



Diagnostika a terapie helmintóz přežvýkavců

Adam Novobilský

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

Parazitologický výzkum na oddělení Farmakologie a toxikologie, VÚVeL Brno

Udržitelné antiparazitární
programy v chovech malých
přežvýkavců odpovídající
konceptu One Health

QL24010306, 2024–2027



Vývoj nových delivery systémů
antiparazitik u přežvýkavců

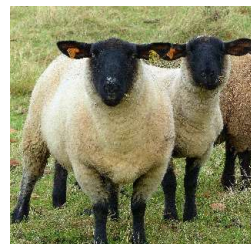
TAČR TN02000017, 2024–2026



Šíření invazních druhů parazitů a
jejich drtivé dopady na
biologickou rozmanitost
původních druhů přežvýkavců

TAČR SS05010070, 2022–2024

MUNI



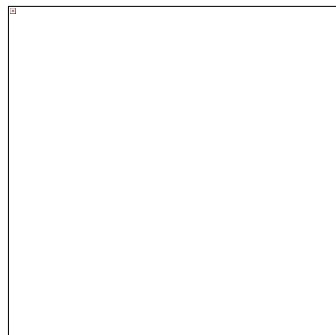


Udržitelné antiparazitární programy v chovech malých přežvýkavců odpovídající konceptu One Health

QL24010306, 2024-2027



Cíle projektu:



vše najdete na našem webu
www.GoSheePar.cz



Facebook/Gosheepar



- **zjistit** aktuální **rozšíření nejvýznamnějších parazitů** pastevně chovaných ovcí a koz – hlístic trávicího traktu (tzv. gastrointestinální hlístice nebo také žaludeční a střevní červivost), především nás zajímá nejvíce patogenní druh vlasovka slezová (*Haemonchus contortus*)
- **vyvinout** a v praktických podmínkách chovů ověřit novou, originální, citlivou a časově i finančně nenáročnou **metodu pro diagnostiku hemonchózy**
- **rozpoznat chybné postupy při odčervování** ovcí a koz, které vedou ke vzniku a šíření rezistence hlístic na odčervovadla (anthelmintická rezistence)
- **navrhnout a** v praktických podmínkách českých chovů ovcí a koz **otestovat moderní antiparazitární programy**, které budou účinné proti žaludeční a střevní červivosti, zejména proti vlasovce slezové *Haemonchus contortus*
- v průběhu projektu **seznamovat české chovatele i praktické veterinární lékaře o dosažených výsledcích i nejnovějších světových poznatcích** v dané problematice

Zjištění citlivosti na konkrétní anthelmintická léčiva v partnerských chovech

Chov ovcí v kraji Vysočina:

- reprodukční chov (400 bahnic Suffolk, s produkcí 600 jehňat ročně)

historie použití anthelmintik v daném chovu:

- 2000–2010: ivermektin, albendazol, fenbendazol
- 2010–2022: jehňata levamisol, bahnice selektivně ivermektin nebo levamisol
- 2022–2024: střídavě levamisol a moxidektin



Metodika terénnej studie

Day 0:
drug application
faecal collection



12 animals per group

Day 14:
faecal collection



12 samples from the same animals

Coproscopy (McMaster)
real-time PCR



Coproscopy (McMaster)
real-time PCR

Kaplan *et al.* 2023.
Geurden *et al.* 2022

Pre-treatment	Post-treatment
120 lambs in 10 groups	same 120 lambs
FEC (McMaster tech)	FEC (McMaster tech)
real time PCR – 6 targets	real time PCR – 6 targets

Použitá anthelmintika ve studii

Active substance	Abbr.	Commercial product name	Anthelmintic group	Formulation	Dose of active subst. (mg/kg)
ivermectin	IVM	Biomectin	avermectins	injectable	0.2
eprinomectin	EPR	Eprecis	avermectins	injectable	0.2
doramectin	DRM	Dectomax	avermectins	injectable	0.2
moxidectin	MOX	Cydectin	mylbemycins	oral drench	0.2
levamisole	LEV	First drench	imidazothiazoles	oral drench	7.5
albendazole	ABZ	Aldiverm	benzimidazoles	oral drench	5
fenbendazole	FBZ	Panacur	benzimidazoles	oral drench	5
monepantel	MNP	Zolvix	AAC	oral drench	2.5
closantel	CLS	Flukiver	salicylanilides	oral drench	10
untreated control	U.C.				

Metodika



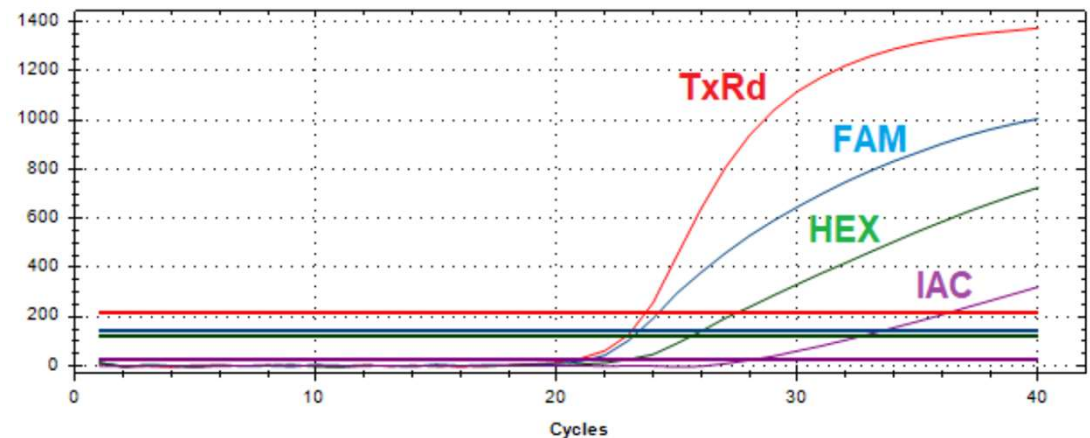
Koprologie

- kvantitativní s počítáním vajíček v McMasterově komůrce
- počet strongylidních vajíček na 1 g trusu (EPG)
- kalkulace redukce → Test redukce počtu vajíček ve výkalech = FECRT (Faecal egg count reduction test)



Real-time PCR

- 2 reakce (každá 3 cíle=druhy)
- rozlišení 6 rodů/druhů trichostrongylidních hlístic: *Haemonchus* sp., *Teladorsagia* sp., *Trichostrongylus* sp., *Nematodirus battus*, *Chabertia ovina*, *Ashworthius sidemi*)

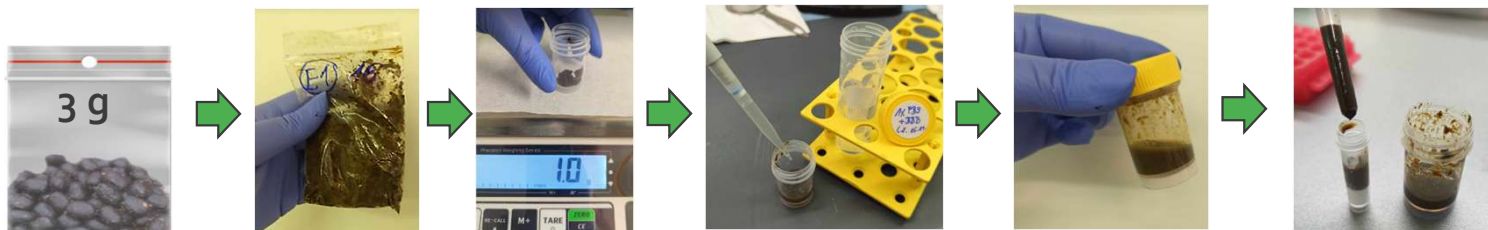


Reslova, et al. 2021 The identification and semi-quantitative assessment of gastrointestinal nematodes in faecal samples using multiplex real-time PCR assays. *Parasites & Vectors* 14, 391 (2021).

Real-time PCR: pracovní postup

• Multiplex real-time PCR

- DNA extraction from faeces = crucial step



Full sample
homogenization using
beads and MagNA Lyzer

Fecal Egg Count in EPG (Eggs per gram)							
ID vzorku	Haemonchus	Teladorsagia	Trichostrongylus	Chabertia	Nematodirus	Ashworthius	Souček
S1_1	944	3 103	1 335	8	0	0	5 390
S1_2	22	1 334	156	50	0	0	1 562
S1_3	88	7 481	1 199	0	0	0	8 768
S1_4	1 106	26 134	1 136	0	0	0	28 976
S1_5	1 399	6 704	0	0	0	0	8 103
S1_6	177	1 246	3	75	0	0	1 501
S1_7	4 818	10 338	1 758	52	31	0	16 997
S1_8	0	679	0	0	0	0	679
S1_9	24	786	109	0	0	0	919
S1_10	780	1 432	371	1	0	0	2 584
S1_11	590	3 155	42	0	0	0	3 787
S1_12	69	24	0	6	0	0	99
S1_13	629	3 444	677	0	0	0	4 750
S1_14	113	1 409	0	0	0	0	1 522
S1_15	290	1 769	99	0	0	0	2 158
S1_16	32	1 985	0	1	0	0	2 018
S1_17	0	0	1	0	0	0	1
S1_18	0	356	48	0	0	0	404
S1_19	0	0	0	0	0	0	0
S1_20	114	407	399	0	21	0	941



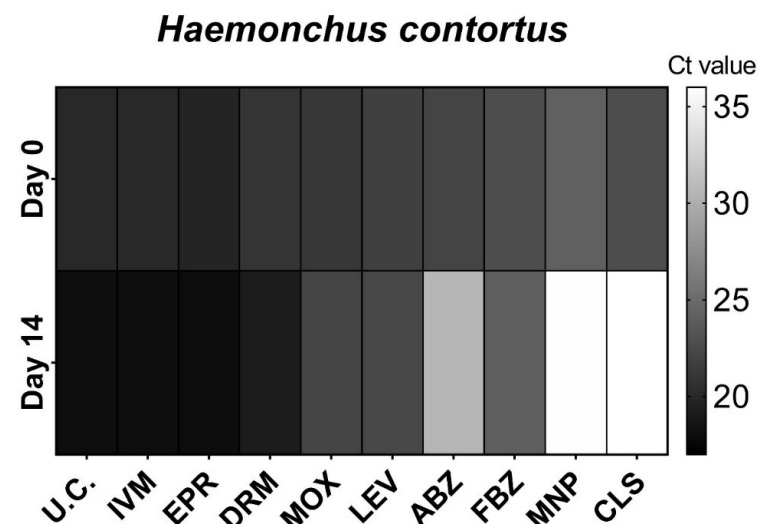
Efficacy against strongylid nematodes, excluding *N. battus*

FECRT – faecal egg count reduction test

Anthelmintic		Efficacy (%)	90% Confidence Interval	Decision
ivermectin	IVM	0	-179.34% to -44.03%	Resistant
eprinomectin	EPR	0	-163.14% to -65.46%	Resistant
doramectin	DRM	0	-208.75% to -118.14%	Resistant
moxidectin	MOX	83	77.28% to 87.92%	Resistant
levamisole	LEV	65	48.83% to 81.35%	Resistant
albendazole	ABZ	78	67.40% to 89.02%	Resistant
fenbendazole	FBZ	33	4.65% to 61.96%	Resistant
monepantel	MNP	100	n.a.	Susceptible
closantel	CLS	70	56,8% to 83,0%	Resistant

according to Kaplan *et al.* 2023

Real-time PCR – genus/species identification



Haemonchus contortus

Anthelmintic		Nr. of qPCR positive animals		Efficacy (%)	Decision
		D0	D14		
ivermectin	IVM	12	12	0	Resistant
eprinomectin	EPR	11	11	0	Resistant
doramectin	DRM	11	11	0	Resistant
moxidectin	MOX	12	12	0	Resistant
levamisole	LEV	12	11	8	Resistant
albendazole	ABZ	12	6	50	Resistant
fenbendazole	FBZ	11	11	0	Resistant
monepantel	MNP	11	1	91	Susceptible
closantel	CLS	12	0	100	Susceptible
untreat. contr.		12	12	xxx	xxx

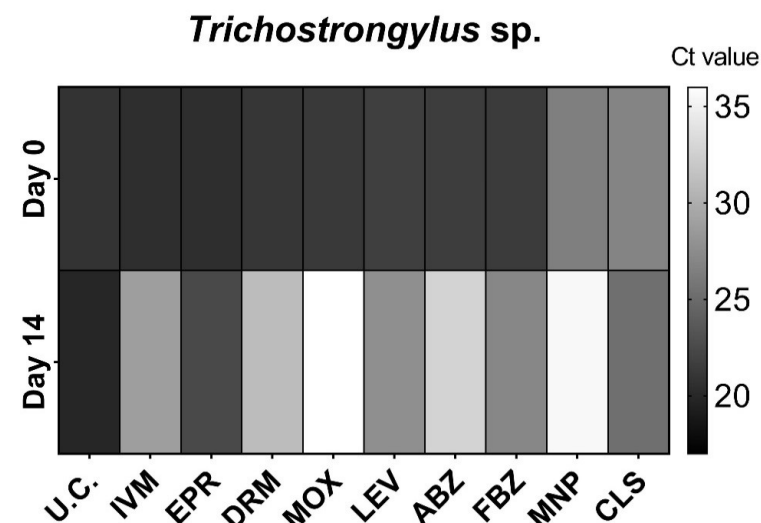
Efficacy against strongylid nematodes, excluding *N. battus*

FECRT – faecal egg count reduction test

Anthelmintic		Efficacy (%)	90% Confidence Interval	Decision
ivermectin	IVM	0	-179.34% to -44.03%	Resistant
eprinomectin	EPR	0	-163.14% to -65.46%	Resistant
doramectin	DRM	0	-208.75% to -118.14%	Resistant
moxidectin	MOX	83	77.28% to 87.92%	Resistant
levamisole	LEV	65	48.83% to 81.35%	Resistant
albendazole	ABZ	78	67.40% to 89.02%	Resistant
fenbendazole	FBZ	33	4.65% to 61.96%	Resistant
monepantel	MNP	100	n.a.	Susceptible
closantel	CLS	70	56,8% to 83,0%	Resistant

according to Kaplan *et al.* 2023

Real-time PCR – genus/species identification



Trichostrongylus sp.

Anthelmintic		Nr. of qPCR positive animals		Efficacy (%)	Decision
		D0	D14		
ivermectin	IVM	12	7	42	Resistant
eprinomectin	EPR	11	11	0	Resistant
doramectin	DRM	11	7	36	Resistant
moxidectin	MOX	12	0	100	Susceptible
levamisole	LEV	12	10	17	Resistant
albendazole	ABZ	12	6	50	Resistant
fenbendazole	FBZ	12	12	0	Resistant
monepantel	MNP	12	1	92	Susceptible
closantel	CLS	12	12	0	xxx
untreat. contr.		12	12	xxx	xxx

Real-time PCR – genus/species identification

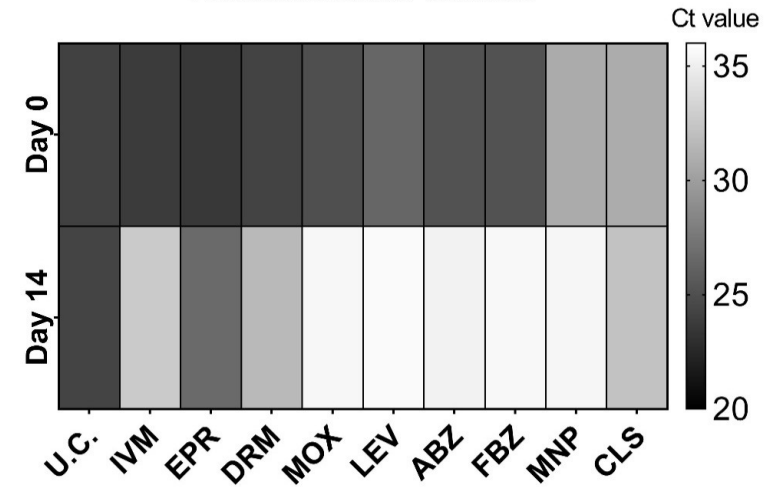
Efficacy against *Nematodirus battus*

FECRT – faecal egg count reduction test

Anthelmintic		Efficacy (%)	Lower 90%CI	Upper 90%CI	Decision
ivermectin	IVM	91	82,6	99,4	Inconclusive
eprinomectin	EPR	61	39,5	82,5	Resistant
doramectin	DRM	95	90,4	98,6	Resistant (low resistant)
moxidectin	MOX	100	98,9	100,0	Susceptible
levamisole	LEV	100	100,0	100,0	Susceptible
albendazole	ABZ	100	98,6	100,0	Susceptible
fenbendazole	FBZ	100	100,0	100,0	Susceptible
monepantel	MNP	n.a. - low initial values before treatment			
closantel	CLS	n.a. - low initial values before treatment			

Correlation between FECRT and real-time PCR
 $R=0.8649$, $p=0.012$, significant

Nematodirus battus



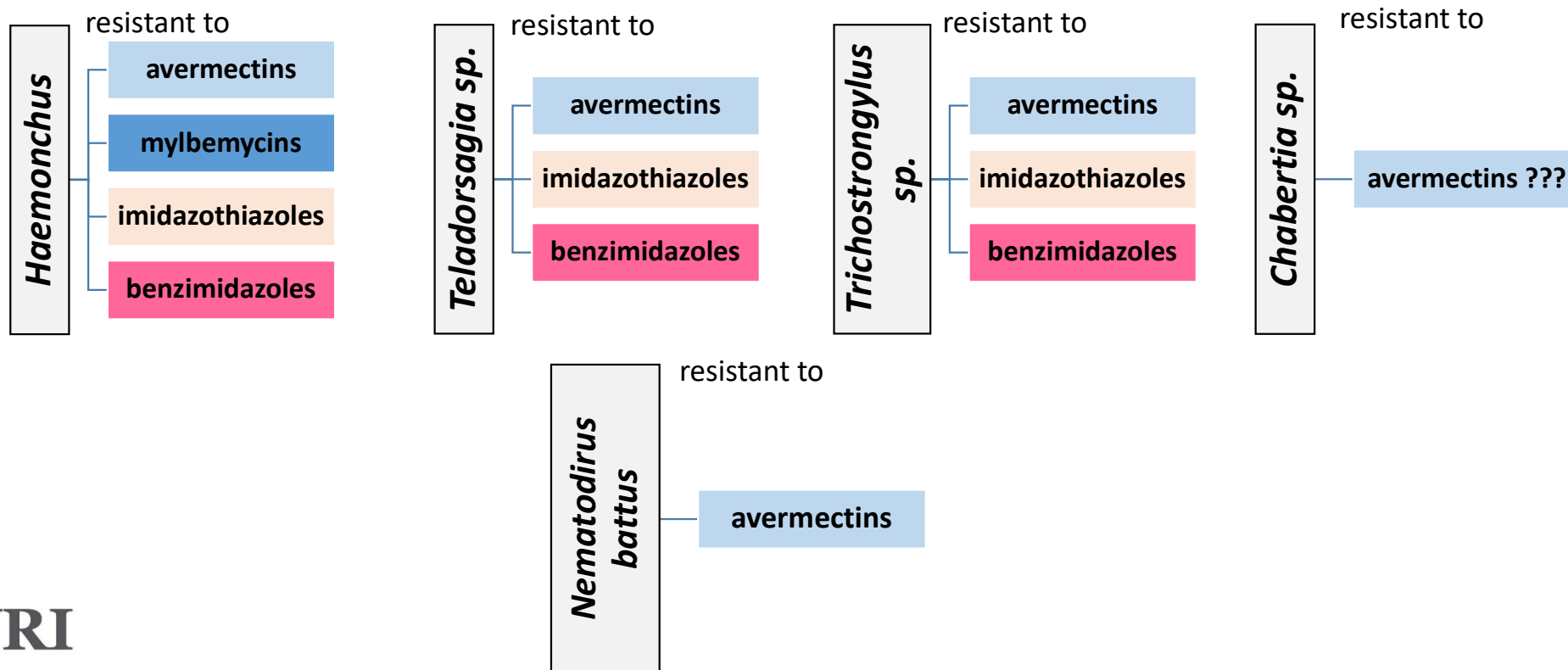
Nematodirus battus

Anthelmintic		Nr. of qPCR positive animals		Efficacy (%)	Decision
		D0	D14		
ivermectin	IVM	12	4	67	Resistant
eprinomectin	EPR	11	10	9	Resistant
doramectin	DRM	11	7	36	Resistant
moxidectin	MOX	12	1	92	Susceptible
levamisole	LEV	11	2	82	Inconclusive
albendazole	ABZ	12	3	75	Resistant
fenbendazole	FBZ	11	1	91	Susceptible
monepantel	MNP	9	1	89	Inconclusive
closantel	CLS	9	7	22	xxx
untreat. contr.		12	12	xxx	xxx



Závěry

- potvrzena **mnohočetná rezistence** u druhů *Haemonchus*, *Teladorsagia* a *Trichostrongylus*
- první zdokumentovaný případ rezistence druhu *Nematodirus battus* vůči avermektinům



Projekt zaměřený na parazity volně žijících přezvýkavců

Šíření invazních druhů parazitů a jejich drtivé dopady na biologickou rozmanitost původních druhů přezvýkavců, TAČR, SS05010070

doba řešení: 2022–2024

řešitelé: MUNI Brno, ČZU Praha, Mendelu Brno

cíle projektu:

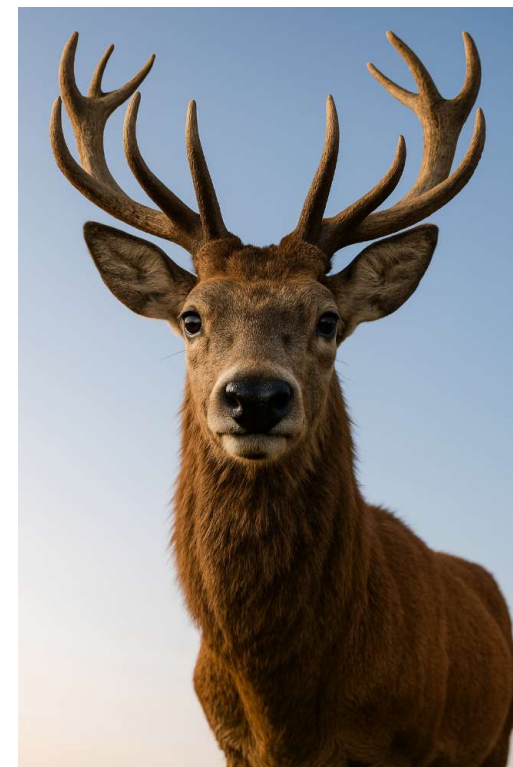
Monitoring invazních parazitů (*Ashworthius sidemi*, *Fascioloides magna*) v oborách a honitbách ČR

Role volně žijících přezvýkavců při šíření invazních helmintóz v podmínkách ČR

Dopad invazních parazitů na populace zubra a dalších přezvýkavců

Analýza rizik spojených se šířením a dopady invazních druhů

Strategie prevence a tlumení pro oborní chovy a honitby v ČR



Invazivní parazitické druhy u volně žijících přežvýkavců

Ashworthius sidemi

- Krev sající trichostrongylidní hlístice s přímým vývojovým cyklem, velmi podobná vlasovce slezové (*Haemonchus contortus*)
- parazit slezu širokého spektra volně žijících přežvýkavců, vysoce patogenní pro atypické hostitele
- původem z východní Asie, zavlečen do ČR spolu s importy jelena sika (*Cervus nippon*)

Fascioloides magna (motolice velká)

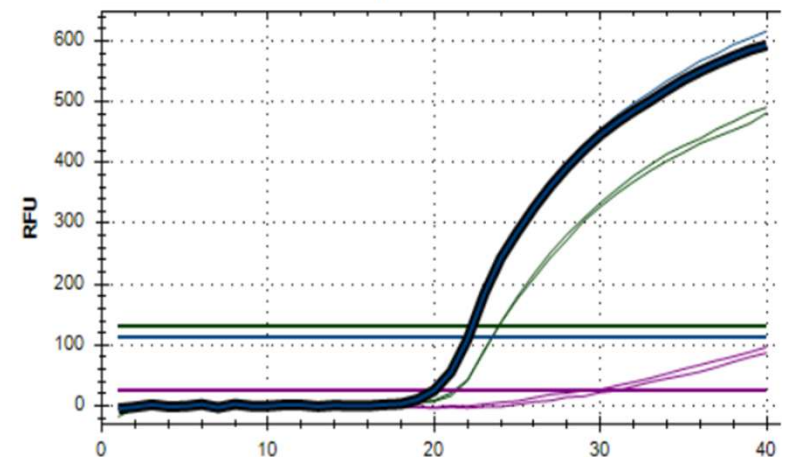
- parazit volně žijících a domácích přežvýkavců s komplexním vývojovým cyklem zahrnujícím meziphostitele (čeleď Lymnaeidae), lokalizace: jaterní parenchym
- vysoce patogenní pro aberantní hostitele (srnec, muflon, malí přežvýkavci)
- původem ze Severní Ameriky, druh zavlečen s jelenem běloocasým (*Odocoileus virginianus*) nebo wapiti (*Cervus canadensis*)



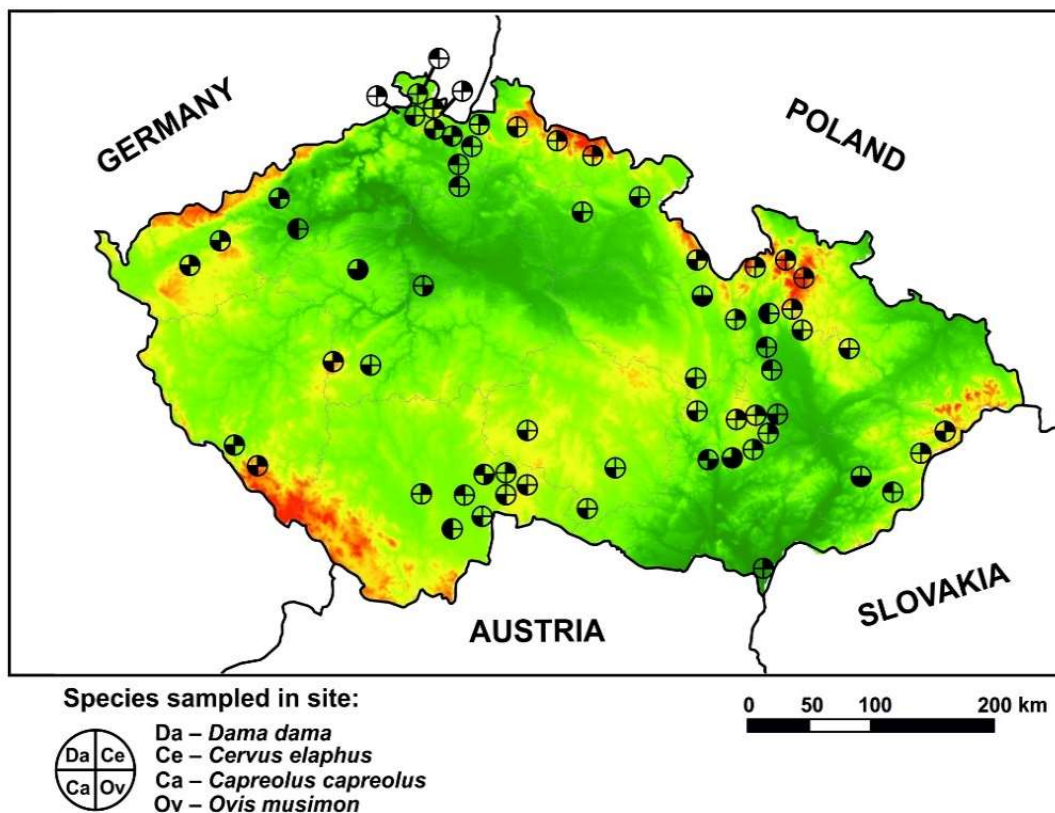
F. magna

Použité metody při screeningu

- Multiplex real-time PCR (qPCR) for nematodes (*A. sidemi*, *H. contortus*)
- Multiplex one-step nested qPCR for trematodes I. (*F. magna*, *D. dendriticum*)
- Multiplex two-step nested qPCR for trematodes II. (*F. hepatica*, *C. daubneyi*, *Paramphistomum* spp.)



Screening po celé ČR



Celkem vyšetřeno 983 vzorků z 81 lokalit:

jelen evropský (*Cervus elaphus*)

- 404 vzorků, 32 lokalit

srnec obecný (*Capreolus capreolus*)

- 371 vzorků, 33 lokalit

daněk evropský (*Dama dama*)

- 130 vzorků, 13 lokalit

muflon (*Ovis musimon*)

- 78 vzorků, 7 lokalit



Výsledky screeningu u volně žijících přežvýkavců

Ashworthius sidemi – nejčastější druh (15,8 %) – potvrzen na 54 % sledovaných lokalit, lokální prevalence 7–77 %

***Haemonchus* spp.** 14,9 % – potvrzen na 50 % lokalit !!!

Fascioloides magna* a *Dicrocoelium dendriticum 1,5 %

Paramphistomidae jen 2 případy (0,2 %) – určeno jako ***Calicophoron daubneyi***

***Fasciola hepatica* a *Paramphistomum* spp.** nebyly zjištěny !!!

Jelen evropský vykazuje nejvyšší míru infestace oběma skupinami parazitů – hlísticemi i motolicemi.

		Helminth Species					
		<i>Ashworthius sidemi</i>	<i>Haemonchus</i> spp.	<i>Fascioloides magna</i>	<i>Fasciola hepatica</i>	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	Paramphistomidae
Ruminant species	Red deer (<i>C. elaphus</i>)	30.7% (124/404)	6.9% (28/404)	3.0% (12/404)	0.0% (0/404)	0.0% (0/404)	0.0% (0/404)
	Roe deer (<i>C. capreolus</i>)	5.4% (20/371)	23.2% (86/371)	0.5% (2/371)	0.0% (0/371)	0.8% (3/371)	0.0% (0/371)
	Fallow deer (<i>D. dama</i>)	7.7% (10/130)	16.9% (22/130)	0.8% (1/130)	0.0% (0/130)	5.4% (7/130)	0.8% (1/130)
	Mouflon (<i>O. musimon</i>)	1.3% (1/78)	12.8% (10/78)	0.0% (0/78)	0.0% (0/78)	6.4% (5/78)	1.3% (1/78)
TOTAL PREVALENCE		15.8% (155/983)	14.9% (146/983)	1.5% (15/983)	0.0% (0/983)	1.5% (15/983)	0.2% (2/983)

Certifikované metodiky z projektu SS05010070



Diagnostika invazní motolice
Fascioloides magna

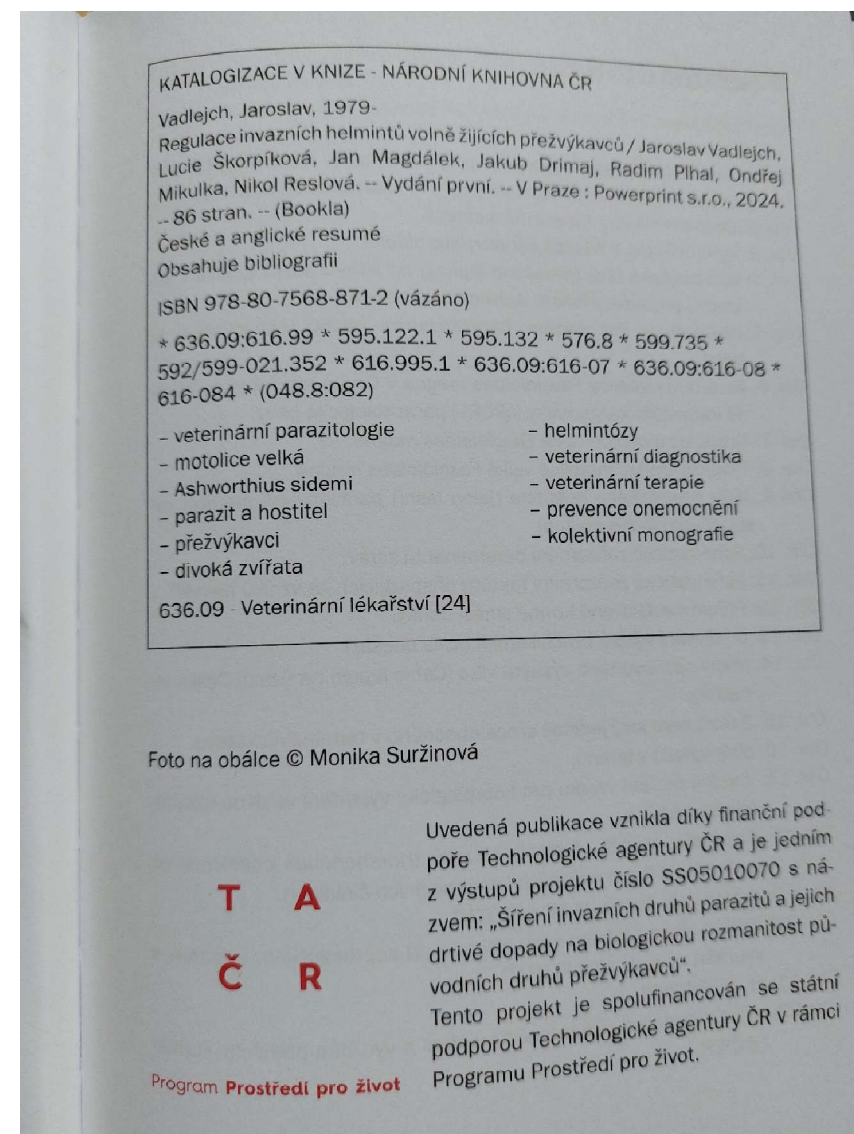


Intravitální detekce a semi-
kvantifikace hematofágických hlístic
Ashworthius sidemi* a *Haemonchus
spp. založená na qPCR



Strategický plán kontroly
invazních parazitů přežvýkavé
spárkaté zvěře v ČR

Kniha





**doc. Ing. Jaroslav Vadlejch,
Ph.D.**

specialista na parazity
přežvýkavců

Česká zemědělská univerzita v
Praze

FAPPZ | katedra zoologie a
rybářství

☎ 224 383 451

☎ 604 953 122

✉ vadlejch@af.czu.cz

Aktuálně provádíme MONITORING PARAZITŮ PŘEŽVÝKAVCŮ V ZOOLOGICKÝCH ZAHRADÁCH

Nabízíme:

📄 koprologická vyšetření s vyjádřením intenzity infekce (EPG)

🦠 molekulární analýzy druhového spektra (společně s VÚVeL)

🐑 parazitologické pitvy

💊 hodnocení účinnosti používaných anthelmintik

🧪 in vitro testy anthelmintické rezistence



Ing. Alisa Khlebnikova
odborný technik pro výzkum

Česká zemědělská univerzita v
Praze

FAPPZ | katedra zoologie a
rybářství

☎ 774 676 563

✉ khlebnikova@af.czu.cz

Těšíme se na spoluprá

Už brzy.....

- komerční diagnostický servis v oblasti parazitologie přežvýkavců na VÚVeL Brno
 - koprologické vyšetření kvantitativní (s údajem EPG)
 - real-time PCR na vybrané hlístice
 - sedimentační vyšetření – motolice
 - baermanova metoda – diagnostika plicnivek
 - konzultace dehelmintizace a předcházení anth. rezistence
 - diagnostika anthelmintické rezistence

Děkuji za pozornost.

Výzkum podpořen projekty:

- MZe NAZV QL24010306
- TAČR TN02000017
- MZe RO0523



Poděkování:

- Nikol Reslová
- Lucie Škorpíková
- Kristina Zechmeisterová
- Martin Kašný
- Jaroslav Vadlejch
- Josef Mašek



Kontakt:

Adam Novobilský

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

Oddělení farmakologie a toxikologie

E-mail: adam.novobilsky@vri.cz