

UNIVERZITA KARLOVA V. PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

# **DIPLOMOVÁ PRÁCE**

2010

EVA LOCHMANOVÁ

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
**Katedra farmakologie a toxikologie**

**Hemonchóza ovce domácí - výsledky laboratorní kontroly  
v průběhu experimentální infekce**

**Diplomová práce**

**Vedoucí diplomové práce:** prof. RNDr. Jiří Lamka, CSc.

Hradec Králové 2010

Eva Lochmanová

**Prohlášení:**

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.“

V Hradci Králové dne 10. 5. 2010

Eva Lochmanová

**Poděkování:**

Mé upřímné poděkování patří panu prof. RNDr. Jiřímu Lamkovi, CSc. za kvalifikované vedení a cenné rady a připomínky. Dále bych ráda poděkovala vedoucí grantového projektu FaF 160/53/105 301 doc. RNDr. Lence Skálové, Ph.D., za podmínky vytvořené k realizaci práce.

Také bych chtěla touto cestou poděkovat svému příteli Ing. Lukášovi Mudrochovi za podporu a pomoc při vlastním psaní práce a jejím technickém řešení.

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra farmakologie a toxikologie

Kandidát: Lochmanová Eva  
Školitel: prof. RNDr. Jiří Lamka, CSc.

Název diplomové práce: Hemonchóza ovce domácí - výsledky laboratorní kontroly v průběhu experimentální infekce

Helmintorezistence je předmětem zájmu mnoha odborných pracovišť, neboť přináší praktickým chovům hospodářských zvířat vysoké ztráty a výhledově představuje limitující faktor pro existenci samotných chovů. Jsou studovány mechanismy vedoucí ke vzniku helmintorezistence, k nim patří i možnost indukce biotransformačních enzymů, kterých parazit (oblý červ) využívá pro překonání kontaktu s tímto, pro něho samotného, xenobiotikem. Využívány jsou parazitární modely, dlouhodoběji i *Haemonchus contortus*. Tři kmeny parazita (plně citlivý, plně rezistentní, rezistentní pouze na benzimidazolová anthelmintika) modelově využívá i pracoviště Katedry biochemických věd Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Parazité jsou experimentálně chováni na ovcích. Cílem této práce bylo experimentálně zdokumentovat pomocí parazitologických metodik průběh experimentálních parazitóz všech zmíněných kmenů. Byly podány L<sub>3</sub> larvy *Haemonchus contortus* a v individuálním trusu zvířat odebraným rektálně byl kvantitativně stanovován parazitologický nález (počet vajíček/ 1 gram trusu). Bylo prokázáno, že interval mezi podáním infekčních L<sub>3</sub> larev zvířatům a vylučováním vajíček trusem je v rozmezí 12 – 27 dní, průměrně 21 dní. Na konci každé studie byla zvířata z experimentu vyřazena a z jejich slezů byli získáni dospělci *Haemonchus contortus*. Tito červi byli následně použiti pro další výzkum v oblasti helmintorezistence na Katedře biochemických věd Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové.

## ABSTRACT

Charles University in Prague  
Faculty of Pharmacy in Hradec Králové  
Department of Pharmacology and Toxicology

Candidate: Lochmanová Eva  
Supervisor: prof. RNDr. Jiří Lamka, CSc.

Title of diploma thesis: Ovine hemonchosis – results of its laboratory control in course of experimental infection

The anthelmintic resistance is a matter of interest in many professional workplaces, as it creates high losses for practical farm animals breeding and it represents a potentially limiting factor for the existence of their own holdings. The mechanisms leading to the anthelmintic resistance emergence are studied, and among them there is also the possibility of induction of biotransformation enzymes, that the parasites (round worms) use to overcome the contact with what is xenobiotics for themselves. Parasitic models and in the long term also *Haemonchus contortus* are used. Three strains of the parasite are used in the Department of Biochemical Sciences Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Kralove: fully susceptible, fully resistant, resistant only to benzimidazole anthelmintics. Parasites are experimentally reared in sheep. The aim of this thesis was to experimentally document parasitoses experimental course all of these strains by parasitological methods. L<sub>3</sub> larvae *Haemonchus contortus* were given to the sheep, and individual animal faeces collected rectally quantitatively determined Parasitology award (number of eggs / 1 gram faeces). The interval from 12 to 27 days (21 days on average) between infecting the animals with L<sub>3</sub> larvae and the excretion of eggs was detected. At the end of each study the animals were removed from experiment and the adult *Haemonchus contortus* were collected from their abomasums. These worms were subsequently used for further research on anthelmintic resistance at the Department of Biochemical Sciences Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Kralove.

# OBSAH

1.	ÚVOD.....	1
2.	TEORETICKÁ ČÁST .....	2
2.1	Systematické zařazení modelového parazita .....	2
2.2	Rod <i>Haemonchus</i> .....	2
2.3	Původce parazitózy - <i>Haemonchus contortus</i> .....	3
2.3.1	Morfologie .....	3
2.3.2	Životní cyklus a způsob přenosu .....	5
2.3.3	Klinické příznaky hemonchózy a patologické nálezy .....	6
2.3.4	Diagnostika hemonchózy.. .....	7
2.3.5	Léčba hemonchózy .....	8
2.3.6	Prevence hemonchózy .....	9
2.4	Ovce domácí .....	9
2.4.1	Systematické zařazení.....	9
2.4.2	Stručná charakteristika vývoje chovu ovcí v ČR.....	10
2.4.3	Význam chovu ovcí .....	10
2.4.4	Specifika zažívacího traktu ovcí.....	11
2.4.5	Plemeno Merinolandschaft .....	11
2.4.6	Plemeno Suffolk .....	11
2.4.7	Nejčastější parazitózy ovcí .....	12
3.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	15
3.1	Metodika parazitologického vyšetření.....	15
3.1.1	Sběr a uchování vzorků .....	15
3.1.2	Metodika kvalitativního vyšetřování .....	15
3.1.3	Metodika kvantitativního vyšetřování .....	15
3.2	Použité kmeny <i>H. contortus</i> .....	16
3.3	Rozvržení a časový sled experimentů.....	17
3.4	Experiment č. 1 .....	18
3.5	Experiment č. 2 .....	19
3.6	Experiment č. 3 .....	20
3.7	Experiment č. 4 .....	22
3.8	Experiment č. 5 .....	23

4.	VÝSLEDKY .....	25
4.1	Experiment č. 1 .....	25
4.2	Experiment č. 2 .....	27
4.3	Experiment č. 3 .....	29
4.4	Experiment č. 4 .....	30
4.5	Experiment č. 5 .....	32
5.	DISKUZE .....	34
5.1	Počty vajíček.....	34
5.2	System ustájení .....	34
5.3	Porovnání výsledků s literaturou .....	35
5.4	Produkce vajíček s ohledem na kmen <i>H. contortus</i> .....	34
5.5	Důvody úhynu jehňat během experimentu .....	36
6.	ZÁVĚR .....	37
7.	LITERATURA .....	38



# 1. ÚVOD

Helmintorezistence je v současné době jedním z největších problémů v chovech hospodářských zvířat. *Haemonchus contortus* je velmi často využíván jako parazitární model při studiu mechanismů vedoucích ke vzniku helmintorezistence. Tento parazit je současně i jedním z nejdůležitějších parazitů infikujících ovce, který sáním krve hostitele způsobuje poruchy orgánů, jejich funkcí a tím mění normální fyziologické parametry, které se v konečném důsledku promítají do ekonomické stránky chovu.

Cíle diplomové práce byly:

1. Kontrola úspěšnosti odčervení jehňat
2. Infikace jehňat larvami *Haemonchus contortus* a sledování produkce vajíček
3. Zisk dospělců *Haemonchus contortus*

Tito červi jsou následně využiti k dalšímu výzkumu v oblasti helmintorezistence parazitů na anthelmintika. Tato studie (grantové číslo 160/53/105 301) je řešena na Katedře biochemických věd Farmaceutické fakulty v Hradci Králové pod vedením doc. RNDr. Lenky Skálové, Ph.D.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

Tato část se v teoretické rovině zaměřuje na parazitózu způsobenou vlasovkou slezovou (*Haemonchus contortus*), tzv. hemonchózu. U ovcí patří toto infekční onemocnění k nejčastějším a ekonomicky nejvýznamějším parazitózám a vyskytuje se též u skotu a dalších přežvýkavců. Onemocnění je vyvoláno oblými červy (*Nematoda*) čeledi *Trichostrongylidae*. Časté jsou smíšené infekce několika druhů, které parazitují od slezu po tlusté střevo hostitele (Jagoš a kol. 1982).

### 2.1 Systematické zařazení modelového parazita

Systematické zařazení parazita do taxonomie:

<b>Říše:</b>	<i>Animalia</i>
<b>Podříše:</b>	<i>Polycytozoa</i>
<b>Kmen:</b>	<i>Vermes</i>
<b>Třída:</b>	<i>Nematoda</i>
<b>Podtřída:</b>	<i>Strongylata</i>
<b>Řád:</b>	<i>Strongylida</i>
<b>Čeleď:</b>	<i>Trichostrongylidae</i>
<b>Rod:</b>	<i>Haemonchus</i> (Kotrlá a Kotrlý 1977, Páv a kol. 1981)

### 2.2 Rod *Haemonchus*

*Haemonchus* je rod gastrointestinální hlístice z čeledi *Trichostrongylidae* parazitující ve sliznici slezu skotu, ovcí, koz, případně dalších přežvýkavců (viz. Tabulka 1). Živí se krví definitivního hostitele. Vývoj je přímý, bez mezihostitele (Kotrlá 1984).

Následující tabulka uvádí jednotlivé druhy vlasovek a jejich výskyt u živočišných druhů.

**Tabulka 1 – Rod *Haemonchus* – výskyt jeho druhů u hostitelů parazitózy**

druh vlasovky	výskyt parazitózy
<i>Haemonchus bedfordi</i>	afričtí buvoli, gazely
<i>Haemonchus contortus</i>	většina přežvýkavců
<i>Haemonchus dinniki</i>	gazely
<i>Haemonchus krugeri</i>	impaly
<i>Haemonchus lawrenci</i>	antilopy
<i>Haemonchus longistipes</i>	velbloudi, dromedárové
<i>Haemonchus mitchelli</i>	gazely
<i>Haemonchus placei</i>	skot, ovce
<i>Haemonchus similis</i>	skot, jeleni
<i>Haemonchus vegliai</i>	antilopy

(<http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/Haemonchus>)

## 2.3 Původce parazitózy - *Haemonchus contortus*

*Haemonchus contortus* (*H. contortus*), známý také jako vlasovka slezová, je velmi častý parazit a jeden nejvíce patogenní červ přežvýkavců. Dospělí červi se přisávají k sliznici slezu a živí se krví.

Onemocnění se vyskytuje v podhorských a zaplavovaných pastvinách, v deštivém období, hlavně v létě. Ekonomické ztráty vznikají hynutím hostitelů parazitózy (zejména jehňat), snížením přírůstků, produkce vlny (i mléka) a zaostáváním ve vývinu. Starší ovce jsou odolnější, stávají se však nosiči parazitů (Jagoš 1982).

### 2.3.1 Morfologie

Červi *H. contortus* jsou nitkovitého tvaru. Samečci jsou velcí 14-22 x 0,287-0,389 mm. Mají silně vyvinutou bursu copulatrix. Dvoulaločná burza je vyztužená různě uspořádanými žebry. Spikuly samců, které při kopulaci zasouvají do pohlavního otvoru samic, jsou krátké (0,460-0,506 mm), masivní a na konci nitkovité. Spikuly jsou tmavohnědé barvy. Samičky mají rozměry 17-28 x 0,378-0,564 mm. Pohlavní otvor

samičky v kaudální části je kryt nápadným záhybem vybíhající pokožky (Ryšavý 1953, Kotrlá 1984).

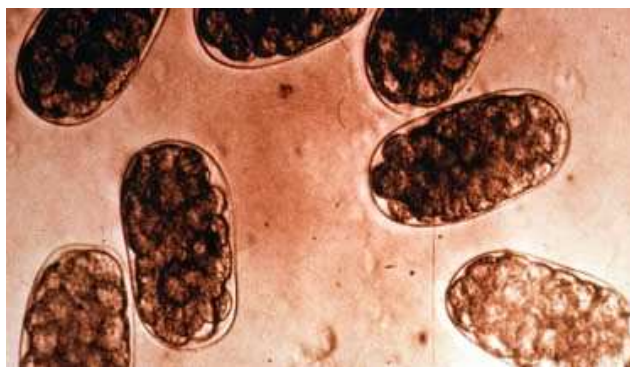
Na předním konci těla je rudimentární ústní kapsula, jež obsahuje kyjovitý zub, pomocí něhož paraziti narušují cévy. Obě pohlaví mají v hlavovém konci vystupující cervikální papily. Samičky jsou charakteristické svými bílými točivými vaječníky, které prosvítají, takže dávají vzhled spirálně stočené růžovobílé stužky (Erhardová a kol. 1953) a samci jsou červené barvy.



**Obrázek 1 – Samička - Haemonchus contortus**

(Dostupný z: <http://xyala.cap.ed.ac.uk/nematodeESTs/species/HCC.jpg>)

Vajíčka jsou oválná, někdy mohou být asymetrická. Velikost vajíček je 0,066 - 0,095 x 0,040 – 0,050 mm a jsou kladena rozrýhovaná na 16–32 blastomer, v nichž prosvítají světlejší středy (Ryšavý a Erhardová 1953).



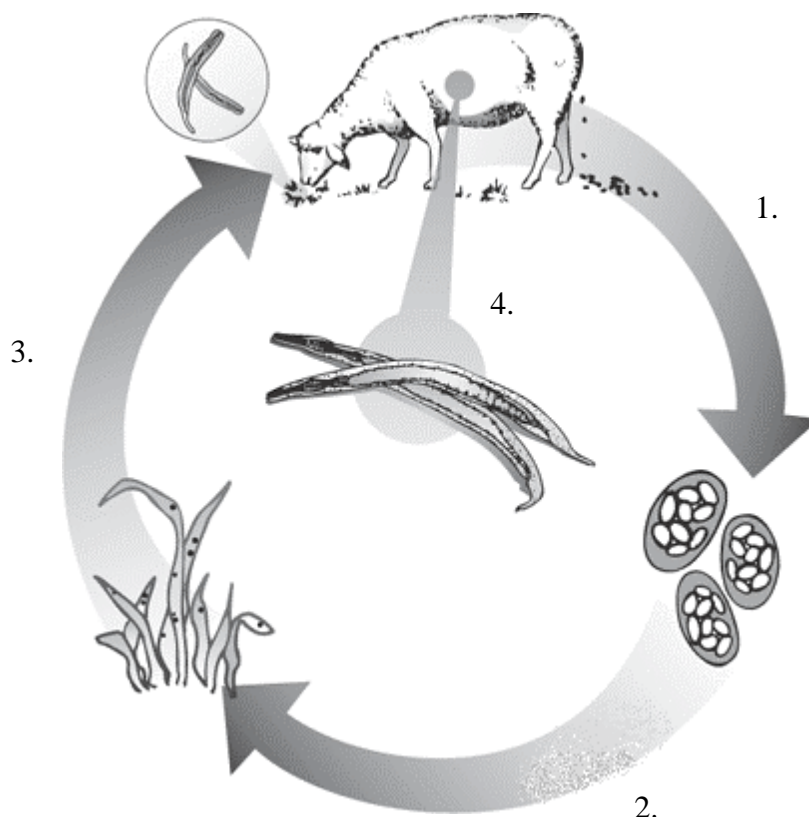
**Obrázek 2 - Vajíčka Haemonchus contortus**

(Dostupný z:

<http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/22413.htm&word=haemonchus> )

### 2.3.2 Životní cyklus a způsob přenosu

Dospělé vlasovky žijí ve 4. žaludku přežvýkavců – slezu. Jsou přisáty na žaludeční sliznici. Dospělá samička červa může za den vyprodukovat 5000 - 10000 vajíček, která vyjdou do vnějšího prostředí společně s trusem, kde se po 3 - 4 dnech vyvine ve vaječném obalu larva. Larva vaječný obal rozpouští a cestuje po vlhké trávě do různé vzdálenosti od trusu. Tato larva není ještě schopna vyvolat nákazu. Kdyby ji zvěř pozřela, byla by v žaludku strávena. Není také odolná vůči teplotním a vlhkostním výkyvům. Teprve za 6-8 dní po vylíhnutí, kdy již prodělala druhé svlékání, se stává larvou infekční. Larva pokožky při svlékání neodvrhne, zůstává v nich. Pokožky ji chrání vůči nepříznivým podmínkám, proto vydrží i vyschnutí během letních měsíců i zimní období se silnými mrazy. Zvířata se nakazí při pastvě, především za rosy a deště, kdy larvy cestují po travinách (Kotrlá 1984).



Obrázek 3 - Životní cyklus *H. contortus*

**1. Infekční larva je pozřena zvířetem, 2. Dospělé larvy vylučují vajíčka, která s trusem vycházejí do vnějšího prostředí, 3. Z vajíček se na vzduchu líhne larva, která se stává infekční. 4. Dospělí červi žijí ve slezu 3-6 měsíců.**

(Převzato a upraveno z: [http://www.wormbestrijding.nl/schaap\\_worm01.html](http://www.wormbestrijding.nl/schaap_worm01.html))

Infekční larva je spolknuta zvířetem a prochází nejprve třemi předžaludky až se dostane do slezu, kde je zbavena kutikuly. Larvy se mění a vytváří čtvrté stádium v průběhu 48 hodin po dosažení slezu. Ty poté penetrují výstelku žaludku a začínají sát krev. Kapénky krve vytváří okolo larvy prostředí se sraženinami krve.

Asi za 3 dny červi dospívají, vyplouvají ze sraženin a naposledy se přeměňují v dospělé jedince. Dospělci se přichycují k sliznici slezu a asi za 2 týdny začínají produkovat první vajíčka (Ryšavý a Erhardová 1953).

### 2.3.3 Klinické příznaky hemonchózy a patologické nálezy

Paraziti způsobují změny na žaludeční sliznici, což vede ke špatné funkci zažívacích orgánů. Zvíře nemá dostatek výživných látek, navíc tím, že cizopasníci vysávají krev, kterou se živí, dochází k postupné chudokrevnosti (Kotrlá 1984).

Je prokázáno, že jeden dospělý červ odnímá hostiteli až 0,005 ml krve denně. Při infekci 500 červů to činí denně až 25 ml krve (Páv a kol. 1981).



Obrázek 4 - Dospělci hemoncha ve slezu

(Dostupné z: <http://sciencewatch.com/dr/erf/2008/08aprerf/08aprerfKap1/>)

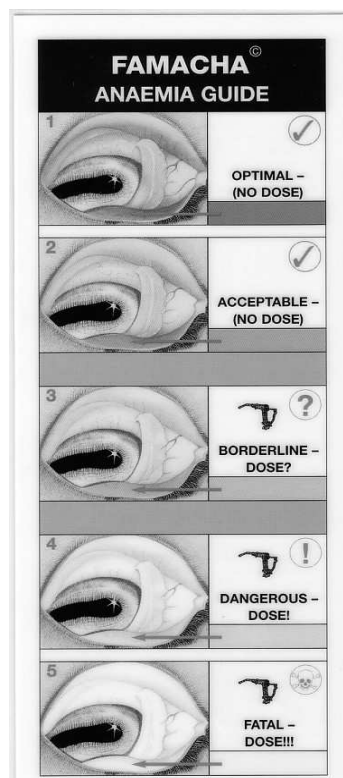
Pronikání škodlivých zplodin z cizopasníků do organismu nemocných zvířat působí pomalou otravu. Nemocná zvěř ztrácí odolnost vůči všem tělesným zatížením a ubývá na váze. Klinické příznaky se vyznačují průjmem, žíznivostí, nechutenstvím, chudokrevností, rychlým hubnutím, vysílením až ulehnutím a případně i úhynem. Průjmy způsobují značně znečištěnou řitní krajinu, srst je bez lesku. Při silném napadení mají otoky v krajině břišní a na hlavě. Straní se ostatních, vždy stojí s vyklenutým

hřbetem stranou. Při zimním nedostatku potravy a vysokém sněhu se přidružují další, bakteriální infekce a snižuje se i odolnost proti jiným cizopasníkům, může docházet k úhynu (Kotrlá a kol. 1984).

### 2.3.4 Diagnostika hemonchózy

Klinický nález je nutno doplnit koprologickým vyšetřením na vajíčka parazitů. Diagnózu lze potvrdit pitvou uhynulých nebo nutně poražených zvířat. Podrobnější popis flotační metody je uveden v kapitole 2.5.

Napadení parazitem lze také odhalit pomocí tzv. FAMACHA © systému. Je to poměrně jednoduchý test, který byl vyvinut v Jižní Africe, a je stále více používán jako součást integrovaných programů pro tlumení výskytu parazitů, pro snížení nákladů antiparazitické léčby a také pro zpomalení výskytu rezistence (<http://www.smallstock.info/tools/disease-nutrition/FAMACHA.htm>).



Obrázek 5 - FAMACHA karta (originální karta je v barevném provedení)

(Dostupný z: <http://www.smallstock.info/tools/disease-nutrition/FAMACHA.htm>)

Porovnává barvu sliznice spodního víčka u ovce nebo kozy s barevnou kartou, a na tomto základě je možné posoudit, jak moc zvířata trpí sáním krve parazity, a to zejména vlasovkou slezovou.

### 2.3.5 Léčba hemonchózy

Současný rozvoj farmaceutického průmyslu umožňuje léčbu velké části parazitárních chorob a tudíž i žaludeční a střevní červivosti. Před uvažovanou léčbou je vhodné provést vyšetření trusu zvěře na přítomnost vajíček parazitů (Hromas a kol. 2008), nebo lze použít výše zmíněnou metodu FAMACHA

(<http://www.smallstock.info/tools/disease-nutrition/FAMACHA.htm>).

K léčbě se v současnosti používají léčiva řazená do skupin makrocyclických laktonů, benzimidazolů a imidazothiazolů.

#### 2.3.5.1 Makrocyclické laktony

Makrocyclické laktony, jsou léčiva biosyntetického původu s antinematodní a antiectoparazitární účinností. Původně tradovaný mechanismus účinku, který byl spojován výhradně s ovlivněním GABA neurotransmise na nervových vláknech parazitů, byl novějšími studii opraven v tom smyslu, že nejvýznamější roli na receptorech ovládajících chloridové kanály hraje glutamát. Funkčnost tohoto neurotransmiteru makrocyclické laktony žádoucím směrem pozměňují (Lamka a Ducháček 2008).

Ivermektin je historicky prvním léčivem avermektinové skupiny, i v současnosti stále patří mezi nejvýznamější makrocyclické laktony a zároveň i veterinární léčiva. Působí proti vývojovým i dospělým stádiím hlístic (Lamka a Ducháček 2008).

#### 2.3.5.2 Benzimidazoly

Skupina benzimidazolových anthelmintik je nejrozsáhlejší skupinou antinematod odvozenou od jediné chemické struktury. Část benzimidazolů patří k anthelmintikům s vůbec s nejširším spektrem účinku. Mechanismus účinku všech benzimidazolů spočívá v tom, že se váží na  $\beta$ -tubulin a vyvolávají depolymerizaci cytoplazmatických mikrotubulů, takže je narušen proces tvorby mikrotubulů. Většina léčiv této skupiny působí proti vývojovým i dospělým stádiím helmintů, některé látky i ovocidně. K léčivům celé skupiny benzimidazolů může vzniknout i anthelmintická rezistence (Lamka a Ducháček 2008).



### 2.3.5.3 Imidazothiazoly

Imidazothiazoly jsou dlouhodobě užívaná skupina anthelmintik mající výhradně antinematodní účinky. Jsou účinné proti dospělým i vývojovým stádiím nematod, ovocidní účinky však nemají (Lamka a Ducháček 2008).

Mechanismus účinku používaného levamisolu je založen na paralýze a následném pasivním vyloučení hlístů. Stimuluje kontrakci ganglionové struktury červů, vyvolává neuromuskulární inhibici depolarizovaného typu a následnou paralýzu. Ve vyšších koncentracích rovněž inhibuje fumarátovou reduktázu enzymů, čímž inhibuje energetickou produkci parazitů (AISLP 2010).

### 2.3.6 Prevence hemonchózy

Prevence spočívá v pravidelném odčervování, vyrovnané výživě zvířat a odděleném chovu jehňat. Nutná je hygiena ovčínů, výběhů, napajedel a přístřešků na pastvě. Pastviny se nesmějí početně přetěžovat, musí se pravidelně střídat. Značný význam mají meliorace, pravidelné ošetření a hnojení pastvin dusíkatými hnojivy (Jagoš 1982).

## 2.4 Ovce domácí

V této práci jsme jako modelové zvíře použili ovci domácí, kterou jsme po prvotním odčervení experimentálně infikovali parazitem *H. contortus* a následně sledovali stav parazitózy.

### 2.4.1 Systematické zařazení

<b>Říše:</b>	Živočichové ( <i>Animalia</i> )
<b>Kmen:</b>	Strunatci ( <i>Chordata</i> )
<b>Třída:</b>	Savci ( <i>Mammalia</i> )
<b>Řád:</b>	Sudokopytníci ( <i>Artiodactyla</i> )
<b>Pořád:</b>	Přežvýkaví ( <i>Ruminantia</i> )
<b>Čeleď:</b>	Turovití ( <i>Bovidae</i> )
<b>Rod:</b>	Ovce ( <i>Ovis</i> ) (Kuchtík 2007)

## 2.4.2 Stručná charakteristika vývoje chovu ovcí v ČR

Dle historických pramenů patří ovce mezi nejdříve domestikovaná zvířata (Kuchtík a kol. 2007).

Na našem území se chovají od 9. století. Jejich rozšíření je spojeno se slovanským osidlováním. Ovčí produkty byly zdrojem potravy, ošacení a v prvopočátcích se ovce používaly i jako obětiny.

Z počátku se ovce chovaly pastýřským, tzv. valašským – salašnickým způsobem. Stádově se začaly chovat až za feudalismu. V té době o ovce pečovali ovčáctí mistři, jejichž práce byla společensky vysoce vážená a ceněná. Období rozkvětu je spojováno se zakládáním spolků chovatelů ovcí na počátku 19. století, kdy se u nás chovalo přes 2 miliony ovcí. Řada příčin však způsobila postupnou stagnaci ovčáctví. Nepříznivé okolnosti pro chov ovcí trvaly i v období tzv. první republiky. To mělo za následek praktickou likvidaci chovu. V roce 1935 se u nás chovalo již jen 40 302 ovcí.

Po roce 1945 se početní stavy ovcí vyvíjeli nerovnoměrně (Horák a kol. 2001).

Stavy ovcí poklesly od roku 1990 do roku 2009 o 57,4 %. Prudký pokles počtu ovcí od roku 1992 se zastavil v roce 2000, kdy začaly počty ovcí pomalu vzrůstat.

**Tabulka 2 - Vývoj počtu ovcí v posledních letech**

1990	1992	1994	1996	1998	2000	2002	2004	2006	2008	2009
429714	342069	196030	134009	93557	84108	96286	115852	148412	183618	183084

(Holá 2009)

## 2.4.3 Význam chovu ovcí

V současné době má chov ovcí jak v českém, tak v evropském rozměru dvojí význam a to produkční a mimoprodukční. Hlavními produkty z chovu ovcí jsou maso, vlna, mléko a kůže, vedlejšími pak lanolín, krev, střeva, předžaludky, lůj, rohy, kosti, paznehty, endokrinní žlázy apod.

Nepřímý užitek chovu ovcí spočívá v produkci mrvy, v košárování, což je specifický způsob hnojení hůře dostupných ploch a také v možnosti využití ovcí při spásání pastvin a rostlinných zbytků. Nazanedbatelný je také význam chovu ovcí z pohledu agrotechnického.

#### **2.4.4 Specifika zařívacího traktu ovcí**

Trávicí ústrojí přežvýkavců je přizpůsobeno k využívání objemné rostlinné potravy díky předžaludku vytvořenému před vlastním žaludkem. Předžaludek umožňuje zvířatům v krátké době přijmout na pastvě velké množství potravy, kterou mohou v době klidu přežvýkat. Potrava v předžaludku podléhá fyzikálním změnám a zejména mikrobiálnímu trávení. Tím se přežvýkavci zásadně odlišují od ostatních druhů býložravců, u nichž dochází k trávení celulózy až v tlustém střevě. Předžaludek a žaludek tvoří u přežvýkavců v břišní dutině rozsáhlá ústrojí, v nichž se potrava skladuje, mechanicky zpracovává, v předžaludku ji dále zpracovávají mikroorganismy a ve slezu je vystavena účinkům žaludeční šťávy. Předžaludek má tři části, které vznikly jako rozšíření jícnu. Jsou to bachor (rumen), který je největší, čepce (reticulum) a kniha (omasum). Slez (abomasum) je vlastní žaludek přežvýkavců (Miholová a Lipský 1976, Komárek 1964).

#### **2.4.5 Plemeno Merinolandschaft**

Je to plemeno kombinovaného užitkového typu, tzn. k současné produkci vlny a masa. Ovce tohoto plemene jsou polojemnovlnné, bezrohé, většího tělesného rámce. I když plemeno Merinolandschaft pochází z oblasti s mírným klimatem, poměrně dobře se u nás toto plemeno adaptovalo i podhorských oblastech. Ovce tohoto plemene se vyznačují relativně vysokou asezónností říje. Průměrný denní přírůstek jehňat v odchovu je 250 – 300 gramů. Jatečné trupy vykazují i při vyšších živých hmotnostech poměrně nízkou míru ztučnění (Kuchtík a kol. 2007).

#### **2.4.6 Plemeno Suffolk**

Suffolk je plemeno masného typu původem z Anglie, s polojemnou a krátkou vlnou, středního až většího tělesného rámce, s dlouhou a širokou zádí a dobře osvalenou plecí, hřbetem a kýtou. Vlna je bílá a rouno polouzavřené. Hlava a končetiny jsou černé, bez vlny. Pro toto plemeno jsou charakteristické výborné mateřské vlastnosti, mírný temperament a poměrně vysoká odolnost vůči nepříznivým klimatickým podmínkám. Růstová schopnost jehňat v odchovu je velmi dobrá, u jehňat je i při pastevním výkrmu dosahováno denních přírůstků přesahujících hranici 300 gramů (Kuchtík a kol. 2007).

### 2.4.7 Nejčastější parazitózy ovcí

Ovce jsou napadány velkým počtem různých parazitů, kteří tím způsobují problémy zdravotní, tak i ekonomické. Zde se pokusím přiblížit nejčastější endoparazitózy ovcí.

#### 2.4.7.1 Červivost slezová a střevní

Toto infekční onemocnění patří u ovcí k nejčastějším, nejrozšířenějším a ekonomicky nejvýznamějším parazitózám. Častým původcem u ovcí je vlasovka slezová (*H. contortus*), parazitující na sliznici slezu a živící se krví. Dalšími parazity ve slezu a tenkém střevě jsou *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia curticei*, *Nematodirus filicollis* a četné druhy rodu *Trichostrongylus*. Onemocnění je charakterizováno střídavým nechutenstvím. Po počáteční zácpě nastupuje průjem. Při chronickém průběhu onemocnění se vyvíjí chudokrevnost, hubnutí až úplná kachexie. V mezisaniči a na spodině břišní se objevují nezářlivé studené otoky, zhoršuje se růst i kvalita vlny, která často vypadává (Jagoš a kol. 1982).

#### 2.4.7.2 Červivost plicní

Plicní červivost se vyskytuje zejména ve vlhčích horských a podhorských oblastech, kde způsobuje citelné škody. Paraziti z čeledi *Metastrongylidae* jsou specifictí pro ovce, kozy a divoce žijící přežvýkavce. *Dictyocaulus* má přímý vývoj (geohelminth), naproti tomu protostrongylidy potřebují mezihostitele (různé druhy suchozemských plžů). Samičky kladou vajíčka, z nichž se ještě v hostiteli uvolňují larvy, které se s vykašlaným a polknutým hlenem dostávají do trusu a vnějšího prostředí.

Diktyokaulóza – původcem je plicnivka ovčí (*Dictyocaulus filaria*) žijící v průdušnici a průduškách a vyvolává bronchitidy, někdy i vznik drobnějších bronchopneumonických ložisek

Protostrongylidóza – původcem je především *Mullerius capillaris*, plicnivka obecná, která vytváří v parenchymu plic parazitární uzlíky a líhňová ložiska (Jagoš a kol. 1982).

#### 2.4.7.3 Motoličnatost

Motoličnatost se vyskytuje kromě ovcí také u skotu, koz a divoce žijících přežvýkavců. Původcem je *Fasciola hepatica*. K vývoji potřebuje mezihostitele hlemýžďe – plovatku

bahenní. Již v období migrace larev může vzniknout tzv. akutní fasciolóza, která může v důsledku poškození jater a vnitřního krvácení vést k úhynu jehňat. Doprovodným příznakem bývá průjem. Další motolicí parazitující v játrech přežvýkavců, zejména u ovcí, je motolice kopinatá (*Dicrocoelium dendriticum*). Potřebuje dva meziphostitele, a to postupně suchozemské plže a mravence, jejichž pozřením se zvíře invaduje. V hostiteli migrují metacerkarie ze střev proti proudu žluče od žlučvodů. Chorobné změny se proto omezují na tuto oblast v podobě chronických zánětů (Jagoš a kol. 1982).

#### 2.4.7.4 Střečkovitost

Onemocnění se vyskytuje ve všech pastevních oblastech, má sezónní charakter a v některých letech vyvolává vážné ekonomické ztráty. Nemoc je charakterizována chronickým zánětem nosních a hlavových dutin, popřípadě postižením CNS. Původcem onemocnění jsou larvy střečka ovčího, dvoukřídlé, šedožluté, mírně ochlupené mouchy (Jagoš a kol. 1982).

#### 2.4.7.5 Vrtohlavost

Vrtohlavost je parazitární onemocnění mozku ovcí vyskytující se sporadicky. Probíhá chronicky. Původcem onemocnění je larvocysta tasemnice *Taenia multiceps*, která parazituje u psovitých šelem. Meziphostiteli jsou hlavně ovce (Jagoš a kol. 1982).

#### 2.4.7.6 Tasemnice

Původcem onemocnění je několik druhů tasemnic, z nichž v našich podmínkách parazitují u ovcí především *Moniezia benedeni*, vyskytující se hlavně u jehňat, u dospělých pak *Moniezia expansa*. Meziphostiteli jsou různé druhy půdních a travních roztočů, v nichž se vyvíjí cysticerkoidy. Zvířata se nakazí pozřením roztočů s krmivem. Tasemnice žijí v tenkém střevě, kde rychle rostou (Jagoš a kol. 1982).

#### 2.4.7.7 Kokcidióza

Toto onemocnění je též nazýváno červená úplavice. Probíhá jako katarální až hemorrhagický zánět střev, postihující hlavně jehňata. Původcem může být více než 10 druhů patogenních kokcidií, převážně z podrodu *Eimeria*. Vývoj parazita probíhá bez mezihostitele, a to ve 3 fázích, v hostiteli jako tzv. agamogonie, gametogonie a konečně exogenně probíhající sporogonie (Jagoš a kol. 1982).

#### 2.4.7.8 Prašivina

Onemocnění vyvolávají roztoči z čeledi *Acaridae*. Podle stupně zamoření dochází u napadených zvířat ke značným ztrátám v produkci vlny a ke zhoršení celkového stavu. Původcem je *Psoroptes ovis*, relativně velká a pouhým okem viditelná zákožka. Její vývoj probíhá přes vajíčko, larvu, nymfu I. a II. Stadia až do stadia dospělého jedince (tzv. imago) a trvá za optimálních podmínek 10 – 12 dnů. Zákožka nabodává pokožku, vyvolává zánět kůže a živí se pak lymfou a exudátem (Jagoš a kol. 1982).

### **3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

#### **3.1 Metodika parazitologického vyšetření**

##### **3.1.1 Sběr a uchování vzorků**

Vzorky byly odebírány rektálně do igelitových rukavic. Každý vzorek byl označen číslem ušní známky zvířete a datem sběru. Vzorky byly uchovány do doby vyšetření v mrazáku při teplotě  $-18^{\circ}\text{C}$ .

##### **3.1.2 Metodika kvalitativního vyšetřování**

K hodnocení parazitostatu pokusných zvířat před léčbou a po léčbě bylo využito kvalitativní flotační metody.

Navážené 2,0 gramy trusu byly rozetřeny v třecí misce s přiměřeným množstvím flotačního roztoku chloridu sodného. Vzniklá suspenze se přefiltrovala přes sítko do 100 ml kádinky. Kádinka s obsahem se nechala 5 minut ustát a poté se na hladinu za pomoci pinzety položilo krycí sklíčko. Po 25 minutách se krycí sklíčko opatrně vyjmulo, přiložilo na podložní sklíčko a důkladně prohlédlo pod mikroskopem (Ryšavý a Erhardová 1953).

##### **3.1.3 Metodika kvantitativního vyšetřování**

Pro stanovení EPG (Eggs per gram = počet vajíček na gram) byla použita kvantitativní ovoskopická metoda s využitím flotačních roztoků chloridu sodného nebo thiosíranu sodného. K určení počtu vajíček v hodnoceném vzorku byla použita počítací komůrka McMasterova. Komůrka se skládá z podložní skleněné desky o rozměrech 7,5 x 2,6 cm. Horní plocha je rozdělena 3 skleněnými destičkami přesně 1,5 mm vysokými na dvě stejně veliká políčka. Postranní skleněné destičky jsou 1,5 cm široké, střední 4 mm široké. Přes ně je položena skleněná destička o rozměrech 7,5 x 1,7 cm, na jejíž spodní ploše jsou vyryty dvě počítací sítky o ploše  $1\text{ cm}^2$ , rozdělené příčnými rýhami na 6 stejných dílů, které slouží k vlastnímu počítání vajíček.

K vyšetření byly naváženy 2,0 gramy trusu, které se důkladně rozetřely v třecí misce s 20 ml flotačního roztoku. Poté byla suspenze přefiltrována přes sítko do skleněné kádinky a přes sítko doplněná zbylou flotační tekutinou do objemu 60 ml. Všechna

tekutina z kádinky byla vrácena zpět do odměrného válce, k níž byly přidány 1-2 kapky amylalkoholu pro stabilizaci vajíček. Před samotným plněním počítací komůrky byl obsah válce důkladně promíchán a vzorek se odpipetován asi z 1/3 – 1/2 výšky vodního sloupce. K odebrání vzorku byla použita skleněná pipeta, která byla plněna samovztlakem (Komise pro laboratorní a klinickou diagnostiku 1989).

Po naplnění obou oddílů komůrky se spočítala pod mikroskopem všechna vajíčka v prostoru ohraničeném vyrytými mřížkami. Z každého vzorku trusu se počítají vždy 4 políčka (2 komůrky). Počítá se zleva doprava, vajíčka ležící na rysce se počítají do součtu vajíček uvnitř mřížky.

Každé nalezené vajíčko znamená 50 vajíček v 1 g trusu. Průměrný počet vajíček ve 4 polích x 200 udává počet vajíček v 1 g trusu (Komise pro laboratorní a klinickou diagnostiku 1989).

### **3.2 Použité kmeny *H. contortus***

K experimentálním infekcím byly použity různě citlivé kmeny *H. contortus* k anthelmintikům. Jedním z kmenů byl kmen ISE, u kterého nebyla objevena žádná rezistence na anthelmintika, a je tedy plně citlivý. Dalším použitým kmenem byl WR (White River) kmen, který vykazuje zkříženou rezistenci proti ivermektinu, benzimidazolům, klosantelu a rafoxanidu. Poslední použitý kmen BZ je rezistentní na anthelmintika ze skupiny benzimidazolů.



### 3.3 Rozvržení a časový sled experimentů

Každý experiment začal sestavením skupiny pokusných zvířat, která byla separovaně ustájena. Všem zvířatům byl odebrán trus a vyšetřen kvalitativní metodou na přítomnost vajíček parazitů. K odčervení byla použita suspenze připravená z 20% Vermitanu v koncentraci 22,5 g/ 100 ml s methylcelulózou jako vehikulem. Po odčervení touto suspenzí v dávce 30 mg/ kg ž. hm., byla zvířata opět vyšetřena kvalitativní metodou. V případě optimálního nálezu (tj. bez průkazu infekčních zárodků) byla podána suspenze s L<sub>3</sub> larvami jednotlivých kmenů *H. contortus*. Infekce byla následně sledována pomocí kvantitativní metody vyšetřování trusu, který byl odebírán v intervalu asi 3,5 dne. Na konci každého experimentu byla zvířata z pokusu vyřazena a ze slezů zvířat byly izolovány dospělé larvy parazita *H. contortus*.

### 3.4 Experiment č. 1

Tato studie probíhala v chovu ovcí ve Skochovicích, u chovatele ZEM, a.s. Nový Bydžov. K experimentu byly použity ovce plemena Merinolandschaft, která byla ustájena separovaně podle jednotlivých kmenů *H. contortus*.

Tabulka 3 – Označení zvířat, datum narození, podaný kmen a dávka *H. contortus*

číslo ušní známky zvířete	datum narození zvířete	podaný kmen <i>H. contortus</i>	dávka L <sub>3</sub> larev <i>H. contortus</i>
♂ 29829	14.8.2008	ISE	6600
♀ 34196	14.8.2008	WR	7800
♀ 34195	10.8.2008	BZ	7200
♂ 29830	4.9.2008	ISE	6600

ISE – citlivý na anthelmintika

WR (White River) – zkřížená rezistence na ivermektin, benzimidazoly, klosantel, rafoxanid

BZ – rezistentní na benzimidazoly

Zvířatům byla dne 9. 10. 2008 podána odčervovací suspenze a poté byla provedena dvakrát v termínech 8. a 9. 10. 2008 kontrola parazitostatu. Dne 4. 11. 2008 byla zvířata nainfikována výše uvedenými kmeny *H. contortus* a po třech týdnech byly pravidelně odebírány vzorky trusu, které byly následně vyšetřeny kvantitativní metodou na přítomnost vajíček parazitů. Dne 3. 12. 2008 zvíře č. 29829 uhynulo, bylo proto ještě během experimentu nahrazeno zvířetem č. 29830. Dne 17. 2. 2009 byl ukončen sběr trusu, jehňata byla z experimentu vyřazena a ze získaných slezů byli izolováni dospělci *H. contortus*.

Vzorky byly vyšetřovány pomocí chloridu sodného jako flotačního roztoku.

### 3.5 Experiment č. 2

Následující studie byla provedena na farmě v Lužci nad Cidlinou, která majetkově patří ZEM, a.s. Nový Bydžov. Ovce plemena Merinolandschaft zde byly ustájeny separovaně od ostatních, ale nebyly odděleny jednotlivě podle kmenů, kterými byly infikovány.

Tabulka 4 - Označení zvířat, datum narození, podaný kmen a dávka *H. contortus*

číslo ušní známky zvířete	datum narození zvířete	podaný kmen <i>H. contortus</i>	dávka L <sub>3</sub> larev <i>H. contortus</i>
29858 ♂	3.2.2009	ISE	7000
34222 ♀	1.2.2009	ISE	7000
34224 ♀	3.2.2009	ISE	7000
34229 ♀	6.2.2009	ISE	7000
29855 ♂	1.2.2009	WR	7000
34206 ♀	1.1.2009	WR	5000
34220 ♀	1.2.2009	WR	7000
34232 ♀	17.2.2009	WR	7000
29837 ♂	9.12.2008	BZ	4600
34223 ♀	2.2.2009	BZ	5200
34225 ♀	3.2.2009	BZ	5200
29856 ♂	1.2.2009	kontrola	0
29859 ♂	10.2.2009	kontrola	0
34200 ♂	8.12.2008	kontrola	0

ISE – citlivý na anthelmintika

WR (White River) – zkřížená rezistence na ivermektin, benzimidazoly, klosantel, rafoxanid

BZ – rezistentní na benzimidazoly

Experiment začal 3. 6. 2009, kdy bylo provedeno vyšetření trusu na zjištění parazitostatu před odčerváním. Dne 9. 6. 2009 byla zvířata opět navzorkována a byla jim podána odčervovací suspenze.

Dne 23. 6. 2009 byla zvířatům podána suspenze kmenů *H. contortus* a následně byly vzorky trusu od 7. 7. 2009 odebírány průměrně v 3,5 denním intervalu.

Vzorky byly vyšetřovány pomocí chloridu sodného jako flotačního roztoku.

### 3.6 Experiment č. 3

Do tohoto experimentu bylo zařazeno šest zvířat, samic, chovaných v odděleném výběhu na ovčí farmě v Bělči nad Orlicí. Ovce plemena Suffolk nebyly ustájeny separovaně podle jednotlivých kmenů, kterými byly infikovány.

Tabulka 5 - Označení zvířat, hmotnost, podaný kmen a dávka *H. contortus*

číslo ušní známky zvířete	hmotnost zvířete (kg)	podaný kmen <i>H. contortus</i>	dávka L <sub>3</sub> larev <i>H. contortus</i>
33015	31,5	ISE	4000
32979	34,5	BZ	4000
33114	30,5	ISE	4000
29113	30,5	WR	4000
33119	32,0	WR	4000
33059	32,0	BZ	4000

ISE – citlivý na anthelmintika

WR (White River) – zkřížená rezistence na ivermektin, benzimidazoly, klosantel, radoxanid

BZ – rezistentní na benzimidazoly

Dne 15. 9. 2009 byla zvířatům podána odčervovací suspenze. Ve stejný den byl proveden i odběr trusu, pouze zvíře č. 33059 bez trusu.

Dne 21. 9. 2009 byl odebrán kontrolní trus a podány kmeny larev v počtu 4000 ks na zvíře. Tyto larvy byly získány od MVDr. Mariána Várady Dr.Sc. a jeho spolupracovníků z Parazitologického ústavu SAV v Košicích.

Vzorky trusu byly vyšetřovány flotační metodou za použití thiosíranu sodného.

Výpočet dávky kmenu s larvami *H. contortus* :

Larvy ISE kmenu byly dodány v počtu 28800 v 6 ml. K získání 4000 larev k infekci bylo potřeba 0,83 ml kmenu.

WR kmen obsahoval v 5,2 ml 27670 larev a proto jsme k infekci použili 0,75 ml. Kmen BZ byl použit v množství 0,57 ml pro jedno zvíře, jelikož celkové množství kmenu s objemem 5,5 ml obsahovalo 37950 larev.

Tímto způsobem výpočtu dávky jsme postupovali i v dalších experimentech.

Jelikož i po odčervení přetrvával pozitivní parazitologický nález, byla zvířatům 24. a 25. 9. 2009 podána opětovně dávka albendazolové suspenze. Následně uhynulo 5 zvířat a experiment byl předčasně ukončen.

### 3.7 Experiment č. 4

Tento experiment byl uskutečněn ve stejném chovu a za stejných podmínek jako předešlý. Byla založena nová skupina šesti zvířat, která byla 2. 11. 2009 zvážena, byl jim odebrán trus a podána albendazolová suspenze.

Vyšetřování trusu bylo prováděno flotační metodou za použití thiosíranu sodného.

Tabulka 6 - Označení zvířat, hmotnost, datum narození, podaný kmen a dávka *H. contortus*

číslo ušní známky zvířete	hmotnost zvířete (kg)	datum narození	podaný kmen <i>H. contortus</i>	dávka L <sub>3</sub> larev <i>H. contortus</i>
33114	26,5	3.3.2009	WR	4000
32970	25,0	26.4.2009	WR	4000
32930	29,0	18.4.2009	ISE	4000
32937	30,0	17.4.2009	ISE	4000
32935	27,5	19.4.2009	BZ	4000
33087	35,0	4.3.2009	BZ	4000

ISE – citlivý na anthelmintika

WR (White River) – zkřížená rezistence na ivermektin, benzimidazoly, klosantel, rafoxanid

BZ – rezistentní na benzimidazoly

Dne 10. 11. 2009 byl zvířatům odebrán trus na vzorky, který byl vyšetřen. Po zjištění, že všechna zvířata jsou negativní (s výjimkou č. 33114, kde bylo nalezeno 1 vajíčko *H. contortus* ve 2 vyšetřeních), jim byly podány dne 13. 11. 2009 kmeny s L<sub>3</sub> larvami, v počtu 4000/ks. Dávkování bylo shodné s předchozím experimentem.

Dne 25. 11. 2009 byla zvířata navzorkována, přičemž dvě zvířata posmrtně (č. 32930 a č. 32935). Tato uhynulá zvířata byla následně vyšetřena pitvou. Dne 30. 11. 2009 byl odebrán trus od zbývajících čtyř zvířat. Zvíře s č. 32970 bylo ve velmi špatné kondici, a následně 1. 12. 2009 uhynulo.

V termínech 3. 12., 7. 12. a 10. 12. 2009 byla zvířata pravidelně vzorkována a k poslednímu uvedenému datu utracena a tím byl ukončen i experiment. Ze slezů vyřazených zvířat byly izolováni dospělci parazita.

### 3.8 Experiment č. 5

Pro částečné nezdary v předchozích dvou studiích byla založena nová skupina šesti jehnic a jedno zvíře sloužící jako kontrolní. I tento experiment byl proveden na ovčí farmě v Bělči nad Orlicí a to za stejných podmínek i ve stejném prostředí jako dva předešlé.

Tabulka 7 - Označení zvířat, hmotnost, datum narození, podaný kmen a dávka *H. contortus*

číslo ušní známky zvířete	hmotnost zvířete (kg)	datum narození	podaný kmen <i>H. contortus</i>	dávka L <sub>3</sub> larev <i>H. contortus</i>
37711	31,5	20.4.2009	WR	4000
37754	32,5	9.3.2009	WR	4000
46730	33,0	19.7.2009	BZ	4000
37641	37,5	7.3.2009	BZ	4000
37768	35,0	18.5.2009	ISE	4000
46711	31,0	18.5.2009	ISE	4000
37698	29,5	5.3.2009	kontrola	0

ISE – citlivý na anthelmintika

WR (White River) – zkřížená rezistence na ivermektin, benzimidazoly, klosantel, rafxanid

BZ – rezistentní na benzimidazoly

Studie začala 5. 1. 2010, kdy byl zvířatům odebrán trus a podána anthelmintická suspenze. 12. 1. 2010 byly odebrány kontrolní vzorky trusu po odčervení a 15. 1. 2010 jsme tuto kontrolu provedli ještě jednou. Po zjištění negativních výsledků, byla zvířata 15. 1. 2010 infikována kmeny *H. contortus*. Byly opět použity kmeny WR, BZ, ISE v dávce 4000 larev L<sub>3</sub> pro jedno zvíře. Vzorky trusu byly odebírány průměrně každých 3,5 dne. Dne 2. 3. 2010 byla všechna zvířata vyřazena a z jejich slezů byli izolováni dospělí červi *H. contortus*, kteří byli následně předáni na Katedru biochemických věd Farmaceutické fakulty v Hradci Králové dalšímu výzkumu.

Trus ze střev vyřazených zvířat byl zpracován a odeslán do Parazitologického ústavu SAV v Košicích.



## 4. VÝSLEDKY

Tato kapitola shrnuje zásadní kroky v jednotlivých experimentech a v přehledných tabulkách uvádí počty EPG *H. contortus* nalezených ve vzorcích trusu.

### 4.1 Experiment č. 1

Zvířatům byla dne 9. 10. 2008 podána odčervovací suspenze albendazolu. Následně byla zvířata vyšetřena na přítomnost vajíček parazitů. Odčervení proběhlo úspěšně, jelikož tato vyšetření byla negativní.

Dne 4. 11. 2008 byla zvířatům podána suspenze obsahující larvy *H. contortus*. První nález vajíček v trusu byl zaznamenán u zvířete č. 29829 dne 27. 11. 2008, tzn. 23. den po podání suspenze. U dalších dvou zvířat byla vajíčka nalezena až v následujícím vzorku trusu, který byl odebrán 1. 12. 2008, tedy s 27 denním zpožděním od podání suspenze. Fatální následky měla masivní infekce *H. contortus*, která se objevila u zvířete č. 29829. Tento jedinec byl během studie nahrazen zvířetem č. 29830, které bylo zpočátku stejným způsobem opět odčerveno a následně infikováno larvami *H. contortus*.

**Tabulka 8 – Hodnoty EPG nálezů *H. contortus* v trusu u jednotlivých zvířat v průběhu experimentální infekce**

datum sběru trusu	číselné označení zvířat			
	34195 ♀	34196 ♀	29829 ♂	29830 ♂
24.11.2008	0	0	0	
27.11.2008	0	0	300	
1.12.2008	200	933	19066 <sup>1</sup>	
4.12.2008	733	67		
8.12.2008	0	0		
9.12.2008	67	0		
10.12.2008	0	0		
18.12.2008	0	0		
22.12.2008	67	0		
25.12.2008	0	0		
29.12.2008	0	67		
1.1.2009	100	200		
5.1.2009	2133	133		
8.1.2009	bez vzorku	bez vzorku		533
11.1.2009	67	0		0
15.1.2009	bez vzorku	67		200
19.1.2009	0	0		67
22.1.2009	3467	0		10067
26.1.2009	67	bez vzorku		3067
29.1.2009	200	67		267
2.2.2009	400	bez vzorku		1800
10.2.2009	bez vzorku	bez vzorku		1400
12.2.2009	bez vzorku	bez vzorku		3600
16.2.2009	4866	2866		6333

Vysvětlivky: 1- Zvíře uhynulo

## 4.2 Experiment č. 2

Zvířata byla před podáním anthelmintické suspenze dne 3. 6. 2008 vyšetřena ke zjištění parazitostatu. V mikroskopickém vyšetření byla nalezena vajíčka parazitů rodů *Haemonchus*, *Moniezia* a *Nematodirus*. Dne 9. 6. 2009 byla zvířata opět navzorkována a byla jim podána albendazolová suspenze. Druhé vyšetření vzorků trusu vyšlo s obdobnými výsledky jako předchozí. Vyšetření trusu ze dne 7. 7. 2008 byla u všech jedinců negativní a tento stav se potvrdil i v následujícím vyšetření ze dne 10. 7. 2008. Výsledky z této studie nejsou kompletní, protože nevyšetřené vzorky se nedopatřením zlikvidovali společně s jiným biologickým materiálem. V této studii můžeme hodnotit pouze význam a účinnost odčervení.

Z dostupných údajů můžeme ale konstatovat, že odčervení albendazolem proběhlo úspěšně, a že produkce vajíček nezačala do 17. dne od podání suspenze s larvami *H. contortus*.

V tabulce jsou uvedeny kromě počtů vajíček *Haemoncha* také pozitivní nálezy jiných parazitů (viz. Vysvětlivky).

**Tabulka 9 - Hodnoty EPG nálezů *H. contortus* v trusu u jednotlivých zvířat v průběhu experimentální infekce**

číselné označení zvířat	datum sběru trusu				
	3.6.2009	9.6.2009	23.6.2009	7.7.2009	10.7.09
34225	0 <sup>2</sup>	400 <sup>2</sup>	0 <sup>2</sup>	0	0
29837	100 <sup>2</sup>	100 <sup>2</sup>	100 <sup>2</sup>	bez vzorku	0
34232	300 <sup>2</sup>	100	0	0	0
34222	0 <sup>2</sup>	0 <sup>1</sup>	0	0	0
34229	0 <sup>1</sup>	0 <sup>1</sup>	0	0	0
34206	100	100	100	0	0
34224	500 <sup>1</sup>	100 <sup>2</sup>	100	0	0
29858	100 <sup>1,2</sup>	100 <sup>1,2</sup>	0	bez vzorku	0
34223	0 <sup>1</sup>	0 <sup>1</sup>	0	0	0
34220	200 <sup>1,2</sup>	100 <sup>2</sup>	0	0	0
29855	400 <sup>2</sup>	200 <sup>1,2</sup>	bez vzorku	0	0

Vysvětlivky: 1 – Rod *Moniezia* (minoritní nález vajíček), 2 – Rod *Nematodirus* (minoritní nález vajíček)

### 4.3 Experiment č. 3

Dne 15. 9. 2009 byla zvířatům podána suspenze albendazolu a ve stejný den byl proveden i odběr trusu, pouze zvíře č. 33059 bez trusu. Ve vzorcích byla nalezena vajíčka rodů *Haemonchus*, *Moniezia* a *Nematodirus*. Dne 21. 9. 2009 byl odebrán kontrolní trus a podány kmeny larev. Vyšetření trusu odhalilo přetrvávající infekci i po podání albendazolu u všech zvířat, kromě č. 33059. Proto byla všem zvířatům podána další dávka albendazolové suspenze, a to ve dnech 24. a 25. 9. 2009. Vyšetření trusu ze dne 25. 9. 2009 ukázalo již negativní výsledky, ale zvířata kromě č. 33114 uhynula. Zvíře č. 33114 bylo následně zahrnuto do další studie.

Vzhledem k neúspěšnému prvotnímu odčervení a také ke krátkému trvání studie z důvodu úhynu zvířat, nemůžeme hodnotit vývoj parazitózy vyvolané podanými larvami.

V tabulce jsou uvedeny kromě počtů vajíček *Haemoncha* také pozitivní nálezy jiných parazitů (viz. Vysvětlivky).

**Tabulka 10 - Hodnoty EPG nálezů *H. contortus* v trusu u jednotlivých zvířat v průběhu experimentální infekce**

	číselné označení zvířat					
datum sběru trusu	29113	33114	33015	33119	33059	32979
15.9.2009	100	1300 <sup>1, 2</sup>	200	600 <sup>2</sup>	bez vzorku	900
21.9.2009	400	1800	500	1300 <sup>2</sup>	0	2800
24.9.2009	0	100	200	100	0	0
25.9.2009	0 <sup>3</sup>	0 <sup>4</sup>	0 <sup>3</sup>	0 <sup>3</sup>	0 <sup>3</sup>	0 <sup>3</sup>

Vysvětlivky: 1 – Rod *Moniezia* (minoritní nález vajíček), 2 – Rod *Nematodirus* (minoritní nález vajíček), 3 – Zvíře uhynulo, 4 – Zvíře použito v následujícím pokusu

## 4.4 Experiment č. 4

Dne 2. 11. 2009 byl zvířatům odebrán trus a podána albendazolová suspenze. V prvním vyšetření trusu, které bylo provedeno pro orientaci pouze kvalitativně, byl u některých zvířat prokázán pozitivní nález. V trusu byla nalezena vajíčka rodů *Haemonchus*, *Nematodirus* a *Trichuris*. Kontrolní vyšetření trusu po odčervení ze dne 10. 11. 2009 bylo u všech zvířat negativní, s výjimkou č. 33114, kde bylo nalezeno 1 vajíčko *H. contortus* ve 2 vyšetřeních.

Dne 13. 11. 2009 byly zvířatům podány kmeny larev. Dne 25. 11. 2009 byla zvířata navzorkována, přičemž dvě zvířata posmrtně (č. 32930 a č. 32935). Tato uhynulá zvířata byla vyšetřena pitvou. U zvířete č. 32930 byl nalezen zánět slezu a u zvířete č. 32935 nebyl nalezen patologický stav. Důvodem úhynu zvířat mohla být infekce hemochozy ve spojitosti se špatnou kondicí zvířat, či neprokázaný patologický stav.

Dne 30. 11. 2009 byl odebrán trus od zbývajících čtyř zvířat, přičemž zvíře s č. 32970 bylo ve velmi špatném zdravotním stavu, a následně 1. 12. 2009 uhynulo. U tohoto jedince byla prokázána infekce hemochozy na základě nálezu 1300 vajíček na 1 gram trusu. Tato infekce ve spojení se špatnou kondicí mohla způsobit úhyn jedince.

U třech následně uhynulých zvířat byla první vajíčka v trusu nalezena již 12. den po infikaci. U zvířete č. 34087 byla nalezena první vajíčka haemoncha dne 3. 12. 2009 a u dalších dvou zvířat byl pozitivní nález potvrzen dne 7. 12. 2009. Z toho vyplývá, že produkce vajíček začala 12. den u tří jedinců, u jednoho zvířete 20. den a u dalších dvou byla prokázána 24. den po infekci larvami.

V tabulce jsou uvedeny kromě počtů vajíček *Haemoncha* také pozitivní nálezy jiných parazitů (viz. Vysvětlivky).

**Tabulka 11 - Hodnoty EPG nálezů *H. contortus* v trusu u jednotlivých zvířat v průběhu experimentální infekce**

	číselné označení zvířat					
datum sběru trusu	33114	32970	32930	32937	32935	34087
2.11.2009	neg.	poz. <sup>1</sup>	poz. <sup>1</sup>	neg.	neg.	poz. <sup>2</sup>
10.11.2009	100	0	0	0	0	0
13.11.2009	0	0	0	0	0	100
25.11.2009	0	1300	300 <sup>1,3</sup>	0	100 <sup>3</sup>	0
30.11.2009	0	bez vzorku <sup>3</sup>		0		0
3.12.2009	0			0		700
7.12.2009	200			700		500
10.12.2009	1500			900		100

Vysvětlivky: 1 – Rod *Nematodirus* (minoritní nález vajíček), 2 – Rod *Trichuris* (minoritní nález vajíček), 3 – Zvíře uhynulo

## 4.5 Experiment č. 5

Dne 5. 1. 2009 byl zvířatům odebrán trus a podána anthelmintická suspenze. Vyšetření trusu bylo u většiny zvířat bez parazitologického nálezu, pouze u zvířat č. 46730 a č. 37698 byl prokázán nepatrný nález vajíček rodů *Haemonchus* a *Nematodirus*. Dne 12. 1. 2009 byly odebrány kontrolní vzorky trusu po odčervení a 15. 1. 2010 jsme tuto kontrolu provedli ještě jednou. Vzorky z obou těchto termínů byly bez nálezu vajíček, proto můžeme odčervení albendazolovou suspenzí pokládat za úspěšnou.

Ve dne 15. 1. 2009 byly zvířatům podány kmeny larev. První vajíčka produkovaná dospělými červy byla v trusu prokázána dne 8. 2. 2010, tedy 24. den po infekci. Ve vzorcích trusu z jednotlivých termínů můžeme pozorovat značné kolísání počtu vajíček na 1 gram trusu.

V tabulce jsou uvedeny kromě počtů vajíček *Haemoncha* také pozitivní nálezy jiných parazitů (viz. Vysvětlivky).



**Tabulka 12 - Hodnoty EPG nálezů *H. contortus* v trusu u jednotlivých zvířat v průběhu experimentální infekce**

datum sběru trusu	číselné označení zvířat						
	46730	46711	37641	37768	37754	37698	37711
5.1.2010	100	0	0	0	0	200 <sup>1</sup>	0
12.1.2010	0	0	0	0	0	0	0
15.1.2010	0	0	0	0	0	bez vz.	0
1.2.2010	0	0	0	0	0	0	0
4.2.2010	0 <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0
8.2.2010	1500	700	200	700	200	100	1500
11.2.2010	1500	2600	1100	300	2600	100	2400
15.2.2010	8200 <sup>1</sup>	5100	4300	700	7100	300	7700
18.2.2010	1800	2900	600	bez vz.	900	300	1600
22.2.2010	6800	2700	3800	500	2300	100	bez vz.
26.2.2010	2800	4500	2100	1300	2100	100	2000
2.3.2010	2800	3000	900	1400	2200	bez vz.	2200

Vysvětlivky: 1 – Rod *Nematodirus* (minoritní nález vajíček)

## 5. DISKUZE

Tato kapitola obsahuje podrobné vysvětlení některých skutečností vyplývajících z této práce. Odůvodňuje kolísání počtu vajíček během pokusů a způsob ustájení pokusných zvířat s ohledem na jednotlivé kmeny parazita *H. contortus*. Dále porovnává dosažené výsledky s literaturou, rozdílly produkce vajíček s ohledem na kmen a také zdůvodňuje úhyn jehňat během experimentální infekce.

### 5.1 Počty vajíček

Ve všech studiích se setkáváme s jevem, že hodnoty EPG v průběhu infekce značně kolísají. Význam kvantitativních koprologických metod proto nesmíme přeceňovat. Pro určení množství parazitů v těle hostitele nám obvykle pouhé stanovení počtu vajíček v trusu nestačí a nemůžeme podle něho vůbec usuzovat ani na přibližný počet parazitů, neboť kladení vajíček je velmi nepravidelné a mění se, jak v průběhu delšího časového období (během týdne, měsíce), tak i během jediného dne. Naše výsledky počítání vajíček v 1 gramu trusu ovcí ukazují velké kolísání počtu vajíček v trusu během jednotlivých dnů.

U cizopasných obličejových červů je i velmi přibližné stanovení odpovídajícího počtu parazitů naprosto nemožné, protože tímto způsobem nepostihneme vůbec samečky, kteří svou přítomností v těle hostitele škodí stejně jako samičky, dále nepostihneme vůbec samičky, které dospívají a zatím nekladou vajíčka, i když červi se svou velikostí rovnají červům dospělým (Ryšavý a Kotrlá 1953).

### 5.2 Systém ustájení

V první studii byla zvířata ustájena po skupinách zohledňujících kmen parazita, kterým byla infikována. To zaručovalo, že po celou dobu studie budou striktně jednotlivé kmeny odděleny a následná izolace dospělců ze slezu zvířat poskytne zisk daných kmenů bez možnosti kontaminace jinými kmeny. Tento systém ustájení je ideální, ale bohužel ne vždy možný. Přestože bylo v dalších experimentech použito společné ustájení zvířat, bez ohledu na kmen *Haemoncha*, bylo i tak zaručeno, že následně izolovaní dospělci ze slezů budou čisté varianty parazita.

Po infekci probíhá v žaludku zvířat dospívání larev až do stádia, kdy dospělé samičky začnou produkovat vajíčka, která společně s trusem odchází do vnějšího prostředí. To samotné trvá zhruba 3 týdny. Tato vajíčka, i kdyby byla pozřena, nejsou schopna vyvolat infekci. Trvá dalších 8 – 12 dní než se z vajíčka vyvine infekční larva (podle podmínek i déle). Z toho vyplývá, že i přestože byla zvířata ustájena společně, nemohl být průběh experimentu ovlivněn, vzhledem k tomu, že studie byla vždy ukončena dříve, než by se objevila nová generace *Haemonchů*.

### **5.3 Porovnání výsledků s literaturou**

K odčervení byla použita albendazolová suspenze v dávce 30 mg/ kg. ž. hm. Je to látka ze skupiny benzimidazolových anthelmintik. Tato léčiva mají antinematodní, z části antitrematodní i anticestodní účinnost. Působí proti vývojovým i dospělým stádiím helmintů. U polygastrických zvířat, tedy i u ovcí lze benzimidazoly podávat v jediné dávce (Lamka a Ducháček 2008).

U většiny experimentů bylo odčervení albendazolem účinné. Jelikož byly ve vzorcích trusu nalezeny kromě vajíček rodu *Haemonchus* také nematoda z rodů *Trichuris* a *Nematodirus* a cestoda rodu *Moniezia*, můžeme potvrdit antinematodní a anticestodní účinnost albendazolu. Pouze u studie označené číslem 3 bylo odčervení po jediné dávce neúspěšné. Bohužel po opakovaně podané dávce zvířata uhynula, ačkoli kontrolní vyšetření trusu bylo již bez nálezu.

Interval od pozření infekčních larev do produkce vajíček prokázaných v trusu byl u všech studií v průměru 21. den. Tato doba se shoduje s údaji uvedenými v literatuře, která uvádí rozmezí 14 - 21 dní (Erhardová a spol. 1953, Lax 1956).

### **5.4 Produkce vajíček s ohledem na kmen *H. contortus***

Zvířata byla experimentálně nainfikována třemi různě citlivými kmeny *H. contortus*. Z výsledků vyplývá, že dospělci kmene WR, který vykazuje nejsilnější rezistenci, produkuje vajíčka o pár dní dříve než kmeny BZ a ISE. Mezi kmeny BZ a ISE se markantní rozdíly v produkci vajíček nepodařilo prokázat.

## **5.5 Důvody úhynu jehňat během experimentu**

V průběhu experimentu označeném číslem 3 došlo k úhynu pěti jehňat. Zvířata byla během experimentu vakcinována proti katarální horečce ovcí, zvané též bluetongue. Tato zátěž ve spojitosti s dalšími okolnostmi, jakými mohl být špatný zdravotní stav a kondice, byla zřejmě důvodem úhynu.

## 6. ZÁVĚR

Jedním z cílů této práce byla kontrola účinnosti odčervení jehňat, která byla plánována pro experimentální studii, a která proběhla u všech experimentů. S výjimkou jedné studie bylo odčervení s použitím albendazolového přípravku vždy úspěšné. Vzhledem ke zkušenostem z obdobných studií nelze důvod selhání očekávat v dávkování léčiva, příčinu selhání nelze však jednoznačněji vytypovat. Může ale souviset s hygienickými podmínkami ustájení i předkládáním krmiv, kdy může k pozitivním nálezům dojít i v případě celkově dobře odčerveného zvířete, které ale přijalo v době krátce před vyšetřením infikovanou potravu. V takovém případě jsou v trusu prokazována vajíčka parazitů, která jsou však původem jiného, než vyšetřovaného, zvířete.

Po kontrole odčervení byla jehňatům podána suspenze s jednotlivými kmeny parazita *H. contortus*. Tato infekce byla dále sledována pomocí vyšetřování trusu zvířat a hodnocena podle nálezu mikroskopického vyšetření. Bylo zjištěno, že interval mezi podáním infekčních L<sub>3</sub> larev zvířatům a vylučováním vajíček trusem je v rozmezí 12 – 27 dní, průměrně 21 dní. Tato skutečnost potvrzuje údaje uváděné v literatuře.

Na konci každé studie byla zvířata z experimentu vyřazena a z jejich slezů byly získány dospělci parazita. Tito červi byli použiti pro další výzkum na Katedře biochemických věd Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové.

## 7. LITERATURA

AISLP Mikro verze – ČR 2010.1 stav k 1.1.2010

ČUDEKOVÁ P. [cit. 15. 3. 2010] Dostupné z:

[http://www.parazitologie.cz/akce/cspd2008/doc/sbornik\\_pdf%20doplneny.pdf](http://www.parazitologie.cz/akce/cspd2008/doc/sbornik_pdf%20doplneny.pdf)

ERHARDOVÁ B., KOTRLÝ A., PÁV J., RYŠAVÝ B.: Choroby lovné zvěře, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1953

HOLÁ J.: Situační a výhledová zpráva: ovce – kozy, Praha, Ministerstvo zemědělství, srpen 2009

HORÁK F. A KOL.: Chov ovcí, Praha, Nakladatelství Brázda, Svaz chovatelů ovcí a koz v ČR, 2001 doplněný dotisk

HROMAS J. A KOLEKTIV : Myslivost, Písek, Matice lesnická, 2008

[http://cs.wikipedia.org/wiki/Vlasovka\\_slezov%C3%A1](http://cs.wikipedia.org/wiki/Vlasovka_slezov%C3%A1) [cit. 10. 4. 2010]

[http://dbpedia.org/page/Haemonchus\\_contortus](http://dbpedia.org/page/Haemonchus_contortus) [cit. 3. 4. 2010]

<http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/Haemonchus> [cit. 3. 4. 2010]

<http://sciencewatch.com/dr/erf/2008/08aprperf/08aprperfKap1/> [cit. 15. 4. 2010]

<http://www.goatbiology.com/animations/haem.html#> [cit. 3. 4. 2010]

<http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/22413.htm&word=haemonchus> [cit. 10. 4. 2010]

<http://www.smallstock.info/tools/disease-nutrition/FAMACHA.htm> [cit. 3. 4. 2010]

<http://www.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?pid=2&cid=3748> [cit. 3. 3. 2010]

[http://www.wormbestrijding.nl/schaap\\_worm01.html](http://www.wormbestrijding.nl/schaap_worm01.html) [cit. 3. 4. 2010]

<http://xyala.cap.ed.ac.uk/nematodeESTs/species/HCC.jpg> [cit. 3. 4. 2010]

HUNT P.W. A KOTZE A.C. [cit. 25. 3. 2010]: Dostupné z:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19835651>

JAGOŠ P. A KOLEKTIV: Nemoci hospodářských zvířat, Praha, Státní zemědělské nakladatelství, 1982

JURÁŠEK V. A DUBINSKÝ P.: Veterinárná parazitológia, Bratislava, Príroda, 1993

KOMÁREK V.: Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1964

KOMISE PRE LABORATÓRNU A KLINICKÚ DIAGNOSTIKU: Veterinárne laboratórne metodiky, Parazitológia, Bratislava, Štátna veterinárna správa, 1989

KOTRLÁ B. A KOLEKTIV : Parazitózy zvěře, Praha, Academia, 1984

KOTRLÁ B. A KOTRLÝ A.: Cizopasně hlístice zažívacího ústrojí spárkaté zvěře v ČSR, Praha, Academia , 1977

KUCHTÍK J. A KOL.: Chov ovcí, Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007

KURSA J., JÍLEK F., VÍTOVEC J., RAJMON R.: Zoohygiena a prevence chorob hospodářských zvířat, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta České Budějovice 1998

LAMKA J. A DUCHÁČEK L.: Veterinární léčiva pro posluchače farmacie, Praha, Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2008

LAX T.: Nemoci ovcí, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1956

PÁV J. A KOLEKTIV: Choroby lovné zvěře, Praha, Státní zemědělské nakladatelství, 1981

RYŠAVÝ B. A ERHARDOVÁ B.: Parasiti ovcí, Praha, Nakladatelství Československé akademie věd, 1953