

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra Parazitologie



Možný vliv patogenů na fitness vybraných druhů kachen

Possible effect of pathogens on fitness of selected duck species

Diplomová práce

2010

Bc. Anna Langrová

Školitel: RNDr. Petr Musil, CSc.

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně s použitím citované literatury.

V Praze dne 2. 5. 2010

Anna Langrová

## Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala svému školiteli RNDr. Petru Musilovi, CSc. za jeho neocenitelnou pomoc při práci v terénu a při zpracování této diplomové práce. Dále chci velmi poděkovat svým kolegům Mgr. Blance Kuklíkové, Mgr. Šárce Neuzilové, Mgr. Zuzaně Musilové a Mgr. Milanu Haasovi, kteří se podíleli na sběru terénních dat.

Za konzultace a spolupráci při zpracování vzorků bych ráda poděkovala MVDr. Jitce Horníčkové, Ing. Ivanu Pavláskovi, DrSc. a MVDr. Kamilu Sedlákovi, Ph.D. ze SVÚ v Praze a RNDr. Kateřině Kybicové, RNDr. Marku Malému, CSc. a Mgr. Lucii Nejezchlebové ze SZÚ v Praze a Mgr. Štěpánu Rybovi z PřF UK.

Největší díky patří mojí rodině za podporu, kterou mi poskytovali po celou dobu mého studia.

## Abstrakt

V letech 2007-2009 bylo odchyceno celkem 76 ptáků, především hnízdících samic. Ptáci byli vyšetřeni na přítomnost virů ptačí chřipky a protilátek proti těmto virům, dále na přítomnost bakterií *Borrelia burgdorferi* s. l. a *Anaplasma phagocytophilum* a prvoka *Leucocytozoon simondi* v krvi a také na přítomnost vývojových stádií střevních parazitů v trusu. Ve 4 případech byly izolovány viry ptačí chřipky a více než 80% vyšetřených ptáků bylo pozitivních na protilátky. Bakterie *B. burgdorferi* s. l. a *A. phagocytophilum* byly nalezeny ve 2 a v 1 případě. Prvok *L. simondi* nebyl v krevních roztěrech vyšetřovaných ptáků detekován. Ze vzorků trusu byly izolovány cysty rodů *Eimeria* a *Tyzzeria* a vajíčka rodů *Capillaria*, *Amidostomum* a *Echinuria*. Pro průkazné výsledky statistických analýz byly získané soubory dat nedostatečné.

## Abstract

In total, 76 birds, mainly breeding females, were captured in years 2007-2009. Birds were inspected for the presence of avian influenza (AI) viruses and the AI antibodies. They were inspected as well for the presence of bacteria *Borrelia burgdorferi* s. l. and *Anaplasma phagocytophilum* and protozoan *Leucocytozoon simondi* in blood. The feces were examined for the oocysts and eggs of intestinal parasites. AI viruses were found in 4 cases, while over 80% of inspected birds had AI antibodies. Bacteria *B. burgdorferi* s. l. and *A. phagocytophilum* were found in 2 and 1 case respectively. Protozoan *L. simondi* was not found in any blood smear. The oocysts from protozoan genera *Eimeria* and *Tyzzeria* and eggs from roundworm genera *Capillaria*, *Amidostomum* and *Echinuria* were observed in feces. Statistical analyses were due to the small size of our data set inconclusive.

Klíčová slova: kachny, tělesná kondice, ptačí chřipka, *Borrelia*, *Anaplasma*, *Leucocytozoon*, střevní paraziti

Key words: ducks, body condition, avian influenza, *Borrelia*, *Anaplasma*, *Leucocytozoon*, intestinal parasites

# Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	7
<b>2. Vybrané druhy kachen</b> .....	9
2.1 Tribus <i>Aythini</i> .....	9
2.1.1 Polák velký ( <i>Aythya ferina</i> ) .....	9
2.1.2 Polák chocholačka ( <i>Aythya fuligula</i> ) .....	10
2.1.3 Zrzohlávka rudozobá ( <i>Netta rufina</i> ) .....	11
2.2 Tribus <i>Anatini</i> .....	12
2.2.1 Kachna divoká ( <i>Anas platyrhynchos</i> ) .....	12
2.2.2 Kopřivka obecná ( <i>Anas strepera</i> ) .....	13
2.2 Sběr dat v terénu a jejich zpracování .....	14
2.3.1 Sledovaná lokalita .....	14
2.3.2 Vyhledávání hnízd .....	15
2.3.3 Odchyt kachen .....	16
2.3.4 Hodnocení kondice a statistické zpracování výsledků .....	20
<b>3. Aviární influenza</b> .....	22
3.1 Úvod .....	22
3.2 Materiál a metody .....	25
3.3 Výsledky .....	26
3.4 Diskuze .....	30
<b>4. <i>Borrelia</i> a <i>Anaplasma</i></b> .....	32
4.1 Úvod .....	32
4.2 Materiál a metody .....	33
4.3 Výsledky .....	34
4.4 Diskuze .....	35
<b>5. <i>Leucocytozoon simondi</i></b> .....	37

5.1 Úvod .....	37
5.2 Materiál a metody .....	39
5.3 Výsledky .....	39
5.4 Diskuze .....	40
<b>6. Střevní paraziti .....</b>	<b>42</b>
6.1 Střevní protozoa.....	42
6.2 Střevní hlísti.....	43
6.3 Materiál a metody .....	45
6.4 Výsledky .....	46
6.5 Diskuze .....	49
<b>7. Souhrnná diskuze .....</b>	<b>51</b>
<b>8. Závěr.....</b>	<b>53</b>
<b>9. Literatura .....</b>	<b>55</b>

# 1. Úvod

Vrubozobí ptáci jsou často zkoumanou skupinou, protože mohou být vzhledem ke svému migračnímu potenciálu přenašeči významných zvířecích i lidských patogenů. Tato práce se zabývá možným vlivem patogenů na fitness neboli kondici kachen. V Biosférické rezervaci Třeboňsko a v okolních lokalitách probíhá dlouholetý projekt zaměřený na různé aspekty výzkumu ekologie hnízdních populací kachen (viz např. Musil et al. 1997, 2001, 2006, Musil 2006, Hořák et al. 2007, Musil & Neužilová 2009). Součástí tohoto výzkumu je i odchyt a značení inkubujících samic kachen (viz např. Musil et al. 2006, Hořák et al. 2009), dosud ovšem nebyla u odchycených ptáků prováděna žádná parazitologická vyšetření, ačkoliv právě parazitace hnízdicích samic může ovlivnit jejich reprodukční úspěšnost (viz např. Ballweber 2004, Kear 2005).

Zaměřili jsme se především na patogeny, které nemají příliš vysokou mortalitu, ale mají vyšší prevalenci. V úvahu připadaly patogeny přenášené členovci, které mají široké spektrum hostitelů. Klíšťata *Ixodes ricinus* jsou ve střední Evropě přenašeči bakterií *Borrelia burgdorferi* a *Anaplasma phagocytophilum*. Tyto bakterie jsou významným zdravotním rizikem pro člověka a další savce, ptáci jsou považováni za jejich možné rezervoáry (Kurtenbach et al. 1993; Bjoersdorff et al. 2001; Taragel'ová et al. 2008).

Muchničky rodu *Simulium* přenášejí v našich zeměpisných šířkách krevního prvoka *Leucocytozoon simondi*. Nejvíce prací popisující jeho výskyt a vliv na kondici ptáků pochází ze Severní Ameriky (Hsu et al. 1973; Bennette et al. 1975). Ve střední Evropě byl popsán především z pěvců a dravců (Votýpka et al. 1998; Hauptmanová et al. 2006), výskyt u vrubozobých je ve střední Evropě v porovnání se Severní Amerikou nízký (Kučera 1981b).

U volně žijících zvířat jsou velmi běžné infekce střevními parazity. U vodní drůbeže se nejčastěji vyskytují střevní hlísti (Ballweber 2004). V České republice je u všech druhů volně žijících kachen nejběžnější rod *Capillaria* (Hudec 1994).

Z hlediska zdravotního rizika, které v současné době představuje ptačí chřipka (jinak také aviární influenza), jsme se rozhodli nechat vyšetřit vzorky z odchycených ptáků na přítomnost virů aviární infekce. Bylo zjištěno, že nízkopatogenní subtypy aviární infekce mohou ovlivňovat hmotnost infikovaných ptáků (Gunnarsson et al. 2008). Název

aviární influenza je použit, protože se jedná o nejčastěji používaný název ve veterinární literatuře.

Prvním úkolem bylo vypracovat efektivní metodiku odběru vzorků při odchytu kachen. Metody odběru vzorků jsou popsány v jednotlivých kapitolách týkajících se vybraných patogenů. Dalším úkolem bylo vybrání vhodných parametrů vztahujících se ke kondici kachen pro vyhodnocení výsledků parazitologických vyšetření. Měřené parametry jsou popsány v kapitole vybrané druhy kachen.

Všichni vyšetřovaní jedinci byli označeni barevnými a kovovými kroužky a individuálními nosními značkami (Sudgen a Poston 1968; Guillemain et al. 2007), což umožňuje jejich další monitorování v průběhu probíhající sezóny a dalších následujících sezón.

### **Cíle diplomové práce:**

- Ověřit, zda mohou být vybrané druhy kachen potenciálním rezervoárem pro bakterie *Borrelia burgdorferi* a *Anaplasma phagocytophilum*, a zjistit, zda mohou mít tyto patogeny vliv na kondici testovaných ptáků.
- Ověřit výskyt prvoka *Leucocytozoon simondi* ve studované lokalitě u vybraných druhů kachen a posoudit vliv infekce na kondici testovaných ptáků.
- Zjistit, jací střevní parazité se vyskytují u jednotlivých druhů kachen, a posoudit vliv infekce na kondici parazitovaného jedince.
- Ověřit výskyt aviární infekce u hnízdní populace v jižních Čechách. Zjistit možný vliv virů AI na kondici ptáků.

### **Hypotézy:**

- Některé druhy plovavých kachen mohou být rezervoárem pro bakterie *Borrelia burgdorferi* a *Anaplasma phagocytophilum*.
- Parazit *Leucocytozoon simondi* ovlivňuje kondici infikovaných jedinců.
- Infekce střevními parazity ovlivňují kondici u vybraných druhů kachen.
- Aviární infekce snižuje hmotnost infikovaných ptáků a ovlivňuje jejich reprodukční úspěšnost.



## 2. Vybrané druhy kachen

### 2.1 Tribus *Aythiini*

Tento tribus obsahuje 15 druhů kachen ve dvou rodech *Netta* (3 druhy) a *Aythya* (12 druhů). Má kosmopolitní rozšíření, ale většina druhů se vyskytuje v holoarktické oblasti, a jedná se především o sladkovodní potápivé kachny. Hnízdí a zimují převážně na stojatých vodách. Často hnízdí na ostrovech, pravděpodobně kvůli ochraně proti terestrickým predátorům (Cramp a Simmons 1977; Musil et al. 2001; Kear 2005; Albrecht et al. 2006).

#### 2.1.1 Polák velký (*Aythya ferina*)

Polák velký (obr 2.1) má palearktický typ rozšíření. Jeho hnízdní areál je ostrůvkovitý, což odpovídá rozmístění mokřadních biotopů. Je to převážně tažný druh, populace z jižní a západní Evropy jsou částečně tažné, zatímco severoevropské populace jsou výlučně tažné. Nejuvdálenější zimoviště se nachází až v rovníkové Africe (Scott a Rose, 1996). Celková velikost populace je odhadována na 2,2 – 2,5 milionů jedinců.

V ČR hnízdí pravidelně od konce 19. století, přičemž mezi lety 1930 a 1980 došlo k značnému nárůstu populace na území ČR, po kterém následoval v průběhu 80. let prudký pokles. K pravděpodobným důvodům tohoto poklesu patří zintenzivnění rybníčního hospodářství (Musil et al. 2001). Celková velikost hnízdní populace v ČR je odhadována na 10 – 20 tisíc hnízdních párů (Musil et al. 2001; Šťastný et al. 2006)

Polák velký hnízdí v ČR nejčastěji na malých až středně velkých vodních plochách s dostatečným porostem rákosu (*Phragmites*), orobince (*Typha*), ostřice (*Carex*) a zblochanu (*Glyceria*), důležitý je pro něj také výskyt plovoucích vodních rostlin, jako je např. lakušník (Hudec 1994). Na hnízdiště v ČR přilétá již v dubnu, kdy se ze společných hejn oddělují hnízdní páry. Hnízdo si budují většinou na zemi blízko vody v husté vegetaci. Snášení

probíhá nejčastěji v druhé polovině května a inkubace trvá 24 až 28 dní (Hudec, 1994). Průměrná snůška je 8,9 vajec (Musil et al., nepublikováno).

Potravu sbírá především ve vodě potápěním. Potápí se do hloubky kolem 1m v intervalech 12-16 s. Téměř 2/3 potravy tvoří vodní rostliny. Z živočišné potravy jsou to hlavně měkkýši a vodní hmyz (Hudec 1994; Cramp & Simmons 1977; Kear 2005).

### 2.1.2 Polák chocholačka (*Aythya fuligula*)

Polák chocholačka (obr 2.1) má také palearktický typ rozšíření. Hlavní oblast výskytu se nachází mezi 45° a 70°s.š. (Scott a Rose 1996). Tento druh je převážně tažný se zimovišti sahajícími až po severní Afriku a východní Asii. Středoevropské populace zimují především na sladkovodních jezerech zejména v Alpské oblasti. Celková velikost populace je odhadována na 2,6 až 2,9 milionů jedinců (Delany a Scott 2006).

V ČR hnízdí pravidelně od 30. let 20. století. V padesátých letech došlo k nárůstu hnízdní populace na celém území ČR, ta se v současné době pohybuje kolem 15 až 30 tisíc hnízdních párů (Musil et al. 2001). V ČR jsou i zimoviště poláka chocholačky. Jsou to především velké vodní toky v oblasti středních a severních Čech a zdržuje se zde asi 3,1 až 5,1 tisíc jedinců (Musilová et al 2009).

Hnízdní lokality se nacházejí na stojatých nebo pomalu tekoucích vodách, v místech s hustou vegetací. Hnízdo je velmi často bezprostředně u vody nebo dokonce obklopeno vodou na ostřicových stoličkách (Hudec 1994). Tvorba párů probíhá obdobně jako u poláka velkého. Vejce jsou většinou snášena v průběhu června a průměrná velikost snůšky je 9,1 vajec (Musil et al., nepublikováno).

Potrava je z větší části živočišná (68-89%), především měkkýši a larvy hmyzu. Potravu loví ve větších hloubkách než polák velký s delšími intervaly strávenými pod vodou (Hudec 1994; Cramp & Simmons 1977; Kear 2005).

### 2.1.3 Zrzohlávka rudozobá (*Netta rufina*)

Zrzohlávka rudozobá (obr. 2.2) má sarmatský typ rozšíření. Hnízdí především v jižní a střední Evropě a střední Asii, a její areál výskytu je silně mozaikovitý. Je to tažný a částečně tažný druh se zimovišti v jižní Evropě a severní Africe a na východě v Přední Asii a v Indii. V poslední době narůstá počet zimujících ptáků v Alpské oblasti (Keller 2006). Od začátku 20. století se zrzohlávka na území Evropy začala rozšiřovat k severu. Evropská populace se v současné době odhaduje na 59 tisíc párů (Hudec 1994; Šťastný et al. 2006).

Na území ČR hnízdí od poloviny 19. století. V současné době nalezneme hnízdící páry na jižní Moravě, na Českobudějovicku a na Třeboňsku a celková velikost hnízdní populace se odhaduje na 200 až 250 párů (Hudec 1994; Šťastný et al. 2006).

Na hnízdiště přilétá většinou v páru v průběhu dubna. Hnízdí nejčastěji na větších rybnících v hustém porostu. Snášení probíhá během května a průměrná velikost snůšky je 7 až 12 vajec. Inkubace trvá 26 až 28 dní (Hudec 1994).

Potravu sbírá téměř výhradně ve vodě potápěním a panáčkováním. Nejčastější potravou jsou řasy rodu *Chara* (Hudec 1994; Cramp & Simmons 1977; Kear 2005).



Obrázek 2.1 Polák velký ♀ vlevo (foto Jan Jindra) a polák chocholačka pár vpravo (foto Petr Pivoňka)



Obrázek 2.2 Zrzohlávka rudozobá pár (foto Jan Jindra)

## 2.2 Tribus *Anatini*

Tribus *Anatini* má kosmopolitní rozšíření a skládá se ze 4 rodů a 40 druhů z toho 36 druhů rodu *Anas*. 13 z nich obývá oblast Západní Palearktidy, hnízdí i zimují na rozličných vodních plochách od stojatých po rychle tekoucí (Cramp a Simmons 1997, Kear 2005).

### 2.2.1 Kachna divoká (*Anas platyrhynchos*)

Kachna divoká (obr. 2.3) má holoarktický typ rozšíření, ale byla introdukována do mnoha oblastí na jižní polokouli. Tento druh je částečně tažný a jeho eurasijská populace je odhadována na 10 až 15 milionů jedinců (Kear 2005). Největší koncentrace zimujících jedinců se nalézají ve středomořské oblasti.

V ČR je populace odhadována na 45 tisíc hnízdních párů. Hnízdí zde ve všech typech krajín od měst a vesnic přes všechny vodní toky až po rozsáhlé rybníční oblasti. Z našich druhů kachen hnízdí nejčastěji na tekoucích vodách (Musil et al. 2001).

Tvorba párů probíhá již na podzim a v zimě. Na hnízdištích se objevují v párech již od konce února. Hnízdní lokality jsou velmi rozmanité: Porost libovolné hustoty na březích řek a rybníků, budky, zaplavené porosty a dokonce i koruny stromů. Snášení probíhá během

dubna a května a inkubace trvá 22 až 28 dní (Hudec 1994). Průměrná velikost snůšky je 8,5 vajec (Musil et al., nepublikováno).

Potrava je více než z 90% rostlinná. Sbírá ji především panáčkovaním nebo ponořením hlavy na mělčinách. Zhruba 5% potravy sbírá i na souši (Hudec 1994; Cramp & Simmons 1977; Kear 2005).

### 2.2.2 Kopřivka obecná (*Anas strepera*)

Kopřivka obecná (obr. 2.3) má také holoarktický typ rozšíření, jižní částí areálu jsou však osídleny mozaikovitě. Je to tažný druh zimující jižně od hnízdního areálu, ale zpravidla nepřekračuje 20°s.š. Evropská populace je odhadována na 96 tisíc párů (Hudec 1994).

V ČR hnízdí ve všech rybníčních oblastech, převážně na eutrofních vodách s dostatkem splývajících vodních rostlin. Současná populace se odhaduje na 1800 až 3200 párů (Šťastný et al. 2006).

Na hnízdiště přilétá v párech v průběhu března a dubna. V dubnu až červnu snáší v průměru 6 až 14 vajec. Hnízdo je umístěno na zemi v suchých místech v okolí vodních ploch, velmi často bývá v porostu kopřiv (*Urtica*) (Hudec 1994; Cramp & Simmons 1977; Kear 2005).

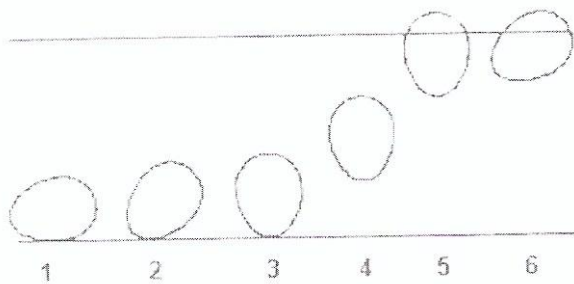


Obrázek 2.3 Kachna divoká pár vlevo (foto Pavel Hurta), kopřivka obecná pár vpravo (foto Petr Pivoňka)



### 2.3.2 Vyhledávání hnízd

Hnízda byla vyhledávána v porostech rákosu, chrastice (*Phalaris arundianacea*), orobince, kopřiv, zblochanu, ostřice, maliníku (*Rubus idaeus*) a ostružiníku (*Rubus fruticosus*) a to především na ostrůvcích uměle vytvořených v průběhu 2. poloviny 20 století (viz např. Musil 2006). Přítomnost každého hnízda byla označena červenou stužkou s kódem hnízda umístěnou 1 až 2 m od hnízda. U každého hnízda byl určen druh vegetace, její výška a viditelnost hnízda pomocí čtvercové šachovnice o hraně 16cm s 16 poli. Stupeň inkubace vajec byl zjišťován pomocí vodního testu. Stupeň nasezelosti se zde určuje podle polohy vejce vodním sloupci (obr. 2.5) a jednotlivé stupně se interpretují následovně: 1.st.- bez inkubace, 2.st.-1. až 7. den, 3.st.-4. až 12. den, 4.st.- 9. až 15. den, 5.st.-10 až 22. den a 6.st.-20. až 27. den (Majevski 1980; Hořák et al. 2004).



Obrázek 2.5 Poloha vejce ve vodním sloupci

Vejce v každém hnízdě byla změřena délka a šířka každého vejce. Z těchto údajů se vypočítává hodnota  $\text{eggmass} = \text{délka} \times \text{šířka}^2 \times 0,555$  a určuje průměrnou hmotnost vajec ve snůšce (Rohwer 1988). Z velikosti vejce lze poměrně dobře předpovídat velikost mláděte v době líhnutí. Výhodou větších mláďat by měly být větší energetické zásoby. Mláďata líhnoucí se z větších vajec jsou zvýhodněna, protože mají pro svůj vývoj k dispozici větší množství energie (Hořák 2006, Hořák et al. 2007).

### 2.3.3 Odchyt kachen

Odchytávány byly především samice na hnízdech, pouze v sezóně 2007 jsme provedli noční odchyt několika ptáků v předhnízdním období do nárazových sítí. Samice na hnízdech se chytaly buď do klecových pastí (Weller 1957) nebo do nárazových sítí a to v 5. stupni vodního testu (Hořák et al. 2004) aby se zmenšilo riziko opuštění hnízda v důsledku vyrušení samice.

Samice byly zváženy, a byly jim změřeny rozměry zobáku (délka, šířka, nozdry), lebky (délka), křídla (délka nejdelší letky) a tarsu (délka). Všechny hodnoty byly pro potřebu statistického zpracování zrelativizovány, aby bylo možné pracovat se všemi druhy najednou. Relativní hodnoty jsou rovny poměru změřené hodnoty a průměrné hodnoty parametru pro daný druh.

Na jedné noze byly označeny kovovými kroužky (Kroužkovací stanice, Národní muzeum Praha) a na druhé kombinací barevných plastových kroužků. Na zobák byla ptákům připevněna plastová nosní značka s individuální kombinací symbolů pro každého jedince (Sudgen a Poston 1968; Guillemain et al. 2007). Tyto značky usnadňují monitoring ptáků v pohnízdním období. Byly použity bílé a žluté polyuretanové značky (Rodrigues et al. 2001) (obr. 2.6 až 2.8).

Dále byly prováděny v 5-10 denních intervalech kontroly cca 150 rybníků v širším okolí výše uvedených rybníků, jejichž cílem, kromě sčítání všech přítomných vodních ptáků, bylo zjišťování přítomnosti značených samic a jejich finální reprodukční úspěšnosti (tj. počtu mláďat v jejich rodinkách).





Obrázek 2.6 Zrzohlávka rudozobá ♀ (vlevo), polák velký ♀ (vpravo)



Obrázek 2.7 Polák chocholačka ♀



Obrázek 2.8 Kachna divoká ♀ (vlevo), kopřivka obecná ♀ (vpravo)

V tabulce 2.1 se nacházejí údaje o odchycených ptácích v sezónách 2007 až 2009. Uvedena jsou i čísla kovových kroužků, pod nimiž jsou ptáci uvedeni v následujících kapitolách. Kódy druhů: Kachna divoká 23, kopřivka obecná 24, zrzohlávky rudozobá 30, polák velký 31, polák chocholačka 32. Výskyt viru ptačí chřipky je značen AI, přítomnost protilátek AI(+), nepřítomnost protilátek AI(-).

Tabulka 2.1 Seznam odchycených ptáků.

číslo kroužku	druh	pohlaví	datum odchyty	rybník	nález
C200311	23	F	16.6.2008	Naděje	
C200312	23	F	25.6.2008	Láska	
C200313	31	F	25.6.2008	Naděje	
C200314	31	F	12.7.2008	Švarcenberk	
C200315	23	F	13.7.2008	Víra	
C200315r	23	F	20.6.2009	Víra	AI(+), <i>Capillaria</i>
C200316	23	F	13.7.2008	Víra	
C200317	23	F	8.5.2009	Starý u Soběslavi	AI(+), <i>Eimeria</i> , <i>Tyzzeria</i> , <i>Capillaria</i>
C200318	23	F	18.7.2008	Víra	
C200319	30	F	18.7.2008	Láska	
C200320	23	F	22.7.2008	Víra	
C200337	31	F	22.6.2008	Vlkov	
C200338	31	F	19.6.2007	Krajina	AI
C200343	23	F	12.6.2009	Vlkov	AI(+), <i>Capillaria</i>
C200344	31	F	17.6.2009	Starý u Soběslavi	AI(+)
C200345	31	F	19.6.2009	Víra	AI(-)
C200346	31	F	19.6.2009	Vlkov	AI(+)
C200347	31	F	19.6.2009	Starý u Soběslavi	
C200348	23	F	20.6.2009	Dobrá Vůle	AI(-), <i>Capillaria</i>
C200349	30	F	20.6.2009	Víra	AI(+), <i>Capillaria</i>
C200350	31	F	20.6.2009	Naděje	AI(+)
C200359	31	F	16.6.2009	Obecní	AI(+)
C200360	31	F	11.6.2007	Kameníček	
C200364	31	F	12.6.2009	Vlkov	AI(+)
C200391	23	F	17.6.2007	Vlkov	<i>Borrelia</i>
C200392	23	juv.	18.6.2007	Starý u Soběslavi	
C200393	31	F	18.6.2007	Starý u Soběslavi	
C200396	23	F	1.7.2007	Naděje	AI
C200398	23	F	8.5.2009	Starý u Soběslavi	AI(-), <i>Eimeria</i> , <i>Capillaria</i>
C200399	23	F	1.6.2009	Starý u Soběslavi	AI(+), <i>Capillaria</i>
C200400	31	F	12.6.2009	Mezenský nový	AI(+)
C200457	23	M	25.5.2007	Kameníček	
C200458	23	F	25.5.2007	Kameníček	<i>Anaplasma</i>
C200462	31	F	18.6.2007	Starý u Soběslavi	AI, <i>Borrelia</i>
C200462r	31	F	29.6.2008	Starý u Soběslavi	

číslo kroužku	druh	pohlaví	datum odchyty	rybník	nález
C200465	31	F	19.6.2007	Starý u Soběslavi	AI
C200465r	31	F	10.6.2009	Starý u Soběslavi	
CX0501	30	F	26.6.2009	Víra	AI(+)
CX0502	31	F	26.6.2009	Víra	AI(+)
CX0503	31	F	26.6.2009	Vlkov	AI(+)
CX0504	31	F	26.6.2009	Naděje	AI(+)
CX0505	23	F	1.7.2009	Vlkov	AI(+)
CX0506	23	F	2.7.2009	Starý u Soběslavi	AI(+)
CX0507	31	F	2.7.2009	Starý u Soběslavi	AI(-), <i>Capillaria</i>
CX0508	31	F	7.7.2009	Starý u Soběslavi	
D200082	32	F	17.6.2007	Vlkov	
D200136	24	F	25.5.2007	Kameníček	
D200137	24	M	25.5.2007	Kameníček	
D200138r	32	F	22.6.2008	Vlkov	
D200138	32	F	19.6.2007	Vlkov	
D200139	32	F	21.6.2007	Starý u Soběslavi	
D200139 r	32	F	14.6.2009	Starý u Soběslavi	
D200140	32	F	1.7.2007	Samosoly	
D200141	32	F	2.7.2007	Starý u Soběslavi	
D200142	32	F	2.7.2007	Mezenský nový	
D200143	32	F	8.7.2007	Naděje	
D200144	32	F	23.7.2007	Starý u Soběslavi	
D200144r	32	F	27.6.2009	Starý u Soběslavi	AI(-)
D200145	32	F	29.7.2007	Švarcenberk	
D200146	32	F	23.6.2008	Mezenský nový	
D200147	32	F	12.6.2009	Mezenský nový	AI(+), <i>Amidostomum</i>
D200148	32	F	12.7.2008	Švarcenberk	
D200149	32	F	21.7.2008	Švarcenberk	
D200150	32	F	21.7.2008	Švarcenberk	
D200151	32	F	22.7.2008	Víra	
D200152	32	F	17.6.2009	Mezenský nový	AI(+), <i>Capillaria</i>
D200153	32	F	18.6.2009	Vlkov	AI(+)
D200154	32	F	18.6.2009	Vlkov	AI(+), <i>Echinuria</i>
D200155	32	F	27.6.2009	Starý u Soběslavi	AI(+)
D200156	32	F	1.7.2009	Vlkov	AI(+)
D200157	32	F	1.7.2009	Vlkov	AI(+)
D200158	32	F	1.7.2009	Švarcenberk	AI(+)
D200159	32	F	1.7.2009	Švarcenberk	AI(+)
D200160	32	F	1.7.2009	Švarcenberk	
D200161	32	F	2.7.2009	Starý u Soběslavi	
D200162	32	F	8.7.2009	Starý u Soběslavi	AI(+)
D200163	32	F	9.7.2009	Švarcenberk	AI(+)

### 2.3.4 Hodnocení kondice a statistické zpracování výsledků

O kondici ptáků mohou vypovídat různé parametry: reprodukční úspěšnost, fidelita, přežívání, fyzické rozměry. Nejsnadněji se u odchycených ptáků dají zjistit fyzické rozměry, všechny ostatní parametry vyžadují delší sledování značeného ptáka. U ptáků se kromě hmotnosti měří nejčastěji rozměry zobáku, tarsu a křídel. Nejstabilnější bývají podle všeho rozměry zobáku, které souvisí potravní strategií daného druhu, zatímco rozměry tarsu a křídel vypovídají více o velikosti daného jedince (Shutherland et al. 2004). U pěvců se jako nejvhodnější parametr pro posouzení velikosti ukazuje rozměr křídla (Gosler et al. 1998).

Hmotnost ptáků nám vypovídá o celkových zásobách uložených ve formě tuku i proteinů. Z energetického hlediska jsou výhodnější zásoby uložené ve formě tuku. Ovšem koncem inkubace, tedy v době odchyty ptáků z naší studie, jsou již tukové zásoby minimální, a proto je jejich vliv na celkovou hmotnost nízký (Baldassare a Bolen 2006).

Schamber et al. (2009) prokázali, že celková hmotnost koreluje s celkovým množstvím proteinů ale méně s celkovým množstvím tuku. Studii prováděli na pěti různých druzích kachen a snažili se vybrat parametr (křídlo, tarsus, zobák aj.), který by pomohl přesněji předpovědět množství tuku z celkové hmotnosti. Zjištěné vztahy mezi jednotlivými tělesnými rozměry a množstvím proteinů či tuku se u jednotlivých druhů rozcházel. Zdá se tedy, že je stále nejvhodnější využívat celkovou hmotnost.

V tabulce 2.2 jsou uvedeny hodnoty Spearmanových korelačních koeficientů vyjadřující vztahy mezi jednotlivými proměnnými. Statisticky průkazná korelace ( $P < 0.05$ ) byla zjištěna mezi velikostí obou křídel a mezi hmotností a šířkou zobáku. Pro další statistické zpracování dat byly použity zobecněné lineární regresní modely.

Tabulka 2.2 Spearmanovy korelační koeficienty

	rzob_del	rzob-sir	rnozdry	rlebka	rtarsus	rkrídlo	rkrídlo2	rhmotnost	eggmass
rzob_del	1,0000								
rzob-sir	0,2566	1,0000							
rnozdry	0,4341	0,0977	1,0000						
rlebka	0,4790	0,2658	0,4391	1,0000					
rtarsus	0,2163	0,3072	0,3194	0,4428	1,0000				
rkrídlo	0,1873	0,0938	0,1885	0,2378	0,2697	1,0000			
rkrídlo2	0,2989	0,1499	0,2360	0,4021	0,2867	<b>0,6246</b>	1,0000		
rhmotnost	0,2759	<b>0,5399</b>	0,0653	0,4440	0,3870	0,1717	0,3563	1,0000	
eggmass	-0,0746	0,1122	0,0806	0,0775	-0,0554	-0,0863	-0,3071	0,0576	1,0000

Ze souboru ptáků v naší studii vychází vysoce signifikantní pozitivní vztah mezi hmotností a šířkou zobáku a dále negativní vazba s rozměry nozder (tabulka 2.3).

Tabulka 2.3 Vztah měřených parametrů (tělesných rozměrů) a hmotnosti

parametr	regresní koeficient	p_hodnota	95% int. spolehlivosti
rzob_del	0,283	0,228	-0,182; 0,749
rzob_sir	<b>1,109</b>	<b>0,000</b>	0,544; 1,675
rnozdry	<b>-0,435</b>	<b>0,028</b>	-0,822; -0,048
rlebka	0,280	0,523	-0,590; 1,149
rtarsus	0,242	0,214	-0,144; 0,628
rkrídlo	0,297	0,515	-0,610; 1,204

## 3. Aviární influenza

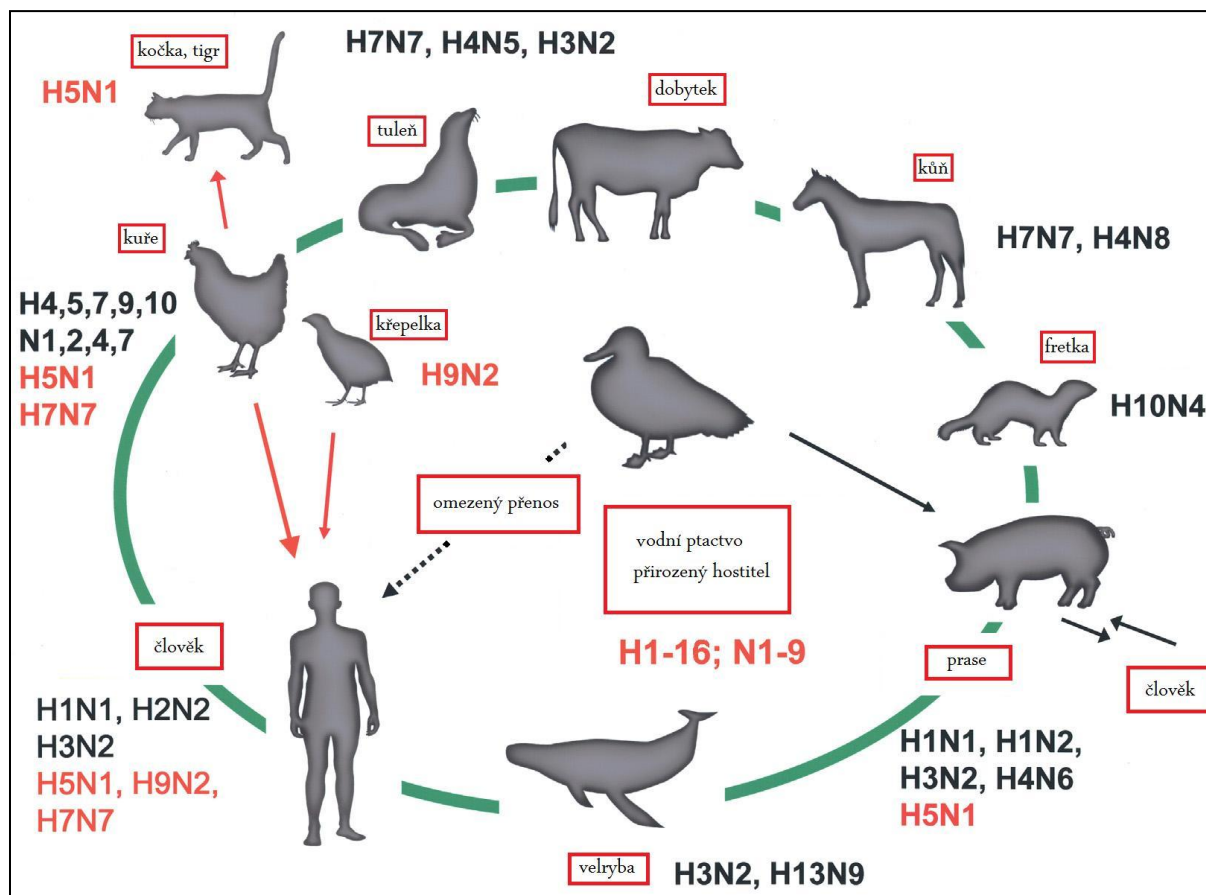
### 3.1 Úvod

Aviární influenza (AI) neboli ptačí chřipka je vysoce nakažlivá choroba ptáků způsobená Influenza A virem z čeledi Orthomyxoviridae. Její rozšíření je kosmopolitní, viry AI byly izolovány ze vzorků z Afriky, Asie, Austrálie, Evropy a ze Severní i Jižní Ameriky. Záznamy jsou i o sérologicky pozitivních tučňácích na území Antarktidy (Morgan a Westbury 1981; Swayne et al. 2008). Za hlavní přírodní rezervoáry virů AI jsou považovány především dva řády vodního ptactva: vrubozobí (*Anseriformes*) a dlouhokřídli (*Charadriiformes*). Zástupci obou těchto řádů šíří viry AI na dlouhé vzdálenosti v průběhu svých jarních a podzimních migrací (Webster et al. 1992; Olsen et al. 2006)

Influenza A virus obsahuje genetickou informaci ve formě jednoho vlákna RNA (-), které se dělí na 8 segmentů kódujících 11 proteinů. Chřipkové viry jsou klasifikovány na základě dvou povrchových glykoproteinů: Hemagglutininu (HA) a neuraminidázy (NA) (Webster et al. 1992). U ptáků bylo 16 antigenních subtypů HA a 9 NA (Fouchier et al. 2005). Oba tyto proteiny mají důležitou funkci v rozpoznávání vnímavé hostitelské buňky a při průniku dovnitř hostitelské buňky. HA je kódován na 4. segmentu RNA a je zodpovědný za navázání virionu na hostitelskou buňku a za fúzi obalu virionu s povrchem hostitelské buňky. NA je kódována na 6. segmentu RNA, štěpí terminální kyselinu sialovou hostitelských glykoproteinů a glykolipidů, která se účastní vazby s virionem. NA je tedy zodpovědná za uvolňování virionu z hostitelské buňky (Webster et al. 1992).

Ročně umírá na chřipkové epidemie 250 až 500 tisíc lidí, v případě pandemie až milióny. Na Španělskou chřipku (H1N1) zemřelo v letech 1918-1919 přes 20 miliónů osob (Taubenberger et al. 1997). Kromě influenza A viru existují ještě influenza B a C viry, které byly izolovány až na výjimku pouze z člověka a způsobují lokální epidemie chřipkových onemocnění (B virus byl izolován v roce 200 v Holandsku z tuleně (Osterhaus et al. 2000)). Influenza A virus je ovšem z těchto tří nejvirulentnější, způsobuje závažné respirační onemocnění a může vést až k systémovému selhání. Kromě toho má nejširší škálu hostitelů od člověka přes různé druhy savců jako prasata, koně, kytovce aj. až po mnoho ptačích druhů (obr. 3.1). Mezi ptáky, především vodními, se vyskytuje největší genetická rozmanitost

influenza A viru a pravděpodobně jsou z ptačích subtypů odvozeny i všechny zvířecí a lidské subtypy (Webster et al. 1992).



Obrázek 3.1 Rozšíření subtypů Influenza A viru u různých druhů zvířat a u člověka (Suzuki, 2005, upraveno).

Jsou zaznamenány případy přenosu AI na člověka (Swayne 2000), ale jejich výskyt je vzácný v porovnání roční incidence subtypů H1N1 a H3N2, které jsou adaptované na člověka jako hostitele. Rozdíl může být způsoben vazebnou specifitou receptoru epiteliálních buněk dýchacího ústrojí. Viry AI se přednostně váží na N-acetylneuramin- $\alpha$ 2,3-galaktózu (sialoligosacharid), zatímco lidské chřipkové viry preferují vazbu na N-acetylneuramin- $\alpha$ 2,6-galaktózu (Ito et al. 1998, Rogers a Paulson 1983). U ptáků převažuje v dýchacím traktu sialoligosacharid s vazbou  $\alpha$ 2,3, zatímco u člověka je to sialoligosacharid s vazbou  $\alpha$ 2,6. N-acetylneuramin- $\alpha$ 2,3-galaktóza se v dýchacím traktu u člověka vyskytuje pouze u cylindrických buněk v hlubších vrstvách epitelu průdušinek.

U ptáků se vyskytuje všech 16 subtypů HA a 9 subtypů NA. Vyskytují se s různou četností u různých druhů. Nejběžnější subtypy mezi vrubozobými jsou H3, H4, H6, N2, N6 a

N8 (Krauss et al. 2004) mezi dlouhokřídlými jsou pak nejběžnější H3, H9, H11, H13, N2, N4, N8 a N9 (Krauss et al. 2004). Ve studii prováděné v severní Evropě (Munster et al. 2007) byl zjištěn rozdílný výskyt subtypů AI u jednotlivých druhů: U kachny divoké se vyskytovaly subtypy H1-H13, u hvízdáka eurasijského (*Anas penelope*) H1, H4, H6 a H9, u čírky obecné (*Anas crecca*) H1, H3, H6 a H8, u kopřivky obecné H9 a u ostralky štíhlé (*Anas acuta*) H2. U hus a labutí byl nejběžnějším subtypem H6. Mezi racky převládaly subtypy H13N8 a H16N3.

Jednotlivé subtypy AI se dělí na vysoce patogenní (HPAI-highly pathogenic AI), kam patří především subtypy H5 a H7, a lehce patogenní (LPAI-low pathogenic AI), za které je považována většina ostatních subtypů (Alexander 2000). HPAI subtypy způsobují vážné systémové onemocnění zasahující i nervový a kardiovaskulární systém, mortalita může dosáhnout až 100% (Swayne a Suarez 2000). LPAI subtypy mohou způsobovat lehká respirační onemocnění a poklesy ve snůšce vajec, u volně žijících ptáku bývají ale většinou bezpříznaková (Swayne 2000)

Významné rozdíly ve výskytu AI u vodního ptactva jsou i v průběhu roku. Největší výskyt AI je v průběhu podzimní migrace. U kachny divoké může v některých letech dosáhnout prevalence během podzimní migrace až 60% u juvenilů (Hinshaw et al. 1985). Z jiných studií prováděných v Kanadě mezi lety 1976 a 1989 byla nejvyšší prevalence u juvenilních ptáků kolem 20% během srpna a září. Frekvence výskytu se během migrace snižuje a na zimovištích dosahuje prevalence poměrně širokého rozmezí 0,4 – 31% (Stallknecht et al. 1990). Ve studii Munster et al.(2007) prováděné v letech 1999 až 2005 byly zjištěny nejvyšší prevalence v průběhu září a října s kolísáním v jednotlivých letech (0,93% v září 2002 až 20,76% v říjnu 2001).

Tato sezónnost výskytu AI se pravděpodobně vyskytuje, protože v období podzimní migrace se agreguje velké množství mladých naivních ptáků. Prevalence AI se značně liší mezi juvenilními jedinci 6,8% a dospělci 2,8% u plovavých kachen (Munster et al. 2007). Virus AI je poměrně odolný vnějšmu prostředí. Při pokojové teplotě v trusu si zachovává virulenci až 70 dní, při teplotě 37°C až 6 dní. Je vysoce rezistentní k nízkému pH a dlouhodobě přežívá ve tkáních, v trusu i ve vodě (Machová et al. 2005). Během podzimní migrace, kdy dochází agregaci ptáků na vodních plochách, bylo prokázáno, že virus zůstává infekční i po 4 dnech v povrchové vodě při teplotě 22°C a více než 30 dní při teplotě 0°C (Webster et al. 1978).



## 3.2 Materiál a metody

V průběhu kroužkování jsme u odchycených ptáků provedli výtěry z kloaky a ze zobáku pomocí sterilní výtěrové sady 147C VIRUS TRANSPORT (COPAN Italia S.p.A.). Dále jsme do zkumavky typu eppendorf bez protisrážlivého roztoku odebrali 0,5 až 1 ml krve.

Vzorky byly vyšetřovány Národní referenční laboratoří pro diagnostiku newcastelské choroby a aviární influenzy ve Statním veterinárním ústavu v Praze. Vyšetření se provádí podle směrnice rady 92/40/EHS, Manuálu standardních diagnostických testů a vakcín, kapitola 2.1.14. a Metodického návodu SVS ČR č. 10/2003.

Výtěry z kloaky a ze zobáku byly vyšetřeny na přítomnost virů AI metodou real time PCR (polymerase chain reaction). RT-PCR (One Step RT-PCR Kit, Qiagen) byla prováděna podle Fouchiera et al. (2000) s úpravou podmínek jednotlivých cyklů následovně: 50 °C na 20 min následováno 40 cykly 94 °C na 30 s, 45°C na 30 s a 72°C na 30 s. Vše je zakončeno jedním cyklem 72°C na 5 min.

Krevní sérum bylo vyšetřeno na přítomnost protilátek proti AI metodou ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay, (Avian Influenza Virus Antibody Test Kit, IDEXX) se skupinovým antigenem (Machová et al. 2005). V případě pozitivního ELISA testu se prováděl ještě hemaglutinačně inhibiční test (HIT) se subtypy H5N2 a H7N7, které spadají do skupiny HPAI. Viry aviární influenzy aglutinují drůbeží červené krvinky, této vlastnosti se využívá v HIT. Průkaz protilátek v séru je založen na principu inhibice hemaglutinace.

Test Avian Influenza MultiS-Screen Antibody Test Kit byl validován pro kuřata, krůty, kachny, husy a pštrosy a používá se především ke screeningu protilátek proti AI v populacích domácí drůbeže. Metoda byla testována na zvířatech vakcinovaných proti AI a na kontrolní skupině zvířat, která se virem nesetkala. Specifita této metody dosahuje 99,7%. Senzitivita byla testována na třech skupinách kuřat, kterým byla podána vakcína proti třem různým subtypům AI. Specifické protilátky proti AI byly touto metodou zaznamenány už 13. den po vakcinaci (IDEXX FlockChek\* , <http://www.idexx.com>).

S/N ratio se počítá jako podíl optické density (OD) vzorku a průměru OD negativní kontroly. Jako negativní se hodnotí vzorek s  $S/N \geq 0,50$  (manuál Avian Influenza Virus Antibody Test Kit, IDEXX).

V letech 2007 a 2008 byly výtěry z kloaky a ze zobáku vyšetřeny Mgr. Štěpánem Rybou na Katedře zoologie Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy. Výtěry byly

provedeny vatovým tamponem, který byl po odběru vložen do zkumavek typu eppendorf se 150 µl stabilizačního pufru s ampicilinem (500 µg/ml). Vzorčky byly přepravovány při teplotě +4°C a před dalším zpracováním uskladněny při teplotě -84°C. Byla provedena standartní PCR amplifikace (Qiagen), u vzorků pozitivních na virus AI byla provedena subtypizace na hemagglutinin H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7 a H9.

### 3.3 Výsledky

Na přítomnost viru AI ve výtěrech z kloaky a zobáku bylo vyšetřeno 39 ptáků chycených v období od 8. května do 9. července roku 2009. Mezi nimi bylo 14 samic poláka velkého, 14 samic poláka chocholačky, 8 samic kachny divoké, 2 samice zrzhlávky rudozobé a 1 samice kopřivky obecné. Všechny vzorky byly negativní na přítomnost viru AI za použití metody RT-PCR.

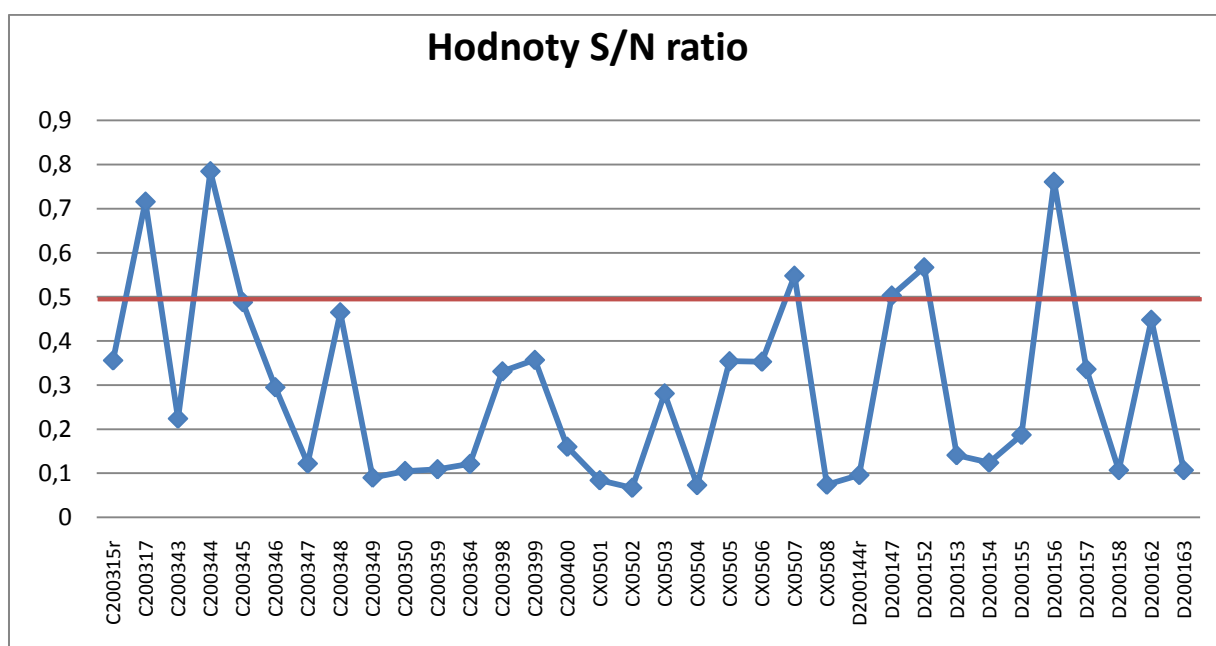
V letech 2007 a 2008 bylo vyšetřeno 36 ptáků na přítomnost virů AI v kloace nebo zobáku. Mezi nimi bylo 9 samic poláka velkého, 15 samic poláka chocholačky, 9 samic kachny divoké, 1 samice zrzhlávky rudozobé a 2 samice kopřivky obecné. Ve čtyřech případech byla zjištěna přítomnost viru AI a to subtypu H3. Jednalo se o 1 samici kachny divoké a tři samice poláka velkého. V tabulce 3.1 je naznačen negativní vliv přítomnosti viru AI na hodnoty eggmass u zkoumaných kachen, ale není průkazný. V modelu je zohledněn vliv druhu na velikost eggmass, jako referenční druh byl zvolen polák chocholačka. Dále byly odfiltrovány i vlivy dalších měřených parametrů uvedených v tabulce.

Tabulka 3.1 Vliv přítomnosti viru AI na velikost vajec

parametr	regresní koeficient	p_hodnota	95% int. spolehlivosti
rzob_del	-1,985	0,896	-32,378; 28,408
rzob_sir	22,901	0,193	-12,003; 57,805
rnosdry	-0,907	0,936	-29,308; 17,699
rlebka	8,235	0,761	-45,851; 62,321
rtarsus	-5,804	0,622	-23,682; 21,868
rkridlo	-7,371	0,814	-69,967; 55,224
druh_23	1,854	0,227	-1,196; 4,904
druh_24	-10,956	0,018	-19,933; -1,979
druh_30	5,153	0,049	0,024; 10,282
druh_31	11,347	0,000	8,614; 14,080
AI	<b>-3,744</b>	<b>0,131</b>	-8,640; 1,152

Metodou ELISA bylo vyšetřeno 34 vzorků krevního séra od ptáků odchycených v období od 8. května do 9. července roku 2009. Mezi nimi bylo 13 samic poláka velkého, 10 samic poláka chocholačky, 8 samic kachny divoké, 2 samice rzohlávky rudozobé a 1 samice kopřivky obecné. Z testovaných vzorků bylo 28 pozitivních na protilátky proti AI (viz obr 3.2)

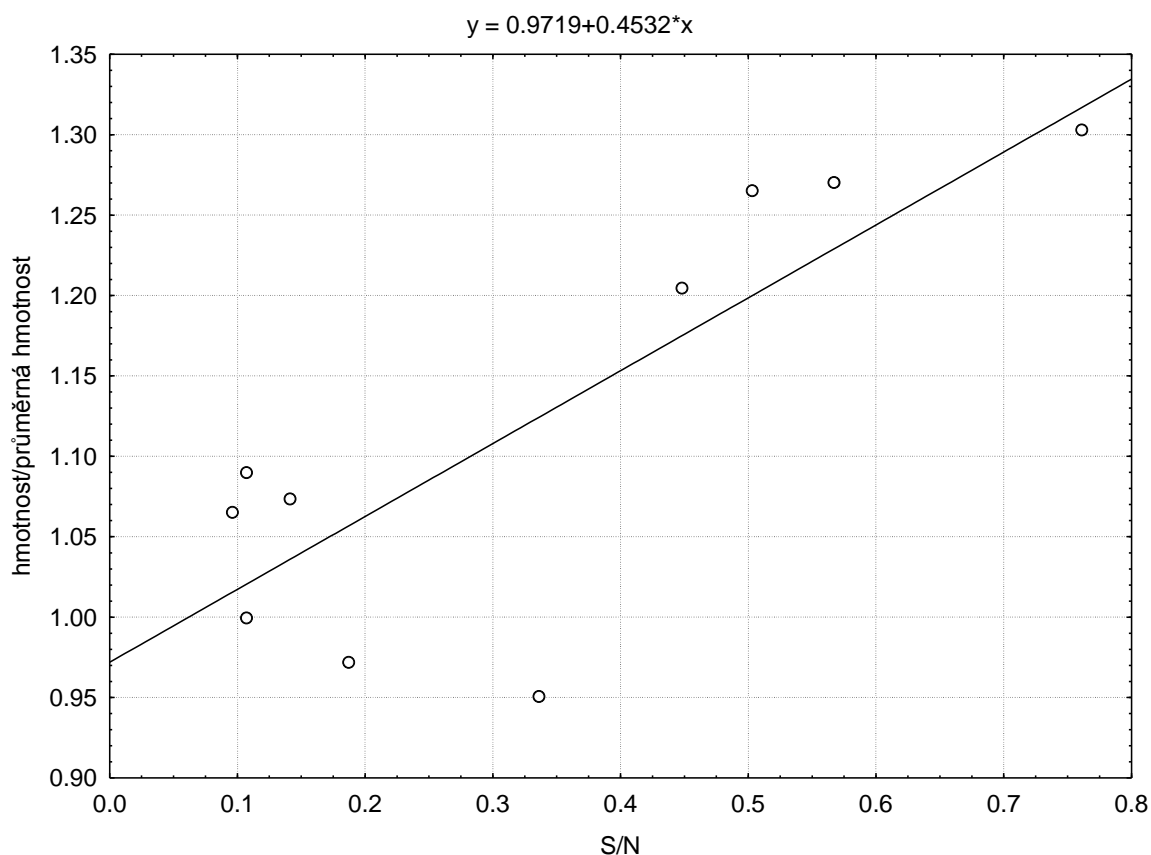
Výsledky HIT testu na protilátky proti subtypům H5N2 a H7N7 byly ve všech případech negativní.



Obrázek 3.2 Hodnoty S/N ratio. Jednotlivé vzorky jsou označeny čísly kroužků.

Hodnoty S/N jsou nepřímým vyjádřením hladiny protilátek, cut off je 0,5 (manuál Avian Influenza Virus Antibody Test Kit, IDEXX). Hodnoty pohybující se těsně kolem cut off je těžké určit jako pozitivní nebo negativní na výskyt protilátek. Pro statistické zpracování dat jsme se řídili striktně hodnotou cut off, takže všechny  $S/N \geq 0,5$  jsou považovány za negativní. Pro zhodnocení množství protilátek ve vzorku se hodnoty nižší než 0,35 dají považovat za průkazně pozitivní a hodnoty kolem 0,1 za silně pozitivní (vysoká hladina protilátek).

Na obrázku 3.3 je patrné, že samice poláka chocholačky, jejichž hodnota S/N se pohybuje kolem cut off nebo je vyšší, mají relativní hmotnost vyšší než samice, u nichž je prokazatelná přítomnost protilátek.



Obrázek 3.3 Závislost relativní hmotnosti poláka chocholačky na hodnotách S/N

Dále byl posouzen vliv přítomnosti protilátek v séru kachen na hodnoty eggmass a relativní hmotnosti (v tabulkách 3.2 a 3.3). Hodnota  $s_{n2}$  je odvozena zjednodušením z hodnoty S/N a má pouze dvě kategorie, protilátky pozitivní/negativní. Ve výpočtu pro eggmass vychází vztah na hranici významnosti, ovšem ve smyslu, že ptáci pozitivní na protilátky mají v průměru tendenci k vyššímu eggmass. Ve vztahu s relativní hmotností nevychází p\_hodnota významně.

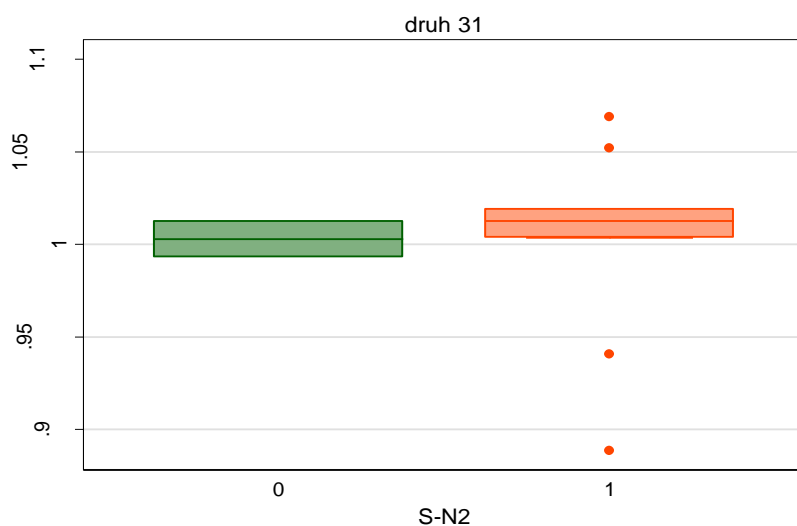
Tabulka 3.2 Vliv přítomnosti protilátek na velikost vajec

parametr	regresní koeficient	p_hodnota	95% int. spolehlivosti
rzob_del	7,042	0,786	-46,579; 60,662
rzob_sir	34,574	0,206	-20,715; 89,862
rnosdry	-13,776	0,434	-49,882; 22,329
rlebka	-13,933	0,686	-84,999; 57,133
rtarsus	4,653	0,831	-40,401; 49,707
rkridlo	-24,662	0,602	-122,070; 72,746
<b>s_n2</b>	<b>5,225</b>	<b>0,055</b>	-0,134; 10,585
druh_23	4,692	0,056	-0,130; 9,513
druh_24	-13,103	0,021	-23,977; -2,228
druh_30	3,086	0,391	-4,276; 10,447
druh_31	11,331	0,000	6,632; 16,030

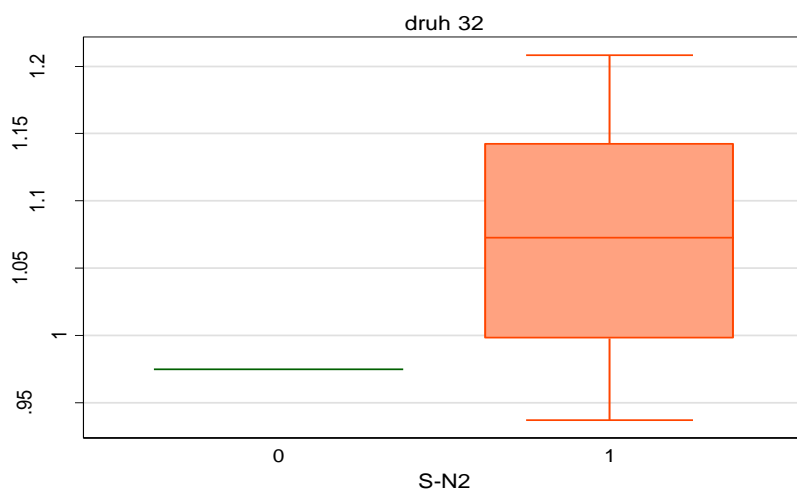
Tabulka 3.3 Vliv přítomnosti protilátek na relativní hmotnost

parametr	regresní koeficient	p_hodnota	95% int. spolehlivosti
rzob_del	0,096	0,755	-0,531; 0,723
rzob_sir	1,241	0,001	0,603; 1,879
rnosdry	-0,668	0,004	-1,099; -0,236
rlebka	0,080	0,842	-0,735; 0,895
rtarsus	0,384	0,145	-0,142; 0,911
rkrídlo	0,438	0,410	-0,639; 1,515
s_n2	<b>0,045</b>	<b>0,164</b>	-0,019; 0,106

Na obrázcích 3.4 a 3.5 je znázorněno rozložení relativních hmotností u dvou druhů s největším počtem vyšetření, poláka velkého (31) a poláka chocholačky (32). Hodnoty s\_n2 jsou rozděleny na dvě kategorie, 0 - negativní na protilátky a 1 - pozitivní na protilátky.



Obrázek 3.4 Rozložení relativních hmotností u poláka velkého



Obrázek 3.4 Rozložení relativních hmotností u poláka chocholačky

### 3.4 Diskuze

Jak již bylo zmíněno v úvodu této kapitoly, viry AI mohou ovlivňovat mortalitu ptáků a to především domácí drůbeže. U volně žijících ptáků se infekce AI pokládá spíše za bezpříznakovou. Ve studii Gunnarsson et al. (2008) byl ovšem zjištěn vliv virů LPAI na kondici. U ptáků vylučujících viry LPAI v trusu bylo zjištěno snížení hmotnosti o cca. 20g.

V naší studii nebyla zjištěna přítomnost virů AI v žádném z pořízených výtěrů z let 2008 a 2009. Pouze v roce 2007 se vyskytly 4 pozitivní vzorky. Tato skutečnost odpovídá studiím, které jako období s největší prevalencí určují dobu podzimní migrace (Stallknecht et al. 1990; Munster et al. 2007). Statistické zpracování dat bylo ztíženo s ohledem na nízký počet nálezu virů AI. Vliv přítomnosti viru na hmotnost nevycházel v tak malém vzorku významně. V modelu pro eggmass je negativní vliv přítomnosti viru naznačen, ale není průkazný, což zřejmě také souvisí s malými počty pozitivních jedinců.

Dvě ze čtyř samic vylučujících viry AI jsme odchytily v následujících sezonách, kdy už u nich viry AI nebyly detekovány, můžeme proto přímo porovnat jejich hmotnosti a hodnoty eggmass. Samice poláka velkého s číslem kroužku C200462 byla odchycena v roce 2007 (pozitivní na viry AI) a následně v roce 2008 (negativní na viry AI). V roce 2008 měla samice o 42g vyšší hmotnost a o 1,2g vyšší eggmass. Druhá samice poláka velkého s kroužkem C200465 byla odchycena v roce 2007 (pozitivní) a znovu v roce 2009 (negativní). V roce 2009 měla o 67g vyšší hmotnost a o 0,5g vyšší eggmass. U této samice máme navíc i údaje o vodění mláďat. Zatímco v roce 2007 byla po úspěšném vylíhnutí pozorována s odstupem jednoho týdne již bez mláďat, v roce 2009 byla pozorována s mláďaty ještě tři týdny po jejich vylíhnutí. Z těchto dvou případů lze usuzovat, že akutní fáze infekce s vylučováním virů AI může ovlivnit kondici hnízdící samice.

Na rozdíl od malého počtu výtěrů pozitivních na viry AI byla velká většina krevních vzorků testovaných na přítomnost protilátek proti AI pozitivní, což naznačuje, že viry AI jsou mezi divoce žijícími kachnami velmi rozšířeny. Hladiny protilátek může ovlivňovat mnoho faktorů, jako je imunitní systém daného jedince, celková kondice a míra stresu. Protilátky jsou pomocí hemaglutinace detekovatelné již 7 dní po infekci a tato metoda zůstává nejcitlivější v porovnání s ostatními běžnými metodami pro detekci protilátek i 21 dní po infekci (Spackman et al. 2009). Ze studie Fereidouni et al. z roku 2010 vyplývá, že detekovatelné hladiny protilátek se v sérech infikovaných kachen mohou vyskytovat i déle než jeden rok,

jsou ovšem nižší. Dá se usuzovat, že samice z naší studie, které měly vysoké hladiny protilátek, prodělaly infekci v předešlém roce, pravděpodobně během podzimního až zimního peaku výskytu AI.

Vliv přítomnosti protilátek na relativní hmotnost v modelu zahrnující všechny druhy nebyl prokázán. Pouze u druhu polák chocholačka byla naznačena negativní závislost relativní hmotnosti na hladině protilátek, soubor je ovšem příliš malý na statistické zpracování. V modelu pro velikost vajec vychází vztah na hranici významnosti, ovšem ve smyslu, že ptáci s detekovanými protilátkami mají v průměru tendenci klást větší vejce. Zdá se, že přítomnost protilátek v séru kachen nemá velký vliv na kondici jedinců. Je ovšem jasné, že pozitivní jedinci prodělali akutní fázi infekce s vylučování virů AI, a to pravděpodobně v předešlém roce. Je možné, že ptáci prodávající infekci v průběhu kumulace tukových zásob byli tímto znevýhodněni.

Dalším důvodem, proč byly vzorky testovány na přítomnost AI, byla i bezpečnost členů týmu spolupracujícího na odchytech kachen a hledání hnízd. Důvodem je existující riziko přenosu HPAI na člověka. Jelikož analýzy na přítomnost virů AI byly negativní a protilátky proti subtypům H5N2 a H7N7 se ve vzorcích nevyskytovaly, nehrozí patrně žádné riziko přenosu HPAI.

## 4. *Borrelia* a *Anaplasma*

### 4.1 Úvod

Borelióza a anaplasmóza jsou bakteriální infekce přenášené klíšťaty rodu *Ixodes* (Parola a Raoult 2001).

Lymfská borelióza je nejčastějším členovci přenášeným onemocněním u osob žijících v mírném klimatickém pásu. Jejím původcem je *Borrelia burgdorferi* sensu lato, gramnegativní bakterie z kmene spirochét. *B. burgdorferi* má 11 poddruhů, z nichž nejméně 4 způsobují onemocnění u člověka (*B. burgdorferi*, *B. spielmanii*, *B. afzelii* a *B. garinii*) (Baranton 1992; Richter 2006). V Evropě bylo izolováno 6 z 11 poddruhů, jejichž přenašečem je hlavně *Ixodes ricinus*, u mořských ptáků na Faerských ostrovech byl potvrzen také přenos druhem *Ixodes uriae* (Gyfle et al. 1999). Nejčastěji se vyskytují druhy *B. afzelii*, *B. garinii* a *B. valaisiana*, přičemž pro *B. afzelii* jsou předpokládaným rezervoárovým hostitelem hlodavci (Humair et al. 1993). Pro *B. garinii* a *B. valaisiana* jsou pravděpodobným rezervoárovým hostitelem různé druhy ptáků např. bažant (*Phasianus colchicus*), různé druhy pěvců a někteří mořští ptáci (Kurtenbach et al. 1993; Gyfle et al. 1999; Hanincová et al. 2003; Poupon et al. 2006).

Granulocytární anaplasmóza se vyskytuje u lidí a u řady domácích zvířat (pes, kůň, dobytek, ovce, koza, lama a kočka) a je způsobena intracelulární bakterií z řádu *Rickettsiales*, *Anaplasma phagocytophilum*, která se nachází v neutrofilních granulocytech (Dumler et al. 2001). Primárně je přenášena klíštětem *Ixodes ricinus*, ale byla již izolována i ze sametkovců čeledi *Syringophilidae* vyskytujících se u různých druhů lesních pěvců (Skoracki et al. 2006). Na šíření tohoto druhu se jistě velkou měrou podílejí i migrující ptáci. *A. phagocytophilum* byla izolována z klíšťat přisátých na pěvcích odchycených během jarní migrace ve Švédsku (Bjoersdorff et al. 2001).



## 4.2 Materiál a metody

Krev byla odebírána z tarsální žíly pomocí inzulínové stříkačky 0,30 x 12 mm o obsahu 1 ml (Omnican). Byla uchovávána ve vakuétách s 3,2 % roztokem citrátu sodného ( $C_6H_5Na_3O_7$ ).

DNA byla izolována z krve pomocí High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Mannheim, Německo): 200 $\mu$ l krve bylo přeneseno do zkumavky obsahující 200  $\mu$ l lytického bufferu a 40  $\mu$ l proteinázy K, obsah zkumavky zamíchán a lyzován po dobu 1 hodiny při 56°C. Purifikovaná DNA byla nadále skladována v -20°C pro pozdější použití na PCR.

Všechny vzorky byly analyzovány standardní PCR s Ehr 521-790 primer set pro anaplasmu (Pancholi et al. 1995) a s LD primer set pro borellii (Marconi a Garon 1992), oba primery se zaměřují na 16S podjednotku rDNA. PCR amplifikace byla provedena na Peltier Cycler (MJ Research, Waltham, MA, USA) Reakční směs sestávala z 2,5  $\mu$ l izolované DNA a 1 $\mu$ M roztoku obou primerů (Biotech, Česká republika) v celkovém objemu 25 $\mu$ l Hot Start Master Mix (Qiagen, Hilden, Německo). DNA byla amplifikována s primerem Ehr 521-790 následovně: iniciální 15ti minutová denaturace na 95°C a poté 40 cyklů 45 vteřin na 95°C, 45 vteřin na 60°C a 45 vteřin na 72°C. Závěrečná extenze trvala 7 min při teplotě 72°C (Kybicová et al. 2009). DNA s primerem LD byla amplifikována následovně: iniciální 15ti minutová denaturace na 95°C následovaná 37 cykly, z nichž každý sestával z 1 minuty denaturace na 94°C, 30ti vteřinového annealingu na 52°C a 1,5 minutové extenze. Na závěr proběhla 7 minutová extenze na 72°C (Kybicová et al. 2008). PCR produkty byly separovány v 1% agarovém gelu, obarveny ethidium bromidem a vizualizovány pod UV transiluminátorem. Jako pozitivní kontrola byl využit již dříve izolovaný kmen *B. garinii* 310M a jako negativní kontrola byla použita destilovaná voda.

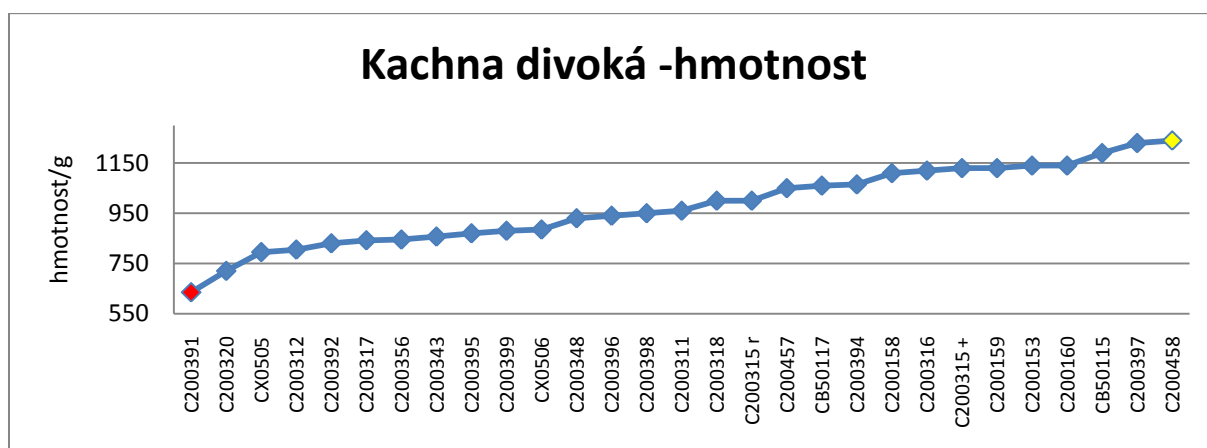
Pro další analýzu vzorků pozitivních na borellie bylo využito analýzy RFLP(restriction fragment length polymorphism) s 5S (*rrfA*)-23S (*rrlB*) rDNA intergenic spacer primery (222 \_ 255 bp) (Derdáková et al. 2003) s následujícími podmínkami: iniciální denaturace po dobu 15 minut na 95°C, 5 cyklů 94°C na 15 vteřin, 61°C (pro 1. cyklus s teplotou snižující se o 0,2 °C každý cyklus) na 25 vteřin a 72°C na 30 vteřin, následovalo 5 cyklů 94°C na 15 vteřin, 60°C (pro 1. cyklus s teplotou snižující se o 0,4 °C každý cyklus) na 25 vteřin a poté 30 cyklů 94°C na 15 vteřin, 58°C na 30 vteřin a 72°C na 30 vteřin, závěrečná extenze trvala 10 minut při teplotě 72°C. Reakční směs se skládala z 2,5  $\mu$ l izolované DNA a 1 $\mu$ M roztoku obou

primerů (Generi Biotech, Česká republika) v celkovém objemu 25 $\mu$ l Hot Start Master Mix (Qiagen, Hilden, Německo). DNA *B.afzelii* kmen Kc90, *B. garinii* kmen M192, *B.burgdorferi* s. s. kmen B31 a *B. valaisiana* kmen E117 byly použity jako pozitivní kontroly. Z každého pozitivního vzorku bylo 12-20  $\mu$ l amplifikované DNA bylo rozloženo v roztoku obsahujícím 5 U Tru 9l (10,000 U/ml) a 1 $\times$  buffer M (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Německo) při teplotě 65 $^{\circ}$ C na 2 hodiny. Fragmenty DNA byly separovány v 3% agarovém gelu, obarveny ethidium bromidem a vizualizovány pod UV transilluminátorem.

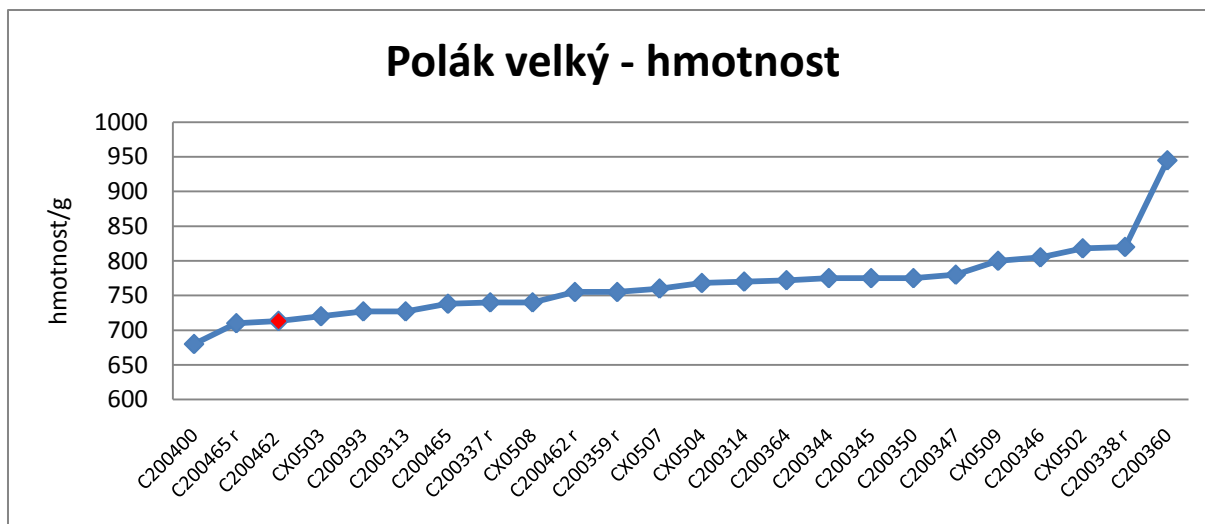
Všechny odchycené kachny byly také prohlédnuty na vnější parazity především klíšťata a to primárně na hlavě, kolem zobáku a očí, na běhácích a v záhybech křídel.

### 4.3 Výsledky

V letech 2007 až 2009 bylo odchyceno celkem 76 ptáků, kteří byli testováni na přítomnost *Borrelia burgdorferi* sensu lato a *Anaplasma phagocytophilum* v krvi. Zastoupení druhů bylo následující: Kachna divoká 19 $\times$ , kopřivka obecná 3 $\times$ , zrzohlávka rudozobá 3 $\times$ , polák velký 22 $\times$  a polák chocholačka 29 $\times$ . *B. burgdorferi* sensu lato byla zjištěna u dvou jedinců a byla identifikována jako poddruh *B. garinii*. Pozitivní jedinci byly samice kachny divoké (č. kroužku C200391) a poláka velkého (č. kroužku C200462) odchycené v roce 2007. *A. phagocytophilum* byla izolována ze vzorku samice kachny divoké (č. kroužku C200458) z roku 2007. Na obrázku 4.1 a 4.2 je znázorněna hmotnost infikovaných jedinců v porovnání s hmotnostmi negativně testovaných ptáků stejného druhu.



Obrázek 4.1 Rozložení hmotností testovaných ptáků (k. divoká). *B.garinii* – červená, *A. phagocytophilum* – žlutá.



Obrázek 4.2 Rozložení hmotností testovaných ptáků (p. velký). *B. garinii* – červená.

Ve statistickém modelu vícerozměrné lineární regrese v tabulce 4.1 se testuje závislost relativní hmotnosti na výskytu borrelií v krevním vzorku při odfiltrování vlivu všech dalších proměnných zařazených v modelu. Testuje se opět na hladině významnosti 0,05. Borrelióza byla zjištěna jako faktor negativně ovlivňující hmotnost ( $p$ \_hodnota = 0,009).

Tabulka 4.1 Vliv infekce borreliemi na relativní hmotnost

parametr	regresní koeficient	p_hodnota	95% int. spolehlivosti
rzob_del	0,273	0,223	-0,170; 0,716
rzob_sir	1,020	0,000	0,479; 1,562
rnosdry	-0,334	0,080	-0,711; 0,042
rlebka	0,191	0,648	-0,640; 1,021
rtarsus	0,156	0,4058	-0,217; 0,529
rkradlo	0,421	0,336	-0,447; 1,289
borrelia	<b>-0,141</b>	<b>0,009</b>	-1,729; 0,281

## 4.4 Diskuze

Některé druhy ptáků byly určeny jako možné rezervoáry pro druh *Borrelia garinii* jsou to např. bažant (Kurtenbach et al. 1993) a alka malá (*Alca torda*) (Gyfle et al. 1999). Ve střední Evropě to byly především pěvci kos černý (*Turdus merula*) a drozd zpěvný (*Turdus philomelos*), kteří nesli až 90% infikovaných larev a nymf klíštěte (Taragel'ová et al.

2008). *Anaplasma phagocytophilum* byla izolována z klíšťat nalezených na různých druzích pěvců, nejčastěji na července obecné (*Erithacus rubecula*) a kosu černém (Bjoersdorff et al. 2001).

Vodní ptactvo je jako možný rezervoár borreliózy zajímavé z hlediska jeho migrací na delší vzdálenosti. V okolí vodních ploch se díky vysoké vlhkosti vyskytuje bohatá vegetace, která je vhodným habitatem pro vektory borreliózy, klíšťata. Většina kachen se zdržuje delší dobu na souši během období hnízdění. Podle doby, po kterou jsou kachny v kontaktu s vegetací v okolí vodních ploch, na které se mohou vyskytovat klíšťata, se dá pravděpodobnost kontaktu určit u našich vybraných druhů následovně. Nejnižší pravděpodobnost kontaktu má druh polák chocholačka, jehož samice hnízdí nejčastěji v rákosu nebo v ostřici v bezprostřední blízkosti vody a potravu získávají nejčastěji potápěním. Naopak nejvyšší pravděpodobnost kontaktu je u kachny divoké, která někdy hnízdí poměrně daleko od vody a část potravy získává na souši (Hudec 1994).

Aby mohl být druh považován za rezervoár pro borreliu, musí být prokázána jeho schopnost zpětně infikovat borreliemi vektora – klíště. Předpokladem pro tento postup je možnost izolovat borreliu z krve daného druhu. U druhu kachna divoká byl proveden pokus infekce inokulací borrelií do krevního řečiště a také perorální cestou. V obou případech si kachny vytvořili protilátky proti borreliím a v různých časových intervalech (7 – 29 dní) byly izolovány borreliu z různých tkání (kloaka, ledviny, mezenterium, krev) (Burgess 1989).

Výskyt *B. garinii* a *A. phagocytophilum* u kachen je velmi vzácný (2/76 respektive 1/76). Za dobu tří let (2007 až 2009) také nebyl na žádném z odchycených ptáků objeven vektor těchto bakterií, klíště *Ixodes ricinus*. Oba dva ptáci infikovaní *B. garinii* jsou hmotnostně podprůměrní, což může znamenat, že byla ovlivněna jejich kondice, ale při takto malém množství pozitivních vzorků lze získané výsledky jen obtížně statisticky hodnotit.

Naproti tomu kachna divoká infikovaná *A. phagocytophilum* je nejtěžší ze všech odchycených ptáků. Tato odlišnost byla ovšem způsobena tím, že samice byla odchycena v předhnízdni sezóně a její vysoká hmotnost byla ovlivněna hmotností vajec.

## 5. *Leucocytozoon simondi*

### 5.1 Úvod

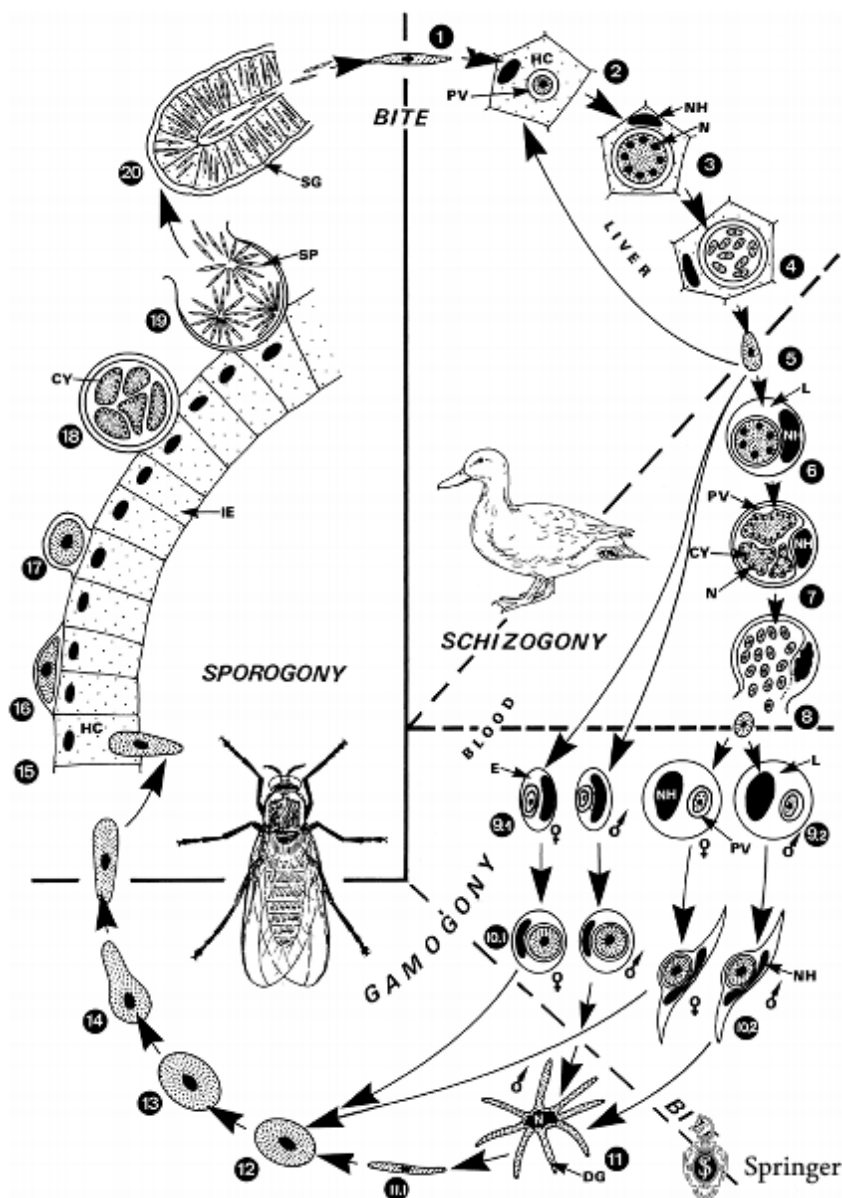
Leucocytozoonóza je onemocnění vyskytující se výhradně u ptáků. Rod *Leucocytozoon* patří do řádu *Haemosporida* kmene *Apicomplexa* (Bermudez et al. 2008). Nejrozšířenější druh u vrubozobých je *Leucocytozoon simondi*. Tento druh má holarktický typ rozšíření, prevalence infekce klesá s klesající zeměpisnou šířkou. Nejjižnější přenos byl zaznamenán v severovýchodním Mexiku (Valkuinas 2005). Běžně se vyskytuje u vrubozobých v Severní Americe, Evropě a Asii (Hsu et al. 1973; Merino et al. 1997; Hauptmanová et al. 2006).

Životní cyklus druhu *Leucocytozoon simondi* je stejně jako u ostatních zástupců rodu dvouhostitelský. Jeho vektorem jsou muchničky rodu *Simulium*, jako vektor u kachen jsou potvrzeny druhy *S. venustum*, *S. anatinum*, *S. fallisi*, *S. innocens*, *S. parnassum*, *S. rendalense*, *S. vittatum* a *S. rugglesi*. Uvnitř hmyzího vektora se odehrává sporogonie, která trvá 3 až 5 dní. Z oocyst nasátých s krví hostitele se tvoří ookinety, které pronikají do stěny trávicího traktu vektora a putují do slinných žláz, kde probíhá sporogonie. Sporozoity jsou se slinami vpraveny do hostitele-obratlovce, kde ve vnitřních orgánech (játra, mozek, slezina, plíce) probíhá schizogonie. Jaterní schizonti se dále dělí a produkují generaci merontů, kteří se uvolňují z jaterních buněk a napadají erytrocyty a erytroblasty nebo znovu infikují jaterní buňky. V erytrocytech se dále vyvíjejí gametocyty, které vytvářejí oocysty (obr. 5.1). V hepatocytech mohou vznikat i syncytia, která jsou po uvolnění pohlcena makrofágy. V těch se vyvíjí megaloschizonti, z nichž se dále uvolňují merozoiti napadající především lymfocyty. Gametocyty podlouhlého tvaru se pravděpodobně vyvíjí v těchto lymfocytech, zatímco gametocyty kulovitého tvaru se vyvíjí v erytrocytech (Kocan a Barrow 1968, Valkuinas 2005; Bermudez et al 2008).

Prevalence *Leucocytozoon simondi* je vysoká především v Severní Americe. Na severovýchodním pobřeží byla u hus a kachen zjištěna prevalence 14 až 20% (Bennette a Cameron 1974; Bennette et al. 1975). V Severní Americe se hranice přenosu nachází kolem 43°s.š., zatímco v Evropě je posunuta severněji, pravděpodobně pod vlivem Golfského proudu, nejvíce nálezů infekce je hlášeno ze severní Evropy (Kučera 1981a). Ve střední

Evropě se rod *Leucocytozoon* vyskytuje nejčastěji u krkavcovitých, měkkozobých a hrabavých (Kučera 1981b). Na základě porovnání velikosti megaloschizontů a rychlosti vývoje některých stádií bylo určeno, že v Severní Americe a v Evropě se pravděpodobně vyskytují dva různé kmeny druhu *Leucocytozoon simondi* (Eide a Fallis 2007).

U bernešky velké (*Branta canadensis*) byla zaznamenána vysoká mortalita mláďat z důsledku infekce *L. simondi* (Herman et al. 1975). U kachny divoké se nepodařilo experimentálně ověřit vliv *L. simondi* na mortalitu ani na váhové úbytky u mláďat (Shutler et al. 1990).



Obrázek 5.1 Životní cyklus *Leucocytozoon simondi* (zdroj: <http://parasitology.informatik.uni-wuerzburg.de>)

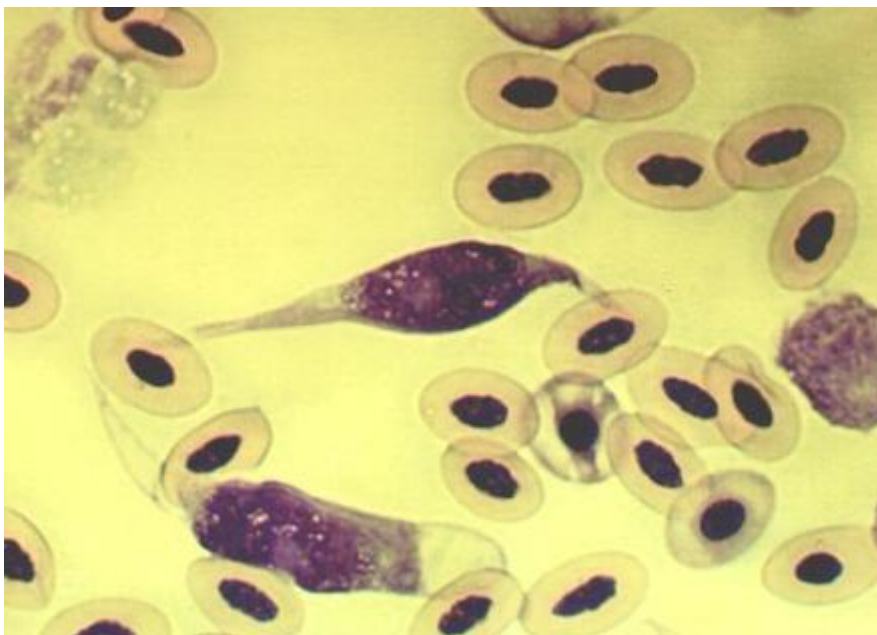
## 5.2 Materiál a metody

Z malé kapky krve odebrané z tarsální žíly byly na odmaštěná podložní sklíčka o velikosti 76×26 mm vytvořeny krevní roztěry. Po vysušení byly krevní roztěry skladovány v suchu v pokojové teplotě.

Roztěry byly fixovány 100% metanolem po dobu 1 min a dále obarveny metodou Giemsa-Romanowski v roztoku GIEMSA-ready (Test-line) po dobu 20 min. Následně byly roztěry proplachovány destilovanou vodou a znovu vysušeny.

Obarvené krevní roztěry byly prohlíženy pod mikroskopem nejprve 10 až 15 minut při zvětšení 400× a následovně cca. 100 polí při zvětšení 1000× (Holmstad et al. 2003).

V krevních roztěrech jsme hledali gametocyty *L. simondi* (obr. 5.2).



Obrázek 5.2 Gametocyty *L. simondi* (zdroj: <http://course1.winona.edu/kbates/Parasitology/leucocyt.htm>)

## 5.3 Výsledky

Na přítomnost parazita *Leucocytozoon simondi* byly vyšetřovány krevní roztěry z celkem 59 odchycených ptáků z let 2007 a 2009. Mezi nimi byly zastoupeny druhy kachna

divoká 13×, kopřivka obecná 3×, zrzohlávka rudozobá 2×, polák velký 18× a polák chocholačka 23×.

Všechny vzorky byly negativní na přítomnost gametocytů *L. simondi* i jiných krevních parazitů.

## 5.4 Diskuze

Pokud je infekce dostatečně silná, aby způsobila pokles kondice a zvýšení mortality, je možné detekovat parazitární stádia na krevních roztěrech (Fallis a Bennette 1966; Khan a Fallis 1968; Herman et al. 1975; Shutler et al. 1996 aj.). Ve střední Evropě se vyskytují infekce rodem *Leucocytozoon* běžně u dravců a pěvců, jsou zde přítomni i vhodné vektory rodu *Simulium* (Votýpka et al. 1998; Hauptmanová et al. 2006). U vrubozobých je hranice výskytu infekce posunuta dále na sever než je tomu v Severní Americe (Kučera 1981a). Po roce 1945 byl pozorován nápadný pokles výskytu na všech lokalitách, pravděpodobně v souvislosti s masovým používáním DDT (Kučera 1981b).

Prevalence i mortalita se mohou rok od roku lišit. Zdá se, že u volně žijících kachen může být průběh infekce mírnější než u domestikovaných druhů (Khan a Fallis 1968). Významnou roli může hrát i věk daného jedince. Infekce s vysokou parazitémií se vyskytují častěji u mláďat (Herman et al. 1975). Ve studii Fallis et al. (1951) bylo ověřeno, že slabá infekce *L. simondi* může způsobit rezistenci k následným silnějším infekcím. Peak výskytu akutní infekce je během září, kdy je i dostatek naivních jedinců, mláďat vylíhnutých toho roku. Vyskytují se i jarní relapsy chronických infekcí spojené se stresem v období rozmnožování (Kučera 1981b).

Na námi studovaném území se vyskytuje rod *Leucocytozoon*, který byl zjištěn z jiných druhů ptáků (Votýpka et al. 1998), i muchničky rodu *Simulium*. Mohl by zde tedy probíhat i cyklus parazita *L. simondi*. Je možné, že prevalence druhu *L. simondi* na tomto území jsou velmi nízké, v osmdesátých letech bylo ve střední Evropě zaznamenáno pouze několik případů výskytu tohoto prvoka (Kučera 1981b). Dalo by se ovšem předpokládat, že téměř po třiceti letech pozvolného zlepšování životního prostředí by se tato situace mohla změnit. Pokud ovšem posun hranice výskytu k severu nesouvisí pouze s teplotními rozdíly mezi Evropou a Severní Amerikou.



Ptáci, jejichž krevní roztěry jsme vyšetřovali, byli téměř výhradně hnízdící samice, tudíž ptáci, kteří již měli šanci se s infekcí setkat alespoň v minulém roce. Pokud se parazit *L. simondi* v dané lokalitě vyskytuje u některého z námi studovaných druhů, mohla by být větší naděje záchytu tohoto parazita u mláďat ve stáří kolem 4 týdnů. Bohužel se nám zatím nepodařilo vyvinout metodu k odchytu odrostlejších mláďat. Je k tomu potřeba vytipovat lokalitu s vhodným terénem, kde se agregují samice vodící mláďata a kde by bylo možné instalovat rozměrnější past. Taková lokalita však v námi sledované oblasti chyběla, což souvisí především s nedostatkem vhodných biotopů pro agregaci rodinek kachen. Tento nedostatek je vyvolán především intenzivním chovem ryb, při němž vysoké rybí obsádky redukuje dostupnou potravní nabídku pro mláďata vodních ptáků (viz např. Musil et al. 2001; Musil 2006).

*L. simondi*. rozhodně není parazitem, který by ve střední Evropě nějak výrazně ovlivňoval populaci kachen. Bylo by ovšem zajímavé získat alespoň ojedinělý nález a zjistit, jestli akutní infekce nějakým způsobem ovlivňuje kondici daného jedince.

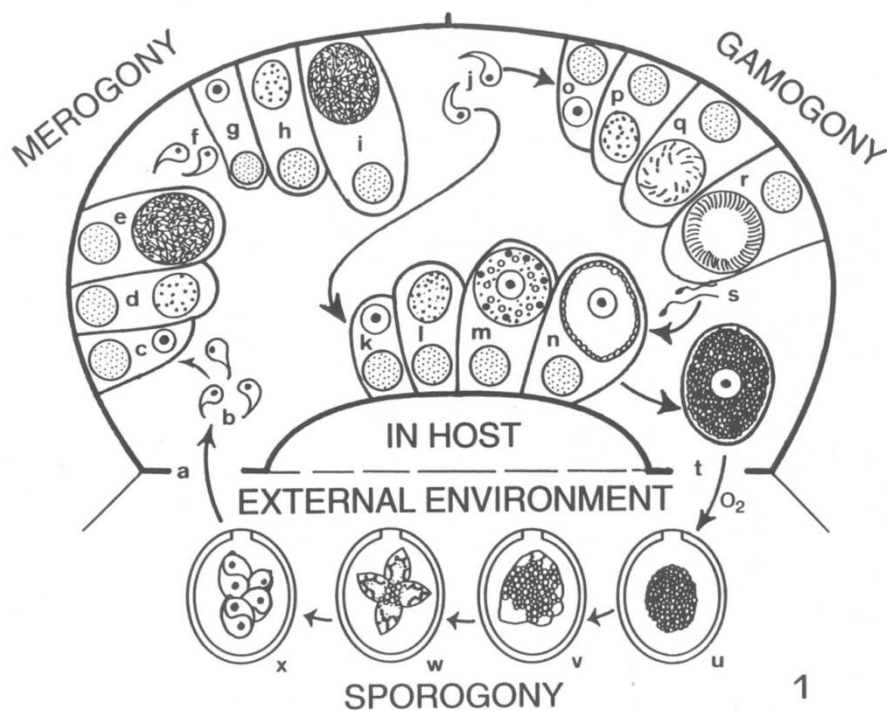
## 6. Střevní paraziti

### 6.1 Střevní protozoa

Nejrozšířenějšími střevními protozoi u drůbeže jsou kokcidie. Jejich výskyt je kosmopolitní a nejčastěji se vyskytují zástupci rodů *Eimeria* a *Tyzzeria*. Tyto kokcidie se množí v zažívacím traktu a způsobují zde poškození tkání, které může způsobovat poruchy v přijímání potravy a vstřebávání živin, průjmy, ztrátu krve a změny v pigmentaci kůže (McDougald et al. 2008). Kokcidie se vyskytují až ve 3/4 evropských chovů kuřat (Williams et al. 1994), kde mohou způsobovat závažné škody. Patologické změny v zažívacím traktu způsobené kokcidiózou mohou usnadnit průnik dalším patogenním bakteriím jako *Clostridium perfringens* (Helmbolt a Bryant 1971) a *Salmonella typhimurium* (Arakawa et al. 1981).

Kokcidióza se u kachen nevyskytuje příliš často, ale může způsobit jisté ztráty v domácích chovech. U kachen se vyskytuje 13 druhů kokcidií ve třech rodech: *Eimeria*, *Tyzzeria* a *Wenyonella*. Rod *Eimeria* má v oocystě 4 sporocysty a v každé 2 sporozoity, rod *Tyzzeria* má v oocystě 8 holých sporozoitů a rod *Wenyonella* má v oocystě 4 sporocysty a v každé 4 sporozoity. Nejvíce patogenním druhem u kachen je pak *Tyzzeria pernicioso* (Allen 1936), která může způsobovat ztrátu hmotnosti, celkovou slabost, haemorrhagii a do 5 až 6 dnů smrt s mortalitou až 70% (McDougald et al. 2008).

Vývojový cyklus kokcidií řádu *Eimeriida* má tři fáze (obr. 6.1). Merogonie se odehrává uvnitř hostitele a vnikají při ní merozoity z mateřského merontu. Merogonie se může několikrát opakovat, u některých druhů bývá počet merogonických generací konstantní. Další fází je gamogonie, která se také odehrává uvnitř hostitele a vznikají při ní makrogametocyty z nichž dozrávají makrogamety a mikrogametocyty z nichž dozrávají mikrogamety. Oplozením vzniká zygota, která si vytváří silnou stěnu a vzniká z ní oocysta. Oocysta se uvolňuje do vnějšího prostředí a sporuluje, probíhá třetí fáze vývojového cyklu, sporogonie. Uvnitř oocysty vznikají sporozoiti, jejichž počet a uspořádání je diagnostickým nástrojem pro určování rodů.



Obrázek 6.1 Vývojový cyklus *Eimeriida* (zdroj: <http://biology.unm.edu/biology/coccidia/eimeriabiol.html>)

Prvoci rodu *Eimeria* mají vysokou hostitelskou specifitu. Pokusy přenést infekci mezi jednotlivými druhy rodu *Aythya* byly neúspěšné. U kachen je záznam o úspěšném přenosu mezi dvěma domestikovanými druhy (*Anas platyrhynchos* a *Ciarina moschata*) a jejich hybridem (Sercy et al. 1996). V naší lokalitě jsou nejrizikovější skupinou uměle odchované kachny divoké, které jsou vypouštěny na jihočeské rybníky. Jsou často vypouštěny ve velkých skupinách a na místech, kde jsou krmeny, se často setkávají i s divokou populací kachen. Díky hostitelské specifitě rodu *Eimeria* se dá ale předpokládat přenos pouze na druh kachna divoká (Atkinson et al. 2008).

## 6.2 Střevní hlísti

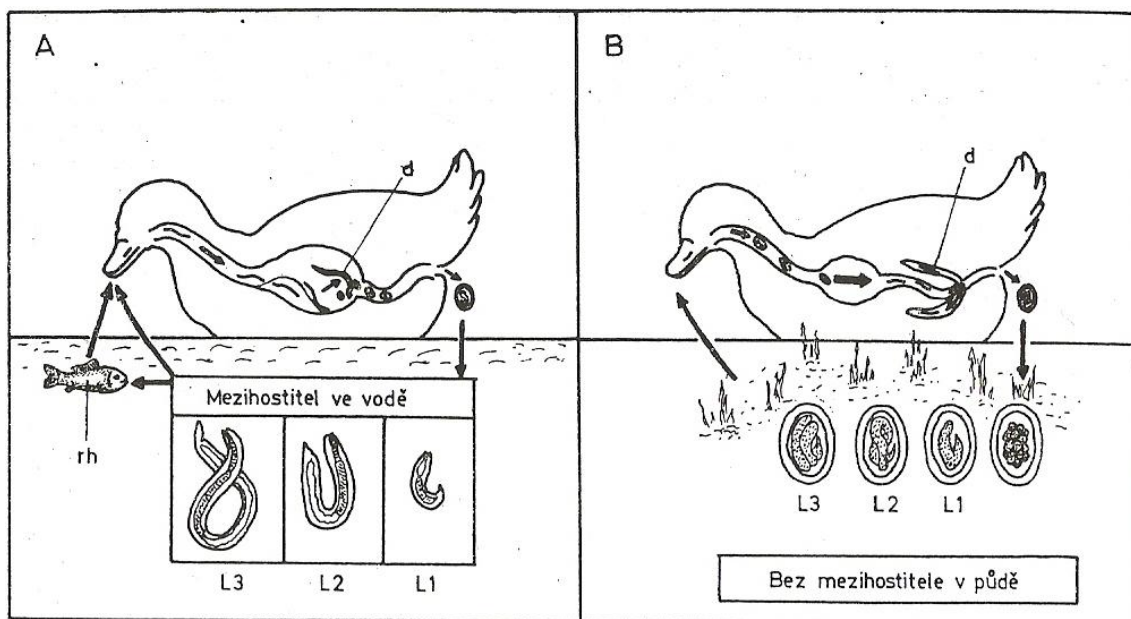
Nejdůležitější skupinou střevních helmintů u drůbeže jsou střevní hlísti. Z nich se nejčastěji vyskytuje rod *Capillaria* (Ruff et al. 2008). Významnými patogeny vodní drůbeže jsou hlavně zástupci rodu *Amidostomum* a *Echinuria* (Ballweber, 2004).

V ČR byly u volně žijících kachen zjištěny 3 zástupci rodu *Capillaria* (*C. obsignata*, *C. caudiflata* a *C. mergi*) a 2 zástupci rodu *Thominx* (*T. anatis* a *T. contorta*) patřící do stejné čeledi *Capillariidae* (Hudec 1994). Zástupci rodu *Thominx* jsou někdy též uváděni

pod názvem *Capillaria* (Ruff et al. 2008). Vývojové cykly zástupců této čeledi jsou buď jednohostitelské anebo dvouhostitelské (*C. caudiflata*) využívající jako mezihostitele žížaly rodu *Lumbricus*, *Eisenia*, *Allobophora* aj. Lokalizace dospělců v zažívacím traktu hostitele se u jednotlivých druhů také liší. Nacházejí se od jícnu (*T. contorta*) přes přední část tenkého střeva (*C. obsignata* a *C. caudiflata*) až po slepá střevo (*T. anatis*) a tlusté střevo (*C. mergi*) (Ryšavý et al. 1982). Všichni zástupci způsobují zánětlivé procesy ve stěnách trávicího traktu s různou závažností patologických změn podle intenzity infekce (Wakelin 1965).

K zástupcům rodu *Amidostomum* v české fauně patří druhy *A. anseris* a *A. acutum* (Hudec 1994). Jsou to druhy s kosmopolitním rozšířením a patří k častým parazitům v chovech drůbeže. Mají přímý vývojový cyklus a dospělci se nacházejí pod kutikulou svalnatého žaludku hostitele. Ve vajíčku se při teplotě 20 až 25°C vyvine infekční larva za 2 až 5 dní (Ryšavý et al. 1982). *A. anseris* je dobře známý patogen způsobující zvýšenou mortalitu husí (např. Herman et al 1955), ale byly zaznamenány i úhyny volně žijících kachen v důsledku infekce *A. anseris* (MacNeill 1970) a *A. acutum* (Borgsteede 2005). Prevalence infekcí *A. acutum* se mění v průběhu roku. U kachny divoké byla zjištěna nejnižší prevalence v lednu (5%), zatímco v průběhu června byla prevalence až 43% (Birová et al. 1990).

U vodní drůbeže se vyskytuje jediný zástupce rodu *Echinuria* a to *E. uncinata*. Je to kosmopolitní parazit a patří do čeledi *Acuariidae*. Jeho životní cyklus je dvouhostitelský, jako mezihostitel mu slouží bezobratlí živočichové z řádu *Cladocera* nejčastěji rodu *Daphnia*. Kumulace vývojových stádií pak probíhá v paratenických hostitelích jako jsou např. ryby. Dospělci se nacházejí v novotvarech stěny žláznatého žaludku hostitele (Ryšavý et al. 1982). Nejvyšší riziko nákazy je u mladých ptáků zdržujících se v místech s mělkou, pomalu tekoucí vodou, kde je vysoká hustota definitivních hostitelů i mezihostitelů. Jsou to především místa sloužící jako shromaždiště v pohnízdním období (Cornwell 1963). Stress způsobený agregací velkého počtu ptáku může zapříčinit zhoršení patologických projevů způsobených infekcí (Ould a Welch, 1980). Přímá mortalita způsobená *E. uncinata* byla zaznamenána u kachny laysanské (*Anas laysanensis*), blízké příbuzné kachně divoké, v roce 1993 (Work et al. 2004). Bylo zjištěno, že vnímavost k infekci *E. uncinata* se u jednotlivých druhů liší. Jako nejnáchylnější k infekci se ukázali druhy kachna divoká a kopřivka obecná (Austin a Welch 1972).



Obrázek 6.2 Vývojové cykly nematodů vodní drůbeže. A-dvoúhostitelský cyklus, B-jednoúhostitelský cyklus (Ryšavý et al. 1982).

### 6.3 Materiál a metody

Vzorky trusu byly odebírány v průběhu odchyty a kroužkování ptáků a byly uchovávány v 2% roztoku dichromanu draselného ( $K_2Cr_2O_7$ ).

Trus byl vyšetřen metodou fekální flotace, což je nejčastěji používaná koprologická metoda pro celkové parazitologické vyšetření trusu na parazitózy protozoálního a helmintózního původu. Je založena na principu flotačních roztoků, které mají větší specifickou hmotnost než běžné parazitární útvary. Při zpracování vzorku trusu se různá stádia parazitů vyplaví k hladině a zkoncentrují se do takzvané povrchové blanky, která se nesmí porušit. Byl použit Brezův flotační roztok. Připravuje se ze síranu hořečnatého ( $MgSO_4$ ) 2kg na 2l horké vody, thiosíranu sodného ( $Na_2S_2O_3$ ) 3kg na 1,5l horké vody a vodovodní vody v poměru 3 díly  $MgSO_4$  na 3 díly  $Na_2S_2O_3$  na 1 díl vody (Breza 1957).

K vyšetření bylo použito asi 1 g z každého vzorku. Ten byl rozetřen na třecí misce s malým množstvím vody. Vzniklá suspenze byla přecezena přes čajové sítko do označené tlustostěnné centrifugační zkumavky a doplněna vodou asi 1 cm pod okraj. Centrifugace trvala 7 minut při 2 500 otáčkách za minutu. Poté byla opatrně slita voda nad sedimentem a

opláchnuta svrchní vrstva sedimentu obsahující velmi jemné částice. Byl přidán cca. 1 cm flotačního roztoku a sediment byl řádně rozmíchán. Zkumavka byla doplněna flotačním roztokem cca. 1 cm pod okraj a opět zcentrifugována 7 minut při 2 500 otáčkách za minutu. Po centrifugaci byly zkumavky umístěny do stojanu a mikroskopicky byla vyšetřena povrchová blanka, která byla opatrně přenesena na podložní sklíčko pomocí upravené bakteriologické kličky. Vzorky byly prohlíženy obvykle při 100 až 400 násobném zvětšení.

K hodnocení síly infekce byla využita následující stupnice (Lukešová, 1990)

- + ojedinělý nález (1 až 5 parazitárních stádií na vzorek)
- ++ slabá infekce (5 až 10 parazitárních stádií na vzorek)
- +++ středně silná infekce (10 až 30 parazitárních stádií na vzorek)
- ++++ silná infekce (30 a více parazitárních stádií na vzorek)

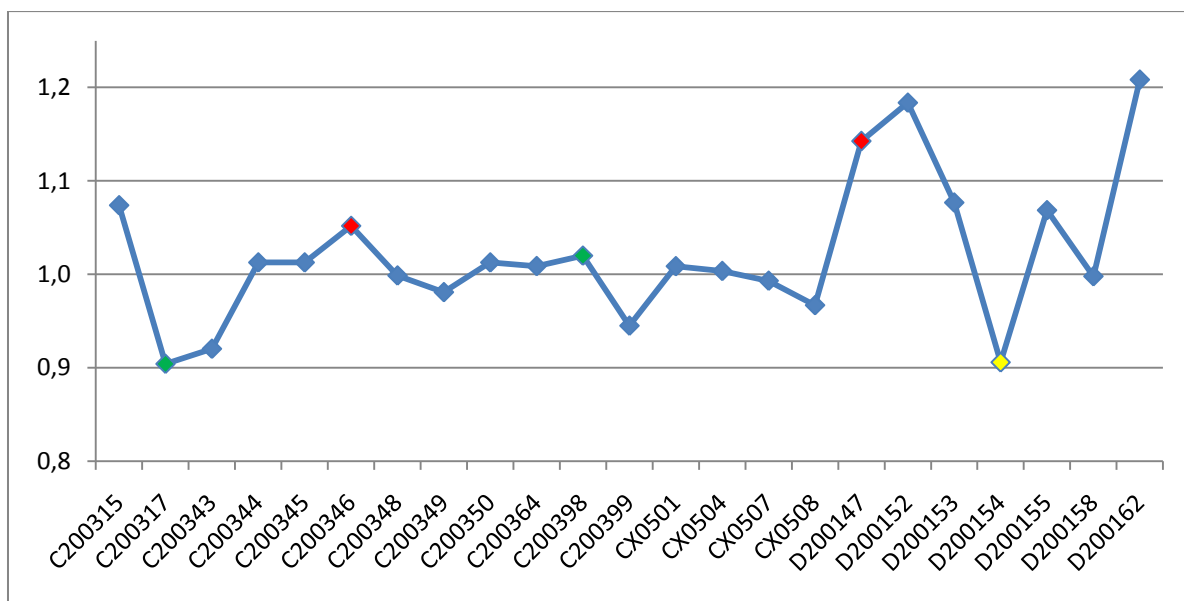
## 6.4 Výsledky

Na přítomnost střevních parazitů byl vyšetřen trus 23 ptáku odchycených v období od 8.5.2009 do 2.7.2009. Zastoupení druhů bylo následující: Kachny divoká 6×, kopřivka obecná 1×, zrzohlávka rudozobá 2×, polák velký 8× a polák chocholačka 6×.

Ve 12 vyšetřovaných vzorcích byla nalezena vývojová stádia parazitů (cysty a vajíčka). Cysty kokcií byly přítomny ve dvou vzorcích z kachny divoké, rod *Eimeria* u obou a rod *Tyzzeria* u jednoho z nich. Vajíčka střevních nematodů byla izolována z 12 vzorků, rod *Capillaria* v 9 případech u druhů kachna divoká (6×), polák velký (1×), zrzohlávka rudozobá (1×) a polák chocholačka (1×), rod *Amidostomum* ve dvou případech a to u poláka velkého a poláka chocholačky a *Echinuria uncinata* v jednom případě u kopřivky obecné.

Pouze ve dvou případech se vyskytla násobná infekce. V prvním případě byly z jednoho vzorku izolovány cysty obou kokcií a vajíčka kapilárií a v druhém případě cysty eimérií a vajíčka kapilárií. Síla infekce se pohybovala od jednoho do tří křížků. Nejčastěji se vyskytoval ojedinělý nález (+), slabá infekce (++) ve dvou případech u kapilárií a v jednom u eimérií a středně silná infekce (+++) pouze jedenkrát u kapilárií.

Na obrázku 6.3 je vynesení relativních hmotností všech testovaných ptáku, barevně jsou vyznačeny vzácné infekce. Samice kachny divoké s číslem kroužku C200317 vylučovala v trusu cysty rodu *Eimeria* i *Tyzzeria*, jak je vidět na obrázku, její relativní hmotnost je nejnižší ze všech testovaných ptáků. Druhou nejnižší relativní hmotnost má samice kopřivky obecné s číslem kroužku D200154, která vylučovala vajíčka druhu *Echinuria uncinata*. Naopak samice poláka velkého a poláka chocholačky (C200346 a D200147), u kterých byl nález rodu *Amidostomum*, mají obě nadprůměrnou hmotnost.



Obrázek 6.3 Rozložení relativních hmotností testovaných ptáků, barevné znázornění vzácných infekcí: zelená – kocidie, červená – *Amidostomum*, žlutá – *Echinuria*.

Otestovali jsme sílu infekce střevními parazity (kokcidie i nematoda), kokcidiemi a kapiláriemi v závislosti na relativní hmotnosti a eggmass. Záměrně byly použity pouze relativní hodnoty nebo byl zohledněn vliv druhu na eggmass, abychom mohli využít údaje od všech druhů v jedné analýze. V této analýze, kde se testovala pouze závislost hmotnosti a eggmass na síle infekce, nám vliv síly infekce nevyšel významně.

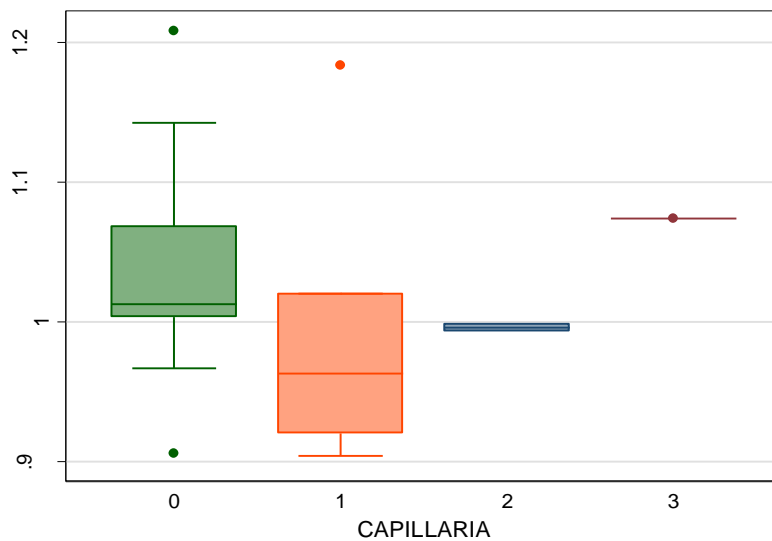
Dále jsme provedli analýzu vlivu infekce kapiláriemi na relativní hmotnost pomocí modelu vícerozměrné lineární regrese (tab. 6.1). Testovalo se na hladině významnosti 0,05 Asociace mezi infekcí kapiláriemi a relativní hmotností není významná, ale u síly 1 a 2

infekce je naznačen negativní vliv infekce na hmotnost. Paradoxně u případu nejsilnější infekce je hmotnost samice nadprůměrná.

Tabulka 6.1 Vliv síly infekce kapilářiemi na relativní hmotnost

parametr	regresní koeficient	p_hodnota	95% int. spolehlivosti
capillaria_1	<b>-0,042</b>	0,303	-0,124; 0,041
capillaria_2	<b>-0,038</b>	0,539	-0,166; 0,090
capillaria_3	0,040	0,640	-0,135; 0,215

Na obrázku 6.4 je vidět, že zejména kachny se silou infekce kapilářiemi rovnou 1 mají opravdu tendenci k nižší relativní hmotnosti, ale jednotlivé kusy v kategoriích 2 a 3 tento trend nepotvrzují. Hmotnost samic bez infekce kapilářiemi je většinou nadprůměrná, zatímco kachny se slabou infekcí mají spíše podprůměrnou hmotnost.



Obrázek 6.4 Rozložení relativních hmotností v závislosti na síle infekce kapilářiemi



## 6.5 Diskuze

Pokud bychom měli předpovídat incidenci střevních parazitů u jednotlivých druhů podle jejich biologie, nejparazitovanějším druhem by byla kachna divoká. Potravu sbírá většinou v mělkých vodách a často se i přikrmuje na krmítkách určených pro uměle odchované jedince vypouštěné na rybníky (Atkinson et al 2008). Tento předpoklad se nám potvrdil. Všech šest vyšetřovaných samic kachny divoké bylo infikováno střevními parazity. Naproti tomu druhy polák velký a polák chocholačka, které sbírají potravu hlavně potápěním a mají větší podíl živočišné potravy než kachna divoká, mají prevalenci střevních parazitů méně než 30%.

Vzhledem k ojedinělému výskytu kokciidií ve vyšetřovaných vzorcích pro ně nebyly provedeny samostatné statistické analýzy. Pouze dva nálezy byly zahrnuty do celkových modelů, vliv síly infekce střevními parazity na relativní hmotnost respektive na velikost vajec (eggmass). V těchto analýzách se ovšem neobjevila žádná statisticky prokazatelná závislost. Kokcidie se vyskytovaly u dvou samic kachny divoké z hnízdních budek, které byly odchyceny začátkem sezóny. Vzhledem k tomu, že střevní kokcidie se ve větším množství vyskytují především v umělých chovech drůbeže (Williams et al. 1994), je možné, že tyto samice patří mezi uměle vypuštěné ptáky z předchozích sezón. Na dané lokalitě, rybník Starý u Soběslavi, se každoročně vypouštějí stovky mladých ptáků z umělých chovů.

Samice s infekcí kokciidiemi rodu *Eimeria* i *Tyzzeria* měla nejmenší průměrnou hmotnost ze všech ptáků testovaných na střevní parazity, zatímco samice infikovaná pouze rodem *Eimeria* měla hmotnost lehce nadprůměrnou. To odpovídá tvrzení z úvodu kapitoly, že druh *Tyzzeria pernicioso* je nejvíce patogenním druhem ze střevních kokciidií.

Nejčastěji detekovaným střevním nematodem byl rod *Capillaria*. Infekce tímto parazitem jsou u volně žijícího vodního ptactva běžné a většinou popisované jako bezpříznakové (Wakelin 1965). V naší studii se nepodařilo prokázat statisticky významný vztah mezi infekcí kapiláriemi a relativní hmotností. Samice se silou infekce 1 (ojedinělý nález) sice měli tendenci k nižší relativní hmotnosti, ale jednotlivé nálezy silnějších infekcí tento trend nepotvrzují. Vliv infekce kapiláriemi na eggmass není průkazný. Zdá se tedy, že infekce kapiláriemi nemá na kondici hnízdicích samic žádný vliv. Pro definitivní závěr by ovšem bylo nutné vyšetřit mnohem větší počet ptáků.

Ojedinělé nálezy dalších střevních nematodů rodu *Amidostomum* a druhu *Echinuria uncinata* také nebylo možno samostatně statisticky analyzovat. Samice infikované rodem *Amidostomum* byly obě hmotnostně nadprůměrné (obr. 6.3). Jednalo se pouze o velmi slabé infekce, ale i tak se zdá, že by rod *Amidostomum* nemusel mít na kondici volně žijících kachen žádný velký vliv.

Na druhou stranu samice kopřivky obecné infikovaná druhem *E. uncinata* měla druhou nejnižší relativní hmotnost ze všech testovaných ptáků. Je možné, že by tento střevní nematod mohl mít vliv na hmotnost infikovaných kachen. Jedná se ovšem pouze o ojedinělý nález velmi slabé infekce, tudíž jakákoliv tvrzení jsou pouze hypotetická.

U 12 samic z 23 vyšetřených se nenašel žádný střevní parazit. Tyto samice nebyly nijak výrazně hmotnostně nadprůměrné ani neměly výrazně vyšší eggmass. Aby statistické analýzy odhalily i menší rozdíly mezi porovnávanými skupinami, musel by být počet porovnávaných vzorků mnohem vyšší.

## 7. Souhrnná diskuze

Celkové množství odchycených ptáku bylo negativně ovlivněno sezónami 2007 a 2008, kdy na námi studované lokalitě úspěšně hnízdilo mnohem méně kachen než v sezóně 2009. Malé počty záchytu patogenů zkomplikovaly statistické vyhodnocení výsledků. Takto malé počty výrazně oslabují schopnost statistických modelů prokázat nějaké souvislosti jako statisticky významné. Abychom mohli do statistických modelů zahrnout všechny druhy najednou, použili jsme zrelativizované hodnoty měřených parametrů.

Jako nejvýhodnější parametr pro posuzování kondice jsme zvolili relativní hmotnost. Ta nám v souboru parametrů silně koreluje s relativní šířkou zobáku. Tato skutečnost by mohla být známkou toho, že na celkové hmotnosti hnízdicích samic v pozdní fázi inkubace se větší měrou podílí proteinové zásoby, které jsou ovlivněny i celkovou velikostí ptáka (Baldassarre a Bolden 2006).

Hodnotu eggmass jsme nerelativizovali a v modelech, kde byla použita jsme zohlednili faktor druhu. Hodnota eggmass vypovídá o počáteční velikosti mlád'at, která je přímo spojena s jejich energetickými zásobami a tedy i s jejich kondicí (Hořák 2006, Hořák et al. 2007). Kondice mlád'at má vliv na jejich přežívání a tudíž i na reprodukční úspěšnost dané samice. Touto cestou může ve výsledku velikost vajec ovlivňovat fitness hnízdicí samice. Hodnoty eggmass nám nekorelovaly s žádným ze souboru měřených rozměrů.

Více než 80% z ptáků vyšetřených na přítomnost protilátek proti aviární influenze bylo pozitivních. Je tedy jisté, že se viry AI mezi volně žijícími kachnami hojně vyskytují. Akutní fáze infekce s vylučováním virů ovšem probíhá mimo hnízdní sezónu, během podzimní migrace, a proto byl záchyt virů v naší studii tak ojedinělý. U dvou ze čtyř samic, které vylučovaly viry AI máme údaje i z následujících let, kdy už viry AI nevylučovaly. Obě samice měly v roce, kdy u nich byla pozorována akutní infekce, nižší hmotnost i eggmass. Z těchto nálezů můžeme usuzovat, že akutní infekce AI ovlivňuje kondici hnízdicí samice.

U bakterií přenášených klíšťaty jsme předpokládali výskyt především u kachny divoké, protože je u ní největší pravděpodobnost kontaktu s klíštětem. Ve dvou případech tomu tak skutečně bylo. Třetí pozitivní vzorek pocházel ze samice poláka velkého, při jehož potravní a hnízdní strategii můžeme kontakt s klíštětem považovat spíše za náhodný. Obě samice infikované borreliemi byly výrazně hmotnostně podprůměrné, což mohlo být způsobeno

probíhající infekcí, ale také je možné, že se díky energetickému stresu projevil relaps chronické infekce.

Prvok *Lecocytozoon simondi* se podle studií z počátku 80. let vyskytuje ve střední Evropě jen zřídka (Kučera 1981b). Ani v naší studii se nepodařilo výskyt tohoto parazita prokázat.

U analýzy vlivu střevních parazitů na kondici byl naším největším problémem nedostatek sebraných vzorků. V tomto případě nebyl hlavním důvodem nedostatek hnízdících ptáků, ale spíš problém, jak z odchycených ptáků vzorek trusu dostat. Vzhledem k tomu, že doba manipulace s hnízdící samicí je časově omezená, nedalo se než spoléhat na náhodu. Vyzkoušeli jsme i metodu kloakálního výplachu, která se využívá například u racků, ale neúspěšně. Vzhledem k malému počtu vyšetřených vzorků nebyly provedené statistické analýzy průkazné. U střevních kokcií je zajímavá souvislost s hnízděním v budkách. Obě samice vylučující cysty kokcií si totiž k hnízdění vybraly budky umístěvané ve vodě podél břehu rybníků. Tato souvislost naznačuje, že by se mohlo jednat o uměle odchované ptáky vypuštěné na rybníce v předešlých sezónách.

## 8. Závěr

- **Ověřit, zda mohou být vybrané druhy kachen potenciálním rezervoárem pro bakterie *Borrelia burgdorferi* a *Anaplasma phagocytophilum*, a zjistit, zda mohou mít tyto patogeny vliv na kondici testovaných ptáků.**

Výskyt bakterií *Borrelia burgdorferi* sensu lato a *Anaplasma phagocytophilum* u ptáků v naší studii je pouze ojedinělý, proto nemohou být významným rezervoárem pro tyto bakterie. Izolace bakterií z krve ovšem potvrzuje, že je přenos přes vybrané druhy kachen možný. Obě samice pozitivní na borrelie měly výrazně podprůměrnou hmotnost.

- **Ověřit výskyt prvoka *Leucocytozoon simondi* ve studované lokalitě u vybraných druhů kachen a posoudit vliv infekce na kondici testovaných ptáků.**

Ve vyšetřovaných krevních roztěrech nebyl prokázán žádný krevní parazit. Je pravděpodobné, že v podmínkách dané lokality, kde se hostitelé i krev sající vektoři vyskytují ostrůvkovitě, je masový výskyt parazitů nemožný. Náš vzorek odchycených ptáků také nebyl průřezem celé populace volně žijících kachen, ale jednalo se téměř výhradně o hnízdící samice. Je možné, že se krevní paraziti u zkoumané populace vyskytují, ale nacházejí se především u juvenilních nebo nehnízdících jedinců.

- **Zjistit, jací střevní parazité se vyskytují u jednotlivých druhů kachen, a posoudit vliv infekce na kondici parazitovaného jedince.**

Ze vzorků trusu jsme diagnostikovali cysty rodu *Eimeria* a *Tyzzeria* a vajíčka nematodů rodu *Capillaria*, *Amidostomum* a *Echinuria*. Jedinci infikovaní rody *Tyzzeria* a *Echinuria* měli výrazně podprůměrnou hmotnost. U dalších střevních parazitů nebyl vliv na kondici prokázán.

- **Ověřit výskyt aviární chřipky u hnízdní populace v jižních Čechách. Zjistit možný vliv virů AI na kondici ptáků.**

Viry AI byly izolovány ze 4 hnízdících samic. Pro výzkum výskytu ptačí chřipky by bylo vhodné testovat ptáky i v jiných ročních obdobích, kdy je předpokládána

prevalence vyšší, nejlépe na shromaždištích v průběhu podzimní migrace. Velké množství ptáků pozitivních na protilátky proti AI naznačuje, že infekce jsou běžné, ale období, kdy jsou viry nejčastěji vylučované s trusem hostitele, se nachází mimo hnízdní sezónu. Dvě ze samic vylučujících viry AI byly odchyceny i v následujících sezonách, kdy již viry nevylučovaly. Jejich hmotnost i hodnota eggmass byly v sezóně s akutní infekcí nižší než v následujících sezónách.

## 9. Literatura

Albrecht T., Hořák D., Kreisinger J., Weidinger K., Klvaňa P. a Michot T.C., 2006. Factors determining Pochard nest predation along a wetland gradient. *J Wildl Manage*, 70, 784-791.

Alexander D.J., 2000. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 74, 3-13.

Allen E.A., 1936. *Tyzzeria perniciosa* gen. et sp. nov., a coccidium from the small intestine of the Pekin duck, *Anas domesticus*. *Archiv fur Protistenkunde* 87: 262-267.

Arakawa A., Baba E. a Fukata T., 1981. *Eimeria tenella* infection enhances *Salmonella typhimurium* infections in chickens. *Poult Sci*, 60, 2203-2209.

Atkinson C. T., Thomas N. J. a Hunter D. B., 2008. *Eimeria*. In: Parasitic Diseases of Wild Birds. *Blackwell Publishing*: 162-180.

Austin F.G. a Welch H.E., 1972. The occurrence, life cycle, and pathogenicity of *Echinuria uncinata* (Rudolphi, 1819) Soloviev, 1912 (Spirurida, Nematoda) in waterfowl at Delta, Manitoba. *Can J Zool* 50: 385-393.

Baldassarre G. A. a Bolen E. G., 2006. Reproductive ecology. In: Waterfowl ecology and management. *Krieger publishing company*: 105-142.

Ballweber L.R., 2004. Waterfowl parasites. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 13, 197-2005.

Baranton G., D. Postic, I. Saint Girons, P. Boerlin, J. C. Piffaretti, M.Assous, and P. A. D. Grimont, 1992. Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *Int. J Syst Bacteriol*, 42,378–383.

Bennett G.F. a Cameron M., 1974. Seasonal prevalence of avian hematozoa in passeriform birds of Atlantic Canada. *Can J Zool*, 52, 1259-1264

Bennett G.F., Smith A.D., Whitman W. a Cameron M., 1975. *Hematozoa* of the *Anatidae* of the Atlantic flyway II:the maritime provinces of Canada. *J Wildl Dis*, 11, 280-289.

Bermudez A.J. a McDougald L.R., 2008. Protozoal Infections. In Diseases of Poultry, 12 ed. Y. M. Saif, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, D. E. Swayne (eds.), *Blackwell Publishing, Ames Iowa*. 1067-1117.

Birová V., Macko J.K., Špakulová M., 1989. Seasonal dynamics of the invasion cycle of platyhelminths in the wild (*Anas platyrhynchos* L.) and domestic duck (*Anas platyrhynchos* f. *dom.*). I.Trematoda. In: *Helminthologia* 26 (1): 35-42.

- Bjöersdorff A., Bergström S., Massung R.F., Haemig P.D., Olsen B., 2001. *Ehrlichia*-Infected Ticks on Migrating Birds. *Emerging Infectious Diseases*, 7, 877-879.
- Breza M., 1957. Niekol'ko praktických poznatkov a námetov k helmintokoprologickéj diagnostike.. *Helminthologia*. Liblice, 57—63
- Borgsteede F.H.M., 2005. The gizzard worm, *Amidostomum acutum* (Lundahl, 1848) Seurat, 1918 in common eiders (*Somateria mollissima* L.) in the Netherlands. *Helminthologia*, 42, 4: 215-218.
- Burgess E. C., 1989. Experimental inoculation of Mallard Duck (*Anas platyrhynchos*) with *Borrelia burgdorferi*. *J Wildl Dis* 25(1): 99-102.
- Cornwell G., 1963. Observation on waterfowl mortality in southern Manitoba caused by *Echnuria uncinata* (Nematoda: Acuariidae). *Can J Zool*, 41, 699-703.
- Cramp S. a Simmons K.E.L. (eds), 1977. The Birds of the Western Palearctic. Vol. I. *Oxford University Press, Oxford*.
- Delany S. a Scott D., 2006. Water bird population estimates, 4th edition. *Wetlands International, Wageningen, Netherlands*.
- Derdakova M., Beati L., Pet'ko B., Stanko M., 2003. Genetic variability within *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies established by PCR-single-strand conformation polymorphism analysis of the *rrfA-rrlB* intergenic spacer in *Ixodes ricinus* ticks from the Czech Republic. *Appl Environ Microbiol*; 69, 509–516.
- Dumler J.S., A.F. Barbet, C.P.J. Bekker, G.A. Dasch, G.H. Palmer, Y. Rikihisa, F.R. Rurangirwa, 2001. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Inter J Syst Evol Microbiol*, 51, 2145–2165.
- Eide A. a Fallis A. M., 1972. Experimental Studies of the Life Cycle of *Leucocytozoon simondi* in Ducks in Norway. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 19 (3): 414-416.
- Fallis A.M., Davies D.M. a Vickers M.A., 1951. Life history of *Leucocytozoon simondi* mathis and leger in natural and experimental infections and blood changes produced in the avian host. *Can J Zool*, 29, 305-328.
- Fallis A.M. a Bennett G. F., 1966. On the epizootiology of infections caused by *Leucocytozoon simondi* in Algonquin Park, Canada. *Can J Zool*, 44, 101-112.
- Fereidouni S. R., Grund C., Häuslaigner R., Lange E., Wilking H., Harder T. C., Beer M., and Starick E., 2010. Dynamics of Specific Antibody Responses Induced in Mallards After



Infection by or Immunization with Low Pathogenicity Avian Influenza Viruses. *Avian Diseases* 54(1):79-85.

Fouchier R.A.M., Bestebroer T.M., Herfst S., van der Kemp L., Rimmelzwaan G.F., Osterhaus A.D.M.E., 2000. Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. *J Clin Microbiol* 38, 4096–4101.

Fouchier R.A., Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, 2005. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol*, 79, 2814–2822.

Gosler A. G., Greenwood J. D., Baker J. K. a Davidson N. C., 1998. The field determination of body size and condition in passerines: a report to the British Ringing Committee. *Bird Study* 45: 92-103.

Guillemain M., Poisbleau M., Denonfoux L., Lepley M., Moreau C., Massez G., Leray G., Caizergues A., Arzel C., Rodrigues D. a Fritz H., 2007. Multiple tests of the effect of nasal saddles on dabbling ducks: combining field and aviary approaches: Capsule Nasal saddles have no negative consequences apart from, under some circumstances, a potential bias in social relationships. *Bird Study*, 54, 35-45.

Gunnarsson G., Latorre-Margalef N., Munster V., Fouchier R., Osterhaus A., Elmberg J., Olsen B., Wallensten A., Haemig P. D., Fransson T., Brudin L., Waldenstorm J., 2009. Sub-lethal effects of low-pathogenic influenza A virus infection in mallards (*Anas platyrhynchos*) caught on autumn migration in Ottenby, Sweden, *2nd Pan-European Duck Symposium, Arles, France*

Gylfe A., B. Olsen, D. Strasevicius, N. M. Ras, P. Weihe, L. Noppa, Y. Ostberg, G. Baranton, and S. Bergstro M., 1999. Isolation of Lyme disease *Borrelia* from puffins (*Fratercula arctica*) and seabird ticks (*Ixodes uriae*) on the Faroe Islands. *J Clin Microbiol*, 37, 890–896.

Hanincova K., V. Taragelova, J. Koci, S. M. Schafer, R. Hails, A. J. Ullmann, J. Piesman, M. Labuda, and K. Kurtenbach. 2003. Association of *Borrelia garinii* and *B. valaisiana* with songbirds in Slovakia. *Appl Environ Microbiol*, 69, 2825–2830.

Hauptmanová K., Benedikt V. a Literák I., 2006. Blood Parasites in Passerine Birds in Slovakian East Carpathians. *Acta Protozool*, 45, 105-109.

Hembolt C.F a Bryant E.S., 1971. The pathology of necrotic enteritis in domestic fowl. *Avian Diseases*, 15, 775-780.

Herman C.M., Steenis J.H., Wehr E.E., 1955. Causes of winter losses among Canada geese. *Transactions of the North American Wildlife Conference* 20: 161-165

Herman C.M., Barrow J.H. a Tarshis I.B., 1975. Leucocytozoonosis in Canada geese at the Seney National Wildlife Refuge. *J Wildl Dis*, 11, 404–411.

Hinshaw V.S., Wood J.M., Webster R.G., Deibel R. a Turner B., 1985. Circulation of influenza viruses and paramyxoviruses in waterfowl originating from two different areas of North America. *Bull WHO*, 63, 711-719.

Holmstad P.R., Anwar A., Iezhova T. a Skorping A., 2003. Standard sampling techniques underestimate prevalence of avian hematozoa in willow ptarmigan (*Lagopus lagopus*). *J Wildl Dis*, 39, 354-358.

Hořák D., Klvaňa P. a Musil P., 2004. Spolehlivost vodního testu při určování nasezelosti vajec poláka velkého (*Aythya ferina*) a kachny divoké (*Anas platyrhynchos*). *Zprávy ČOS*, 59, 41-44.

Hořák D., 2006. Egg mass and egg components allometry in the Common Pochard (*Aythya ferina*). *Sylvia* 42: 104–111.

Horák D. Albrecht T., Klvaňa P. a Musil P., 2007: Inter-nest variability in the egg to hatchling mass ratio in the Common Pochard *Aythya ferina*: Does female body mass matter? *Acta Ornithol.* 42: 33–38.

Hsu C.K., Campbell G.R. a Levine N.D., 1973. A checklist of the species of the genus *Leucocytozoon*. *J Protozool*, 20, 195-203.

Hudec K. (ed.), 1994. Fauna ČR a SR – Ptáci I. (2. vydání). *Academia, Praha*.

Humair P.F., Turrian N., Aeschlimann A., Gern L., 1993. *Borrelia burgdorferi* in a focus of Lyme borreliosis: epizootiologic contribution of small mammals. *Folia Parasitologica* 40, 65–70.

Ito T., Couceiro J.N.S.S., Kelm S., Baum L.G., Krauss S., Castrucci M.R., Donatelli I., Kida H., Paulson J.C., Webster R.G. a Kawaoka Z., 1998. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol*, 72, 7367-7373.

Kear J., 2005. Duck, geese and swans. *Oxford University press, Oxford*.

Keller V., 2006. Population size and trend of the Red-crested Pochard *Netta rufina* in southwest/central Europe: an update. In G.C. Boere, C.A. Galbraith & D.A. Stroud (eds.) *Waterbirds around the World*, 503-504. *The Stationery Office, Edinburgh, UK*.

Khan R.A. and Fallis A.M., 1968. Comparison of infections with *Leucocytozoon simondi* in black ducks (*Anas rubripes*), mallards (*Anas platyrhynchos*), and white Pekins (*Anas bochas*). *Can J Zool*, 46, 773-780.

Kocan R.M. a Barrow J.H., 1968. Observations on the development and significance of *Leucocytozoon simondi* megaloschizonts and technique for their isolation. *J Wildl Dis*, 4, 94-95.

- Krauss S., Walker D., Pryor S.P., Niles L., Chenghong L., Hinshaw V.S. a Webster R.G., 2004. Influenza A viruses in migrating wild aquatic birds in North America. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 4, 177-189.
- Kučera J., 1981a. Blood parasites of Birds in central Europe. 1. Survey of literature. The incidence in domestic birds and general remarks to the incidence in wild birds. *Folia Parasitologica* 28. 13-22.
- Kučera J., 1981b. Blood parasites of Birds in central Europe. 2. *Leucocytozoon*. *Folia Parasitologica* 28. 193-203.
- Kurtenbach K., D. Carey, A. N. Hoodless, P. A. Nuttall, and S. E. Randolph, 1998. Competence of pheasants as reservoirs for Lyme disease spirochetes. *J Med Entomol*, 35,77–81.
- Kybicová K., Kurzová Z., Hulínská D., 2008. Molecular and serological evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in wild rodents in the Czech Republic. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, 8,645–652.
- Kybicová K., Schánilec P., Hulínská D., Uherková L., Kurzová Z. a Spejchalová S., 2009. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in Dogs in the Czech Republic. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, March 2009, doi:10.1089/vbz.2008.0127.
- Lukešová D.,1990. Praktické cvičení z veterinární helmintologie. *Skripta SPN Praha*
- MacNeil A.C., 1970. *Amidostomum anseris* infection in wild swans and goldeneye ducks. *Can Vet Jour*, 11, 164-167.
- Machová J., Horníčková J., Sedlák K., 2005. Vysoce patogenní aviární influenza – ptačí chřipka. *Veterinářství* 3, 158-162.
- Majevski P., 1980. Metoda oceny wieku zarodka kaczkí kryžovskí (*Anas platyrhynchos*) przez zanurzenie jaj w wodzie. *Wiadomosci ekologiczne*, 2, 153-158.
- Marconi R.T., Garon C.F.,1992. Development of polymerase chain reaction primer sets for diagnosis of Lyme disease and for species-specific identification of Lyme disease isolates by 16S rRNA signature nucleotide analysis. *J Clin Microbiol*, 30, 2830–2834.
- McDougald L.R. a Bermudez A.J., 2008. Protozoal Infections. In Diseases of Poultry, 12 ed. Y. M. Saif, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, D. E. Swayne (eds.), *Blackwell Publishing, Ames Iowa*. 1067-1117.
- Merino S., Potti J. a Fargallo J.A., 1997. Blood Parasites of Passerine Birds from Central Spain. *J Wildl Zool*, 33, 638-641.
- Morgan I.R. a Westbury H.A., 1981. Virological studies of Adelie Penguins (*Pygoscelis adeliae*) in Antarctica. *Avian Dis*, 25, 1019-1026.

- Munster V.J., Baas C., Lexmond P., Waldenstro M.J., Wallensten A., 2007. Spatial, temporal, and species variation in prevalence of influenza A viruses in wild migratory birds. *PLoS Pathog* 3(5): e61.
- Musil P. 2006: Effect of Intensive Fish Production on Waterbird Breeding Population: Review of Current Knowledge. In: G.C. Boere, C.A. Galbraith & D.A. Stroud (eds.) *Waterbirds around the world. TSO Scotland Ltd, Edinburgh, UK. pp 520 – 521.*
- Musil P., Pichlová R., Veselý P. a Cepák J., 1997: Habitat selection by waterfowl broods on intensively managed fishponds in South Bohemia (Czech Republic). In: FARAGÓ S. & KERÉKES J.: *Proc. Limnology and Waterfowl, Monitoring, Modelling and Management. Workshop, Sarród/Sopron, Hungary, 21-23 November Wetlands Internat. Publ. 43: 169-175.*
- Musil P., Cepák J., Hudec K. a Zářybnický J., 2001. The long-term trends in the breeding waterfowl population in Czech Republic. *OMPO and Institute of applied ecology, Kostelec nad Černými lesy.*
- Musil P., Nachtingalová M., Hořák D., Albrecht T., Brožová M., Klvaňa P. a Musilová Z., 2006. Survival and movements in relation to condition in individually-marked broods of diving ducks on South Bohemian fishponds. *J Ornithol. 147 (suppl.) p.216.*
- Musil P. a Neužilová Š., 2009. Long-term changes in duck inter-specific nest parasitism in South Bohemia, Czech Republic. *Wildfowl. Special Issue: 176-183.*
- Musilová Z., Musil P., Poláková S. a Fuchs R., 2009. Wintering ducks in the Czech Republic: population size, changes in population trends and distribution. *Wildfowl. Special Issue: 73-85.*
- Olsen B., Munster V.J., Wallensten A., Waldenstrom J., Osterhaus A.D., et al. (2006) Global patterns of influenza a virus in wild birds. *Science*, 312, 384–388.
- Osterhaus A. D. M. E., Rimmelzwaan G. F., Martina B. E. E., Bestebroer T. M., Fouchier R. A. M., 2000. Influenza B virus in seals *Science*, 288, 1051—1053
- Ould P. a Welch H.E., 1980. The effect of stress on the parasitism of mallard ducklings by *Echinuria uncinata* (Nematoda: Spirurida). *Can J Zool*, 58, 228-234.
- Pancholi P., Kolbert, C.P., Mitchell, P.D., Reed, K.D., Jr, 1995. *Ixodes dammini* as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis*, 172, 1007–1012.
- Parola P., Raoult D., 2001. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*, 32, 897–928.
- Poupon M. A., E. Lommano, P. F. Humair, V. Douet, O. Rais, M. Schaad, L. Jenni, and L. Gern. 2006. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in ticks collected from migratory birds in Switzerland. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72, 976–979.

- Richter D., D. Postic, N. Sertour, I. Livey, F.-R. Matuschka, and G. Baranton. 2006. Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56,873–881.
- Rodrigues D.J.C., Fabiano A.M.D. a Figueiredo M.E.M.A., 2001. The use of nasal markers for monitoring Mallard populations. 316-318. In *Wildlife, land, and people. priorities for the 21th century.* Feild R., Waren R.J., Okarma H. a Sievert P.R. (eds.). *Proceedings of the Second International Wildlife Management Congress. The Wildlife Society, Bethesda, Maryland, USA.*
- Rogers G. N., and J. C. Paulson. 1983. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology* 127:361-373.
- Rohwer F.C., 1988. Inter- and intraspecific relationships between egg size and clutch size in Waterfowl. *Auk* 105: 161-176.
- Ruff M.D., Norton R.A. a McDougald L.R., 2008. Internal Parasites. In *Diseases of Poultry*, 12 ed. Y. M. Saif, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, D. E. Swayne (eds.), *Blackwell Publishing, Ames Iowa.* 1025-1066
- Ryšavý B., Groschaft J., Baruš V. a Dvořáková L., 1982. *Helminti vodní drůbeže.* *Academia, Praha.*
- Scott D.A a Rose P.M, 1996. Atlas of *Anatidae* population in Africa and Western Eurasia. *Wetlands International Publication* 41, 176-192.
- Sercy O., Nie K., Pascalon A., Fort G. and Yvoré P., 1996. Receptivity and Susceptibility of the Domestic Duck (*Anas platyrhynchos*), the Muscovy Duck (*Cairina moschata*), and Their Hybrid, the Mule Duck, to an Experimental Infection by *Eimeria mulardi*. *Avian Diseases* 40(1): 23-27.
- Shutler D., Ankney C.D. a Dennis D.G., 1996. Could the blood parasite *Leucocytozoon* deter mallard range expansion? *J Wildl Manage*, 60, 569–580
- Shutler D., Ankney C.D. a Mullie A., 1999. Effects of the blood parasite *Leucocytozoon simondi* on growth rates of anatid ducklings. *Can J Zool*, 77, 1573–1578.
- Schamber J. L., Esler D. a Flint P. L., 2009. Evaluating the validity of using unverified indices of body condition. *Journal of Avian Biology* 40: 49-56.
- Skoracki M., Michalik J., Skotarczak B., Rymaszewska A., Sikora B., Hofman T., Wodecka B., Sawczuk M., 2006. First detection of *Anaplasma phagocytophilum* in quill mites (Acari: *Syringophilidae*) parasitizing passerine birds. *Microbes and Infection*, 8, 303–307.

- Spackman E., Pantin-Jackwood M J., Swayne D. E. and Suarez D.L., 2009. An Evaluation of Avian Influenza Diagnostic Methods with Domestic Duck Specimens. *Avian Diseases* 53:276–280.
- Stallknecht D.E., S.M. Shane, P.J. Zwank, D.A. Senne, and M.T. Kearney. 1990. Avian influenza viruses from migratory and resident ducks of coastal Louisiana. *Avian Diseases*, 34,398-405.
- Sudgen L.G. a Poston H.J., 1968. A nasal marker for ducks. *J Wildl Managa*, 32, 984-986.
- Sutherland W. J., Newton I. a Green R. E., 2004. Bird Ecology and Conservation: A Handbook of Techniques. 4. Birds in the hand. *Oxford University Press*. 93-126.
- Suzuki Y., 2005. Sialobiology of Influenza Molecular Mechanism of Host Range Variation of Influenza Viruses. *Biol Pharm Bull* 28, 399—408.
- Swayne D.E. a Halvorson D.A., 2008. Influenza. In Diseases of Poultry, 12 ed. Y. M. Saif, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, D. E. Swayn (eds.), *Blackwell Publishing, Ames Iowa*. 153-185.
- Swayne D.E., 2000. Understanding the ecology and epidemiology of an avian influenza viruses: implication for zoonotic potential. In Emerging Diseases of Animals, C.C. Brown and C.A. Bolin, (eds). *AMS Press, Washington, D.C*. 101-130.
- Swayne D.E. a Suarez D.L., 2000. Higly patogenic avian influenza. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 19, 463-482.
- Šťastný K., Bejček V. a Hudec K., 2006. Atlas hnízdního rozšíření ptáků v České republice. *Aventinum, Praha*.
- Taragel'ová V., Kočí J., Hanincová K., Kurtenbach K., Derdáková M., Ogden N. H., Literák I., Kocianová E. a Labuda M., 2008. Blackbirds and Song Thrushes Constitute a Key Reservoir of *Borrelia garinii*, the Causative Agent of Borreliosis in Central Europe. *App Environ Microbiol*, 74(4): 1289–1293.
- Taubenberger J.K., Reid A.H., Krafft A.E., Bijwaard K.E., Fanning T.G., 1997. Initial Genetic Characterization of the 1918 "Spanish" Influenza Virus, *Science* 275, 1793 – 1796.
- Valkuinias G., 2005. Avian malaria parasites and other haemosporidia. *CRC Press*
- Votýpka J., Svobodová M., Voříšek P., Peške L., Lacina D. a Volf P., 1998. Blood parasites and Haematophagus insect of raptors (Falconiformes) in the Czech Republic. *Bull Scand Soc Parasitol*, 8, 87.
- Wakelin D., 1965. Experimental studies on the biology of *Capillaria obsignata*, Madson, 1945 a namatode parasite of the domestic fowl. *J Helminthol*, 39, 399-412.

Webster, R.G., M.A. Yakhno, V.S. Hinshaw, W.J. Bean, and K.G. Murti. 1978. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 84:268-278.

Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y., 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 56: 152–179.

Weller M.W., 1957. An automatic nest-trap for waterfowl. *J Wildl Manage*, 21, 456-458.

Williams R.B., Bushel A.C., Reperant J.M., Doy T.G., Morgan J.H., Shirlez M.W., Yvore P., Carr M.M. a Fremont Y., 1996. A survey of *Eimeria* species in comercial-reared chickens in France during 1994. *Avian Pathol*, 25, 113-130.

Work T.M., Meteyer C.U. a Cole R.A., 2004. Mortality in Laysan Ducks (*Anas laysaniensis*) by Emaciation Complicated by *Echinuria incinata* on Laysan Island, Hawai, 1993. *J Wildl Dis*, 40, 110-114.