



Zemědělská
fakulta
Faculty
of Agriculture

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra biologických disciplín

Bakalářská práce

Parazitární infekce želv rodu *Testudo*
se zaměřením na Apicomplexa

Autor práce: Jakub Žahourek
Vedoucí práce: doc. Mgr. Michal Berec, Ph.D.
Konzultant práce: MVDr. Kristýna Javorská

České Budějovice

2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracoval pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne

Podpis

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá spektrem a četností parazitárních infekcí želv rodu *Testudo* v chovech na území České republiky. V prvním díle teoretické části se zaměřuji na biologii, biogeografii, ekologii a morfologii, jejichž pochopení je pro chov těchto velmi specializovaných zvířat důležité. Dále zmiňuji konkrétní metodiku chovu spojenou s nároky želv na prostředí, výživu a behaviorální chování. Ve druhém díle teoretické části se zabývám parazity, kteří často infikují herbivorní plazy. V práci jsem se zaměřil na parazity spadající do kmene Apicomplexa, kterým je poslední dobou ve veterinární medicíně plazů věnována výrazně vyšší pozornost.

Bylo vyšetřeno 143 vzorků trusu nashromážděných během roku 2020 od dvanácti různých chovatelů. Vzorky byly vyšetřeny pomocí sedimentační a flotační metody, ke které byl použit Sheaterův cukerný roztok. Z celkového počtu bylo 92 % vzorků označeno jako pozitivní na vývojová stadia parazitických prvoků nebo helmintů. Ze získaných dat jsem sestavil spektrum parazitů celého rodu i jednotlivých druhů včetně četností a síly infekcí jednotlivých parazitů.

Klíčová slova: želva, ex-situ, parazitární infekce, Apicomplexa

Abstract

This bachelor thesis deals with the spectrum and frequency of parasitic infections in *Testudo* tortoises in breeding in the Czech Republic. In the first section of the theoretical part I focus on the biology, biogeography, ecology, and morphology, the understanding of which is important for breeding these very special animals. Further on, I mention the specific methodology of breeding linked to the demands of tortoises of their environment, nurture, and behavioural manners. In the second section of the theoretical part I focus on parasites that often infect herbivorous reptiles. In my thesis, I have focused on parasites within the Apicomplexa phylum that are currently being paid significantly closer attention in veterinary medicine.

143 samples of droppings gathered throughout 2020 by twelve different breeders have been examined. Samples were examined using sedimentation and flotation method together with which Sheater sugar solution was used. Out of a total of 92 % samples were marked as positive with developmental stages of parasitic elements also known as helminths. Out of the gathered data, I constructed a spectrum of parasites of the complete family and individual species including their frequency and strength of infection in individual parasites.

Key Words: tortoise, ex-situ, parasitic infection, Apicomplexa

Poděkování

Na prvním místě bych ráda poděkovala MVDr. Kristýně Javorské z Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně za uvedení do problematiky řešeného tématu, její ochotu, profesionální vedení, odborné rady a připomínky při zpracování této bakalářské práce. Poděkování bych také rád věnoval panu doc. Mgr. Michalu Bercovi, za podporu a umožnění zpracování tohoto tématu.

Obsah

Úvod.....	7
1 Biologie želv.....	8
1.1 Želvy (Testudines).....	8
1.1.1 Systematické zařazení a fylogeneze	8
1.1.2 Cryptodira (skrytohrdlí).....	8
1.1.3 Testudinidae (testudovití).....	9
1.1.4 Rod <i>Testudo</i>	9
1.2 Chov želv rodu <i>Testudo</i>	13
1.2.1 Specifika chovu exotických zvířat.....	13
1.2.2 Behaviorální život želv rodu <i>Testudo</i>	13
1.2.3 Podmínky chovu.....	14
2 Zdravotní problematika v chovech želv.....	18
2.1 Neinfekční onemocnění	18
2.2 Infekční onemocnění.....	18
2.2.1 Mnohobuněční endoparazité gastrointestinálního traktu želv rodu <i>Testudo</i> ..	20
2.2.2 Jednobuněční parazité gastrointestinálního traktu želv rodu <i>Testudo</i>	21
3 Materiál a metodika	25
3.1 Odběr a skladování vzorků.....	25
3.2 Sedimentační metoda.....	26
3.3 Flotační metoda	26
3.4 Diagnostika a kvantifikace nálezů.....	27
4 Výsledky	28
4.1 Nálezy parazitů u vyšetřovaných druhů želv	29
4.2 Infekce parazity z kmene Apicomplexa.....	32
4.2.1 Infekce kryptosporidii.....	33
4.2.2 Infekce kokcidiemi	33
5 Diskuse.....	34
6 Závěr	36
7 Zdroje.....	37
8 Seznam obrázků.....	41
9 Seznam tabulek.....	42
10 Seznam grafů.....	43

Úvod

Parazitární infekce jsou důležitým faktorem ovlivňujícím zdraví, vitalitu, a tedy i reprodukční schopnosti zvířat. Včasná a správná diagnostika může být zásadní pro snížení pravděpodobnosti vzniku onemocnění, rozšíření patogenu v populaci a udržení chovaných zvířat v dobré kondici. Parazitózy plazů, a tedy i želv, nejsou zcela prostudované a stále se objevují nové druhy parazitů infikující určité skupiny zájmově chovaných zvířat. V chovu běžných domácích zvířat patří preventivní parazitologické vyšetření a následná terapie mezi běžné praktiky. Parazitární infekce u plazů může být příčinou mnoha zdravotních komplikací od průjmů, nechutenství, apatie, výtoků z očí a nozder a v extrémních případech i perforace střeva. Přesto nepatří parazitologické vyšetření v chovech plazů mezi časté praktiky. Problematika parazitóz v zajetí chovaných plazů spočívá tedy v nedostatečné prevenci, jako je karanténa nových jedinců v chovu a jejich podrobení se koproskopickému vyšetření, ale také malému množství veterinárních lékařů zaměřených na tuto specifickou skupinu zvířat. S rostoucí oblibou teraristiky se zvyšují i počty želv chovaných v zajetí. Z velkých chovů může snadno dojít k rozšíření patogenu do populace.

Cílem bakalářské práce je zjistit zastoupení jednotlivých druhů parazitů celého rodu *Testudo* i jeho jednotlivých druhů včetně četností a intenzity infekcí. Poukazuje na množství fakultativně patogenních parazitů, kteří za běžných podmínek život želv nijak neovlivňují. Dále se zabývá četností parazitů kmene Apicomplexa, jejichž léčba není jednoduchá a kteří svým hostitelů často způsobují zdravotní komplikace. Zaměřuje se ale také na běžně parazitující helminty jako například roupy. Právě ti si zejména k herbivorním plazům vytvořili komenzální vztah, a i při silných infekcích způsobují zdravotní potíže jen výjimečně.

1 Biologie želv

1.1 Želvy (Testudines)

Želvy patří mezi starobylé skupiny plazů vyznačující se anapsidní lebkou s absencí Jacobsonova orgánu. Samci mají nepárový erektivní penis s otevřenou semennou rýhou a samice kladou vejce, jejichž skořápka je u suchozemských a některých vodních druhů silně kalcifikovaná. Mezi želvami nejsou žádné živorođe druhy a žádný druh želv se nestará o vylíhlá mláďata.

Želvy jsou zvířata s velkým počtem unikátních autapomorfíí. Jejich tělo je kryto krunýřem, jehož hřbetní část se nazývá karapax a břišní plastron. Hřbetní a hrudní krunýř jsou buď pevně spojeny kostním mostem (*Stygmocheilus paralis*), nebo volně spojeny pružnými vazy (*Malacochersus tornieri*). Krunýř je společným derivátem pokožky a škály. Kostěných štítků je kolem 60, rohovitých o něco méně; jednotlivé štítky mají vlastní označení a jejich poloha je důležitá při určování některých druhů želv (GAISLER & ZIMA, 2007).

1.1.1 Systematické zařazení a fylogeneze

Želvy jsou jednou z mála skupin recentních amnion, jejichž fosilní záznam začíná již v triasu (další jsou samci a krokodýli). Již na konci rané jury byly dobře diferencované dvě recentní skupiny želv; Pleurodira a Cryptodira. Želvy žijí v tropických až mírných oblastech celého světa. V současné době je rozlišováno kolem 300 druhů želv (GAISLER & ZIMA, 2007).

1.1.2 Cryptodira (skrytohrdlí)

Tyto želvy zatahují hlavu do krunýře pozpátku, krk se skládá svisle esovitě (ve vertikální rovině), druhotně může být hlava nezatažitelná. Na krčních obratlích mají malé rudimentální příčné výběžky. Žijí po celém světě kromě Austrálie (GAISLER & ZIMA, 2007).

1.1.3 Testudinidae (testudovití)

Jedná se o suchozemskou čeleď želv, které jsou aktivní většinou ve dne. Čeleď zahrnuje převážně býložravé druhy. Mají klenutý karapax široce srostlý s plastronem, přední nohy hrabavé a zadní kráčivé s drápy. Po zatažení hlavy uzavřou přední nohy zepředu kryté tlustými šupinami vstup do krunýře. Samci jsou poněkud menší než samice (výjimkou je *Geochelone nigra*) a mají více vyklenutý karapax, vklenutý plastron a delší ocas. Čeleď obsahuje více než 50 druhů žijících převážně v suchých oblastech (výjimku tvoří např. *Chelonoidis carbonaria*, která se vyskytuje v podrostu tropických lesů) na celém území obývanými želvami kromě Austrálie (GAISLER & ZIMA, 2007).

1.1.4 Rod *Testudo*

Tyto želvy obývají stepní a křovité oblasti. Dorůstají délky okolo 30 cm. Zástupci tohoto rodu jsou u nás často chováni, je však třeba, aby i v umělém prostředí měli možnost přezimovat (GAISLER & ZIMA, 2007).

Samice hrabou jamku, do které snáší 3 až 12 oválných vajec s křídově bílou skořápkou. Další snůška následuje za 20 dní od prvního kladení. Inkubace vajec trvá 60 až 90 dní. Mláďata také mohou přečkat zimu ve vajíčku a vylíhnout se až na jaře. Čerstvě vylíhnuté želvy jsou 30 až 40 mm velké a váží 6 až 8 g.

Hlavní složkou potravy těchto želv jsou byliny, květy, traviny a jiné rostliny. Mladí jedinci si občas obohatí jídelníček o bílkoviny v podobě drobných bezobratlých, jako jsou šneci, slimáci (zejména *T. horsfieldi*, *T. hermanni* a *T. graeca*) (FERRI, 2002).

***Testudo hermanni* (želva zelenavá)**

Areál rozšíření je nespojitý a často s řídkou populací. *T. hermanni* se vyskytuje v jižním Španělsku, na Baleárách, ve Francii, Korsice, střední a jižní Itálii, Sardinii, Sicílii, na pobřeží Dalmácie, na Balkáně, v Makedonii, Albánii a v Řecku. Balkánská populace je řazena do poddruhu *T. h. boettgeri*. Tento druh lze nalézt v suchých pobřežních a ostrovních oblastech, jako jsou písečné duny, křoviny, borovicové lesy, mediteránní dubové lesy (dub cesmínovitý a dub korkový), v živých plotech, v zemědělských oblastech a na loukách.

Prsní štítky jsou v porovnání se stehenními úzké. Samci pohlavně dospívají ve velikosti 12 cm. Černé pruhy na plastronu působí poněkud rozmazaně. Prsní a stehenní štítky jsou téměř stejné délky. Karapax je 12 až 20 cm dlouhý (u samic *T. h. boettgeri* až

23 cm). Poznávacím znakem tohoto druhu jsou rozdělené nadocasní štítky. Želvy se ukládají k hibernaci koncem října a probouzí se během května a června.

Vyznačují se nažloutlým zbarvením v přední části karapaxu a dvěma černými pruhy po celé délce těla pokračující i po celé délce plastronu. Kontrast barev a zřetelnost kresby je v různých populacích značně variabilní. U *T. h. hermanni* jsou prsní štítky v porovnání se stehenními úzké, zatímco u poddruhu *T. h. boettgeri* jsou prsní a stehenní štítky téměř stejně dlouhé (FERRI, 2002).



Obrázek 1-1 rozdělený supracaudální štítek *T. hermanni* (vlevo) a spojený supracaudální štítek *T. horsfieldi* (vpravo)

***Testudo horsfieldi* (želva stepní/ čtyřprstá)**

T. horsfieldi je jedním z druhů s největším areálem rozšíření. Vyskytuje se od Pákistánu přes Írán, Afghánistán a západní Čínu až ke Kaspickému moři. Nejčastěji bývá viděna v travnatých biotopech s dostatkem vody. Taktéž se vyskytuje na stepích, náhorních plošinách a v horách nepřevyšujících nadmořskou výšku 1600 m n. m.

Průměrná délka karapaxu tohoto druhu je 18 až 20 cm (max. 22 cm). Krunýř má kulovitý tvar s dorzálním zploštěním. U tohoto druhu dominuje uniformní žluté zbarvení s hnědou pigmentací, ale u některých poddruhů lze nalézt zelené podbarvení. Plastron je široký s černou kruhovou skvrnou na každém štítku. Supracaudální štítek je nedělený (FERRI, 2002).

***Testudo graeca* (želva řecká/ žlutohnědá)**

Želva žlutohnědá se vyskytuje od jižního Španělska až po severní Afriku (Maroko, Alžírsko, Tunisko, Libye a Egypt), v Albánii, Alžírsku, Turecku, na Sardinii a v části Bulharska a Rumunska. Také ji lze nalézt v jihozápadní Asii (Írán, Irák a ruská část

Kavkazu). Vzhledem k velkému areálu rozšíření lze tuto želvu nalézt v širokém spektru habitatů a klimatických zón od přímořských oblastí, vádí a oáz v jižní Africe až do oblasti Turecka a Íránu, kde se mohou vyskytovat do nadmořské výšky 2000 m n. m.

Délka karapaxu je 15 až 20 cm. Samice zpravidla dorůstají větších rozměrů než samci. Hlavním poznávacím znakem od *T.hermannii*, se kterými sdílí část areálu výskytu, je individuálně tvarovaný a nedělený suprakaudální štítek. Nejaktivnější jsou v květnu a v červnu. Pro tento druh je typická estivace během horkých měsíců a zimní spánek, k němuž se želvy uchylují koncem října (FERRI, 2002).

***Testudo kleinmanni* (želva kleinmannova/ egyptská)**

Populace *T. kleinmanni* je rovnoměrně rozprostřena po pobřeží severní Afriky. Vyskytuje se od Libye po Izrael, kde obývá především západní část Negevské pouště. V Egyptě reprezentuje živočicha, který žije v písčných zónách v okolí delty Nilu, Suezského průplavu a mediteránních okrajích Sinajské pouště. Žije především v pouštích a polopouštích s řídkou a křovinatou vegetací. Často ji lze nalézt v opuštěných hlodavčích norách, kde se skrývá před teplotními extrémy.

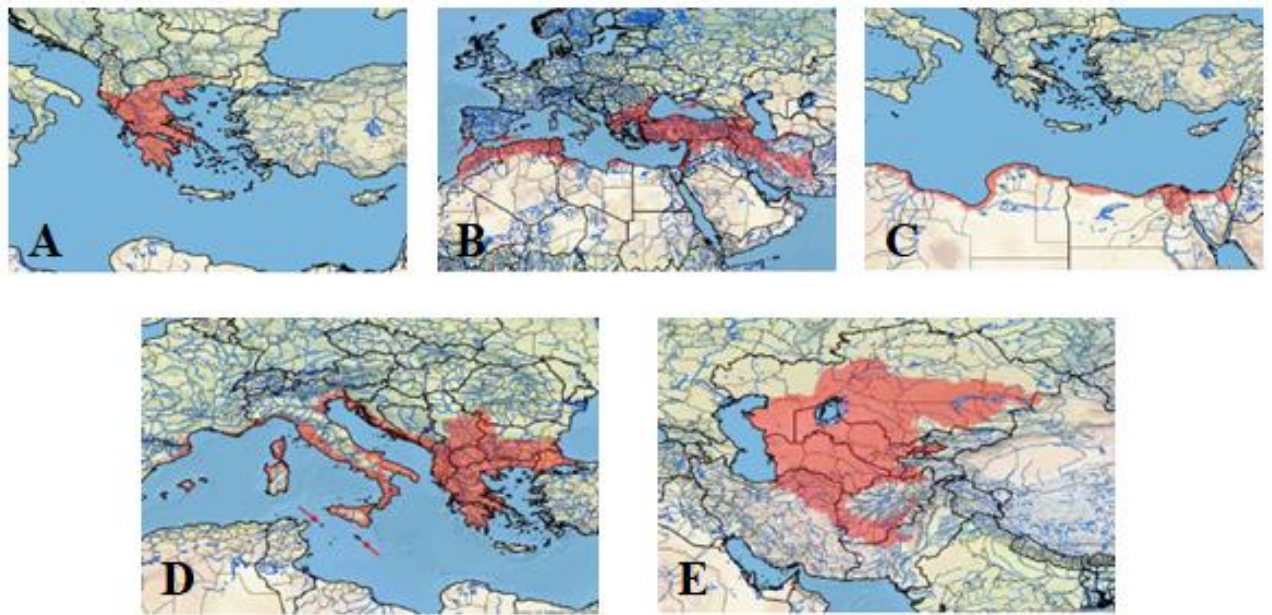
Jedná se o malý druh dosahující průměrné velikosti 10 až 15 cm. Samice bývají větší než samci. Karapax je velmi kontrastně zbarvený. Štítky jsou písčně žluté s černým lemem. Na abdominálních štítcích mléčně zbarveného plastronu mohou být dvě typické trojúhelníkovité skvrny. Tento druh je nejaktivnější v dubnu a v září a nejteplejší měsíce tráví ve svém úkrytu. *T. kleinmanni* se páří v dubnu. Koncem května jsou samice připraveny ke kladení vajec (FERRI, 2002).

***Testudo marginata* (želva vroubená)**

Tato želva obývá střední a jižní Řecko. Také ji lze nalézt na Sardinii, kam byla pravděpodobně v průběhu historie introdukována. Typický habitat toho druhu jsou stále zelené křoviny v hornatých a kamenitých oblastech, často v blízkosti zemědělsky využívané půdy. Na Sardinii lze největší denzitu želv nalézt v mediteránních křovinách na východním pobřeží.

Jedná se o největší druh rodu *Testudo* s maximální velikostí karapaxu 35 cm (průměrná velikost je však pouze 23 cm u samců a 21 cm u samic). V Řecku byla objevena trpasličí populace měřící stěží 15 cm. Suprakaudální štítek je nedělený, karapax je protáhlý a pevný. Na černě zbarveném karapaxu jsou žluté nebo oranžové areoly, které s přibývajícím věkem zvířete tmavnou. Plastron je olivově žlutý s černou skvrnou na

každém širším štítku. Jelikož se *T. marginata* vyskytuje v téměř neproniknutelném prostředí, je zdánlivá denzita populace velmi nízká. K páření dochází na jaře. Předchází mu útočné až agresivní chování, kdy samec naráží do samice krunýřem a kouše ji do nohou. Od května do června samice kladou 3 až 12 vajec do malé předem připravené dutiny. Prodleva mezi kladením vajec jsou 3 týdny. Inkubace trvá cca 3 měsíce a mláďata mají cca 40 mm (FERRI, 2002).



Obrázek 1-2: mapy znázorňující areály výskytu želv rodu *Testudo*; A- *T.marginata*; B-*T.graeca*; C- *T.kleimanni*; D- *T.hermannii*; E- *T.horsfieldi* (RHODIN, ANDERS GJ, et al. "Turtles of the World." Annotated checklist and atlas of taxonomy, synonymy, Distribution

1.2 Chov želv rodu *Testudo*

1.2.1 Specifika chovu exotických zvířat

Exotermickým zvířatům musí chovatel přizpůsobit prostředí, v němž jsou chována. Je třeba vycházet z přirozeného prostředí zvířat a pokusit se co nejlépe napodobit klima jejich domoviny. V úvahu je třeba vzít i specifické potravní nároky a následně zvolit vhodné krmivo a krmnou dávku. Dieta je důležitým faktorem ovlivňujícím kondici a zdravotní stav zvířat. Hraje hlavní roli v celkovém metabolismu, a tím ovlivňuje i optimální vývoj zvířat (WALLACH, 1979; ROBINSON et al., 2015).

1.2.2 Behaviorální život želv rodu *Testudo*

Společenské chování

Studie o chování mladých želv dosud neexistují. Nelze však vyloučit, že chování rodu *Testudo* je podobné. Kvůli agresivnímu chování dospělých želv by měly být chovány jednotlivě nebo ve skupinách s jedním samcem a alespoň třemi samicemi (KÖLLE, 2009). Na přirozeném stanovišti v Řecku existuje významná negativní korelace mezi dlouhověkostí dospělých samic a denzitou populace samců (HAILEY, 2000).

Sexuální chování

Specifické sexuální chování celé čeledi Testudinidae se projevuje agresivitou samců, kteří se narážením a kousáním do nohou a ocasu snaží přimět samici, aby se přestala pohybovat a umožnila samci se s ní spářit. Proto je není možné chovat v párech. Páření začíná bezprostředně po skončení hibernace. Mezi druhy rodu *Testudo* zpravidla neexistují žádné sexuální interakce (IVANCHEV, 2007).

Teritoriální chování

Zatímco samice želv stejného druhu žijí pospolu mírumilovně, samci se při náhodném setkání mohou chovat velmi teritoriálně. Narážejí do sebe a někdy může dojít i ke krvavým kousancům. Poražený samec se po boji obvykle snaží uprchnout. Společný chov více samců je proto možný jen zřídka (IVANCHEV, 2007).

1.2.3 Podmínky chovu

Ubikace

S ohledem na ektotermní povahu plazů musí klima ubikace odpovídat přírodním podmínkám; jde o teplotu, vlhkost vzduchu a substrátu a vybavení terárií nebo venkovního výběhu vhodného pro úspěšnou péči a chov želv. Rozsah minimálních a maximálních hodnot se liší podle různých zemí původu zvířat.

Také je důležité brát ohled na specifitu jednotlivých druhů. Želvy se spoléhají na zdroj tepla spojený se světlem shora. Kvůli možnému riziku popálení by měla být vždy věnována pozornost výběru správného zdroje světla a tepla a jeho správné instalaci. Celkově by cílem chovatele plazů mělo být do značné míry napodobení přírodních podmínek původních biotopů v teráriu nebo venkovním výběhu, přičemž zařízení umělého stanoviště je založeno na individuálních požadavcích zvířat (pohyb, hrabání, koupání). Odpovídající hodnoty klimatu by také měly být pravidelně sledovány pomocí vhodných měřicích zařízení. Následující minimální vybavení pro terárium nebo venkovní výběh by mělo mít: vhodný půdní substrát v dostatečné výšce, úkryt, vodní nádrž, koupaliště, případně vhodné možnosti lezení (skály, větve, větvičky) s rostlinami k vytvoření vhodného mikroklimatu. Jako úkryt a při chovu pohlavně dospělých samic snášejících vajíčka by rovněž mělo mít speciální místo ke kladení vajíček. V případě agresivního chování nebo stresujícího chování mezi zvířaty by měla být nainstalována ochranná clona mezi různými skupinami nebo optická clona uvnitř výběhu, či zvířata rozdělit (GILTNER, 2012).

Dále by zvířata měla být chována ve skupině s přirozenou sociální strukturou, aby jednotlivci ve skupině želv byli minimálně stresováni a eliminovala se u nich agresivita. Ačkoli různé druhy zvířat se stejnými požadavky na biotop lze socializovat v teráriu nebo ve volném výběhu, je třeba dbát na to, aby nedocházelo ke vzájemnému negativnímu vlivu na aktivitu, fyziologii, reprodukci nebo sociální chování. Doporučuje se proto chovat v teráriu nebo venkovním výběhu pouze jeden druh. Vždy musí být zajištěna adekvátní zdravotní péče o zvířata včetně vhodných hygienických opatření, jakož jsou i kontroly a nezbytná veterinární ošetření. Mnoho želv je prodáváno v nízkém věku a při dobré péči rychle rostou a mohutní, což musí před nákupem těchto zvířat zodpovědní majitelé vzít v úvahu. Většinu druhů mediteránních želv je vhodné chovat převážně ve volném venkovním výběhu (chovat je v domácnosti se doporučuje pouze při zimování nebo při nepříznivém počasí). Venkovní výběh pro evropské želvy musí být slunečný se stinnými

místy pro přečkání nejteplejších částí dne. Dále musí být vybaven úkryty, oblastí pro kladení vajec a skleníkem. U severoafrických druhů jako *Testudo graeca graeca* nebo *T. klainmanni*, které jsou méně odolné vůči chladu, by měl být k dispozici také vyhřívaný domek nebo skleník (STUBBS & kol., 1985).

UV záření

Jako téměř všichni denní plazi jsou i želvy závislé na dostatečném UVB záření pro syntézu vitamínu D (BAUER, 2018). Nejúčinnější syntéza vitamínu D3 probíhá ve vlnovém rozsahu 290 až 300 nanometrů. Pro adekvátní syntézu vitamínu D3 v kůži plazů je proto vhodné osvětlení UVB lampami, které imitují světlo v tomto vlnovém rozsahu a zároveň často vyzařují i UVA záření. UVA záření podporuje aktivitu, chuť k jídlu a reprodukční činnost a také má zásadní vliv na zrak plazů. K absorpci UV záření dochází pouze kůží, jelikož je většina těla želv kryta krunýřem, je schopnost vstřebávat UV záření výrazně omezena a musí se oproti jiným skupinám plazů slunit výrazně déle (BAINES et al., 2016). Syntéza vitamínu D3 Ergokalciferol se enzymatickými procesy v kůži převádí na cholekalciferol. Ten se poté v játrech a ledvinách dvojnásobně hydroxyluje, čímž se aktivuje. Tato aktivní forma vitamínu D3 (1,25-dihydroxycholecalciferol) je nezbytná pro většinu plazů pro absorpci vápníku ze střev, a tím pro osifikaci kostry těla. Protože u želv to zahrnuje nejen páteř a končetiny, ale i celou kostní schránku, lze u chovaných zvířat často identifikovat patologické procesy související s nedostatečným množstvím UV světla a výslednými chorobami skeletu (metabolické onemocnění kostí, MBD). Metabolic Bone Disease (MBD) vede k demineralizaci kostí v důsledku nedostatečného poměru vápníku a fosforu (mimo jiné kvůli výše zmíněnému nedostatku vitamínu D3). U mladých želv je negativně ovlivněn vývoj celého těla, což může mít za následek deformaci krunýře, lebky a končetin (MADER, 2006).

Zimování v zajetí

Evropští zástupci rodu *Testudo* prochází během chladných období rigidním stavem (hibernací) nezbytným pro obnovu buněk imunitního systému, pro úspěšný odchov a udržení zvířat v dobré kondici. Želvy rodu *Testudo* hibernují při teplotách 4 až 8 °C. Želvy chované v zajetí se zimují ve vhodných suterénních místnostech. Želvy je také možné zimovat v chladničce při konstantní teplotě 6 °C. Vzhledem k tomu, že při nízkých teplotách jsou všechny životní funkce a imunitní obrana želv sníženy, jsou během této doby obzvláště citlivé na infekční nebo parazitární onemocnění. Proto je nezbytné před

zimou zkontrolovat jejich zdravotní stav. Po dobu hlubokého zimního spánku je třeba vzít v úvahu specifika jednotlivých druhů. Hibernace pod 10 °C není vhodná pro *Testudo graeca graeca* ze severní Afriky. Pro *Testudo hermanni boettgeri* většina autorů doporučuje období klidu dlouhé 2,5 až 3,5 měsíce (někdy až 5 měsíců) za nízkých teplot (KÖLLE, 2009).

Potrava

Četné studie ukazují, že výživa ovlivňuje metabolismus, zdraví orgánů, aktivitu a sociální chování zvířat prostřednictvím různých faktorů (BAUER, 2018). Rozhodujícími faktory jsou nejen složení krmiva s ohledem na jeho druh, ale i vitaminy, minerály, stopové prvky, obsah vlákniny a vody, dále také přijatelnost krmiva, stravitelnost, množství krmiva a četnost krmení. Doba, kterou zvíře potřebuje k úplnému průchodu potravy střevem závisí na frekvenci krmení, obsahu hrubé vlákniny a vody v krmné dávce a okolní teplotě (BAUER, 2018). Krmivo používané pro želvy chované v zajetí často prochází gastrointestinálním traktem mnohem rychleji než krmivo nalezené v původním prostředí u divokých zvířat. Průměrná doba průchodu při konstantní okolní teplotě 28 °C (*Testudo graeca*) *ad libitum* krmena listovým salátem byl mezi 3 a 8 dny, u bodláků a trav však mezi 16 a 28 dny (LAWRENCE & JACKSON, 1982).

Krmení mediteránních želv

Sezónní výkyvy teploty, srážky a dostupnost krmných rostlin ovlivňují aktivity a intenzitu krmení želv. Želvy jsou aktivnější v období dešťů a na jaře než v období sucha a v zimě. Strava se liší jak mezi různými lokalitami, tak během ročních období. Pokud mohou, žijí se želvy rozmanitou stravou z keřů, trav, sukulentů a bylin (v našich podmínkách listy smetánky lékařské, listy jitrocele nebo se živí různými travinami, listovou čekankou nebo čínským zelím). Během suchých period jsou schopny se krmit pouze suchou stravou (u *Chersina anguata*). Během období sucha tvoří až 27 % přijaté potravy králičí výkaly a není vyloučeno, že se podobné chování objevuje i u želv rodu *Testudo*. Toto oportunistické stravování jim umožnilo osídlit širokou škálu stanovišť. Želvy jsou nejaktivnější během jara. Tato vysoká aktivita je pravděpodobně stimulována množstvím snadno dostupné a stravitelné potravy (JOSHUA et al., 2010).

Vitaminy a minerály

Pro všechny druhy zvířat, jsou vyvážené krmné dávky nezbytné a měly by obsahovat vitaminy a stopové prvky rozpustné v tucích a ve vodě. které jsou nezbytné pro všechny

druhy zvířat. U všech želv, které nemají dostatečný přístup k přímému slunečnímu světlu, a proto jsou závislé na umělých UV lampách, by měl být vitamin D3 doplňován ve stravě formou minerálně vitaminových doplňků (DONOGHUE, 1999). Jelikož želvy potřebují 1 až 2 % vápníku v krmné dávce (vztaženo na sušinu), vápník by měl být pravidelně přidáván do krmné dávky např. ve formě sépiových kostí nebo vařených vaječných skořápek přidanych do krmiva (BAUER, 2018).

Zdroj vody

Stálý přístup k čisté vodě je jedním ze základních pilířů welfare. Frekvence a množství příjmu vody u želv závisí na různých jednotlivých faktorech, jako je roční období nebo obsah vody v krmné dávce (DONOGHUE, 1999). Mnoho želv přijímá vodu při koupeli, pro kterou jsou vhodné velké mělké misky. Koupel zároveň stimuluje defekaci. Želvy používají močový měchýř k eliminaci iontů dusíku a draslíku během období sucha (JØRGENSEN, 1998). Koupání lze provádět na základě dobrovolné vůle pomocí misek umístěných v chovném zařízení. Při koupání želvy přijímají vodu do kloaky, které je také známá jako „kloakální pití“. To by však nemělo nahradit možnost orálního příjmu tekutin, ale spíše ji doplňovat, protože studie ukázaly, že obě cesty jsou pro želvy zásadní (PETERSON & GREENSHIELDS, 2001). Je také třeba dbát na to, aby pitná voda byla čistá bez kontaminace bakteriemi nebo jinými patogeny (DONOGHUE, 1999).

2 Zdravotní problematika v chovech želv

U zvířat chovaných v zajetí existuje velké množství faktorů, které mohou mít za následek zvýšení tlaku různých infekčních onemocnění. Mezi tyto faktory patří např. omezený životní prostor a více jedinců na tomto prostoru, s čímž souvisí náročnost udržení odpovídající zoohygieny chovatelem. Zvířata chovaná v zajetí se mohou častěji setkávat se zbytky někdy i tlející potraviny, zvýšenou koncentrací výkalů a znečištěnou vodou. Jakékoli odchylky od správné chovatelské praxe mohou sloužit jako stresory, které jsou u chovaných zvířat živnou půdou pro výskyt a množení agens, které způsobují infekční onemocnění. Předpokládá se, že výskyt infekčních onemocnění je v chovech želv vyšší než ve volné přírodě právě z výše popsaných důvodů. Mezi původce infekčních onemocnění u suchozemských želv řadíme zejména viry, bakterie, plísňe a parazity. Dále je možno setkat se se zdravotními poruchami neinfekčního původu, kam patří zejména metabolická onemocnění a traumata (JACOBSON, 1994).

2.1 Neinfekční onemocnění

U velkého množství chovaných plazů, tedy i u želv, nejsou dodržovány základní požadavky na výživu a podmínky chovu, což je příčinou náchylnosti k metabolickým chorobám. Mezi nejběžnější patří **tzv. MBD** (metabolic bone disease) projevující se deformacemi a měknutím krunýře, čelistí a dalších kostí. MBD je následkem dlouhodobého nedostatku vápníku, fosforu nebo jejich špatného poměru. Může být také způsobena nedostatkem vitamínu D. Mezi další časté zdravotní komplikace patří přerůstání zobáku a posthibernační anorexie. Oslabení imunity a metabolické poruchy zvyšují náchylnost k infekčním a podmíněně patogenním onemocněním (JACOBSON, 1994).

2.2 Infekční onemocnění

Původci **virových** onemocnění u suchozemských želv jsou především Herpesvirus, Iridovirus, Ranavirus a Picornavirus, ale také Adenovirus a Papilomavirus (GIBBINS & kol., 2013). Viry čeledí Poxviridae a Herpesviridae byly příčinou úhynu až poloviny importovaných jedinců *Chelonoidis chilensis* a *Chelonoidis carbonaria*, kteří hynuli bez zjevných klinických příznaků (JACOBSON, 1994). Viry nejčastěji infikují horní cesty dýchací. Infekce se projevuje dýchacími problémy a nosními a orálními výtoky. Infekce zejména Iridoviry se podílí na vzniku **tzv. URTD** (uper respiratory tract disease) (GIBBINS et al., 2013).

Bakterie *Pasteurella testudinis* a *Mycoplasma testudinis* jsou častými původci URTD a způsobují infekce respiračního aparátu u suchozemských želv v chovech i v přírodě. Klinické příznaky tohoto onemocnění zahrnují otoky očních víček a výtok z nozder a očí. Infekce tímto onemocněním je velmi často smrtelná (JACOBSON, 2014; GIBBINS et al., 2013). Bakterie rodu *Salmonella* se častěji vyskytují u divokých želv než u želv chovaných v zajetí. Ačkoliv salmonela není u želv běžným původcem zdravotních komplikací, jedná se o potenciální zoonózo. Bakterie rodu *Streptococcus* a *Dermatophilus* jsou původci zánětu středního ucha želv a mohou způsobit kožní léze. Jejich patogenita je často projevem nevhodných zoohygienických podmínek (LECIS, 2011).

Mykotické infekce suchozemských želv jsou často spojeny s predisponujícími faktory, jako je vysoká vlhkost, nevhodná strava, nedostatek prostoru a velké množství jedinců ve výběhu, nízká teplota prostředí nebo kombinace těchto vlivů. Na vznik plísňového onemocnění u suchozemských želv má velký vliv imunosuprese (JACOBSON, 1994).

Vnitřní a vnější **parazit** se běžně vyskytují u plazů chovaných v zajetí i žijících ve volné přírodě. Oproti infestacím u divokých zvířat je spektrum parazitů zvířat chovaných v zajetí výrazně lépe prozkoumáno. Parazitární infekce jsou podle jejich lokalizace spojeny s nejrůznějšími klinickými příznaky včetně anorexie, prolapsu střeva, ztráty váhy a mohou končit i úhynem zvířete. Důkladné parazitologické vyšetření je zásadní pro správnou diagnostiku parazitárního onemocnění a následnou léčbu (DONELEY, 2018).

Ektoparazit jsou v chovech suchozemských želv méně významnou skupinou. Jedná se o různé druhy krevsajících klíšťat a dalších roztočů. Lze se také setkat s dvoukřídlým hmyzem. Larvy much mohou osidlovat poraněnou kůži nebo krunýř želv a způsobit tak onemocnění zvané myiáza (např. larvy mouchy *Cistudinomyia cistudinis* u želv *Terrapene carolina*) (JACOBSON, 1994; JACOBSON, 2007).

Želvy rodu *Testudo* mohou být hostiteli značného množství **endoparazitů**. Mezi časté jednobuněčné parazity se řadí bičíkovci z různých rodů a nálevníci rodů *Nyctotherus* a *Balantidium*. Méně častí, ale ne vzácní, jsou také prvoci z kmene Apicomplexa jako např. *Eimeria* spp., *Isospora* spp. původce onemocnění TINC (intranukleární kokcidióza želv) a *Cryptosporidium* spp., a améby rodu *Entamoeba*. Za vzácné jsou považovány infekce tasemnicemi nebo jinými parazitickými červy s výjimkou škrkavek a roupů, kteří jsou naopak velmi častí a s želvami vytvořili komenzální vztah. Jedinec může být zároveň osídlen několika druhy bez zjevného patogenního vlivu (JACOBSON, 2007; GIBBINS & kol., 2013).

Plazi chovaní v zajetí jsou častěji parazitováni monoxenními parazity z důvodu absence vhodných mezihostitelů. Střevní parazité, kterými se práce zabývá, patří mezi nejčastější původce infekčních onemocnění želv rodu *Testudo* chovaných v zajetí (JACOBSON, 2007).

2.2.1 Mnohobuněční endoparazité gastrointestinálního traktu želv rodu *Testudo*

Oxyurida (roupi)

(Nematoda; Oxyurida; Oxyuroidea)

Roupi několika rodů jsou běžní obyvatelé střeva želv a ještěřů (GREINER & MADER, 2006). Roupi obývají kaudální část střeva, zejména pak tlusté střevo. V případě plazů se předpokládá, že roupi navazují s hostitelem komenzální vztah, označení „parazit“ je tedy v tomto případě diskutabilní. Mají vysokou hostitelskou specifitu, což je užitečné při určování, zda roupi pocházejí z vyšetřovaného zvířete, nebo zda šlo o parazity požitě s potravou (tzv. pasáž), kteří trávicím traktem pouze procházejí (MADER, 2006; JACOBSON, 2007). Tyto hlístice mají přímý vývojový cyklus, proto je snadné dosáhnout poměrně silné infestace a zejména u býložravých plazů chovaných v zajetí (leguáni a suchozemské želvy) mohou při přemnožení způsobit zdravotní problémy (MADER, 2006). Lze nalézt zprávy o silné infestaci roupy, která vedla k obstrukci střeva u leguánů a želv a k prolapsu kloaky u ještěřů (KLINGENBERG, 2004; JACOBSON, 2007).

Ascaridida (škrkavky)

(Nematoda; Ascaridoidea)

Škrkavky z čeledi Ascarididae (řád Askarioidea) jsou běžnými parazity plazů. Želvy často infikují škrkavky *Angusticaecum spp.* (zejména druh *A. holopterum*). Mnoho druhů škrkavek potřebuje k dokončení svého vývoje mezihostitele, mají tedy nepřímý vývojový cyklus, ale existují i druhy, které jsou řazeny mezi geohelminy. Želvy infikují zejména monoxenní škrkavky čeledi Ascaridae, u nichž vývoj probíhá ve volném prostředí a k infekci dochází pozřením vajíček (GREINER & MADER, 2006). Dospělé parazity lze nalézt hluboko ve střevní submukóze, což má za příčinu masivní zánětlivé reakce nebo neprůchodnost lumen a zamezení vývodu žluči a pankreatických šťáv vedoucích až k obstrukci, nebo perforaci (GREINER & MADER, 2006; JACOBSON, 2007). Častá je sekundární infekce oportunními gramnegativními bakteriemi (JACOBSON, 2007). Adultní škrkavky se mohou někdy vyskytnout v trusu nebo bývají objeveny v rámci postmortálního vyšetření gastrointestinálního traktu. Měří od několika milimetrů až po 20 centimetrů.

Migrující larvy lze identifikovat pouze histologickým vyšetřením tkání. Vajíčka škrkavek lze snadno rozpoznat flotačním vyšetřením trusu: vajíčka jsou snadno rozpoznatelná díky silné ornamentované stěně a jsou velká 60 až 80 x 80 až 100 µm (JACOBSON, 2007; KLINGERBERG, 2004).

Strongylida (měchovci)

(Nematoda; Secernentea)

Strongylidní hlístice, známé česky jako měchovci, jsou velká skupina parazitických nematod invadující střeva, dolní a horní dýchací cesty, lymfatický a krevní systém a další tkáně v organismu. Samci jsou specifictí dobře vyvinutou kopulační burzou (WOLF a HORÁK, 2007). Životní cyklus těchto hlístic může být přímý, nebo nepřímý a vajíčka vycházejí z hostitele společně s trusem. Vajíčka jsou velká 70 až 100 µm na 40 až 50 µm. Infekční larvy se vyvíjí v půdě a následně larvy vstupují do kůže nového hostitele pomocí histilitických enzymů, nebo infekce probíhá perorálně. Prostřednictvím krevního oběhu se dostanou do plic nebo střev, kde dospějí. Strongylidní hlístice, které mají nepřímý cyklus, využívají mezihostitele obvykle slimáka nebo hlemýždě, který pozře larvy vyloučené definitivním hostitelem. Definitivní hostitel se poté nakazí pozřením infikovaného mezihostitele (DURETTE-DESSET et al., 1994; JACOBSON, 2007).

V závislosti na druhu se může prepatentní období (časový interval od počátku parazitární infekce do počátku vylučování prvních klinicky zjistitelných stadií) pohybovat od dvou do čtyř měsíců. Většina infekcí se jeví jako subklinická. V chovech želv jde o méně časté parazity, jsou však považováni za patogenní (JACOBSON, 2007).

2.2.2 Jednobuněční parazité gastrointestinálního traktu želv rodu *Testudo*

Ciliatophora (nálevníci)

(Alveolata)

S rody nálevníků *Nyctotherus* a *Balantidium* se lze často setkat u herbivorních plazů zvláště pak u želv. Jsou považováni za nepatogenní nebo fakultativně patogenní organismy, ačkoliv je známo, že sekundárně mohou působit vážná onemocnění. Jejich vývojový cyklus je přímý a přenos je zprostředkován infekčními cystami v trusu infikovaných zvířat (MACHIN, 2015).

Cysty nálevníků lze snadno rozpoznat zejména díky jejich typickému tvaru a velikosti. Pohybliví trofozoiti jsou pokryti řasinkami. *Balantidium* dosahuje velikosti 60 x 45 µm, nálevníci z rodu *Nyctotherus* dosahují délky až 200 µm (BARNARD & UPTON, 1994).

Flagellata (bičíkovci)

(Mastigophora; *Trichomonas*, *Giardia* a *Hexamita*)

Jedná se o malé motilní prvky, kteří se běžně vyskytují v gastrointestinálním traktu (GIT). Klinické příznaky onemocnění spojeného s přemnožením bičíkovců jsou nespecifické a zahrnují především ztrátu hmotnosti a apatii. U plazů chovaných v zajetí lze bičíkovce dokonce považovat za komenzály, ačkoliv mohou být příčinou anorexie, průjmů a polydipsie (BONE, 1992; JACOBSON, 2007).

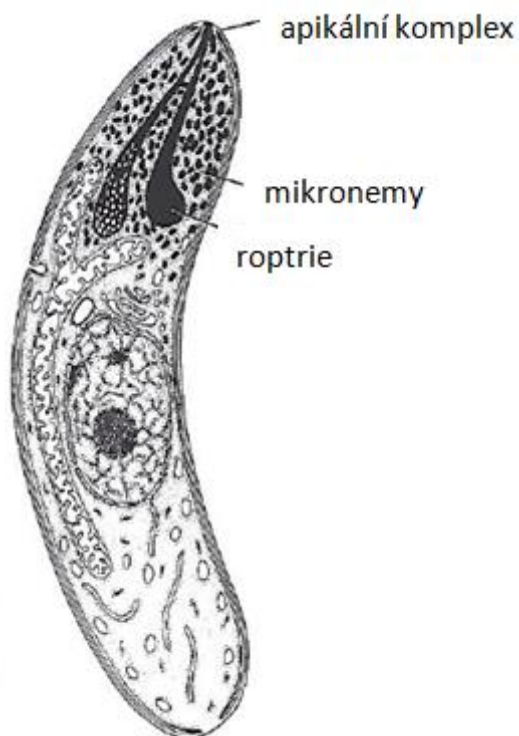
Zástupci rodu *Hexamita* jsou velcí přibližně 8 μm . Mají šest bičíků, z nichž dva jsou kaudální. Mohou infikovat i jiné orgány než GIT například ledviny želv. Bičíkovci rodu *Hexamita* byli nalezeni v rozšířených renálních tubulech a ve sběrných kanálcích. V některých případech došlo k infekci systému žlučových doprovozené nekrózou a proliferativními změnami (JACOBSON, 2007).

Střevní Apicomlexa

Všichni výtrusovci (Apicomplexa) jsou adaptováni na život uvnitř, nebo na povrchu buněk hostitele. Pro tento monofyletický kmen je charakteristická stavba buňky a životní cykly se třemi rozmnožovacími fázemi (VOLF & HORÁK, 2007).

Typické je pro ně dvou či třífázové střídání generací; vždy jsou při tom vyvinuta infekční, růstová, rozmnožovací a sexuální stadia. Tento komplikovaný systém umožňuje průnik a invazi do hostitelské buňky a podílí se na výstavbě parazitoforní vakuoly, v níž je prvek v hostitelské buňce lokalizován (HAUSMANN & HÜLSMANN, 2003).

Kmen zahrnuje vesměs parazitické prvky, u nichž byly elektronovým mikroskopem objeveny charakteristické organely apikálního komplexu (polární kruh, mikronem, roptrie, subpelikulární fibrily, konoid) (HAUSMANN & HÜLSMANN, 2003).



Obrázek 2-1: Apicomplexa: sporozoit (HAUSMANN & HÜLSMANN, 2003-upraveno).

Kmen Apicomplexa tvoří čtyři velké třídy. V chovech želv jsou významní zejména zástupci tříd Coccidea a Cryptosporidea (VOLF a HORÁK, 2007, HAUSMANN & HÜLSMANN, 2003).

Coccidea (kokcidie)

(Alveolata; Apikomplexa)

U želv je známo více než 30 druhů kokcií (nejčastěji zástupci rodů *Isospora* a *Eimeria*), ale způsob a lokalizace jejich intracelulárního vývoje nebyly doposud dobře popsány (JACOBSON, 2017). Klinické příznaky se obvykle vyskytují u mladých zvířat a dospělců s oslabenou imunitou. Jedná se o anorexii, dehydrataci, letargii, průjem, slabost, ztrátu hmotnosti a v konečném důsledku někdy i o úhyn. Kromě toho byly u některých zvířat pozorovány podkožní otoky, oční a orální výtoky a dušnost. Většina infekcí však probíhá asymptomaticky (MACHIN, 2015; HOFMANNOVÁ et al., 2019).

Patogenně působí zejména intranukleární kokcidióza želv (dále jen TINC), která byla poprvé diagnostikována roku 1990. Teprve nedávno byla objevena infekční stadia a způsob jejich přenosu. Ačkoliv je největší množství TINC lokalizováno v játrech a ledvinách,

infekce se často šíří do řady dalších orgánů (GIBBINS & kol., 2013; HOFMANNOVÁ & kol., 2019). Léze spojené s TINC a její endogenní stadia byly potvrzeny v zažívacím, respiračním, urogenitálním, kožním, lymfatickém a endokrinním systému. Největší lokalizace intranukleárních stadií bývá v játrech, tenkém a tlustém střevě. Oocysty vylučované v trusu jsou 3 až 8 μm velké a nový hostitel je infikován perorálně. Vzhledem k malé velikosti není snadné oocysty TINC při rutinní koproskopii diagnostikovat (HOFMANNOVÁ & kol., 2019). Pro přesnější diagnostiku lze použít biopsii ledvin či jater nebo dnes nejčastější používanou metodu PCR ze stěru z orální nebo choanální mucosy nebo z kloaky (GIBBINS & kol., 2013). Infekce TINC je spojována s úhynem množství želv v USA a Německu. Zvířata se závažnými klinickými příznaky často navzdory léčbě hynou, nebo musí být utracena při ztrátě běžných životních projevů (HOFMANNOVÁ et al., 2019).

***Cryptosporidium* (kryptosporidie)**

(Apicomplexa; Cryptosporidea)

Rod *Cryptosporidium* zahrnuje druhy parazitických prvoků infikujících epiteliální buňky gastrointestinálního traktu všech tříd obratlovců. Ačkoli rod *Cryptosporidium* byl intenzivněji zkoumán více než 30 let, byl výzkum zaměřen především na druhy infikující lidi, hospodářská zvířata a jiné savce a poměrně malá pozornost byla věnována kryptosporidiím ostatních obratlovců. U poikilotermních hostitelů byla biologie a druhová rozmanitost nejlépe popsána u hadů a ještěřů (druhy *C. serpentis* a *C. varanii*). Naopak povědomí o výskytu prvoků rodu *Cryptosporidium* u želv zůstávalo malé. Infekce želv kryptosporidiemi byla poprvé popsána při mikroskopickém vyšetření trusu u želvy hvězdnaté (*Geochelone elegans*) chované v zoo v USA (JEŽKOVÁ et al., 2016). Infekce kryptosporidiemi se může projevit letargií, apatií, průjmem, ztrátou hmotnosti, dehydratací, ale i snížením rychlosti růstu (GIBBINS et al., 2013). Může také probíhat subklinicky nebo asymptomaticky a zavlečení bezpříznakových jedinců do velkých chovů suchozemských želv může mít vážné následky. Kvůli nepravidelnému vylučování oocyst v trusu je vhodné zvířata na kryptosporidie vyšetřovat pravidelně. U želv bylo popsáno několik druhů kryptosporidií, mezi nejvýznamnější patří *C. testudinis*, *C. ducismarci* (MACHIN, 2015; JEŽKOVÁ et al., 2016).

3 Materiál a metodika

Vyšetřované vzorky trusu pocházely z tuzemských soukromých chovů, zoologických zahrad a obchodů se zvířaty a byly odebírány v rozmezí let 2019 až 2020. Vzorky trusu pocházely od jedinců žijících celoročně jak v teráriu, tak ve venkovním výběhu, tedy i od želv, které procházely obdobím zimního klidu, či nikoliv. Celkem bylo odebráno 143 vzorků trusu od dvanácti chovatelů. Největší počet pocházel od *Testudo hermanni*, a to celkem 81 vzorků. Dále 28 vzorků od *T. marginata*, 19 od *T. horsfieldi*, 8 od *T. graeca* a 7 vzorků od *T. kleimanni*. Část diagnostikovaných jedinců byla v období do šesti měsíců před odběrem dovezena z farmových chovů z jihu Evropy. Konkrétně šlo o 6 *T. hermanni* a 3 *T. horsfieldii*. U některých jedinců nebylo možno prokázat původ, a to zejména u jedinců z prodejen se zvířaty. Lze také předpokládat, že část želv pocházela z volné přírody jako výsledek nelegálního odchyty a importu, a to zejména u *T. horsfieldi*. Celkem 131 vzorků bylo obsazeno parazity, mezi nimiž byli zastoupeni roupi, nálevníci, bičíkovci, škrkavky, kryptosporidie, kokcidie a měchovci. Všechny použité vzorky jsou zmrazeny a uloženy v Ústavu patologické morfologie a parazitologie v oddělení parazitologie Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně.

3.1 Odběr a skladování vzorků

Vzorky byly odebírány od jednotlivých jedinců pomocí koupele ve vlažné vodě, která svou teplotou zohledňovala aktuální podmínky okolního prostředí. Vzorky z výběhů nebo jiných ubikací byly odebírány co možná nejdříve po defekaci, popřípadě byly vybrány ty nejčerstvější nejméně podléhající podmínkám okolního prostředí (zejména dehydrataci a kontaminaci jinými organismy), nebo byly při větším množství želv v ubikaci vytvořeny směsné vzorky. Po odebrání byly vzorky jednotlivě umístěny do uzavíratelných plastových zkumavek nebo kádínek a byly lehce navlhčeny. K manipulaci s jednotlivými vzorky byly použity jednorázové dřevěné špachtle a tyčinky, aby se omezil kontakt a možná kontaminace mezi vzorky. Po zavření a náležitém označení byly přepravní nádoby očištěny a až do diagnostického vyšetření uchovávány v chladničce v teplotách v rozmezí mezi 5 až 9 °C. Všechny vzorky byly vyšetřeny nejdéle do pěti dní po odběru. Při odběru vzorků byly zaznamenány iniciály zvířete jako druh, věk, pohlaví a podmínky chovu, velikost a složení chovné skupiny, původ konkrétního jedince, případná aplikace antiparazitních přípravků a byl zhodnocen zdravotní stav jedince.

3.2 Sedimentační metoda

Sedimentační koncentrační metoda byla použita pro záchyt cyst prvoků a vajíček helmintů zejména pro diagnostiku bičíkoviců (Flagellata), kteří jsou častými parazity želv způsobujících při silnějších infekcích zdravotní potíže. Princip sedimentační metody spočívá v promíchání fekálního vzorku s vodou a ponechání nashromáždění zbylých částic u dna. Ty jsou poté přemístěny na podložní sklíčko (VOTAVA et al., 2010).

- Část vzorku byla rozmíchána s vodou a ve třecí misce byla důkladně rozmělněna.
- Vzniklá směs byla přemístěna na jemné síto, prolita vodou a vzniklý roztok byl zachycen do zkumavky.
- Po několika minutách bylo ze dna zkumavky odebráno množství 1 až 2 ml roztoku pomocí Pasteurovy pipety.
- Tento vzorek byl umístěn na podložní sklo a zakryt krycím sklíčkem a mikroskopován.

3.3 Flotační metoda

Flotace je založena na principu vyšší specifické hmotnosti roztoku než parazitických stadií, která jsou vlivem centrifugace vytlačena na hladinu, odkud je lze odebrat a přemístit na podložní sklíčko. Tato metoda byla použita zejména pro diagnostiku oocyst kryptosporidií a kokcidií, ale také pro zjištění přítomnosti jiných prvoků nebo helmintů (*Oxyurida*, *Ascaris*) (VOTAVA et al., 2010).

- Část vzorku byla rozmělněna ve třecí misce, prolita vodou, která byla zachycena do flotační zkumavky.
- Do zkumavky byla doplněna voda po rysku.
- Poté byl vzorek centrifugován po dobu tří minut na 2000 otáček.
- Během centrifugace se částice obsažené v roztoku sedimentovaly na dně.
- Ze zkumavky byla odstraněna voda a byla nahrazena flotačním roztokem, v tomto případě Sheaterovým cukerným roztokem, který se používá k flotaci kryptosporidií, ale taky cyst jiných prvoků nebo vajíček helmintů.
- Nově vzniklá směs byla dobře promíchána pomocí třepačky.
- Vzorek byl znovu centrifugován za stejných podmínek jako poprvé.

-
- Pomocí parazitologické kličky byla z hladiny odebrána povrchová membrána získaného produktu, kde se zkoncentrovaly cysty a vajíčka prvoků a byly následně přemístěny na podložní sklíčko.
 - Vzorek byl zakryt krycím sklíčkem a mikroskopován.

3.4 Diagnostika a kvantifikace nálezů

Všechny vzorky byly mikroskopovány při zvětšení 100x a 400x nebo 1000x pro detailnější diagnostiku. Ve vzorcích bylo nutné rozeznat jednotlivá stadia parazitických prvoků nebo helmintů od balastu, který byl obsažen v želvím trusu jako pilová zrna, nestrávené rostlinné buňky a jiné organické a anorganické částice. Oocysty kokcií byly vždy změřeny, pokud to bylo možné, bylo určeno, zda se jedná o rod *Eimeria spp.*, *Isospora spp.*, TINC (intranuclear coccidiosis in tortoises), či zda se jedná o pasáž. Vzorky s nesporulovanými oocystami byly umístěny do 2,5% roztoku dichromanu draselného ($K_2Cr_2O_7$) a po třech až pěti dnech byly opětovně vyšetřeny.

Četnost výskytu parazitů byla kvantifikována pomocí systému křížků, kdy jeden křížek značí slabé infekce, méně než jedno parazitické stadium dané skupiny na zorné pole při zvětšení 100x. Dva značí středně silné infekce, 2 až 5 parazitických stadií na zorné pole při stejném zvětšení a tři křížky označují silnou infekci, tedy více než 5 stadií na zorné pole. K porovnání výsledků byl použit chí-kvadrát test.

4 Výsledky

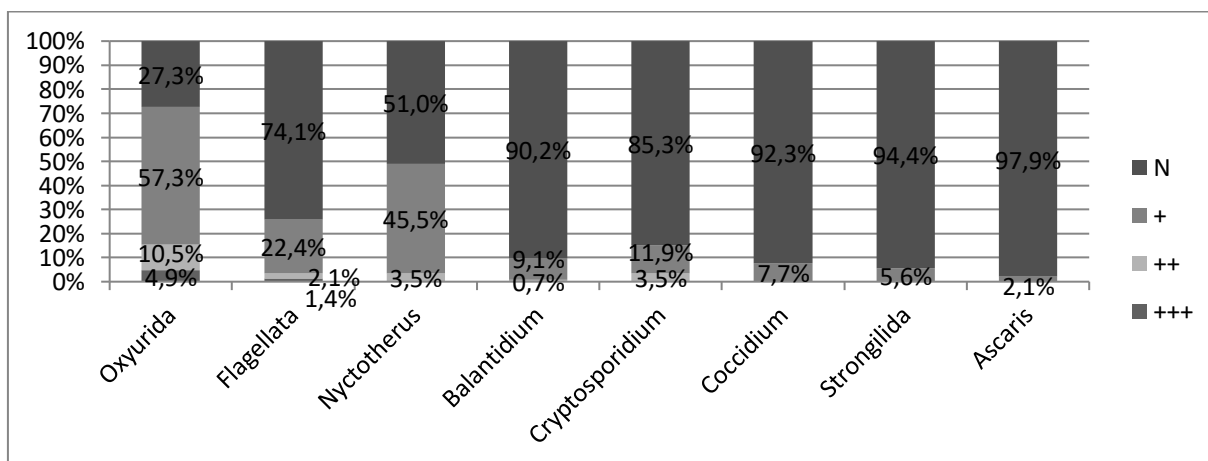
Při flotačním a sedimentačním vyšetření bylo 131 ze 143 (tab. 1) vyšetřených vzorků pozitivních na parazitická stadia různých druhů prvoků a helmintů. Nejčastějším nálezem ve fekálních vzorcích byla vajíčka roupů. Roupí (Oxyurida) se vyskytovali v trávicím traktu 73 % vyšetřovaných jedinců.

Tabulka 4-1: Výsledky diagnostiky flotační metodou.

	Počet vzorků	Počet pozitivních vzorků	Počet negativních vzorků
<i>Testudo hermanni</i>	81	74	7
<i>Testudo horsiardi</i>	19	16	3
<i>Testudo graeca</i>	8	8	0
<i>Testudo kleimanni</i>	7	7	0
<i>Testudo marginata</i>	28	26	2

Neméně častí byli jednobuněční fakultativně patogenní parazité jako nálevníci rodů *Nyctotherus* a *Balantidium*, kteří parazitovali na 52 % zkoumaných jedincích a bičíkovci (Flagellata), které jsme našli u 26 % vyšetřovaných želv. V menší míře byly želvy parazitovány zástupci kmene Apicomplexa (23 % jedinců) a parazitickými helminty jako *Ascaris* a Strongylida (7,7 %) (graf č. 1).

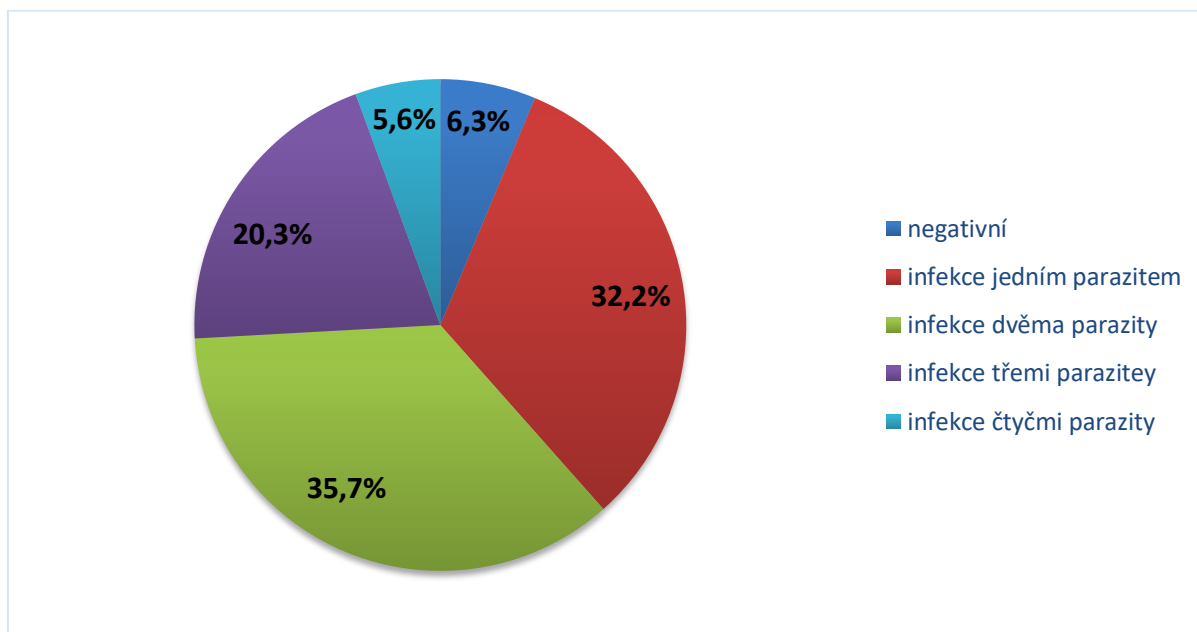
Graf 4-1: Spektrum parazitů želv rodu *Testudo*.



Četnost infekcí v jednom hostiteli

Ze 143 vyšetřených vzorků bylo pouze 9 označeno jako zcela negativní, 46 jedinců bylo parazitováno jedním druhem parazitů, 51 bylo parazitováno dvěma druhy parazitů, 28 jedinců třemi druhy parazitů a 8 jedinců bylo hostitelem pro čtyři druhy střevních parazitů (graf č. 2).

Graf 4-2: Znárodnění četnosti infekcí jednoho hostitele více druhy parazitů.



4.1 Nálezny parazitů u vyšetřovaných druhů želv

Byla stanovena nulová hypotéza o neexistenci rozdílu osídlení parazity mezi různými druhy vyšetřovaných želv. Jako hladina významnosti bylo stanoveno procentuální zastoupení daného parazita v celkové populaci (tab. 2). Hypotéza byla pomocí chí-kvadrát testu označena za pravdivou u škrkavek, roupů, bičíkoců a nálevníků rodu *Balantidium*. U měchoců, kokcií, kryptosporidií a nálevníků rodu *Nyctotherus* byla tato hypotéza vyvrácena (tab. 2).

Škrkavky byly přítomny pouze u zástupců druhů *T. hermanni* a *T. marginata*. U obou druhů bylo parazitováno 7 % jedinců. Všichni vyšetřovaní zástupci rodu *T. kleimanni* byli pozitivní na přítomnost roupů. U 43 % vyšetřovaných jedinců byla pozorována silná infekce a u 57 % slabá. Množství nálevníků rodu *Balantidium* se mezi jednotlivými druhy nijak nelišilo, zatímco nálevníci rodu *Nyctotherus* dominovali u *T. hermanni*, *T. graeca* a *T. marginata*, kdy vždy infikovali více než 70 % jedinců. Pouze u třech výše zmiňovaných druhů se vyskytovaly kokcie, které infikovaly 7 až 11 % jedinců každého

druhu. Kryptosporidiiemi byly infikovány všechny vyšetřované druhy. Infikováno bylo vždy 7 až 14 % každého druhu s výjimkou *T. kleimanni*, kde bylo infikováno 43 % vyšetřovaných želv.

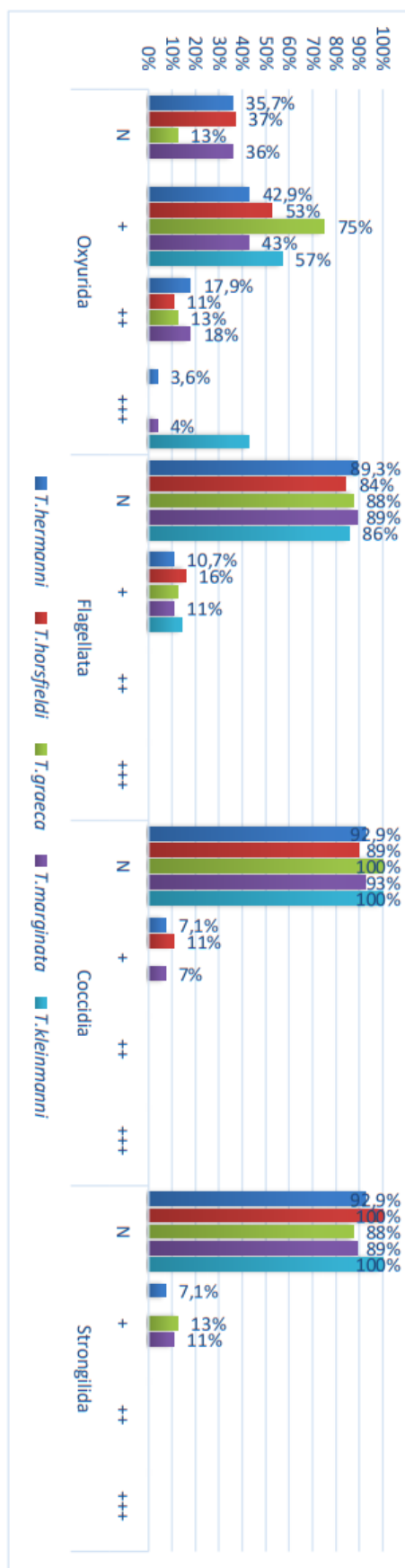
Tabulka 4-2: Porovnání četností jednotlivých skupin parazitů mezi druhy vyšetřovaných želv pomocí chí-kvadrát testů.

	Hladina významnosti	P-hodnota
Oxyurida	0,7272	0,2431
Strongilida	0,1049	0,8342
<i>Ascaris</i>	0,021	0,3434
Flagellata	0,2517	0,633
<i>Nyctotherus</i>	0,4965	0,0000428
<i>Balantidium</i>	0,1188	0,011
<i>Cryptosporidium</i>	0,1538	0,2262
Coccidia	0,084	0,78

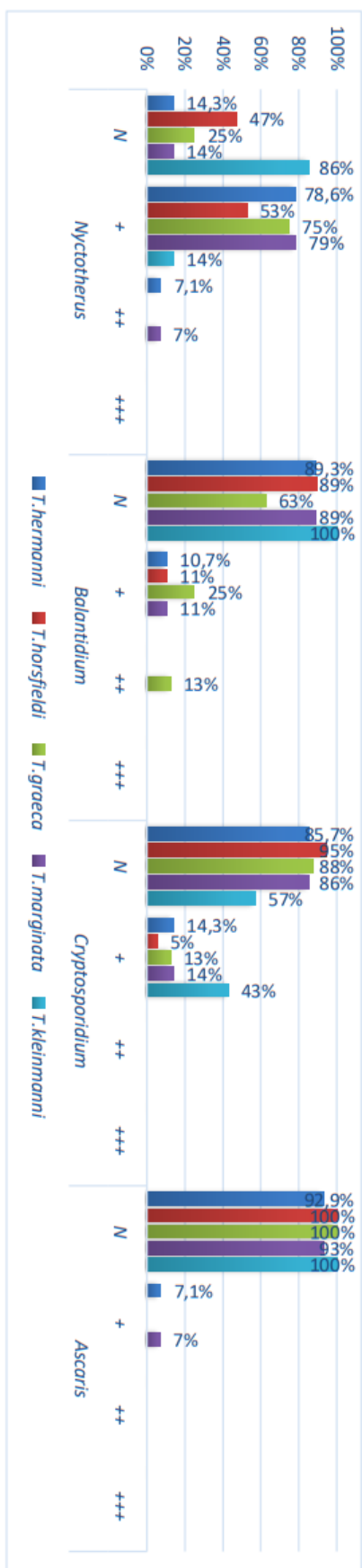
Většina parazitárních infekcí byla klasifikována jako slabá. Výjimkou byli roupi, kteří byli nalezeni v 72 % pozitivních vzorků a velmi často i vyšších koncentracích. Takto infikovaní jedinci vykazovali nižší přítomnost parazitických prvoků. Pouze u jednoho jedince (7,6 %) byla diagnostikována přítomnost parazitů z kmene Apicomplexa (*Isospora spp.*).

Zatímco kryptosporidie byly pozorovány u všech vyšetřovaných druhů, výskyt kokcií byl omezen pouze na druhy *T. hermanni*, *T. marginata* a *T. horsfieldi*. Škrkavky byly nalezeny pouze u *T. hermanni* a *T. marginata*, a to celkem u tří jedinců ze dvou různých chovů. Měchovci se vyskytovali v 10 % pozitivních vzorků a byli nalezeni pouze u *T. hermanni*, *T. marginata* a *T. graeca* (graf č. 3 a č. 4).

Graf 4-3: prevalence jednotlivých druhů želv rodu *Testudo* pro výskyt roupi, bičkovců, kokcií a mčchovců.



Graf 4-4: prevalence jednotlivých druhů želv rodu *Testudo* pro výskyt nálevníků, kryptosporidií a škrkavek.



4.2 Infekce parazity z kmene Apicomplexa

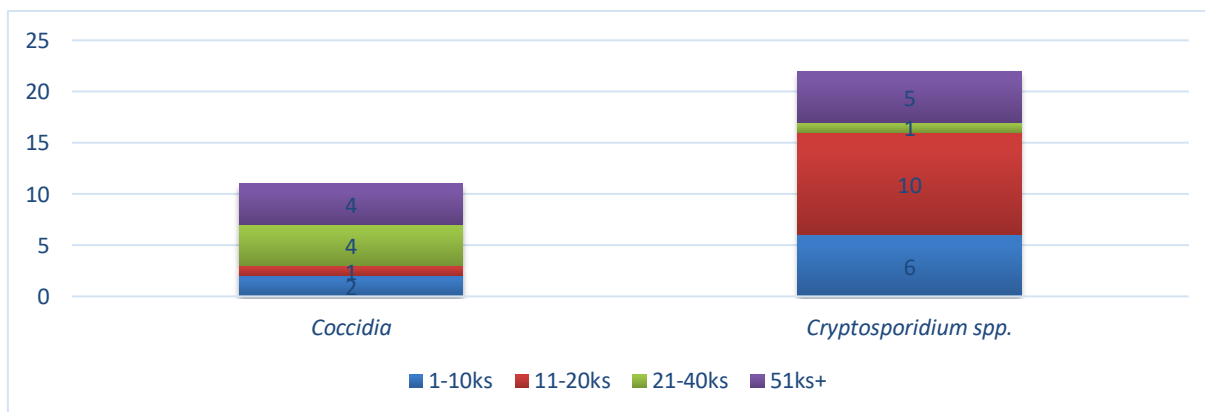
Vyšetření odhalilo 32 (tab. č. 2) želv infikovaných prvky kmene Apicomplexa. Pouze jeden jedinec byl infikovaný zároveň kryptosporidii a kokcidiemi. Infekce byla prokázána u zástupců všech pěti v šesti z dvanácti vyšetřovaných chovatelských zařízení. Většina infekcí byla klasifikována jako slabá. Pouze čtyři byly označeny jako středně silné a žádné jako silné.

Tabulka 4-3: Výsledky diagnostiky želv infikovanými zástupci kmene Apicomplexa.

	Počet vzorků	Počet pozitivních vzorků	Počet negativních vzorků
<i>Testudo hermanni</i>	81	20	61
<i>Testudo horsioldi</i>	19	2	17
<i>Testudo graeca</i>	8	1	7
<i>Testudo kleimanni</i>	7	3	4
<i>Testudo marginata</i>	28	6	22

Z celkového počtu 32 pozitivních jedinců žilo 8 (25 %) samostatně nebo v malých skupinách do 10 jedinců, 11 (34 %) ve středně velkých skupinách s 11 až 20 jedinci a 14 (44 %) ve velkých skupinách čítajících 21 a více než 50 jedinců (graf č. 4), ve kterých bylo často chováno několik druhů pohromadě. Pro hladinu významnosti bylo opět použito celkové procento pozitivních jedinců - 0,0769 pro kokcidie a 0,154 pro kryptosporidie. Výsledky chí-kvadrát testů ($P=2,03025E-26$ pro kokcidie a $P=2,16759E-27$ pro kryptosporidie) ukazují na neexistenci vztahu mezi četností infekcí a velikostí chovné skupiny.

Graf 4-5: Poměry infikovaných jedinců chovaných v různě velkých skupinách.



4.2.1 Infekce kryptosporidii

Kryptosporidie byly diagnostikovány ve 22 vzorcích. Všechny kryptosporidiální infekce byly nalezeny u jedinců s nespecifickými klinickými příznaky, u jedinců chovaných v početných skupinách, u želv žijících v nevhodných podmínkách a ve skupinách, v nichž došlo k náhlým úhynům zvířat bez zjevných klinických příznaků.

Ze všech vyšetřovaných želv byly 7 jedincům diagnostikovány nespecifické klinické příznaky jako apatie, výtok z očí a nozder nebo průjem. Všichni tito jedinci byli pozitivně vyšetřeni na přítomnost oocyst kryptosporidií. Celkem 8 pozitivních vzorků pocházelo

z velkých více druhových skupin čítajících desítky želv, ve kterých došlo v nedávné době k náhlým úhynům želv bez zjevných klinických příznaků. U 8 jedinců, kteří byli chováni ve velkých jednodruhových skupinách, nebyly ani dva měsíce po odběru vzorků pozorovány žádné klinické příznaky, ani nedošlo k žádným úhynům.

4.2.2 Infekce kokcidiemi

Méně častá infekce kokcidiemi byla omezena na chovy, ve kterých se vyskytovali jedinci původem ze své domoviny zejména z faremních chovů ze Španělska a želvy s nejasným obchodním původem (pravděpodobně nelegální odchyt z Itálie, Sardinie a oblasti Balkánu). Celkem bylo infikováno 11 jedinců. Z toho 10 (91 %) želv zelenavých (*Testudo hermanni*). Ve vzorcích bylo vždy nalezeno pouze malé množství oocyst. Nalezené oocysty během krátké doby praskaly a hroutily se.

Oocysty *Eimeria spp.* velké 22 x 22,5 μm byly nalezeny u tří jedinců. U dvou jedinců byly nalezeny kulaté oocysty *Isoospora spp.* velké 25 μm . Malé kulaté oocysty internukleárních kokcidií velké 6 x 6 až 9 x 9 μm byly diagnostikovány ve třech vzorcích. Želvy, od nichž byly vzorky trusu odebrány, nevykazovaly žádné klinické příznaky onemocnění. Tři na kokcidie pozitivní vzorky obsahovaly oocysty velké 10 x 15 μm , 12 x 18 μm a 18 x 20 μm . Ty byly označeny jako pasáž, kterou želvy přijaly společně s potravou.

5 Diskuse

Dle LAGHZAOUİ et al. (2021) je v přírodě na území Maroka 92,1 % *Testudo graeca* infikováno gastrointestinálními parazity. Prevalence prvoků v divoké populaci je 9,1 % a téměř všechny divoce žijící želvy jsou infikovány roupy, a to velmi často více druhů najednou, což není výjimečné ani u želv žijících v zajetí (MATA et al., 2021). V chovech je 88 % jedinců druhu *T.graeca* infikováno roupy, 13 % kryptosporidii a téměř všichni jedinci jsou hostiteli bičíkovců nebo nálevníků. Dle LAGHZAOUİ et al. (2021) jsou zřetelné rozdíly v prevalenci infekcí parazity želv mezi různými populacemi. Želvy z teplejších lokalit jsou aktivní po velkou část roku, což zvyšuje jejich šanci na setkání s parazity. Lze tedy předpokládat, že v zajetí bude prevalence parazitárních infekcí nižší u zimovaných želv.

V populaci želv chovaných na území České republiky bylo 92 % (z toho tvoří 76 % zástupci rodů *Testudo hermanni*, *T. graeca* a *T. horsfieldii*) vyšetřovaných jedinců pozitivních alespoň na jeden druh parazitů. Podle HEDLEY et al. (2013) u *Testudo hermanni*, *T. graeca* a *T. horsfieldii* je pozitivních na jednoho nebo více druhů parazitů pouze 49 % želv chovaných na území Velké Británie. Roupi se vyskytují v 67 % pozitivních vzorcích a v 28 % je možné nalézt škrkavky. Parazitičtí prvoci (Flagellata a nálevníci rodů *Balantidium* a *Nyctotherus*) obsazují 28 % želv. Kryptosporidie byly detekovány pouze u jednoho jedince (0,8 %). V České republice je roupy infikováno 73 % pozitivních vzorků. Škrkavky parazitují pouze na 1 % infikovaných želv. Nálevníky a bičíkovci je osídleno 57 % pozitivních jedinců. Kryptosporidie se vyskytují u 14 % želv. Rozdílnost výsledků může být způsobena různým věkem, pohlavím, druhovým složením nebo metodikou chovu vyšetřovaných jedinců, ale také použitím různých diagnostických metod v obou pracích.

Testudo kleimanni chované jako domácí mazlíčci v Alexandrii jsou dle SATOUR et al. (2018) nejčastěji infikovány roupy (18,7 % vyšetřovaných jedinců) a méně často kryptosporidii (12,5 % vyšetřovaných jedinců) a 27,3 % není infikováno žádnými druhy parazitů. *T. kleimanni* vykazují výrazně vyšší prevalenci k infekci. Všichni vyšetřovaní jedinci byli pozitivní alespoň na jeden druh parazita. Roupi byli nalezeni u všech vyšetřovaných jedinců. Oocysty kryptosporidií se vyskytovaly u 43 % želv. *T. kleimanni* je v České republice nejméně chovaný druh rodu *Testudo*. Rozdílná prevalence českých a egyptských želv je s největší pravděpodobností zapříčiněna malým počtem vyšetřených vzorků, které pocházely pouze od jedné chovné skupiny.

U 64 % želv (*Testudo*, *Geochelone*, *Stigmochelys*, *Astrochelys*, *Terrapene*, *Trachemys*) chovaných v Barceloně se dle RUIVO et al. (2019) vyskytuje alespoň jeden druh parazita. Roupí má 28 % jedinců, nálevníky rodu *Nyctotherus* 22 %, nálevníky rodu *Balantidium* 11 % a u 22 % jedinců lze nalézt bičíkovce. České želvy jsou některými výše zmíněnými parazity infikovány výrazně častěji (*Oxyurida* 73 %, *Nyctotherus* 49 %, *Balantidium* 10 %, *Flagellata* 26 %). RUIVO et al. (2019) zdůrazňuje důležitost preventivního parazitárního vyšetření a následného odčervení. Tento rozdílný přístup může být důvodem nižšího výskytu roupů a nálevníků *Nyctotherus spp.* u barcelonských želv.

Dle ARABKHAZAELI et al. (2018) má z želv chovaných v Teheránu *T. horsfieldi* nejvyšší druhovou diverzitu parazitů. ARABKHAZAELI & kol. (2018) ve své práci dále vyšetřovali *Geochelone elegans*, *Testudo graeca* a *Trachemys scripta elegans*. Parazitární infekce byly prokázány u jednoho jedince *Trachemys scripta elegans* infikovaného *Isospora sp.* a u všech zástupců *T. horsfieldi*, kteří tvořili 45 % celkového počtu želv. U všech zástupců *T. horsfieldi* byla potvrzena přítomnost vajíček roupů a měchovců, nálevníků rodu *Balantidium* a *Cryptosporidium sp.* Vzhledem k přirozenému výskytu *T. horsfieldi* v Íránu je možné, že chovaní jedinci byli původně odchyceni ve volné přírodě, a proto je jejich spektrum parazitů natolik odlišné od ostatních chovaných druhů.

Zástupci rodu *Testudo*, kterým se tato práce věnuje, jsou nejčastěji chovanými druhy suchozemských želv. Pro jasnější strukturu spektra jejich parazitů je zapotřebí vyšetřit větší množství jedinců z různých chovů. V chovech se často setkávají želvy mnoha druhů, rodů nebo čeledí původem z různých geografických oblastí, a proto je třeba vzít v úvahu sílu hostitelské specifity a možnost přenosu infekcí mezi různými rody čeledi *Testudinidae*.

6 Závěr

V této bakalářské práci bylo studováno spektrum parazitů želv rodu *Testudo* v ex situ populaci na území České republiky. Podařilo se získat vzorky od všech pěti druhů rodu *Testudo*, s výjimkou *T. kleimanni*, vždy od více než dvou chovatelů, či jiných organizací (zoologické zahrady a obchody se zvířaty). Při identifikaci bylo diagnostikováno celkem 8 druhů parazitů včetně rousů, kteří nemají k plazům parazitický vztah, ale velmi často se vyskytují v gastroindustriálním traktu želv a mohou být mylně považováni za původce onemocnění. Většina infekcí byla způsobena fakultativně patogenními parazity (Flagellata, Ciliophora), nebo parazity, kteří mají k želvám komenzální, dle některých zdrojů dokonce mutualistický vztah (Oxyurida). Značné množství želv bylo infikováno více druhy parazitů. Takto infikovaní jedinci nevykazovali žádné klinické příznaky, byli aktivní, přijímali potravu a rozmnožovali se.

Všichni jedinci s klinickými příznaky byli infikováni kryptosporidii. Byla také zřetelná výrazná distribuce kryptosporidií ve velkých chovech a chovech, kde žije více druhů želv v jedné ubikaci. Ve všech chovech, kde žije více druhů želv rodu *Testudo* v jedné ubikaci a zároveň jsou infikovány kryptosporidii, byly hlášeny náhlé úhyny jedinců. To poukazuje na korelaci mezi silou virulence a mezidruhovým přenosem kryptosporidií. Ovšem z důvodu malého množství vzorků nelze tuto hypotézu potvrdit.

Želvy z faremních chovů neoznačené čipem velmi často pocházejí z nelegálního odchytu ve volné přírodě a mohou přenášet nová infekční stadia parazitů. Ta mohou být následně zanesena do ex situ populace. Zejména u zvířat pocházejících z velkých chovů nebo z farem z oblastí přirozeného výskytu želv rodu *Testudo* by bylo vhodné je chovat pouze v jednodruhových skupinách. Pro omezení počtu virulentních infekcí v chovech by bylo vhodné minimalizovat kontakty mezi zvířaty z různých chovů bez řádné karantény a koproskopického vyšetření.

7 Zdroje

- Arabkhazaeli, Fatemeh, et al. (2018) "Frequently observed parasites in pet reptiles' feces in Tehran." *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 12.1: 19-25.
- Baines, Frances Marian, et al. (2016) "How much UVB does my reptile need? The UV-Tool, a guide to the selection of UV lighting for reptiles and amphibians in captivity." *Journal of Zoo and Aquarium Research* 4.1: 42-63.
- Barnard, Susan M., and Steve J. Upton (1994). A veterinary guide to the parasites of reptiles. Volume 1: *Protozoa*. Krieger Publishing Company. ISBN-10 : 0894648322
- Bauer, Thomas (2018). Analyse der Ernährung und der Haltungsbedingungen von in Deutschland gehaltenen paläarktischen Landschildkröten (*Testudo spp.*). Diss. lmu.
- Doneley, Bob, et al., (2018). Reptile medicine and surgery in clinical practice. Wiley Blackwell. ISBN: 978-1-118-97767-5.
- Donoghue, Susan, and Sean McKeown (1999). "Nutrition of captive reptiles." *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 2.1: 69-91.
- Durette-Desset, M-C., I. Beveridge, and D. M. Spratt (1994) "The origins and evolutionary expansion of the Strongylida (Nematoda)." *International Journal for Parasitology* 24.8: 1139-1165.
- Ferri, Vincenzo (1999). *Turtles and Tortoises: A Firefly Guide*. Firefly Books,. ISBN-101552096319.
- Gaisler, Jiří a Jan Zima. Zoologie obratlovců (2007). Vyd.2., přeprac. Praha: Acedemia,. ISBN 978-80-200-1484-9.
- Gibbons, Paul M., and Zachary J. Steffes. (2013) "Emerging infectious diseases of chelonians." *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice* 16.2: 303-317.
- Giltner, S. (2012). Der Handel von Reptilien unter tierschutzrechtlichen Aspekten (Doctoral dissertation, lmu).
- Hailey, A., & Willemsen, R. E. (2000). Population density and adult sex ratio of the tortoise *Testudo hermanni* in Greece: evidence for intrinsic population regulation. *Journal of Zoology*, 251(3), 325-338.

Hausmann, K., et al. (2003). *Protistology* (No. Ed. 3). E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.

Hedley, J., et al. (2013). Gastrointestinal parasitic burdens in UK tortoises: a survey of tortoise owners and potential risk factors. *Veterinary Record*, 173(21), 525-525.

Hofmannová, Lada, et al. (2019) "Intranuclear coccidiosis in tortoises—discovery of its causative agent and transmission." *European journal of protistology* 67: 71-76.

Ivanchev, E. I. (2007) "Population ecology and biology of *Testudo hermanni* (Reptilia: Testudinidae) at the Eminska Mountain, Bulgaria." *Acta zoologica bulgarica* 59.2: 153Y163.

Jacobson, Elliott R. (1994)"Causes of mortality and diseases in tortoises: a review." *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* : 2-17.

Jacobson, Elliott R. (2007)., *Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text*. CRC Press.

Jacobson, Elliott R., et al. (2014)"Mycoplasmosis and upper respiratory tract disease of tortoises: a review and update." *The veterinary journal* 201.3: 257-264.

Ježková, Jana, et al. (2016) "Cryptosporidium testudinis sp. n., *Cryptosporidium ducismarci* Traversa, 2010 and *Cryptosporidium tortoise* genotype III (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in tortoises." *Folia Parasitol (Praha)* 63.63: 10-14411.

Jørgensen, C. Barker. (1998) "Role of urinary and cloacal bladders in chelonian water economy: historical and comparative perspectives." *Biological Reviews* 73.4: 347-366.

Joshua, Quinton I. et al., (2010)"Seasonal and site variation in angulate tortoise diet and activity." *Journal of Herpetology* :124-134.

Klingenberg, R. J. (2004) "Parasitology in Manual of reptiles.": 319-330.

Kölle, Petra, (2008). *The turtle: pet and patient* . Georg Thieme Verlag.

Laghzaoui, El M. et al. (2021). "Prevalence and intensity of gastrointestinal parasites in the vulnerable spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*) from the central-western of Morocco." *Basic and Applied Herpetology* .

-
- Lane, TJ, and DR Mader (1996). "Parasitology in Reptile Medicine and Surgery.": 185-203.
- Lawrence, K., and O. F. Jackson (1982). "Passage of ingesta in tortoises." *The Veterinary record* 111.21: 492-493.
- Lecis, Roberta, et al. (2011)"Detection and characterization of Mycoplasma spp. and Salmonella spp. in free-living European tortoises (*Testudo hermanni*, *Testudo graeca*, and *Testudo marginata*)." *Journal of wildlife diseases* 47.3: 717-724.
- Mader, D. R. (2006)."Metabolic bone diseases." *Reptile medicine and surgery* 2: 841-851.
- Mader, Douglas R. (2006). "Reptile Medicine and Surgery 2nd Ed. St. Louis."
- Machin, Ross Ashley (2015). "Common gastrointestinal parasites in reptiles." *In Practice* 37.9: 469-475.
- Mata, Arlett Pérez, et al. (2021). "PARASITISMO POR NEMATODES EN LA TORTUGA SURAMERICANA GEOCHELONE CARBONARIA DE UPATA, BOLÍVAR, VENEZUELA." *Neotropical Helminthology* 8.2.
- Peterson, Charles C., and David Greenshields (2001). "Negative test for cloacal drinking in a semi-aquatic turtle (*Trachemys scripta*), with comments on the functions of cloacal bursae." *Journal of Experimental Zoology* 290.3: 247-254.
- Rhodin, Anders GJ, et al. (2017) "Turtles of the World." *Annotated checklist and atlas of taxonomy, synonymy, Distribution, and conservation status* 7.
- Robinson, Janine E., et al. (2015). "Captive reptile mortality rates in the home and implications for the wildlife trade." *PloS one* 10.11: e0141460.
- Ruivo, M. G. V. V. (2019). *Parasitas gastrointestinais em répteis de estimação em Barcelona* (Doctoral dissertation, Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária).
- Satur, Neveen Salah, and Amira Waheed Dewir (2018). "Some internal parasites of reptiles in Alexandria Province, Egypt." *Egyptian Veterinary Medical Society of Parasitology Journal (EVMSPJ)* 14.1: 98-114.

Stubbs, David, et al. (1985) "The ecology of the Mediterranean tortoise *Testudo hermanni* in northern Greece (the effects of a catastrophe on population structure and density)." *Biological Conservation* 31.2: 125-152.

Volf, Petr a Petr Horák. Paraziti a jejich biologie (2007). Praha: TRITON. ISBN 978-80-7387-008-9.

Votava, Miroslav, et al. (2010) *Lékařská mikrobiologie: Vyušetrovací metody*. 1. vyd. Brno: Neptun. 495 s. ISBN 978-80-86850-04-7.

Wallach, J. D. (1979) "The mechanics of nutrition for exotic pets." *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 9.3: 405-414.

8 Seznam obrázků

Obrázek 1-1 rozdělený supracaudální štítek *T. hermanni* (vlevo) a spojený supracaudální štítek *T. horsfieldi* (vpravo)..... 10

Obrázek 1-2: mapy znázorňující areály výskytu želv rodu *Testudo*; A- *T. marginata*; B- *T. graeca*; C- *T. kleimanni*; D- *T. hermanni*; E- *T. horsfieldi* (RHODIN, ANDERS GJ, et al. "Turtles of the World." Annotated checklist and atlas of taxonomy, synonymy, Distribution.. 12

Obrázek 2-1: Apicomplexa: sporozoit (HAUSMANN & HÜLSMANN, 2003- upraveno).... 23

9 Seznam tabulek

Tabulka 4-1: Výsledky diagnostiky flotační metodou.....	28
Tabulka 4-2: Porovnání četností jednotlivých skupin parazitů mezi druhy Tabulka vyšetřovaných želv pomocí chí-kvadrát testů.	30
Tabulka 4-3: Výsledky diagnostiky želv infikovanými zástupci kmene Apicomplexa.	32

10 Seznam grafů

Graf 4-1: Spektrum parazitů želv rodu <i>Testudo</i>	28
Graf 4-2: Znázornění četnosti infekcí jednoho hostitele více druhy parazitů.	29
Graf 4-3: prevalence jednotlivých druhů želv rodu <i>Testudo</i> pro výskyt roupů, bičíkovců, kokcií a měchovců.	31
Graf 4-4: prevalence jednotlivých druhů želv rodu <i>Testudo</i> pro výskyt nálevníků, kryptosporidií a škrkavek.	31
Graf 4-5: Poměry infikovaných jedinců chovaných v různě velkých skupinách.	32