

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

Působení hlístic podčeledi Cyathostominae na hostitele

Bakalářská práce

Autor práce: Petra Trojanová

Vedoucí práce: prof. Ing. Iva Langrová, CSc.

2012

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Působení hlístic podčeledi Cyathostominae na hostitele vypracoval(a) samostatně a použil(a) jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne: .....

podpis autora práce

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala všem svým blízkým a přátelům za jejich podporu.

## Souhrn

Cyathostominae. Dlouho přehlížená podčeleď, která byla považována za nepatogenní. Během posledních let se však tento pohled na tuto „nepodstatnou“ populaci hlístic změnil. Vědci dospěli k názoru, že tak nepatogenní není a začali ji podrobně zkoumat. Výsledky výzkumu ukázaly, že cyathostomins jsou původci mnoha systémových problémů, které se až donedávna přisuzovaly *Strongylus vulgaris*. Celkem existuje 52 druhů cyathostomins, jenž se mezi sebou morfologicky liší. Rozpoznání těchto hlístic je v současné době problematické a pouze zkušený laborant dokáže zařadit zkoumané dospělé jedince do správného druhu. Stejně jako jiné hlístice i cyathostomins mají vývojový cyklus bez mezipřehoditele. Výsledkem tohoto snažení mělo být shromáždění ucelených informací o uznané samostatné podčeledi Cyathostominae. Tento soupis má za úkol seznámit čtenáře s jejich taxonomickým zařazením, vývojem, ale hlavně s jejich patogenitou a to jak klinickou, která působí negativně během života na hostitele, tak i posmrtnou, kde můžeme přímo vidět anatomické změny na napadeném organismu. Dotkne se i morfologie podčeledi Cyathostominae, která platí obecně pro všechny. Nebude však podrobně popisovat samotné druhy. Nastíní i léčbu, jenž se běžně používá proti Cyathostominae a s jakou účinností na tyto hlístice působí. Zjistilo se, že důležitým objevem je jev zvaný hypobioza, který se vyskytuje jen u této podčeledě. Díky ní dokážou cyathostomins v hostiteli být tak dlouhou dobu (až dva roky), po kterou se mohou hromadit ve stěně tlustého střeva. Při hromadném vynoření, jenž se nazývá larvální cyathostomóza, jsou vidět na koni klinické příznaky. Zde je uvedeno několik z nich: kolika, průjem, který může zapříčinit hubnutí, podkožní edém, sezónní malátnost, deprese apod. Neméně důležitý je rozbor krve, jenž může ukázat, co se přesně děje za procesy v hostiteli. Měl by se provádět při každém podezření na larvální cyathostomózu. U koní lze pozorovat tyto děje: hypoalbuminémie, hypoproteinémie, proteinurie, neutrofilie, sérová alkalická fosfatáza, leukocytóza, eozinofilie, anémie aj. Při pitvě se sledují vnitřní anatomické změny jako např. edém sliznice, nekrotické uzlíčky, překrvení, nahromadění eozinofilů i makrofágů, zánět aj. Léčba larvální cyathostomózy je velmi problematická neboť na většinu anthelmintik jsou cyathostomins rezistentní. Jen skupina makrocyclických laktonů má výborné výsledky při léčebném programu. I přes intenzivní léčbu může pacient uhynout. Prevence je důležitým faktorem pro eliminaci cyathostomins. Měly by se alespoň jednou týdně odstranit výkaly z pastviny, dodržovat časový rozestup při aplikaci anthelmintik a udělat vyšetření trusu. I

nadále by se tato skupina hlístic měla zkoumat a doplnit chybějící poznatky, abychom mohli úspěšně předcházet tomuto onemocnění.

**Klíčová slova:** Cyathostominae, cyathostomins, cyathostomóza, patogenita, kolika, průjem

## Summary

Cyathostominae. This subfamily was overlooked for a long time and was considered to be non-pathogenic. But the view on this „unimportant” group of nematoda has changed during last years. Scientists discovered, that nonpathogenicity is not so strict and they had started detailed research. Results show, that cyathostomins are causes of systemic problems, which were assigned to *Strongylus vulgaris*. There is 52 species of cyathostomins, that are morphologically different. It is problematic to distinguish these nematoda and just practiced laboratory technician is able to classify examined adult individuals into right species. Like any other nematoda, cyathostomins have developmental cycle with no intermediate host. The result of this effort supposed to be an aggregate information about recognized subfamily Cyathostominae. The task of this bachelor thesis is to familiarize readers with taxonomic status, development, but most importantly with their clinical pathogenicity, which has negative impact during life of host, and also postmortem, where we can see anatomic changes on invaded organism. It will also touch on morphology of subfamily Cyathostominae, which is common for all of them, but individual species will not be described in-depth. The medical treatment, which is commonly used, and its effectiveness will be outlined. There has been discovered, that hypobiosis is an important phenomenon, which occurs just within this subfamily. Because of that, cyathostomins are able to stay for such a long time inside a host (up to two years), during which they can accumulate inside a colon wall. During massive break-out, which is called larval cyathostomosis, clinical symptoms are visible. Here are mentioned some of them: colic, diarrhea, which may causes loss of weight, subcutaneous edema, seasonal faintness, depression, etc. A blood analysis is not less important and may shows what is happening inside the host. It should be done whenever there is a suspicion on larval cyathostomosis. In horses we can find: hypoalbuminemia, hypoproteinemia, proteinuria, increased alkaline phosphatase, neutrophilia, leucocytosis, eosinophilia, anemia, etc. There are inner anatomic changes which are observed during autopsy, for example: mucous membrane edema, hyperemia, accumulation of eosinophils and macrophages,

inflammation, etc. Therapy of larval cyathostomosis is very problematic, because of resistance to most of anthelmintics. Just group of macrocyclic lactones has excellent results at treatment program. Despite of intensive treatment a patient can die. Prevention is important factor of elimination cyathostomins. Excrements should removed from pasture at least once a week , to respect the proper period of application and to examine excrements. It is important to keep studying this group of nematoda and refilling missing information to be successful at prophylaxis and therapy of this disease.

**Key words:** Cyathostominae, cyathostomins, cyathostomosis, pathogenicity, colic, diarrhea

# Obsah

Obsah .....	0
1. Úvod.....	1
2. Cíl práce .....	1
3. Přehled literatury.....	2
3.1. Taxonomie .....	2
3.1.1. Druhy vyskytující se u zeber .....	4
3.1.2. Druhy vyskytující se u oslů .....	4
3.2. Morfologie .....	5
3.2.1. Obecné .....	6
3.2.2. Pohlaví .....	7
3.3. Životní cyklus .....	8
3.4. Lokalizace .....	10
3.5. Patogenita.....	11
3.5.1. Klinická patogenita .....	12
3.5.1.1. Enteropatie .....	12
3.5.1.2. Průjem.....	12
3.5.1.3. Hubnutí .....	13
3.5.1.4. Kolika.....	13
3.5.1.5. Podkožní edém.....	14
3.5.1.6. Sezónní malátnost .....	14
3.5.1.7. Horečka.....	15
3.5.1.8. Deprese .....	15
3.5.1.9. Tyflitida .....	15
3.5.2. Analýza krve .....	16
3.5.2.1. Hypoalbuminémie.....	16
3.5.2.2. Hypoproteinémie .....	16
3.5.2.3 Proteinurie.....	16
3.5.2.4. Neutrofilie .....	17
3.5.2.5. Sérová alkalická fosfatáza (ALP) .....	17
3.5.2.6. Fruktosamin .....	17
3.5.2.7. Fibrinogen.....	17

3.5.2.8 Leukocytóza.....	17
3.5.2.9. Hypokalémie.....	17
3.5.2.10. Eozinofilie.....	18
3.5.2.11. Metabolická acidóza .....	18
3.5.2.12. Anémie.....	18
3.5.2.13. Hyperglobulinémie .....	18
3.5.3. Imunita.....	18
3.5.4. Pitva.....	21
3.6. Léčba.....	23
3.6.1. Benzimidazoly .....	24
3.6.2. Tetrahydropyrimidiny .....	25
3.6.3. Makrocyclické laktony .....	25
3.6.4. Terapie klinické cyathostomózy .....	26
3.6.5. Prognóza .....	26
3.6.6. Studie a její výsledky .....	26
3.6.7. Vyšetření trusu .....	27
3.6.8. Období znovuobjevení vajíček .....	27
3.7. Prevence.....	28
4. Závěr .....	28
5. Přehled zkratk, vysvětlivky.....	29
6. Seznam literatury .....	30



## 1. Úvod

Cyathostominae. Dlouho přehlížená podčeleď, která byla považována za nepatogenní. Během posledních let se však tento pohled na tuto „nepodstatnou“ populaci hlístic změnil. Vědci dospěli k názoru, že tak nepatogenní není a začali ji podrobně zkoumat. Výsledky výzkumu ukázaly, že cyathostomins jsou původci mnoha systémových problémů, které se až donedávna přisuzovaly *Strongylus vulgaris*. Prozatím nejsou žádné efektivní způsoby, jak prokázat larvální cyathostomózu. U cyathostomins se vyskytuje jev zvaný hypobióza. Tento úkaz je jen u této podčeledi hlístic. Celkem existuje 52 druhů cyathostomins, jenž se mezi sebou morfologicky liší. Rozpoznání těchto hlístic je v současné době problematické a pouze zkušený laborant dokáže zařadit zkoumané dospělé jedince do správného druhu. Stejně jako jiné hlístice i cyathostomins mají vývojový cyklus bez mezipřehoditele. Postupem času získaly cyathostomins určitou rezistenci na dosavadní anthelmintika. Jejich odolnost vůči nim roste díky neuváženému rutinnímu léčebnému programu koně. Proto je velmi důležité zabývat se tímto problémem a najít nové východiska z této situace.

## 2. Cíl práce

Cílem této práce bylo shromáždit ucelené informace o uznané samostatné podčeledi Cyathostominae. Až donedávna se jí nepřikládala velký význam. Tento soupis má za úkol seznámit čtenáře s jejich taxonomickým zařazením, které se často měnilo v důsledku dvou názvů pro jeden rod či druh, vývojem, jenž je důležitým faktorem pro úspěšnou léčbu, ale hlavně s jejich patogenitou a to jak klinickou, která působí negativně během života na hostitele, tak i posmrtnou, kde můžeme přímo vidět anatomické změny na napadeném organismu. Dotkne se i morfologie podčeledi Cyathostominae, která platí obecně pro všechny. Nebude však podrobně popisovat samotné druhy. Nastíní i léčbu, jenž se běžně používá proti Cyathostominae a s jakou účinností na tyto hlístice působí.

### 3. Přehled literatury

#### 3.1. Taxonomie

Hlístice podčeledi Cyathostominae jsou nejčastější paraziti koní, které způsobují značnou nemocnost a úmrtnost jedinců. Výzkum těchto parazitů je intenzivní, protože larvy cyathostomins (dříve cyathostomosis či cyathostomiasis) se mohou vynořit ve velkém počtu ze stěn tlustého a slepého střeva a tímto způsobit vážné kolitidy, které mohou mít za následek smrt. Tyto hlístice jsou odolné vůči anthelmintikům. Na celém světě bylo zaznamenáno celkem 52 druhů cyathostomins u koní, oslů a zeber (Lichtenfels et al., 2002).

Kmen: Nematoda

Řád: Strongylida

Nadčeleď: Strongyloidea

Čeleď: Strongylidae

Podčeleď: Cyathostominae

Rod: *Cyathostomum* (Molin, 1861)

*C. tetracanthum* (Mehlis, 1831)

*C. catinatum* (Looss, 1900)

*C. pateratum* (Yorke and Macfie, 1919)

*C. alveatum* (Looss, 1900)

*C. montgomeryi* (Boulenger, 1920)

Rod: *Coronocyclus* (Hartwich, 1986)

*C. coronatus* (Looss, 1900)

*C. labiatus* (Looss, 1902)

*C. labratus* (Looss, 1900)

*C. sagittatus* (Kotlán, 1920)

*C. ulambajari* (Dvojnós, Kharchenko and Lichtenfels, 1994)

Rod: *Cylicodontophorus* (Ihle, 1922)

*C. bicoronatus* (Looss, 1900)

*C. reineckeii* (Scialdo-Krecek and Malan, 1984)

Rod: *Cylicocyclus* (Ihle, 1922)

*C. radiatus* (Looss, 1900)

- C. ashworthi* (LeRoux, 1924)
- C. auriculatus* (Looss, 1900)
- C. brevicapsulatus* (Ihle, 1920)
- C. elongatus* (Looss, 1900)
- C. elongatus kotlani* (Ihle, 1920)
- C. insigne* (Boulenger, 1917)
- C. leptostomum* (Kotlán, 1920)
- C. nassatus* (Looss, 1900)
- C. triramosus* (Yorke and Macfie, 1920)
- C. ultrajectinus* (Ihle, 1920)
- C. asini* (Matthee et al., 2002)
- Rod: *Cylicostephanus* (Ihle, 1922)
- C. calicatus* (Looss, 1900)
- C. minutus* (Yorke and Macfie, 1918)
- C. hybridus* (Kotlán, 1920)
- C. longibursatus* (Yorke and Macfie, 1918)
- C. goldi* (Boulenger, 1917)
- C. asymmetricus* (Theiler, 1923)
- C. bidentatus* (Ihle, 1925)
- Rod: *Skrjabinodentus* (Tshoiho, in Popova, 1958)
- S. caragandicus* (Funikova, 1939)
- S. longiconus* (Scialdo-Krecek, 1983)
- S. tshoihoi* (Dvojnok and Kharchenko, 1986)
- Rod: *Tridentoinfundibulum* (Tshoiho, in Popova, 1958)
- T. gobi* (Tshoiho, in Popova, 1958)
- Rod: *Petrovinema* (Ershov, 1943)
- P. skrjabini* (Ershov, 1930)
- P. poculatum* (Looss, 1900)
- Rod: *Poteriostomum* (Quiel, 1919)
- P. imparidentatum* (Quiel, 1919)
- P. ratzii* (Kotlán, 1919)
- Rod: *Parapoteriostomum* (Hartwich, 1986)
- P. mettami* (Leiper, 1913)
- P. euproctus* (Boulenger, 1917)

*P. schuermanni* (Ortlepp, 1962)

*P. mongolica* (Tshoiho, in Popova, 1958)

Rod: *Hsiungia* (K'ung and Yang, 1964)

*H. pekingensis* (K'ung and Yang, 1964)

Rod: *Cylindropharynx* (Leiper, 1911)

*C. brevicauda* (Leiper, 1911)

*C. aethiopica* (Roetti, 1947)

*C. asini* (Roetti, 1947)

*C. intermedia* (Theiler, 1923)

*C. longicauda* (Leiper, 1911)

*C. ornata* (Cram, 1924)

*C. rhodesiensis* (Yorke and Macfie, 1920)

Rod: *Caballonema* (Abuladze, 1937)

*C. longicapsulatum* (Abuladze, 1937)

### **3.1.1. Druhy vyskytující se u zeber**

- *Cylicodontophorus reinecke* (Scialdo-Krecek and Malan, 1984)
- *Cylicocyclus asini* (Matthee et al., 2002)
- *Skrjabinodentus longiconus* (Scialdo-Krecek, 1983)
- *Parapoterostomum schuermanni* (Ortlepp, 1962)
- *Cylindropharynx brevicauda* (Leiper, 1911)
- *Cylindropharynx intermedia* (Theiler, 1923)
- *Cylindropharynx longicauda* (Leiper, 1911)
- *Cylindropharynx ornata* (Cram, 1924)
- *Cylindropharynx rhodesiensis* (Yorke and Macfie, 1920)

### **3.1.2. Druhy vyskytující se u oslů**

- *Cylicocyclus asini* (Matthee et al., 2002)
- *Cylindropharynx aethiopica* (Roetti, 1947)

- *Cylindropharynx asini* (Roetti, 1947)

(Lichtenfels et al., 1998)

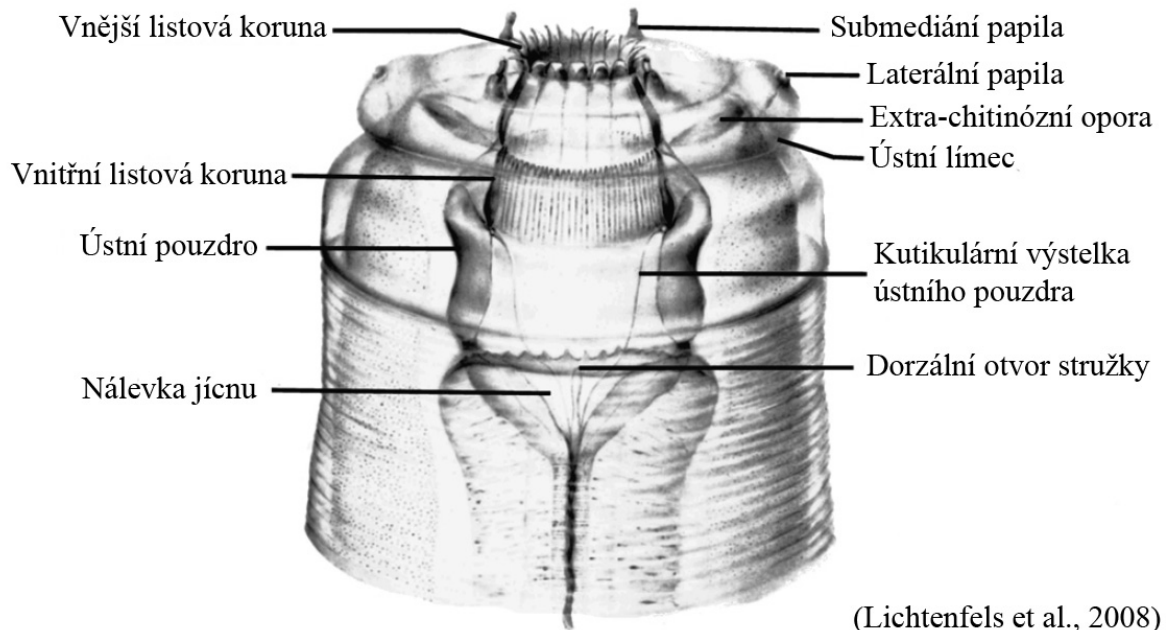
### 3.2. Morfologie

Cyathostomins jsou běžně známé jako „malí červení červi“, protože se obvykle vyskytují v červené než bílé barvě. „Malí“ se jim nazývá kvůli jejich velikosti, která nepřekročí délku 2,5 cm (Corning, 2009).

V minulosti Molin (1861) popsal rod *Cyathostomum* jako strongylidy malé až středně velké velikosti, kteří jsou všichni v jednom druhu *C. tetracanthum* (Mehlis, 1831). Cobbold (1874) později popsal *Trichonema arcuata* pro larvální formy *C. tetracanthum* – ve skutečnosti skupiny druhů. Loos (1900) popsal 12 nových druhů rodu *Cyathostomum*. Jako nejběžnější druh tohoto rodu určil *C. tetracanthum*. Mnoho diskuzí, které byly vyvolány nad rody *Cyathostomum* a *Trichonema* jsou opodstatněné. Američtí zaměstnanci (Foster, 1936, 1937; McIntosh, 1951) nakonec přijali název *Cyathostomum* na základě Mezinárodního kodexu zoologické nomenklatury, která jasně uznává rody jako platné. V případě *Cyathostomum* byl ještě jeden existující rod hlístic *Cyathostoma*. Blanchard (1849) přesvědčil mnoho pracovníků, že *Cyathostomum* bylo homonymum. Argumenty pro přijetí *Cyathostomum* shrnul McIntosh (1951) dlouho poté, co seděl nad otázkou s jeho spolupracovníky. Případ předložil Mezinárodní komise zoologické nomenklatury v roce 1932. Komise rozhodla (Hemming, ed., 1943), že *Cyathostomum* není homonymum pro *Cyathostoma* (Anderson et al., 1980).

Bylo doporučeno, aby v terminologii běžné názvy pro Cyathostominae (cyathostomins) a nemoci způsobené těmito hlísticemi (cyathostomóza) se nahradila dříve užívaná jména (cyathostomes, cyathostomosis), které jsou nejasné, nepřesné nebo synonymem. Zahrnutý je seznam podle rodů a druhů o 93 jmen na úrovni druhů, uznání 52 druhů, přepsání sedmi druhů a popis jednoho nového druhu. Na žádost Mezinárodní komise pro zoologické názvosloví umístila *Cyathostomum tetracanthum* (Mehlis, 1831) na oficiální seznam obecných názvů v zoologii. Končí více než století staré spory o jméně pro cyathostomins (Lichtenfels et al., 2002).

### 3.2.1. Obecné



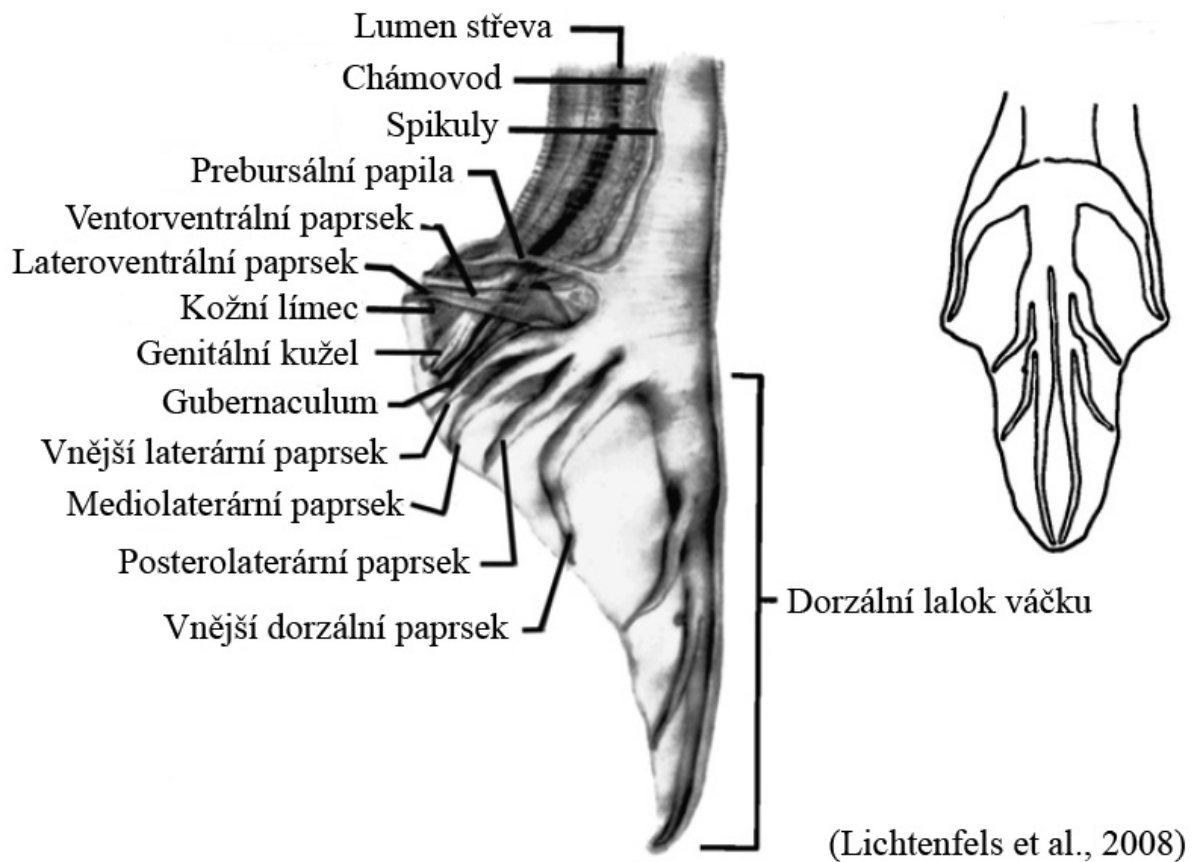
Cyathostominae jsou středně velké. Ústní límec nafouklý, vysoký, prstenčitého tvaru, rozdělený na vnitřní a vnější prstence. Zadní okraj ústního límce je umístěný na předním nebo předozadním okraji ústního pouzdra. Amfidy (senzorické orgány) výrazně nepřechňávají přes povrch ústního límce. Vrchol a delší stopka submediální papily vyčnívá přes ústní límec. Špička submediální papily je projektilového tvaru, dvakrát až třikrát tak dlouhá než široká. Stopka submediální papily je delší než širší. Vnější listová koruna (ELC) je výrazně menšího počtu a délky než elementy vnitřní listové koruny (ILC).

Elementy ELC jsou delší než širší, špičatě zakončené, úponový bod je kousek vzadu od vrcholu ILC elementů. Elementy ILC jsou delší než široké, špičatě zakončené, úponový bod je přibližně ve čtvrtině až polovině hloubky ústního pouzdra. Linie vytvořená uchycením ILC elementů je zakřivená a klikatá. Tvar zadního okraje elementů ILC je rovný a jednoduchý. Opora pro ELC pokračuje s ústním pouzdem, protáhlá, zahnutá, tenká na jednom konci. Intrakoronární přepážka je začátek opory. Mediální úpon intrakoronární přepážky umístěný vpředu je ke spojení ELC a ILC. Stěny ústního pouzdra jsou rovné, užší v zadní části, ale bez prstenčitého zúžení. Ústní dutina je cylindrická a širší než hlubší. Žádná stružka bradavkovitého nebo knoflíkovitého tvaru.

Chybí ústní zuby. Jícnový trychtýř je mělký. Jícnové zuby nevýrazné. Přední svalová část jícnu tvoří cca čtvrtinu až třetinu délky jícnu. Vylučovací zadní pór k nervovému prstenci. Deidridy (senzorický orgán na krku) blízko středu žláznatého jícnu (Lichtenfels et al., 2008).

### 3.2.2. Pohlaví

#### 3.2.2.1. Samec



Dorzální paprsek se šesti větvemi. Ventrální paprsky jsou kratší nebo stejné délky než laterální paprsky (delší jsou u *C. alveatus*). Dorzální lalok je delší než boční laloky. Vnější dorzální paprsky se začátkem spojení zadních a bočních paprsků. Velké gubernaculum s dorzální klikou a ventrálním zářezem. Genitální kužel krátký, kuželovitý. Vrchol spikuly má ostřejší tvar.

### 3.2.2.2. Samice

Vulva je v počtu jedna nebo méně než jedna, délka ocasu od řitního otvoru. Pochva je delší než svěrač vejcovodu. Předšíň vejcovodu je oválná nebo tvaru písmena Y, infundibulum je delší než svěrač. Ocas je prstencovitého tvaru, krátký, délka je menší než dvojnásobek průměru řitního otvoru (Lichtenfels et al., 2008).

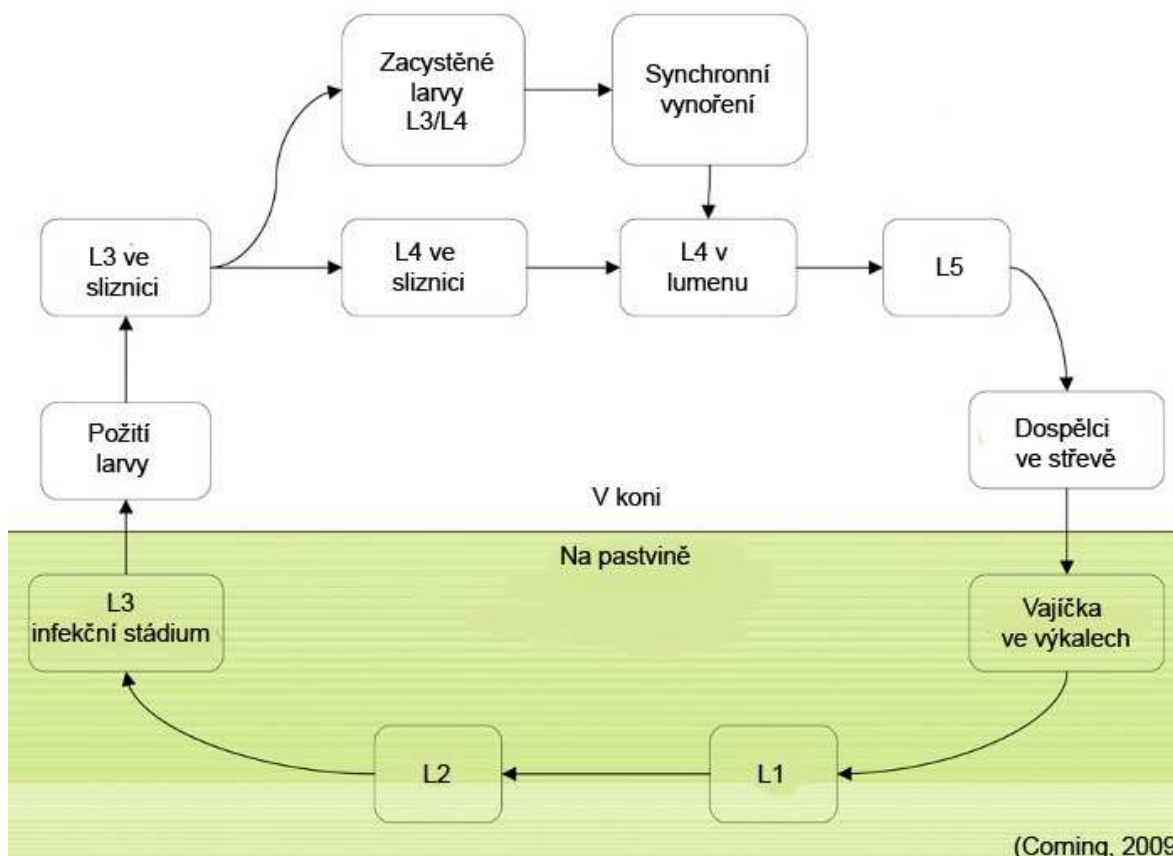


(Lichtenfels et al., 2008)

### 3.3. Životní cyklus

Stejně jako mnoho jiných hlístic i cyathostomins mají přímý životní cyklus bez mezihostitele. Vajíčka se společně s trusem dostanou na pastvinu, kde prodělají svůj vývin na první (L1) a následně druhé (L2) larvální stádium. Do střeva koně cyathostomins vstupují ve třetím larválním stádiu (L3) (Corning, 2009). Doba přežití infekčních larev ve výkalech se pohybuje od 2 do 15 týdnů, 15 týdnů v mokřem období, 11 týdnů v období sucha (Couto et al., 2008). Jakmile kůň požije larvy, pokračují ve svém vývinu a díky rychlému životnímu cyklu se mohou nová vajíčka s trusem dostat na pastvinu během 5 - 6 týdnů. Rychlost vývoje prvního stádia larvy (L1) na stádium L3 je přímo úměrné teplotě. V teplém počasí se z vajíček vylíhnou infekční larvy (L3) za pouhé tři dny (Corning, 2009). Teplota je tedy zásadním elementem pro vajíčka i larvy, které se vyvíjejí ve výkalech a pro migraci L3 na pastviny (Couto et al., 2008). Důležitým faktorem pro migraci infikovaných larev ze stolice do trávy je vlhkost. Když je nižší množství srážek, může pomoci migraci L3 zavlažování (Couto et al., 2011). Silný déšť je důležitým faktorem pro šíření cyathostomins, který odnese třetí larvální stádium (L3) na větší plochu pastviny (Couto et al., 2008).





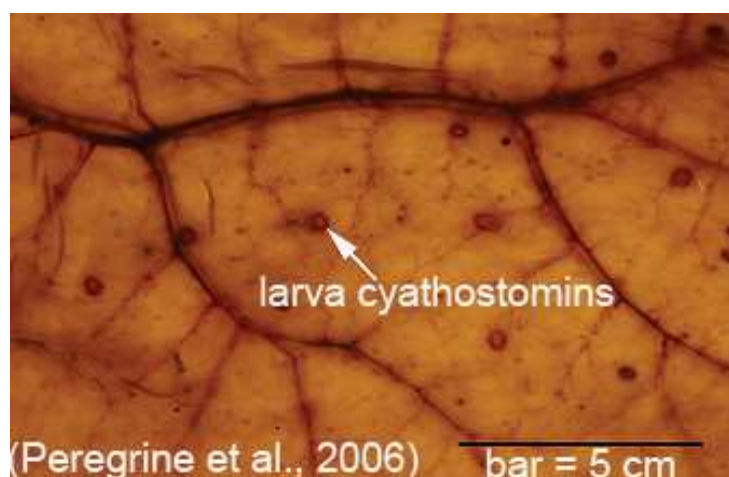
(Corning, 2009)

Jakmile jsou larvy ve třetím stádiu (L3) obklopí se ochrannou membránou, díky které mohou přežít i případné mrazy a tím mají možnost čekat delší dobu na svého hostitele. Navíc cyathostomins se liší od ostatních druhů červů v tom, že zrání na začátku třetího stádia larvy (EL3) může být pozastaveno po delší dobu (Corning, 2009; Love et al., 1999). Tento jev se též nazývá hypobióza (Matthews, 2008; Stratford et al., 2011; van Loon et al., 1995; Wobeser and Tataryn, 2009). Konkrétní podněty, které se podílejí na vyvolání hypobiózy jsou neznámé. Můžou zahrnovat hostitelskou imunitu, studené klima před požitím L3, hustotu parazitů ve střevní stěně a v lumenu (Kaplan and Matthews, 2004; Love et al., 1999; Matthews, 2008; Murphy and Love, 1997), kteří vyšlou negativní zpětnou vazbu slizničním červům a tím přispívají k opožděnému vývoji larválních stádií (Love et al., 1999). Vzhledem k tomu, že cyathostomins zahrnují více druhů, je možné, že tento jev je spojen s určitými druhy. Nicméně, důkaz z analýzy druhové identifikace čtvrtého stádia larev (L4) izolovaných ze stolice koní s larvální cyathostomonózou ukázala, že tento jev není druhově specifický. Neexistuje žádný důkaz, že by byla hypobióza spojena s určitými kmeny Cyathostominae (Kaplan and Matthews, 2004). Po požití larvy (L3) opustí svůj ochranný obal a napadají sliznici tlustého střeva. Jakmile se dostane larvální stádium dovnitř, chrání se tím, že vytvoří cystu (Corning, 2009). Ve sliznici tlustého střeva larvy prochází další fází vývoje: na čtvrté stádium (L4). L4 se následně vynoří ze střevní sliznice a dokončí svůj vývoj na páté stádium

(L5), které dozrají na dospělé. Dospělá samice poté uvolní vajíčka, která putují s trusem do vnějšího prostředí (Matthews, 2008). Ve skutečnosti až 90 % zacystěných cyathostomins může být „potlačeno“ v jejich vývojové fázi EL3. Takto mohou zůstat ve střevní stěně asi od 4 měsíců do 2 let (Corning, 2009; Kaplan and Matthews, 2004; Love et al., 1999). Období, během něhož dochází k inhibici, se může lišit v závislosti na klima. V mírném podnebí během pastevního období narůstá počet napadení larvami, v chladnějších měsících se larvy zacystí a hromadně se vynoří na začátku jara (Corning, 2009; van Loon et al., 1995). Opačné načasování je vidět v tropickém podnebí, kde dochází k inhibici larev v letních měsících a na podzim se larvy vynořují. Proto malý strongylidi mají schopnost přežít nejenom na pastvině, ale i uvnitř koně po velmi dlouhou dobu. Při dlouhodobé udržitelnosti počtu cyathostomins a léčebných programech je nutné brát v potaz klimatické podmínky a životní cyklus (Corning, 2009). Rutinní léčba anthelmintiky nebo stresující situace jsou považovány za nejdůležitější podněty k zahájení migrace larev (Bodecek et al., 2010). V případě více zvířat na jedné pastvině, s různými majiteli je riziko jiného časového podání antiparazitik u jednotlivých koní namísto hromadné léčby. To vede ke kontaminaci pastviny (Mair and Divers, 1997).

### 3.4. Lokalizace

Zacystěné cyathostomins lokalizujeme v hostiteli na sliznici i v podslizničí tlustého střeva, především však ve slepém střevě a pravé ventrální straně tlustého střeva (Kaplan and Matthews, 2004; Wobeser and Tataryn, 2009). Murphy and Love (1997) uvádí, že ve slepém střevě můžeme najít 40,9 - 68,5 % larev. Též byly larvy přítomny v dorzální části tlustého střeva.



### 3.5. Patogenita

V současné době jsou larvy cyathostomins, které mají sezónní výskyt, považovány za nejčastější příčinu průjmu u dospělých koní (Murphy and Love, 1997).

Proto jsou nyní zásadní patogenní paraziti koně. Pozoruhodná proměna během posledních 25 let prakticky z nejasně zaměřené pozornosti na parazitologii koní. Tento nárůst důležitosti se shoduje s výrazným poklesem výskytu velkých strongyloidních infekcí následkem rozsáhlého používání moderních anthelmintických sloučenin. Přestože již nebyli přítomni velcí strongylidé, nadále přetrvávalo klinické onemocnění, které s nimi souviselo. Díky tomuto poznatku se pozornost obrátila na patogenní cyathostomins (Love et al., 1999). Malí strongylidi mají pozoruhodnou schopnost být patogenní pro koně od okamžiku, kdy vstupují do jeho střeva. Stejně jako u jiných hlístic, velký počet dospělců může vyvolat klinické příznaky jako je letargie, náhlý úbytek hmotnosti, průjem apod. Každopádně larvální stádia cyathostomins dokážou způsobit závažnější problémy. Na začátku můžou L3 zacystěním způsobit vážné poškození střevní sliznice. Desítky tisíc zacystěných larev mohou pokrýt slizniční stěnu, poškozovat ji a tím výrazně snižovat nutriční metabolismus. Nejvíce devastující poškození dochází u vývoje L4 stádia, kdy se vynoří ze stěny tlustého střeva z ochranného obalu (cysty) a cyathostomins pokračují ve svém vývoji na dospělé fázi (Corning, 2009). Obvykle cyathostomins jsou součástí smíšené infekce velkých a malých strongyloidních druhů. Až do nedávné doby jasné zranění způsobené velkými strongylidy, zejména *Strongylus vulgaris*, jakož to i časté nálezy velkého zatížení cyathostomins ve zdánlivě zdravých koní, vedlo k vnímání, že cyathostomins nebyly patogenní. Bohužel byl omezen pokrok v definování detailní biologie a patogenních mechanismů cyathostomins. Předpokládá se, že přezkoumávání současných znalostí z patogenních účinků cyathostomins pomůže podnítit parazitology, fyziology, patology, imunology a molekulární biology, aby prozkoumali hostitelské mechanismy této infekce. V nejlepším případě by tato studie měla zahrnovat posouzení různých hostitelských reakcí na infekci cyathostomins, včetně příznaků onemocnění, krevní biochemii, hematologickou odpověď, gastrointestinální motilitu, změny v metabolismu bílkovin a gastrointestinální histopatologii. Velmi zásadní informace jsou potřebné s ohledem na biologii jednotlivých druhů cyathostomins, protože patogenní význam konkrétních druhů cyathostomins není znám. Hypobióza má význam pro úspěšnou léčbu a kontroly cyathostomins, proto by měla být považována za prioritní část dalšího výzkumu (Love et al., 1999).

Onemocnění je způsobeno především vývojem larválního stádia ve střevní stěně. Nízký počet larev cyathostomins nemá vliv na zdraví koně. Nicméně synchronní vynoření velkého počtu (v milionech) nezralých parazitů je spojena s významnou chorobou, zvanou larvální cyathostomóza (Peregrine et al., 2005). Hlavní výzvou k pochopení a korigování těchto parazitů, je naše neschopnost identifikovat vajíčka ve výkalech a problém určování larev na pastvinách. Dospělé hlístice lze identifikovat na druhy pouze přes několik orgánů pomocí srovnávací anatomie (Lichtenfels et al., 2002). Jestliže mělo jedno zvíře ze stáda klinickou cyathostomózu, je pravděpodobné, že ostatní členové skupiny jsou nakaženi též (Love and McKeand, 1997). Mezi významné epidemiologické rizikové faktory pro infekci cyathostomins patří věk, sezóna (Peregrine et al., 2005), druhové složení helmintů (Love et al., 1999) a čas od posledního odčervení (Bodecek et al., 2010; Corning, 2009; Love et al., 1999; Wobeser and Tataryn, 2009). Současné studium slizničních larev na gram tkáň ukazuje, že u starších hostitelů je jich méně než u mladších hostitelů. Toto naznačuje, že hostitelský věk má vliv na počet slizničních larev (Gras et al., 2011). Zajímavostí je, že přístup na pastvu a pastva s jinými koňmi byl málo spojen s cyathostomins (Corning, 2009). Biopsie rekta je snadný, bezpečný úkon. Negativní nález není zárukou, že kůň cyathostomózu nemá (Mair and Divers, 1997).

### **3.5.1. Klinická patogenita**

#### **3.5.1.1. Enteropatie**

Základní skrytý patogenní účinek larvální cyathostomózy je zánětlivá enteropatie ovlivňující slepé a tlusté střevo (Love and McKeand, 1997; Love et al., 1999; Traversa et al., 2010), která vznikne v důsledku proniknutí či hromadnému vynoření larev ze sliznice tlustého střeva, které vede k poškození sliznice (Kaplan and Matthews, 2004; Love et al., 1999; Traversa et al., 2010; Wobeser and Tataryn, 2009).

#### **3.5.1.2. Průjem**

Enteropatie může způsobit i syndrom náhlého průjmu (Bodecek et al., 2010; Corning, 2009; Kaplan and Matthews, 2004; Lyons et al., 1996; Matthews, 2008; Stratford et al., 2011;

Traversa et al., 2010; van Loon et al., 1995; Wobeser and Tataryn, 2009). Průjmový syndrom má v Evropě sezónní výskyt - pozdní zima a jaro (Bodecek et al., 2010; Love et al., 1999; Mair and Divers, 1997). Nejčastěji se vyskytuje u zvířat mladších 5 let (Love et al., 1999; Mair and Divers, 1997). V poslední době se však mnoho klinických projevů liší od klasického sezónního průjmového syndromu (Love et al., 1999).

### 3.5.1.3. Hubnutí

Hubnutí (Kaplan and Matthews, 2004; Lyons et al., 1996; Matthews, 2008; Murphy et al., 1997; Peregrine et al., 2005; Stratford et al., 2011; Traversa et al., 2010; Wobeser and Tataryn, 2009) je úzce spojeno s průjmem. Může přejít do chronické formy (Murphy et al.,



1997; Wobeser and Tataryn, 2009) a skončit smrtí během 2 - 3 týdnů (Love et al., 1999; Wobeser and Tataryn, 2009). Rychlé hubnutí je důsledkem hypoalbuminémie (Bodecek et al., 2010).

### 3.5.1.4. Kolika

Kolika, neboli bolest břicha, je další obvyklý klinický příznak (Bodecek et al., 2010; Corning, 2009; Love et al., 1999; Lyons et al., 1996; Peregrine et al., 2005; Stratford et al., 2011; Traversa et al., 2010; van Loon et al., 1995). Může k ní dojít v souvislosti s celou řadou hostitelských činitelů, i když v mnoha případech nejsou známe podrobnosti o patofyziologii střevní koliky. Poruchy gastrointestinální motility jsou často klinicky zjevné a jsou obvykle považovány za významné patofyziologické prvky. Střevní poruchy byly pozorovány buď po infekci smíšených strongyloidních druhů (tj. cyathostomins a velcí strongylidé) nebo pouze *Strongylus vulgaris*. Přesné mechanismy, kterými cyathostomins či velcí strongylidé mění motilitu střev, nebyly zjištěny, ale je pravděpodobné, že jsou zde zánětlivé změny ve střevní



sliznici, jakožto vzájemně související průtok krve v mezenterických cévách a střevní mikrocirkulace (Love et al., 1999). Závažné je, že cyathostomins jsou spojovány s řadou specifických forem kolik koní, jako jsou intususcepce (invaginace, vchlípení) nebo tympanie slepého střeva či

nestrangulační infarkty (nekrózy), stejně jako s nespecifickou mírnou, medikamentózně ovlivnitelnou kolikou (Love et al., 1999). Pravděpodobní původci nestrangulačních střevních infarktů a tympanii slepého střeva jsou malí strongylidé, stejně tak u nespecifických kolik, kde je předpokládán význam v jejich etiologii. Na základě současného výskytu invaginace a koliky s larvální cyathostomózou u několik koní se předpokládá, že existuje spojení mezi těmito dvěma patologickými stavy (Bodecek et al., 2010).

### 3.5.1.5. Podkožní edém

Můžeme jej nalézt na různých oblastech těla koně (Bodecek et al., 2010; Kaplan and Matthews, 2004; Lyons et al., 1996; Matthews, 2008; Murphy et al., 1997; Stratford et al., 2011; Traversa et al., 2010).



### 3.5.1.6. Sezónní malátnost

(Bodecek et al., 2010)

Hlavní příznaky jsou letargie, nechutenství a proměnlivá konzistence stolice.



### 3.5.1.7. Horečka

(Bodecek et al., 2010; Murphy et al., 1997; Kaplan and Matthews, 2004).

### 3.5.1.8. Deprese

(Kaplan and Matthews, 2004).

### 3.5.1.9. Tyflitida

(Love et al., 1999)

Diagnostikovat cyathostomins je obtížné, protože počet vajíček ve stolici je často velmi nízký (Bodecek et al., 2010; Murphy and Love, 1997; Peregrine et al., 2005). Klinické (průjem, ztráta hmotnosti, kolika, podkožní edém, horečka) stejně tak i laboratorní příznaky (neutrofilie, chudokrevnost, hypoalbuminémie, hypoproteinémie, zvýšení beta globulinů, zvýšení alkalické fosfatázy, snížení krevních iontů) se mohou lišit (Bodecek et al., 2010; Kaplan and Matthews, 2004; Murphy et al., 1997). Pokud chceme zjistit správnou diagnózu, je nezbytné prokázat přítomnost larev cyathostomins v gastrointestinálním traktu - ve stolici (Bodecek et al., 2010; Peregrine et al., 2005) či střevní sliznici, pomocí biopsie nebo během pitvy (Bodecek et al., 2010). Dospělí červi ve střevním lumenu jsou považováni za nízkopatogenní (Wobeser and Tataryn, 2009). Naproti tomu larvální stádia jsou více patogenní ve fázi, kdy pronikají či se vynořují ze sliznice a tím způsobují nejvíce škod (Love et al., 1999; Kaplan and Matthews, 2004).



### **3.5.2. Analýza krve**

Celkové počítání krevních buněk a biochemický profil séra by se mělo provádět ve všech případech (Peregrine et al, 2005).

#### **3.5.2.1. Hypoalbuminémie**

(Bodecek et al., 2010; Corning, 2009; Deprez and Vercruyssen, 2003; Kaplan and Matthews, 2004; Love and McKeand, 1997; Love et al., 1999; Mair and Divers, 1997; Murphy, 1997; Peregrine et al, 2005; van Loon et al., 1995)

Nízká hladina albuminu v séru se nejdříve prokázala za 4 - 6 týdnů od prvního nakažení koně (Murphy et al., 1997; Murphy and Love, 1997). Bodecek et al. (2010) uvádí hladinu sérového albuminu v rozsahu 12.6 – 21.6 g/l. Další studie naměřila hladinu albuminu v rozmezí 11 - 23 g/l (medián 15.5 g/l) a celkové snížení úrovně z celkové bílkoviny v rozmezí 27 - 53 g/l (medián 39 g/l, výchozí rozmezí 54 - 75 g/l). Věk by neměl ovlivňovat výsledky.

Hypoalbuminémie a microcystis (zmenšené červené krvinky) byly v souladu se zánětlivým procesem společně s vnější ztrátou krve. Jako příklad lze uvést rozšířené poškození střevní sliznice. Těžká hypoalbuminémie u koně je nejčastěji důsledkem nadměrné střevní nebo ledvinové ztrátě bílkovin. Ta může být způsobena kvůli krvácení z vředu na sliznici s prosáknutým nádorovým či bílkovinným výpotkem související se střevním zánětem, který je kvůli střevním parazitům (Peregrine et al, 2005). Hypoalbuminémie byla spojena s nástupem průjmu (Murphy and Love, 1997). U přirozeně se vyskytujících případů nemusí být hypoalbuminémie vždy (Murphy et al., 1997).

#### **3.5.2.2. Hypoproteinémie**

(Bodecek et al., 2010; Lyons et al., 1996)

Byla zjištěna u čtyř koní v rozsahu 31.5 - 47.3 g/l. Má významný vztah s přítomností cyathostomins L4 ve stolici koní.

#### **3.5.2.3 Proteinurie**

(Peregrine et al, 2005)

Je velmi vzácný příznak, který se snadno zjistí močí.



#### **3.5.2.4. Neutrofilie**

(Corning, 2009; Love et al., 1999; Mair and Divers, 1997; Murphy and Love, 1997; Murphy et al., 1997; Peregrine et al, 2005)

Typická hematologická reakce, která je často přechodná. Vyskytuje se mezi 3 - 9 týdnem po infekci (Murphy et al., 1997; Murphy and Love, 1997). Rozsah neutrofilie byl 7,9 - 56,8 x 10<sup>9</sup>/l (medián 19,5 x 10<sup>9</sup>/l, výchozí rozmezí 2,9 - 7,7 x 10<sup>9</sup>/l) (Peregrine et al, 2005).

#### **3.5.2.5. Sérová alkalická fosfatáza (ALP)**

(Bodecek et al., 2010; Mair and Divers, 1997; Murphy and Love, 1997)

Koncentrace ALP byla navýšena mezi 30 - 60 týdnem po infekci (Murphy and Love, 1997). Její rozpětí je 291 - 1 350 IU/l (Bodecek et al., 2010).

#### **3.5.2.6. Fruktosamin**

(Love et al., 1999; Murphy and Love, 1997; Murphy et al., 1997)

Snížení výskytu proběhlo mezi 5 - 20 týdnem po infekci (Murphy and Love, 1997). Na základě získaných informací se zdá, že plazmatický fruktosamin může být citlivým a spolehlivým indikátorem změněného metabolismu bílkovin (Love et al., 1999; Murphy et al., 1997).

#### **3.5.2.7. Fibrinogen**

(Peregrine et al, 2005)

Ukazuje na systémový zánět. Jeho rozmezí 2,9 - 7,7 g/l (medián 4,6 g/l, výchozí rozmezí 1,6 - 2,9 g/l).

#### **3.5.2.8 Leukocytóza**

(Bodecek et al., 2010; Mair and Divers, 1997)

Rozmezí mezi 14.9 - 38.0 g/l.

#### **3.5.2.9. Hypokalémie**

(Bodecek et al., 2010)

Rozpětí 1,93 - 3,10 mmol/l.

### **3.5.2.10. Eozinofilie**

(Bodecek et al., 2010; Klei and Chapman, 1999; van Loon et al., 1995)

### **3.5.2.11. Metabolická acidóza**

(Bodecek et al., 2010)

Naměřené pH 7.24 - 7.28. Acidóza je pravděpodobně důsledkem závažné endotoxémie.

### **3.5.2.12. Anémie**

(Bodecek et al., 2010; Corning, 2009; Peregrine et al, 2005)

Tento hematologický nález je typický pro mladé koně, který ukazuje na období fyziologického nedostatku železa. Zajímavostí je, že v této studii měli všichni koně těžkou microcytosis (zmenšené červené krvinky) v rozmezí 31 - 53 fL (výchozí rozsah 38 - 53 fL). Anémie může být též pravděpodobně způsobena krvácením do střeva (Bodecek et al., 2010).

### **3.5.2.13. Hyperglobulinémie**

(Love et al., 1999; Mair and Divers, 1997)

Asi po 6 týdnech narostl počet betaglobulinů po primární infekci (Love et al., 1999).

## **3.5.3. Imunita**

Imunitní odpověď namířená proti parazitickým červům je důležitá pro kontrolu těchto infekcí. V některých případech tato imunitní odpověď může značně zhoršit onemocnění, regulovat imunitní odpovědi na ostatní stimuly. O imunitní odpovědi na parazitické červy se doposud mnoho neví, takže není překvapením, že zatím neexistují žádné vakcíny nebo přesné diagnostické postupy. Imunita proti parazitickým červům je obvykle posuzována podle značného úbytku parazitického zatížení u imunních jedinců. Tradiční názor je takový, že koně opakovaně vystavení parazitům prostředí, získají specifickou imunitu (Klei, 2000). Výsledky z experimentálních infekcí ukazují, že starší koně, kteří byli vystaveni v minulosti infekci, jsou odolní proti opakované infekci a jejich odolnost je zaměřena na všechny stádia vývojového cyklu parazita (Klei and Chapman, 1999). Parazitické červy můžeme rozdělit do třech kategorií na základě rychlosti a úrovně imunity, kterou vyvolávají. V prvním případě

imunita je silná a nastupuje rychle a způsobuje například *Strongyloides westeri* a *Parascaris equorum*. Dospělci těchto parazitů se v ročních zvířatech vyskytují vzácně. Ve druhé kategorii, která zahrnuje strongylidy se imunita vyvíjí pomalu a je neúplná, a proto určitá úroveň infekcí přetrvává po celý život jedinců. Ve třetí kategorii získaná rezistence není prokázána na žádném stupni a lze usuzovat, že dospívající koně jsou útočištěm mnoha parazitů a nezralých jedinců (Klei, 2000). Aktuální údaje založené na terénním pozorování naznačují, že koně získávají odolnost vůči cyathostomins s věkem. Tato imunitní odpověď se pomalu rozvíjí a je neúplná v tom, že většina koní, bez ohledu na věk, skrývají významné populace těchto hlístic. Odolnost proti hlísticím je důležitým aspektem ve vztahu hostitel – parazit. Často hraje hlavní roli při vytvoření a patogenezi těchto nákaz. Pomalý rozvoj imunity vyžaduje dlouhodobější působení parazitů pro úplné dozrání. Postupy spojené s úplně zralou imunitní reakcí proti cyathostomins může být jedna z následujících akcí: rychlé vyhoštění L3, redukce počtu EL3, navození hypobiózy L3 následkem zvýšení počtu EL3, zabití a vyhoštění larev ve sliznici, která by omezila některé či všechny tyto fáze a lumenální parazity, které následně poslouží k dalšímu rozvoji a aktivnímu vyloučení lumenálních L4 a dospělců. Obecně počty fekálních vajíček (FEC, EPG) u dospělých koní jsou nižší než u mladších koní udržovaných v rámci podobné péče a léčebných protokolů. Čas potřebný pro jejich objevení ve výkalech po léčbě stejnými anthelmintiky se nazývá období znovuobjevení vajíček a je často vyšší a kratší u mladších koní než dospělých. To je spojeno se snížením účinnosti léků proti parazitům. Je pravděpodobné, že tento rozdíl je způsoben vyšší zátěží larev ve sliznici u mladých koní, kterým chybí silná imunitní reakce u mladších koní, což umožňuje vyšší úroveň zpětné infekce (Klei and Chapman, 1999).

Současné metody pro odhad zátěže cyathostomins se spoléhají na pitevni vyšetření a kvantitativní vyšetření trusu. Fekálním počtem vajíček zjišťujeme množství lumenálních dospělců. To však neposkytuje informace o slizničním zatížení larválních cyathostomins (Cobb and Boeckh, 2009). Podle specifických larválních protilátek IgG (T) bylo zjištěno, že nejvíce informací je z období od 5 týdnů po infekci, kdy jsou výrazně navýšené hodnoty. Pro posouzení imuno-diagnostického potenciálu antigenních komplexů, specifických protilátek IgG (T), byly analyzovány odpovědi ze séra od experimentálně a přirozeně infikovaných koní s diagnostikovanou larvální cyathostomózou (Kaplan and Matthews, 2004). IgG (T) byly porovnány od poníků, kteří se pásli na kontaminované pastvě, dále od poníků pasoucí se na nekontaminované pastvě a poníků, kteří byli odchováni v podmínkách bez helmintů (Cobb and Boeckh, 2009; Kaplan and Matthews, 2004). Následně všechny skupiny byly experimentálně nakaženy 20.000 L3 za den po dobu 5 dnů. IgG (T) protilátky se analyzovaly

po uplynutí 7 týdnů po nakažení. Specifický larvální antigen IgG (T) v krvi se shoduje s úrovní vystavení cyathostomins. Poníci, kteří se pásli na kontaminované pastvině, měli nejvyšší IgG (T) reakci na oba antigenní komplexy. Poníci odchovaní v podmínkách bez helmintů měli nejnižší IgG (T) reakci a poníci, kteří se pásli na pastvině, která byla předtím obsazená koňovitými, měli střední IgG (T) reakci na oba antigenní komplexy (Kaplan and Matthews, 2004). Výsledky studie ukazují, že IgG(T) protilátky na 25 kDa antigenním komplexu korelují s úrovní expozice cyathostomins. Poníci, kteří byli vystaveni experimentálnímu nakažení, měli sérové IgG(T) hladiny protilátek na 25 kDa komplexu výrazně vyšší než poníci, kteří se pásli na nekontaminovaných pastvinách a poníků chovaných v podmínkách bez helmintů (Cobb and Boeckh, 2009). Významné výsledky byly dosaženy u první skupiny poníků (experimentálně infikovaná skupina), kdy proti-25 kDa komplex IgG(T) protilátek významně koreloval s oběma EL3 a s celkovou zátěží slizničních larev. Ve druhé skupině koní (přirozeně infikovaná skupina) byla též významná korelace proti-25 kDa IgG(T) hladiny protilátek na zátěž slizniční cyathostomins (Cobb and Boeckh, 2009; Kaplan and Matthews, 2004; McWilliam et al., 2010). Tyto výsledky naznačují, že potenciál tohoto antigenního komplexu by se mohl použít jako diagnostický ukazatel slizničních cyathostomins. Je zajímavé, že IgG(T) protilátek 20 kDa antigenního komplexu významně koreluje s počtem čtvrté a páté fáze larev a dospělých cyathostomins (jak je uvedeno u přirozeně infikovaných koní). Tyto výsledky naznačují, že složky 20 kDa komplexu mohou být vyjádřeny v pozdější fázi vývoje životního cyklu, než jsou přítomny v 25 kDa komplexu. Tyto výsledky poskytují další důkazy o platnosti těchto antigenů, zejména 25 kDa komplex jako imunodiagnostický nástroj pro měření intenzity infekce cyathostomins ve střešní stěně (Cobb and Boeckh, 2009; Kaplan and Matthews, 2004). Výsledky získané ze séra z přirozeně infikovaných koní ukázaly, že IgG(T) protilátky na 25 a 20 kDa antigenního komplexu mohou rozlišovat koně s a bez cyathostomins. Koně s podezřením na klinickou larvální cyathostomózu měli významně vyšší antigen-specifické IgG(T) hladiny protilátek. Bylo zjištěno, že se liší, pokud byli koně rozděleni do skupin podle pohlaví a věku. Po rozdělení, měli nejvíce protilátek koně staří 4-7 let. To naznačuje, že tato skupina měla cyathostomins. Koně ve věku 1-3 let, měli střední protilátkovou odpověď a u koní ve věku 10-30 let byla nejnižší střední protilátková odpověď na oba antigenní komplexy. To může být důsledkem věku spojený s poklesem imunitní schopnosti. U koní rozdělených dle pohlaví se ukázalo, že samice mají výrazně vyšší antigen-specifických protilátek v séru než samci. Doplnkové studie jsou nutné k objasnění rozdílů v protilátkové odpovědi (Cobb and Boeckh, 2009). V přirozeně napadených dospělých koních došlo ke zvýšení periferních

eozinofilů, střevních žírných buněk, eozinofilů a EL3. Tyto nálezy ve spojení s poklesem celkového počtu helmintů, luminálních L4, dospělých parazitů a druhů cyathostomins naznačují, že imunitní mechanismy vyvinuly odolnost u dospělých koní a tím poskytují ochranu proti infekcím cyathostomins. Navíc tato pozorování ukazují, že jestliže je kůň vystaven cyathostomins na kontaminované pastvě, získává pomalu rozvíjející se odolnost proti všem stádiím, které jsou v něm přítomné (Kaplan and Matthews, 2004).

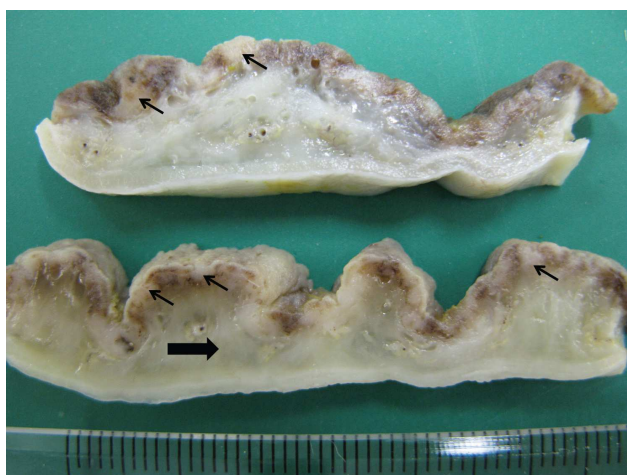
### 3.5.4. Pitva

Vyšetření při pitvě ukázalo přítomnost masivně nafouklé, plynem naplněné střevo, které nemělo prokazatelnou fyzickou překážku. Střevo obsahovalo malé množství požití potravy a střevní sliznice byla překrvená, oteklá a obsahovala velké množství cyathostomins



(Corning, 2009; Lyons et al., 1996; Murphy et al., 1997).

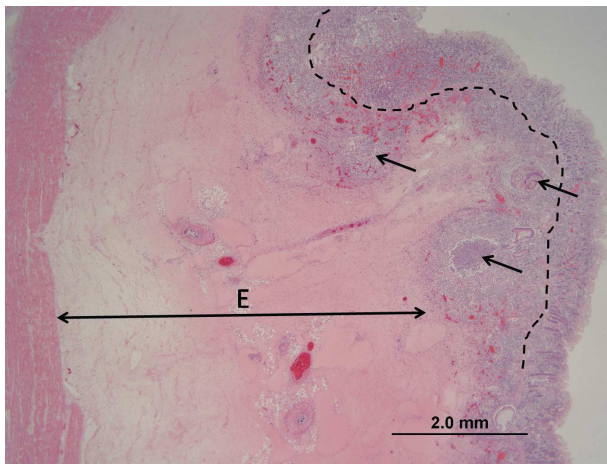
U dalšího případu v důsledku těžkého submukózního edému (obr. 1) byly izolované části střeva přibližně o 1 cm tlustší a měly drsnější, hrudkovitější povrch sliznice. Na povrchu řezu, byly patrné četné bílé hrudky u svalové sliznice (obr. 1) a zároveň zde bylo na stejné úrovni rozptýleno petechiální krvácení (Wobeser and Tataryn, 2009).



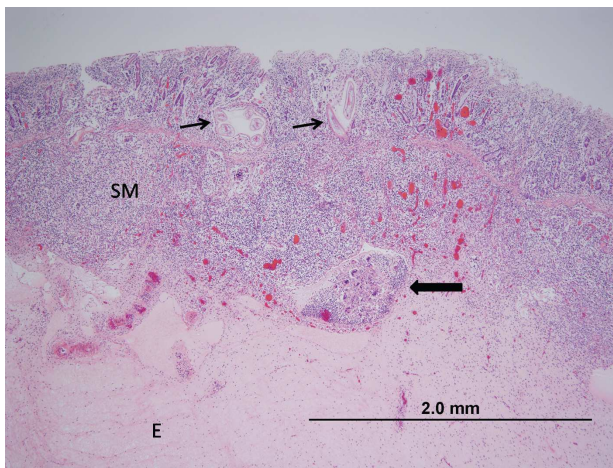
(Obr. 1 – Části tlustého střeva zafixované formalínem z koně s cyathostomins. Je zde silný submukózní edém (široká šipka) a četné světlé uzliny (granulomy - malé šipky) jsou přítomny pod svalovou sliznicí (Wobeser and Tataryn, 2009).

Mikroskopicky byla sliznice masivně

rozšířena o edém, se širokou vrstvou zánětlivých buněk nacházejících se bezprostředně pod svalovou sliznicí (Obr. 2). Lymfocyty byly hojně se vyskytující zánětlivé buňky, spolu s menším počtem plazmatických buněk a eosinofilů. V rámci této vrstvy zde byly četné samostatné granulomy (Obr. 2 a 3). Několik granulomů obsahuje rozpoznatelné larvy hlístic, ale obvykle více obsahují zbytky, které mohou být parazitárního původu, spolu s mnohjadernými obřími buňkami. Některé granulomy byly plné červených krvinek, což naznačuje nedávné krvácení. Interpretovat nález na sliznici bylo náročné z důvodu rozkladu, avšak byl přítomný edém lamina propria (poslizniční vazivo) s přítomností četných plazmatických buněk, lymfocytů a eosinofilů. Části hlístic byly časté ve sliznici, některé byly obklopeny malým množstvím pojivové tkáně, jiné se zdály být v rámci žlázy nebo volně v lamina propria. Zde byly mnohočetné malé krváceniny v lamina propria (Wobeser and Tataryn, 2009).



(Obr. 2 - Fotomikrograf střeva je znázorněno na obrázku 1. Oboustranná šipka ukazuje rozsah submukózního otoku (E). Je zde široká vrstva zánětlivých buněk a několik granulomů (šipky) pod svalovou sliznicí (tečkovaná linka) (Wobeser and Tataryn, 2009).



(Obr. 3 - Fotomikrograf střeva je znázorněno na obrázku 1. Části hlístic jsou viditelné na sliznici (malé šipky). Je zde široká vrstva chronického zánětu v submukóze (SM), stejně jako granulomy obsahují mnoho obřích buněk (široká šipka) (Wobeser and Tataryn, 2009).

Na základě patologického vyšetření, které prokázalo katarální a vláknitý zánět ze slepého a tlustého střeva společně s krvavými ložisky ve sliznici, byl tento stav nazván akutní larvální cyathostomóza (Love et al., 1999; Peregrine et al, 2005; Traversa et al., 2010). Další patologické pozorování dokázalo otok sliznice (Love et al., 1999; Peregrine et al, 2005),

larvální cyathostomins na ploše sliznice, ve střevním obsahu a v trusu, nekrotické uzlíky na sliznici jako následek vnoření larev a jejich rozšíření mezenterickými lymfatickými uzlinami (Love et al., 1999). Po vnoření larev do bazální membrány epitelálních buněk trubkovitých žláz, vyvolávají v lamina propria fibroblastické reakce. Tato reakce se zvyšuje, jak larvy rostou, což má za následek deformaci stavby žlázy, kde v pohárkovitých buňkách může dojít k hyperplazii i hypertrofii. Nevelká buněčná infiltrace se vyskytovala v oblasti pod a kolem zapouzdřené larvy. Infiltrace je z velké části lymfocytární s několika plazmatickými buňkami a v některých případech je velký počet eozinofilů. Příležitostně je tato eozinofilie silná kolem okraje kapsle s larvou a je spojována s vynořováním larvy (Love et al., 1999). Larvy umístěné v submukóze vyvolávají tvorbu husté kapsle fibroblastů a kolagenu spolu s výraznou infiltrací plazmatických buněk, eozinofilů a žírných buněk. Silná buněčná reakce proběhla ve stěně tlustého střeva, která byla rozptýlená ve sliznici lamina propria nebo v submukóze či je intenzivní kolem submukózních larev (Corning, 2009; Love et al., 1999; Peregrine et al, 2005). Byly zjištěny jiné mikroskopické nálezy v tlustém střevě: vláknitý útvar kapsle kolem larev, edém sliznice a submukózy (Love et al., 1999; Peregrine et al, 2005), roztroušené oblasti podslizničního krvácení s infiltrátem eozinofilů (Love et al., 1999; Peregrine et al, 2005), vředy a léze se slizniční kongescí (Peregrine et al, 2005). Přítomnost mnoha granulomů, bez viditelných parazitů či krvácenin, naznačuje nedávné vnoření cyathostomins (Wobeser and Tataryn, 2009).

Byl případ, kdy se výrazný infiltrát mononukleárních buněk a eozinofilů objevil v lamina propria a submukózy lačníku a edém v lamina propria konečníku, což je vzhledem k běžné lokalizaci larev cyathostomins neobvyklé (Love et al., 1999).

### **3.6. Léčba**

Za posledních 40 let se častá léčba koní anthelmintiky stala rutinou. Ačkoliv byla tato praxe úspěšná ve výrazném snižování nemocnosti a úmrtnosti na parazitární nemoci, je kladen silný tlak rezistence populace hlístic cyathostomins. To vyvolává v poslední době obavy ve zdravotním managementu koní (Kaplan and Matthews, 2004). Mnoho různých programů bylo vyzkoušeno v průběhu posledních dvou desetiletí se střídavými úspěchy. Pochopení biologie cyathostomins, rizikových faktorů pro vznik infekce a vhodné používání stále účinných anthelmintik je zásadní pro budoucí korigování této skupiny parazitů. Přestože mladí koně



jsou nejvíce ohroženi, je důležité si uvědomit, že náchylnost k cyathostomins je celoživotní a mohou způsobit klinické onemocnění v jakémkoliv věku koně (Corning, 2009). V současné době slouží k regulaci hlístic u koní tyto anthelmintika: benzimidazol = BZ (fenbendazol, oxfendazol, oxibendazol), tetrahydropyrimidiny = THP (soli pyrantelu) a makrocyclické latkony = MLS (ivermectin, moxidectin, avermectin, milbemycin) (Corning, 2009; Kaplan and Matthews, 2004; Matthews, 2008; Stratford et al., 2011). Cyathostomins jsou rezistentní k většině dostupných anthelmintik. I přes intenzivní léčbu může zemřít až 50 % napadených zvířat. Stádium EL3 je odolná k většině tříd anthelmintik, takže i koně pravidelně odčervení se mohou nakazit larvami cyathostomins (Kaplan and Matthews, 2004). Je vhodné používat anthelmintika s vysokou účinností, které sníží zatížení pastviny od larev a jedny, které by byly účinné proti zacystěným cyathostomins (Corning, 2009). Dávkování anthelmintik je rizikový faktor pro navození průjmu, související s cyathostomins (Love and McKeand, 1997). Pouze dva léky mají účinnost proti zacystěným cyathostomins: moxidectin a fenbendazol (Peregrine et al, 2005). Před léčbou by se mělo udělat hematologické a biochemické vyšetření (Mair and Divers, 1997).

### **3.6.1. Benzimidazoly**

Rezistence na benzimidazoly je již nyní velmi rozšířená na celém světě (Kaplan and Matthews, 2004; Matthews, 2008; Stratford et al., 2011). Kvůli vysoké prevalenci rezistence na benzimidazol u cyathostomins se očekává, že převážná většina koní, léčených anthelmintiky dle léčebného programu, bude napadena středním až vysokým podílem odolných červů. Vychází se z předpokladu, že anthelmintika odstraní citlivé hlístice (larvy i dospělé) a přeživší jedinci zůstanou díky své odolnosti. Ti mohou rychle vytvořit novou populaci, která je vysoce odolná proti anthelmintikům s benzimidazolem. Nedávná studie potvrzuje, že se toto přesně děje (Kaplan and Matthews, 2004). Navíc se po léčbě fenbendazolem zjistilo nahromadění T-lymfocytů kolem netknutých larev tvořící granulomy spolu s eozinofily a silný zánět sliznice tlustého střeva (Cobb and Boeckh, 2009; Corning, 2009). Po léčbě fenbendazolem (FBZ) se snížil počet fekálních vajíček (FEC, EPG) (Kaplan and Matthews, 2004). Bylo dokázáno, že po aplikaci jedné dávky fenbendazolu účinkoval na 100 % dospělců. Při pětidenní léčbě se jeho účinnost mírně snižuje (95 % účinnost na slizniční larvy a 91 % účinek na zacystěné larvy) (Mair and Divers, 1997; Stratford et al., 2011). Snížení FEC je považováno za dostatečně vysoké pro jednu dávku léčby, ale měla by



být uvážena nepřijatelnost pro následnou larvicidní léčbu, protože všechny prosté vajíčka by byly velmi odolné (Kaplan and Matthews, 2004). Rezistence na benzimidazoly je rozšířená, některé cyathostomins však mohou být vnímavé na oxinbendazol (Mair and Divers, 1997).

### **3.6.2. Tetrahydropyrimidiny**

U tetrahydropyrimidinu bylo dokázáno, že jediná dávka odstraní 89 - 96 % dospělých cyathostomins (Stratford et al., 2011). Na tetrahydropyrimidiny je rezistence podstatně nižší než u benzimidazolů, ale vypadá to, že roste (Kaplan and Matthews, 2004).

### **3.6.3. Makrocyclické laktony**

Rezistence na avermectin / milbemycin prozatím nebyla hlášena (Kaplan and Matthews, 2004). Jediná dávka moxidektinu (MOX) měla dobré trvalé účinky a prokázalo se, že je účinná proti všem stádiím cyathostomins (90,8 % účinnost na EL3) (Cobb and Boeckh, 2009; Corning, 2009; Deprez and Vercruyssen, 2003; Love and McKeand, 1997; Mair and Divers, 1997; McWilliam et al., 2010; Stratford et al., 2011). Farmakokinetické údaje naznačují, že tato vyšší účinnost může být kvůli delší době zdržení v plazmě a vyšší plazmatické koncentrace moxidektinu ve srovnání s ivermectinem po perorálním podání (Deprez and Vercruyssen, 2003). Koně léčení moxidektinem mají významně vyšší tělesnou kondici a hmotnost (Kaplan and Matthews, 2004). Po léčbě nebyl zjištěn zánět sliznice tlustého střeva, jak tomu bylo u fendenbazolu (Cobb and Boeckh, 2009; Corning, 2009). MOX může být též používán s jinými účinnými anthelmintiky pro široké spektrum hlístic. Nespornou výhodou je jeho vysoká účinnost, ale i nejdelší období znovuoobjevení vajíček. Bylo zjištěno, že u narozených hříbat, jejichž matka byla léčena MOX, byla tělesná hmotnost vyšší než u hříbat narozených z matek, které byly léčeny IVM (Cobb and Boeckh, 2009). Nicméně, nedávno se začaly objevovat zprávy o rezistenci na MOX (McWilliam et al., 2010). Ivermectin (IVM) je velmi účinný proti dospělým cyathostomins (Stratford et al., 2011), ale má malou či vůbec žádnou účinnost proti EL3 (Deprez and Vercruyssen, 2003; Mair and Divers, 1997). Tato třída léčebných přípravků se používá ve větší míře, kvůli své dobré účinnosti na cyathostomins, relativní bezpečnosti a je jen málo zpráv o rezistenci (Corning, 2009).

### 3.6.4. Terapie klinické cyathostomózy

Bodecek et al. (2010) uvádí terapii pro klinické cyathostomins, která se skládá z pětidenních dávek fenbendazolu, na kterou naváže jednorázová dávka ivermectinu nebo moxidektinu (Bodecek et al., 2010; Kaplan and Matthews, 2004). Kortikoidy jsou doporučovány pro léčbu larvální cyathostomózy společně s podpůrnou léčbou při



závažných případech ztráty tekutin, hypoproteinémií a acidobazickou nerovnováhou (Bodecek et al., 2010). Volba analgetik je založena na uvážení dle jednotlivých klinických případů, jelikož mohou vést k narušení střevní motility (Love and McKeand, 1997). Kvůli rozšířené rezistenci na benzimidazol v populacích cyathostomins, by měla být léčba FBZ používána s rozvahou a účinnost léčby by se měla sledovat pomocí FEC (Kaplan and Matthews, 2004). Anthelmintikum společně s kortikosteroidy může mít synergický účinek: kortikosteroidy zmírňují imunitní mechanismy, slizniční paraziti urychlí další vývoj a dospějí do stádia, kdy jsou náchylnější k působení anthelmintik (Mair and Divers, 1997; Love and McKeand, 1997).

### 3.6.5. Prognóza

Obecně platí, že horší prognóza je u ztráty hmotnosti či průjmu, které trvaly déle než 3 týdny před zahájením léčby nebo je-li zřejmá hypoalbuminémie, neutrofilie či hemokoncentrace (Love and McKeand, 1997).

### 3.6.6. Studie a její výsledky

Zkoumaly se účinky IVM a MOX na dvou skupinách koní. Kritéria pro zařazení do této studie bylo mít alespoň jeden z těchto symptomů: přítomný akutní průjem, úbytek hmotnosti,

přítomnost larev ve stolici. Po dobu 3 týdnů byly sledovány klinické, parazitologické a bakteriologické parametry, chemické složení krve, přítomnost larev červů ve stolici (makroskopicky), EPG, počet larev (LPG). Obě léčby byly efektivní. Odstranily makroskopické a mikroskopické larvy ze stolice do 1 až 2 týdnů. Během 21 denního pozorování se nevýrazně zvýšila hmotnost, zlepšily klinické a krevní parametry. V této studii nebyl prokázán významný rozdíl mezi těmito anthelmintiky, neboť netrvala dostatečně dlouho, aby se prokázal (Deprez and Vercruyse, 2003).

### **3.6.7. Vyšetření trusu**

Dělá se testem redukce počtu vajíček v trusu (FECRT). Při něm se porovnává počet vajíček v trusu (FWEC) před a 10-14 dní po aplikaci anthelmintika. Výsledkem by mělo být minimální snížení vajíček o 85%. Infikovanou skupinu nejlépe porovnáваме s neléčenou skupinou pro kontrolu. Při larvální cyathostomóze jsou původci helminti neprodukcující vajíčka, tzn. nenaleznou se žádné vajíčka v trusu (Mair and Divers, 1997).

### **3.6.8. Období znovuobjevení vajíček**

Období znovuobjevení vajíček (ERP) je období, kdy odlučování vajíček je zanedbatelné či pod prahovou hodnotou. Pro každou třídu antihelmintik je toto období jiné (6 - 8 týdnů u BZ, 6 týdnů u THP, 8 - 10 týdnů u IVM a 13 týdnů u MOX) (Matthews, 2008; Stratford et al., 2011). V posledním desetiletí se však ERP v některých případech zkrátilo. To může ukazovat na vývoj rezistence v rámci populace hlístic (Stratford et al., 2011). Vývoj rezistence byl potvrzen u IVM, kde se ERP snížilo z 8 týdnů na 5 týdnů (Matthews, 2008). Rezistence se v současné době považuje za trvalou vlastnost s malou šancí návratu k citlivosti (Stratford et al., 2011), která je dědičně předávána za generace na generaci (Matthews, 2008).

Nejúspěšnější protiprůjmová léčba v případě cyathostomins je ústní podávání kodein fosfátu (Mair and Divers, 1997; Love and McKeand, 1997). Nutno podotknout, že kodein fosfát není držitelem licence veterinárního přípravku (Love and McKeand, 1997). Léčba klinické cyathostomózy je složitá a zdlouhavá, pravděpodobně z důvodu velkého počtu intramuskulárních larev společně s rozsáhlými lézemi. Plné funkční využití střeva může trvat

několik měsíců stejně jako u koní v rekonvalescenci po chirurgickém zákroku při střevní kolice (Deprez and Vercruyse, 2003).

### 3.7. Prevence

Odstraňovat výkaly z pastviny nejméně dvakrát za týden je efektivní způsob, jak výrazně snížit zátěž od cyathostomins (Matthews, 2008; Peregrine et al, 2005). Dále by mělo být provedeno každoročně vyšetření trusu a sledovat účinnost anthelmintik, provedením počítání vajíček v době léčby a znovu po 10 až 14 dnech. Měla by se používat pouze účinná anthelmintika (Peregrine et al, 2005), podávaná přesně dle váhy zvířete a při příchodu nového jedince umístit jej do karantény (Matthews, 2008). Nenechávat příliš dlouhé intervaly mezi podáváním anthelmintik (Love and McKeand, 1997).

## 4. Závěr

Ačkoliv by se mohlo zdát, že za celou tu dobu je tato podčeleď důkladně ve všech ohledech prostudována, není tomu tak. Stále chybí důležité poznatky o vývoji jednotlivých druhů těchto hlístic. Důležitým objevem je jev zvaný hypobióza, který se vyskytuje jen u této podčeleď. Díky ní dokážou cyathostomins v hostiteli být tak dlouhou dobu, po kterou se můžou hromadit ve stěně tlustého střeva. Při hromadném vynoření, jenž se nazývá larvální cyathostomóza, pozorujeme na koni klinické příznaky. Zde je uvedeno několik z nich: kolika, průjem, který může zapříčinit hubnutí, podkožní edém, sezónní malátnost, deprese apod. To je jen zlomek příznaků, které jsou lidé schopni pozorovat bez invazivního zákroku na koni. Tento okamžik může být pro hostitele i smrtící, pokud je larev velké množství (v rámci milionů). Neméně důležitý je rozbor krve, jenž může ukázat, co se přesně děje za procesy v hostiteli. Měl by se provádět při každém podezření na larvální cyathostomózu. U koní lze pozorovat tyto děje: hypoalbuminémie, hypoproteinémie, proteinurie, neutrofilie, sérová alkalická fosfatáza, leukocytóza, eozinofilie, anémie aj. Imunitní systém koně se s tímto parazitárním onemocněním dokáže vypořádat postupem času sám. V nejhorším případě jedinec uhynie. Zkoumají se IgG (T) protilátky, které by prokázaly přítomnost larválních cyathostomins a tím zjednodušily diagnostiku onemocnění. Při pitvě se sledují vnitřní

anatomické změny jako např. edém sliznice, nekrotické uzlíčky, překrvení, nahromadění eozinofilů i makrofágů, zánět aj. Léčba larvální cyathostomózy je velmi problematická neboť na většinu anthelmintik jsou cyathostomins rezistentní. Jen skupina makrocyclických laktonů má výborné výsledky při léčebném programu. Patří do ní moxidektin a ivermectin. Sice donedávne doby žádné hlášení rezistence na tyto přípravky nebylo, ale postupem času se první případy objevily. Léčebný program by měl být předem promyšlen, aby nedošlo k neúmyslnému vytvoření rezistence na anthelmintika. V tomto ohledu majitelé koní musí mít přehled o této problematice, případně nechat odborné rozhodnutí na svém ošetřujícím veterinárním lékaři. Prevence je důležitým faktorem pro eliminaci cyathostomins. Měly by se alespoň jednou týdně odstranit výkaly z pastviny, dodržovat časový rozestup při aplikaci anthelmintik a udělat vyšetření trusu. Ne vždy však se v něm najdou vajíčka, což je běžné v případě, že kůň trpí klinickou larvální cyathostomózou, kdy se v trusu běžně nevyskytují či jen ve velmi malém množství. Pokud se kůň začne léčit až po třech týdnech, kdy se objevily první klinické příznaky, je prognóza horší. I přes intenzivní léčbu může pacient uhynout.

## 5. Přehled zkratk, vysvětlivky

Amfidy – senzorické orgány na hlavě

Anémie (chudokrevnost) – v krvi je snížené množství erytrocytů a hemoglobinu

BZ - benzimidazol

Deiridy – senzorické orgány na krku

Edém - otok

ELC – vnější listová koruna

Enteropatie – onemocnění střeva

Eosinofilie - zvýšení počtu eosinofilů v periferní krvi

ERP - období znovuobjevení vajíček

FBZ - fenbendazol

FEC (EPG, FECRT) - počet fekálních vajíček

Fruktosamin - glykosylovaný protein

Gubernaculum – druhotný pohlavní znak

Hemokoncentrace – zvýšení počtu červených krvinek v poměru k plazmě (snížení objemu plazmy nebo zvýšení koncentrace cirkulujících červených krvinek)

Hyperplazie – zvětšení orgánů způsobené zmnožením jednotlivých buněk  
Hypertrofie – zvětšení některého orgánu či jeho části  
Hypoalbuminémie – snížená hladina albuminu v krvi  
Hypokalcémie – snížené množství vápníku v krvi  
Hypoproteinémie – výrazné snížení krevních bílkovin  
ILC – vnitřní listová koruna  
Intususcepce - invaginace, vchlípení  
IVM - ivermectin  
Kongesce – překrvení orgánu či tkáně  
Lamina propria – vrstva sliznice tvořená vazivem  
LPG – počet larev na gram tkáně  
Leukocytóza – chorobné zmnožení bílých krvinek  
Metabolická acidóza – narušení acidobazické rovnováhy, kdy klesá pH (kyselé)  
MLS - makrocyclické latkony  
Microcystis – zmenšené červené krvinky  
MOX - moxidektin  
Nestrangulační infarkty - nekróza  
Neutrofilie – zvýšení počtu neutrofilů v periferní krvi  
Proteinurie – přítomnost bílkovin v moči  
Sérová alkalická fosfatáza – enzym, který patří mezi hydrolázy  
Submukózní - podslizničí  
Tyflitida – zánět slepého střeva  
THP - tetrahydropyrimidiny  
Tympanie – nadmutí břicha, střevní plynatost

## **6. Seznam literatury**

Anderson, R. C., Chabaud, A. G., Willmott. 1980. Cih keys to the nematodes parasites of vertebrates. Commonwealth Agricultural Bureaux. England. p. 8-9. ISSN 0305-2729.

Bodecek, S., Jahn, P., Dobesova, O., Vavrouchova, E. 2010. Equine cyathostomosis: case reports. Veterinarni Medicina. 55 (4). 187 - 193.

- Cobb, R., Boeckh, A. 2009. Moxidectin: a review of chemismy, pharmacokinetics and use in horses. *Parasites & Vectors*. 2(Suppl 2). S5.
- Corning, S. 2009. Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors*. 2(Suppl 2). S1.
- Couto, M. C. M., Quinelato, S., Santos, C. N., Souza, L. S., Sampaio, I. B. M., Rodrigues, M. L. A. 2008. Environmental influence in cyathostominae ecology. *Veterinarni medicina*. 53. 243 - 249.
- Couto, M. C. M., Quinelato, S., Cordeiro, F. C., Sampaio, I. B. M., Rodrigues, M. L. A. 2011. Migratory dynamics of cyathostomin larvae in a Bermuda grass pasture in South America. *Veterinarni Medicina*. 56 (4). 168 - 172.
- Deprez, P., Vercruyse, J. 2003. Treatment and Follow-Up of Clinical Cyathostominosis in Horses. *Journal of Veterinary Medicine*. 50. 527 - 529.
- Dowdall, S. M. J., Proudman, C. J., Klei, T. R., Mair, T., Matthews, J. B. 2004. Characterisation of IgG(T) serum antipody responses to two larval antigen complexes in horses naturely- or experimentally- infected with cyathostomins. *International Journal for Parasitology*. 34(1). 101 - 108.
- Gras M. L., Usai, F., Stancampiano, L. 2011. Strongylosis in horses slaughtered in Italy for meat production: Epidemiology, influence of the horse origin and evidence of parasite self-regulation. *Veterinary Parasitology*. 179. 167 - 174.
- Kaplan, R. M., Matthews, J. B. 2004. Equine cyathostomins. *Veterinary Parasitology*. 125. 203 - 220.
- Klei, T. R. 2000. Equine imunity to parasites. *Veterinary clinics of north America: Equine practice*. 16 (1). 69 - 76.

- Klei, T. R., Chapman, M. R. 1999. Immunity in equine cyathostome infections. *Veterinary Parasitology*. 85. 123 - 136.
- Lichtenfels, J. R., Kharchenko, V. A., Krecek, R. C., Gibbons L. M. 1998. An annotated checklist by genus and species of 93 species level names for 51 recognized species of small strongyles (Nematoda: Strongyloidea: Cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world. *Veterinary Parasitology*. 79. 65 - 79.
- Lichtenfels, J. R., Kharchenko, V. A., Dvojnjos, G. M. 2008. Illustrated identification keys to strongylid parasites (strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). *Veterinary Parasitology*. 156. 4 - 161.
- Lichtenfels, J. R., Gibbons L. M., Krecek, R. C. 2002. Recommended terminology and advances in the systematics of the Cyathostominae (Nematoda: Strongyloidea) of horses. *Veterinary Parasitology*. 107. 337 - 342.
- Love, S., McKeand, J. B. 1997. Cyathostomosis: practical issues of treatment and control. *Equine Veterinary Education*. 9 (5). 253-256.
- Love, S., Murphy, D., Mellor, D. 1999. Pathogenicity of cyathostome infection. *Veterinary Parasitology*. 85. 113 - 122.
- Lyons, E. T., Bernard, W. V., Hong, C. B., Swerczek, T. W. 1996. The pathogenicity of small strongyle larva in Thoroughbred yearlings on a Kentucky farm. *Veterinary Medicině*. 91. 466 - 472.
- Mair, T. S., Divers, T. J. 1997. Self-Assessment Colour Review of Equine Internal Medicine. Manson Publishing Ltd. London. p. 192. ISBN: 1-874545-74-X.
- Mathee, S., Krecek, R. C., Gibbons, L. M. 2002. *Cylicocyclus asini* n. sp. (Nematoda: Cyathostominae) from donkeys *Equus asinus* in South Africa. *Systematic Parasitology*. 51. 29 - 35.



- Matthews, J. B. 2008. An update on cyathostomins: Anthelmintic resistance and worm control. *Equine Veterinary Education*. 20 (10). 552 - 560.
- McWilliam, H. E. G., Nisbet, A. J., Dowdall, S. M. J., Hodgkinson, J. E., Matthews, J. B. 2010. Identification and characterisation of an immunodiagnostic marker for cyathostomins developing stage larvae. *International Journal for Parasitology*. 40 (3). 265 - 275.
- Murphy, D., Love, S. 1997. The pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. *Veterinary Parasitology*. 70. 99 - 110.
- Murphy, D., Keane, M. P., Chandler, K. J., Goulding R. 1997. Cyathostome-associated disease in the horse: Investigation and management of four cases. *Equine veterinary Education*. 9 (5). 247 - 252.
- Peregrine, S. A., McEwen, B., Bienzle, D., Koch G. T., Weese S. J. 2006. Larval cyathostominosis in horses in Ontario: An emerging disease? *Canadian veterinary Journal*. 47. 80 - 82.
- Smets, K., Shaw, D. J., Deprez, P., Vercruyssen, J. 1999. Diagnosis of larval cyathostominosis in horses in Belgium. *Veterinary Record*. 144. 665 - 668.
- Stratford, C. H., McGorum, B. C., Pickles, K. J., Matthews, J. B. 2011. An update on cyathostomins: Anthelmintic resistance and diagnostic tools. *Equine veterinary Journal*. 43 (39). 133 - 139.
- Traversa, D., Milillo, P., Barnes, H., von Samson-Himmelstjerna, G., Schurmann, S., Demeler, J., Otranto, D., Lia, R. P., Perrucci, S., Frangipane di Regalbano, 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. *Veterinary Parasitology*. 168. 84 - 92.
- van Loon, G., Deprez, P., Muylle, E., Sustronck, B. 1995. Larval Cyathostomiasis as a Cause of Death in Two Regularly Dewormed Horses. *Journal of Veterinary Medicine*. 42. 301-306.

Wobeser, G., Tataryn, A. 2009. Cyathostominosis in a horse from Saskatchewan. The Canadian veterinary Journal. 50. 1099 - 1100.