



Fakulta zemědělská  
a technologická  
Faculty of Agriculture  
and Technology

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

# **JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**

## **FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ**

Katedra zootechnických věd

### **Diplomová práce**

Výskyt a diverzita amphistomních motolic u skotu

Autor práce: Bc. Pavlína Vogalová

Vedoucí práce: prof. Ing. Martin Kváč, Ph.D.

České Budějovice  
2022

## **Prohlášení**

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

V Českých Budějovicích dne .....

.....  
Podpis

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé diplomové práce panu prof. Ing. Martinu Kváčovi, Ph.D. za všestrannou pomoc, množství cenných rad, doporučení, připomínek a zároveň za velkou trpělivost a obdivuhodnou ochotu. Dále bych ráda poděkovala celému kolektivu laboratoře Veterinární a medicínské protistologie Biologického centra AV ČR, v. v. i. za vstřícnost a přátelské jednání. Rovněž chci poděkovat své rodině, která mě při této práci podpořila, a bez jejíž pomoci by nebylo možné práci dokončit. V neposlední řadě pak patří velký dík všem, kteří mi byli nápomocni při odběru vzorků.

Tato práce byla finančně podpořena grantovými projekty GAJU 028/2019/Z a GAJU 005/2022/Z.

## Abstrakt

Diplomová práce se zabývá žaludečními motolicemi patřícími do čeledi *Paramphistomidae*, které jsou častými parazity přežvýkavců. Jejich nedospělá stadia mohou způsobovat závažné patologické změny v zažívacím traktu hostitele a při masivní infekci může dojít i k usmrcení hostitele. Dospělci vyvolávají infekce sliznice bachoru s následnou nižší produkcí. Výskyt a diverzita těchto motolic nejsou v současné době systematicky sledovány.

Cílem této práce je popsat výskyt a diverzitu žaludečních motolic u skotu v České republice a Rakousku.

Praktickou částí je vyšetření trusu skotu bez tržní produkce mléka z různých stád na přítomnost vajíček pomocí standardních parazitologických metod, optimalizace PCR metody pro přímou detekci motolic z trusu, provedení genotypizace nalezených motolic, zpracování výsledků příslušnými statistickými metodami a porovnání s publikovanými údaji.

**Klíčová slova:** Skot; parazitologické vyšetření; motolice; výskyt; genotypizace

## **Abstract**

The thesis deals with gastric woodlice of the family *Paramphistomidae*, which are common parasites of ruminants. Their immature stages can cause severe pathological changes in the host's digestive tract, and massive infection can lead to host death. Adult parasites cause infections of the rumen mucosa, resulting in lower production. The prevalence and diversity of these flukes is currently not systematically monitored.

The aim of this study is to describe the occurrence and diversity of gastric flukes in cattle in the Czech Republic and Austria.

The practical part consists of examination of dairy cattle faeces from different herds for the presence of eggs using standardised parasitological methods, optimization of a PCR method for direct detection of flukes from the faeces, genotyping of the flukes found, processing of the results using appropriate statistical methods, and comparison with published data.

**Key words:** Cattle; parasitology; examination; fluke; occurrence; genotyping

# Obsah

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Úvod.....                                                                           | 8  |
| 1 Literární přehled.....                                                            | 9  |
| 1.1 Motolice čeledi <i>Paramphistomidae</i> .....                                   | 9  |
| 1.1.1 Taxonomické řazení.....                                                       | 9  |
| 1.1.2 Morfologická charakterizace .....                                             | 9  |
| 1.1.3 Druhy .....                                                                   | 9  |
| 1.2 Rozšíření a prevalence motolic čeledi <i>Paramphistomidae</i> u skotu .....     | 12 |
| 1.2.1 V České republice.....                                                        | 12 |
| 1.2.2 V Rakousku .....                                                              | 12 |
| 1.2.3 V Evropě.....                                                                 | 13 |
| 1.2.4 Ve světě .....                                                                | 14 |
| 1.3 Vývojový cyklus .....                                                           | 15 |
| 1.3.1 Mezihostitelé.....                                                            | 18 |
| 1.3.2 Smíšená infekce čeledi <i>Paramphistomidae</i> s <i>Fasciola hepatica</i> ... | 20 |
| 1.3.3 Definitivní hostitelé .....                                                   | 20 |
| 1.3.4 Biotopy výskytu.....                                                          | 20 |
| 1.4 Klinické příznaky onemocnění a patogenita .....                                 | 21 |
| 1.4.1 Imunitní reakce .....                                                         | 22 |
| 1.5 Diagnostika .....                                                               | 23 |
| 1.5.1 Koprologická diagnostika.....                                                 | 24 |
| 1.5.2 Molekulární diagnostika .....                                                 | 27 |
| 1.5.3 Imunologická diagnostika.....                                                 | 27 |
| 1.5.4 Biochemické vyšetření.....                                                    | 28 |
| 1.5.5 Hematologické vyšetření .....                                                 | 28 |
| 1.6 Prevence a léčba.....                                                           | 28 |
| 1.7 Imunitní odpověď a rezistence .....                                             | 32 |
| 2 Cíle.....                                                                         | 33 |
| 3 Materiál a metodika .....                                                         | 34 |
| 3.1 Materiál .....                                                                  | 34 |
| 3.1.1 Sběr a uchování vzorků .....                                                  | 34 |
| 3.1.2 Zdroj materiálů .....                                                         | 34 |
| 3.2 Metody .....                                                                    | 34 |

|       |                                                                                 |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.1 | Laboratorní a mikroskopické vyšetření trusu .....                               | 34 |
| 3.2.2 | Stanovení intenzity infekce a účinnosti anthelmintik ve vybraných chovech ..... | 35 |
| 3.2.3 | Genotypizace .....                                                              | 35 |
| 3.2.4 | Sekvenování a genotypizace .....                                                | 38 |
| 3.2.5 | Statistická analýza a hodnocení účinnosti anthelmintik .....                    | 39 |
| 4     | Výsledky .....                                                                  | 40 |
| 4.1   | Výskyt motolic ve vyšetřovaných chovech.....                                    | 40 |
| 4.2   | Genotypizace.....                                                               | 41 |
| 4.3   | Účinnost používaných veterinárně léčivých preparátů .....                       | 41 |
| 5     | Diskuse.....                                                                    | 43 |
|       | Závěr .....                                                                     | 49 |
|       | Bibliografické citace .....                                                     | 50 |
|       | Seznam obrázků .....                                                            | 83 |
|       | Seznam tabulek .....                                                            | 84 |

---

## Úvod

Čeď *Paramphistomidae* je skupina endopazitů řazených do třídy Trematoda. Definitivními hostiteli této čeďi jsou obojživelníci, plazi, ptáci, ryby a savci. Za veterinárně významné jsou považovány druhy s definitivní lokalizací v bachoru, čepci, či žlučovodech, které jsou rozšířené celosvětově. Vážné problémy s touto čeďí jsou hlášeny v subtropických a tropických oblastech. V Evropě není motolice bachorová považována za klinicky významného parazita, v poslední době však její prevalence prudce vzrostla a bylo hlášeno několik propuknutí klinické nákazy paramphistomy u domácích přežvýkavců, zejména skotu. Francie, Velká Británie, Irsko, Belgie, Portugalsko a Španělsko zaznamenaly obrovský nárůst výskytu tohoto parazita a zdůrazňují význam kontrolních opatření. Obecně je motolice bachorová považována za klinicky významnou pouze tehdy, pokud jsou přežvýkavci při pastvě vystaveni masivní zátěži infekčních stádií. Nezralá stadia, která migrují v duodenu, mohou způsobit klinické příznaky, jako je slabost, průjem a úmrtnost. Dále ovlivňují plodnost, kvalitu masa, produkci mléka, což způsobuje vysoké ekonomické ztráty.

Diagnostika bachorových motolic se nejčastěji provádí konvenčními koprologickými technikami na základě vnějších projevů onemocnění, protože rychlá imunologická metoda, která by vedla i kodhalení infekce v rané fázi, zatím není dostupná. Projevy nález jsou společné pro řadu parazitárních, bakteriálních a virových infekcí. Vajíčka v trusu během patentní periody mohou být u některých druhů detekovatelná pouze v některých částech roku. Také podobnost vajíček s vajíčky motolic čeďi *Fasciolidae* a podobnost mezi druhy paramphistomních motolic může mít za následek použití neúčinné léčby. Z tohoto důvodu se pracuje na rozšiřování molekulárních metod k identifikaci druhů.

Cílem této práce je popsat výskyt a diverzitu bachorových motolic u skotu v České republice a Rakousku. Vyšetřit trus skotu z různých stád na přítomnost vajíček těchto motolic pomocí standardních parazitologických metod. Provést přímou detekci motolic z trusu pomocí PCR metody a genotypizaci nalezených motolic.

---

# 1 Literární přehled

## 1.1 Motolice čeledi *Paramphistomidae*

### 1.1.1 Taxonomické řazení

Původci onemocnění motolic nadčeledi *Paramphistomidae* Fischoeder, 1901 jsou amphistomy, které způsobují onemocnění domácích i volně žijících přežvýkavců. Řádem čeledi *Paramphistomidae* je Plagiirchiida, rozdělená na dvě podčeledi *Paramphistominae* a *Orthocoeliinae* (Lotfy et al., 2010). Nadčeleď *Paramphistomoidae* se skládá ze stovek druhů, které patří do 12 rodů (Shylla et al., 2013).

### 1.1.2 Morfologická charakterizace

Pro motolice čeledi *Paramphistomidae* je typický tvar podélně oválný, válcovitý. Velikost dospělých motolic je variabilní a pohybuje se v rozmezí délky 3–20 mm a šířky 1,5–7 mm. Dospělé motolice bachorové vypadají na povrchu bachoru jako malé růžové červi, zatímco nedospělí jedinci připomínají drobná zrnka rýže na slizničním povrchu střeva (Tandon, 2014). Typickým orgánem paramphistomních motolic je přísavka na ventrální straně těla. Tato břišní (ventrální) přísavka, zvaná také jako acetabulum, slouží k přichycení a ústí u ní vývody pohlavních orgánů (Anuracpreeda et al., 2012). Dospělí jedinci čeledi *Paramphistomidae* jsou nejčastěji lokalizováni v žaludku či předžaludcích hostitele, a to především v bachoru, proto jsou v anglických textech označováni jako „rumen flukes“ („bachorové motolice“). Výjimkou jsou rody *Gigantocotyle* sp. a *Explanatum* sp., jejichž metacerkarie migrují stěnou střeva a pronikají do jater. Nezralá motolice tuneluje játry, než vstoupí do žlučníku a žlučových cest, kde dosáhne zralosti (Iqbal et al., 2014).

### 1.1.3 Druhy

Původci tohoto onemocnění parazitující u hovězího dobytka, pocházejí nejčastěji z rodu *Calicophoron*, *Cotylophoron*, *Explanatum*, *Gigantocotyle* a *Paramphistomum* (Kilani et al., 2010).

#### Druhy rodu *Calicophoron*

##### *Calicophoron daubneyi*

Jedná se o převažující druh v Evropě postihující přežvýkavce. Studie z Irska prokázala, že u skotu je třikrát vyšší pravděpodobnost nákazy než u ovcí (Naranjo-Lucena et al., 2018). Další studie dále prokázala, že *C. daubneyi* dosahuje větší

---

velikosti, má delší životnost a produkuje u skotu více vajíček než u ovcí (Sargison *et al.*, 2016). Jak dlouho mohou paramphistomy žít uvnitř konečného hostitele není známo, ale předpokládá se, že u starších zvířat dochází k akumulaci dospělého *C. daubneyi* (Huson *et al.*, 2017). Dospělci jsou 0,5–1 cm dlouzí, růžové barvy a hruškovitého tvaru. Největší parazitární zátěží postihují bachorovou síni. Vajíčka jsou velká 130–180 × 76–95 μm, operkulovitá a morfologicky podobná vajíčkům *Fasciola hepatica*, ale jsou bezbarvá a nejsou zbarvena žlučí (Horak, 1971).

#### Druhy rodu *Cotylophoron*

##### *Cotylophoron cotylophorum*

Rozlišení larválních stádií *C. cotylophorum* od *F. hepatica* ještě v hlemýždi je poměrně snadné, jelikož *C. cotylophorum* nemá tzv. oční skvrnu, je zbarven do stříbrné barvy a má hrubé granuly (Gómenz *et al.*, 1973). Tělo dospělého ve tvaru fazole je dlouhé 12–13,68 a 4–4,7 mm široké. Tvar vajíčka je vejčitý. Vyskytují se však variace, kdy jsou vajíčka zcela vejčitá, což dává vajíčkům tvar pyramidy. Vajíčko je při pohledu mikroskopem průhledné o velikosti 125–135 × 65–68 μm (Krull, 1934).

##### *Cotylophoron macrosphinctris*

Tento druh byl poprvé zaznamenán v bachoru buvola afrického. Nejcharakterističtějším znakem tohoto druhu je přítomnost silného genitálního svěrače, kterým se odlišuje od dosud známých druhů této čeledi. Tělo dospělé motolice je hladké, kuželovité, na pohled mírně ohnuté k ventrální ploše. Délka těla je 5,5–7,2 mm, největší šířka na úrovni acetabula 1,5–2,5 mm, dorzoventrální rozměr 2,5–3,0 mm. Vajíčka jsou tenkostěnná, operkulovitého tvaru o velikosti 100–150 × 60–70 μm (Sey *et Graber*, 1979).

##### *Cotylophoron marajoensis*

Dospělý jedinec tohoto druhu má hruškovité, hladké tělo mírného zakřivení o rozměrech 3,42–7,54 × 2,62–3,42 mm, maximální šířka k úrovni varlat. Vajíčka jsou o velikosti 80–140 × 40–60 μm (Eduardo, 1985).

##### *Cotylophoron panamensis*

Tělo dospělého je kónické, ventrálně zakřivené s perleťově bílou barvou o délce 4,3 ± 0,4 (3,7–5,0) mm a šířce 2,1 ± 0,3 (1,7–2,5) mm na úrovni acetabula. Vajíčka

---

operkulovitého a eliptického tvaru o rozměrech  $91,6 \pm 7,0$  ( $77,3$ – $109,3$ )  $\times$   $49,2 \pm 3,6$  ( $40,0$ – $56,0$ )  $\mu\text{m}$ . *C. cotylophorum* se od *C. panamensis* liší tím, že má genitální přísavku bez svěrače, tenkou genitální papilu a zužuje se k volnému konci. *Cotylophoron jacksoni*, *Cotylophoron fuelleborni*, *Cotylophoron bareilliensi* a *Cotylophoron travassosi* se morfologicky liší od *Cotylophoron panamensis* tím, že mají jícnový bulbus a vitelaria není dorzálně-mediálně splývající a svalstvo stěny jícnu je silné (Eduardo, 1985; Alarcón et Velásquez, 2009).

#### Druhy rodu *Paramphistomum*

##### *Paramphistomum cervi*

V současné době jsou nálezy této motolice u naší zvěře vesměs ojedinělé (jižní Čechy, jižní Morava). Je však rozšířena ve většině evropských zemí. Morfologická identifikace *P. cervi* bývá provedena na základě velikosti a tvaru motolice a polohy přední a zadní přísavky (acetabula). Ve studiích Yamaguti (1952), Eduardo et al. (1987) a Sey (1982) má *P. cervi* světle růžovou barvu. Barva je způsobena vlastním hemoglobinem. Jsou 5–13 mm dlouhé, 2–5 mm široké, s ventrální stranou poněkud konkávní, zatímco dorzální strana je konvexní. Má dvě přísavky, přední ústní přísavku a zadní větší ventrální přísavku. Na povrchu jsou dva typy baňatých senzorických papil, každá o průměru 10–15  $\mu\text{m}$  na bázi s bradavkovitými hroty; jeden má nahoře krátké řasinky. Shluky papil na ventrální ploše a kolem předních přísavek jsou větší co do velikosti a počtu; zatímco na dorzální ploše je jich málo (Panyarachun et al., 2010). Jako hermafrodit má samčí i samičí reprodukční systémy. Varlata jsou mírně laločnatá a jsou umístěna před vaječníkem. Vajíčka mají čirou skořápku a měří asi  $140 \times 80 \mu\text{m}$ ; soudkovitá s operkulem na jednom konci. V prvních fázích dělení obsahuje 4–8 blastomer, obklopených asi 50 tukovými buňkami (Olsen, 1974).

##### *Paramphistomum leydeni*

Jedná se o druh, který je nejčastěji detekovaným druhem čeledi *Paramphistomidae* v Evropě (Gordon et al., 2013). Dospělci jsou 0,5–1 cm dlouzí, růžoví a hruškovitého tvaru a největší parazitární zátěž se nachází v bachorové síni. Připojují se acetabulem k menším, kuželovitým papilám v bachoru a také v hlubší části voštinových buněk retikula. Vajíčka jsou velká ( $130$ – $180 \times 76$ – $95 \mu\text{m}$ ), oválná

---

a morfologicky podobná vajíčkům *F. hepatica*, jsou ale bezbarvá a nemají žlučí zbarvenou barvu (Dreyfuss *et al.*, 2004).

#### *Paramphistomum ichikawai*

Na jižní Moravě byl objeven první nález ve střední Evropě u 1–1,5 roku mladého skotu *P. ichikawai* již roku 1978. Dospělý jedinec je dlouhý 4–6,8 mm a 1,5–2,0 mm široký. Vajíčka jsou hladká, bezbarvá o velikosti 114–123 × 61–66 µm (Kotrlá *et* Chroust, 1978).

#### *Paramphistomum microbothrium*

V Africe je *P. microbothrium* nejvíce rozšířen ze všech druhů motolic. Dospělci tohoto druhu jsou oválného tvaru s hladkým povrchem a bílo-šedé barvy. Jejich délka je 130–170 µm a šířka 70–100 µm. Tento druh se nejvíce vyskytuje v Africe a Indii a infikuje kromě domácích zvířat i člověka. Jako jeden z mála druhů má i lékařský význam (Horak, 1962).

## **1.2 Rozšíření a prevalence motolic čeledi *Paramphistomidae* u skotu**

### **1.2.1 V České republice**

V České republice byly dosud u zvířete a domácích přežvýkavců detekovány druhy *P. cervi*, *P. microbothrium* a *P. ichikawai* (Kotrlá *et* Kotrlý, 1982; Kotrlá *et* Chroust, 1978). Oblasti výskytu jsou především na jižní Moravě a v jižních Čechách (Kotrlá *et al.* 1984; Kotrlá *et* Kotrlý 1982; Jurášek *et* Dubinský 1993). Výskyt motolic čeledi *Paramphistomidae* na území České republiky není neobvyklý, avšak této problematice není a nebyla věnována výraznější pozornost, až na pár autorů (Chroust 1964; Kotrlá *et* Chroust 1978; Kotrlá *et* Kotrlý, 1982; Kváč, 2003; Pavlásek, 1995).

### **1.2.2 V Rakousku**

Historie nálezů druhů paramphistomních motolic u divokých přežvýkavců v Rakousku uvádí pouze *P. cervi* u jelena obecného, srnce obecného a muflona (Kutzer *et* Hinaidy, 1969; Prosl, 1973) a na základě histologického záznamu *P. leydeni* u jelena obecného (Eduardo, 1982). Nedávná molekulární studie Wiedermann *et al.* (2021) prokázala v jednom chovu v Tyrolsku první nález *C. daubneyi*. V současné době je infekce motolicí bachoru u skotu v Rakousku velmi vzácná (Wenzel *et al.*, 2019).

---

### 1.2.3 V Evropě

V Evropě dosud nebyli původci tohoto onemocnění považováni za ekonomicky významné (Eduardo, 1983) a historicky se věřilo, že infekce je méně častá (Eslami *et al.*, 2011). Navzdory tomu, že byly v Evropě často hlášeny, byly infekce motolice bachorové považovány zjevně za zcela neobvyklé a za málo nebo vůbec klinicky významné (Forbes, 2021). Rostoucí počet zpráv z kontinentální Evropy, Britských ostrovů a Irska za poslední dvě desetiletí naznačuje rostoucí prevalenci paramphistomních infekcí u domácích přežvýkavců. V této souvislosti byla z Francie, Spojeného království a Irska hlášena ohniska onemocnění (akutní střevní) u skotu i ovcí (Huson *et al.* 2017; Wenzel *et al.*, 2019; Forbes, 2021). Výskyt infekce motolicí bachoru se natolik v posledních několika desetiletích dramaticky zvýšil v mírných oblastech západní Evropy, že mnoho studií prevalence identifikovalo motolici bachorovou jako běžnou parazitózu přežvýkavců v mírném evropském klimatu (Gonzales-Warleta *et al.*, 2013). Historicky se předpokládalo, že infekce motolice bachoru v Evropě jsou způsobeny hlavně *P. cervi* (nebo druhy, které byly později považovány za synonyma *P. cervi*), ale nedávná molekulární studie prokázala, že *C. daubneyi* by mohl být převládajícím druhem. Pro tento výzkum byly analyzovány dospělé motolice bachorové, izolované z 23 kusů skotu pocházejícího z deseti farem v Německu (Sasko (1), Bádensko-Württembersko (4), Bavorsko (5)) a jedné farmy v Rakousku (Tyrolsko), aby se stanovily dílčí sekvence. Motolice pěti zvířat (dojnice ze tří farem v Bavorsku) byly určeny jako *P. leydeni* a motolice 18 zvířat (dojnice nebo skot z provozů krav a telat z osmi farem v Sasku (1), Bádensku-Württembersku (4), Bavorsku (2) a Tyrolsku (1)) byly identifikovány jako *C. daubneyi*. Na základě molekulární analýzy dospělých motolic bachorových odebraných ze skotu byl potvrzen běžný výskyt *C. daubneyi* v Německu a odhaleny první definitivní nálezy *P. leydeni* v Německu a *C. daubneyi* v Rakousku (Wiedermann *et al.*, 2021).

Nejvyšší prevalence v Evropě je v Irsku a ve Velké Británii, kde se nákaza v minulosti vyskytovala ojediněle. V současné době je v těchto zemích popisován častý výskyt *C. daubneyi*. V letech 2010 až 2013 byla v Irsku popsána prevalence této motolice v rozmezí 40–50 % (Toolan *et al.*, 2015). Úroveň je 29–36 % ve Španělsku (González-Warleta *et al.*, 2013; Díaz *et al.*, 2007) a 59 % ve Walesu (Jones *et al.*, 2016). Další druhy motolic byly nalezeny v Srbsku – *P. microbothrium* (Pavlović *et al.*, 2012, 2014). V Nizozemsku rutinní testování všech vzorků trusu

---

přijatých Oddělením zdraví zvířat v období 2009–2014 odhalilo výskyt u 15,8 % skotu (Ploeger, 2017). Zprávy o výskytu motolic rodu *Paramphistomum* pocházejí převážně z Francie, kde parazitóze vyvolané těmito motolicemi byla věnována značná pozornost, kdy se prevalence pohybovala okolo 61 % (Silvestre *et al.*, 2000; Szmidt-Adjidé *et al.*, 2000). V Německu byly motolice v letech 1950 až 2000 zjištěny pouze příležitostně (Wenzel *et al.*, 2019), ovšem nedávné poznatky vyvolaly podezření o možném šíření (Bauer *et al.*, 2015; May *et al.*, 2019). V Maďarsku byly například nalezeny *P. cervi*, *P. leydeni*, *P. ichikawai* a *C. daubneyi* (Sey, 1991). Nejnovější poznatky potvrzují přítomnost bachorových motolic u skotu v Polsku, především *P. cervi* (Kobak *et al.*, 2012; Pilarczyk *et al.*, 2019).

Jako možná příčina zvýšení prevalence v Evropě je uváděna změna zemědělství ve smyslu zvýšeného ekologického zemědělství a tím extenzivní kultivace a zvyšující se podmáčení pastvin z důvodu ochrany přírody (Mage *et al.*, 2002; Foster *et al.*, 2008; Ploeger *et al.*, 2017).

#### 1.2.4 Ve světě

Motolice čeledi *Paramphistomidae* jsou celosvětově rozšířené s primárním výskytem v subtropických a tropických oblastech. Vysoká prevalence je podle Brotowidjoyo *et al.* (1979) v Austrálii, dle Sanguankiat *et al.* (2016) v Asii a dle Ahmad *et al.* (2013) v Africe. Vzestup výskytu je zaznamenán v mírném klimatickém pásmu (Martinez-Ibeas *et al.*, 2016).

Ve východní Austrálii byla podrobně studována prevalence *C. calicophorum* a *P. ichikawai*, které jsou tam rozšířené. Nejvyšší intenzita napadení a klinické příznaky se projeví zejména po zaplavení pastvin mohutnými srážkami (Rolfe *et al.*, 1991). Oba tyto druhy byly také identifikovány o několik let později u masného skotu ze stejné oblasti (Spence *et al.*, 1996). V Indii je nákaza paramphistomy považována za vážný problém kvůli vysokému výskytu. Skot je zde často infikován *C. cotylophorum* (Singh *et al.*, 1971). Dále byly hlášeny případy skotu infikovaného *P. cervi* v Thajsku (Anuracpreeda *et al.*, 2008) a v Kambodži s prevalencí 45–95 % (Dorny *et al.*, 2011).

V Africe se nejčastěji vyskytují motolice rodů *Calicophoron* a *Cotylophoron*. Postižení jsou jak domestikovaní, tak divocí přežvýkavci. Studie provedená na alžírských jatkách odhalila prevalenci *C. daubneyi* u skotu v rozmezí 1,2–12,1 %

---

(Titi *et al.*, 2010). Studie provedená v Egyptě zjistila výskyt *Paramphistomum* spp. u skotu v 7,3 % a buvolů v 10 % (Haridy *et al.*, 2006).

Na amerických kontinentech se *P. cervi* vyskytuje u skotu v rozmezí mezi 3,3–96,7 % v Mexiku (Rangel-Ruiz *et al.*, 2003) a *P. leydeni* v Argentině (Sanabria *et al.*, 2011). V Uruguayi je prevalence *Paramphistomum* spp. podle koprologických vyšetření u skotu 7 % u jednotlivých zvířat a 69 % na úrovni stáda (Sanchis *et al.*, 2013). V Severní Americe je *P. cervi* hlášen u aljašských karibu a losů (Dieterich, 1981). Další případy jsou hlášeny z mírného pásma Kanady (Lankester *et al.*, 1979; Kennedy *et al.*, 1985).

V Eurasii bylo detekováno *P. leydeni* u pižmoňů, ovci dallových nebo horských koz (Nikander, 1992). Hostitelé a geografické rozšíření bachorových motolic u přežvýkavců z kanadské a grónské Arktidy zůstávají prakticky neprozkoumání. Některé rysy životního cyklu motolic rodu *Paramphistomum*, líhnoucí se pouze nad 13 °C, a dlouhá doba vývoje cercárií při 20 °C v mezihostitelích hlemýžďů může omezit početnost a distribuci tohoto parazita v severních zeměpisných šířkách. Za povšimnutí stojí výskyt *Paramphistomum* spp. u sobů v ruské tajze. Druhy rodu *Paramphistomum* jsou typicky považovány za parazity tropických oblastí a nedávný zvýšený výskyt u domácích hospodářských zvířat v severnějších zeměpisných šířkách (DeWaal, 2010) může odrážet změny v geografické distribuci, pravděpodobně spojené s klimatickými změnami. Je třeba pokračovat v dalším průzkumu a inventarizaci v Arktidě.

### 1.3 Vývojový cyklus

Pro motolice čeledi *Paramphistomidae* je mezihostitel nezbytný, proto jsou charakteristické tzv. diheteroxenickým cyklem (Deplazes *et al.*, 2020). K dokončení svého vývoje (Obrázek 1) potřebují motolice dva hostitele – dvouhostitelský vývojový cyklus. Mezihostiteli motolic čeledi *Paramphistomidae* jsou plži z čeledi *Planorbidae* nebo *Lymnaeidae* (Campião *et al.*, 2010; De Núñez *et al.*, 2011).

Ve vajíčku se vyvíjí miracidium, které po 10–20 dnech opouští (Willmott, 1951). Miracidia opouští vajíčko pouze ve vodním prostředí při teplotě nad 10 °C a ve vnějším prostředí přežívají maximálně 24 hodin (Dunn *et al.*, 1987). Pokud se však teplota zvýší na více než 36 °C, vede to ke zkrácení životnosti a snížení aktivity. Plně vyvinutá miracidia se líhnou po působení světla a zvýšení teploty. U *P. cervi* je to od 13 °C, ale vyšší teploty kolem 22 °C jsou vhodnější (Kranenburg,

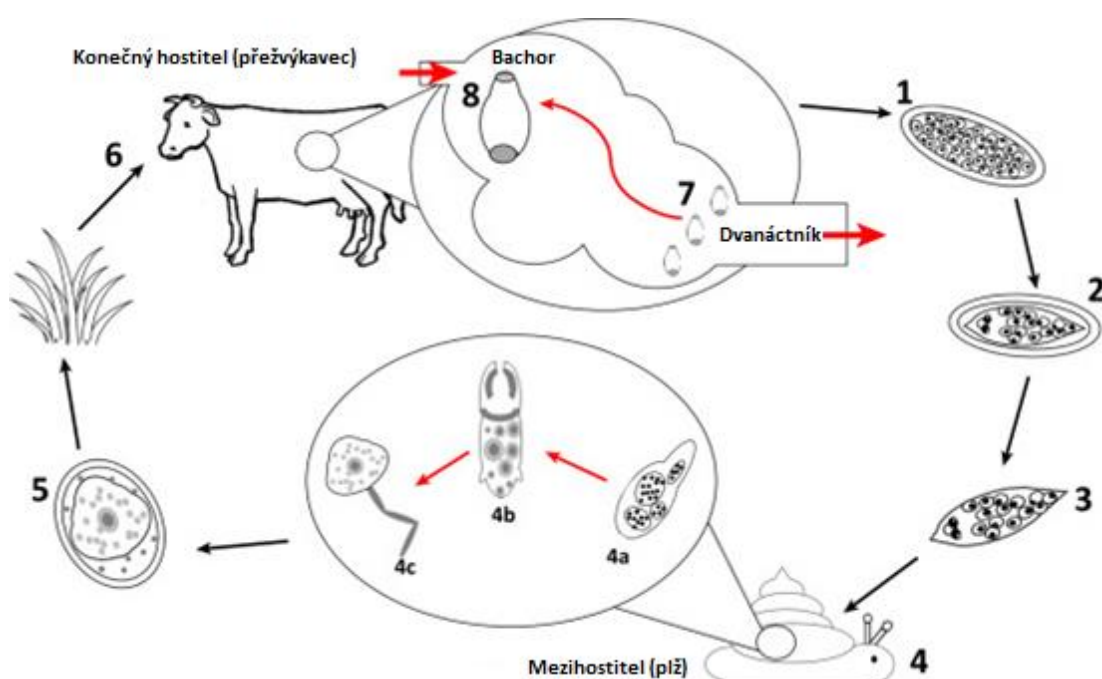
---

1977). Normálně miracidia plavou přímo vpřed. Když jsou však v blízkosti meziphostitele, pohybují se po malých eliptických drahách (Horak, 1971) a aktivně do hostitele pronikají (Dunn *et al.*, 1987). V meziphostiteli probíhá asexuální rozmnožování s reprodukcí tzv. cercárií (Malek, 1971; Burgu, 1981). Když jsou cercárie plně zralé, vylíhnou se z meziphostitele za předpokladu určité venkovní teploty. Například pro *P. cervi* je minimální teplota 18 °C (Kraneburg, 1977). Meziphostitelé jsou vystaveni denním teplotním výkyvům mezi 6 °C a 20 °C, což navíc zvyšuje aktivitu cercárií *C. dubneyi* (Abrous *et al.*, 1999b). Infikovaní plži mohou přežít až rok a vylučovat cercárie (Horak, 1971). Po opuštění meziphostitele se cercárie encystují a dávají vzniknout metacercárii tzv. adoleskárii, která ve vnějším prostředí může přežít až několik měsíců (Burgu, 1981; Malek, 1971). Životaschopnost metacercárie se snižuje suchem a kontaminací plísni (Horak, 1971), stejně jako poškozenými obaly cyst či po zmrazení ve vodě. (Kraneburg, 1977).

Další fáze vývojového cyklu motolice probíhá v definitivním hostiteli po požití krmiva kontaminovaného metacercáriemi na pastvině (Horak, 1971). V teplejších oblastech se mohou zvířata nakazit metacercáriemi po celý rok (Arias *et al.*, 2011). Po požití infekční metacercárie konečným hostitelem jsou tedy excystované larvy uvolněny do slezu, odkud migrují do dvanáctníku a pokračují ve vývoji po dobu 3–6 týdnů. Jejich přítomnost a migrace přes tenké střevo může způsobit značné škody (Hendrix *et al.*, 2006). Nezralá stadia mohou absorbovat velké části střevní stěny, což vede k nekróze (Hendrix *et al.*, 2006). Migrace juvenilních stadií *P. cervi* do bachoru skotu začíná kolem 34. dne po infekci a končí kolem 70. dne (Kraneburg, 1978a). Než se dostanou do bachoru, musí dosáhnout určité velikosti (Horak, 1967). V bachoru se dospělé motolice druhu *C. duabneyi* usazují nejraději v přední části bachoru a na přechodu mezi bachorem a jícnem (Gonzalez-Warleta *et al.*, 2013), zatímco *C. microbothrium* se vyskytuje především na bachorových pilířích (Mavenyegwa *et al.*, 2005).

Všeobecně motolice této čeledi migrují vždy z tenkého střeva do bachoru či žlučovodu dle charakteristiky druhu, kde po dosažení dospělosti produkují vajíčka, která jsou s trusem vylučována (Martinez-Ibeas *et al.*, 2016). Prepatentní perioda je podle Chinone *et Itagaki* (1977) 7–13 týdnů, dle Kraneburg (1978b) je to 7–16 týdnů. Hendrix *et al.* (2006) uvádí, že jakmile motolice parazitující v bachoru plně dozraje, parazit migruje zpět do bachoru a retikula, kde se přichytí na bachorové papily. Po několika týdnech přítomnosti v bachoru a retikulu je dospělá motolice schopna začít

produkovat vajíčka, která definitivního hostitele opouští spolu s výkaly. Nejrychlejší vývoj s nejvyšší rychlostí vylučování vajíček *C. microbothrium* byl pozorován u skotu ve srovnání s ovci či kozami (Horak 1967). Toto množství však převyšuje *P. cervi* u srnčí zvěře (Kraneburg, 1978b). Proto jsou divocí přežvýkavci často považováni za rezervoár těchto motolic (O'tole *et al.*, 2014), i když se v určitých zkoumaných oblastech navzdory infikovanému skotu nepodařilo nalézt žádnou zvěř pozitivní na motolici (Gonzales-Warleta *et al.*, 2013). V chladnějších oblastech tento parazit pravděpodobně také hibernuje v mezihostitelích (Kraneburg, 1977).



**Obrázek 1** Životní cyklus motolice bachorové, *Calicophoron daubneyi* (Upraveno dle Huson *et al.*, 2017).

Neembryonizovaná vajíčka procházejí z bachoru, přes gastrointestinální trakt a na pastvu v trusu hostitele (1). Vajíčka se za příznivých podmínek prostředí (přiměřená teplota a vlhkost) vylíhnou (2) v miracidia a najdou vhodného hostitele (plže) (např. *Galba truncatula*) (3). V mezihostiteli (4) se parazit množí nepohlavně a vyvíjí se prostřednictvím 3 larválních stádií (4a sporocysty, 4b redie, 4c cercárie), než se volně plovoucí cercárie uvolní z mezihostitele a encystuje na vegetaci (5). Metacercárie zůstávají dormantní, odolné vůči mírným změnám prostředí, dokud nejsou požřeny definitivním hostitelem (přežvýkavcem) (6). Parazité pak excystují v duodenu tenkého střeva (7), kde se nezralé motolice živí submukózou, dokud nejsou připraveny zahájit migraci do bachoru. V bachoru se zralá motolice pevně přichytí na stěnu bachorové papily prostřednictvím svalového acetabulu a uvolní vajíčko do obsahu bachoru (8).

---

### 1.3.1 Mezihostitelé

#### Čeľad' *Lymnaeidae* (Rafinesque, 1845)

Čeľad' *Lymnaeidae* je celosvětově rozšířenou čeledí měkkýšů, do které patří druhy nejběžnějších sladkovodních plžů v České republice. Jejich význam tkví i v tom, že většina těchto plžů slouží jako mezihostitelé mnoha helmintů, a proto se kromě malakologů zabývají jejich studiem i parazitologové. Nejčastěji slouží jako první mezihostitel motolic a v menší míře jako mezihostitelé některých hlístic. Uvádí se, že se podílí na vývojovém cyklu přinejmenším 71 druhů motolic (Bargues *et al.*, 2001).

Nejznámějším druhem je *Galba truncatula*, která se vyskytuje na území celé Evropy a Asie. Byla introdukována do Jižní Ameriky, kde se dobře adaptovala (Glöer, 2002). Vzhledem k tomu, že *C. duabneyi* se vyskytuje především v Evropě (Gonzalez-Warleta *et al.*, 2013; Jones *et al.*, 2017a; May *et al.*, 2019), hlavní těžišť jeho mezihostitele je na tomto plži (Augot *et al.*, 1996; Rondelaud *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2017b). *Galba truncatula* má širokou ekologickou valenci a vyskytuje se vždy na hranici vody a souše. Velmi vydatné srážky mohou smýt stádia plžů a vajíček motolic a v důsledku toho nemůže dojít k další infekci (Rapsch *et al.*, 2008; Iglesias-Pineiro *et al.*, 2016). V podmínkách České republiky obývá tento druh lokality v nadmořských výškách od 100 do 800 m n. m. (Erhardová-Kotrlá, 1971). Ve střední a západní Evropě je populace nejvyšší v pozdním létě a na podzim (Deplazes *et al.*, 2020), avšak v případě intenzivních veder v letních měsících může velká část populace tohoto plže vymřít (Schade-Weskott, 2019). V Jižní Americe se však adaptovala na daleko vyšší nadmořské výšky (např. na náhorní plošinu Altiplano v Andách, jejíž průměrná výška činí zhruba 4000 m n. m. (Mas-Coma *et al.*, 2005). Druh je obojetného pohlaví. Potravou mu jsou řasy a dentrit. Za jeden kalendářní rok může mít *G. truncatula* dvě až tři generace (Beran, 2002).

S ohledem na svoji funkci mezihostitele je zvláštní *G. truncatula* i tím, že je mezihostitelem i jaterní motolice *Fasciola hepatica*. Dokonce se stává, že se u mezihostitele mohou nacházet oba parazité současně (Jones *et al.*, 2015). K tomu však dochází pouze v případě, že se obě miracidia vyskytnou v definovaném časovém období (Augo *et al.*, 1996). Podle toho je jeden ze dvou druhů dominantní a vyvíjí se v trávicím traktu mezihostitele, zatímco druhý musí přejít do jiných orgánů a tam se vyvine jen několik redií (Rondelaud *et al.*, 2007). Tato přirozená smíšená infekce je však velmi vzácná. Čím větší je mezihostitel, tím vyšší je

---

pravděpodobnost infekce *F. hepatica* a tím nižší je pravděpodobnost infekce *C. daubneyi* (Iglesias Pineiro *et al.*, 2016).

Vůči přenosu parazitárních onemocnění celé řady motolic a hlístic (Erhardová-Kotrlá, 1971), bojovali chovatelé proti *G. truncatula* již v 60. letech pomocí aplikace moluskocidů na pastviny, což bylo účinné pouze na jednu pastevní sezónu. (Willomitzer *et al.*, 1976). Od jejich používání se muselo odstoupit, jelikož působily i na jiné druhy měkkýšů a bezobratlých (Balbo *et al.*, 1989).

#### Čeľad' *Planorbidae* (Rafinesque, 1815)

Čeľad' *Planorbidae* je čeľad' sladkovodních plžů mající celosvětové rozšíření. Žijí ve sladké vodě, ale několik druhů je schopno přežít i ve vodě brakické. Čeľad' *Planorbidae* je druhově nejpočetnější skupinou vodních plžů z podtřídy Pulmonata a celosvětově zahrnující zhruba 250 druhů (Strong *et al.* 2008). Z druhů vyskytujících se na našem území jsou to z taxonomického hlediska především zástupci rodů *Anisus* a *Gyraulus*. Vodní plži rodu *Anisus* jsou v České republice zastoupeni pěti druhy: poměrně běžným druhem *A. vortex*, velmi vzácným druhem *A. vorticulus* a dále *A. spirorbis*, *A. leucostoma* a *A. septemgyratus* (Anderson, 2005; Glöer *et Zettler*, 2005). Všechny tyto druhy obývají stejné biotopy (periodické tůně, případně periodické okraje trvalých tůní) (Beran, 2002), ekologicky se liší tím, že *A. leucostoma* je méně náročný na kvalitu biotopu a má větší ekologickou valenci. Druh *A. septemgyratus* byl u nás objeven teprve v roce 1998 na jižní Moravě (Beran *et Horsák*, 2002).

Na rozdíl od ostatních měkkýšů, kteří mají jako krevní barvivo hemocyanin, čeľad' *Planorbidae* má hemoglobin, který jim dává jejich načervenalou až červenou barvu, a také jim umožňuje efektivnější dýchání kyslíku, díky čemuž vydrží pod vodou mnohem déle než plovatka bahenní. Je to plicnatý druh, takže dýchá i atmosférický kyslík. V dobře okysličené nádrži však nemusí dlouhou dobu vůbec vylézat k hladině, aby si doplnil zásobu kyslíku (Hudec *et al.*, 2007). V okolí dýchacího otvoru (zvenku nebo přímo uvnitř plášťové dutiny) mají přívěsky, které jim slouží k doplňkovému (přechodnému) dýchání. Takže v okysličené vodě vydrží velmi dlouho a nemusí se nadechovat u hladiny. Někteří tak mohou dýchat celý život a nikdy k hladině nejdou, např. *Ancylus fluviatilis* (Vaught, 1989). Jejich stravou jsou řasy, detrit, zbytky odumřelých rostlin a živočichů. Dospělí jedinci si rádi

---

pochutnají na jikrách. Vzhledem k tomu, že zdravou rostlinu nikdy nenapadá, je ve vodních zdrojích velmi vítaný (Juříčková *et al.*, 2001).

Stejně jako *G. truncatula* může i *Lymnaea glabra* sloužit jako mezipositel pro *C. daubneyi* a *F. hepatica* a stejně tak může být infikována oběma parazity současně. Při smíšené infekci se cercárie obou druhů motolic mohou vylučovat současně. Naproti tomu se ukazuje, že produkce metacerkárií obou motolic je u *L. glabra* nižší než u *G. truncatula*, což ukazuje na stále neúplnou adaptaci parazitů na plže (Vignoles *et al.*, 2017).

### 1.3.2 Smíšená infekce čeledi *Paramphistomidae* s *Fasciola hepatica*

Smíšená infekce *C. daubneyi* s *F. hepatica* je často popisována v literatuře (Arias *et al.*, 2011; Bellet *et al.*, 2016; Iglesias-Pineiro *et al.*, 2016; Naranjo Lucena *et al.*, 2018; May *et al.*, 2019). Důvodem smíšené infekce je obvykle společný mezipositel a související podobná epidemiologie (Rinaldi *et al.*, 2009; Arias *et al.*, 2011; Gordon *et al.*, 2013; Toolan *et al.*, 2015; Bellet *et al.*, 2011, 2016; Sargison *et al.*, 2016; Jones *et al.*, 2017a).

### 1.3.3 Definitivní hostitelé

Druhy parazitující u hospodářských zvířat a vysoké zvěře jsou charakterizovány nízkou hostitelskou specifitou a mají řadu společných definitivních hostitelů, jako jsou domácí a volně žijící přežvýkavci, ale i prasata (Hassan *et al.*, 2006; Dada-Adegbola *et al.*, 2004). Vysoká zvěř často představuje rezervoárové hostitele (O'Toole *et al.*, 2014; Cauquil *et al.*, 2016).

První lidský případ infekce Paramphistomatidae byl zaznamenán ve Venezuele. Příklad s klinickým průběhem patří desetileté dívce ze státu Portuguesa, která měla rok klinické příznaky: bolesti břicha, nevolnost, zvracení a průjem, ve kterém se nacházely vejčité struktury dospělých jedinců. Výživa dívky byla nedostatečná na bílkoviny a kalorie, a samotná potrava pocházela z okolí řeky poblíž domova, který se nacházel v oblasti se špatnými sociálně-hygienickými podmínkami a byl obklopen rýžovými poli s velkými plochami, které jsou v průběhu roku vystaveny povodním (Longa *et al.*, 2010).

### 1.3.4 Biotopy výskytu

Výskyt motolic závisí na několika faktorech. Patří mezi ně druhy definitivních a přechodných hostitelů (Rolfe *et al.* 1991), potenciál motolic infikovat tyto hostitele

---

(Dinnik, 1954, 1964; Horak, 1967), topografie a biologický potenciál meziphostitelů (Dinnik, 1964; Horak, 1971, Rolfe *et al.*, 1991, Swart *et al.* Reinecke (1962a, 1962b), pastevní návyky a také klima (Rolfe *et al.*, 1991).

Riziko nákazy motolicemi zvyšují zejména klimatické podmínky (teplota a srážky) vhodné pro vývoj motolice a život meziphostitele (plže). Vyšší prevalence a distribuce motolice je zaznamenávána v oblastech, kde se průměrná roční teplota pohybuje v rozpětí 10–25 °C (Freitas, 2014). Plži se vyskytují hlavně v bažinách a stojatých i tekoucích vodách (Kuerpick, 2012). Pro dobytek proto představují riziko pastviny, na kterých se nacházejí vodní plochy, nebo sem mají přístup volně žijící přežvýkavci, kteří mohou kontaminovat prostředí svým trusem (Howell, 2015; McCann, 2010; Foreyt, 1976). Motolice se mohou také přizpůsobovat novým podmínkám, např. motolice vyskytující se zejména v nížinách se může přizpůsobit i vyšším nadmořským výškám 3800–4100 m n. m. (oblast Altiplano) (Mas-Coma, 2001).

Sezónní produkce vajíček je pozitivně ovlivněna v období dešťů, jelikož značné množství srážek má významný vliv na reprodukční soustavu samčího i samičího pohlaví. K nákaze zvířat dochází především v období zaplavení pastvin, kdy je reprodukční soustava dobře vyvinuta a děloha je naplněna vajíčky (Nikander *et al.*, 2009; Swarnakar *et al.*, 2014).

#### **1.4 Klinické příznaky onemocnění a patogenita**

Rozlišují se střevní a bachorové fáze onemocnění paramphistomy (Deplazes *et al.*, 2020). Střevní infekce je z hlediska klinického onemocnění významnější, protože juvenilní formy motolice poškozují střevní sliznici přichycením do střeva svým acetabulem, což vede k destrukci střevních klků a infekci střevní stěny (Rolfe *et al.*, 1994). Projevy a průběh infekce závisí na mnoha faktorech, jako je věk, zdravotní stav hostitele a jiné (Pybus, 2001).

Infekce paramphistomními motolicemi se nejčastěji poprvé objevuje mezi 1. a 2. rokem věku (Yeneneh *et al.*, 2012; Forbes, 2018). Uvádí se, že dospělí domácí přežvýkavci mají mnohem vyšší prevalenci ve srovnání s mladými zvířaty (Howell, 2011; Kanyari *et al.*, 2009; 2010; Keyyu *et al.*, 2005; 2006; Nzalawahe *et al.*, 2014; Pfukenyi, 2005b; Vassilev 1999). To je přičítáno dlouhé době expozice u dospělých jedinců, která vede k imunitě proti patogenním účinkům nezralých amphistomů, ale zralé amphistomy si stále zachovávají vysokou kapacitu produkce vajíček (Horak,

---

1971). Dospělé motolice nejsou spojeny s klinickou nákazou amphistomy, avšak velmi patogenní jsou juvenilní formy, které ve sliznici duodena svými přísavkami způsobují nekrózy a vyvolávají hemoragický zápal, proto je patogenita spojována s nedospělými s (Mavenyengwa *et al.*, 2010). Dospělé formy lokalizované v bachoru jsou zvířaty dobře snášené a jen zřídka vyvolávají potíže (Kváč, 2003). Patogenita paramphistomních motolic je dána především migrací juvenilních stádií tkáněmi tenkého střeva a předžaludky, které se přichytávají na jejich stěny (Horak, 1971). Patologicko-anatomické změny se nacházejí v migračních drahách motolic v tenkém střevě a slezu, a také v místech úponu v bachoru. Sliznice střeva je zarudlá, oteklá a objevují se úseky petechiálních krvácení. Hluboko mezi klky lze nalézt mladé motolice. Abomasální sliznice je katarálně zanícená v oblasti pyloru. V místech připojení břišní přísavky vznikají knoflíkovité výběžky sliznice bachoru a atrofie klků. Poškození papilárního tělíska v místech připojení může vést k atrofii a nekróze nebo výrůstkům papilárního tělíska a buněčné infiltraci submukózy (Deplazes *et al.*, 2013), či infiltraci zánětlivých buněk (Fuertes *et al.*, 2015). Postižené zvíře po 3 až 4 týdnech od nakažení trpí průjmy s krvavými hleny (Kváč, 2003). Jedinec je dehydratovaný, trpí nechutenstvím a vlivem špatného vstřebávání potravy i úbytkem hmotnosti, což vede k celkovému oslabení organismu (Dorny *et al.*, 2011). Snížení doживosti během klinické nákazy paramphistomy je spojeno s páchnoucím průjmem (Mohan, 2011). Yogeshpriya *et al.* (2011) uvádí anestrus během klinické nákazy paramphistomy. V důsledku vysoké intenzity nákazy dochází i k častým úhynům infikovaných jedinců (Kumar *et al.*, 2016).

Akutní a subakutní nákaza paramphistomy je však pozorována během migrace motolic bachoru v duodenu a slezu, a může být spojena s klinickými příznaky. Klinický průběh závisí na věku, intenzitě napadení a typu patogenu. Po nashromáždění až 50 000 metacerkárií za experimentálních podmínek může střevní nákaza paramphistomy způsobit těžkou katarální enteritidu (Boray, 1969a; Millar *et al.*, 2012). Dospělí jedinci motolic hostiteli nezpůsobují v chronické fázi závažnější potíže, ale může být zaznamenán průjem a snížení tělesné hmotnosti (Rojo-Vázquez *et al.*, 2012). Dospělí jedinci parazitující ve žlučovodech mohou způsobit např. fibrózu žlučvodů (Ahmedullah *et al.*, 2007; Haque *et al.*, 2011).

#### **1.4.1 Imunitní reakce**

Po překonání infekce je navozena imunita, která do značné míry brání opětovné kolonizaci a migraci bachorových motolic ve střevní sliznici (Mason *et al.*, 2013).

---

Dále byla také prokázána rezistence na reinfekci u skotu (Horak, 1967) bez simultánních studií na buněčných efektorových systémech, které charakterizují získanou rezistenci. Mavenyengwa *et al.* (2008) uvádí, že imunitní odpověď na reinfekce *C. microbthrium* u skotu zahrnuje eozinofily a žírné buňky, které jsou zaměřeny na nezralé motolice. Dospělí jedinci působí jako stálý zdroj infekce, ale klinická nákaza paramphistomy zůstává problémem pro mladá zvířata, přičemž dospělí jedinci spásající stejné pastviny nevykazují žádné klinické účinky navzdory pokračující produkci vajíček (Boray 1959; 1969; Butler *et al.* 1962; Rolfe *et al.*, 1991). Amphistomy mohou v definitivních hostitelích přežít až dva roky, čímž poskytují prakticky stálý zdroj infekce pro následující generace plžových meziphostitelů (Keyyu *et al.*, 2005, 2006).

Pfukenyi *et al.* (2005a) pozorovali významně vyšší prevalence u březích a laktujících krav ve srovnání s býky, voly a zaprahými krávami. Podobně Howell (2011) uvádí významně vyšší prevalenci u samic skotu ve srovnání se samci. Rozdíly mezi pohlavími by pravděpodobně mohly souviset se vzorci pastvy, pohlavními hormony a léčebnými režimy.

## 1.5 Diagnostika

Aby byla zvolena správná léčba, prvním krokem je diagnostika. U motolic je hlavním požadavkem možnost vyšetření v jakékoliv fázi nákazy. Pro jednotlivé skupiny a druhy motolic je tedy nezbytné zvolit vhodnou metodu diagnostiky, a to pomocí hodnot sensitivity a specifity (Anderson *et al.*, 1999).

Zatímco diagnostika infekce motolic bachoru je založena na důkladné prohlídce předžaludků na dospělé jedince, detekci vajíček ve výkalech nebo na zjištění nedospělých motolic ve stolici nebo při pitvě, identifikace motolic na úrovni druhu je náročná. (Forbes, 2021). Morfologické rozdíly, které vyžadují jemné strukturní zkoumání (světelná a elektronová mikroskopie), jsou poměrně jemné a náchylné k ovlivnění podmínkami, kdy byly motolice odebrány. Druhová identita a taxonomie paramphistomí vyskytujících se při infekci přežvýkavců, specifčnost meziphostitele a životní cyklus byly tedy předmětem intenzivních diskusí v 70. a počátkem 80. let a vedly k několika případům záměny, chybné identifikace a vytváření synonym (Odening *et al.* 1979; Sey, 1980, 1982; Odening, 1983). Práce za posledních 15 let však ukázaly, že tyto problémy lze řešit pomocí metod molekulární identifikace (Mitchell *et al.*, 2021).

---

Pro diagnostiku motolic čeledi *Paramphistomidae* se v současné době používají koprologické metody, kdy vajíčka zjišťujeme mikroskopickým vyšetřením trusu (sedimentačně-koncentrační metody). Je nutná diferenciální diagnostika od vajíček *F. hepatica* a *Fascioloides magna* (Dyk et Zavadil, 1981; Jurásek et al., 1993), které jsou menší a mají i jiné zbarvení (slámově žluté). Další metodou je vyšetření předžaludků poražených, mrtvých nebo utracených zvířat. Ve Španělsku bylo zjištěno, že testování trusu neodhalilo všechny infekce, které byly později potvrzeny vyšetřením předžaludků (Gonzalez-Warleta et al., 2013). V dalších studiích srovnávajících koprologickou metodu a vyšetření předžaludků, se však nepodařilo stanovit žádné významné rozdíly v přesnosti (Malrait et al., 2015).

### 1.5.1 Koprologická diagnostika

Koprologická diagnostika je jednou z nejvíce používaných metod k diagnostice motolic díky rychlému provedení (Rieu et al., 2007; Sargison et al., 2016). Nevýhodou je prepatentní perioda motolic a možná záměna vajíček v identifikaci druhu motolic, což může vést ke zvolení nevhodné léčby (Gordon et al., 2013). Délka prepatentní periody byla popsána jen u některých druhů paramphistomních motolic, např. *C. calicophorum* - 11–13 týdnů (Durie, 1956), *P. ichikawai* - 7 týdnů (Horak, 1971), *P. microbothrium* - 8–16 týdnů (Horak, 1971).

Metody, které zjišťují přítomnost parazita v těle hostitele, jsou metody flotační, sedimentační a metody nátěru. Metoda určující počet vajíček na gram trusu (EPG = Eggs Per Gram), je metoda McMasterova (Vercruysse, 1992).

#### Flotační metody

Flotační metoda se často využívá k celkovému parazitologickému vyšetření trusu na přítomnost parazitárních útvarů, včetně vajíček motolic (Yılmaz et. Gödekmerdan, 2004). Příkladnou metodou je metoda FLOTAC, při níž se vajíčka vyplaví na povrch obsahu zkumavky a zkoncentrují se v povrchové blance, jelikož vajíčka mají nižší specifickou hmotnost než flotační roztoky. Jako flotační médium se používá například roztok thiosíranu, chlornan zinečnatý, dusičnan sodný či Sheatherův roztok. Podle Faust et al. (1938) a Wobeser (1985) se vzorek trusu navlhčí pár kapkami vody, důkladně rozmělní a rozmíchá v dalším množství vody. Suspenze se zcedí přes jemné sítko nebo gázu a centrifuguje se 2 minuty při nízkých otáčkách. K sedimentu se pak přidá několik mililitrů vody a smíchá se s flotačním roztokem tak, aby hladina

---

dosahovala těsně pod okraj zkumavky a vzorek se centrifuguje. Po centrifugaci se opatrně dolije flotační roztok do zkumavky tak, aby bylo možné na meniskus tekutiny přiložit krycí sklíčko, na kterém vajíčka ulpí. Výhodou flotačních metod je dobré očištění vajíček a možnost vyšetření velkého množství trusu, oproti metodám nátěru a McMasterově metodě (Cringoli *et al.*, 2010).

Druhou metodou řadící se mezi koprologické metody u paramphistomních motolic u přežvýkavců je flotační metoda mini-FLOTAC, která byla testována u skotu s nákazou *C. daubneyi* a následně byla doporučena jako vhodná metoda pro koprologickou diagnostiku patentní fáze nákazy paramphistomními motolicemi u přežvýkavců (Malrait *et al.*, 2015).

### Sedimentační metody

Tato metoda využívá gravitace a hustoty roztoku k tomu, aby se vajíčka motolic sedimentovala na dně nádoby. Podle Thienpont *et al.* (1980), Anh *et al.* (2008) či Adedokun *et al.* (2008) se trus rozmíchá s vodou a následně zcedí přes sítko, čímž se větší zbytky potravy zachytávají v sítku od menších částí s vajíčky. Suspenze se nechá odstát, aby mohla vajíčka sedimentovat. Po 5 minutách se ze dna nádoby pipetou odebere několik kapek vzorku, který se nanese na podložní sklíčko a přikryje sklíčkem krycím (Wongsawad *et al.*, 2009; Truant *et al.*, 1981). Pokud se s využitím sedimentační metody nepodaří vajíčka zachytit, doporučuje se zopakovat koncentraci vajíček metodou flotační (Demelash *et al.*, 2016). Jelikož vajíčka bachorových motolic vypadají podobně jako *F. hepatica*, je velmi obtížné je rozeznat pod mikroskopem. Možné je přidat methylenovou modř, využívanou jako kontrastní látku, která může pomoci v rozeznání vajíček od sedimentu (De Wall, 2010). V koprologické diagnostice paramphistomních motolic se sensitivita a specifita sedimentačních metod hojně využívá i ve vědeckých pracích, ačkoliv nebyla nikdy přímo testována.

Je však nutné poznamenat, že ačkoli principy zůstávají stejné, sedimentace se v každé laboratoři provádí jinak. Existují rozdíly v množství stolice (použité jako výchozí vzorek), v době sedimentace vzorku a příslušné velikosti ok síta. Dále ve způsobu odstranění supernatantu, kdy EPG se vypočítává či nikoliv. Prvním příkladem je učebnice parazitologie pro veterinární medicínu, kde se 5–10 g trusu smíchá s vodou na homogenní suspenzi a poté se přecedí přes síto o velikosti ok 250–300 µm do zkumavky. Sedimentační proces probíhá jednou nebo dvakrát po

---

3 minutách (Deplazes *et al.*, 2020). Pro lepší homogenizaci vzorku byly přidány skleněné kuličky. Vzorek byl prolit přes síto o velikosti ok 150  $\mu\text{m}$  a dále sedimentován třikrát po dobu 20 minut. K takto získanému sedimentu byla přidávána voda, dokud nebylo získáno 10 ml. Z toho byl zkoumán 1 ml pod mikroskopem a vypočteno EPG (Iglesias-Pineiro *et al.*, 2016). Druhým příkladem je irská studie, ve které byly použity jako výchozí vzorek 3 g trusu, kdy první sedimentace trvala 10 minut. Dále byl supernatant odlit po opakované sedimentaci po 5 minutách a následně byla znovu přilita voda, dokud nebyl supernatant po sedimentaci čirý. Sediment byl smíchán se dvěma kapkami methylenové modři a kvalitativně vyšetřen v Petriho misce na výskyt vajíček (Toolan *et al.*, 2015). Výsledky byly kategorizovány jako 0 (negativní) +, ++ a +++ (Zintl *et al.*, 2014). Třetím příkladem je studie z Walesu, kdy bylo použito 20 g trusu, smícháno s vodou a nejprve proseto přes síto o velikosti ok 300  $\mu\text{m}$ , dále 150  $\mu\text{m}$  a nakonec přes 45  $\mu\text{m}$ . Materiál, který zůstal na 45  $\mu\text{m}$  sítu byl přenesen do zkumavky a sedimentován po dobu 7 minut. Supernatant byl odsát a tento postup byl opakován třikrát až čtyřikrát. Celý sediment byl obarven methylenovou modří a nalit do Petriho misky. Nakonec byla vajíčka pod mikroskopem spočítána (Jones *et al.*, 2017a).

#### Nátěrové metody

Nátěrové metody spočívají v tenkých nátěrech vzorků trusu na podložní sklíčko, což je velmi snadné a rychlé, netrpí-li zvíře průjmem. Výhodou je potřeba velmi malého vzorku trusu. (Kongs *et al.*, 2001).

#### McMasterova metoda

Tato metoda navazuje na flotační metodu, kdy postup je stejný jako u flotace, ovšem tekutina z hladiny se vlije do McMasterovy komůrky (Taylor, 2010). Flotačním roztokem může být např. tetrajodortuřnatan draselný, který je však toxický. Čtverce v ní obsažené umožňují vypočítat množství vývojových stádií parazitů v gramu trusu pod mikroskopem. Pomocí vyznačených čtverců jsou vajíčka spočtena a následně přvedena na EPG. Tato metoda je velmi rychlá, jednoduchá a umožňuje vypočítat intenzitu infekce (Pereckiene *et al.*, 2007). Jeden experiment této metody na paramphistomní motolice určil sensitivitu 94 % a specifitu 100 %, což dokazuje vhodnost pro diagnostiky (Rieu *et al.*, 2007). Vzhledem k tomu, že vajíčka motolic jsou poměrně těžká, je nutné použít flotační kapalinu s měrnou hmotností nad 1,35.

---

Byla pozorována významná korelace mezi počty EPG a závažností infekce. Nález více než 100 vajíček na gram trusu byl známkou toho, že bachor nebo retikulum obsahovalo více než 100 dospělých motolic. Malrait (2015) použila hraniční hodnotu 200 EPG k rozlišení těžké infekce (více než 201 dospělých bachorových motolic v bachoru) od mírnějších infekcí. Podle McMasterovy metody (10 vajíček na gram – EPG) se rozlišuje síla infekce na nízkou (10–100 EPG), střední (100–499 EPG) a těžkou (nad 499 EPG) (Sancho, 2013). Mage *et al.* (1998) ve své studii pozorovali, že při slabé intenzitě nákazy 1–12 dospělými jedinci v těle hostitele byla hodnota EPG 7–15, zatímco při silnější intenzitě (29–628 dospělců) byla průměrná hodnota EPG 41,5. Množství vajíček ve výkalech však nevypovídá nic o patogenitě infekce, protože příznaky jsou primárně způsobeny nezralými stádii. Kontrola trusu během nezralých stádií může vést k falešně negativnímu výsledku. Je to dáno tím, že nezralá stadia vajíčka nevyklučují. U těžce infikovaných zvířat je možné v trusu zjistit červené nezralé bachorové motolice.

### 1.5.2 Molekulární diagnostika

Molekulární metody jsou v parazitologii často využívány pro identifikaci a diferenciaci jednotlivých parazitárních organismů, včetně motolic. Těmito metodami je teoreticky možné diagnostikovat nákazu např. *F. hepatica* a *P. cervi* na základě průkazu přítomnosti DNA pocházející z vajíček motolic v trusu hostitelského organismu (Králová-Hromadová *et al.*, 2008). Nejprve je nutné provést izolaci DNA, která bude sloužit jako matrice pro amplifikaci konkrétního úseku. Izolaci je možné provést z rozrušených stěn vajíček motolic ve stolici, např. homogenizací pomocí ultrazvuku nebo keramických kuliček (Harmon, 2006). Výhodou je identifikace druhu již malého množství DNA. Nevýhodou je sezónní produkce vajíček (Hanna *et al.*, 1988; O'Toole *et al.*, 2014). V současné době jsou molekulární metody navrhovány především pro identifikaci druhů paramphistomních motolic (Itagaki *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2013).

### 1.5.3 Imunologická diagnostika

Imunologická diagnostika slouží k průkazu protilátek proti danému parazitovi (Yamchi *et al.*, 2016). U motolic čeledi *Paramphistomidae* se jedná o významnou metodu z důvodu sezónní produkce vajíček (Saifullah *et al.*, 2012) a odhalení juvenilních stádií (Kaur *et al.*, 2009, 2013). Nevýhodou bývají pozůstatky protilátek

---

v séru hostitele, které zde mohou zůstat po již vyléčené nákaze, a následkem je falešný pozitivní výsledek (Guobadia *et al.*, 1995; Castro *et al.*, 2000). Příkladem těchto metod je hemaglutinace, ELISA (Enzym-Linked-Immunosorbent Assay), imunoblot a stále se testuje několik metod imunologické diagnostiky těchto motolic (Kaur *et al.*, 2009; Saifullah *et al.*, 2012; Shameem *et al.*, 2016). Významným přínosem by byla metoda, která by detekovala přítomnost protilátek i v prepatentní fázi (Díaz *et al.*, 2006).

#### 1.5.4 Biochemické vyšetření

Hodnoty jaterních enzymů patří mezi zastaralejší a často spíše nespolehlivé ukazatele onemocnění. Vyšší hodnoty poukazují na poškození jater, které může souviset s parazitární infekcí, ale mohou mít také jiné příčiny (hepatitida, tumor) (Dorchies, 2007).

#### 1.5.5 Hematologické vyšetření

Hematologické vyšetření periferní krve může, stejně jako vyšetření biochemické, poukázat na parazitární onemocnění. Příkladem může být *F. hepatica*, která se při migraci do jaterní tkáně živí krví, což může být příčinou anémie, kterou lze diagnostikovat v důsledku snížení počtu erytrocytů, hematokritu a hemoglobinu (Doubek, 2003). Další možností je vyšetření krevního obrazu pro stanovení hladiny protilátek IgE, které se u zdravých jedinců nachází pouze v nepatrném množství a zvýšené hodnoty jsou důsledkem parazitárních onemocnění (Toman, 2009).

### 1.6 Prevence a léčba

Správný plán hospodaření s pastvinami, který zajistí, že krávy nezůstanou v bažinatých oblastech, je jednou z nejdůležitějších věcí, které lze zavést. Neumožnění pastvy mladých, vnímavých zvířat se staršími zvířaty nebo neumožnění pastvy mladých zvířat v nejnebezpečnějším období pastevní sezóny může výrazně snížit infekční tlak. Pokud jsou ve stádě infikované dojnice a na jednotlivých pastvinách jsou mezihostitelská stanoviště, doporučuje se systém střídání pastvin, kdy se zvířata střídavě přemísťují na infekční a neinfekční pastviny (Boray, 1971), což by mělo v maximální možné míře zabránit kladení vajíček na infekční pastviny (Knubben-Schweizer *et al.*, 2011). Zda může dojít k infekci také při zkrmování siláže kontaminované metacerkáriemi, nelze podle současného stavu vědy zodpovědět (John *et al.*, 2019). Drastické snížení šancí sladkovodního plže na přežití zajištěním

---

dobrého odvodnění pastvin s vysokou hladinou vody také významně sníží infekce motolice bachoru. Ochrana zvířat před nákazou začíná důsledným odčervěním všech nově nakoupených, nebo jen přehnaných jedinců před zařazením do základního stáda. Předcházení tohoto onemocnění docílíme tím, že se dobytek nebude pást na zamokřených pastvinách a nebude mít možnost se napájet z přirozených vodních toků, ve kterých se nachází potenciální mezipřenositelé (Volf *et al.*, 2007), stejně jako tomu dala za pravdu nedávná studie provedená Edinburskou univerzitou, která odhalila, jak rozsáhlý vliv intenzivních pohybů zvířat má na šíření infekce (Sargison *et al.*, 2019). Dalším preventivním opatřením je dobré usušení zamokřených porostů a píce nebo silážování. Čerstvý hnůj z promořených chovů zásadně nepoužívat k hnojení pastvin a luk. Hnůj musí být řádně uložen, případně kompostován a použit až třetí rok mimo areál luk a pastvin (Willomitzer *et al.*, 1976; Jurásek *et al.*, 1993). Na základě tohoto výsledku je kromě preventivních opatření samozřejmě nutná řádná kontrola parazitů, jako je boj s mezipřenositelem prostřednictvím snižování hladiny vody. Jednotlivá opatření proti výskytu motolic lze rozdělit na fyzikální, chemické a biologické.

- fyzikální – odvodňování a vysoušení pastvin (Charlier, 2014),
- chemické – použití moluskocidů (hubení plžů) je v současnosti diskutabilní, přípravek Frescon (účinná látka N-tritylmorfolin) byl užít pro kontrolu infekce *F. hepatica* u ovcí, již při jedné aplikaci dosáhla účinnost 90 %, ale při použití moluskocidů dochází také k poškození ekosystému; alternativou jsou moluskocidy z rostlinných extraktů (Hammami, 2011; Crossland, 1976),
- biologické – introdukce plžů, kteří eliminují výskyt mezipřenositelského plže nebo vysazení přirozeného predátora; např. zavedením plžů *Zonitoides nitidus* a *Oxychilus draparnaudi* došlo k eliminaci *G. truncatula* (mezipřenositel fasciolidních motolic) již po jednom roce (Rondelaud, 2006).

Studie Arias *et al.* (2013) sledovala účinnost Albendazolu, Netobiminu, Klossantelu a Oxyklozanidu při léčbě motolice bachorové *Calicophoron daubneyi* u přirozeně infikovaných krav. Oxyklozanid a Klossantel, oba podávané perorálně, byly v této studii považovány za účinné. Literatura doporučuje Oxyklozanid – registrovaný pro léčbu motolice jaterní – jako „molekulu volby“ pro léčbu zralé motolice bachorové. Dávka Oxyklozanidu používaná při léčbě infekcí bachorovou motolicí je vyšší než registrovaná dávka pro infekce motolicí jaterní. Rolfe *et al.* (1987) a Alzieu *et al.*

---

(1999) studovali účinek různých dávek Oxyklozanidu na dospělé a nezralé motolice v bachoru. Eliminace nezralých motolic vhodnou anthelmintickou terapií je hlavním cílem a v těžkých případech může být život zachraňující, pokud je léčba zahájena včas v průběhu onemocnění. Dále bylo prokázáno, že morantel citrát v dávce 6 mg morantelové báze/kg tělesné hmotnosti je z 99,5 % účinný proti nezralým paramfistomům. Kromě toho se uvádí, že Bithionol (25–100 mg/kg tělesné hmotnosti), Niclofolan (6 mg/kg tělesné hmotnosti), Niclosamid (50–100 mg/kg tělesné hmotnosti) a Resorantel (65 mg/kg tělesné hmotnosti) mají 95% účinnost proti nedospělým motolicím u ovcí a koz. Bithional může být toxický pro kozy při zvýšených účinných dávkách. Oxyklozanid (15 mg/kg tělesné hmotnosti) má o něco méně konzistentní rozsah účinnosti 85 % až 100 % proti nedospělým motolicím, ale je také 100% účinný proti zralým stádiím (Vihan, 2010). Aplikace právě 15 mg/kg tělesné hmotnosti dokázala snížit EPG u dojnic v Austrálii (Spence *et al.*, 1996). Nežádoucí účinky, které se často vyskytují v důsledku zvýšených dávek nebo předávkování, jsou ztráta chuti k jídlu, průjem a ztráta hmotnosti (Forbes, 2018). Kombinace Oxyklozanidu a Levamisolu podávána perorálně snižuje koncentraci imunoglobulinu (IgG) v krvi skotu a potlačuje vylučování vajíček ve stolici *C. daubneyi* po dobu nejméně deseti týdnů (Diaz *et al.*, 2006). Účinnost této kombinace potvrzuje několik autorů (Foster *et al.*, 2008; Murphy *et al.*, 2008), také dokáže léčit akutní nákazu paramphistomy a je účinná i proti dospělým motolicím druhu *C. Calicophoron* (Rolfe *et* Boray, 1987). Sey (1989) považoval Albendazol v dávce 20 mg/kg tělesné hmotnosti za vysoce účinný, zatímco Rolfe *et* Boray (1994) neviděli téměř žádný účinek. Podání Albendazolu v dávce 10 mg/kg tělesné hmotnosti neprokázalo žádný účinek proti *C. daubneyi* (Arias *et al.*, 2013). U mléčného skotu měly Albendazol a Netobimin účinek 0 až 26 % v testu snížení počtu vajíček v trusu. Lepších výsledků bylo dosaženo u Closantelu a Oxyklozanidu s hodnotami FECR 97–99 %, takže Arias *et al.* (2013) doporučovali podávání Closantelu v těch zemích, kde Oxyklozanid není dostupný. Closantel ovšem nebyl účinný proti juvenilním stádiím v dávce 7,5 mg/kg tělesné hmotnosti (Rolfe *et* Boray, 1987). Ošetření odčervovacím prostředkem se ovšem doporučuje pouze v případě, že to vyžaduje kontrola trusu. Dosud nebyly registrovány žádné přípravky pro léčbu nákazy paramphistomy, vyjma Oxyklozanidu, který byl v literatuře popsán jako účinný. Avšak spoléhat se na jediný lék při léčbě této potenciálně smrtelné parazitární infekce není udržitelné, protože vznik populací motolice bachorové

---

---

rezistentní vůči lékům po monoterapii Oxyklozanidem by byl nevyhnutelný. Bithionol sulfoxid byl hlášen jako vysoce účinný, ačkoli byla hlášena rezistence motolic bachoru k tomuto léku (Prasitirat *et al.*, 1997). Další možností je zálivka suspenzí hexachlorethan-bentonit-voda, která je vysoce účinná proti dospělým parazitům. Ve zkratce léčby s hlášeným úspěchem (účinnost > 90 %) jsou tedy Resorantel, Oxyklozanid, Clorsulon, Ivermektin a kombinace Bithionalu a Levamisolu (Bowman *et Geirgi*, 2009; Georgiev *et Gruev*, 1979; Gupta *et al.*, 1981).

Většina důležitých komerčních anthelmintik se ukazuje jako prakticky nepoužitelná, včetně Albendazolu, Praziquantelu, Nitroxynilu, Triclabendazolu, Profenofosu a Netobiminu. Přípravek Niklosamid má vysokou účinnost (99 %) proti nedospělým motolicím, ale ne proti dospělým motolicím, naopak sloučenina 2-terciární-butylbenzthiazolu (CGA 72630), Hexachlorofen a Resorantel jsou vysoce účinné proti dospělým i nedospělým motolicím (Rolfe *et Boray*, 1987; Rolfe *et Boray*, 1988). Plumbagin vykazuje vysokou účinnost na dospělé motolice (Saowakon *et al.*, 2013). Tato situace ponechává chovatelům zvířat k boji s nemocí jen málo možností. Agronomické přístupy ke kontrole motolic parazitujících v bachoru skotu by byly pravděpodobně stejně účinné jako ty u motolice jaterní, protože používají stejného mezipřehostitele. V důsledku toho by byla prospěšná vakcína, která by zabránila infekci motolice bachoru a/nebo omezila poškozující střevní patologii. Vzhledem k tomu, že diagnostika motolic v bachoru je obtížná ve fázi, kdy se mohou vyskytnout závažné symptomy, očkování by bylo cenným přístupem, jak se těmito závažným případům vyhnout. V tomto směru se však udělalo jen málo kromě jediné studie, ve které byl k vakcinaci telat použit rekombinantní hemoglobin *P. epiclutum*, nicméně nebyl pozorován žádný ochranný účinek (Dewilde *et al.*, 2008). Celkově lze říci, že léčba bachorových motolic se doporučuje pouze od 100 EPG (Malrait *et al.*, 2015) nebo když se objeví klinické příznaky (Naranjo-Lucena *et al.*, 2018). Aby nedocházelo k produkčním ztrátám, je vhodné ošetřovat dojnice v období stání na sucho (Charlier *et al.*, 2014).

Nedávno byla hodnocena účinnost extraktů léčivých rostlin proti amphistomům. Ethanolový extrakt *Punica granatum*, běžně známý jako granátové jablko, je vysoce účinný proti amphistomům u přirozeně infikovaných ovcí (Lalhmingchhuanmawii *et al.*, 2014). Autoři dospěli k závěru, že rostlinný extrakt by mohl být úspěšně použit jako anthelmintikum k léčbě amphistomií u domácích přežvýkavců. Za další

---

anthelmintickou rostlinu je považována *Accacia concinna*, ze které byly použity lusky na výrobu speciální pasty (Priya *et al.* Veerakumari, 2017). Jiné studie také ukázaly, že extrakty z těchto léčivých rostlin jsou účinné proti amphistomům (Elango *et al.* Rahuman, 2011; Kamaraj *et al.*, 2010).

### 1.7 Imunitní odpověď a rezistence

Většina parazitů vyvolává u svého konečného hostitele určitý stupeň imunity, což má za následek rovnováhu mezi parazitickou populací a hostitelem. Zatím není stoprocentně jasné, zda se tento jev týká i napadení motolicemi. Podle Chauvina *et al.* (2012) to není úplně případ motolice bachorové. Ferreras *et al.* (2014) také naznačují, že opakovaná expozice motolic bachoru nenabízí žádnou ochranu proti opakované infekci. Opakované, závažné napadení motolicemi v bachoru může vést k nahromadění počtu bachorových motolic. Naproti tomu Knubben-Schweizer (2018) ve svém výzkumu zjistila, že následné malé infekce u starších zvířat vedou k částečné imunitě. Jiné studie v terénním pozorování naznačují, že předchozí vystavení hospodářských zvířat motolicím poskytuje ochranu před masivními infekcemi, které by typicky způsobily akutní nákazu paramphistomy (Devos *et al.*, 2013). Například během letálního onemocnění způsobené *P. ichikawai* u jehňat vystavených stejné infikované pastvině jako ovce dospělé, měla jehňata málo nezralých střevních parazitů a nebyla touto chorobou postižena (Boray, 1969). Tato zjištění jsou podpořena experimentálními studiemi, ve kterých byly ovce, skot a kozy úspěšně imunizovány metacerkariemi *P. microbothrium*, dosahující > 99% ochrany proti této infekci (Horak, 1965, 1967). Je zajímavé, že tyto studie ukázaly, že imunizace dospělými motolicemi podávanými orálně, aby se zavedla infekce přímo v bachoru, nebyla účinná, a že ochranná imunita vyžaduje vystavení duodena antigenu odvozenému od nově excystované juvenilní motolice. Naproti tomu se ukázalo, že zátěž motolicemi v bachoru hostitele roste s věkem (Ferreras *et al.*, 2014), což naznačuje, že ochranná imunita nemusí být v polních podmínkách rozšířena.

---

## 2 Cíle

V diplomové práci jsou stanoveny následující cíle:

**C1:** Popsat výskyt a diverzitu bachorových motolic u skotu v České republice a Rakousku.

**C2:** Vyšetřit trus skotu z různých stád na přítomnost vajíček těchto motolic pomocí standardních parazitologických metod.

**C3:** Provést přímou detekci motolic z trusu pomocí PCR metody a genotypizaci nalezených motolic.

**C4:** Posoudit účinnost podávaných anthelmintik, případně zaznamenat rezistenci parazitů na některé z nich.

---

## 3 Materiál a metodika

### 3.1 Materiál

#### 3.1.1 Sběr a uchování vzorků

Sběry vzorků v České republice a Rakousku byly prováděny celoročně v různých intervalech v roce 2021 a 2022 vždy po předchozí domluvě s chovateli. Vzorky byly odebírány na pastvinách nebo ve stájích vždy čerstvé, ihned po vykání či přímo z rekta jedince, a následně vkládány do plastových uzavíratelných kelímků. V Rakousku byly odběry vzorků prováděny i na jatkách, a to buď přímo z rekta, nebo ihned po porážení zvířete. Kelímky byly řádně označeny ušním číslem zvířete a poté uchovány v chladu při teplotě mezi 4–8 °C. Po odběru byly vzorky vždy co nejrychleji vyšetřeny příslušnou metodou. V případě, že vzorek nebyl na amphistomní motolice pozitivní, nebyl již dále uchováván a byl zlikvidován.

#### 3.1.2 Zdroj materiálů

Zdrojem materiálů byl trus masného i mléčného skotu, chovaného převážně na pastvině, tak ale i ustájeného, nehledě na pohlaví a plemeno, staršího více jak 12 měsíců.

### 3.2 Metody

#### 3.2.1 Laboratorní a mikroskopické vyšetření trusu

Každému vyšetření vzorků předcházela řádná příprava v označování kelímků, zkumavek a Petriho misek pro každý vzorek tak, aby nedocházelo k jejich vzájemné záměně. Po každém přecedění vzorku trusu, byla sestava síték rozebrána a řádně vymyta, stejně jako další pomůcky, které by mohly být kontaminovány od vzorku předešlého.

Pracovní postup:

1. Navážit 1 g trusu ze vzorku.
2. Rozmíchat vzorek pomocí dřevěné lékařské špachtle s 50 ml vody.
3. Přecedit přes sestavu síték a následně promývat studenou vodou.
4. Pomocí stříčky a trychtýřku vymýt části sítko s nejmenšími oky do zkumavky.
5. Uzavřít zkumavky a následně vložit do centrifugy po dobu 5 minut.
6. Odsát nezčerený přebytek vody pomocí plastového kapátka.
7. Vylít vzorek ze zkumavky a její výplach na Petriho misku.

- 
8. Pozorovat v mikroskopu při zvětšení 10× či 20×.

### 3.2.2 Stanovení intenzity infekce a účinnosti anthelmintik ve vybraných chovech

V případě, že byl vyšetřovaný vzorek pozitivní na přítomnost vajíček motolic, byla na Petriho misce spočtena veškerá vajíčka a intenzita infekce byla stanovena jako počet vajíček na gram trusu (EPG).

Účinnost anthelmintik byla hodnocena podle testu redukce počtu vajíček v trusu (FECRT). Individuálně byly odebrány vzorky trusu den před léčbou (D0) a 14 dní po léčbě (D21). Každý hostitel sloužil jako vlastní kontrola FECRT. FECRT byl vyjádřen jako rozdíl aritmetických průměrů mezi hladinami EPG před ošetřením a po ošetření s 95% hranicí spolehlivosti, jak doporučuje World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (Coles *et al.*, 1992).

### 3.2.3 Genotypizace

#### Izolace DNA

Izolace DNA byla provedena dle zavedené metodiky používané v laboratoři školitele a byl použit komerční kit Exgene Stool DNA mini (GeneAll Biotechnology, Korea).

Pracovní postup:

1. Vzorek trusu (přibližně 200 mg) dát do Safe-Lock-Tube, přidat skleněné a zirkonové kuličky o průměru 0,5 mm (přibližně 200 µl).
2. Ke vzorku trusu přidat 1 ml FL pufru, vzorek zhomogenizovat a uvolnit DNA pomocí beat beateru 1 minutu při rychlosti 5,5 m/s (Fast Prep 24 Instrument, MP Bio, CA, USA).
3. Následně inkubovat 5 minut při laboratorní teplotě, poté centrifugovat 5 minut při 16 000 *g*.
4. Veškerý supernatant přenést na EzPass kolonku.
5. Centrifugovat 1 minutu při 16 000 *g*, odpad ze sběrné zkumavky vylít.
6. Na kolonku napipetovat 100 µl EB pufru, inkubovat 1 minutu při laboratorní teplotě a znovu centrifugovat 1 minutu při 16 000 *g*.
7. Vyhodit bílou kolonku a do sběrné zkumavky připipetovat 500 µl PB pufru, pipetováním promíchat.
8. Veškerý obsah sběrné zkumavky přenést na MiniSpin column.
9. Centrifugovat 1 minutu při 16 000 *g*, odpad sběrné zkumavky vylít.

- 
10. Napipetovat 500  $\mu$ l NW pufru na střed kolony.
  11. Centrifugovat 1 minutu při 16 000  $g$ , odpad ze sběrné zkumavky vylít.
  12. Centrifugovat 1 minutu při 16 000  $g$ .
  13. Odstranit filtrát a přenést kolonu na čistou eppendorfku.
  14. Na kolonu napipetovat 200  $\mu$ l EB pufru, inkubovat 1 minutu při laboratorní teplotě a centrifugovat 1 minutu při 16 000  $g$ .
  15. Odstranit kolonu a purifikovanou DNA skladovat při teplotě  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### Polymerázová řetězová reakce – PCR

Vyizolovaná DNA byla použita pro amplifikaci části genu kódujícího ITS rRNA. Jako negativní kontrola byla použita PCR voda a jako pozitivní kontrola DNA vyizolovaná z dospělce *Paramphistomum cervi* získaného z přirozeně infikovaného býka a poraženého na jatcích ve Francii (dospělci byli získáni v rámci mezilaboratorní spolupráce). PCR reakce byla provedena ve 20  $\mu$ l, z toho 10  $\mu$ l byl HS-Taq premix (GenAll, Korea) obsahující 2U HS-Taq DNA polymerázy, 200  $\mu$ M dNTPs, reakční pufr (2,5 mM  $\text{MgCl}_2$ ), loading dye a stabilizátor. Do reakce bylo dále přidáno 7  $\mu$ l PCR vody, 200 mM specifického forward a reverse primeru a 2  $\mu$ l DNA. PCR reakce proběhla v 35 cyklech složených z následujících kroků. Denaturace DNA při  $95^{\circ}\text{C}$  po dobu 45 sekund, nasedání primerů (annealing) při  $55^{\circ}\text{C}$  po dobu 45 sekund. Následně se teplota zvýšila na  $72^{\circ}\text{C}$ , při které se prodlužoval řetězec DNA (extension) po dobu 1 minuty. Prvnímu cyklu předcházela počáteční denaturace při teplotě  $95^{\circ}\text{C}$  po dobu 3 minut a poslední cyklus byl následován finální extenzí při  $72^{\circ}\text{C}$  po dobu 10 minut. Pro amplifikaci bachorových motolic byly použity primery uveřejněné v publikaci Rinaldi *et al.* (2005) a Itagaki *et al.* (2003), a pro amplifikaci *F. hepatica* primery uveřejněné v publikaci Králová-Hromadová *et al.* (2008).

#### Gelová elektroforéza

PCR produkty byly analyzovány a vizualizovány ve 2% agarózovém gelu. Pro vizualizaci byl použit ethidium bromid (EtBr). Vizualizace byla provedena pomocí UV záření transiluminátorem (Ultra-Lum Inc, USA). Jednotlivé gely byly zdokumentovány (Gel Logic 112, program Carestream 1-877-747-HELP, USA).

---

#### Chemikálie:

- 50× TAE pufr (242 g Tris báze; 47,1 ml ledové kyseliny octové; 100 ml 0,5 M EDTA o pH 8,00),
- agarosa (Serva Electrophoresis, Germany),
- ethidium bromid (10 mg/ml, Sigma Aldrich, USA),
- DNA Ladder – 100 bp (Fermentas International Inc., Canada).

#### Pracovní postup:

1. 1× TAE pufr smíchat s agarózou.
2. Pufr s agarózou rozpustit v mikrovlnné troubě (veškeré vločky agarózy jsou rozpuštěny) a ochladit pod tekoucí vodou na teplotu cca 45 °C.
3. Do tekutého gelu napipetovat 2 µl EtBr a opatrně promíchat.
4. Gel nalít do předem připravené formy s hřebeny a ponechat ztuhnout při laboratorní teplotě.
5. Po ztuhnutí hřebeny opatrně vyndat a gel vložit do elektroforetické vany naplněné 1× TAE pufrem.
6. Do první jamky napipetovat DNA Ladder (10 µl) a do dalších jamek PCR produkty.
7. Separovat PCR produkty (napětí v rozmezí 70–120 V) po dobu potřebnou k separaci jednotlivých fragmentů DNA.
8. Výsledek elektroforézy vizualizovat pomocí UV transluminátoru a dokumentovat pomocí kamery.

#### Izolace z gelu

PCR produkty vizualizované gelovou elektroforézou vhodné k osekvenování byly vyizolovány pomocí Gen Elute (Sigma) podle návodu dodaného výrobcem kitu.

#### Pracovní postup:

1. Vyříznout fragment DNA (PCR produkt) z gelu čistým skalpelem a dát do připravené 1,5 µl mikrozkuřavky.
2. K fragmentu gelu připipetovat Gel Solubilization Solution v objemu 300 µl Gel Solubilization Solution na 100 mg gelu.
3. Inkubovat 10 minut při 50 °C, kontrolovat rozpouštění a promíchat každé 2–3 minuty během rozpouštění. Po inkubaci - rozpouštění musí být roztok zbarven žlutě.

- 
4. V mezičase zahřát Elution Solution na eluci na 65 °C.
  5. Sestavit Binding Column G, napipetovat 500 µl Column Preparation Solution a centrifugovat 1 minutu při 13 200 *g*.
  6. Připipetovat ke vzorku 150 µl isopropanolu a pipetováním promíchat.
  7. Přepipetovat veškerý objem vzorku na kolonu (Binding Column G) a centrifugovat 1 minutu při 13 200 *g*. Kolona pojme 700 µl, vzorky s větším objemem nanášet a centrifugovat postupně.
  8. Po centrifugaci vylít odpad ze sběrné zkumavky a opět použít s kolonou.
  9. Napipetovat 700 µl Wash Solution G a centrifugovat 1 minutu při 13 200 *g*.
  10. Vylít odpad ze sběrné zkumavky a opět ji použít s kolonou.
  11. Centrifugovat 1 minutu při 13 200 *g* bez přídavku jakýchkoli roztoků.
  12. Otočit zkumavku v centrifuze o 180° a centrifugovat znovu 3 minuty při 13 200 *g*.
  13. Kolonu dát do nové 1,5 ml mikrozkušavky a napipetovat 30 µl Elution Solution předeřtého na 65 °C přímo na střed kolony. Inkubovat 1 minutu a poté centrifugovat 1 minutu při 13 200 *g*.
  14. Získanou DNA skladovat při -20 °C.

#### 3.2.4 Sekvenování a genotypizace

Sekvenování PCR produktu bylo provedeno pomocí ABI BigDye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit v komerčních formách za použití primerů použitých pro amplifikaci fragmentu. Nukleotidové sekvence byly analyzovány pomocí programu ChromasPro a seřazeny v programu BioEdit. Získané sekvence byly porovnány se sekvencemi uloženými v databázi GenBank. Sekvence získané v této práci a sekvence získané z GenBank byly vzájemně seřazeny pomocí MAFFT verze 7 online server s automatickým výběrem seřazovací strategie (Mafft, <http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>). Zarovnané sekvence byly následně ručně doopraveny v programu BioEdit a byly provedeny fylogenetické analýzy za použití MEGA 7.0. Fylogenetické vztahy byly vytvořeny pomocí metody Maximum likelihood (ML) substitučním modelem, který nejlépe vyhovuje testovaným souborům sekvencí na základě Bayesiánského informačního kritéria. Podpora všech větví byla získána 1 000 bootstrapovými replikacemi.

---

### 3.2.5 Statistická analýza a hodnocení účinnosti anthelmintik

Účinnost anthelmintik byla hodnocena na základě testu redukce počtu vajíček ve stolici (FECRT - Faecal Egg Count Reduction Test). Individuálně byly odebrány vzorky trusu den před léčbou (D0) a 21 dní po léčbě (D21). Každý hostitel sloužil jako vlastní kontrola FECRT. FECRT byl vyjádřen jako rozdíl aritmetických průměrů mezi hladinami EPG před ošetřením a po ošetření s 95% hranicí spolehlivosti, jak doporučuje World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (Coles *et al.*, 1992). Výpočty byly provedeny v softwaru R 4.1.0.

## 4 Výsledky

### 4.1 Výskyt motolic ve vyšetřovaných chovech

Celkem bylo v rámci předložené práce odebráno 2133 vzorků trusu hovězího dobytka od 158 chovatelů. Z toho 1414 vzorků bylo získáno ze 118 chovů z České republiky a 719 vzorků od 40 chovatelů z Rakouska. V průběhu vyšetřování nebyly od chovatelů hlášeny žádné klinické příznaky probíhající infekce jak fascioloidními, tak amphistomními motolicemi. Mikroskopické vyšetření trusu prokázalo přítomnost vajíček amphistomních motolic pouze v 5 chovech v České republice (Tabulka 1). Vajíčka *F. hepatica* byla detekována v jednom chovu (CZE104) v České republice (Tabulka 2). Přehled všech chovů, ve kterých nebyla detekována vajíčka motolic při mikroskopickém vyšetření trusu, je uveden v příloze (Tabulky P1 a P2). Procento infikovaných zvířat amphistomními motolicemi se v jednotlivých chovech pohybovalo od 30 do 100 %. Nejnižší intenzita infekce, která byla detekována, měla hodnotu 1 EPG. Nejvyšší hodnota 405 EPG byla detekována v chovu CZE23, kde byla současně zjištěna nevyšší průměrná intenzita infekce (98 EPG). Procento pozitivních jedinců na přítomnost vajíček *F. hepatica* bylo v chovu CZE104 12,5 %. Všechna zvířata, u kterých byla detekována *F. hepatica*, měla současně infekci amphistomními motolicemi.

**Tabulka 1** Přehled chovů a vzorků pozitivních na přítomnost vajíček amphistomních motolic.

| Farma    | Počet vyšetřených /pozitivních | Amphistomní motolice |               |               |
|----------|--------------------------------|----------------------|---------------|---------------|
|          |                                | Průměr (EPG)         | Maximum (EPG) | Minimum (EPG) |
| CZE23    | 35/33                          | 98                   | 405           | 5             |
| CZE36    | 9/5                            | 17                   | 47            | 2             |
| CZE43    | 23/7                           | 6                    | 20            | 1             |
| CZE70    | 30/30                          | 18                   | 68            | 1             |
| CZE104   | 40/40                          | 80                   | 146           | 13            |
| 137/ 115 |                                |                      |               |               |

**Tabulka 2** Přehled chovů a vzorků pozitivních na přítomnost vajíček *Fasciola hepatica*.

| Farma  | Počet vyšetřených /pozitivních | <i>Fasciola hepatica</i> |               |               |
|--------|--------------------------------|--------------------------|---------------|---------------|
|        |                                | Průměr (EPG)             | Maximum (EPG) | Minimum (EPG) |
| CZE23  | 35/0                           | 0                        | 0             | 0             |
| CZE36  | 9/0                            | 0                        | 0             | 0             |
| CZE43  | 23/0                           | 0                        | 0             | 0             |
| CZE70  | 30/0                           | 0                        | 0             | 0             |
| CZE104 | 40/5                           | 6                        | 12            | 2             |
| 137/ 5 |                                |                          |               |               |

---

## 4.2 Genotypizace

Z každého chovu, kde byla detekována vajíčka motolic, byly pro genotypizaci vybrány 3 náhodné vzorky. Molekulární analýzy genu kódujícího ITS2 rRNA prokázaly přítomnost *C. daubneyi* ve všech sledovaných chovech. Získané sekvence byly vzájemně identické jak na úrovni chovu, tak mezi chovy. Porovnáním získaných sekvencí se sekvencemi uloženými v GenBank jsme prokázali, že námi získané sekvence jsou 100% shodné se sekvencí *C. daubneyi* (KP201674). Všechny sekvence *F. hepatica* získané z chovu CZE104 byly vzájemně identické a současně identické se sekvencí *F. hepatica* (MG569981) uloženou v GenBank.

## 4.3 Účinnost používaných veterinárně léčivých preparátů

Byla sledována účinnost veterinárních léčivých přípravků (anthelmintik) používaných proti bachorovým motolicím. V chovech, kde byl detekován výskyt *C. daubneyi*, respektive *Fasciola hepatica*, byly použity tři různé VLP s různými účinnými látkami. Ve 3 chovech byl použit Ivomec super v doporučeném dávkování odpovídající 200 mg Ivermektinu a 2 mg Clorsulonů na kilogram živé hmotnosti. V jednom chovu byl použit VLP Aldifal s účinnou látkou Albendazolum v dávce 10 mg účinné látky na kilogram živé hmotnosti. V posledním chovu byl použit Distocur v dávce 10 mg účinné látky Oxycclazanide na kilogram živé hmotnosti (Tabulka 3). Výsledky FECRT vyšetření prokázaly, že použití VLP Ivomec super a Aldifal nebylo účinné při léčbě infekce způsobené *C. daubneyi*. Ve třech ze čtyř sledovaných chovů došlo při kontrolním sledování ke zvýšení průměrného počtu EPG v chovu ( $P > 0,05$ ). Také nedošlo ke změně prevalence, tedy počtu nakažených zvířat. V chovu CZE23 došlo k 3% poklesu EPG ( $P > 0,05$ ). V chovu CZE104, kde byl použit VLP Distocur jsme zaznamenali 100% účinnost. Žádné zvíře z chovu po aplikaci tohoto VLP nebylo po 21 dnech od aplikace pozitivní na přítomnost vajíček *C. daubneyi* (Tabulka 3). Současně byla zjištěna i 100% účinnost proti *F. hepatica*, která byla před aplikací zjištěna u 5 zvířat.

**Tabulka 3** Účinnost aplikace veterinárně léčivých přípravků (VLP) Aldifal, Ivomec super a Distocur proti *Calicophoron daubneyi*.

| Farma           | Počet vyšetřených<br>/pozitivních | Před ošetřením  | VLP          | Po ošetření     |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------|--------------|-----------------|
|                 |                                   | Průměr<br>(EPG) |              | Průměr<br>(EPG) |
| CZE23           | 35/33                             | 98              | Ivomec super | 95              |
| CZE36           | 9/5                               | 17              | Aldifal      | 20              |
| CZE43           | 23/7                              | 6               | Ivomec super | 10              |
| CZE70           | 30/30                             | 18              | Ivomec super | 21              |
| CZE104          | 40/40                             | 80              | Distocur     | 0               |
| <b>137/ 115</b> |                                   |                 |              |                 |

---

## 5 Diskuse

Motolice čeledi *Paramphistomidae* způsobují veterinárně významné gastrointestinální parazitární onemocnění, které u hospodářských zvířat může způsobovat velké ekonomické ztráty (Ozidal *et al.*, 2010). Dlouhou dobu bylo toto onemocnění opomíjené, ale v poslední době se ukazuje, že se jedná o významnou příčinu ztrát v produkci hospodářských zvířat (Anuracpreeda *et al.*, 2008). Toto onemocnění motolicemi je celosvětově rozšířené, ale vyskytuje se především v tropických a subtropických oblastech (Ayaz *et al.*, 2013). V Evropě se motolice čeledi *Paramphistomidae* vyskytují endemicky a nejrozšířenějším druhem je *P. cervi* (Melaku *et al.*, 2012). V České republice jsou endemické oblasti na jižní Moravě a v jižních Čechách. Výskyt tohoto onemocnění není tedy neobvyklý, avšak problematice těchto motolic není a nebyla věnována výraznější pozornost. V posledních 15 letech nebyly v České republice publikovány žádné práce zabývající se touto problematikou. Až na výjimky, většina prací pochází z období před rokem 2000 (Kotrlá *et al.* 1982; Kváč 2003; Pavlásek 1995).

Celková prevalence ve vyšetřovaných chovech na území České republiky byla v naší studii 4,2 %. To je výrazně méně, než popisuje Hromadová (2012), která uvádí prevalenci 14,5 % a Kváč (2003), který detekoval vajíčka bachorových motolic v 18 % vyšetřených chovech. V Evropě je nejvyšší prevalence nákazy hospodářských zvířat ve Francii a Velké Británii. Nejrozšířenějším druhem je *C. daubneyi*, který se hojně vyskytuje i ve Španělsku či Itálii (Ferrerias *et al.*, 2014). V Irsku byla prevalence této motolice v rozmezí 40–50 % (Toolan *et al.*, 2015). Úroveň prevalence je 29–36 % ve Španělsku (González-Warleta *et al.*, 2013; Díaz *et al.*, 2007) a 59 % ve Walesu (Jones *et al.*, 2016). Další druhy bachorových motolic byly nalezeny v Srbsku – *P. microbothrium* a *P. cervi* v Polsku (Kobak *et al.*, 2012; Pavlović *et al.*, 2012, 2014). V Nizozemsku rutinní testování všech vzorků trusu zvířat v období 2009–2014 odhalilo výskyt u 15,8 % skotu (Ploeger, 2017). Zprávy o výskytu motolic rodu *Paramphistomum* pocházejí převážně z Francie, kde parazitóze vyvolané těmito motolicemi byla věnována značná pozornost, kdy se prevalence pohybovala okolo 61 % (Abrous *et al.*, 1996; 1999a-c, 2000a-b; Degueurce *et al.*, 1999; Silvestre *et al.*, 2000; Szmidt-Adjidé *et al.*, 2000). V Německu byly motolice v letech 1950 až 2000 zjištěny pouze příležitostně (Wenzel *et al.*, 2019), ovšem nedávné poznatky vyvolaly podezření o možném šíření (Bauer *et al.*, 2019).

---

*al.*, 2015; May *et al.*, 2019). V Maďarsku byly například nalezeny *P. cervi*, *P. leydeni*, *P. ichikawai* a *C. daubneyi* (Sey, 1991). Nejnovější poznatky potvrzují přítomnost bachorových motolic u skotu v Polsku (Pilarczyk *et al.*, 2019). Všechny tyto země zdůrazňují význam kontrolních opatření (Malrait *et al.*, 2015).

Kotrlá *et al.* (1982) uvádějí výskyt *P. cervi*, *P. ichikawai*, *P. daubneyi* (dnes známé jako *C. daubneyi*) u skotu na území České republiky, přičemž druh *P. daubneyi* byl nalezen pouze u muflona. Na rozdíl od výše zmíněné studie, v naší práci jsme detekovali pouze *C. daubneyi*. V jednom chovu byla detekována smíšená infekce *C. daubneyi* a *F. hepatica*. Tato smíšená infekce *C. daubneyi* s *F. hepatica* se vyskytuje velmi často (Arias *et al.*, 2011; Bellet *et al.*, 2016; Iglesias-Pineiro *et al.*, 2016; Naranjo Lucena *et al.*, 2018; May *et al.*, 2019), proto tedy ani v našem případě není neobvyklá. Důvodem smíšené infekce je společný mezipřenos obou dvou druhů motolic a obdobný způsob přenosu infekce (Rinaldi *et al.*, 2009; Arias *et al.*, 2011; Gordon *et al.*, 2013; Toolan *et al.*, 2015; Bellet *et al.*, 2011, 2016; Sargison *et al.*, 2016; Jones *et al.*, 2017a).

Podle Wenzel *et al.* (2019) je v současné době infekce motolicí bachoru u skotu v Rakousku velmi vzácná (Wenzel *et al.*, 2019), jak můžeme potvrdit i v naší práci. Stejně jako u *C. daubneyi*, tak i výskyt *F. hepatica* je vázán na existenci sladkovodních ploch pro vývoj mezipřenositelů (Kassai, 1999; Rommel *et al.*, 2000). Míra zamoření u skotu je velmi proměnlivá, a to i v rámci jednotlivých zemí. V izolovaných prostředích, jako např. na alpských horských farmách, může prevalence dosáhnout více než 90 % (Ducheyne *et al.*, 2015; Rinaldi *et al.*, 2015). V Rakousku jsou hlavní endemické oblasti *F. hepatica* v západních spolkových zemích (Supperer, 1957; Kutzer *et al.*, 1969; Auer *et al.*, 2014), přičemž jsou zamořena jak domácí zvířata, tak zvěř. V jedné ze současných studií byla nejvyšší diverzita zjištěna v Tyrolsku, které je považováno za hlavní endemickou oblast *F. hepatica* v Rakousku (Auer *et al.*, 2014). To lze také přičíst převládajícím podmínkám chovu. Západorakouské spolkové země, zejména Tyrolsko, Vorarlbersko a Salcbursko jsou alpské regiony, které se vyznačují malými farmami, zatímco východ rakouské země, zejména Dolní Rakousko, se vyznačují rovinatou půdou s velkými zemědělskými podniky. Také srážky jsou mnohem vyšší v západním Rakousku. V Evropě byla v minulosti a stále je *F. hepatica* značně rozšířena. V Evropě jsou uváděny odhady prevalence 37 % v Belgii, 50 % Německu a 61 % Španělsku (Mezo *et al.*, 2008; Bennema *et al.*, 2009; Kuerpick *et al.*, 2012).

---

V Dánsku byl zaznamenán nárůst roční prevalence stáda z roku 2011 - 25,6 % na 2013 - 29,3 % a stále roste (Olsen *et al.*, 2015). Výsledky jedné studie prevalence infekce *F. hepatica* u skotu v provincii Lublin mezi lety 2005 a 2008 činí 21,24 % (Kozłowska-Łój, 2011). Ve Spojeném království byla hlášena 48% až 76% prevalence motolice u dospělého mléčného skotu (Salimi-Bejestani *et al.*, 2005; McCann *et al.*, 2010), což je dáno předpokladem důsledku vlhčích lét a teplejších zim (Mitchell, 2002; Pritchard *et al.*, 2005; Kenyon *et al.*, 2009; Fox *et al.*, 2011). Kromě toho existují zprávy o rezistenci vůči běžně používaným anthelmintikům, kvůli nimž je motolice hrozbou pro zdraví zvířat, dobré životní podmínky a zemědělskou produktivitu (Sargison *et Scott*, 2011; Daniel *et al.*, 2012; Gordon *et al.*, 2012; Sargison, 2012; Hodgkinson *et al.*, 2013). V České republice v padesátých letech 20. století byl výskyt *F. hepatica* poměrně častý. U zvířat v horských oblastech se prevalence pohybovala okolo 80 % a u zvířat v nížinách 34 %. V sedmdesátých letech došlo k výraznému snížení výskytu *F. hepatica*, a to v důsledku plošné eradikace tohoto parazita. To mělo za následek, že v osmdesátých letech 20. století byla *F. hepatica* považována za utlumenou a na některých lokalitách dokonce za eradikovanou (Hovorka, 1963; Zajíček, 1987). V současné době se *F. hepatica* vrací zpět do míst, kde byla kdysi rozšířena (Zmunda *et Chroust*, 2002). Naše práce ukázala, že rozšíření této motolice není příliš časté. Tato motolice byla detekována pouze v jednom chovu a s relativně nízkou prevalencí. Častější výskyt bachorových motolic oproti *F. hepatica* v této práci lze vysvětlit častým používáním účinných VLP.

Ivomec Super je velmi často používaný přípravek na bázi Ivermektinu potencovaný clorsulonem, který zajišťuje účinnost proti jaterním motolicím (Horák *et al.*, 2012; Fantová *et al.*, 2012). Aplikace Ivomecu má velmi dobrý účinek proti *F. hepatica* (ÚSKVBL, 2017), nicméně aplikace tohoto VLP neměla žádný vliv na extenzitu a intenzitu infekce *C. daubneyi* v této práci. Námi dosažené výsledky jsou v souladu se zjištěním Hromadové (2006) a Juráška *et al.* (1993), podle nichž jsou tyto přípravky neúčinné proti infekci *Paramphistomum* sp.

Dalším velmi často používaným VLP proti parazitárním infekcím je Albendazol, zástupce benzimidazolových anthelmintik. Tento přípravek má široký rozsah účinku, který zahrnuje nematoda, cestoda a také trematoda. Užívá se hlavně u přežvýkavců. Je, spolu se svým aktivním metabolitem (albendazol-sulfoxid, rikobendazol), účinný proti dospělým jedincům i většině vývojových stádií včetně vajíček červů (Solana

---

*et al.*, 2002). V humánní medicíně je užíván k léčbě echinokokózy, cysterkózy, askariózy, nekatorózy a filariózy (Velík, 2005). Přípravky registrované pro veterinární použití s obsahem albendazolu jsou pouze Albex 10% a Aldifal 10%. U obou je cílovým druhem zvířat skot a ovce a jsou určeny pro léčbu a prevenci motolichnatosti (dospělci a larvální stadia *F. hepatica* a *Dicrocoelium dendriticum*), gastrointestinálních a plicních nematodóz a monieziózy u ovcí (Aldifal 2,5 %) a u skotu (Aldifal 10 %). Výsledky naší práce prokázaly, že použití Aldifalu při léčbě *C. daubneyi* nebylo v chovu účinné, a že při kontrolním sledování též došlo ke zvýšení průměrného počtu EPG a nedošlo ke změně prevalence. Loňská studie Babják *et al.* (2021) zkoumala účinnost Albendazolu na farmě skotu s dlouhodobým užíváním a pravidelnou přítomností fasciolózy. Výsledky potvrdily sníženou účinnost (77,0–81,8 %) Albendazolu proti *F. hepatica* na základě doporučení WAAVP především na gastrointestinální parazity. U trematod se běžně uvádí 90% účinnost (Fairweather *et al.*, 1999), i když FECRT dosud nebyl standardizován. Fairweather *et al.* (2020) dále uvádí, že účinnost 71–90 % může být považována za dostatečnou pro léky jako Albendazol nebo Oxyklozanid. I když procentuální snížení nepřesáhne 90 %, Albendazol může snížit zátěž motolicemi na úroveň, která bude přínosná z hlediska ekonomiky a zdraví zvířat (Forbes, 2013; Fairweather, 2011).

Přípravek Distocur se používá při léčbě fasciolózy způsobené dospělými stádii *F. hepatica*, která jsou citlivá na Oxyklozanid a paramphistomózy. Také vykazuje dobrou účinnost proti dospělým esophagostomum a některým tasemnicím (*Thysaniezia*, *Moniezia*, *Stilesia*), jak popisují příbalové letáky. Umožňuje léčbu březích samic (bez teratogenních účinků) a nemění laktaci. Námi byl použit v chovu pozitivním na *C. daubneyi* a zároveň na *F. hepatica*. Výsledky práce ukázaly 100% účinnost tohoto preparátu proti *C. daubneyi* a *F. hepatica*.

Většina parazitů vyvolává u svého konečného hostitele určitý stupeň imunity, což má za následek rovnováhu mezi parazitickou populací a hostitelem. Zatím není stoprocentně jasné, zda se tento jev týká i napadení motolicemi. Podle Chauvina *et al.* (2012) to není úplně případ motolice bachorové. Ferreras *et al.* (2014) také naznačují, že opakovaná expozice motolic bachoru nenabízí žádnou ochranu proti opakované infekci. Naproti tomu Knubben-Schweizer (2018) ve svém výzkumu zjistila, že následné malé infekce u starších zvířat vedou k částečné imunitě. Jiné studie v terénním pozorování naznačují, že předchozí vystavení hospodářských zvířat motolicím poskytuje ochranu před masivními infekcemi, které by typicky způsobily

---

akutní onemocnění paramphistomy (Devos *et al.*, 2013). Tato zjištění jsou podpořena experimentálními studiemi, ve kterých byly ovce, skot a kozy úspěšně imunizovány metacerkariemi *P. microbothrium*, dosahující > 99% ochrany proti této infekci (Horak, 1965, 1967). Je zajímavé, že tyto studie ukázaly, že imunizace dospělými motolicemi podávanými orálně, aby se zavedla infekce přímo v bachoru, nebyla účinná a že ochranná imunita vyžaduje vystavení duodena antigenu odvozenému od nově excystované juvenilní motolice. Naproti tomu se ukázalo, že zátěž motolicemi v bachoru hostitele roste s věkem (Ferrerias *et al.*, 2014), což naznačuje, že ochranná imunita nemusí být v polních podmínkách rozšířena. To potvrzují naše výsledky z chovů, kde byl detekován výskyt *C. daubneyi*. Při konzultacích s chovateli bylo zjištěno, že infekce *C. daubneyi* se v jejich chovu objevují opakovaně. Zvířata po přeléčení VLP Distocur byla po 6 měsících opětovně pozitivní (data nejsou ukázána).

Dospělí jedinci působí jako stálý zdroj infekce, ale klinická nákaza paramphistomy zůstává problémem pro mladá zvířata, přičemž dospělí jedinci spásající stejné pastviny nevykazují žádné klinické účinky navzdory pokračující produkci vajíček (Boray 1959, 1969; Butler *et al.* 1962; Rolfe *et al.*, 1991), stejně jako tomu bylo u našich pozitivních kusů, u kterých nebyly pozorovány žádné klinické příznaky infekce.

Riziko nákazy motolicemi zvyšují zejména klimatické podmínky (teplota a srážky) vhodné pro vývoj motolice a život mezihostitele (plže). Vyšší prevalence a distribuce motolic je zaznamenávána v oblastech, kde se průměrná roční teplota pohybuje v rozpětí 10–25 °C (Freitas, 2014). Plži se vyskytují hlavně v bažinách a stojatých i tekoucích vodách (Kuerpick, 2013). Pro dobytek proto představují riziko pastviny, na kterých se nacházejí vodní plochy, nebo sem mají přístup volně žijící přežvýkavci, jako je dančí, jelení, srnčí zvěř a mufloni, kteří mohou kontaminovat prostředí svým trusem (Howell, 2015; McCann, 2010; Foreyt, 1976). Velmi zajímavým výsledkem byl v naší studii mléčný skot na Znojemsku, který byl pozitivní na *C. daubneyi* i přes to, že byl ustájen a chován na hluboké podestýlce. Prevalence v tomto chovu byla 30,43 %. Tento skot byl krmen pouze siláží a možná nákaza je tedy metacerkariemi, které přežily proces silážování. Jelikož jsou plodiny pro tuto siláž pěstovány na polích v blízkosti lesů, možným rezervoárem je tedy jelení a srnčí zvěř, která se v této oblasti hojně vyskytuje. Tento zdroj nákazy potvrzují i studia Dyka *et al.* (1981), Willomitzera *et al.* (1973) a Juráška (1993), podle kterých je nutné dbát zvýšené pozornosti při zkrmování sena

---

i siláži, neboť v nekvalitně konzervované píce mohou invazní stádía přežívat velmi dlouhou dobu.

---

## Závěr

- Bylo prokázáno velmi nízké procento chovů s nákazou amphistomních motolic a *Fasciola hepatica* v České republice.
- V chovech s výskytem *C. daubneyi* byla zjištěna vysoká prevalence v rámci stáda.
- Veterinární léčivé přípravky Aldifal a Ivomec byly neúčinné vůči bachorovým motolicím. Naopak přípravek Distocur dosahoval 100% účinnosti při léčbě bachorových i jaterních motolic.
- V jednom sledovaném chovu dojeného skotu, kde zvířata neměla přístup na pastviny, byla prokázána infekce způsobená *C. daubneyi*.
- V žádném chovu s výskytem jak bachorových, tak jaterních motolic, nebyly pozorovány klinické příznaky onemocnění.

---

## Bibliografické citace

ABROUS M, RONDELAUD D, DREYFUSS G. (1996). *Paramphistomum daubneyi* and *Fasciola hepatica* the effect of dual infection on prevalence and cercarial shedding in preadult *Lymnaea glabra*. Journal Parasitology 82, 1026–1029.

ABROUS M, RONDELAUD D, DREYFUSS G. (1999a). Influence of low temperatures on the cercarial shedding of *Paramphistomum dabneyi* from the snail *Lymnaea truncatula*. Parasite 6, 85–88.

ABROUS M, RONDELAUD D, DREYFUSS G. (1999b). *Paramphistomum daubneyi* and *Fasciola hepatica*: influence of temperature changes on the shedding of cercariae from dually infected *Lymnaea truncatula*. Parasitology Research 85, 765–769.

ABROUS M, RONDELAUD D, DREYFUSS G. (2000a). Cercarial productivity of redial generations in single-miracidium infections of *Lymnaea truncatula* with *Paramphistomum daubneyi* or *Fasciola hepatica*. Journal Helminthol 74, 1–5.

ABROUS M, RONDELAUD D, DREYFUSS G. (2000b). A field study of natural infection in three freshwater snails with *Fasciola hepatica* and/or *Paramphistomum daubneyi* in central France. Journal Helminthol 74, 189–194.

ABROUS M, RONDELAUD D, DREYFUSS G., CABARET, J. (1999c). Infection of *Lymnaea truncatula* and *Lymnaea glabra* by *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi* in farms of central France. Veterinary Research 30, 113–118.

ADEDOKUN O. A., AYINMODE A. B., FAGBEMI B. O. (2008). A comparative study of three methods for detecting *Fasciola infections* in Nigerian cattle. Veterinarski Arhiv 78(5), 411–416.

AHMAD, T., RESHI M. L., CHESTI M. Z., TANVEER S., SHAH Z. A. (2013). A case report of *Gastrothylax crumenifer* incidence in sheep in Kashmir Valley. Iraqi Journal of Veterinary Sciences 27(1), 71–72.

AHMEDULLAH F., AKBOR M., HAIDER M. G., HOSSAIN M. M., KHAN M. A. H. N. A., HOSSAIN M. I., SHANTA I. S. (2007). Pathological investigation of liver

---

---

of the slaughtered buffaloes in Barisal district. Bangladesh Journal of Veterinary Medicine 5(1–2), 81–85.

ALARCÓN E.P., L.E. VELÁSQUEZ. (2009). Descripción morfológica de *Cotylophoron cotylophorum* (Digenea: *Paramphistomidae*) hallado en bovinos de Rionegro, Antioquia, Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 22, 168–177.

ALZIEU *et al.* (1999). Essai de traitement de la paramphistomose bovine par l'oxyclosanide. Medicine Veterinary 150 (8-9), 715–718.

ANDERSON N., LUONG T. T., VO N. G., BUI K. L., SMOOKER P. M., SPITHILL T. W. (1999). The sensitivity and specificity of two methods for detecting *Fasciola* infections in cattle. Veterinary Parasitology 83(1), 15–24.

ANDERSON R. (2005). An annotated list of the non-marine Mollusca of Britain and Ireland. Journal of Conchology 38 (6): 607–637.

ANURACPREEDA P., PANYARACHUN B., NGAMNIYOM A., TINIKUL Y., CHOTWIWATTHANAKUN C., POLJAROEN J., SOBHON P. (2012). *Fischoederius cobboldi*: A scanning electron microscopy investigation of surface morphology of adult rumen fluke. Experimental Parasitology 130(4), 400–407.

ANURACPREEDA P., WANICHANON C., SOBHON P. (2008). *Paramphistomum cervi*: antigenic profile of adults as recognized by infected cattle sera. Experimental Parasitology 118, 203–227.

ARIAS M. S., SANCHIS, J., FRANCISCO I., FRANCISCO R., PINEIRO P., CAZAPAL-MONTEIRO C.; CORTINAS F. J., SUÁREZ J. L., SÁNCHEZ-ANDRADE R., PAZ-SILVA A. (2013). The efficacy of four anthelmintics against *Calicophoron daubneyi* in naturally infected dairy cattle. Veterinary Parasitology 197, 126–129.

ARIAS M., LOMBA C., DACAL V., VAZQUEZ L., PEDREIRA J., FRANCISCO I., PINEIRO P., CAZAPAL-MONTEIRO C., SUAREZ J. L., DIEZ-BANOS P., MORRONDO P., SANCHEZ-ANDRADE R., PAZ-SILVA A. (2011). Prevalence of

---

---

mixed trematode infections in an abattoir receiving cattle from northern Portugal and north-west Spain. *Veterinary Record* 168: 408.

AUER H., ASPÖCK H. (2014). Helminths and helminthoses in Central Europe: general overview and diseases caused by trematodes (flukes) *Wien Med Wochenschr.* 164:405–413. doi: 10.1007/s10354-014-0316-7.

AUGOT D., ABROUS M., RONDELAUD D., DREYFUSS G. (1996). *Paramphistomum daubneyi* and *Fasciola hepatica*: the redial burden and cercarial shedding in *Lymnaea truncatula* subjected to successive unimiracidial cross-exposures. *Parasitology Research* 82, 623–627.

AYAZ M. M, RAZA M.A, MURTAZA S, AKHTAR S. (2013). Epidemiological survey of helminths of goats in southern Punjab, Pakistan. *Tropical Biomedicine* 30(1):62–71

BABJÁK, M.; KÖNIGOVÁ, A.; BURČÁKOVÁ, L’.; KOMÁROMYOVÁ, M.; DOLINSKÁ, M.U.; VÁRADY, M. (2021). Assessing the Efficacy of Albendazole against *Fasciola hepatica* in Naturally Infected Cattle by In Vivo and In Vitro Methods. *Veterinary Sciences* 8, 249.

BALBO T., ROSSI L., MENEGUZ P.G. (1989). Integrated control of *Fascioloides magna* infection in northern Italy. *Parassitologia* 31, 137–144.

BARGUES M. D., VIGO M., HORAK P., DVORAK J., PATZNER R. A., POINTIER J. P., JACKIEWICZ M., MEIER-BROOK C., MAS-COMA S. (2021). *European Lymnaeidae* (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematodiasis, based on nuclear ribosomal DNA ITS-2 sequences. *Infection, Genetics and Evolution* 85–107. PMID: 12798024.

BAUER C, HIRZMANN J, KÖHLER K. (2015). Erster Fall einer Paramphistomeninfektion (*Calicophoron daubneyi*) bei Neuweltkameliden. In: Tagung der DVG-Fachgruppe Parasitologie und Parasitäre Krankheiten Stralsund 93–94.

BAZSALOVICSOVÁ E., KRÁLOVÁ-HROMADOVÁ I., ŠPAKULOVÁ M., REBLÁNOVÁ M., OBERHAUSEROVÁ K. (2010). Determination of ribosomal

---

---

internal transcribed spacer 2 (ITS2) interspecific markers in *Fasciola hepatica*, *Fascioloides magna*, *Dicrocoelium dendriticum* and *Paramphistomum cervi* (Trematoda), parasites of wild and domestic ruminants. *Helminthologia* 47(2), 76–82.

BELLET C., GREEN M.J., VICKERS M, FORBES A, BERRY E, KALER J. (2016). *Ostertagia* spp., rumen fluke and liver fluke single-and poly-infections in cattle: An abattoir study of prevalence and production impacts in England and Wales. *Preventive Veterinary Medicine* 132, 98–106.

BENNEMA S., J. VERCRUYSSSE, E. CLAEREBOU, T. SCHNIEDER, C. STRUBE, E. DUCHEYNE, G. HENDRICKX, J. CHARLIER. (2009). The use of bulk-tank milk elisas to assess the spatial distribution of *Fasciola hepatica*, *ostertagia* *ostertagi* and *dictyocaulus viviparus* in dairy cattle in Flanders (Belgium). *Veterinary Parasitology* 165, pp. 51–57.

BERAN L. (2002). Vodní měkkýši České republiky – rozšíření a jeho změny, stanoviště, šíření, ohrožení a ochrana, červený seznam (Aquatic mollusc of the Czech Republic – distribution and its changes, habitats, dispersal, threat and protection, Red List). *Sborník přírodovědného klubu v Uherském Hradišti, Supplementum* 10, 258 pp.

BERAN L., HORSÁK M. (2002). *Anisus septemgyratus* (Mollusca: Gastropoda) in the Czech Republic, with notes to its anatomy. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 66, 231–234.

BORAY J. C. (1969). Studies on intestinal amphistomosis in sheep due to *Paramphistomum ichikawai*, Fukui 1922, *Revue de Medecine Veterinaire* 4, 290–308.

BORAY J. C. (1971). Fortschritte in der Bekämpfung der Fasciolose. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 113, 361–86.

BORAY J. C. 1959. Studies on intestinal amphitomosis in cattle. *Australian Veterinary Journal* 35: 282–287.

---

---

BORAY J.C. (1969a). The anthelmintic efficiency of niclosamide and menichlopholan in the treatment of intestinal paramphistomosis in sheep. *Australian Veterinary Journal* 45:133–135.

BOWMAN D. D., GEORGI J. R. (2009). *Georgisova parazitologie pro veterináře* (9 ed.). Společnost WB Saunders. p. 124. ISBN 978-1416044123.

BROTOWIDJOYO M. D., COPEMAN D. B. (1979). Abattoir survey of bovine paramphistomiasis in North Queensland. *Australian Veterinary Journal* 55(8), 402.

BURGU A. (1981). Studies on the biology of *Paramphistomum cervi* Schrank, 1790 in sheep in the district of Eskisehir Cifteler State. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 28(1–4), 50–71.

BUTLER R.W., YEOMAN G.H. (1962). Acute intestinal paramphistomiasis in Zebu cattle in Tanganyika. *Veterinary Record* 74, 227–231.

CAMPIÃO K. M., DA SILVA R. J., FERREIRA V. L. (2010). Helminth component community of the paradoxal frog *Pseudis platensis* Gallardo, 1961 (Anura: Hylidae) from south-eastern Pantanal, Brazil. *Parasitology Research* 106(3): 747–751.

CASTRO E., FREYRE A., HERNANDEZ Z. (2000). Serological responses of cattle after treatment and during natural re-infection with *Fasciola hepatica*, as measured with a dot-ELISA system. *Veterinary Parasitology* 90(3), 201–208.

CAUQUIL L., HÜE T., HURLIN J. C., MITCHELL G., SEARLE K., SKUCE P., ZADOKS R. (2016). Prevalence and sequence-based identity of rumen fluke in cattle and deer in New Caledonia. *PLoS ONE* 11(4), e0152603.

COLES, G.C., BAUER, C., BORGSTEEDE, F.H.M., GEERTS, S., KLEI, T.R., TAYLOR, M.A., WALLER, P.J. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 44, 35–44.

CRINGOLI G., RINALDI L., MAURELLI M. P., UTZINGER, J. (2010). Flotac: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature Protocols* 5(3), 503–515.

---

---

CROSSLAND N. O. (1976). The effect of the molluscicide N-tritylmorpholine on transmission of *Fasciola hepatica*. Veterinary Record 98(3), 45–48. ISSN 2042–7670.

DADA-ADEGBOLA H. O., FALADE C. O., OLUWATOBA O. A., ABIODUN O. O. (2004). *Gastrodiscoides hominis* infection in a Nigerian – case report. West African Journal of Medicine 23(2), 185–186.

DAGUEURCE, F., ABROUS, M., DREYFUSS, G., RONDELAUD, D., GEVREY, J. (1999). *Paramphistomum daubneyi* and *Fasciola hepatica*: the prevalence of natural or experimental infections in four species of freshwater snails in eastern France. Journal Helminthol 73, 1997–2202.

DANIEL R., VAN DIJK J., JENKINS T., AKCA A., MEARNES R., WILLIAMS D. J. L. (2012). Composite faecal egg count reduction test to detect resistance to triclabendazole in *Fasciola hepatica*. Veterinary Record, 171(6), 153–153.

DE NÚÑEZ M. O., DAVIES D., SPATZ L. (2011). The life cycle of *Zygocotyle lunata* (Trematoda, Paramphistomoidea) in the subtropical region of South America. Revista Mexicana de Biodiversidad 82, 581–588.

DE WAAL T. (2010). *Paramphistomum*-a Brief Review. Irish Veterinary Journal 63(5), 313315.

DEMELASH K., ABEBAW M., NEGASH A., ALENE B., ZEMENE M., TILAHUN M. (2016). A Review on Diagnostic Techniques in Veterinary Helminthology. Nature and Science 14(7), 109–118.

DEPLAZES P., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G., ZAHNER H., JOACHIM A., MATHIS A., TAUBERT A., STRUBE C. (2020). Parasiten und Parasitosen – Metazoa: Helminthen und Myxozoa. Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin, Stuttgart. Thieme Verlag 166–405.

DEPLAZES, P.; ECKERT, J.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; ZAHNER, H. (2013). Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. Stuttgart. Verlag Enke 152.

---

---

DEVOS J., VASSILOGLOU B., AMENNA-BERNARD N., MARCOTTY T. (2013). Paramphistomosis in sheep; natural infection of lambs by *Calicophoron daubneyi*. *Revue de Medecine Veterinaire Toulouse* 164, 528–535.

DEWILDE S., IOANITESCU A. I., KIGER L., GILANY K., MARDEN M. C., VAN DOORSLAER S., VERCRUYSSSE J., PESCE A., NARDINI M., BOLOGNESI M. ET AL. (2008). Hemoglobiny motolic *Fasciola hepatica* a *Paramphistomum epiclitum*: molekulárně-biologická, fyzikálně-chemická, kinetická a vakcinační studie. *Protein Science* 17, 1653–1662.

DÍAZ P., LOMBA C., PEDREIRA J., ARIAS M., SÁNCHEZ-ANDRADE R., SUÁREZ J. L., DÍEZ-BAÑOS P., MORRONGO P., PAZ-SILVA A. (2006). Analysis of the IgG antibody response against *Paramphistomidae* trematoda in naturally infected cattle: application to serological surveys. *Veterinary Parasitology* 140(3), 281–288.

DÍAZ, P. *et al.* (2007). Risk periods of infection by *Calicophoron daubneyi* (Digenea: *Paramphistomidae*) in cattle from oceanic climate areas. *Parasitology Research* 101, 339–342.

DIETERICH R. A. (1981). Alaskan Wildlife Disease University of Alaska Fairbanks, Fairbanks, Alaska. Journal Article pp 53–58.

DINNIK J. A. (1954). *Paramphistomum sukari* n. sp. from Kenya cattle and its intermediate host. *Parasitology* 44(3-4), 414–421.

DINNIK J. A. (1964). Intestinal paramphistomiasis and *Paramphistomum microbothrium* Fischoeder in Africa, Bulletin of Epizootic Diseases in Africa ,12, pp 439–454.

DORCHIES, P. (2007). Comparison of Methods for the Veterinary Diagnosis of Liver Flukes (*Fasciola Hepatica*) in Cattle. *Veterinary Medicine* 64(1-2), 14-19.

DORNY P., STOLIAROFF V., CHARLIER J., MEAS S., SORN S., CHEA B., HOLL D., AKEN D. V., VERCRUYSSSE J. (2011). Infections with gastrointestinal nematodes, *Fasciola* and *Paramphistomum* in cattle in Cambodia and their association with morbidity parameters. *Veterinary Parasitology* 175(3), 293–299.

---

---

DOUBEK, J. (2003). Veterinární hematologie. Brno: Noviko 464 s. ISBN 80-86542-02-5.

DREYFUSS G., ABROUS M., VIGNOLES P., RONDELAUD D. (2004). *Fasciola hepatica* a *Paramphistomum daubneyi*: vertikální distribuce metacerkárií na rostlinách v přirozených podmínkách. Parasitology Research 94, 70–73.

DUCHEYNE E., CHARLIER J., VERCROYSSSE J., RINALDI L., BIGGERI A., DEMELER J., BRANDT C., DE WAAL T., SELEMETAS N., HÖGLUND J., KABA J., KOWALCZYK S. J., HENDRICKX G. (2015). Modelling the spatial distribution of *Fasciola hepatica* in dairy cattle in Europe. Geospat Health 9(2):261–270. doi: 10.4081/gh.2015.348.

DUNN T. S., HANNAT R. E. B., NIZAMI W. A. (1987). Ultrastructural and histochemical observations on the epidermis presumptive tegument and glands of the miracidium of *Gigantocotyle Explanatum* (Trematoda: *Paramphistomidae*). International Journal for Parasitology 17(4), 885–895.

DURIE P. H. (1956). The paramphistomes (Trematoda) of Australian ruminants. 3. The life history of *Calicophoron calicophorum* (Fischöeder) Nasmak. Australian Journal of Zoology 4(2), 152–157.

DYK V., ZAVADIL R. (1981). Veterinární helmintologie. Státní pedagogické nakladatelství Praha, 163 pp.

EDUARDO S. L. (1983). The taxonomy of the family *Paramphistomidae* Fischöeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. III. Revision of the genus *Calicophoron* Nasmak, 1937. Systematic Parasitology 5, 25–79.

EDUARDO S. L. (1985). The taxonomy of the family *Paramphistomidae* Fischöeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. III Revision of the genus *Cotylphoron* Stiles & Goldberger, 1910. Systematic Parasitology 7, pp. 3–26.

EDUARDO S. L., M.U. KAW M. U., JAVELLANA C. R. H. (1987). The occurrence of *Cotylphoron microbothrioides* (Price & McIntosh, 1944) Eduardo,

---

---

1983 in cattle in the Philippines. Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences 13, 33–37.

EDUARRDO. S. L. (1982). The taxonomy of the family *Paramphistomidae* fischoeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. Revision of the genus *Paramphistomum* Fischoedcr, 1901. Systematic Parasitology 4, 189–238.

ELANGO G., RAHUMAN A. A. (2011). Evaluation of medicinal plants extracts against ticks and fluke', Parasitology Research 108, 513–519.

ERHARDOVÁ-KOTRLÁ B. (1971). The occurrence of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) in Czechoslovakia. Praha: Academia. S. 155.

ESLAMI A., HALAJIAN A., BOKAI S. (2011). A survey of the bovine amphistomiasis in Mazenderan Province, north of Iran. Iranian Journal of Veterinary Research 12, 52–55.

FAIRWEATHER, I. (2011). Reducing the future threat from (liver) fluke: Realistic prospect or quixotic fantasy? Veterinary Parasitology 180, 133–143.

FAIRWEATHER, I.; BORAY, J.C. (1999). Fasciolicides: Efficacy, actions, resistance and its management. Veterinary Journal 158, 81–112.

FAIRWEATHER, I.; BRENNAN, G.P.; HANNA, R.E.B.; ROBINSON, M.W.; SKUCE, P.J. (2020). Drug resistance in liver flukes. Int. J. Parasitology Drug. Drug Resistance 12, 39–59.

FANTOVÁ M, FLEISCHER P, KACEROVSKÁ L, MALÁ G, MÁTLOVÁ V, NOHEJLOVÁ L, SKŘIVÁNEK M, ŠLOSÁRKOVÁ S. (2012). Chov koz. 3. vydání. Praha: Brázda, 2012:11, 14, 95, 96, 195. ISBN 978-80-209-0393-8.

Faust E. C., D'antoni J. S., Odom V., Miller M. J., Peres Ch., Sawitz W., Thomen L. F., Tobie J., Walker J. H. (1938). A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 18, 169-183.

---

---

FERRERAS M. C., GONZÁLEZ-LANZA C., PÉREZ V., FUERTES M., BENAVIDES J., MEZO M., GONZÁLEZ-WARLETA M., GIRÁLDEZ J., MARTÍNEZ-IBEAS A. M. (2014). *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae) in slaughtered cattle in Castilla y León (Spain). *Veterinary Parasitology* 199(3-4), 268–271.

FORBES A. (2018). Rumen fluke: past, present and future. *Livestock* 23, 227–231. DOI: 10.12968/live.2018.23.5.227.

FORBES A. (2021). *Parasites of cattle and sheep*. CABI, Wallingford, Oxfordshire, UK Boston, MA CAB International 978-1789245158.

FORBES, A. (2013). Liver fluke control in cattle: Why, when and how? *Cattle Practice* 21, 150–156.

FOREYT W. J., TODD A. C. (1976). Development of the large American liver fluke, *Fascioloides magna*, in white-tailed deer, cattle, and sheep. *The Journal of Parasitology* 62(1), 26-32. ISSN 0022-3395.

FOSTER A.P., OTTER A., O'SULLIVAN T., CRANWELL M. P., TWOMEY D.F., MILLAR M.F., TAYLOR M.A. (2008). Rumen fluke (paramphistomosis) in British cattle. *Veterinary Record* 162, 528.

FOX N. J., WHITE P. C., MCCLEAN C. J., MARION G., EVANS A., HUTCHINGS M. R. (2011). Predicting impacts of climate change on *Fasciola hepatica* risk. *PLoS One*, 6(1), e16126.

FREITAS D. F. *et al.* (2014). Bioclimatic distribution and prevalence maps for *Fasciola hepatica* in Espírito Santo State, Brazil. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* 20(1), 32. ISSN 1678-9199.

FUERTES *et al.* (2015). Patologické změny u skotu přirozeně infikovaného dospělými motolicemi *Calicophoron daubneyi*. *Veterinární Parazitologie* 188–196

GEORGIEV B., GRUEV A. (1979). Účinnost levamizolu a oxyklozanidu při paramfistomóze u ovčí a skotu. *Veterinary Medicine Nauki*. 16 (3), 45–51. PMID 524749.

---

---

GLÖER P. (2002). Überfamilie Lymnaeoidea Rafinesque 1815. Familie Lymnaeidae Lamarck 1812. In: Glöer, P. (ed.), Die Süßwassergastropoden Nord-und Mitteleuropas. Bestimmungsschlüssel, Lebensweise, Verbreitung. Die Tierwelt Deutschlands 73. Conchbooks, Hackenheim, pp. 200–232.

GLÖER P., ZETTLER M. L. (2005). Kommentierte Artenliste der Süßwassermollusken Deutschlands. Malakologische Abhandlungen 23, 3–26.

GÓMEZ P., VELARDE A., CHIRIBOGA J., AND DE LEÓN D. (1973). A Simple Method of Mass Production of *Fasciola hepatica* miracidia. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico 57(1): 87–88.

GONZALEZ-WARLETA M., LLADOSA S., CASTRO-HERMIDA J. A., MARTINEZ-IBEAS A. M., CONESA D., MUÑOZ F., LÓPEZ-QUILEZ A., MANGA-GONZÁLEZ M., MEZO M. (2013). Bovine paramphistomosis in Galicia (Spain): prevalence, intensity, etiology and geospatial distribution of the infection. Veterinary Parasitology 191, 252–263.

GORDON D. K., ROBERTS L. C., LEAN N., ZADOKS R. N., SARGISON N. D., SKUCE P. J. (2013). Identification of the rumen fluke, *Calicophoron daubneyi*, in GB livestock: possible implications for liver fluke diagnosis. Veterinary Parasitology 195(1–2), 65–71.

GORDON D., R. ZADOKS, P. SKUCE, N. SARGISON. (2012). Confirmation of triclabendazole resistance in liver fluke in the United Kingdom. Veterinary Record 171, pp. 159–160.

GUOBADIA E. E., FAGBEMI B. O. (1995): Time-course analysis of antibody response by EITB and ELISA before and after chemotherapy in sheep infected with *Fasciola gigantica*. Veterinary Parasitology 58(3), 247–253.

GUPTA R. P., MALIK P. D., GAUTAM O. P. (1981). Účinnost Rezorantelu proti paramphistomóze u přirozeně infikovaných ovcí. Zdraví a produkce tropických zvířat. 13 (1): 35–36. PMID 7256870. S2CID 32264233.

---

---

HAMMAMI H. MEZGHANI-JARRAYA R., DAMAK M., AYADI A. (2011). Molluscicidal activity of various solvent extracts from *Solanum nigrum* var. *villosum* L. aerial parts against *Galba truncatula*. Parasite 18(1), 63–70. ISSN 1776-1042.

HANNA R. E. B., WILLIAMSON D. S., MATTISON R. G., NIZAMI W. A. (1988). Seasonal reproduction in *Paramphistomum epiclitum* and *Gastrothylax crumenifer*, rumen paramphistomes of the Indian water buffalo, and comparison with the biliary paramphistome *Gigantocotyle Explanatum*. International Journal for Parasitology 18(4), 513–521.

HAQUE M., MOHAN C. H., AHMAD I. (2011). Natural trematode infection in liver of water buffalo (*Bubalus bubalis*): histopathological investigation. Journal of Parasitic Diseases 35(1), 50–53.

HARIDY F. M., EL-SHERBINY G. T., MORSY T. A. (2006). Some parasitic flukes infecting farm animals in Al-Santa Center, Gharbia Governorate, Egypt. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 36: 259–264.

HARMON, A.F., D.S. ZARLENGA, M.B. HILDRETH. (2006). Improved methods for isolating DNA from *Ostertagia ostertagi* eggs in cattle feces. Veterinary parasitology 135(3-4), 297-302.

HASSAN S. S., JUYAL P. D. (2006). Epidemiology of paramphistomosis indomestic ruminants in different districts of Punjab and other adjoining areas. Journal of Veterinary Parasitology. 19(1): 43–46.

HENDRIX C. M., Robinson E. *et al.* (2006). Diagnostic Parasitology for Veterinary Technicians. 3rd Ed, Mosby Inc. and affiliated of Elsevier Inc, China, pp. 246–247.

HODGKINSON J., K. CWIKLINSKI, N. J. BEESLEY, S. PATERSON, D. J. L. WILLIAMS. (2013). Identification of putative markers of triclabendazole resistance by a genome-wide analysis of genetically recombinant *Fasciola hepatica*. Parasitology 140 (2013), pp. 1523–1533.

HORÁK F. *et al.* (2012). Chováme ovce. Praha: 286–287. ISBN 978-80-209-0390-7.

---

---

HORAK I. G. (1962). Studies on paramphistomiasis. Part IV modified critical and controlled anthelmintic test on the conical fluke *Paramphistomum microbothrium*. The Journal of the South African Veterinary Association 33, 203–208.

HORAK I. G. (1965). Studies on paramphistomiasis v. the immunisation of sheep, goats and cattle preliminary report. The Journal of the South African Veterinary Association 36, 361–363.

HORAK I. G. (1967). Host-parasite relationships of *Paramphistomum microbothrium* Fischoeder, 1901, in experimentally infested ruminants, with particular reference to sheep. The Onderstepoort Journal of Veterinary Research 34(2), 451–540.

HORAK, I. G. (1971). Paramphistomiasis of domestic ruminants. Advances in Parasitology 9, 33–72.

HOVORKA, J. (Ed.), 1963. Helminty a helmintohostiteľské vzťahy u domácich prežúvavcov. Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, Prvé vydanie, Bratislava, 451 pp.

HOWELL A. (2011). Howell A. Snail-borne diseases in bovids at high and low altitude in Eastern Uganda: integrated parasitological and malacological mapping (MSc thesis), Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, United Kingdom.

HOWELL A. *et al.* (2015). Epidemiology and impact of *Fasciola hepatica* exposure in high-yielding dairy herds. Preventive Veterinary Medicine 121(1-2), 41–48. ISSN 0167-5877.

HROMADOVÁ, N. (2012). Endoparazitózy skotu v rôznych podmínkách chovu. Diplomová práca. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zemědělská fakulta. Katedra biologických studií. Vedoucí práce M. Kváč.

HUDEK K. *et al.* (2007). Příroda České republiky-Průvodce faunou. Academia. ISBN 978-80-200-1569-3.

---

---

HUSON K. M., N. A. M. OLIVER, M. W. ROBINSON. (2017). Paramphistomosis of ruminants: An emerging parasitic disease in Europe. *Trends in Parasitology* 33 (11), 836–844.

CHAOUDHARY V., HASNANI J. J., KHYALIA M. K., PANDEY S., CHAUHAN V. D., PANDYA S. S., PATEL P. V. (2015): Morphological and histological identification of *Paramphistomum cervi* (Trematoda: Paramphistoma) in the rumen of infected sheep. *Veterinary World* 8(1), 125.

CHARLIER, J. *et al.* (2014). Recent advances in the diagnosis, impact on production and prediction of *Fasciola hepatica* in cattle. *Parasitology* 141(3), 326–335. ISSN 1469-8161.

CHAUVIN. (2012). Trématodoses des ruminants. *Parasitologie interne des ruminants. Le point Vétérinaire* 62–67.

CHINONE S., ITAGAKI H. (1977). A Preliminary Report on the Development of *Homalogaster paloniae* Poirier a Bovine Intestinal Paramphistome. *The Japanese Journal of Veterinary Science* 39, 665–670.

CHROUST K. (1964): Paramphistomatóza mladého skotu. *Veterinářství* 14, 104–107.

IGLESIAS-PINEIRO J., GONZALEZ-WARLETA M., CASTRO-HERMIDA J. A., CORDOBA M., GONZALEZ-LANZA C., MANGA-GONZALEZ Y., MEZO M. (2016). Transmission of *Calicophoron daubneyi* and *Fasciola hepatica* in Galicia (Spain): Temporal follow-up in the intermediate and definitive hosts. *Parasites & Vectors* 9, 610.

IQBAL M. N., MUHAMMAD, A., ANJUM A. A., SHAHZAD K. A., ALI M. A., SHAHZAD A. (2014). Epidemiology of *Gigantocotyle Explanatum* in naturally infected buffaloes. *Veterinaria* 1(1), 15–18.

ITAGAKI T., TSUMAGARI N., TSUTSUMI, K. I., CHINONE S. (2003). Discrimination of three amphistome species by PCR-RFLP based on rDNA ITS2 markers. *Journal of Veterinary Medical Science* 65(8), 931–933.

---

---

JOHANSEN M. V., LIER T., SITHITHAWORN P. (2015). Towards improved diagnosis of neglected zoonotic trematodes using a One Health approach. *Acta Tropica* 141, 161–169.

JOHN B.C., DAVIES D.R., WILLIAMS D. J. L., HODGKINSON J. E. (2019). A review of our current understanding of parasite survival in silage and stored forages, with a focus on *Fasciola hepatica* metacercariae. *Grass and Forage Science* 74, 211–217.

JONES R. A. *et al.* (2016). Rumen fluke (*Calicophoron daubneyi*) on Welsh farms: prevalence, risk factors and observations on co-infection with *Fasciola hepatica*. *Parasitology* 144(2):237–247.

JONES R. A., BROPHY P. M., MITCHELL E. S., WILLIAMS H. W. (2017a). Rumen fluke (*Calicophoron daubneyi*) on Welsh farms: prevalence, risk factors and observations on co-infection with *Fasciola hepatica*. *Parasitology* 144(2), 237–247.

JONES R. A., WILLIAMS H. W., DALESMAN S., AYODEJI S., TOHMAS R. K., BROPHY P. M. (2017b). The prevalence and development of digenean parasites within their Intermediate snail host, *Galba truncatula*, in a geographic area where the presence of *Calicophoron daubneyi* has recently been confirmed. *Veterinary Parasitology* 240, 68–74.

JONES R. A., WILLIAMS H.W., DALESMAN S., BROPHY P. M. (2015). Confirmation of *Galba truncatula* as an intermediate host snail for *Calicophoron daubneyi* in Great Britain, with evidence of alternative snail species hosting *Fasciola hepatica*. *Parasites and Vectors* 8: 656.

JURÁŠEK V. (1993). Parazitológia a invazne choroby 1. *Príroda* 349 s.

JURÁŠEK V., DUBINSKÝ P., (1993). Veterinárna parazitológia. Bratislava. *Príroda*. 382 s.

JUŘIČKOVÁ L., HORSÁK M. *et* BERAN L. (2001). Check-list of the molluscs (Mollusca) of the Czech Republic. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 65, 25–40.

---

---

KAMARAJ C., RAHUMANN A. A., BAGAVAN A., ELANGO G., RAJAKUMAR G., ZAHIR A. A. *et al.* (2010). Evaluation of medicinal plant extracts against blood-sucking parasites. *Parasitology Research* 106, 1403–1412.

KANYARI P. W. N., KAGIRA J. M. *et* MHOMA J. R. L. (2009). Prevalence and intensity of endoparasites in small ruminants kept by farmers in Kisumu Municipality, Kenya, *Livestock Research & Rural Development* 21, 11.

KANYARI P. W. N., KAGIRA J. M. *et* MHOMA J. R. L. (2010). Prevalence and intensity of endoparasites in cattle within urban and peri-urban areas of Lake Victoria Basin, Kenya with special reference to zoonotic potential. *Scientia Parasitologica* 11, 171–178.

KASSAI T. (1999): *Veterinary Parasitology*. Butterworth-Heinemann, Linacre House, Jordan Hill, pp 205.

KATZ N., CHAVES A., PELLEGRINO, J. (1972). A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 14(6), 397–400.

KAUR S., SINGLA L. D., HASSAN S. S., JUYAL P. D. (2009). Standardization and application of indirect plate ELISA for immunodiagnosis of paramphistomosis in ruminants. *Journal of Parasitic Diseases* 33(1), 70–76.

KAUR S., SINGLA L. D., HASSAN S. S., JUYAL P. D. (2013). Application of indirect plate ELISA in early diagnosis of paramphistomosis using purified polypeptides of somatic antigen of *Paramphistomum epiclatum*. *Trends in Parasitology Research* 2(1), 9–15.

KENNEDY M. J., M. W. LANCASTER, J. B. SNIDER. (1985). *Paramphistomum cervi* and *Paramphistomum liorchis* (Digenea: Paramphistomatidae) in moose, *Alces alces*, from Ontario, Canada. *Canada Journal of Zoology* 63, 1207–1210.

KENYON F., N. D. SARGISON, P. J. SKUCE, F. JACKSON. (2009). Sheep helminth parasitic disease in south eastern scotland arising as a possible consequence of climate change. *Veterinary Parasitology* 163, pp. 293–297.

---

---

KEYYU J. D., KASSUKU A. A., MSALILWA L. P., MONRAD J. *et* KYVSGAARD N. C. (2006). Cross-sectional prevalence of helminth infections in cattle on traditional, small-scale and large-scale dairy farms in Iringa District, Tanzania. *Veterinary Research Communications* 30, 45–55.

KEYYU J. D., MONRAD J., KYVSGAARD N. C. *et* KASSUKU A. A. (2005). Epidemiology of *Fasciola gigantica* and amphistomes in cattle on traditional, small-scale dairy and large-scale dairy farms in southern highlands of Kenya. *Tropical Animal Health & Production* 37, 303–314.

KILANI M., CHERMETTE R., GUILLOT J., POLACK B., DUNCAN J. L., CABARET J. (2010). Gastrointestinal helminthoses: amphistomosis, in *Infectious and parasitic diseases of livestock*, Lefèvre P. C., Blancou J., Chermette R., Uilenberg G., Editors Lavoisier: Paris: p. 1589–1601.

KNUBBEN-SCHWEIZER G., SCHEUERLE M., PFISTER K. (2011). Die Bekämpfung des großen Leberegels beim Rind. *Tierärztliche Praxis Ausgabe. Großtiere/Nutztiere* 39, 179–185.

KNUBBEN-SCHWEIZER G., STRUBE C. (2018). Aktuelles zur Paramphistomose. In: *Vortragsband Schwein, Rind, Geflügel, LMS, VPH. Kongress Hannover* 222–226.

KOBAK P. *et* PILARCZYK B. (2012). Prevalence of gastrointestinal parasites of water buffaloes raised in the notecka forest region (Poland). *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 56(1), 33–36.

KONGS A., MARKS G., VERLE P., VAN DER STUYFT P. (2001). The unreliability of the Kato-Katz technique limits its usefulness for evaluating *S. mansoni* infections. *Tropical Medicine & International Health* 6(3), 163–169.

KOTRLÁ B., ČERNÝ V., KOTRLÝ A., MINÁŘ J., RYŠAVÝ B., ŠEBEK Z. (1984) *Parazitózy zvířet. Academia Praha*, pp. 192.

KOTRLÁ B., CHROUST K. (1978). *Paramphistomum ichikawai* in Cattle in Southern Moravia. *Acta Veterinaria* 47(1–2), 97–101.

---

---

KOTRLÁ B., KOTRLÝ A. (1982). Výskyt motolice rodu *Paramphistomum* v ČSSR. Veterinární Medicína 27, 483–490.

KOZŁOWSKA-ŁÓJ J. (2011). Prevalence of *Fasciola hepatica* L. infection in cattle in the Lublin province (Poland) in the years 2005-2008. Wiad Parazytol 57(2):127–128.

KRÁĚOVÁ-HROMADOVÁ I., ŠPAKULOVÁ M., HORÁČKOVÁ E., TURČEKOVÁ L., NOVOBILSKÝ A., BECK R., KOUDELA B., MARINKULIC A., RAJSKÝ D., PYBUS M. (2008): Sequence analysis of ribosomal and mitochondrial genes of the giant liver fluke *Fascioloides magna* (Trematoda: Fasciolidae): intraspecific variation and differentiation from *Fasciola hepatica*. The Journal of Parasitology 94, 58-67

KRANEBURG W. (1977). Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi* 1. Entwicklungsstadien in der Außenwelt und im Zwischenwirt. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 90, 316–320.

KRANEBURG W. (1978a). Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi* 2. Vorkommen bei Weiderindern in Marschgebieten. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 91, 46–48.

KRANEBURG W. (1978b). Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi* 3. Entwicklung in Rind, Schaf und Reh. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 91, 71–75.

KRULL W. H. (1934). Some additional notes on the life history of a frog lung fluke, *Haematoloechus complexus* (Seely, 1906) Krull. Transactions of the American Microscopical Society 53, 196–199.

KUERPICK B., T. SCHNIEDER C. STRUBE. (2012). Seasonal pattern of *Fasciola hepatica* antibodies in dairy herds in Northern Germany. Parasitology Research. 111(3), 1085–1092.

---

---

KUERPICK, B. *et al.* (2013). Seroprevalence and GIS-supported risk factor analysis of *Fasciola hepatica* infections in dairy herds in Germany. *Parasitology* 140(8):1051–1060.

KUMAR C. P., SUNDAR N. S., PRASAD V. D. (2016). Outbreak of immature paramphistomosis in Nellore Jodipi sheep. *Journal of Parasitic Diseases* 40(2), 533–535.

KUTZER E., HINAIDY H. K. (1969). Die Parasiten der wildlebenden Wiederkäuer Österreichs. *Zeitschrift Parasitenk* 32, 354–368.

KVÁČ M. (2003). Výskyt endoparazitóz u mladého skotu masných plemen. Disertační práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zemědělská fakulta. Vedoucí práce J. Vítovec.

LALHMINGCHHUANMAWII K., VEERAKUMARI L., RAMAN M. (2014). Anthelmintic activity of *Punica granatum* ethanol extract against paramphistomes in infected sheep. *Journal of Research in Animal Science* 2, 79–86.

LANKESTER M. W., J. B. SNIDER, R. E. JERRARD. (1979). Annual maturation of *Paramphistomum cervi* (Trematoda: Paramphistomatidae) in moose, *Alces alces*. *Canadian Journal of Zoology* 57, 2355–2357.

LONGA, ANA; TRAVIEZO-VALLES, LUIS *et* PERDOMO, ROSA. (2010). First human case parasitized by *Paramphistomidae* (Trematoda: Digenea) in Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambienta* 50(2): 301-306.

LOTFY W. M., BRANT S. V., ASHMAWY K. I., DEVKOTA R., MKOJI G. M., LOKER E. S. (2010). A molecular approach for identification of paramphistomes from Africa and Asia. *Veterinary Parasitology* 174(3–4), 234–40.

MAGE C., BOURGNE H., TOULLIEU J. M., RONDELAUD D., DREYFUSS G. (2002). *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*: changes in prevalences of natural infections in cattle and in *Lymnaea truncatula* from central France over the past 12 years. *Veterinary Research* 33(5), 439–447.

---

---

MAGE C., DORCHIES P. (1998). Paramphistomose des bovins: étude des relations coproscopie populations parasitaires. *Revue de Médecine Vétérinaire* 149(10), 927–992.

MAHAMI-OSKOEI M., DALIMI A., FOROUZANDEH-MOGHADAM M., ROKNI M. B. (2011). Molecular identification and differentiation of *Fasciola* isolates using PCR-RFLP method based on internal transcribed spacer (ITS1, 5.8 S rDNA, ITS2). *Iranian Journal of Parasitology* 6(3), 35.

MALEK E. A. (1971). The life cycle of *Gastrodiscus aegyptiacus* (Cobbold, 1876) Looss, 1896 (Trematoda: Paramphistomatidae: Gastrodiscinae). *The Journal of Parasitology* 57(5), 975–979.

MALRAIT K., VERSCHAVE S., SKUCE P., VAN LOO H., VERCRUYSSSE J., CHARLIER J. (2015). Novel insights into the pathogenic importance, diagnosis and treatment of the rumen fluke (*Calicophoron daubneyi*) in cattle. *Veterinary Parasitology* 207(1), 134–139.

MARTINEZ-IBEAS A. M., MUNITA M. P., LAWLOR K., SEKIYA M., MULCAHY G., SAYERS R. (2016). Rumen fluke in Irish sheep: prevalence, risk factors and molecular identification of two paramphistome species. *BMC Veterinary Research* 12(1), 143.

MAS-COMA S., BARGUES M.D., VALERO M.A. (2005). Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. *International Journal for Parasitology* 35(11–12), 1255–1278.

MAS-COMA S., I. R. FUNATSU, M. D. BARGUES. (2001). *Fasciola hepatica* and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America. *Parasitology* 123, 115–127.

MASON C., STEVENSON H, COX A., DICK, I. (2013). Onemocnění spojené s infekcí nezralého *Paramphistomum* u ovcí. *Veterinary Record* 170, 343–344.

MAVENYENGWA M, MUKARATIRWA S, OBWOLO M, MONRAD J. (2005). A macro-and light microscopical study of the pathology of *Calicophoron*

---

---

*microbothrium* infection in experimentally infected cattle. Onderstepoort Journal of Veterinary 72, 321–332.

MAVENYENGWA M., MUKARATIRWA S., MONRAD J. (2010). Influence of *Calicophoron microbothrium* amphistomosis on the biochemical and blood cell counts of cattle. Journal of Helminthology 84, 355–361.

MAVENYENGWA M., MUKARATIRWA S., OBWOLO M. & MONRAD J. (2008). Bovine intestinal cellular responses following primary and challenge infections with *Calicophoron microbothrium* metacercariae. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 74, 109–120.

MAY K., BRÜGEMANN K., KÖNIG S., STRUBE C. (2019). Patent infections with *Fasciola hepatica* and paramphistomes (*Calicophoron daubneyi*) in dairy cows and association of fasciolosis with individual milk production and fertility parameters. Veterinary Parasitology 267: 32–41.

MCCANN, C. M., M. BAYLIS, D. J. L. WILLIAMS. (2010). The development of linear regression models using environmental variables to explain the spatial distribution of *Fasciola hepatica* infection in dairy herds in England and Wales. International Journal for Parasitology 40(9), 1021–1028.

MELAKU S., ADDIS M. (2012). Prevalence and intensity of *Paramphistomum* in ruminants slaughtered at Debre Zeit industrial abattoir, Ethiopia Veterinary Journal 8(3), 315–319.

MEZO M., M. GONZALEZ-WARLETA, J. ANTONIO CASTRO-HERMIDA, F. M. UBEIRA. (2008). Evaluation of the flukicide treatment policy for dairy cattle in Galicia (NW Spain). Veterinary Parasitology 157, 235–243.

MILLAR M., COLLOFF A., SCHOLE S. (2012). Disease associated with immature paramphistome infection. Veterinary Record 171(20), 509–510.

MITCHELL G. (2002). Update on fasciolosis in cattle and sheep. In Practice, 24(7), 378–385.

---

---

MITCHELL G., ZADOKS R.N., SKUCE P.J. (2021). A universal approach to molecular identification of rumen fluke species across hosts, continents, and sample types. *Frontiers in Veterinary Science* 7, 605259.

MOHAN S. K. (2011). Amphistomosis - An unnoticeable threat', *Journal of the Indian Veterinary Association* 9, 60–61.

MURPHY T. M., POWER E. P., SANCHEZ-MIGUEL C., CASEY M. J., TOOLAN D. P., FAGAN J. G. (2008). Paramphistomosis in Irish cattle. *Veterinary Record* 162: 831.

NARANJO-LUCENA A., M. P. M. CORBALAN, A. M. MARTINEZ-IBEAS, G. MCGRATH, G. MURRAY, *et al.* (2018). Spatial patterns of *Fasciola hepatica* and *Calicophoron daubneyi* infections in ruminants in Ireland and modelling of *C. daubneyi* infection. *Parasites & Vectors* 11, 531.

NIKANDER S. (1992). Paramphistomosis of reindeer in Finland *Rangifer*, 12, pp. 187–189.

NIKANDER S., SAARI S. (2009). Notable seasonal variation observed in the morphology of the reindeer rumen fluke (*Paramphistomum leydeni*) in Finland. *Rangifer* 27(1), 47–57.

NZALAWAHE J., KASSUKU A. A., STOTHARD R. J., COLES C. G., EISLER M. C. (2014). Trematodes infection in cattle in Arumeru District, Tanzania are associated with irrigation, *Parasites & Vectors* 7, 107.

OBERHAUSEROVÁ K., BAZSALOVICSOVÁ, KRÁLOVÁ-HROMADOVÁ I., MAJOR R., REBLÁNOVÁ M. (2010). Molecular discrimination of eggs of cervid trematodes using the Teflon (PTFE) technique for eggshell disruption. *Helminthologia* 47(3), 147–151.

ODENING K. (1983). Was ist *Paramphistomum cervi*? *Angew Parasitol* 24, 205 – 216.

---

---

ODENING K., GRÄFNER G. (1979). Zum systematischen Erforschungsstand der *Paramphistomum*-Arten (Trematoda) in Europa. Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin 55, 271–290.

OLSEN A., FRANKENA K., BØDKER R. *et al.* (2015). Prevalence, rizikové faktory a prostorová analýza infekcí motolicí jater v dánských stádech skotu. *Parasites Vectors* 8, 160.

OLSEN O. W. (1974). *Animal parasites: their life cycles and ecology*. Baltimore: University Park Press s. 273–276.

O'TOOLE A., BROWNE J. A., HOGAN S., BASSIÈRE T., DE WAAL T., MULCAHY G., ZINTL A. (2014): Identity of rumen fluke in deer. *Parasitology Research* 113(11), 4097–4103.

OZDAL N, GUL A, ILHAN F, DEGER S. (2010). Prevalence of *Paramphistomum* infection in cattle and sheep in Van Province, Turkey. *Helminthologia* 47:20–24.

PANYARACHUN B., SOBHON P., TINIKUL Y., CHOTWIWATTHANAKUN C., ANUPUNPISIT V., ANURACPREEDA P. (2010). *Paramphistomum cervi*: surface topography of the tegument of adult fluke. *Experimental Parasitology* 125(2), 95–99.

PAVLÁSEK, I. (1995). Findings of cryptosporidia and of other endoparasites in heifers imported into the Czech republic. *Veterinary Medicine* 40, 333–336.

PAVLOVIĆ I., SAVIĆ B., IVANOVIĆ S., ČIROVIĆ D. (2012). First Occurrence of *Paramphistomum microbothrium* (Fischöeder 1901) in Roe Deer (*Capreolus capreolus*). Serbia. *Journal of Wildlife Diseases* 48(2), 520–522.

PAVLOVIĆ I., SAVIĆ B., IVANOVIĆ S., VOJINOVIĆ, D. (2014). Occurrence of *Paramphistomidae* (Trematoda: Digenea) in small ruminants in spread Belgrade area. *Scientific Works, C Series, Veterinary Medicine* 60(1), 81–84.

PERECKIENĖ A., KAZIŪNAITĖ V., VYŠNIAUSKAS A., PETKEVIČIUS S., MALAKAUSKAS A., ŠARKŪNAS M., TAYLOR M. A. (2007). A comparison of modifications of the McMaster method for the enumeration of *Ascaris suum* eggs in pig faecal samples. *Veterinary Parasitology* 149(1), 111–116.

---

---

PFUKENYI D. M., MONRAD J. *et* MUKARATIRWA S. (2005b). Epidemiology and control of trematode infections in cattle in Zimbabwe: A review, *Journal of the South African Veterinary Association* 76, 9–17.

PFUKENYI D. M., MUKARATIRWA S., WILLINGHAM A. L. *et* MONRAD J. (2005a). Epidemiological studies of amphistomes infections in cattle in the highveld and lowveld communal grazing areas of Zimbabwe, *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 72, 67–86.

PILARCZYK B., TOMZA-MARCINIAK A., SABLİK P., PILARCZYK R. (2019). Parasites of the digestive tract in cows managed in alternative (organic and biodynamic) as well as conventional farms in West Pomerania. *Annals of Parasitology* 65: 387–396.

PLOEGER *et al.* (2017). Přítomnost a druhová identita motolice bachorové u skotu a ovcí v Nizozemsku. *Veterinární Patologie* s. 243

PRASITIRAT P., S. NITHIUTHAI, K. RUENGSAK, P. KITWAN, C. BUNMATID, S. ROOPAN, H. ITAGAKI. (1997). Účinnost Bithionolsulfoxidu, Niklosamidu a Fenbendazolu proti přirozené infekci motolice bachoru u skotu *Helminthologia* 34, s. 155–157.

PRITCHARD G. C., A. B. FORBES, D. J. L. WILLIAMS, M. R. SALIMI-BEJESTANI, R. G. DANIEL (2005). Emergence of fasciolosis in cattle in east Anglia. *Veterinary Record* 57, 578–582

PRIYA P., VEERAKUMARI L. (2017). Morphological and Histological Analysis of *Cotylophoron cotylophorum* Treated with *Acacia concinna*. *Tropical Parasitology* 7(2), 92–97.

PROSL H. (1973). Beiträge zur Parasitenfauna der wildlebenden Wiederkäuer Österreichs. *Veterinary Thesis, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria.*

PYBUS M. J. (2001). Liver flukes. In: Samuel W.M. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2. vydání. Iowa: Iowa State University Press 121–149.

---

---

RANGEL-RUIZ L. J., ALBORES-BRAHMS S. T., GAMBOA-AGUILAR J. (2003). Seasonal trends of *Paramphistomum cervi* in Tabasco, Mexico. *Veterinary Parasitology* 116, 217–222.

RAPSCH C., DAHINDEN T., HEINZMANN D., TORGERSON P.R., BRAUN U., DEPLAZES P., HURNI L., BAR H., KNUBBEN-SCHWEIZER G. (2008). An interactive map to assess the potential spread of *Lymnaea truncatula* and the free-living stages of *Fasciola hepatica* in Switzerland. *Veterinary Parasitology* 154, 242–249.

RAPSCH C., SCHWEIZER G., GRIMM F., KOHLER L., BAUER C., DEPLAZES P., BRAUN U., TORGERSON P. R. (2006). Estimating the true prevalence of *Fasciola hepatica* in cattle slaughtered in Switzerland in the absence of an absolute diagnostic test. *International Journal for Parasitology* 36(10), 1153–1158.

RIEU *et al.* (2007). Spolehlivost koprologické diagnózy *Paramphistomum* spp. infekce u krav. *Veterinární parazitologie* 249–253.

RINALDI L., MUSELLA V., VENEZIANO V., CONDOLEO R. U., CRINGOLI G. (2009). Helminthic infections in water buffaloes on Italian farms: a spatial analysis. *Geospatial Health* 3: 233–239.

RINALDI L., PERUGINI A. G., CAPUANO F., FENIZIA D., MUSELLA V., VENEZIANO V., CRINGOLI G. (2005). Characterization of the second internal transcribed spacer of ribosomal DNA of *Calicophoron daubneyi* from various hosts and locations in southern Italy. *Veterinary Parasitology* 131(3–4), 247–253.

ROJO-VÁZQUEZ F. A., MEANA A., VALCÁRCEL F., MARTÍNEZ-VALLADARES M. (2012). Update on trematode infections in sheep. *Veterinary Parasitology* 189(1), 15–38.

ROLFE P. F. *et* BORAY J. C. (1987). Chemotherapy of paramphistomosis in cattle, *Australian Veterinary Journal* 64, 328–332.

ROLFE P. F. *et* BORAY J. C. (1988). Chemoterapie paramfistomózy u ovcí. *Australský veterinární časopis*. 65 (5): 148–150.

---

---

ROLFE P. F., BORAY J. C., COLLINS G. H. (1994). Pathology of infection with *Paramphistomum ichikawai* in sheep. International Journal of Parasitology 24(7), 995–1004.

ROLFE P. F., BORAY J. C., NICHOLS P., COLLINS G. H. (1991). Epidemiology of amphistomosis in cattle, International Journal for Parasitology 21, 813-819.

ROMMEL M., ECKERT J., KUTZER E., KÖRTING W., SCHNIEDER T. (2000). Veterinärmedizinische parasitologie. Berlin: Parey Buchverlag pp. 673–774.

RONDELAUD D, VIGNOLES P, DREYFUSS G. (2007). Parasite development and visceral pathology in *Galba truncatula* co-infected with *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum daubneyi*. Journal of Helminthology 81: 317–322.

RONDELAUD D. *et al.* (2006). The control of *Galba truncatula* (Gastropoda: Lymnaeidae) by the terrestrial snail *Zonitoides nitidus* on acid soils. Biological Control 39(3), 290–299.

SAIFULLAH M. K., AHMAD G., ABIDI S. M. (2012). Immunodetection of coproantigens for the diagnosis of amphistomosis in naturally infected Indian Water Buffalo, *Bubalus bubalis*. Veterinary Parasitology 191(1), 66–72.

SALIMI-BEJESTANI M. R., R. G. DANIEL, S. M. FELSTEAD, P. J. CRIPPS, H. MAHMOODY, D. J. L. WILLIAMS. (2005). Prevalence of *Fasciola hepatica* in dairy herds in england and wales measured with an elisa applied to bulk-tank milk. Veterinary Record 156, pp. 729–731.

SANABRIA R., MORÉ G., ROMERO J. (2011). Molecular characterization of the ITS-2 fragment of *Paramphistomum leydeni* (Trematoda: *Paramphistomidae*). Veterinary Parasitology 177(1–2), 182–185.

SANABRIA, R., MARTORELLI S., ROMERO J. (2009). First report of *Paramphistomum leydeni* Näsmark, 1937 (Trematoda: *Paramphistomidae*) in Argentina, and re-examination of *Cotylophoron cotylophorum* sensu Racioppi *et al.* (1994). Helminthologia 46(4), 225–229.

---

---

SANGUANKIAT S., SATO M. O., SATO M., MAIPANICH W., YOONUAN T., PONGVONGSA T., BOUPHA B., CHIGUSA Y., MOJI K., WAIKAGUL J. (2016). First record of paramphistomes *Fischoederius cobboldi* and *Paramphistomum epiclitum* detected in bovine rumen from a local market of Savannakhet Province, Lao PDR. *The Korean Journal of Parasitology* 54(4), 543.

SANCHIS J., SANCHEZ-ANDRADE R., MACCHI M. I., PINEIRO P., SUAREZ J. L., CAZAPAL-MONTEIRO C., MALDINI G., VENZAL J. M., PAZ-SILVA A., ARIAS M. S. (2013). Infection by *Paramphistomidae* trematodes in cattle from two agricultural regions in NW Uruguay and NW Spain. *Veterinary Parasitology* 191: 165–171.

SANCHO F. V., ROJO F. A., OLMEDA S., ARRIBAS B., MÁRQUEZ L., FERNÁNDEZ N. (2013). *Atlas of bovine parasitology*. Servet, USA, pp. 152.

SAOWAKON N., LORSUWANNARAT N., CHANGKLUNGMOA N., WANICHANON C., SOBHON P. (2013). *Paramphistomum cervi*: in vitro účinek plumbaginu na motilitu, přežití a strukturu obalu. *Experimentální parazitologie* 133 (2): 179–186.

SARGISON N. (2012). Diagnosis of triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica*. *Veterinary Record* 171, pp. 151–152.

SARGISON N. D., P. R. SCOTT. (2011). Diagnosis and economic consequences of triclabendazole resistance in *Fasciola hepatica* in a sheep flock in south-east Scotland. *Veterinary Record* 168, pp. 159–164.

SARGISON N. D., SHAHZAD K., MAZERI S., CHAUDHRY U. (2019). A high throughput deep amplicon sequencing method to show the emergence and spread of *Calicophoron daubneyi* rumen fluke infection in United Kingdom cattle herds. *Veterinary Parasitology* 268: 9–15.

SARGISON N., FRANCIS E., DAVISON C., BRONSVOORT B. M., HANDEL I., MAZERI S. (2016). Observations on the biology, epidemiology and economic relevance of rumen flukes (*Paramphistomidae*) in cattle kept in a temperate environment. *Veterinary Parasitology* 219: 7–16.

---

---

SEY O. (1980). Revision of the amphistomes of European ruminants. *Parasitol Hung* 13, 13–25.

SEY O. (1982). The morphology, life-cycle and geographical distribution of *Paramphistomum cervi* (Trematoda: Paramphistomata). *Miscellanea Zoologica Hungarica* 1, 11–24.

SEY O., GRABER M. (1979). *Cotylophoron macrosphinctris* sp. n. (Trematoda: Paramphistomata) from the African buffalo, *Bubalus (Syncerus) caffer* Sparrman. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 54 (3), pp. 297–302.

SEY, O. (1989). A review of chemotherapy of paramphistomosis of domestic ruminants in Europe. *Parasitologia Hungarica* 22, 51–55.

SEY, O. (1991). CRC handbook of the zoology of amphistomes. Boca Raton: CRC Press, pp. 480.

SHAMEEM H., DEVADA K., LAKSHMANAN B., JOSEPH S. (2016). Standardisation of coproantigen dot ELISA for diagnosis of bovine amphistomosis. *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture* 2(3), 183–186.

SHYLLA J. A, GHATANI S., TANDON V. (2013). Utility of divergent domains of 28S ribosomal RNA in species discrimination of paramphistomes (Trematoda: Digenea: Paramphistomoidea). *Parasitology Research* 112(12), 4239–4253.

SCHADE-WESKOTT E. (2019). Überprüfung eines logistischen Regressionsmodells zur Berechnung des Vorkommens von *Galba truncatula* als Grundlage zur kartographischen Darstellung von Risikogebieten für das Auftreten von *Fasciola hepatica* in Bayern. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München pp. 140. DOI: 10.5282/edoc.24414

SILVESTRE A., SAUVÉ C., CABARET J. (2000). Caprine *Paramphistomum daubneyi* (Trematoda) infection in Europe. *Veterinary Record* 146, 674–675.

SINGH C. D., LAKRA P. (1971). Pathologic changes in naturally occurring *Cotylophoron cotylophorum* infection in cattle. *American Journal of Veterinary Research* 32: 659–663.

---

---

SOLANA, H., D., SALLOVITZ, J., M., LANUSSE, C., E., RODRIGUEZ, J., A. (2002). Enantioselective binding of albendazole sulphoxide of cytosolic proteins from helminth parasites. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology. Parasitology Research* 24, 7–13.

SPENCE S. A., FRASER G. C., CHANG S. (1996). Responses in milk production to control of gastrointestinal nematode and paramphistome parasites in dairy cattle. *Australian Veterinary Journal* 74, 456–459.

STRONG E. E., GARGOMINY O., PONDER W. F., BOUCHET P. 2008. Global diversity of gastropods (Gastropoda: Mollusca) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 149–166.

SUPPERER R. (1957). Über die Ursachen der schweren Leberegel-Erkrankungen im Wien. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 44:107–109.

SWARNAKAR G., KUMAWAT A., SANGER B., ROAT K., GOSWAMIL H. (2014). Prevalence of amphistome parasites (Trematoda: digenea) in Udaipur of southern Rajasthan, India. *International Journal Current Microbiology Applied Sciences* 3(4), 32–37.

SWART P. J. *et* REINECKE R. K. (1962a). Studies on paramphistomiasis. I. The propagation of *Bulinus tropicus* Krauss, 1848. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 29, 183–187.

SWART P. J. *et* REINECKE R. K. (1962b). Studies on paramphistomiasis. II. The mass production of metacercariae of *Paramphistomum microbothrium* Fischöder 1901. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 29, 189–195.

SZMIDT-ADJIDÉ V., ABROUS M., ADJIDÉ C. C., DREYFUSS G., LECOMPTE A., CABARET J., RONDELAUD D. (2000). Prevalence of *Paramphistomum daubneyi* infection in cattle in central France. *Veterinary Parasitology* 87, 133–138.

TANDON R. S. (1957). Development of the miracidium and its morphology in *Olveria indica* Thapar *et* Sinha, 1945, an amphistome (Trematoda), parasite of cattle and buffalo in India. *Transactions of the American Microscopical Society* 76(4), 353–358.

---

---

TANDON V., ROY B., SHYLLA J. A., GHATANI S. (2014). Amphistomes. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 766, 365–392.

TAYLOR M. A. (2010). Parasitological examinations in sheep health management. *Small Ruminant Research* 92(1), 120–125.

THIENPONT D., ROCHETTE F., VANPARIJS O. F. J. (1980). Diagnosing Helminthiasis Through Coprological Examination. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 29, 1021 pp.

TITI A., MEKROUD A., SEDRAOUI S., VIGNOLES P., RONDELAUD D. (2010). Prevalence and intensity of *Paramphistomum daubneyi* infections in cattle from north-eastern Algeria. *Journal of Helminthology* 84: 177–81.

TOMAN, M. (2009). Veterinární imunologie. 2., doplněné a aktualizované vydání. Praha: Grada 392 s.

TOOLAN D. P., MITCHELL G., SEARLE K., SHEEHAN M., SKUCE P. J., ZADOKS R. N. (2015). Bovine and ovine rumen fluke in Ireland - Prevalence, risk factors and species identity based on passive veterinary surveillance and abattoir findings. *Veterinary Parasitology* 212(3–4), 168–174.

TRUANT A. L., ELLIOTT S. H., KELLY M. T., SMITH J. H. (1981). Comparison of formalin-ethyl ether sedimentation, formalin-ethyl acetate sedimentation, and zinc sulfate flotation techniques for detection of intestinal parasites. *Journal of Clinical Microbiology* 13(5), 882–884.

ÚSKVBL, 2017. Aktuálně registrované VLP [WWW Document]. URL <http://www.uskvbl.cz/cs/registrace-a-schvalovani/registrace-vlp/seznamvlp/aktualne-registrovane-vlp> (accessed 4.4.22).

VASSILEV G. D. (1999). Prevalence of internal parasite infections of cattle in the communal farming areas of Mashonaland East Province, Zimbabwe. *Zimbabwe Veterinary Journal* 30, 1–17.

VAUGHT, K. C. (1989). A classification of living mollusca. *American Malacologists Inc., Melbourne USA*, pp. 195.

---

---

VELÍK J. (2005). K biotransformačním aspektům Albendazolu u hospodářských a volně žijících druhů zvířat, Disertační práce, Universita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta 28(4), 377–384.

VERCRUYSSSE. (1992). Parasitaire ziekten bij huisdieren. Deel I – Algemene inleiding. Cursus faculteit diergeneeskunde 10–13.

VIGNOLES P., TITI A., MEKROUD A., RONDELAUD D., DREYFUSS G. (2017). *Calicophoron daubneyi* and *Fasciola hepatica*: Characteristics of natural and experimental co-infections of these digeneans in the snail *Lymnaea glabra*. Journal of Helminthology 91(1), 1–6.

VIHAN V. S. (2010). Nemoci malých přežvýkavců, 1. vyd.; Satish Serial Publishing House: Dillí, Indie; 255–259.

VOLF P., HORÁK P. *et al.* (2007). Paraziti a jejich biologie. Přírodovědecká fakulta UK Praha: Triton, s. 318.

WENZEL C., KÜCHLER A., STRUBE C., KNUBBEN-SCHWEIZER G. (2019). Paramphistomidose – eine Übersicht zu Epidemiologie und klinischer Symptomatik. Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere/Nutztiere 47: 184–191.

WIEDERMANN, S., HARL, J., FUEHRER, HP. *et al.* (2021). DNA barcoding of rumen flukes (*Paramphistomidae*) from bovines in Germany and Austria. Parasitology Research 120, 4061–4066.

WILLMOTT S. M. (1951). Studies on the morphology and development of some members of the family *Paramphistomidae*, Fiscoeder, 1901. PhD thesis, London School of Hygiene & Tropical Medicine, s. 105.

WILLOMITZER J., CHROUSTOVÁ E., KOLAR Z. (1976). Tlumení fascioloidózy u jelení zvěře. Veterinářství 26, 417–419.

Wobeser, G., Gajadhar A. A., Hunt H. M. (1985): *Fascioloides magna*: Occurrence in Saskatchewan and distribution in Canada. Canadian Veterinary Journal 26, 241–244.

---

---

WONGSAWAD C., WONGSAWAD P., CHUBOON S., ANUNTALABHOCHAI, S. (2009). Copro-diagnosis of *Haplorchis taichui* infection using sedimentation and PCR-based methods. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 40(5), 924.

YAMAGUTI S. (1952). Parasitic worms mainly from Celebes. Part 5. Trematodes of mammals. Acta Medica Okayama. 8(4):341–352.

YAMCHI J. A., HAJIPOUR N., FROUSHANI S. M. A., KEIGHOBADI M. (2016): Comparison between in-house indirect ELISA and Dot-ELISA for the diagnosis of *Fasciola gigantica* in cattle. Journal of Parasitic Diseases 40(4), 1396–1400.

YAN H. B., WANG X. Y., LOU Z. Z., LI L., BLAIR D., YIN H., CAI J. Z., DAI X. L., LEI M. T., XING-ZHU Q., CAI X. P., CAI X. P. (2013). The mitochondrial genome of *Paramphistomum cervi* (Digenea), the first representative for the family *Paramphistomidae*. PLoS One 8(8), e71300.

YENENEH A., KEBEDE H., FENTAHUN T., CHANIE M. (2012). Prevalence of cattle flukes infection at Andassa Livestock Research Center in north-west of Ethiopia. Veterinary Research Forum 3 (2), 85–89.

YILMAZ H., GÖDEKMERDAN A. (2004): Human fasciolosis in Van province, Turkey. Acta Tropica 92, 161–162

YOGESHPRIYA S., AJITHKUMAR S., DHANESH V., KUTTY R.R. & ALEX P.C. (2011). Paralytic ileus due to amphistomosis in a cow, Journal of the Indian Veterinary Association 9, 48.

ZAJÍČEK D., 1987. Tlumení fasciolózy u skotu v ČSR v letech 1970 až 1985. Veterinární Medicína 32, 695–704.

ZHENG X., CHANG Q. C., ZHANG Y., TIAN S. Q., LOU Y., DUAN H., GUO D. H., WANG C. N., ZHU X. Q. (2014). Characterization of the complete nuclear ribosomal DNA sequences of *Paramphistomum cervi*. The Scientific World Journal pp 11.

---

---

ZINTL A., GARCIA-CAMPOS A., TRUDGETT A., CHRYSSAFIDIS A. L.,  
TALAVERA-ARCE S., FU Y., EGAN S., LAWLOR A., NEGREDO C.,  
BRENNAN G., HANNA R. E., DE WAAL T., MULCAHY G. (2014). Bovine  
paramphistomes in Ireland. *Veterinary Parasitology* 204(3–4), 199–208.

ZMUNDA K., CHROUST K. (2002). Motoličnatost v okrese Frýdek-Místek.  
*Veterinářství* 4, 181–183.

---

## Seznam obrázků

|                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Obrázek 1</b> Životní cyklus motolice bachorové, <i>Calicophoron daubneyi</i> (Upraveno dle Huson et al., 2017). ..... | 17 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

---

## Seznam tabulek

|                                                                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabulka 1</b> Přehled chovů a vzorků pozitivních na přítomnost vajíček amphistomních motolic. ....                                              | 40 |
| <b>Tabulka 2</b> Přehled chovů a vzorků pozitivních na přítomnost vajíček <i>Fasciola hepatica</i> . ....                                          | 40 |
| <b>Tabulka 3</b> Účinnost aplikace veterinárně léčivých přípravků (VLP) Aldifal, Ivomec super a Distocur proti <i>Calicophoron daubneyi</i> . .... | 42 |
| <b>Tabulka P1</b> Seznam chovů bez nálezu vajíček motolic v trusu vyšetřovaného skotu v České republice. ....                                      | 85 |
| <b>Tabulka P2</b> Seznam chovů bez nálezu vajíček motolic v trusu vyšetřovaného skotu v Rakousku. ....                                             | 88 |

---

## Přílohy

**Tabulka P1** Seznam chovů bez nálezu vajíček motolic v trusu vyšetřovaného skotu v České republice.

| Farma | Počet<br>vyšetřených<br>/pozitivních | Amphistomní motolice |                  |                  | <i>Fasciola hepatica</i> |                  |                  |
|-------|--------------------------------------|----------------------|------------------|------------------|--------------------------|------------------|------------------|
|       |                                      | Průměr<br>(EPG)      | Maximum<br>(EPG) | Minimum<br>(EPG) | Průměr<br>(EPG)          | Maximum<br>(EPG) | Minimum<br>(EPG) |
| CZE1  | 21/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE2  | 5/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE3  | 3/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE4  | 50/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE5  | 80/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE6  | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE7  | 13/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE8  | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE9  | 36/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE10 | 2/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE11 | 9/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE12 | 2/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE13 | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE14 | 2/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE15 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE16 | 5/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE17 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE18 | 9/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE19 | 9/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE20 | 10/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE21 | 2/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE22 | 5/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE24 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE25 | 77/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE26 | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE27 | 3/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE28 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE29 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE30 | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE31 | 30/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE32 | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE33 | 5/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE34 | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE35 | 22/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE37 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE38 | 6/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE39 | 16/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE40 | 11/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE41 | 5/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE42 | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE44 | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE45 | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE46 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE47 | 25/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE48 | 3/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE49 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| CZE50 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |

---

|        |      |   |   |   |   |   |   |
|--------|------|---|---|---|---|---|---|
| CZE51  | 13/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE52  | 3/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE53  | 15/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE54  | 8/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE55  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE56  | 10/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE57  | 2/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE58  | 35/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE59  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE60  | 7/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE61  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE62  | 22/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE63  | 4/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE64  | 5/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE65  | 5/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE66  | 2/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE67  | 7/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE68  | 2/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE69  | 3/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE71  | 9/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE72  | 12/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE73  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE74  | 2/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE75  | 7/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE76  | 2/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE77  | 7/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE78  | 7/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE79  | 2/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE80  | 2/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE81  | 3/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE82  | 84/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE83  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE84  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE85  | 49/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE86  | 6/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE87  | 9/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE88  | 21/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE89  | 17/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE90  | 23/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE91  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE92  | 6/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE93  | 10/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE94  | 56/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE95  | 5/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE96  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE97  | 10/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE98  | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE99  | 11/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE100 | 5/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE101 | 6/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE102 | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE103 | 20/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE105 | 54/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE106 | 6/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

---

---

|        |      |   |   |   |   |   |   |
|--------|------|---|---|---|---|---|---|
| CZE107 | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE108 | 2/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE109 | 12/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE110 | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE111 | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE112 | 3/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE113 | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE114 | 1/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE115 | 40/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE116 | 5/0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE117 | 99/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CZE118 | 12/0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

---

**Tabulka P2** Seznam chovů bez nálezu vajíček motolic v trusu vyšetřovaného skotu v Rakousku.

| Farma | Počet<br>vyšetřených<br>/pozitivních | Amphistomní motolice |                  |                  | <i>Fasciola hepatica</i> |                  |                  |
|-------|--------------------------------------|----------------------|------------------|------------------|--------------------------|------------------|------------------|
|       |                                      | Průměr<br>(EPG)      | Maximum<br>(EPG) | Minimum<br>(EPG) | Průměr<br>(EPG)          | Maximum<br>(EPG) | Minimum<br>(EPG) |
| AUT1  | 18/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT2  | 16/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT3  | 24/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT4  | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT5  | 16/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT6  | 18/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT7  | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT8  | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT9  | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT10 | 24/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT11 | 16/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT12 | 12/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT13 | 12/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT14 | 99/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT15 | 18/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT16 | 53/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT17 | 6/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT18 | 26/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT19 | 14/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT20 | 10/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT21 | 4/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT22 | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT23 | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT24 | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT25 | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT26 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT27 | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT28 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT29 | 6/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT30 | 12/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT31 | 12/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT32 | 1/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT33 | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT34 | 22/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT35 | 92/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT36 | 16/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT37 | 56/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT38 | 10/                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT39 | 8/0                                  | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |
| AUT40 | 18/0                                 | 0                    | 0                | 0                | 0                        | 0                | 0                |