

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH
BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
ENDOPARAZITÁRNÍ INFEKCE PERNATÉ ZVĚŘE

Vypracoval: **Pavel Barviř**

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

Abstract

V letech 2011-2012 byl sledován výskyt endoparazitů ve dvou chovech bažanta obecného (*Phasianus colchicus*) a v jednom kachny divoké (*Anas platyrhynchos*). Všechny vzorky byly vyšetřeny na přítomnost endoparazitů pomocí flotační metody dle Sheathera. Ve vzorcích od bažantů byly detekovány tyto druhy parazitů: *Capillaria* spp. *Eimeria* spp., *Heterakis* spp. a *Trichostrongylus* spp. V kachních vzorcích byl mimo tyto detekován *Snygamus* spp. a *Cryptosporidium* spp. Z celkového počtu 180 odebraných vzorků trusu, 119 vzorků bažanta obecného a 61 od divokých kachen, byla pomocí specifického barvení aninil-carbol-methyl violetí prokázána přítomnost oocyst kryptosporidií ve 12 vzorcích z kachen. Celková DNA byla izolována jak z pozitivních, tak negativních vzorků. Pomocí nested PCR amplifikující gen kódující malou ribozomální podjednotku (SSU rRNA) byla detekována přítomnost specifické DNA kryptosporidií ve 14 vzorcích. Sekvenční analýza PCR pozitivních vzorků prokázala v 10 případech přítomnost *Cryptosporidium* avian genotype III a ve 4 případech *C. muris*. U žádného pozitivního zvířete nebyly pozorovány klinické příznaky kryptosporidiózy. V případě *Cryptosporidium* avian genotype III se jedná o vůbec první popis tohoto genotypu v České republice a u kachen divokých vůbec.

Summary

A total of 180 samples, 119 from pheasant (*Phasianus colchicus*) and 61 mallard (*Anas platyrhynchos*) were collected during two consecutive years (from 2011 to 2012). All samples were examined for the presence of endoparasites using the flotation method according to Sheather. In samples from pheasants, the following types of parasites were detected: *Capillaria* spp., *Eimeria* spp., *Heterakis* spp., and *Trichostrongylus* spp. In addition, *Syngamus* spp. and *Cryptosporidium* spp. were detected in the duck samples. Microscopical examination of aniline-carbol-methyl violet stained fecal smears revealed *Cryptosporidium* spp. in 12 positive samples originating from *Anas platyrhynchos*. DNA was extracted from *Cryptosporidium* positive samples and all microscopically negative samples. Nested PCR was performed to amplify the partial SSU rRNA gene of *Cryptosporidium*. The sequence analyses of PCR-positive specimens identified 10 samples as *Cryptosporidium* avian genotype III and 4 samples as *C. muris*. No clinical signs were detected in any *Cryptosporidium* positive animals. This is the first report of *Cryptosporidium* avian genotype III in the Czech Republic and also in *Anas platyrhynchos*.

Touto cestou bych rád poděkoval celému kolektivu Laboratoře Veterinární a medicínské protistologie za ochotu a přátelské jednání, především pak mému školiteli doc. Ing. Martinu Kváčovi, Ph.D., za odborné vedení mé práce a cenné rady. Dále pak chci poděkovat svým rodičům za podporu a vytvoření vhodných podmínek pro studium. Rovněž chci poděkovat všem, kdo mi byli nápomocni při odběru vzorků.

Tato práce byla finančně podpořena projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (LH11061) a grantovou agenturou Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (022/2010/Z).

Prohlašuji, že bakalářskou práci na téma „Endoparazitární infekce pernaté zvěře“ jsem vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a materiálů uvedených v seznamu literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 13. 4. 2012

.....

Pavel Barvíř

Obsah

1. Úvod	8
2. Literární přehled.....	9
2.1. <i>Eimeria</i> spp.....	9
2.1.1. Druhy eimerií vyskytující se u bažantů.....	10
2.1.2. Výskyt a prevalence <i>E. phasiani</i> , <i>E. duodenalis</i> a <i>E. colchici</i>	12
2.1.3. Druhy eimerií vyskytující se u kachen divokých.....	12
2.2. <i>Heterakis</i> spp.....	12
2.3. <i>Capillaria</i> spp.....	13
2.3.1. Druhy kapilárií vyskytující se u bažantů a kachen.....	14
2.3.2. Výskyt a prevalence	15
2.4. <i>Syngamus trachea</i>	15
2.5. <i>Trichostrongylus</i> spp.	16
2.6. Kryptosporidie	17
2.6.1. Druhy kryptosporidií vyskytující se u bažantů a kachen	18
2.6.2. Ostatní genotypy ptačích kryptosporidií	20
3. Cíle.....	21
4. Metodika a materiál.....	22
4.1. Charakteristika sledovaných chovů.....	22
4.1.1. Chov bažanta obecného (<i>Phasianus colchicus</i>).....	22
4.1.2. Chov kachny divoké (<i>Anas platyrhynchos</i>)	22
4.2. Odběr vzorků.....	22
4.2.1. Odběr vzorků od bažantů	22
4.2.2. Odběr vzorků od kachen	23
4.3. Metody.....	23
4.3.1. Flotační metoda podle Sheathera	23
4.3.2. Barvení oocyst kryptosporidií podle Miláčka a Vítovce	23

4.3.3.	Izolace DNA.....	24
4.3.4.	Polymerázová řetězová reakce (PCR).....	25
4.3.5.	Gelová elektroforéza	26
4.3.6.	Izolace gelu	27
4.3.7.	Intenzita infekce kryptosporidií	27
4.3.8.	Sekvenace.....	27
4.3.9.	Fylogenetická analýza.....	27
5.	Výsledky.....	28
5.1.	Mikroskopické vyšetření	28
5.2.	Molekulární vyšetření.....	32
6.	Diskuze.....	35
7.	Závěry	38
8.	Seznam literatury.....	39

1. Úvod

Chov pernaté zvěře v myslivosti se soustředí především na chov bažanta obecného-obojkového (*Phasianus colchicus*) a kachny divoké (*Anas platyrhynchos*). Pernatá zvěř jak chovaná v zajetí, tak i volně žijící je hostitelem pro široké spektrum endoparazitů. Z chorob způsobovaných endoparazity jsou pro kachny a bažanty nejvýznamnější tyto: kokcidióza, trichomonóza, kryptosporidióza, kapilarióza a histomonóza. Paraziti způsobující zmíněná onemocnění ohrožují nejvíce mladé a kondičně slabé jedince. U zvířat, která mají přístup k zelenému krmení, hrozí mnohem větší nebezpečí nákazy z důvodu možné kontaminace krmiva infekčními stádii parazitů. Při silné infekci je nutný veterinární zákrok v podobě podání antiparazitik. Pokud při příznacích infekčních onemocnění nedojde k časnému podání léků, mohou paraziti infikovat další jedince a výsledkem může být rozšíření infekce v celém hejnu s výraznou mortalitou. Preventivním podáním antiparazitik lze mnohým chorobám úspěšně předejít. U divokých populací kachen a bažantů je riziko infekčních onemocnění větší než u voliéroových systémů chovů z důvodu obtížného podání léčiv. Vzhledem k velkému množství původců parazitárních infekcí se v literárním přehledu zaměřím pouze na parazity, kteří byli při výzkumu ve vzorcích detekováni.

2. Literární přehled

2.1. *Eimeria* spp.

Eimerie, nazývané též kokcidie, jsou obligátní intracelulární jednobuněční paraziti z čeledi Eimeriidae. Paraziti rodu *Eimeria* způsobují závažné onemocnění střevního traktu ptáků zvané kokcidióza. K infekci dochází pozřením vysporulovaných oocyst vnímavým hostitelem (Jurajda 2001).

Historie

První se o kokcidióze u bažantů zmínil Ernest Edward Tyzzer (Tyzzer 1929). Poté uvedl přehled sedmi druhů eimerií vyskytujících se u bažantů Pellerdy (Pellerdy 1974). V současné době jsou rozpoznány četné druhy eimerií vyskytující se u bažantů, například: *E. colchici* (Norton 1967), *E. dispersa* (Tyzzer 1929), *E. duodenalis* (Norton 1967) a *E. phasiani* (Tyzzer 1929).

Morfologie

Oocysty jsou obvykle vejčitého tvaru, kolem 20 μm velké. Obsahují čtyři sporocysty se stiedovými tělísky, každá sporocysta obsahuje dva sporozoity (Volf et al. 2007).

Taxonomie

Příslušníci rodu *Eimeria* patří do řádu Protozoa, kmen Apicomplexa, třída Coccidea, čeleď Eimeriidae, (Volf et al. 2007).

Vývojový cyklus

V buňkách střevní sliznice, napadených kokcidiemi (sporozoity) dochází k opakovanému nepohlavnímu rozmnožování tohoto parazita (merogonie) a následnému pohlavnímu rozmnožování (gametogonie), jehož produktem je oocysta, která opouští společně s trusem tělo hostitele. Ve vnějším prostředí dochází ke sporulaci oocysty, ve které se vytváří sporozoiti. Po opětovném pozření vysporulované oocysty novým hostitelem dochází ve střevě k rozpadu oocysty a uvolnění sporozoiti napadají buňky střevní sliznice (Gajadhar et al. 1986; Wobeser 1997; Ballweber 2001, Forejtek et Chroust 2010).

Klinické příznaky

Klinický průběh kokcidiózy je charakterizovaný nejprve sníženou spotřebou krmiva, na kterou navazuje fáze shlukování se kuřat pod zářiče. Objevuje se řídký až průjmovitý trus, ojediněle s příměsí krve, ptáci jsou málo pohybliví, působí ospalým dojmem. K úhynům dochází především v důsledku dehydratace organismu. U bažantů kuřat však dochází k největším ztrátám v důsledku shlukování, kdy k úhynům dochází ušlapáním a zadušením (Forejtek et Chroust 2010).

2.1.1. Druhy eimerií vyskytující se u bažantů

Kokcidie jsou druhově specifictí paraziti, nepřenosi s výjimkou experimentálních podmínek na jiný druh zvíře. U bažantů jsou nejvýznamnější druhy kokcidií *Eimeria colchici*, *E. phasiani* a *E. duodenalis* (Forejtek et Chroust 2010).

2.1.1.1. *Eimeria colchici*

Bažanti v chovech v České republice, jsou nejčastěji infikováni druhem *Eimeria colchici* (Bejšovec 1972).

Morfologie

Eimeria colchici je patogenní druh parazita s lokalizací ve slepém střevě. Je původcem akutní kokcidiózy a vyznačuje se vysokou morbiditou a mortalitou. Produkuje velké množství oocyst vyskytujících se v bílém kaseózním exudátu. V důsledku průjmů, které tento parazit způsobuje, je u infikovaných kuřat oblast kloaky zbarvena bílou hmotou (Goldová et al. 1998).

Terapie

Při výzkumu byly vytvořeny dvě skupiny bažantů obecných, každá skupina činila 28 jedinců. Z první skupiny bylo všech 28 jedinců infikováno dávkou 100-2000 vysporulovaných oocyst *Eimeria colchici*. Žádný jedinec z druhé skupiny nebyl nakažen. Po uplynutí 18 dnů byly obě skupiny jedinců infikovány dávkou 120 000 vysporulovaných oocyst *E. colchici*. Po 12 dnech pozorování 92 % bažantů předem infikovaných nízkou dávkou oocyst *E. colchici* přežilo. A oproti tomu z nativních jedinců přežilo vyvolanou infekci pouze 11 %. Z výsledku je tedy patrné, že lze úspěšně imunizovat bažanty nízkou dávkou oocyst *E. colchici* (Liou 2001). Lék

Clopidol byl účinný při léčbě infekce bažantů způsobené *E. colchici* (Norton et Wise 1981).

2.1.1.2. *Eimeria phasiani*

Morfologie

Oocysty (*Eimeria phasiani*) jsou elipsoidního tvaru, nažloutlé, hladké a 20,1-30,9 × 13,4-20,5 μm velké. Sporocysty jsou protáhlé a hruškovité (Taylor et al. 2007).

Patogenita

Infekce způsobená tímto parazitem může zapříčinit mortalitu až 50 % u 2-3 týdenních bažantů (Taylor et al. 2007).

Terapie

K účinné kontrole infekcí způsobených *E. phasiani* lze použít přípravek Amprolium (Patton et al. 1984). Při testech byl bažantům infikovaným *E. phasiani* podáván lék Diclazuril, který v dávkách 2-4 ppm zcela potlačil infekci (Vanparijs et al. 1990).

2.1.1.3. *Eimeria duodenalis*

Patogenita

Tento druh eimerií vykazuje poměrně nízkou patogenitu, způsobuje u bažantů záněty dvanácterníku a horních částí tenkého střeva. Například průměrné dávky 50 000 oocyst vedly k 30% úmrtnosti, zatímco dávky 5 000 oocyst nezpůsobily žádné klinické příznaky. Doba sporulace oocyst je při 24 °C 36-48 hodin (Goldová et al. 1998).

Terapie

Přípravek Amprolium úspěšně tlumil infekci způsobenou *E. duodenalis*, kdy úmrtnost neléčených bažantů činila 35 % a po přeléčení pouhá 3 % (Patton et al. 1984). Jako účinný lék při léčbě infekcí bažantů způsobených *Eimeria* spp. lze použít například Lasalocid (Fuller et al. 2008).

2.1.2. Výskyt a prevalence *E. phasiani*, *E. duodenalis* a *E. colchici*

Výskyt *E. phasiani* a *E. duodenalis* byl potvrzen u bažanta obecného v Německu. Obě kokcidie byly zjištěny celkem u 41 % vyšetřených jedinců (Gassal et Schmäschke 2006), výskyt *E. phasiani*, *E. duodenalis* a *E. colchici* – v Anglii (Williams 1978), v Gruzii a v Illinois v USA (Fuller et al. 2008). Fisher (1973) uvedl prevalenci *E. phasiani* u bažantů chovaných na farmě ve státě Iowa 75-94 %. Vypuknutí kokcidiózy způsobené *E. colchici* a *E. phasiani* bylo popsáno v USA (Gerhold et al. 2010). Konvičková (2008) uvedla výskyt těchto dvou druhů u bažantů v České republice s prevalencí *E. phasiani* 33,5 % a *E. colchici* 11,1 % z celkového počtu 753 vyšetřených vzorků. Norton (1967) popsal výskyt *E. duodenalis* a *E. colchici* u bažantů v Anglii. Výskyt *E. duodenalis* byl popsán také v Azerbajdžánu (Musaev et al. 1998). V Illinois byla při vyšetření vzorků trusu bažantů obecných zjištěna prevalence *E. duodenalis* 57,5 % a *E. Phasiani* 8,8 % (McQuiston 1987).

2.1.3. Druhy eimerií vyskytující se u kachen divokých

Kokcidie se u vodního ptactva vyskytují v ledvinách nebo ve střevním traktu. Z přibližně 49 popsáných druhů, bylo pouze 9 druhů z rodu *Eimeria* popsáno jako patogenní (Wobeser 1997; Farr 1965; Windingstad et al. 1980).

O jednotlivých druzích eimerií u kachen je velice málo zmínek, jsou to například tyto druhy: *Eimeria anatis*, která byla poprvé popsána Scholtyseckem (1955), *Eimeria boschadis* popsána ve Švédsku (Walden 1961), *Eimeria saitamae* (Inoue 1967). O patogenitě a prevalenci eimerií parazitujících u divokých kachen nejsou k dispozici žádné relevantní údaje.

2.2. *Heterakis* spp.

Zástupci tohoto rodu vyskytující se u bažantů obecných jsou druhy *Heterakis gallinarum* a *H. isolonche* (Draycott et al. 2006; Pavlović et al. 2003; Tampiery et al. 2005).

Taxonomie

Heterakis. gallinarum patří do kmene Nematoda, třídy Secernentea, řádu Ascaridida, čeledi Heterakidae (Volf et al. 2007).

Terapie

Léčba za pomoci fenbendazolu výrazně snižuje prevalenci *Heterakis gallinarum* u bažantů obecných (Villanúa et al. 2006).

Výskyt a prevalence

Heterakis gallinarum byl detekován u bažantů v Anglii (Draycott et al. 2006). Z výzkumu provedeného v Srbsku v letech 1997-2002 bylo vyšetřeno 1893 vzorků od bažantů ve věku 4-14 týdnů a 1432 vzorků od dospělých bažantů. Prevalence *H. gallinarum* byla 41,83% z 1893 bažantů do věku 14 týdnů a 33,03% z 1432 dospělých bažantů (Pavlović et al. 2003).

U bažantů obecných dovážených z Polska a Rumunska do Itálie pro obnovení populace byly u 37,25 % z 51 vyšetřených jedinců nalezeny dospělci a larvální stádia *H. gallinarum* (Timpiery et al. 2005).

Gilbetrson et Huggins (1964) uvedli prevalenci *H. gallinarum* u 262 vyšetřených jedinců bažantů v Jižní Dakotě 35,11 %.

Ze 151 vzorků odebraných mezi lety 1999 a 2000 bylo 84,1 procent bažantích vzorků trusu pozitivních na *H. gallinarum* (Gassla et Schmäschke 2006).

Na Slovensku byl zjištěn výskyt *H. isolonche* u bažantů s prevalencí 31,7 % (Goldová et al. 2006).

2.3. *Capillaria* spp.

Klasifikace druhů kapilárií je jedna z nejobtížnějších u hlístic. Existuje asi 300 popsáných druhů parazitů z rodu *Capillaria* parazitujících na široké škále hostitelů od ryb až po savce a ptáky (Skrjabin et al. 1957), informací o jednotlivých druzích je však velice málo.

Taxonomie

Paraziti rodu *Capillaria* patří do kmene Nematoda, třídy Adenophorea, řádu Enoplida, čeledi Capillariidae (Volf et al. 2007).

Morfologie

Velikosti vajíček kapilárií vyskytujících se u pernaté zvěře jsou uvedeny v tabulce 1.

Terapie

Pro léčbu infekcí způsobených *Capillaria* spp. lze použít například anthelmintikum Flubendazol (Šavlík et al. 2005; Sguires et al. 2012).

2.3.1. Druhy kapilárií vyskytující se u bažantů a kachen

2.3.1.1. *Capillaria phasianis*

Capillaria phasianis je druh parazita, který byl detekován z bažantů (Pavlović et al. 2003).

2.3.1.2. *Capillaria bursata*

Capillaria bursata je druh vyskytující se u bažantů, samci měří 6-12 mm a samice až 25 mm, vývoj je nepřímý (Taylor et al. 2007).

2.3.1.3. *Capillaria anatis*

Capillaria anatis je druh infikující kachny a bažanty a jsou známa tato jeho synonyma *C. brevicollis*, *C. collaris*, *C. anseris*, *C. mergi* (Taylor et al. 2007).

Morfologie a životní cyklus

Samci mají dlouhý tenký kopulační orgán. Samice měří 28-38 mm a samci 16-24 mm. Vejce jsou sudovitého tvaru, bezbarvá a mají silnou stěnu. Životní cyklus *C. anatis* je přímý a infekční stádium L₁ larva se vyvine z vajíčka za 3-4 týdny. K infekci dochází požitím infekční L₃ larvy. (Taylor et al. 2007).

Patogenita

Masivní infekce mohou vyvolat hemoragickou enteritidu s krvavými průjmy (Taylor et al. 2007).

2.3.1.4. *Capillaria obsignata*

Capillaria obsignata je parazit infikující bažanty a divoké ptáky, samci měří 10-12 mm a samice až 15 mm. Vejce jsou bezbarvá, válcovitého tvaru a měří 48-53 × 24 μm, vývoj je přímý a infekční L₁ larva se z vajíčka vyvine za 7-10 dní (Taylor et al. 2007).

2.3.2. Výskyt a prevalence

Paraziti rodu *Capillaria* byli nalezeni u bažantů například v Anglii (Draycott et al. 2006), u kachen na ostrově Hatia v Bangladéši (Hoque et al. 2011). Z 51 vyšetřených jedinců bažanta obecného dovezených z Polska a Rumunska do Itálie byly u 35,29 % jedinců ve středním traktu nalezeni paraziti rodu *Capillaria*, především druh *Capillaria phasianina* (Tampieri et al. 2005). Prevalenci *C. phasianina* ve výši 12 % u vyšetřených bažantů v Rio de Janeiru uvedl Pinto et al. (2004). Pavlović et al. (2003) uvádí prevalenci *C. gallinae*, *C. obsignata* a *C. phasianis* 41,83 % u bažantů do věku 14 týdnů a 33,03 % u dospělých bažantů v Srbsku. V České republice bylo ze 753 vyšetřených bažantích vzorků 6,2 % pozitivních na *Capillaria* spp (Konvičková 2008). Při výzkumu na Slovensku byla zjištěna prevalence *Capillaria* spp. u bažantů 38,4 % (Goldová et al. 2006). Gassal et Schmäsche (2006) uvedl prevalenci *Capillaria* spp. u bažantů v Německu 67,5 % ze 151 vyšetřených vzorků.

Zprávy o výskytu *C. anatis* u divokých kachen jsou známy z Polska (Kavetska 2008).

2.4. *Syngamus trachea*

Taxonomie

Syngamus trachea patří do kmene Nematoda, třídy Secernentea, řádu strongylida, čeledi Syngamidae (Volf et al. 2007).

Patogenita

Z výzkumu provedeného v Polsku v letech 1995-1997 u 1000-1200 bažantů, vyplývá, že *S. trachea* způsobil mezi roky 1995-1996 40% mortalitu napadených jedinců. V roce 1997 to byla již 80% mortalita (Wójcik et al. 1999).

Terapie

Lamka et al. (1997) perorálně podával lék ivermectin bažantům napadeným parazity *Syngamus trachea* a *Capillaria* spp. v dávkách 1×0,8 mg/kg tělesné hmotnosti, 1×1,16 mg/kg, 3×0,8 mg/kg a 3×1,16 mg/kg. Autoři uvedli, že ivermectin podávaný v těchto dávkách sice snížil klinické příznaky helmintóz, ale nedošlo

k úplnému vyléčení. Nelze jej tedy použít, jako účinný přípravek proti *Syngamus trachea* nebo *Capillaria* spp.

Pro léčbu helmintóz bažantů způsobovaných parazitickými hlísticemi lze úspěšně použít přípravky na bázi flubendazolu (Šavlík et al. 2005).

Výskyt a prevalence

Jsou zprávy o výskytu *S. trachea* například z Anglie (Draycott et al. 2006), z tehdejšího Československa (Bejšovec 1976), Polska (Wójcik et al. 1999), ze Slovenska s prevalencí u vyšetřených bažantů obecných 45,8 % (Goldová et al. 2006). Prevalenci *S. trachea* ve výši 12,3 % ze 753 vyšetřených vzorků u bažantů v České republice uvedla Konvičková (2008). Gassal et Schmäschke (2006) uvedli prevalenci *S. trachea* 51,5 % ze 151 vyšetřených bažantů v Německu.

Tabulka 1. Velikosti oocyst a vajíček některých druhů endoparazitů vyskytujících se u pernaté zvěře, zjistitelných koprologicky podle (Thienpout et al. 1986).

Parazit	Délka (µm)	Šířka (µm)
<i>Capillaria anatis</i>	47-65	24-35
<i>Capillaria coudinflota</i>	43-60	20-27
<i>Capillaria contorta</i>	50-65	22-28
<i>Capillaria obsignata</i>	50-62	20-25
<i>Syngamus trachea</i>	78-100	43-60
<i>Heterakis gallinarum</i>	63-75	36-48
<i>Trichostrongylus tenius</i>	65-75	35-42

2.5. *Trichostrongylus* spp.

Příslušníci rodu *Trichostrongylus* jsou malí načervenalí hlísti, vyskytující se například u ptáků, přežvýkavců a hlodavců, u ptáků obývají slepé střevo (Anderson 2000). Druh infikující kachny a bažanty je *Trichostrongylus tenius* (Gibson 2002; Gicik et Arslan 2003).

Taxonomie

Trichostrongylus spp. patří do kmene Nematoda, třídy Secernentea, řádu Strongylida, čeledi Trichostrongylidae (Volf et al. 2007).

Morfologie a životní cyklus

Trichostrongylus tenius má přímý životní cyklus, dospělí hlísti obývají stěny slepého střeva hostitele. Tělo hostitele opouští vajíčka s trusem a ve vnějším prostředí se vyvíjejí v infekční larvy. Do hostitele se dostanou perorálně s potravou a uvnitř hostitele se vyvinou v dospělce. Rozsáhlá infekce může vést k zánětům a krvácení do slepého střeva (Watson et al. 1987). Velikost vajíček *T. tenius* je uvedena v tabulce 1.

Výskyt a prevalence

Na Slovensku byl u vyšetřených bažantů zjištěn 2,1% výskyt *Trichostrongylus tenius* Goldová et al. (2006). Výskyt *T. tenius* byl popsán také u bažantů v Polsku (Wójcik et al. 1999).

2.6. Kryptosporidie

Kryptosporidioza je jednou z nejrozšířenějších parazitárních infekcí u domestikovaných a divoce žijících ptáků (Sreter et Varga 2000).

Historie

Plutzer et al. (2009) uvádí, že infekce kryptosporidií byla popsána u řady druhů ptáků, ale pouze tři druhy ptačích kryptosporidií byly pojmenovány: *C. meleagridis* (Slavin 1955), *C. baileyi* (Current et al. 1986), a *C. galli* (Pavlásek 1999; Ryan et al. 2003).

První kdo informoval o výskytu kryptosporidií u ptáků byl Tyzzer. V roce 1929 prohlásil, že druh podobný *C. parvum* vyskytující se u myší byl nalezen u kuřat (Tyzzer 1929). Tyzzer však z důvodu velké podobnosti s *C. parvum* tento druh nepojmenoval a v roce 1955 popsal Slavin strukturně podobného parazita u krůt a pojmenoval jej *C. meleagridis* (Slavin 1955). V roce 1986 pak Current et al. izoloval ze vzorků od kuřat parazita, kterého pojmenoval *C. baileyi* (Current et al. 1986).

Oba druhy *C. meleagridis* i *C. baileyi* byly nalezeny v tenkém a tlustém střevě, ale významně se lišily velikostí oocyst. Pouze *C. bayleyi* byla nalezena i v dýchacích tkáních, jako jsou nosní dutiny a průdušnice (Plutzer et al. 2009).

Pavlásek (1999) popsal parazita s oocystami strukturálně podobnými *C. baileyi* izolovanými z kuřat, avšak většími a pojmenoval jej *C. galli*.

Taxonomie

Kryptosporidie patří do kmene Apicomplexa, čeledi Cryptosporidiidae (Goodwin 1989).

Morfologie a životní cyklus

V těle hostitele dojde ke sporulaci oocyst, vysporulované oocysty obsahují čtyři sporozoity a uvolňují se s trusem z těla hostitele při vyprazdňování. Tyto oocysty jsou velmi odolné vůči vnějšímu prostředí (Fayer 2008). Infekční cyklus začíná při pozření oocyst vhodným hostitelem. Infekční dávka se liší v závislosti na odolnosti hostitele, ale i 10 oocyst postačí k vyvolání onemocnění (Okhuysen et al. 1999). Příslušníci rodu *Cryptosporidium* dokončují všechna vývojová stádia v jednom hostiteli (Reduker et al. 1985).

2.6.1. Druhy kryptosporidií vyskytující se u bažantů a kachen

O výskytu ptačích kryptosporidií u divokých kachen (*Anas platyrhynchos*) a bažantů obecných (*Phasianus colchicus*) je známo jen malé množství informací.

2.6.1.1. *Cryptosporidium meleagridis*

Cryptosporidium meleagridis je častou příčinou kryptosporidiózy u ptáků (Glberman et al. 2001).

Morfologie

Oválné oocysty *C. meleagridis* jsou velké od 4,0 do 4,5 μm (Slavin 1995).

Výskyt a prevalence

V Číně byly odebírány vzorky z farem od kuřat a pekingských kachen, *C. meleagridis* byl nalezen u 3 vzorků kuřat ze 187 vyšetřených (Wang et al. 2010). Tento druh byl detekován u kuřat v Itálii (Berrilli et al. 2012) a v Brazílii (Huber et al. 2007), u brkoslava severního, hrdličky východní a holuba domácího v Číně (Qi et al. 2011).

2.6.1.2. *Cryptosporidium galli*

Morfologie

Oocysty *C. galli* jsou větší než jiné druhy ptačích kryptosporidií a měří 8,0-8,5 × 6,2-6,4 μm (Pavlásek 2001).

Na rozdíl od jiných druhů ptačích kryptosporidií fáze životního cyklu *C. galli* probíhají v epitelových buňkách proventrikulu a ne v dýchacím ústrojí ani v tenkém nebo tlustém střevě (Pavlásek 1991).

Výskyt a prevalence

Druh *C. galli* byl popsán u kanárků, korel a louskače menšího v Brazílii (Nakamura et al. 2009), u brkoslava severního a timálie stříbrouché v Číně (Qi et al. 2011).

2.6.1.3. *Cryptosporidium baileyi*

Morfologie

Životaschopné oocysty měří 6,2 × 4,6 μm a jsou větší a více protáhlé než oocysty *C. meleagridis* (Curent et al. 1986). Detaily o životním cyklu *C. baileyi* jsou neúplné, předpokládá se, že jejich vývoj je přímý a podobný ostatním příslušníkům rodu *Cryptosporidium* (Baker 2007). *Cryptosporidium baileyi* infikuje mnoho částí těla, např. tenké a tlusté střevo, nosohltan, průdušnice, průdušky a další (Lindsay et Blagburn 1990).

Patogenita

U myší, koz a křepelek uměle infikovaných oocystami *C. baileyi* nepropukla infekce, ale omezené fáze životního cyklu byly pozorovány u kuřat a těžká infekce propukla u jednodenních kachňat (Curent et al. 1986). *Cryptosporidium baileyi* není přenosný na lidi (Baker 2007).

Výskyt a prevalence

Cryptosporidium baileyi bylo nalezeno v Číně u kuřat na 15 kuřecích farmách a u kachen (*Anas platyrhynchos*) na 4 farmách z celkových 46 vyšetřených farem (Wang et al. 2010). Na spodním toku řeky Rio Grande v Novém Mexiku, bylo v letech 2000-2001 odebráno 69 vzorků trusu od divokých kachen a výsledky

prokázaly výskyt oocyst kryptosporidií u 49 % zkoumaných jedinců (Kuhn et al. 2002). *Cryptosporidium baileyi* bylo detekováno u kachen v Brazílii (Huber et al. 2007).

2.6.2. Ostatní genotypy ptačích kryptosporidií

Bylo popsáno několik dalších ptačích genotypů, z nichž jsou známy například: *Cryptosporidium avian* genotype I-V, *Cryptosporidium goose* genotyp I-IV, *Cryptosporidium duck* genotype. O těchto ptačích genotypech jsou zprávy například z Austrálie (Ng et al. 2006), z Brazílie (Nakamura et al. 2009), z Číny (Qi et al. 2011), z Kanady (Zhou et al. 2004), nicméně bližší informace týkající se patogenity, vývojového cyklu nejsou k dispozici.

3. Cíle

Vyhodnocení výskytu a prevalence endoparazitů pernaté zvěře v závislosti na věku zvířat a způsobu odchovu.

4. Metodika a materiál

4.1. Charakteristika sledovaných chovů

4.1.1. Chov bažanta obecného (*Phasianus colchicus*)

Způsob chovu

Bažantí kuřata jsou líhnuta v umělé líhni a odtud putují do voliér. Do sledovaných voliér jsou bažantí kuřata přivážena ve věku šesti týdnů. Bažanti jsou rozmístěni celkem do 7 menších voliér. Voliéry jsou v průměru 10 × 8 metrů velké a 3 metry vysoké. Podloží je tvořeno vrstvou písku a škváry aby se zabránilo prorůstání vegetace. Každá z voliér je vstupem o rozměru 50 × 50 cm propojena se zastřešenou budovou. Velikost vnitřního výběhu je zhruba 5 × 5 metrů. Neomezený přístup k vodě je zajištěn napáječkami. Skladba krmiva se skládá z obilovin (pšenice, ječmen), kukuřice a zeleného krmení.

4.1.2. Chov kachny divoké (*Anas platyrhynchos*)

Způsob chovu

Chov kachen divokých je podobný jako chov bažanta obojkového. Sledované hejno kachen je chovné, jedná se tedy o dospělé kachny. V tomto případě jeden až dva roky staré. Způsob chovu je také voliérový ale s tím rozdílem, že kachny mají ve voliére vodní plochu o rozloze cca 70 m². Díky přírodnímu vodnímu zdroji nejsou potřebné napáječky. Plocha voliéry bez vodní plochy činí cca 60 m². Pod zastřešenou částí jsou umístěné hnízdní budky, z kterých jsou v době nesení vejce pravidelně odebírána. Kachny jsou chované zpravidla po dobu 2 let nesení, tzn. do věku 3-4 let. Skladba krmiva je složena převážně z ječmene a pšenice. Část krmiva je podávána na suchý prostor do krmítek a část do vody, protože kachny velkou část potravy přijímají z vody. V letních měsících je podáváno i zelené krmivo.

4.2. Odběr vzorků

4.2.1. Odběr vzorků od bažantů

Z voliéry v Dražejově byly učiněny tři odběry vzorků od bažantích kuřat a jeden odběr od dospělých bažantů. V černovické voliére byly vzorky odebrány dvakrát od dospělých bažantů. Vzorky trusu byly individuálně odebírány do plastových sterilních vzorkovnic. Všechny vzorky byly odebírány čerstvé, po vykálení zvířete. Po odebrání až do vyšetření byly vzorky uchovávány při teplotě 4-7 °C.

4.2.2. Odběr vzorků od kachen

Byly učiněny tři odběry od dospělých jedno- až dvouletých kachen v intervalech 1 × za měsíc.

4.3. Metody

4.3.1. Flotační metoda podle Sheathera

Sheatherův roztok je roztok cukru o specifické hmotnosti $1.158 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$

Pracovní postup

- Vzorek trusu o hmotnosti cca 1g zhomogenizovat s vodou.
- Zhomogenizovaný vzorek předit přes buničinu do 10 ml zkumavky.
- Centrifugovat 5 minut při 2500 g.
- Opatrně slít supernatant, tak aby na dně zkumavky zůstal sediment.
- Do zkumavky se sedimentem přidat cca 2 ml Sheatherova roztoku a homogenizovat.
- Doplnit zkumavku Sheatherovým roztokem 1 cm pod okraj zkumavky.
- Centrifugovat 5 minut při 2500 g.
- Pomocí kličky odebrat ze zkumavky povrchovou blanku a přenést na podložní sklíčko (alespoň 3×).
- Překrýt krycím sklíčkem, tak aby nevznikly mezi sklíčky vzduchové bubliny.
- Prohlédnout preparát mikroskopem při zvětšení 100 až 400×.

4.3.2. Barvení oocyst kryptosporidií podle Miláčka a Vítovce

Zásobní roztoky

1. Roztok methyl-violeti

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

2. Roztok tartrazinu

- 1% roztok tartrazinu v 1% kyselině octové

3. 2% kyselina sírová

Pracovní postup

- Špejlí rozetřít trus na podložní sklíčko.
- Sklo s nátěrem fixovat metanolem v plameni.
- Barvit roztokem methylvioleti po dobu 30 minut.
- Omýt pod tekoucí vodou.
- Diferencovat v 2% kyselině sírové po dobu 2 minut.
- Omýt pod tekoucí vodou.
- Dobarvit v roztoku tartrazinu po dobu 4 minut.
- Omýt pod tekoucí vodou.
- Nechat uschnout při laboratorní teplotě a prohlížet mikroskopem při zvětšení 1000× za použití imerzního oleje.

4.3.3. Izolace DNA

Pracovní postup

- Vzorek trusu vložit do mikrozkuhavky (Safe-Lock-Tube), přidat skleněné kuličky o průměru 0,5 mm.
- Připipetovat 1,0 ml Lysis Buffer P a rozbít 1 minutu ve FastPrep-24 při rychlosti 5,5 m/s.
- Inkubovat v termobloku po dobu 10 minut při teplotě 95 °C.
- Centrifugovat 1 minutu při 16 000 g.
- Přenést veškerý supernatant do mikrozkuhovek (Invi-Adsorb-Tube), homogenizovat a inkubovat 1 minutu při laboratorní teplotě
- Centrifugovat 3 minuty při 16 000 g.
- Supernatant napipetovat do čistých mikrozkuhovek a centrifugovat 3 minuty při 16 000 g.
- Do čistých mikrozkuhovek nepipetovat 25 µl Proteinase K a přidat 400 µl supernatantu, homogenizovat.
- Inkubovat v termobloku 10 minut při teplotě 70 °C.
- Připipetovat 400 µl Binding Buffer P, homogenizovat.
- Přepipetovat veškerý objem do Spin Filter + Tube (kolona se sběrnou mikrozkuhovou).

- Inkubovat 1 minutu při laboratorní teplotě
- Centrifugovat 1 minutu při 16 000 g.
- Vylít odpad ze sběrných mikroskopických nádob, napipetovat na kolonu 500 µl Wash I, centrifugovat 1 minutu při 16 000 g.
- Vylít odpad ze sběrných mikroskopických nádob, napipetovat na kolonu 800 µl Wash II, centrifugovat 1 minutu při 16 000 g.
- Vylít odpad a znovu centrifugovat 3 minuty při 16 000 g.
- Kolonu vložit do čisté mikroskopické nádoby, napipetovat 200 µl předehřátého Elution Buffer D na kolonu.
- Inkubovat 3 minuty při laboratorní teplotě, centrifugovat 1 minuty při 8 000 g.
- Skladovat v mrazícím boxu, při teplotě -20 °C.

4.3.4. Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Amplifikace části genu SSU byla provedena z vyzolované DNA za pomoci nested PCR (Xiao et al. 1999; Jiang et al. 2005), s použitím setu primerů uvedených v tabulce 2.

Vzorky trusu od kachen i od bažantů byly pomocí nested PCR amplifikující část genu kódujícího malou ribozomální podjednotku (SSU rRNA) testovány na přítomnost specifické DNA kryptosporidií. Reakční směsi protokolu PCR jsou uvedeny v tabulce 3.

Úseky DNA byly amplifikovány v termocykleru (Bioer, P. R. China) za použití programu: počáteční denaturace 3 min při 94 °C, 35 cyklů zahrnujících denaturaci 45 s při 94 °C, nasedací teploty primerů 45 s, extenze 60 s při 72 °C, a finální extenze 10 min při 72 °C. Pro amplifikaci sekundárního PCR produktu byly použity 3 µl primárního PCR produktu. Jako pozitivní kontrola byla použita DNA *Cryptosporidium suis* a *C. andersoni*.

Tabulka 2. Sety primerů pro amplifikaci SSU**SSU****Primární reakce****F1** TTCTAG AGCTAATACATGCG**R1** CCCATTCCTTCGAAACAGGA**Sekundární reakce****F2** GGAAGGGTGTATTTATTAGATAAAG**R2** CTCATAAGGTGCTGAAGGAGTA**Tabulka 3.** PCR protokol pro amplifikaci části genu kódujícího SSU

Primární reakce			Sekundární reakce		
H₂O	-----	11,30 µl	H₂O	-----	13,10µl
MgCl₂	25 mM	1,20 µl	MgCl₂	25 mM	1,20µl
10× buffer	-----	2,00 µl	10× buffer	-----	2,00µl
dNTP	10 mM	0,40 µl	dNTP	10 mM	0,40µl
Forward primer	10 µM	0,40 µl	Forward primer	10 µM	0,40µl
Reverse primer	10 µM	0,40 µl	Reverse primer	10 µM	0,40µl
BSA	10 mg/ ml	0,80 µl	-----	-----	-----
Taq	1 U/ µl	0,50 µl	Taq	1 U/ µl	0,50µl
DNA	-----	3,00 µl	DNA	-----	2,00µl
celkem		20,00 µl	celkem		20,00µl

4.3.5. Gelová elektroforéza

Výsledné produkty ze sekundární PCR byly vizualizovány elektroforézou na 1% agarózovém gelu s přidavkem ethidium-bromidu.

Chemikálie

- 50 × TAE pufr (242 g tris báze, 47,1 ml ledové kyseliny octové, 100 ml 0,5 M EDTA pH 8,00)
- agaróza
- ethidium bromid
- 100 bp ladder

Pracovní postup

- Smíchat agarózu s TAE pufrem.
- Nechat rozpustit v mikrovlnné troubě a zchladit na teplotu cca 50 °C pod tekoucí vodou.
- Přidat ethidium-bromid.
- Nalít gel do formy, vložit hřeben a nechat ztuhnout.

- Po ztuhnutí vyjmout hřeben a vložit gel do elektroforetické vany s $1 \times$ TAE pufrem.
- Do jamek vzniklých po vyjmutí hřebenu nanést všechny produkt sekundární PCR.
- Spustit elektroforézu při napětí 70 V na dobu potřebnou pro separaci fragmentů DNA (cca 50 min.).
- Vizualizovat DNA fragmenty za pomoci UV transilumátoru.

4.3.6. Izolace gelu

- Vyříznout fragmenty DNA z gelu skalpelem a vložit do mikrokumavky 1,5 ml.
- Poté vyizolovat DNA pomocí kitu QIAquick® Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany) dle návodu uvedeného výrobcem.

4.3.7. Intenzita infekce kryptosporidií

- Intenzita infekce kryptosporidií v mikroskopicky pozitivních vzorcích byla spočítána za pomoci programu OPG final.

4.3.8. Sekvenace

Sekundární produkty z PCR byly sekvenovány za použití sekundárních primerů. K sekvenaci byl použit ABI BigDye Terminator v 3. 1. Cycle Sequencing kit a sekvenátor ABI3130. Získané sekvence byly ručně upraveny pomocí programu ChromasPro (<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>) a porovnány se sekvencemi uloženými v databázi GeneBank pomocí programu ClustalX (<ftp://ftp-igbmc.u-strasbg.fr/pub/ClustalX/>).

4.3.9. Fylogenetická analýza

Fylogenetické vztahy jednotlivých druhů a genotypů kryptosporidií byly vypočteny Neighbor-Joining metodou (Saitou et Nei 1987) založenou na 2-parametrickém distančním modelu dle Kimury (Kimura 1980). Bootstrapový konsenzus výsledného stromu byl získán na základě 1000 opakování. Pro konstrukci stromů byl použit program TREECON verze 1.3b.

5. Výsledky

V letech 2011-2012 bylo odebráno celkem 180 vzorků trusu od pernaté zvěře z voliérovy chovů. Z toho 119 vzorků od bažantů obecných (*Phasianus colchicus*) a 61 vzorků od divokých kachen (*Anas platyrhynchos*). Vzorky od bažantů byly odebrány ze dvou chovů, z černovického chovu bylo odebráno 40 vzorků a z chovu v Dražejově 79 vzorků. Všech 61 kachních vzorků bylo odebráno z jednoho chovu z Čejetic.

Všechny vzorky byly vyšetřeny za pomoci flotační metody dle Sheathera a metody barvení oocyst kryptosporidií dle Miláčka a Vítovce.

5.1. Mikroskopické vyšetření

Při mikroskopických vyšetřeních bylo ve vzorcích detekováno 6 rodů parazitů. Za pomoci flotační metody byly detekovány tyto rody: *Capillaria*, *Eimeria*, *Heterakis*, *Syngamus* a *Trichostrongylus*. Extenzitu výskytu u jednotlivých chovů znázorňuje tabulka 4. Nejpočetnější skupinou u divokých kachen, byli paraziti z rodu *Capillaria*. U bažantů se nejpočetněji vyskytovali paraziti rodu *Eimeria*. Celkový počet infikovaných jedinců v jednotlivých chovech znázorňuje tabulka 5.

Paraziti z rodu *Cryptosporidium* byli podle metody barvení oocyst dle Miláčka a Vítovce detekováni pouze u kachen divokých. Z 61 vyšetřených kachních vzorků bylo 12 vzorků (19,7 %) mikroskopicky pozitivních na kryptosporidie. Všech 119 bažantích vzorků bylo na kryptosporidie mikroskopicky negativních.

Počet mikroskopicky vyšetřených paraziticky pozitivních vzorků činil 110 z celkových 180 vzorků. Z počtu 110 pozitivních vzorků, byli nejpočetněji zastoupeni paraziti z rodu *Capillaria* (27,2 %), poté rod *Eimeria* (18,9 %), *Cryptosporidium* (6,7 %), *Heterakis* (6,1 %), *Trichostrongylus* (1,7 %) a *Syngamus* (0,6 %).

Z celkových šesti odběrů vzorků od bažantů byly tři učiněny od bažantích kuřat a tři od dospělých bažantů. Prevalence *Capillaria* spp. bažantích kuřat (8,9 %) byla téměř stejná jako u dospělých jedinců (9,0 %). Oproti tomu prevalence *Eimeria* spp. u kuřat (14,2 %) byla znatelně vyšší než u dospělých bažantů (5,4 %). Výskyt ostatních rodů parazitů byl nízký a pohyboval se v rozmezí od 3 do 6 %. Prevalenci jednotlivých rodů parazitů u bažantů v závislosti na věku zvířat zobrazuje graf 1.

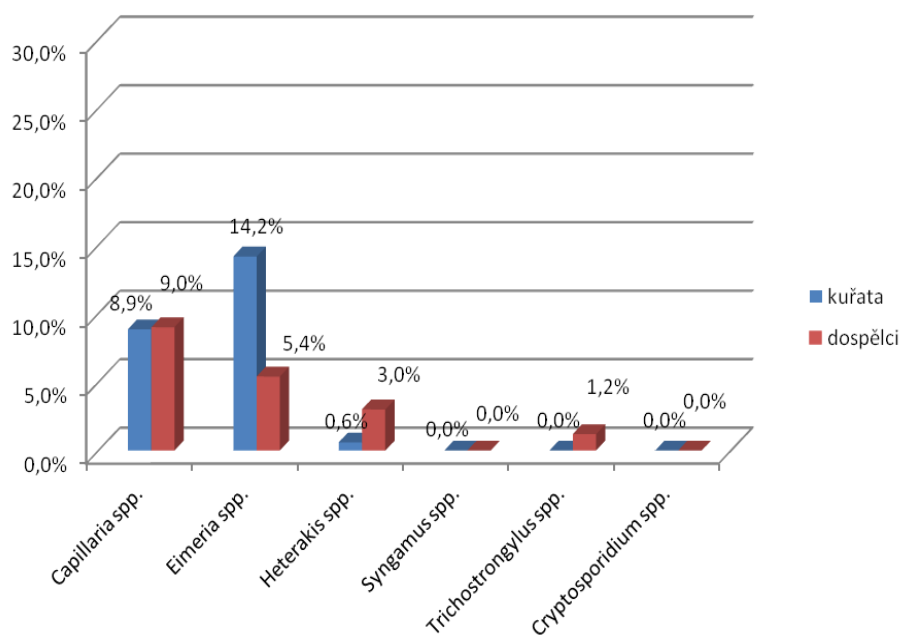
Tabulka 4. Extenzita výskytu parazitů ve sledovaných chovech zjištěná mikroskopicky

Chov	Počet vzorků ks	Pozitivní vzorky %					
		<i>Capillaria</i>	<i>Eimeria</i>	<i>Heterakis</i>	<i>Syngamus</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Cryptosporidium</i>
Bažanti							
Dražejov	79	24,1	30,4	3,8	0	0	0
Černovice	40	27,5	22,5	7,5	0	5	0
Kachny							
Čejetice	61	31,1	1,6	8,2	1,6	1,6	19,7

Tabulka 5. Počet infikovaných jedinců v jednotlivých chovech

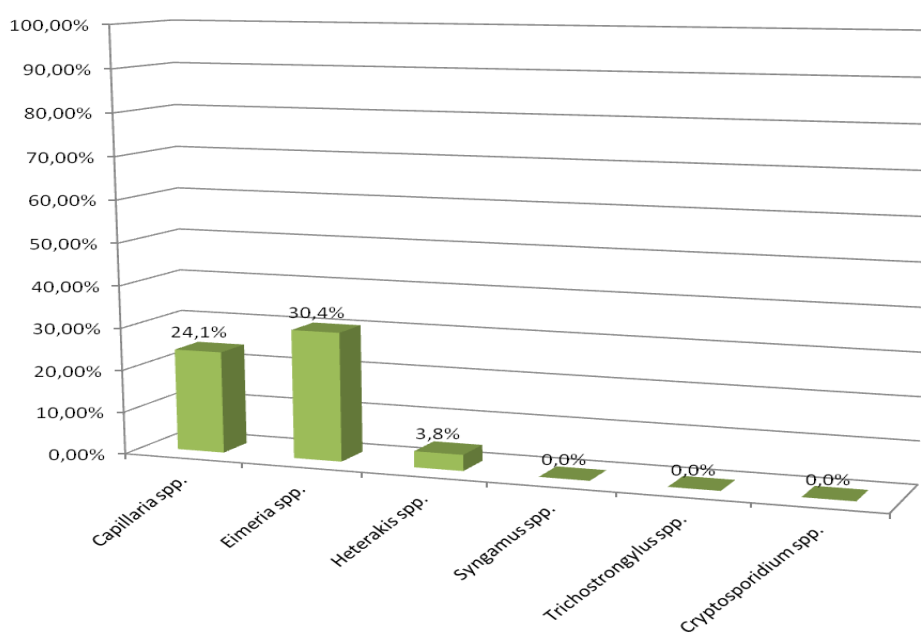
Parazit	Počet vyšetřených/pozitivních jedinců		
	Černovice	Dražejov	Čejetice
<i>Capillaria spp.</i>	40/11	79/19	61/19
<i>Eimeria spp.</i>	40/9	79/24	61/1
<i>Heterakis spp.</i>	40/3	79/3	61/5
<i>Syngamus spp.</i>	40/0	79/0	61/1
<i>Trichostrongylus spp.</i>	40/2	79/0	61/1
<i>Cryptosporidium spp.</i>	40/0	79/0	61/14

Graf 1. Prevalence jednotlivých rodů parazitů u bažantů v závislosti na věku zvířat

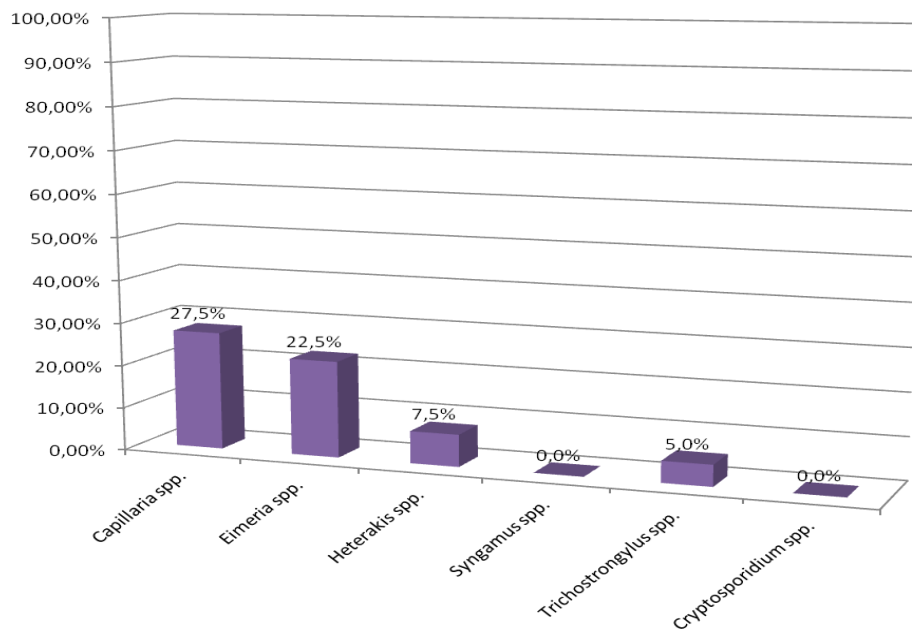


Procentuální hodnoty výskytu parazitů v jednotlivých chovech se pohybovaly v relativně podobných hodnotách. Největší četnost parazitů byla zjištěna v chovu kachen v Čejeticích (63,8 %), dále pak u bažantů z černovického chovu (62,5 %) a nejmenší hodnoty byly zjištěny v dražejovském chovu bažantů (58,3 %). Prevalenci druhů parazitů v jednotlivých chovech znázorňují grafy č. 2., 3. a 4.

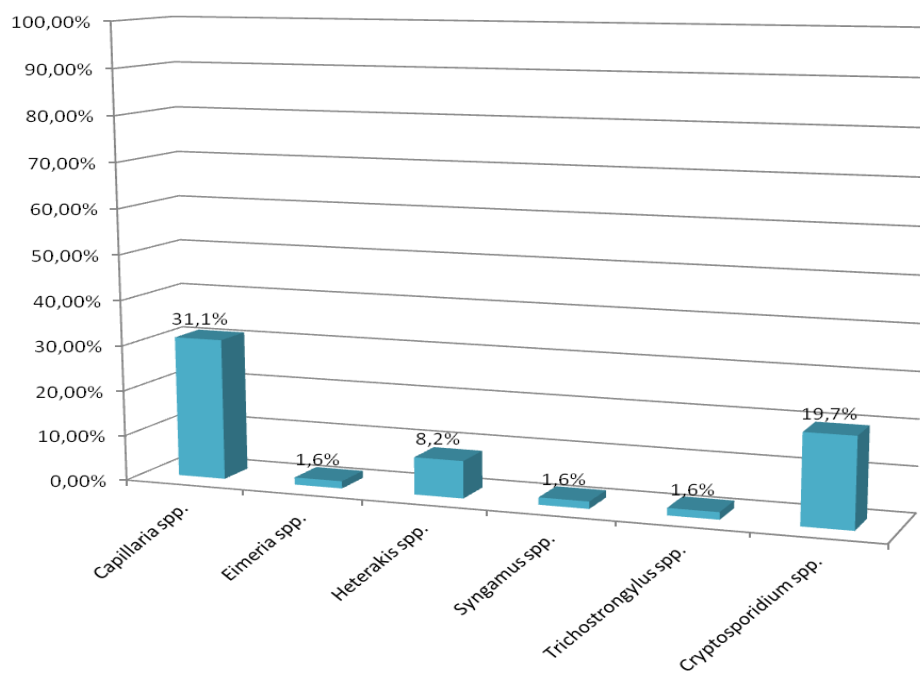
Graf 2. Prevalence parazitů v dražejovském chovu bažantů



Graf 3. Prevalence parazitů v černovickém chovu bažantů



Graf 4. Prevalence parazitů v čejetickém chovu kachen



Intenzita infekce kryptosporidií v mikroskopicky pozitivních kachních vzorcích se pohybovala od 2500 od 25000 OPG. Intenzitu infekce kryptosporidií v jednotlivých vzorcích zobrazuje tabulka 6.

Tabulka 6. Intenzita infekce kryptosporidií v mikroskopicky pozitivních vzorcích

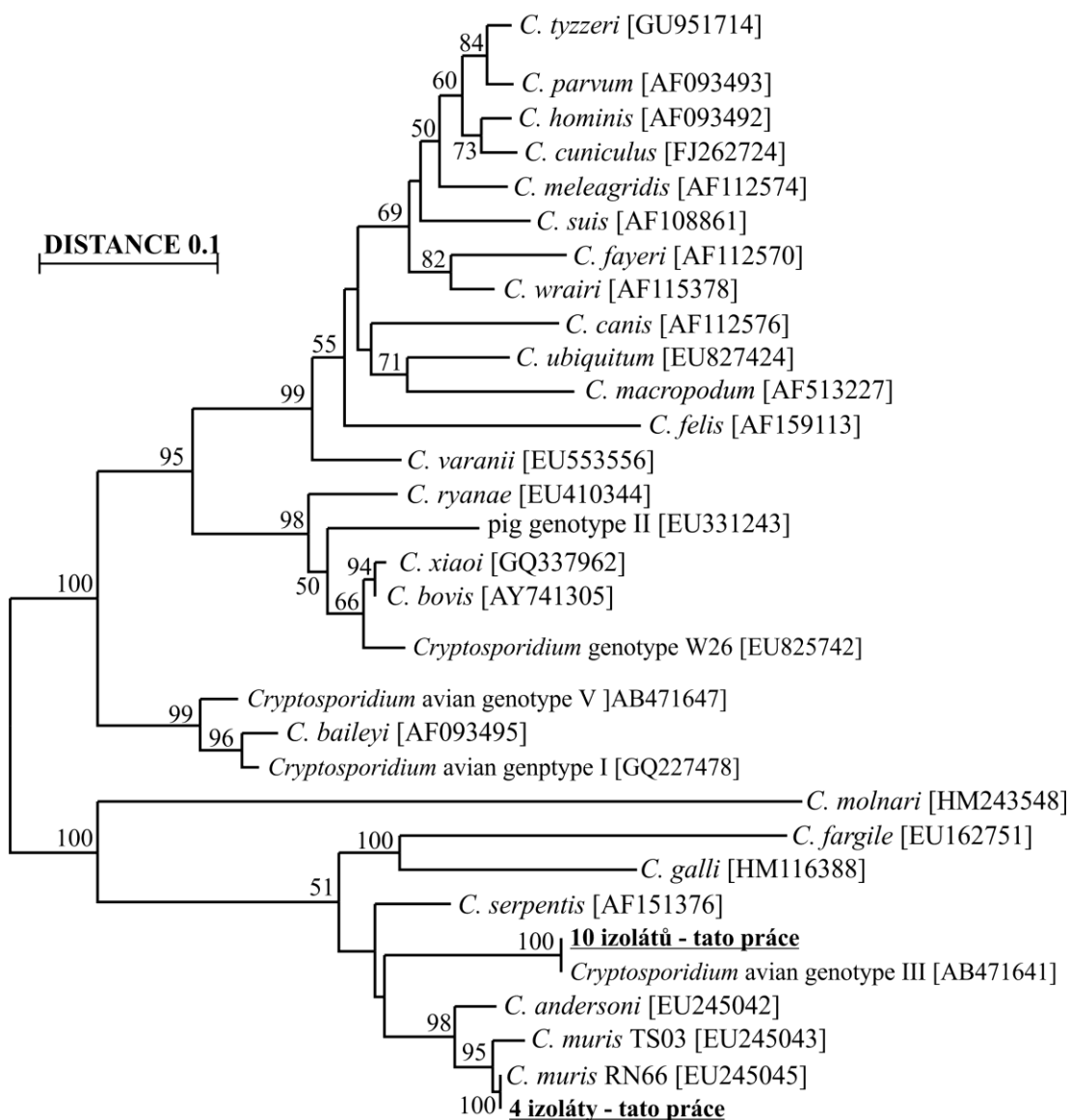
Vzorek	Počet oocyst (3500 zorných polí)	Intenzita infekce (počet oocyst na 1g trusu)
1.	2	5 500
2.	4	11 500
3.	3	8 500
4.	9	25 000
5.	1	2 500
6.	1	2 500
7.	2	5 500
8.	5	14 000
9.	8	22 500
10.	1	2 500
11.	10	28 000
12.	1	2 500

5.2. Molekulární vyšetření

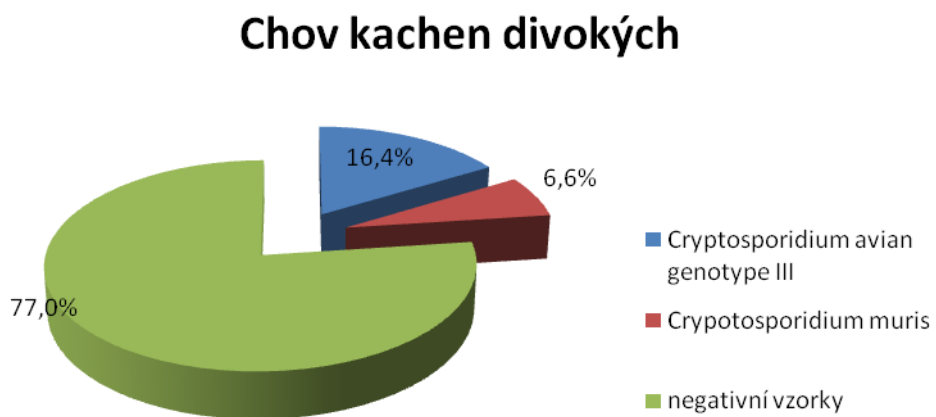
Pomocí nested PCR amplifikující část genu kódujícího malou ribozomální podjednotku (SSU rRNA) byla detekována přítomnost specifické DNA kryptosporidií ve 14 vzorcích od kachen divokých (*Anas platyrhynchos*). V žádném ze vzorků trusu bažantů obecných (*Phasianus colchicus*) nebyl výskyt kryptosporidií prokázán.

Sekvenční analýza PCR pozitivních vzorků prokázala v 10 případech (16,4 %) přítomnost *Cryptosporidium* avian genotype III, který se 100% shodoval s genotypem *Cryptosporidium* avian genotype III uloženým v GenBank [AB471641]. Ve 4 případech (6,6 %) byly získány sekvence identické s druhem *Cryptosporidium muris* RN66 [EU245045] (obrázek 1). Prevalenci výskytu těchto druhů ve vzorcích od kachen divokých znázorňuje graf 5.

Obrázek 1. Kladogram fylogenetických vztahů izolátů kryptosporidií použitých v této studii (potrženo) s ostatními druhy a genotypy kryptosporidií na základě částečné nukleotidové sekvence genů kódujících malou ribozomální podjednotku (SSU) vytvořený metodou neighbor-joining v programu Treecon; 1000× bootstrap; znázorněny hodnoty podpory větví více než 50 %.



Graf 5. Prevalence jednotlivých druhů kryptosporidií nalezených ve vzorcích trusu od kachen divokých.



6. Diskuze

Parazitů infikujících pernatou zvěř je celá řada, nicméně zdravotní problematika jak divokých kachen, tak i bažantů v souvislosti s parazitárními infekcemi stojí na okraji zájmu. V současné době není této problematice věnována dostatečná pozornost. V rámci této studie jsme detekovali celkem 4 rody parazitů u bažantů a 6 rodů parazitů u kachen. Nejčastěji byli detekováni paraziti z rodu *Eimeria* a *Capillaria*.

Prevalence *Eimeria* spp. u bažantů byla v dražejovském chovu 30,4 % a v černovickém chovu 22,5 % což se shoduje například s prevalencí *Eimeria phasiani* 33,5 % u divokých bažantů v České republice (Konvičková 2008). Ve světě se prevalence parazitů z rodu *Eimeria* u bažantů pohybuje v rozmezí od 8 do 94 % (McQuiston 1987; Gassal et Schmäscke 2006; Gerhold et al. 2010).

V této studii jsme zjistili prevalenci eimerií u divokých kachen 1,6 %. Není možné říci, zda je tento výskyt ojedinělý či nikoliv z důvodů nedostatku informací o výskytu parazitů z tohoto rodu u divokých kachen.

V bažantích chovech jsme zaznamenali prevalenci *Capillaria* spp. 24,1 a 27,5 %, což je výrazně nižší promořenost hejna ve srovnání s 38,4% prevalencí uváděnou na Slovensku (Goldová et al. 2006), 67,5% v Německu (Gassal et Schmäscke 2006) a 41,8% v Srbsku (Pavlović et al. 2003). Naopak v porovnání s výsledky publikovanými z Brazílie 12% (Pinto et al. 2004) a zejména České republiky 6,2% (Konvičková 2008) jsme zjistili výrazně vyšší prevalenci. Popisovaný výskyt eimerií může být, tak jako v případě ostatních parazitů, ovlivněn celou řadou faktorů. Vzhledem k omezenému množství vědeckých podkladů, není možné ze zjištěných prevalencí vyvozovat hlubší závěry.

Prevalence kryptosporidií u divokých nebo chovaných ptáků se liší v jednotlivých státech, nicméně obecně lze konstatovat, že se pohybuje v rozmezí od 1 do 7 % (Qi et al. 2011). V této studii jsme zjistili odpovídající celkovou prevalenci a to ve výši 7,8 %. Na úrovni jednotlivých chovů byla zjištěna výrazná variabilita v extenzitě výskytu *Cryptosporidium* spp. v rozmezí 0-22,9 %. Až na jedinou výjimku, nález *C. parvum* u bažanta tibetského (*Crossoptilon crossoptilon*) (Karanis et al. 2007), nebyl doposud ve světové literatuře popsán ptačí druh kryptosporidií infikujících bažanty. Taktéž v našem sledování jsme nezaznamenali žádný výskyt kryptosporidií u bažanta obecného (*Phasianus colchicus*).

Nepřítomnost kryptosporidiových infekcí u bažantů není dle našeho názoru dána nevnímavostí tohoto hostitele ke kryptosporidiím, ale nízkým zájmem o tuto skupinu hostitelů. Je tedy jen otázkou času a většího počtu vyšetřených vzorků a chovů, kdy bude detekován některý z již popsaných druhů či genotypů nebo zcela nový druh parazitující u bažantů.

Stejně tak u kachny divoké (*Anas platyrhynchos*) byly v minulosti publikovány pouze dvě práce popisující výskyt *Cryptosporidium* spp. Například u divokých kachen z Nového Mexika (Kuhn et al. 2002) a *C. baileyi* u kachen v Číně (Wang et al. 2010). Při výzkumu byly ve vzorcích od kachen divokých pomocí sekvenční analýzy detekovány dva druhy kryptosporidií a to *Cryptosporidium* avian genotype III a *Cryptosporidium muris*.

Cryptosporidium avian genotype III byl popsán například v Číně u korel (*Nymphicus hollandicus*) a červenomodré straky (*Urocissa erythrorhynch*) (Qi et al. 2011), v Brazílii u rýžovníka šedého (*Padda oryzivora*), korely (*N. hollandicus*) (Nakamura et al. 2009; Gomes et al. 2011) a u agaponise růžohrdlého (*Agapornis roseicolis*) (Nakamura et al. 2009). U divokých kachen nebyl *Cryptosporidium* avian genotype III doposud popsán. Toto je první zmínka o této kryptosporidii v České republice a u divokých kachen vůbec. Klinické příznaky infekce *Cryptosporidium* avian genotype III nejsou popsány, tento druh patří mezi žaludeční kryptosporidie, proto jako i u ostatních žaludečních kryptosporidií infikujících například prasata nedochází k průjmovým onemocněním.

Cryptosporidium muris je parazit vyskytující se u myší (Tyzzer 1907). V naší provedené studii jsme druh *C. muris* detekovali ve 4 vzorcích trusu divokých kachen (*Anas platyrhynchos*). Druh *C. muris* nepatří mezi kryptosporidie běžně se vyskytující u ptáků. V minulosti bylo *C. muris* detekováno u celé řady nespecifických hostitelů, jako například u prasat (Kváč et al. 2009; Chen a Huang 2007), hadů (Xiao et al. 2004), ale i ptáků, konkrétně lelkouna sovího (Ng et al. 2006). Následné experimentální infekce a šetření prokázalo, že *C. muris* není pro prasata a hady infekční (Xiao et al. 2004; Kváč et al. 2012). V případě lelkouna sovího se předpokládá, že se nemohlo jednat o pasáž oocyst zaživacím traktem, nicméně tato domněnka nebyla nikdy potvrzena. Pravděpodobným vysvětlením výskytu v kachních vzorcích je, že se do kachen dostaly oocysty *C. muris* pozřením myšího trusu zároveň s krmivem. Obilí podávané kachnám jako krmivo je volně

sypané do krmítek, čili myši k němu mají neomezený přístup a je tedy pravděpodobné, že myši infikované *C. muris* znečistily krmivo pro kachny svým trusem a kachny tento trus následně pozřely zároveň s krmivem.

Výsledky této práce ukázaly, že divoké kachny jsou velmi vnímavé k infekci *Cryptosporidium* avian genotype III o jehož biologii se toho příliš mnoho neví. Nález tohoto genotypu spolu s vysokou promořeností chovu dává velmi dobré vyhlídky pro budoucí práci zaměřenou právě na bližší poznání této kryptosporidie, což by mohlo vést k popisu nového druhu.

7. Závěry

- *Capillaria* spp. a *Eimeria* spp. jsou častými parazity bažantů
- U bažantích kuřat byla zjištěna vyšší prevalence kokcií rodu *Eimeria*
- Mikroskopickým vyšetřením byl prokázán výskyt *Cryptosporidium* spp. u 12 vzorků trusu kachen divokých
- Pomocí nested PCR byl prokázán výskyt specifické DNA kryptosporidií ve 14 vzorcích trusu kachen divokých
- Pomocí sekvenační analýzy byl detekován u 10 kachních vzorků *Cryptosporidium* avian genotype III a u 4 vzorků *Cryptosporidium* muris
- Výskyt *Cryptosporidium* avian genotype III nebyl doposud v České republice popsán
- O *Cryptosporidium* avian genotype III u divokých kachen je toto vůbec první zmínka o výskytu

8. Seznam literatury

- Abe, N., Makino, I., 2010.** Multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium* isolates from cockatiels, Jap. Parasitol. Res. 106, 1491-1497
- Anderson, R., C., 2000.** Nematode parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. 2. vyd. Wallingford: CABI, 650 p.
- Baker, D., G., 2007.** Flynn's Parasites of Laboratory animals. 2. vyd. USA: Blackwell Publishing, 813 p.
- Bejšovec, J., 1976.** Ecology of syngamosis in a large scale fading area. Anqew Parasitol. 17, 196-207
- Berrilli, F., D'alfonso, R., Giangaspero, A., Marangi, M., Brandonisio, O., Kaboré, Y., Glé, C., Cianfanelli, C., Lauro, R., Di Cave, D., 2012.** *Giardia duodenalis* genotypes and *Cryptosporidium* species in humus and domestic animals in Côte d'Ivoire: occurrence and evidence for environmental contamination. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 106, 191-195
- Current, W., L., Upton, S., J., Haynes, T., B., 1986.** The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. J. Protozool. 33, 289-296
- Draycott, R., A., Woodburn, M., I., Linq, D., E., Sage, R., B., 2006.** The effect of an indirect anthelmintic treatment on parasites and breeding sukses of free-living pheasants *Phasianus colchicus*. J. Helminthol. 80, 409-415
- Dubey, J., P., Speer, C., A., Fayer, R., 1990.** Cryptosporidiosis of Man and Animals. Florida: CRC Press, 199 p.
- Fayer, R. 2008.** The General Biology of *Cryptosporidium*. In: Fayer, R., Xiao, L., editors. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. 2nd edition. Boca Raton, FL: CRC Press. p. 1-42.
- Fisher, J., W., 1973.** Prevalence of coccidia in game-farm reared pheasant in Iowa. Drake university. 36 p.
- Forejtek, P., K. Chroust. 2010.** Parazitární onemocnění pernaté zvěře vyvolaná prvoky. Myslivost. č. 5, 64 p.
- Fuller, L., Griffeth, R., McDouqald, L., R., 2008.** Efficacy of lalaclocid against coccidiosis in chinese ring-necked pheasants. Avian Dis. 52, 632-634
- Gajadhar et al. 1986; Wobeser 1997; Ballweber 2001 in Ballweber, L., R., 2004.** Waterfowlparasites. Seminars in Avian and Exotic Pet Med. 13, 197-205

- Gassal, S., Schmäscke, R., 2006.** The helminth and coccidial fauna of pheasants (*Phasianus colchicus*) in view of the specific environmental conditions in pheasantries and in the wild. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 119, 295-302
- Gerhold, R., W., Williams, S., M., Fuller, A., L., McDougald, L., R., 2010.** An unusual case of coccidiosis in laboratory-reared pheasants resulting from a breach in biosecurity. Avian Dis. 54, 1112-1114
- Gibson, D., 2002 in Webster, L., M., I., Johnson, P., C., D., Adam, A., et al. 2007.** Macrogeographic population structure in a parasitic nematode with avian hosts. Vet. Parasitol. 144, 93-103
- Gicik, Y., Arslan, M., O., 2003.** The prevalence of helminths in the alimentary tract of geese (*Anser anser domesticus*) in Kars distrikt. Turkey. Vet. Res. Comm. 27, 391-395
- Gilbertson, D., E., Huggins, E., J., 1964.** Helminth infections in Pheasants from Brown County, South Dakota. J. Wildlife. 28, 543-546
- Glaberman, S., Sulaiman, I., M., Bern, C., Limor, J., Penq, M., M., Morgan, U., Gilman, R., Lal, A., A., Xiao, L., 2001.** A multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium meleagridis*. J. Eukaryot. Microbiol. 48, 19-22
- Goldová, M., Csizsmárová, G., Letková, V., 1998.** Course of the endogenous developmental phase of selected *Eimeria* species in pheasants. Vet. Parasitol. 77, 289-285
- Goldová, M., Paluš, V., Letková, V., Kočíšová, A., Čurlík, J., Mojžišová, J., 2006.** Parasitoses in Pheasants (*Phasianus colchicus*) in confined systems. Vet. Arch. 76, 83-89
- Goldová, M., Pistl, J., Letková, V., Csizsmárová, G., Revajová, V., Loószová, A., Levkut, M., 2000.** Cellular immunological responses of pheasant during endogenous development of *Eimeria colchici*. Parasitol. Intern. 49, 147-154
- Gomes, R., S., Huber, F., da Silva, S., do Bomfim, T., C., 2011.** *Cryptosporidium* spp. parasitize exotic birds that are commercialized in markets, commercial aviaries, and pet shops. Parasitol. Res. 110, 1363-1370
- Goodwin, M., A., 1989.** Cryptosporidiosis in birds – A review. Avian Pathol. 18, 365-384

- Hoque, M., A., Skerratt, L., F., Rahman, M., A., Alim, M., A., Grace, D., Gummow, B., Rabiul Alam Beq, A., B., Debnath, N., C., 2011.** Monitoring the health and production of household Jinding ducks on Hatia Island of Bangladesh. *Trop. Anim. Health Prod.* 43, 431-440
- Huber, F., da Silva, S., Bomfim, T., C., Teixeira, K., R., Bello, A., R., 2007.** Genotypic characterization and phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* sp. from domestic animal sin Brazil. *Vet. Parasitol.* 150, 65-74
- Chen, F., Huang, K., 2007.** Prevalence and phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* in pigs in eastern China. *Zoonoses Publ. Health* 54, 393-400
- Inoue, I., 1967.** *Eimeria saitamae* n. sp.: a new cause of coccidiosis in domestic ducks (*Anas platyrhyncha* var. domestica). *Jap. J. Vet. Scien.* 29, 209-215
- Jellison, K., L., Distel, D., L., Hemond, H., F., Schauer, D., B., 2004.** Phylogenetic analysis of the hypervariable region of the 18S rRNA gene of *Cryptosporidium* oocysts in feces of Canada geese (*Branta canadensis*): evidence for five novel genotypes. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 452-458
- Jiang, J., Alderisio, K., A., Singh, A., Xiao, L., 2005.** Development of procedures for direct extraction of *Cryptosporidium* DNA from water concentrates and for relief of PCR inhibitors. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 1135-1141
- Jurajda, V., 2001.** Kompendium chorob drůbeže a ptactva. Brno: Noviko, 236 s.
- Kavetska, K., M.,** Biological and ecological background of nematode fauna structure formation in the alimentary tracts of wild Anatinae ducks in north-western Poland. *Wiad. Parazytol.* 54, 43-45
- Karanis, P., Plutzer, J., Halim N., A., Igvori, K., Nagasawa, H., Ongerth, J., Liging, M., 2007.** Molecular characterization of *Cryptosporidium* from animal sources in Qinghai province of China. *Parasitol. Res.* 101, 1575-1580
- Kimura, M., 1980.** A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16, 111-120
- Konvičková, V., 2008.** Problematika syngamózy a kokcidióz u bažanta obecného (*Phasianus colchicus*) v Moravskoslezském kraji. Diplomová práce. Ústav zoologie, rybářství, hydrologie a včelařství (AF). 82 s.

- Kváč, M., Hanzlíková, D., Sak, B., Květoňová, D., 2009a.** Prevalence and age-related infection of *Cryptosporidium suis*, *C. muris* and *Cryptosporidium* pig genotype II in pigs on a farm complex in the Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 160, 319-322
- Kváč, M., Kestránová, M., Květoňová, D., Kotková, M., Ortega, Y., McEvoy, J., Sak, B., 2012.** *Cryptosporidium tyzzeri* and *Cryptosporidium muris* originated from wild West-European house mice (*Mus musculus domesticus*) and East-European house mice (*Mus musculus musculus*) are non-infectious for pigs. *Exp. Parasitol.* <http://dx.doi.org/10.1016/>
- Kuhn, R., C., Rock, Ch., M., Oshima, K., H., 2002** Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks along the Rio Grande River Valley in Southern New Mexico. *Appl. Environ Microbiol.* 68, 161-165
- Lamka, J., Svobodová, V., Slézková, J., 1997.** Anthelmintic efficacy of ivermectin against *Syngamus trachea* and *Capillaria* spp. in pheasant. *Vet. Med. (Praha).* 42, 157-160
- Lindsay, D., S., et Blagburn, B., L., 1990.** Cryptosporidiosis in birds p. 149-156 in *Cryptosporidiosis of man and animals.* CRC Press. Boca Raton,
- Lindsay, D., S., Upton, S., J., Owens, D., S., Morgan, U., M., Mead, J., R., Blagburn, B., L., 2000.** *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cattle, *Bos taurus*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 47, 91-95.
- Liou, C., T., 2001.** Immunization against coccidiosis in pheasants with low-dose live sporulated oocyst of *Eimeria colchici*. *Avian Pathol.* 30, 283-295
- McQuiston, T., E., 1987.** Efficacy of inophorous anticoccidial drugs against coccidia in farm-reared pheasants (*Phasianus colchicus*) from Illinois. *Avian Dis.* 31, 327-331
- Meireles, M., V., Soares, R., M., dos Santos, M., M., Gennari, S., M., 2006.** Biological studies and molecular characterization of a *Cryptosporidium* isolate from ostriches (*Struthio camelus*). *J. Parasitol.* 92, 623-626
- Miláček, P., Vítovec, J., 1985.** Differential staining of Cryptosporidia by aniline-carbol-methyl violet and tartrazine in smears from maces and scrapings of intestinal mucosa. *Folia Parasitol.* 32, 50

- Morgan, U., M., Monis, P., T., Xiao, L., Limor, J., Sulaiman, I., Raidal, S., O'Donoghue, P., Gasser, R., Murray, A., Fayer, R., Blagburn, B., L., Lal, A., A., Thompson, R., C., 2001.** Molecular and phylogenetic characterisation of *Cryptosporidium* from birds. *Int. J. Parasitol.* 31, 289-296
- Musaev, M., Gaibova, G., Ismailova, G., Alieva, F., Skenderova, N., 1998.** The Coccidia of the Gallinaceous Birds in Azerbaijan. *Tr. J. Vet. Anim. Scien.* 22, 409-414
- Nakamura, A., A., Simões, D., C., Antunes, R., G., Carvalho da Silva, D., Meireles, M., V., 2009.** Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from fial sample sof birds kept in captivity in Brazil. *Vet. Parasitol.* 166, 47-51
- Ng, J., Pavlásek, I., Ryan, U., 2006.** Identification of Novel *Cryptosporidium* Genotypes from Avian Hosts. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 7548-7553
- Norton, C., C., 1967.** *Eimeria duodenalis* sp. nov. from English covert pheasants (*Phasianus* sp.). *Parasitology* 57, 31-46
- Norton, C., C., Wise, D., R., 1981.** Anticoccidial drugs for preventive therapy in intensively reared pheasant. *Vet. Rec.* 109, 554-556
- O' Hara, S., P., Chen, Xian-Ming, 2011.** The cell biology of *Cryptosporidium* infection. *Mikrob. Infect.* 13, 721-730
- Okhuysen, P., C., Chappell, C., L., Crabb, J., H., Sterling, C., R., DuPont, H., L., 1999.** Virulence of free distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. *J. Infect. Dis.* 180, 1275-1281
- Patton, W., H., Schwartz, L., D., Babish, J., G., Lisk, D., J., 1984.** Use of amprolium for the kontrol of coccidiosis in pheasants. *Avian. Dis.* 28, 693-699
- Pavlásek, I. 1999.** Cryptosporidia: biology, diagnosis, host spectrum, specificity, and the environment. *Rem. Klin. Mikrobiol.* 3, 290-301
- Pavlásek, I., 1991.** Use of glycerine in oocyst detection of *Cryptosporidium parvum* and *C. baileyi* in the feces of mammals and birds. *Vet. Med. (Praha)* 36, 255-256
- Pavlásek, I., 2001.** Findings of cryptosporidia in the stomach of hens and of exotic and wild birds. *Veterinářství* 51, 103-108
- Pavlović, I., Dobrila, Jakić-Dimić, Kulišić, Z., Iulia, F., 2003.** Most frequent nematode parasite sof artificially raised pheasants (*Phasianus colchicus* L.) and measures for their control. *Acta Vet.* 53, 393-398
- Pellerdy, L., P., 1974.** Coccidia and coccidiosis. 2 Berlin: Parey Verlag, 959 p.

- Pinto, R., M., Tortelly, R., Menezes, R., C., Gomes, D., C., 2004.** Trichurid nematodes in ring-necked pheasants from backyard flaks of the state of Rio de Janeiro, Brazil: frequency and pathology. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 99, 721-726
- Plutzer, J., Karanis, P., 2009.** Genetic polymorphism in *Cryptosporidium* species: An update. Vet. Parasitol. 165, 187-199
- Qi, M., Wang, R., Ning, Ch., Li, X., Zhang, L., Jian, F., Sun, Y., Xiao, L., 2011.** *Cryptosporidium* spp. in pet birds: Genetic diversity and potential public health signifkance. Exp. Parasitol. 128, 336-340
- Reduker, D., W., Speer, C., A., Blixt, J., A., 1985.** Ultrastructure of *Cryptosporidium parvum* oocyst and excysting sporozoites as revealed by high resolution scanning elektron microscopy. J. Protozool. 32, 708-711
- Ryan, U., M., Xiao, L., Read, C., Sulaiman, I., M., Monis, P., Lal, A., A., Fayer, R., Pavlásek, I., 2003.** A redescription of *Cryptosporidium galli* Pavlasek, 1999 (Apicomplexa:Cryptosporidiidae) from birds. J. Parasitol. 89, 809-813
- Ryan, U., M., Monis, P., Enemark, H., L., Sulaiman, I., Samarasinghe, B., Read, C., Buddle, R., Robertson, I., Zhou, L., Thompson, R., C., Xiao, L., 2004.** *Cryptosporidium suis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in pigs (*Sus scrofa*). J. Parasitol. 90, 769-773
- Saitou, N., Nei, M., 1987.** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4, 406-425
- Squires, S., Fisher, M., Gladstone, O., Rogerson, S., Martin, P., Lester, H., Sygall, R., Underwood, N., 2012.** Comparative efficacy of flubendazole and a commercially available herbal wormer against natural infections of Ascaridia gally, *Heterakis gallinarum* and intestinal *Capillaria* spp. in chickens. Vet. Parasitol. 185, 352-354
- Scholtysseck, E., 1955.** *Eimeria anatis* n. sp., ein neues coccid aus der Stockente (*Anas platyrhynchos*). Arch. Protistenk. 100, 431-434
- Skrjabin, K., E., et al. 1957. in Anderson, R., C.** Nematode parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. 2. vyd. Wallingford: CABI, 2000. 650 p.
- Slavin, D., 1955.** *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). J. Comp. Pathol. 65, 262

- Sréter, T., Varga, I., 2000.** Cryptosporidiosis in birds – A review. *Vet. Parasitol.* 87, 261-279
- Šavlík, M., Polášková, P., Szotáková, B., Lamka, J., Skálová, L., 2005.** The effect of flubendazole and mebendazole on cytochromes P4501A in pheasant hepatocytes. *Res. Vet. Sci.* 79, 139-147
- Tampieri, M. P., Galuppi, R., Ruqna, G., 2005.** Survey on helminthofauna in pheasants from Eastern Europe. *Parasitologia.* 47, 241-245
- Taylor, M., A., Coop, R., L., Wall, R., L., 2007.** *Veterinary parasitology.* 3. edition. Blackwell Publishing Ltd. 874 p.
- Thienpout, D., Rochette, F., Vanparijs, O., 1986.** Diagnosing helminthiasis by coprological examination. 2. vyd. Beerse: Janssen Research foundation. 205 p.
- Tyzzar, E., E., 1907.** A sporozoon found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 5, 12-13
- Tyzzar, E., E., 1929.** Coccidiosis in gallinaceous bird. *Am. J. Hyg.* 10, 269-271
- Vanparijs, O., Hermans, L., Marsboom, R., 1990.** Anticoccidial efficacy of diclazuril in pheasant. *Vet. Rec.* 126, 332-333
- Villanúa, D., Acevedo, P., Höfle, U., Rodríques, O., Gortázar, C., 2006.** Changes in parasite transmission stage excretion after pheasant release. *J. Helminthol.* 80, 313-318
- Volf, P., Horák, P. et al., 2007.** *Paraziti a jejich biologie.* Praha: Nakladatelství Triton, 318 p.
- Walden, H., W., 1961.** Observations on renal coccidia in Swedish anseriform birds, with notes two new species, *Eimeria boschadis* and *Eimeria christianseni* (Sporozoa, Telosporidia). *Archiv. Zool.* 15, 97-104
- Wang, R., Jian, F., Sun, Y., Hu, Q., Zhu, J., Wang, F., Ning, C., Zhang, L., Xiao, L., 2010.** Large-scale survey of *Cryptosporidium* spp. in chickens and Pekin ducks (*Anas platyrhynchos*) in Henan, China: prevalence and molecular characterization. *Avian. Pathol.* 39, 447-451
- Watson, H., Lee, D., L., Hudson, P., J., 1987.** The effect of *Trichostrongylus tenuis* on the cecal mucosa of young, old and anthelmintic-treated wild red grouse, *Lagopus lagopus scoticus*. *Parasitology* 94, 405-411
- Williams, R., B., 1978.** Notes on some coccidia of peafowl, pheasants and chickens. *Vet. Parasitol.* 4, 193-197

- Wójcik, A., R., Wasielewski, L., Grygon-Franckiewicz, B., Zbikowska, E., 1999.** Economic losses in pheasant breeding evoked with endoparasites. *Wiad Parazytol.* 45, 363-368
- Wobeser, G., 1974.** Renal coccidiosis in mallard and pintal ducks. *J. Wild. Dis.* 10, 249-255
- Wobeser 1997; Farr 1965; Windingstad et al. 1980 in Ballweber, L., R., 2004.** Waterfowl parasites. *Seminars in Avian and Exotic Pet Med.* 13, 197-205
- Xiao, L., Escalante, L., Yang, C., Sulaiman, I., Escalante, A., A., Montali, R., J., Fayer, R., Lal, A., A., 1999.** Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites based on the small-subunit rRNA gene locus. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 1578-1583
- Xiao, L., Sulaiman, I., M., Ryan, U., M., Zhou, L., Atwill, E., R., Tischler, M., L., Zhang, X., Fayer, R., Lal, A., A. 2002.** Host adaptation and host-parasite co-evolution in *Cryptosporidium*: implications for taxonomy and public health. *Int. J. Parasitol.* 19, 1773-1785
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., Upton, S., J., 2004.** *Cryptosporidium* Taxonomy: *Rec. Adv. Imp. Pub. Health.* 17, 72-97
- Zhou, L., Kassa, H., Tischler, M., L., Xiao, L., 2004.** Host-adapted *Cryptosporidium* spp. in Canada geese (*Branta canadensis*). *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 4211-4215