí, že geografické rozšíření měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) je omezeno na palearktické oblasti severní polokoule sahající od střední Evropy přes severní a střední Eurasii k Dálnému východu, včetně Japonska, k Severní Americe (Aljaška, Kanada, severní a střední USA). První výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) byl v České republice (okres Klatovy) zjištěn při vyšetřování lišek mezi lety 1997 – 1999 (Martinek et al., 2001). Nedávno byl měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) identifikován u lišek ve Švédsku. Je přítomný také v Bělorusku, Ukrajině a Rusku, ale nikdy nebyl nalezen ve Finsku, Irsku, Velké Británii, Islandu, Španělsku, Portugalsku a Maltě (EFSA, 2012; Romig et al., 2006). V posledních desetiletích se vyskytl fenomén přítomnosti měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u zvířat v zoologických zahradách, která byla často krmena pouze komerčně prodávaným krmivem a chována v ubikacích, které by neměly být přístupné pro lišky. Dva takové případy byly potvrzeny i v zoo v Plzni na území České republiky. Prvním případem byl samec lemura katy (*Lemur catta*). Druhým případem v zoo v Plzni byl dikobraz srstnatonosý (*Hystrix indica*). Histologické vyšetření diagnostikovalo larvální stádium měchožila bublinatého (Pokorný et al., 2013). Lidé a jiní savci jako náhodní hostitelé, kteří nemají roli v přenosu parazita, mohou být také infikováni. Potenciální zdroj onemocnění pro člověka představují zejména psi a kočky, kteří mají možnost lovit hlodavce, pohybující se v oblastech, kde probíhá životní cyklus měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), a žijí v těsném kontaktu s člověkem. Experimentální studie prokázaly vyšší vnímavost k infekci touto tasemnicí u psů než u koček (Crellin et al., 1981; Kamiya et al., 1985; Kamiya et al., 1986). Získané údaje z Evropy ukázaly, že aktivity spojené se zemědělstvím zvyšují riziko infekce alveolární echinokokózou (Kern et al., 2003). První případ v České republice byl popsán v roce 1979 na Klatovsku (Martínek et al., 2001). Nynější strategie léčby pro člověka infikovaného alveolární echinokokózou se skládá z chirurgických opatření doplněných o chemoterapii sloučeninou benzimidazolu (Ammann and Eckert, 1996). Diagnostika alveolární echinokokózy je možná pomocí zobrazovacích metod (ultrasonografie, CT) a také mikroskopickým vyšetřením histologicky zpracovaného biotátu po obarvení hematoxylinem-eosinem nebo PAS metodou, kterou se intenzivně barví laminární membrána obsahující velké množství sacharidů (Lenská a Svobodová, 2003). Dle Eckerta (2003); Reiterové et al. (2005) nejběžnějšími technikami

pro diagnostiku dospělého stádia je technika sedimentace a počítání (The sedimentation and counting technique – SCT) a technika střevního seškrabu (The intestinal scraping technique – IST).

1.3. Návnady s anthelmintiky

V posledních desítkách let bylo pozorováno zvýšení populací lišek v městských a příměstských oblastech mnoha zemí severní polokoule. Díky tomu pronikl měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) do městského prostředí a tím zvýšil riziko nákazy lidí. Pro toto možné zvýšení rizika onemocnění alveolární echinokokózou je velmi důležité zhodnotit kontrolní a intervenční strategie (Deplazes et al., 2002; Hegglin et al., 2003).

První pokusný experiment na podávání návnad s anthelmintikem byl proveden v jihozápadním Německu, při kterém bylo dosaženo snížení prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných z počáteční prevalence 32 % na 4 % díky a to díky šesti návnadovým kampaním, které byly uskutečněny během 14 měsíců. Návnady s praziquantelem se podávaly v počtu 15 – 20 ks/km² v oblasti o rozloze 566 km² (Schelling et al., 1997).

Výskytu měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) na území České republiky je věnována zvýšená pozornost již od roku 1994 prostřednictvím Státního veterinárního ústavu v Praze (SVÚ) a Státní veterinární správy (SVS) České republiky.

Antalová et al. (2006) v roce 2004 – 2005 provedli výzkum na zhodnocení vlivu návnad s anthelmintiky na výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) na Slovensku, v regionu Prešov (region s druhou největší prevalencí měchožila bublinatého). Návnady byly podávány ve dvou oblastech (B1 a B2) v množství 20 návnad na km² jednou za měsíc v období od srpna 2004 do dubna 2005. Vzorky výkalů lišek byly ve stejnou dobu sbírány a kontrolovány z obou oblastí. V oblasti B1 bylo zjištěno snížení počtu těchto tasemnic. V oblasti B2 nebylo zaznamenáno žádné snížení, pravděpodobně díky požití návnad divokými prasaty. Autoři studie potvrzují možnost snížení prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*), zvláště v malých oblastech. Nicméně dodávají, že tato forma strategie se zdá být nevhodnou do oblastí, kde se vyskytuje vysoký počet všežravých zvířat (zvláště divokých kanců).

Další podobnou studii o podávání návnad s anthelmintiky provedli Comte et al. (2013). V období od srpna 2006 do března 2009 proběhlo 14 kampaní podávání návnad s praziquantelem v obcích Annemasse a Pontarlier (východní Francie). Každá z nich probíhala na rozloze 33 km² s hustotou podávání 40 návnad/km². Spotřeba návnad se zdála být nižší v prostorách města oproti předměstským oblastem (78 % oproti 93,4 %) a nižší v obci Annemasse než v obci Pontarlier (82,2

% vs 89,5 %). Díky fotopastím zjistili, že kromě lišek pozřeli návnady druhy jako kuna skalní (*Martes foina*), pes domácí (*Canis lupus familiaris*) a ježek (*Erinaceus* sp.)

V další studii autoři Hegglin et al. (2004) podnikli výzkum v Curychu ve Švýcarsku na zjištění příjmu návnad liškami za použití fotopastí. Návnady byly dvojího typu: první obsahovaly praziquantel, druhé byly bez praziquantelu. Byly umístěny v různých uspořádáních (odkryté, zakryté, zahrabané), v různých lokalitách (liščí doupata, komposty, liščí stezky) a v různých ročních obdobích (rané léto, léto, zima). Hlavní aktivitu u umístěných návnad měly kočky, lišky a různé druhy ptáků. Během prvních tří dní zmizelo 91 návnad (36,1 %), z toho polovina byla odnesena liškami (44/91). Ostatní návnady byly zkonsumovány ježky (*Erinaceus europaeus*), psy, hlodavci (*Apodemus* sp.) a plzáky (*Arion* sp.). Dále zjistili, že lišky odnesly výrazně více návnad během léta oproti zimě. Způsob umístění neměl výrazný vliv na odnesení návnad liškami.

Ve všech těchto zmíněných studiích byla po podání návnad zjištěná snížena prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) a tím se ukázalo, že v případě endemických oblastí je tato metoda účinnou strategií.

1.4. Vliv tasemnic na koncentrace prvků/těžkých kovů v těle hostitele

Parazity lze využívat k odhadu kvality prostředí (bioindikátory). Tasemnice jsou široce rozšířené a běžní paraziti savců, jsou snadno identifikovatelné a poskytují dostatek tkáně pro analýzu těžkých kovů. Tasemnice s relativně velkým povrchem těla by s ohledem k jejich hmotnosti mohly dosáhnout vysokých biokoncentračních faktorů (BF), a tudíž by mohly být teoreticky považovány za potenciální dobrý bioindikátor. Na druhou stranu opak by měl být předpokládán pro tasemnice s malým povrchem těla (s malou hmotností) bez ohledu na jejich schopnost absorbovat olovo a z toho vyplývající detoxikační efekt pro hostitele (Torres et al., 2006). Autoři Riggs et al. (1987) a Sures et al. (1997) uvádějí, že těžké kovy se koncentrují především v gravidních člancích tasemnic. Tudíž v případě použití ne gravidních tasemnic nebo částí tasemnic bez dostatečné homogenizace nemusí výsledky odrážet úroveň znečištění zjištěnou v prostředí. Tasemnice s nižší hmotností těla mají relativně větší povrch těla oproti větším zástupcům, tudíž v jednotce hmotnosti (mg/kg, popř. µg/g) je vyšší koncentrace sledovaného prvku.

V prostředí, kde nelze využívat potkany, musí být jako akumulující indikátoři využíváni endohelminthi hostitelů, kteří se v takových oblastech přirozeně vyskytují. Velmi hojný druh hlodavce žijící jak v zemědělské krajině, tak na okraji lesních porostů, ale také ve vesnicích i městech, je myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*), která je ve většině případů napadena tasemnicemi. Autoři Torres et al. (2004) testovali vhodnost myšic a jejich tasemnic z čeledi Anoplocephalidae (*Gallegoides arfaai*) jako sentinelových organismů (bioindikátorů) pro olovo

a kadmium v přirozených podmínkách. U této tasemnice autoři zjistili 6, 20 a 24 krát více olova než v ledvinách, játrech a svalovině hostitele myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*) z nepříliš znečištěných oblastí Katalánska. Model myšice lesní (*Apodemus sylvaticus*) a *Gallegoides arfaai* splňoval některá kritéria pro bioindikátory znečištění prostředí těžkými kovy, podobně jako model potkan obecný (*Rattus norvegicus*) a tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*). Podobně model myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*) a tasemnice *Skrjabinotaenia lobata* (Catenotaeniidae) z městské skládky ve Španělsku popisují autoři Torres et al. (2006) jako vhodný pro akumulaci olova, méně vhodný pro kadmium.

Jankovská et al. (2010a) zjistili, že koncentrace těchto prvků (Pb, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn) byla vyšší v tasemnicích *Mesocestoides* spp. oproti koncentraci v játrech a ledvinách infikovaných lišek obecných (*Vulpes vulpes*). Koncentrace kadmia (Cd) v parazitech (*Mesocestoides* spp., škrkavka šelmí-*Toxascaris leonina*) byla srovnatelná s koncentrací kadmia v játrech, ale nižší oproti koncentraci v ledvinách. Koncentrace olova (medián) v tasemnicích *Mesocestoides* spp. byla 52 krát vyšší než koncentrace olova v ledvinách a v játrech lišky obecné, která byla infikována oběma parazity (*Mesocestoides* spp., *Toxascaris leonina*). Koncentrace olova ve škrkavce šelmí (*Toxascaris leonina*) byla 8 krát vyšší než v tkáních infikovaných lišek. Výrazné snížení koncentrace olova bylo zjištěno v ledvinách lišek, které byly infikované škrkavkou šelmí (*Toxascaris leonina*) stejně jako u lišek infikovaných tasemnicí *Mesocestoides* spp. ve srovnání s koncentrací olova v ledvinách neinfikovaných lišek.

Ve studii Jankovské et al. (2012) se zjišťoval vliv olova (Pb) na absorpci mědi (Cu), železa (Fe), manganu (Mn), zinku (Zn) ovcemi, které byly infikované tasemnicí ovčí (*Moniezia expansa*). Tasemnice v tenkém střevě ovcí, kterým byly per os podávány denně 2g olova po dobu sedmi dnů, měly výrazně vyšší koncentraci olova oproti jeho koncentraci v tkáních ovcí (játra, ledviny, svaly). Koncentrace mědi se po podání olova ovcím výrazně zvýšila ve svalech a v tasemnicích ovčích (*Moniezia expansa*). Koncentrace zinku se výrazně snížila v ovčích svalech, ale výrazně se zvýšila koncentrace v tasemnicích ovčích (*Moniezia expansa*). U ovcí, kterým bylo podáváno olovo, byla zjištěna nižší koncentrace železa v jejich játrech a ledvinách ve srovnání s ovcemi, kterým olovo podáváno nebylo.

2. Vědecké hypotézy a cíle práce

Hypotézy práce

H1: Většina lišek obecných (*Vulpes vulpes*) v České republice je napadena měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*)

H2: Návnady s anthelmintiky snižují prevalenci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v populaci lišek

H3: Tasemnice měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) ve střevě lišek ovlivňuje zastoupení jednotlivých prvků ve střevní sliznici.

Cíle práce

a) Zjistit s pomocí Státní veterinární správy napadení lišek obecných v České republice měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*).

b) Sledovat prevalenci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) ve vybraných lokalitách České republiky a objasnit vliv návnad s anthelmintiky na snížení prevalence této tasemnice v České republice.

c) Zjistit, zda měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) ovlivňuje koncentraci těžkých kovů ve střevní tkáni definitivního hostitele.

3. Materiál a metody

3.1. Původ lišek a helmintologická pitva

Pro tuto práci byly získávány střevní trakty lišek obecných (*Vulpes vulpes*) z Karlovarského kraje z osmi oblastí. Jmenovitě: Sedlečko, Šemnice, Bor, Stráň, Nejda, Mořičov, Velichov a Ostrov. Helmintologická pitva a veškeré následné vyšetřování probíhalo v laboratořích KZR/FAPPZ/ČZU. Při helmintologické pitvě se ze zažívacích traktů lišek odebíralo tenké střevo (obr. 16, 17), které bylo následně rozdělováno na tři části. Z těchto tří částí tenkého střeva byl odebírán střevní obsah. Navíc se ještě vrstva střevní sliznice seškrabovala do velké Petriho misky s vodou a poté byla přelívána do skleněné nádoby se zúženým dnem.

Obsah se nechával vždy jednu hodinu sedimentovat a poté byla ze skleněné nádoby odsávána přebytečná tekutina a následně znovu doplňována fyziologickým roztokem za účelem dosažení maximálně možné čistoty – aby bylo možné střevní obsah prohlížet pod mikroskopem. Z těchto obsahů bylo vyšetřeno průměrně 20 ml vzorku, což odpovídá 8 % průměrného celkového objemu.

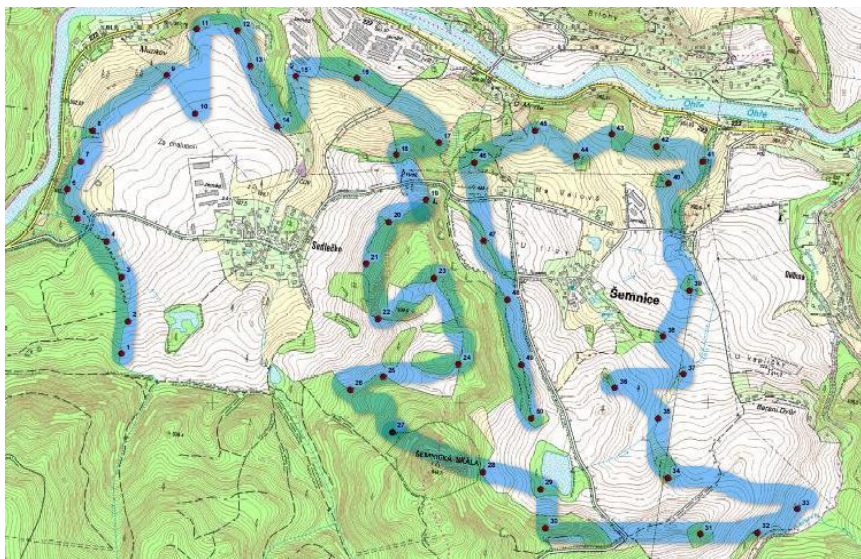
3.2. Mikroskopická analýza

Ze získaného obsahu byla zjišťována přítomnost měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v obsahu tenkého střeva lišek, zda lišky byly pozitivní, nebo negativní na výskyt této tasemnice. Z pozitivního obsahu se vybírali jednotlivé tasemnice rodu měchožil (*Echinococcus*), které byly následně měřeny a foceny pod mikroskopem Olympus CX 21 a mikroskopem Olympus BX 21 pro přesnou druhovou diagnostiku těchto tasemnic a pro zjištění nejvíce pozitivní oblasti na výskyt tohoto parazita u lišek.

3.3. Podávání návnad s anthelmintiky

Každý měsíc (leden – prosinec 2013) byly na lokalitě v Karlovarském kraji s nejvyšší prevalencí *Echinococcus multilocularis* v liščí populaci rozmísťovány návnady obsahující anthelmintikum Praziquantel (50 ks na 1 km²). V jedné návnadě bylo obsaženo 50 mg látky Praziquantelu (Drontal). Příprava návnad zahrnovala rozmixování 100 g rybího masa, do kterého byla vmíchána účinná látka proti tasemnicím Praziquantel. Doporučená dávka této látky je zpravidla 5 mg/kg živé hmotnosti. Do návnad byl používán Praziquantel ve formě tablet Drontalu od firmy Bayer, které se před vmícháním do rybího masa rozdrtily v hmoždíři. Jedna tableta obsahovala 50 mg Praziquantelu, tj. dávka na 10 kg živé hmotnosti, tj. jedna liška 5 – 10 kg. Jelikož Šemnice a Sedlečko leží vedle sebe v těsné blízkosti, vznikla dohoda s Ing. Matějů z fakulty

lesnické a dřevařské, který na základě ní rozmisťoval návnady v obou oblastech. Poloha rozmístění návnad je k nahlédnutí na následující mapce (obr. 1).



Obr. 1. Mapa rozmisťování návnad s anthelmintikem v Karlovarském kraji (Šemnice, Sedlečko).

(Zdroj: zpracoval Ing. Matějů)

3.4. Zjištění koncentrace prvků ve střevní sliznici

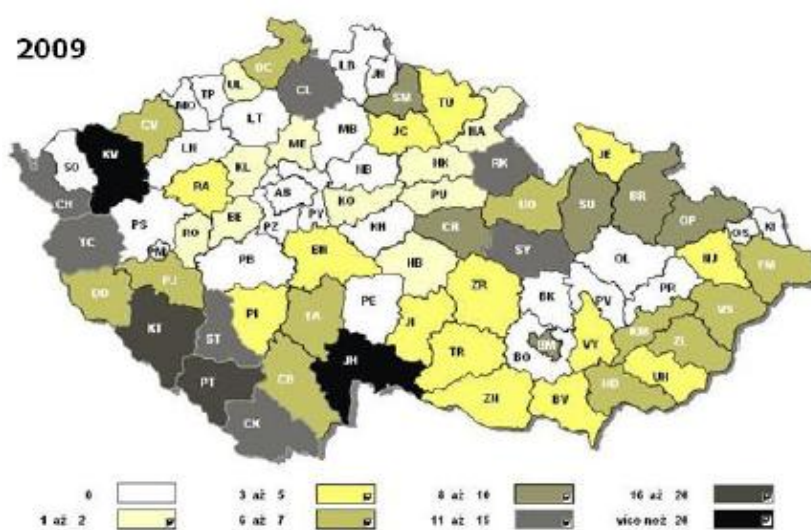
Vyšetřované lišky pocházely z oblastí Karlovarského kraje (Bražec, Stráň, Mořičov, Nejda). Lišek bylo celkem dvanáct z toho šest samců a šest samic. Z těchto lišek bylo odebráno tenké střevo, které bylo následně uskladněno v mrazicím boxu v -80°C po dobu jednoho měsíce. Poté bylo tenké střevo podrobena helmintologické pitvě, při které bylo rozděleno na tři části, a z každé části byl získán střevní obsah. Obsah byl následně vyšetřen pomocí mikroskopické analýzy pro zjištění výskytu tasemnic rodu *Echinococcus*. Z dvanácti lišek jich bylo na výskyt tasemnice měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) šest pozitivních (tři samci a tři samice) a šest negativních (tři samci a tři samice).

Z takto vyšetřených lišek byl odebrán 1 g tenkého střeva, který byl následně podroben analýze na zjištění koncentrace chemických prvků Pb, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni a Zn. Před vlastní analýzou byly vzorky tkání lyofilizovány a mineralizovány dle Mader and Čurdová (1997) za pomoci následujícího vybavení: mikrovlnná pec Ethos 1 (Milestone, Německo) a mineralizátor Apion (Česká republika). Analýza obsahu prvků proběhla v laboratořích Katedry chemie, FAPPZ za využití metody Atomové absorpční spektroskopie s elektrotermickou atomizací (GF-AAS) pomocí přístroje VARIAN AA280Z (Varian, Austrálie), vybaveným kyvetovou hlavou (grafitovým plamenovým atomizérem) GTA-110Z (Cd, Cr, Cu, Ni a Pb). Prvky Mn a Zn byly analyzovány metodou ICP-OES na přístroji Varian-Vista.

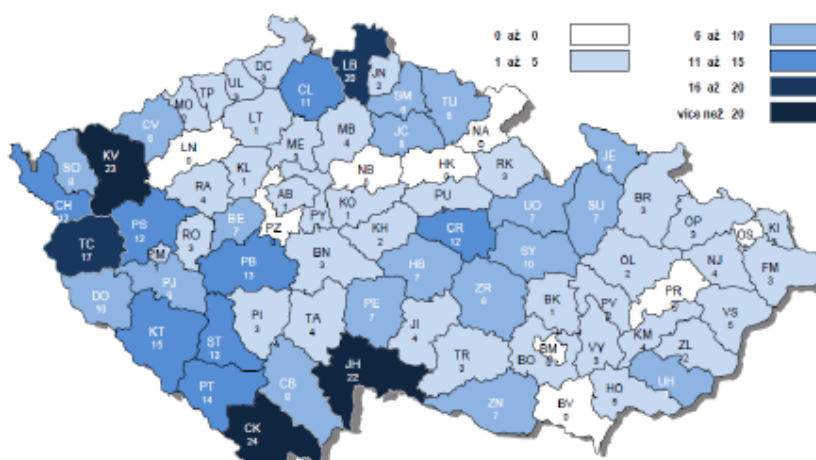
4. Výsledky a diskuze

4.1. Výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) v České republice

Ve spolupráci se Státní veterinární správou České republiky bylo zjištěno, že je většina lišek obecných (*Vulpes vulpes*) infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*). Na obr. č. 2. a 3 můžete vidět rozšíření této tasemnice v jednotlivých okresech České republiky v roce 2009 ve srovnání s rozšířením v roce 2011. Je zde viditelné zvýšení rozšíření této tasemnice u lišek obecných.



Obr. 2. Rozšíření měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) v České republice v roce 2009. (Zdroj: Státní veterinární správa).



Obr. 3. Rozšíření měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) v České republice v roce 2011. (Zdroj: Státní veterinární správa).

V roce 2009 nebyl prokázán výskyt měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) ve 23 okresech. Okresy s nejvyšší prevalencí byly dva a to Karlovy Vary a Jindřichův Hradec. Oproti tomu v roce 2011 se jeho rozšíření zvětšilo, a okresy ve kterých výskyt této tasemnice u lišek nebyl prokázán, bylo již jen devět, jmenovitě: Louny, Praha západ, Nymburk, Hradec Králové, Náchod, Brno město, Břeclav, Přerov, Ostrava.

S tím korespondují výsledky, které byly získány helmintologickou pitvou střevních traktů lišek obecných (*Vulpes vulpes*) pocházejících z Karlovarského kraje. Vyšetřované lišky (tab. č. 1) pocházely z osmi oblastí Karlovarského kraje. Celkem bylo vyšetřeno 34 lišek, z toho 15 jich bylo z oblastí, kde se od ledna do prosince roku 2013 podávaly návnady s anthelmintikem praziquantem. Bylo zjištěno, že oblasti s nejvyšší prevalencí měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) v Karlovarském kraji jsou dvě, a to sice Šemnice a Sedlečko. Obě tyto oblasti se nacházejí vedle sebe, a z toho důvodu se návnady s anthelmintiky rozmísťovaly v obou těchto oblastech.

Číslo	Označení lišky a pohlaví	Oblast výskytu	Výskyt měchožila bublinatého (<i>Echinococcus multilocularis</i>)	Datum odstřelu
1	F0038	KV Sedlečko	P	27. 2. 2010
2	F0076	KV Sedlečko	P	4. 3. 2012
3	F0078	KV Sedlečko	P	7. 10. 2011
4	M0034	KV Sedlečko	P	11. 1. 2010
5	F0029	KV Šemnice	P	27. 1. 2011
6	F0032	KV Šemnice	P	9. 2. 2011
7	F0033	KV Šemnice	P	8. 2. 2011
8	F0030	KV Šemnice	N	26. 1. 2011
9	F0028	KV Šemnice	N	24. 1. 2011
10	M0041	KV Šemnice	P	29. 1. 2011
11	M0040	KV Šemnice	N	23. 1. 2011
12	M0042	KV Šemnice	P	1. 2. 2011
13	M0043	KV Šemnice	P	2. 2. 2011
14	M0045	KV Šemnice	P	17. 1. 2010
15	F0037	KV Šemnice	P	10. 1. 2011
16	F0079	KV Mořičov	N	31. 1. 2012
17	F0036	KV Mořičov	N	10. 12. 2010
18	F0035	KV Mořičov	N	10. 12. 2010
19	M0049	KV Mořičov	N	3. 12. 2010
20	M0035	KV Mořičov	N	9. 1. 2010
21	F0025	KV Mořičov	N	9. 1. 2010
22	F0024	KV Mořičov	N	21. 11. 2010
23	F0026	KV Nejda	N	26. 12. 2009

24	M0037	KV Nejda	N	26. 12. 2009
25	M0047	KV Nejda	P	2. 12. 2010
26	M0032	KV Nejda	N	26. 11. 2010
27	M0031	KV Nejda	N	27. 11. 2010
28	M0033	KV Bor	P	9. 10. 2010
29	M0077	KV Bor	N	30. 11. 2011
30	M0038	KV Stráň	P	19. 1. 2011
31	F0048	KV Stráň	N	20. 10. 2010
32	F0023	KV Ostrov nad	N	25. 11. 2010
33	M0022	KV Ostrov nad	N	27. 11. 2010
34	M0031	KV Velichov	N	14. 12. 2010

Tab. č. 1. Přehled lišek obecných (*Vulpes vulpes*) zastřelených v KV. Zkratky: EM – *Echinococcus multilocularis*; KV – Karlovarský kraj; P – pozitivní; N – negativní.

4.2. Vliv návnad s anthelmintikem na prevalenci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) v České republice

V tabulce č. 2 jsou uvedeny lišky obecné (*Vulpes vulpes*), které byly ve sledované oblasti zastřelené a vyšetřené po ročním podávání návnad s anthelmintiky. Zjištěná prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) byla před podávání návnad 80 % (12/15). Zjištěná prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) byla po podávání návnad 10,5 % (2/19). To ve srovnání s prevalencí před podáváním návnad ukazuje výrazné snížení. Těmto výsledkům odpovídají i studie prováděné např. Schelling et al. (1997); Tsukada et al. (2002); Heglin et al. (2003, 2004); Romig et al. (2007); Antolová et al. (2006); König et al. (2008); Comte et al. (2013), kdy se zjistilo, že po podávání návnad ve městech či vesnicích se prevalence této tasemnice snížila a jedná se tudíž o důležitou kontrolní strategii, která by mohla pomoci v endemických oblastech.

Číslo	Označení lišky a pohlaví	Oblast výskytu	Výskyt měchožila bublinatého (<i>Echinococcus multilocularis</i>)	Datum odstřelu
1	M0146	Šemnice	N	18. 1. 2014
2	F0114	Šemnice	N	26. 1. 2014
3	F0115	Šemnice	N	29. 1. 2014
4	F0116	Sedlečko	N	31. 1. 2014
5	F0117	Šemnice	P	2. 2. 2014

6	F0118	Sedlečko	P	7. 2. 2014
7	M0150	Sedlečko	N	19. 2. 2014
8	M0151	Šemnice	N	23. 4. 2014
9	M0154	Šemnice	N	28. 5. 2014
10	M0155	Sedlečko	N	6. 6. 2014
11	F0124	Šemnice	N	13. 6. 2014
12	M0157	Šemnice	N	24. 6. 2014
13	F0126	Sedlečko	N	2. 7. 2014
14	M0159	Sedlečko	N	16. 7. 2014
15	M0160	Sedlečko	N	16. 7. 2014
16	M0161	Sedlečko	N	28. 8. 2014
17	F0128	Sedlečko	N	6. 10. 2014
18	M0162	Šemnice	N	6. 12. 2014
19	M0163	Šemnice	N	8. 12. 2014

Tab. 2. Přehled vyšetřených lišek obecných po ročním podávání návnad s anthelmintiky

4.3. Vliv tasemnice měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) na obsah prvků ve tkáni tenkého střeva lišky obecné (*Vulpes vulpes*)

Přítomnost střevních helmintů (Cestoda, Acantocephala) ovlivňuje koncentraci prvků/těžkých kovů v tkáni definitivního hostitele (Sures and Siddall, 1999; Sures et al., 2002; 2003). Je známo, že tkáně parazitovaných živočichů mají nižší obsahy těžkých kovů než tkáně nenapadených jedinců parazity (Jankovská et al., 2008; 2009; 2010a, 2010b; Sures et al., 2000; 2002; 2003).

Jak je zřejmé z tabulek č. 5 a 6, průměrný obsah (mg/kg čerstvé hmotnosti) kadmia (Cd) a olova (Pb) byl u lišek infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) znatelně nižší než tomu bylo u lišek neinfikovaných touto tasemnicí. Průměrný obsah ostatních prvků (Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) byl u infikovaných lišek touto tasemnicí nepatrně vyšší než tomu bylo u lišek neinfikovaných. Z toho vyplývá, že tasemnice měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) ovlivňuje koncentrace prvků/těžkých kovů v těle svého definitivního hostitele. Lze usuzovat, že měchožil bublinatý (*Echinococcus multilocularis*) u infikovaných lišek odebírá určitou část toxických kovů/prvků kadmia a olova. Tomu odpovídají výzkumy ostatních autorů (Jankovská et al., 2010a, 2010b; Sures et al., 2002).

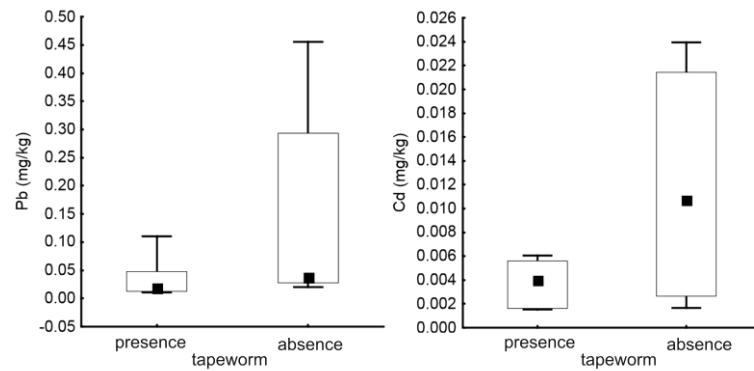
Prvky	Průměrné obsahy	Medián
Pb	0,2014	0,0288
Cd	0,0077	0,0052
Cr	0,0147	0,0116
Cu	0,3619	0,3205
Fe	11,64	10,89
Mn	0,2177	0,2029
Ni	0,0713	0,0640
Zn	20,33	20,25

Tab. č. 3. Průměrné obsahy a medián jednotlivých prvků (mg/kg čerstvé hmotnosti) v tenkém střevě lišek obecných infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*)

Prvky	Průměrné obsahy	Medián
Pb	0,7092	0,0413
Cd	0,0118	0,0106
Cr	0,0107	0,0087
Cu	0,3132	0,2677
Fe	8,31	6,46
Mn	0,2062	0,1966
Ni	0,0473	0,0415
Zn	16,33	16,71

Tab. č. 4. Průměrné obsahy a medián jednotlivých prvků (mg/kg čerstvé hmotnosti) v tenkém střevě lišek obecných neinfikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*)

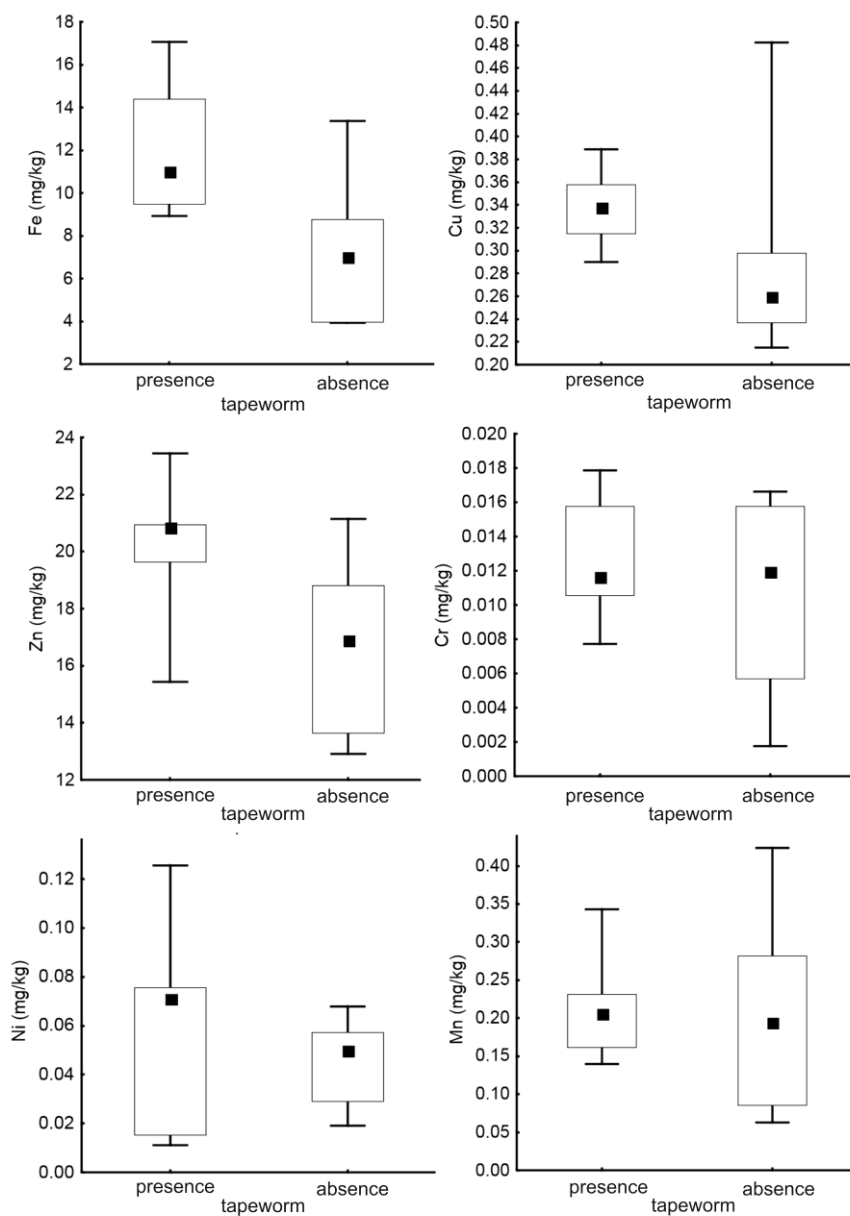
Těmto výsledkům odpovídají i studie prováděné např. Sures et al. (2002) či Sures et al., (2003), kteří prováděli podobné výzkumy na zjištění obsahů olova u laboratorních potkanů (*Rattus norvegicus*) napadených tasemnicí krysí (*Hymenolepis diminuta*). Námi naměřené hodnoty u olova (Pb) a kadmia (Cd) činily u napadených/nenapadených zvířat měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*): Pb –0,0288/0,0413, Cd –0,0052/0,0106 (graf. č. 1).



Graf. 1. Rozdíly mezi koncentracemi toxických kovů olova a kadmia (Pb a Cd) v tkáních tenkého střeva lišek infikovaných („presence“) a neinfikovaných („absence“) měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*). Graf představuje následující hodnoty: černá značka – medián, box – 25-75%, „vousy“ – min-max.

Naopak zvířata infikovaná měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) vykazovala ve sliznici tenkého střeva lišek obecných (*Vulpes vulpes*) vyšší koncentraci následujících prvků (infikovaná/neinfikovaná): chrom (Cr) – 0,0116/0,0087, měď (Cu) – 0,3205/0,2677, železo (Fe) – 10,89/6,46, mangan (Mn) – 0,2029/0,1966, nikl (Ni) – 0,064/0,0415, zinek (Zn) – 20,25/16,71 (graf. č. 2).

Vzhledem ke skutečnosti, že hodnoty získané od lišek napadených měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) nelze s ničím porovnávat, jelikož doposud na tuto problematiku nebyly vedeny žádné studie. Tak se zde naskýtá relativně široká škála možností dalšího výzkumu.



Graf. 2. Rozdíly mezi koncentracemi prvků (Fe, Cu, Zn, Cr, Ni a Mn) u lišek infikovaných („presence“) a neinfikovaných („absence“) měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*). Graf představuje následující hodnoty: černá značka – medián, box – 25-75%, „vousy“ – min-max

5. Závěry a doporučení pro využití poznatků v praxi nebo pro další rozvoj oboru

Podle epidemiologických údajů jsou rizikové faktory lidské alveolární echinokokózy: vlastnictví psa či kočky, myslivost, zemědělská činnost, zahradničení a pozření jídla kontaminovaného vajíčky měchožila (*Echinococcus*). V některých městech, kde byl potvrzen výskyt lišek, byly uskutečněny studie na podávání návnad s anthelmintiky těmto liškám a ukázalo se, že podávání návnad s anthelmintikem snižuje prevalenci měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), a může se proto stát účinným nástrojem pro jeho snižování v endemických oblastech.

Kromě otestování účinnosti návnad s anthelmintiky (Praziquantel) jako způsobu boje proti této nebezpečné tasemnici v ČR bylo také přínosem této práce získání nových poznatků, týkajících se morfologie a epidemiologie měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*), který, jak už bylo zmíněno, se začíná v ČR nebezpečně rozšiřovat.

Dalším přínosem této práce bylo získání nových poznatků týkajících se vlivu tasemnice měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) na obsah vybraných prvků ve střevních tkáních hostitele. Jelikož se tomuto tématu zatím nevěnovaly žádné studie, naskýtá se zde relativně široká škála možností dalšího výzkumu.

Ve spolupráci se Státní veterinární správou České republiky a z vlastních výsledků při vyšetřování lišek obecných z Karlovarského kraje pomocí helmintologické pitvy bylo zjištěno, že je většina lišek obecných (*Vulpes vulpes*) v České republice napadena měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*).

H1: potvrzena

Zjištěná prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) byla před podáváním návnad 80 % (12/15). Zjištěná prevalence měchožila bublinatého (*Echinococcus multilocularis*) u lišek obecných (*Vulpes vulpes*) byla po podávání návnad 10,5 % (2/19).

H2: potvrzena

V této práci byla u lišek infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) ve sliznici tenkého střeva zjištěna nižší koncentrace olova (Pb) a kadmia (Cd). Oproti tomu koncentrace následujících prvků (Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) byla u lišek infikovaných měchožilem bublinatým (*Echinococcus multilocularis*) vyšší než u lišek neinfikovaných.

H3: potvrzena

6. Seznam použité literatury

Ammann, R. W., Eckert, J. 1996. Cestodes: *Echinococcus*. Gastroenterology Clinics of North America. 25, 655 – 689.

Antolova, D., Miterpakova, M., Reiterova, K., Dubinsky, P. 2006. Influence of anthelmintic baits on the occurrence of causative agents of helminthozoonoses in red foxes (*Vulpes vulpes*). Helminthologia. 43, 226 – 231.

Bowles J, Blair D, McManus D. P. 1995. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus*. Parasitology. 110, 317 – 328.

Comte, S., Raton, V., Raoul, F., Hegglin, D., Giraudoux, P., Deplazes, P., Favier, S., Gottschek, D., Umhang, G., Boue, F., Combes, B. 2013. Fox baiting against *Echinococcus multilocularis*: Contrasted achievements among two medium size cities. Preventive Veterinary Medicine. 111, 147 – 155.

Crellin, J. R., Marchiondo, A. A., Andersen, F. L. 1981. Comparison of suitability of dogs and cats as hosts of *Echinococcus multilocularis*. American Journal of Veterinary Research. 42, 1980 – 1981.

Cummings, H., Rodriguez-Sosa, M., Satoskar, A. R. 2009. Hydatid disease. Medical parasitology, 146.

D'Alessandro, A., Rausch, R. L. 2008. New aspects of neotropical polycystic (*Echinococcus vogeli*) and unicystic (*Echinococcus oligarthrus*) echinococcosis. Clinical microbiology reviews. 21 (2), 380 – 401.

D'Alessandro, A., Rausch, R. L., Morales, G. A., Collet, S., Angel, D. 1981. *Echinococcus* infections in Colombian animals. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 30, 1263 – 1276.

Deplazes, P., Gloor, S., Stieger, C., Hegglin, D. Urban transmission of *Echinococcus multilocularis*. In: Craig, P., Pawlowski, Z., editors. Cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis. Amsterdam: IOS Press; 2002. 287 – 297.

Eckert, J. 1996. Der gefährliche Fuchsbandwurm (*Echinococcus multilocularis*) und die alveoläre Echinokokkose des Menschen in Mitteleuropa. Berliner & Münchner Tierärztliche Wochenschrift. 109, 202 – 210.

Eckert, J. 2003. Predictive values and quality control of techniques for the diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in definitive hosts. Acta Tropica. 85, 157 – 163.

Eckert, J., Conraths, F. J., Tackmann, K. 2000. Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis? International Journal for Parasitology. 30, 1283 – 1294.

Eckert, J., Deplazes, P. 2004. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clinical microbiology reviews. 17(1), 107 – 135.

Eckert, J., Rausch, R. L., Gemmel, M. A., Giraudoux, P., Kamiya, M., Liu, F-J., Schantz, P. M., Romig, T, 2001. Epidemiology of *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus vogeli* and *Echinococcus oligarthus* In: Eckert, J., Gemmel, M. A, Meslin, F-X., Pawlowski, Z. S. editors. World Health Organization/OIE Manual on echinococcosis in humans and animals. Paris: World Health Organization. 164 – 94.

European Food Safety Authority. 2012. European centre for disease prevention and control The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. European Food Safety Authority Journal. 10, 2597.

Hegglin, D., Bontadina, F., Gloor, S., Romer, J., Müller, U., Breitenmoser, U., Deplazes, P. 2004. Baiting red foxes in an urban area: a camera trap study. Journal of Wildlife Management. 68(4), 1010 – 1017.

Hegglin, D., Ward, P. I., Deplazes, P. 2003. Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with *Echinococcus multilocularis*. Emerging Infectious Diseases. 9, 1266 – 1272.

Hüttner, M., Nakao, M., Wassermann, T., Siefert, L., Boomker, J. D. F., Dinkel, A., Sako, Y., Mackenstedt, U., Romig, T., Ito, A. 2008. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* Ortlepp, 1937 (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. International Journal for Parasitology. 38, 861 – 868.

Hüttner, M., Romig, T. 2009. *Echinococcus* species in African wildlife. Parasitology. 136, 1089 – 1095.

Ito, A., Nakao, M., Sako, Y. 2007. Echinococcosis: serological detection of patients and molecular identification of parasites. *Future Microbiology*. 2, 439 – 449.

Jankovská, I., Langrová, I., Bejček, V., Miholová, D., Vadlejch, J., Petrtyl, M. 2008: Heavy metal accumulation in small terrestrial rodents infected by cestodes or nematodes. *Parasite*. 15, 581 – 588.

Jankovská, I., Miholová, D., Bejček, V., Vadlejch, J., Šulc, M., Szaková, J., Langrová, I. 2010a. Influence of parasitism on trace element contents in tissues of red fox (*Vulpes vulpes*) and its parasites *Mesocestoides* spp. (Cestoda) and *Toxascaris leonina* (Nematoda). *Archives of environmental contamination and toxicology*. 58, 469 – 477.

Jankovská, I., Miholová, D., Langrová, I., Bejček, V., Vadlejch, J., Koliňová, D., Šulc, M. 2009. Influence of parasitism on the use of small terrestrial rodents in environmental pollution monitoring. *Environmental pollution*. 157, 2584 – 2586.

Jankovská, I., Szaková, J., Lukešová, D., Langrová, I., Válek, P., Vadlejch, J., Čadková, Z., Petrtyl, M. 2012. Effect of lead in water on the absorption of copper, iron, manganese and zinc by sheep (*Ovis aries*) infected with sheep tapeworm (*Moniezia expansa*). *Experimental parasitology*. 131(1), 52 – 56.

Jankovská, I., Vadlejch, J., Szaková, J., Miholová, D., Kunc, P., Knížková, I., Langrová, I. 2010b. Experimental studies on the lead accumulation in the cestode *Moniezia expansa* (Cestoda: Anoplocephalidae) and its final host (*Ovis aries*). *Ecotoxicology*. 19, 928 – 932.

Kamiya, M., Ooi, H.K., Ohbayashi, M. 1986. Susceptibility of cats to the Hokkaido isolate of *Echinococcus multilocularis*. *Nihon juigaku zasshi*. The Japanese journal of veterinary science. 48, 763 – 767.

Kamiya, M., Ooi, H.K., Oku, Y., Yagi, K., Ohbayashi, M. 1985. Growth and development of *Echinococcus multilocularis* in experimentally infected cats. *Japanese journal of veterinary research*. 33, 135 – 140.

Kern, P., Bardonnnet, K., Renner, E., Auer, H., Pawlowski, Z., Ammann, R. W., Vuitton, D. A., Kern, P., and European Echinococcosis Registry. 2003. European echinococcosis registry: Human alveolar echinococcosis, Europe, 1982 – 2000. *Emerging infectious diseases*. 9, 343 – 349.

König, A., Romig, T., Janko, C., Hildenbrand, R., Holzhofer, E., Kotulski, Y., Ludt, Ch., Merli, M., Eggenhofer, S., Thoma, D., Vilsmeier, J., Zannantonio, D. 2008. Integrated-baiting concept against *Echinococcus multilocularis* in foxes is successful in southern Bavaria, Germany. *European Journal of Wildlife Research*. 54(3), 439 – 447.

Kumaratilake, L. M., Thompson, R. C. 1982. A review of the taxonomy and speciation of the genus *Echinococcus* Rudolphi 1801. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 68, 121 – 146.

Lavikainen, A., Lehtinen, M. J., Meri, T., Hirvela-Koski, V., Meri, S. 2003. Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*. 127, 207 – 215.

Lenská, B., Svobodová, V. 2003. Detekce koproantigenů tasemnic rodu *Echinococcus* u psů v České republice. *Veterinářství*. 53, 53 – 57.

Mader P., Čurdová E., 1997. Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků. *Chemické listy*, 91: 227-236

Martínek, K., Kolářová, L., Červený, J. 2001. *Echinococcus multilocularis* in carnivores from the Klatovy district of the Czech Republic. *Journal of helminthology*. 75, 61 – 66.

McManus, D. P., Thompson, R. C. 2003. Molecular epidemiology of cystic echinococcosis. *Parasitology*. 127, 37 – 51.

Nakao, M., Lavikainen, A., Yanagida, T., Ito, A. 2013. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *International journal for parasitology*. 43(12), 1017 – 1029.

Pokorný, J., Filipová, A., Fictum, P. 2013. Tři případy *Echinococcus multilocularis* v Zoologické a botanické zahradě města Plzně. *Veterinární klinika*. 10 (4), 143 – 148.

Rausch, R. L., Bernstein, J. J. 1972. *Echinococcus vogeli* sp. N. (Cestoda: Taeniidae) from the bush dog, *Speothos venaticus* (Lund). *Zeitschrift für praktische Anasthesie, Wiederbelebung und Intensivtherapie*. 23, 25 – 34.

Reiterova, K., Miterpakova, M., Turcekova, L., Antolova, D., Dubinsky, P. 2005. Field evaluation of an intravital diagnostic test of *Echinococcus multilocularis* infection in red foxes. *Veterinary parasitology*. 128, 65 – 71.

Riggs, M. R., Lemly, A. D., Esch, G. W. 1987. The growth, biomass, and fecundity of *Bothriocephalus acheilognathi* in a North Carolina cooling reservoir. *The Journal of parasitology*. 893 – 900.

Romig, T. 2003. Epidemiology of echinococcosis. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie*. 388, 209 – 217.

Romig, T., Bilger, B., Dinkel, A., Merli, M., Thoma, D., Will, R., Mackenstedt, U., Lucius, R. 2007. Impact of praziquantel baiting on intestinal helminths of foxes in southwestern Germany. *Helminthologia*. 44(3), 137 – 144.

Romig, T., Dinkel, A., Mackenstedt, U. 2006. The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitology international*. 55 Suppl, 187 – 191.

Scott, J. C., Stefaniak, J., Pawlowski, Z. S., McManus, D. P. 1997. Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*. 114, 37–43.

Schantz, P. M., Chai, J., Craig, P. S., Eckert, J., Jenkins, D. J., Macpherson, C. N. L., Thakur, A. 1995. Epidemiology and control of hydatid disease. In: Thompson, R. C. A., Lymbery, A. J. (editors). *Echinococcus and hydatid disease*. CAB International, Wallingford. 89 – 134.

Schelling, U., Frank, W., Will, R., Romig, T., Lucius, R. 1997. Chemotherapy with praziquantel has the potential to reduce the prevalence of *Echinococcus multilocularis* in wild foxes (*Vulpes vulpes*). *Annals of tropical medicine and parasitology*. 91, 179 – 186.

Staebler, S., Steinmetz, H., Keller, S., Deplazes, P. 2007. First description of natural *Echinococcus multilocularis* infections in chinchilla (*Chinchilla laniger*) and Prevost's squirrel (*Callosciurus prevostii borneoensis*). *Parasitology research*. 101, 1725 – 1727.

Sures B., Scheible T., Bashtar A. R. Taraschewski, H. 2003b. Lead concentrations in *Hymenolepis diminuta* adults and *Taenia taeniaformis* larvae compared to their rat hosts (*Rattus norvegicus*) sampled from the city of Cairo, Egypt. *Parasitology*. 127, 483 – 487.

Sures B., Taraschewski H., Rokicki J. 1997: Lead and cadmium content of two cestodes *Monobothrium wagneri* and *Bothriocephalus scorpii*, and their fish hosts. *Parasitology Research*. 83, 618 – 623.

Sures, B., Grube, K., Taraschewski, H. 2002. Experimental studies on the lead accumulation in the cestode *Hymenolepis diminuta* and its final host, *Rattus norvegicus*. *Ecotoxicology*. 11, 365 – 368.

Sures, B., Jürges, G., Taraschewski, H. 2000: Accumulation and distribution of lead in the archiacanthocephalan *Moniliformis moniliformis* from experimentally infected rats. *Parasitology*. 121, 427 – 433.

Sures, B., Siddall, R. 1999. *Pomphorhynchus laevis*: The Intestinal Acanthocephalan as a Lead Sink for its Fish Host, Chub (*Leuciscus cephalus*). *Experimental Parasitology*. 93, 66 – 72.

Thompson, R. C. A. 1995. Biology and systematics of *Echinococcus*. In: Thompson, R. C. A., Lymbery, A. J. (ed.). *The biology of Echinococcus and hydatid disease*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. p. 1 – 50.

Thompson, R. C. A., McManus, D. P. 2001. Aetiology: parasites and life-cycles. In: Eckert, J., Gemmell, M. A., Meslin, F. X., Pawlowski, Z. S. (editors). *WHO/OIE Manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern*. World Organisation for Animal Health, Paris, France. 1 – 19.

Torres J, de Lapuente J, Eira C., Nadal J. 2004: Cadmium and lead concentrations in *Gallegoides arfaai* (Cestoda: Anoplocephalidae) and *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae) from Spain. *Parasitology Research*. 94 (6), 468 – 470.

Torres J., Peig J., Eira C., Borrás M. 2006: Cadmium and lead concentrations in *Skryabinotaenia lobata* (Cestoda: Catenotaeniidae) and in its host, *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae) in the urban dumping site of Garraf (Spain). *Environmental Pollution*. 143 (1), 4 – 8.

Tsukada, H., Hamazaki, K., Ganzorig, S., Iwaki, T., Konno, K., Lagapa, J. T., Matsuo, K., Ono, A., Shimizu, M., Sakai, H., Morishima, Y., Nonaka, N., Oku, Y., Kamiya, M. 2002. Potential remedy against *Echinococcus multilocularis* in wild red foxes using baits with anthelmintic distributed around fox breeding dens in Hokkaido, Japan. *Parasitology*. 125(02), 119 – 129.

Xiao, N., Qiu, J., Nakao, M., Li, T., Yang, W., Chen, X., Schantz, P. M., Craig, P. S., Ito, A. 2005. *Echinococcus shiquicus* n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *International journal for parasitology*. 35, 693 – 701.

Xiao, N., Qiu, J., Nakao, M., Li, T., Yang, W., Chen, X., Schantz, P. M., Craig, P. S., Ito, A. 2006. *Echinococcus shiquicus*, a new species from the Qinghai-Tibet plateau region of China: discovery and epidemiological implications. *Parasitology International*. 55, 233 – 236.

7. Seznam publikací autora k řešené problematice

- I. Brožová, A., Jankovská, I., Miholová, D., Scháňková, Š., Truněčková, J., Langrová, I., Kudrnáčová, M., Vadlejch, J. 2015. Heavy metal concentrations in the small intestine of red fox (*Vulpes vulpes*) with and without *Echinococcus multilocularis* infection. Environmental Science and Pollution Research. 22(4), 3175 – 3179.