

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze
Katedra parazitologie



Rozšíření a patogenita motolice velké (*Fascioloides magna*)

Bakalářská práce

Klára Poláková

Školitel: RNDr. Martin Kašný, Ph.D.
Praha 2009

Obsah

1.	Abstrakt.....	2
2.	Úvod.....	3
3.	Charakteristika <i>Fascioloides magna</i>	4
3.1	Taxonomické zařazení.....	4
3.2	Morfologie.....	4
3.3	Životní cyklus.....	6
3.3.1	Zavádění laboratorního životního cyklu <i>Fascioloides magna</i> ...	9
3.4	Mezihostitelské spektrum.....	10
3.5	Hostitelské spektrum.....	11
3.5.1	Specifičtí definitivní hostitelé.....	12
3.5.2	Nespecifičtí definitivní hostitelé.....	12
3.5.3	Netypičtí (aberrantní) hostitelé.....	12
4.	Patogenita <i>Fascioloides magna</i>	14
4.1	Specifičtí definitivní hostitelé.....	15
4.2	Nespecifičtí definitivní hostitelé.....	15
4.3	Netypičtí (aberrantní) hostitelé.....	15
5.	Rozšíření <i>Fascioloides magna</i>	17
5.1	Rozšíření ve světě.....	17
5.2	Rozšíření v České republice.....	19
6.	Možnosti diagnostiky <i>Fascioloides magna</i>	20
7.	Závěr.....	22
8.	Použitá literatura.....	23

1. Abstrakt

Motolice velká (*Fascioloides magna*) se řadí do početné třídy Trematoda, zahrnující výhradně parazitické helminty. *F. magna* je endoparazitem řady obratlovců (primárně přežvýkavců), u kterých může vyvolávat vážné zdravotní problémy, jež nezřídka vedou až ke smrti hostitele. Hostitel se většinou nakazí pozřením vegetace s encystovanými metacerkáriemi. Dospělci *F. magna* jsou lokalizováni v pseudocystách vznikajících v jaterní tkáni hostitele. Zde motolice dlouhodobě přežívají, živí se krví hostitele a produkují vajíčka, která opouštějí tělo hostitele společně s trusem. Původní areál rozšíření *F. magna* dříve zahrnoval několik rozlehlých lokalit v Severní Americe. Odtud se však parazit ve druhé polovině 19. století rozšířil i na evropský kontinent zejména díky častým importům oborové zvěře ze zámoří. *F. magna* se v evropských podmínkách (včetně České republiky) úspěšně adaptovala a v současné době se její areál výskytu v Evropě neustále zvětšuje.

Klíčová slova:

Česká republika, Trematoda, Fasciolidae, *Fascioloides magna*, *Galba truncatula*, *Cervus elaphus*, přežvýkavci, patogenita, geografické rozšíření, jaterní pseudocysta

Abstract

The giant liver fluke (*Fascioloides magna*) belongs to numerous genus Trematoda, including solely the parasitic helminths. *F. magna* is endoparasite of many species of vertebrates (mainly ruminants). It can cause the significant health problems, which not unfrequently lead to death of the host. The most of the hosts is usually infected during the feeding of vegetation with encysted metacercariae. Adults of *F. magna* are localized in the pseudocysts formed by the liver parenchyma of the host. In the liver pseudocysts, the flukes are able survive for a long time, they feed blood of the host and they produce eggs, which leave the host body with the faeces. The territory of *F. magna* origin formerly included several wide areas of North America. In the second half of 19th century, the parasite was spreaded to the Europe particularly due to often imports of the game-park animals from the oversea regions. *F. magna* successfully adapted to the European conditions (including the Czech Republic) and currently its territory is continually enlarging.

Key words:

Czech republic, Trematodes, Fasciolidae, *Fascioloides magna*, *Galba truncatula*, *Cervus elaphus*, ruminants, pathogenity, geographical distribution, liver pseudocyst

2. Úvod

Motolice velká (*Fascioloides magna*, Bassi 1875) je významným parazitickým endohelmintem volně žijících přežvýkavců. Původem severoamerický parazit byl ve druhé polovině 19. století introdukován do Evropy a jeho areál rozšíření se stále zvětšuje. Infekce *F. magna* může být příčinou vážných zdravotních problémů hostitele a v některých případech může končit i jeho smrtí. Infekcí bývají nejčastěji zasažena játra hostitele, kde v jaterních pseudocystách motolice pohlavně dospívají.

V této práci jsem se zaměřila na shrnutí dostupné literatury týkající se dvou hlavních aspektů biologie *Fascioloides magna*:

1. Rozšíření *F. magna* v České republice a ve světě.
2. Patogenní působení *F. magna* na hostitele.

3. Charakteristika *Fascioloides magna*

3.1 Taxonomické zařazení

Fascioloides magna řadíme do rodu *Fascioloides* (Ward 1917), patřící do čeledi Fasciolidae, podtřídy Digenea, třídy Trematoda. Motolice (Trematoda) jsou skupinou parazitických červů z kmene Platyhelminthes, podkmene Neodermata.

Český název pro *F. magna* není zcela ustálen, vedle názvu motolice velká se někdy používá i označení motolice obrovská.

3.2 Morfologie

Dospělci *F. magna* měří od 2,5 do 10 cm na délku (Obr. 1,A) a 2 až 3,5 cm na šířku, tloušťka bývá 0,2 až 0,45 cm (Erhardová-Kotrlá 1971, Chroust 2004, Novobilský 2007). Tělo je dorzoventrálně zploštělé se dvěma přísavkami (menší ústní a větší břišní) a je pokryto tegumentem červenohnědé barvy s drobnými ostny (Jones a kol. 2001, Novobilský 2007). Tegument, neboli neodermis, je tvořen aciliárním syncytiem, vznikajícím při přeměně prvního larválního stadia, miracidia, ve sporocystu (Galaktionov a Dobrovolskij 2003, Horák a Mikeš 2007).

Trávicí soustava *F. magna* je dobře vyvinuta a slouží k aktivnímu příjmu a zpracování potravy, hostitelské krve. Začíná ústním otvorem (obklopeným ústní přísavkou), který je zároveň otvorem vyvrhovacím. Následuje předhltan (prepharynx), svalnatý hltan (pharynx), jícen (oesophagus) a samotné střevo (intestinum), v podobě dvou slepě končících větví (Obr. 1,B). Část živin přijímají a metabolizují motolice také povrchem těla (Horák a Mikeš 2007).

Vylučovací soustava *F. magna* je tvořena protonefridiemi. Plaménkové buňky filtrují tělní tekutinu z parenchymových prostor a filtrát je odváděn soustavou kanálků, které se spojují a jsou zakončeny exkrečním měchýřkem, jenž ústí na povrch těla exkrečním pórem (Horák a Mikeš 2007).

F. magna je hermafrodit. Varlata (testés) jsou párová, umístěná vedle sebe v přední části těla (Obr. 1,C). Spermiie jsou odváděny chámovody (vas deferens), které se spojují a přecházejí v semenný váček (receptaculum seminis). Ten ústí spolu s vývody prostatických žlázek do kopulačního orgánu - penisu (cirru). Cirrus je vysunutelný na povrch těla. Samičí orgány zahrnují jeden vaječník (germarium), jehož vejcovod ústí do prostoru zvaného ootyp, spolu s vývodem chámové schránky (receptaculum seminis), vývodem skořápečných žlázek a vývody žloutkových žláz (vitelarií) (Obr. 1,C). Vitelária produkují žloutkové buňky

(vitelocyty), bohaté na zásobní látky. Vitelocyty obklopují vaječnou buňku (oocyt). Vajíčka jsou ektolecitální. V ootypu probíhá oplození a obalení zygoty skořápečným materiálem. Na ootyp navazuje dlouhá děloha (uterus) s množstvím záhybů, která ústí na povrch těla v prostoru genitálního póru (Jones a kol. 2001, Horák a Mikeš 2007).

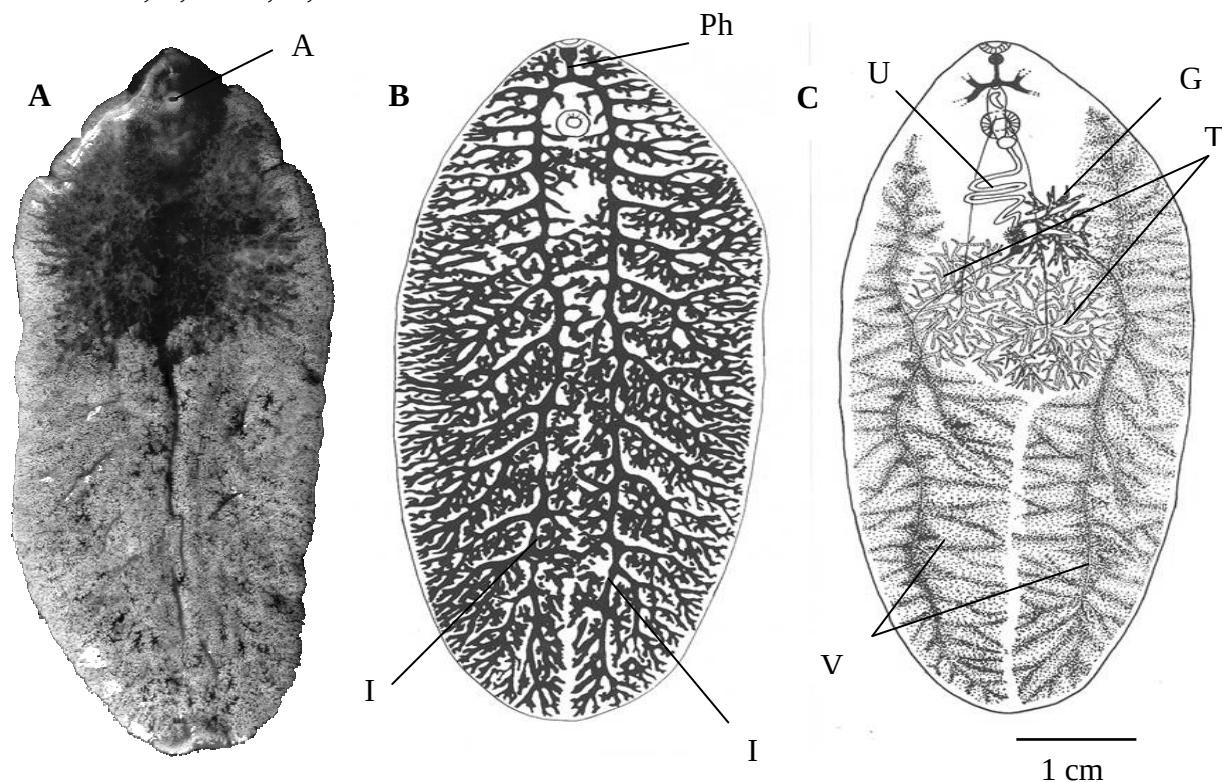
Nervová soustava *F. magna* je orthogonálního typu. Je tvořena párovým gangliem v přední části těla, z něhož vybíhají krátké provazce k přední části těla a delší provazce propojené komisurami k zadní části těla. Zvláště dobře jsou inervované přísavky a hltan (Galaktionov a Dobrovolskij 2003, Horák a Mikeš 2007).

Podpovrchová svalová soustava *F. magna* je tvořena vnější vrstvou okružní svaloviny, pod ní ležící vrstvou podélné svaloviny a nejbližší ke středu těla uloženou šikmou svalovinou. Mohutné svaly se vyskytují také v oblasti přichytných orgánů, hltanu a pohlavních vývodů. Svalová vlákna probíhají i tělním parenchymem (Horák a Mikeš 2007).

Na rozdíl od blízkce příbuzných druhů fasciolidních motolic (např. motolice jaterní [*Fasciola hepatica*, Linnaeus 1758] a motolice obrovská [*Fasciola gigantica*, Cobbold 1856]), *F. magna* nemá kónus, hlavový výběžek na přední části těla a varlata má umístěna vedle sebe (Obr. 1,C), ne jedno za druhým, jako *F. hepatica*. Hlavním diferenciacním znakem mezi těmito rody je však uložení vitelárií. U rodu *Fascioloides* jsou vitelária pouze na ventrální straně, zatímco rod *Fasciola* je má jak na ventrální, tak i na dorzální straně těla (Kearn 1998, Jones a kol. 2001, Špakulová a kol. 2003).

Od dalších druhů jaterních motolic se *F. magna* odlišuje také lokalizací juvenilních stádií v těle hostitele. Zatímco juvenilní stádia druhu *F. hepatica* a další z jaterních motolic, např. motolice kopinaté (*Dicrocoelium dendriticum*, Rudolphi 1819) (distomní motolice s tříhostitelským cyklem vázaným na suchozemské plže), jsou nalézány ve žlučových cestách a motolice bachorové (motolice jelení) (*Paramphistomum cervi*, Schrank 1790) (běžný parazit přežvýkavců), ve dvanáctníku a slézu, *F. magna* je lokalizována přímo v jaterním parenchymu (Erhardová-Kotrlá 1971).

Obr. 1. Dospělci *Fascioloides magna*. A; Foto *F. magna* (Novobilský nepublikováno), B; Trávicí soustava *F. magna* (Špakulová a kol. 2003), C; Pohlavní soustava *F. magna* (Špakulová a kol. 2003). Popis k obrázkům: U; uterus, G; germarium, A; acetabulum, Ph; pharynx, I; intestinum, T; testés, V; vitelária.



3.3 Životní cyklus (Obr. 2)

Životní cyklus *F. magna* je značně podobný životnímu cyklu příbuzné a prozkoumanější motolice z čeledi Fasciolidae, *F. hepatica* (Špakulová a kol. 2003). Je dvouhostitelský, přičemž spektrum mezipřehoditelů i definitivních hostitelů je poměrně široké a částečně se liší v závislosti na výskytu *F. magna* v Severní Americe či v Evropě (Erhardová-Kotrlá 1968a).

Dospělé motolice žijí většinou ve dvojicích či trojicích ve fibrózních pseudocystách v jaterním parenchymu definitivního hostitele (Obr. 4), kde produkují vajíčka, která jsou shromažďována v dutině pseudocysty. Z této dutiny vajíčka odcházejí kanálky, jež jsou napojené na žlučovody. Vajíčka se stejně jako žluč dostávají do tenkého střeva a opouští tělo hostitele spolu s trusem. Vajíčka, která se dostanou do vnějšího prostředí, nejsou ještě plně vyvinutá a embryonace probíhá až mimo tělo hostitele. Zahájení a průběh embryonace je ovlivněn několika fyzikálně chemickými faktory, zejména teplotou (ideálně 20 až 30°C, přezimující vajíčka se vyvíjejí pomaleji, mrazy jsou pro vajíčka v pokročilém stádiu vývoje smrtící), vlhkostí (vajíčka

nesmí zcela vyschnout) a koncentrací kyslíku (při nízkých koncentracích se vajíčka nevyvíjejí) (Swales 1935, Pybus 2001, Špakulová a kol. 2003). V průběhu embryonace se ze zárodečných buněk vajíčka vyvíjí larva zvaná miracidium. Období embryonace trvá v přirozených podmínkách 27 až 44 dní (Novobilský 2007). Plně vyvinutá larva miracidium uvolní vaječné víčko (operculum) (zřejmě účinkem proteolytických enzymů) a dostává se tak do vodního prostředí. Ve vodním prostředí miracidium aktivně plave a vyhledává vhodného meziphostitele, kterým jsou sladkovodní plži čeledi Lymnaeidae, nejčastěji Bahnatka malá (*Galba truncatula*) (Galaktionov a Dobrovolskij 2003). Při plavání využívá miracidium jak fototaxi pomocí oční skvrny, tak i chemotaxi (Špakulová a kol. 2003). Nenajde-li miracidium svého meziphostitele do 16-20 hodin, tak hyne (Yamaguti 1975). První infekce plžů se objevují v přírodě obvykle v květnu, nebo, v případě dlouhé zimy, v červnu. Jednotlivá vývojová stadia *F. magna* mohou v meziphostiteli i přezimovat (Erhardová-Kotrlá 1968b). Vývoj motolice v plži trvá obvykle 40-44 dní v laboratorních podmínkách, zatímco v přírodě až 75 dní v závislosti na teplotě a druhu hostitelského plže.

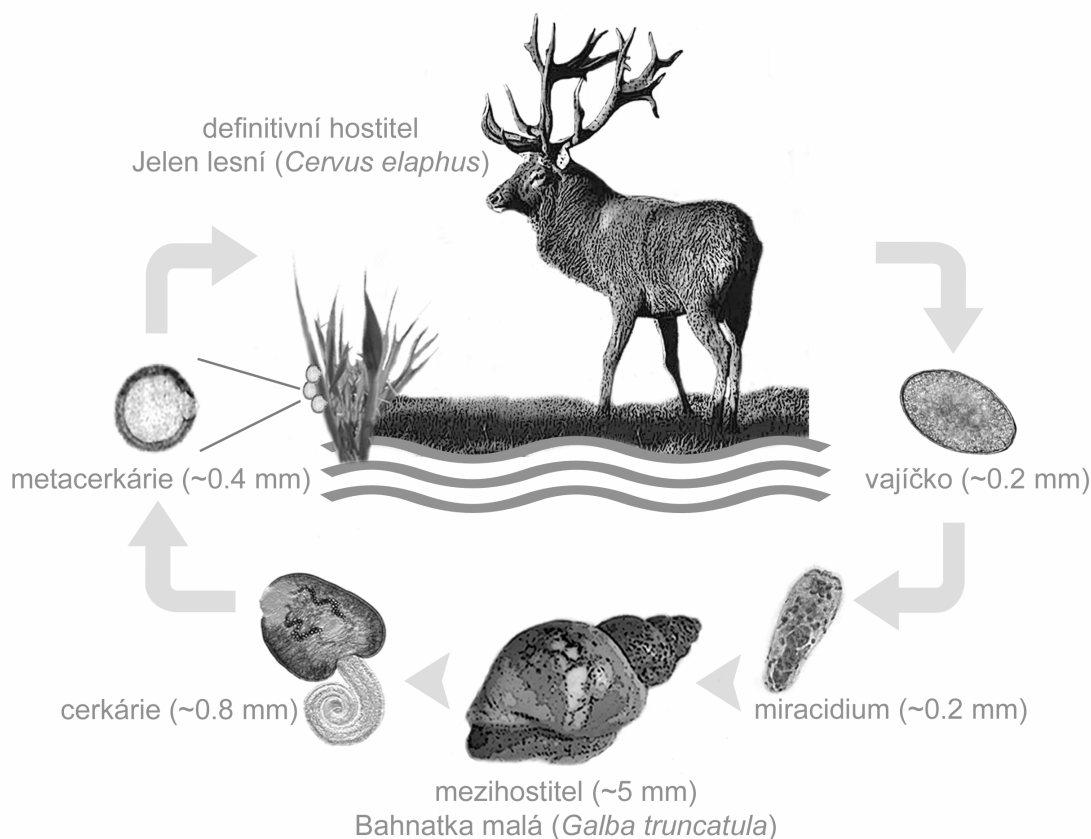
Miracidia aktivně penetrují do těla meziphostitelského plže (pravděpodobně opět s využitím proteolytických enzymů). Následně odlučují povrchovou vrstvu ciliárních buněk, a tělo dále kryje povrchové syncitium (neodermis, tegument), čímž vzniká další vývojové larvální stádium, sporocysta. Sporocysta nemá střevo a živiny přijímá povrchovým tegumentem. Sporocysty mohou být lokalizovány v různých částech těla plže, nejčastěji v noze, v plášti, v plášťové dutině, kolem zažívacího ústí, v bílkových žlázách či v plicním vaku. Sporocysty obsahují zárodečné buňky, které dávají vzniknout jedné až šesti mateřským rediím (Novobilský 2007). Redie mají protáhlé tělo schopné pohybu, vyplněné z velké části embryonálním prostorem se zárodečnými buňkami, ze kterých vznikají dceřiné redie. Plně vyvinuté mateřské redie jsou po 8 až 15 dnech prudkým pohybem uvolněny ze sporocysty, která následně hyne (Erhardová-Kotrlá 1968a). Po opuštění sporocysty redie migrují do hepatopankreatu, ledvin, rozmnožovacích orgánů nebo plicního vaku. V každé mateřské redii se může vyvinout až 10 redií dceřiných, avšak pouze 3 až 6 z nich dokončí svůj vývoj a opustí mateřskou redii 30 až 32 dní po napadení plže (Erhardová 1961). V dceřiných rediích se vyvíjejí larvální stadia, cercárie. Cercárie *F. magna* je gymnocefalního typu, můžeme na ní rozlišit dvě části, zakulacenou tělní část a nevětvený ocásek. Tělo je základem budoucí dospělé motolice a ocásek slouží k pohybu ve vodním prostředí. Cercárie má již vyvinutou trávicí soustavu (základ střeva), která ještě není funkční, jsou však patrné plaménkové buňky exkrečního systému a základ pohlavních orgánů. Důležitou součástí těla cercárie jsou cystogenní žlázy, které slouží k tvorbě metacerkariálních obalů (Swales 1935, Erhardová-Kotrlá 1971, Horák a Mikeš 2007). V případě přirozeně

infikovaných plžů vzniká z jedné redie 16 až 22 cercárií a 1 až 6 cercarií v případě experimentálně infikovaných plžů (Novobilský 2007). Cercárie opouští dceřinné redie a migrují obvykle do hepatopankreatu či pohlavních orgánů plže. Plně vyvinuté cercárie jsou aktivními pohyby plže vytlačovány do vnějšího vodního prostředí, kde 10 min až 2 h aktivně plavou (Swales 1935, Erhardová-Kotrlá 1971, Galaktionov a Dobrovolskij 2003, Novobilský 2007). Po nalezení vhodného podkladu, nejčastěji vegetace, se cercárie encystují, a vyvíjí se stadium metacercárie (Galaktionov a Dobrovolskij 2003). Metacercárie přežívají ve vlhkém prostředí až 2,5 měsíce, v suchém prostředí však hynou do 18 dní (Erhardová-Kotrlá 1968a).

Definitivní hostitel, nejčastěji přežvýkavec, se nakazí pozřením vegetace s metacercáriemi. V žaludku a střevu hostitele jsou metacercárie chemicky stimulovány k excystaci z ochranných obalů. Excystované juvenilní motolice penetrují přes střevní stěnu hostitele, migrují do břišní dutiny a dále do jater. Výjimečně mohou mladé motolice napadat i jiné orgány hostitele, například plíce či ledviny (Erhardová-Kotrlá 1971, Pybus 2001). V takových případech však motolice nejsou schopné dlouhodobě přežít a nikdy nedosáhnou pohlavní dospělosti (Erhardová-Kotrlá 1971). V jaterním parenchymu motolice migrují dokud nenaleznou alespoň jednoho jedince téhož druhu, přičemž jaterní parenchym je v souvislosti s migrací juvenilních motolic značně destruován. Období migrace juvenilních motolic trvá obvykle 3 až 6 měsíců, ale může se prodloužit až na rok (Chroust 2004). Dostanou-li se v játrech do blízkého kontaktu minimálně dvě motolice, přestávají se pohybovat a jaterní tkáň hostitele kolem nich začíná tvořit fibrózní pseudocystu. Po jejím vytvoření motolice pohlavně dospívají a začínají produkovat vajíčka (Novobilský 2007). Pseudocysta obsahuje kromě parazitů typickou tmavohnědou až tmavozelenou viskózní tekutinu, sestávající z degradované krve a žluče, rozpadlých motolic a velkého množství vajíček (Chroust 2004).

Prepatentní perioda *F. magna* se pohybuje od 3 do 7 měsíců a závisí na hostitelském druhu (Erhardová-Kotrlá 1971, Foreyt a Todd 1976). Dospělá motolice je schopná v hostiteli přežívat až sedm let (Novobilský 2007).

Obr. 2. Životní cyklus *Fascioloides magna* (Kašný a Novobilský 2008).

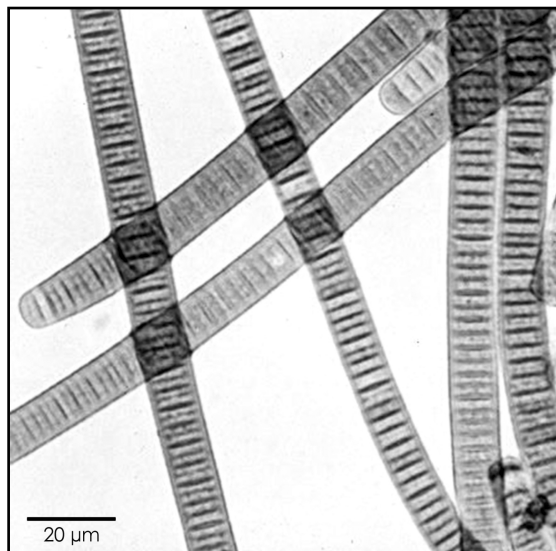


3.3.1 Zavádění laboratorního životního cyklu *F. magna*

V naší laboratoři se pokoušíme zavést životní cyklus *F. magna*. Zatím se nám daří dlouhodobě udržovat populaci mezihostitelských šneků *Galba truncatula*, které jsme získali z laboratorních chovů od kolegů z Medical Biology Centre, Queen's University Belfast, Northern Ireland. Chováme je při stálé teplotě okolo 23°C a při dvanáctihodinové periodě osvětlení na miskách s bahnitým podkladem s přídavkem agaru a CaCO_3 . Třikrát týdně jsou plži krmeni směsí drceného listového salátu s odstátou vodou. Ideálním a používaným krmivem pro mezihostitelské plže (*G. truncatula*) je vláknitá sinice rodu drkalka (*Oscillatoria*) (Obr. 3). Kulturu *Oscillatorie* pěstujeme v provzdušňovaném Zehnderově médiu, ale zatím se nám nedaří ji dlouhodobě udržet a efektivně rozmnožit. V budoucnu bychom se chtěli pokusit plže infikovat miracidii *F. magna*. Pokud by byly infekce úspěšné a v plžích se vyvíjely životaschopné cercárie, chtěli bychom přistoupit k experimentálním infekcím definitivních

hostitelů, laboratorních potkanů (*Rattus norvegicus*), kteří jsou rutinně využíváni jako definitivní hostitelé v laboratorním životním cyklu *F. hepatica*.

Obr. 3. *Oscillatoria*. (foto Michael Clayton, upraveno).



3.4 Mezihostitelské spektrum

Jako mezihostitelé *F. magna* jsou využíváni převážně vodní či semiakvatictí plži z čeledi Lymnaeidae, v Evropě je to nejčastěji výše zmiňovaná bahnatka (plovatka) malá (*Galba* [*Lymnaea*] *truncatula*) (Rondelaud a kol. 2006).

Experimentální infekce dokazují, že kromě *G. truncatula* je parazit schopen adaptovat se i na jiné druhy plžů a dokončit v nich svůj vývoj až do stádia infekčních metacerkárií (Faltýnková a kol. 2006, Chroustová 1978, 1979, Rondelaud a kol. 2006). Například u experimentálně infikovaného plže *Lymnaea* [*Stagnicola*] *palustris* proběhl kompletní vývoj u 43% pokusných plžů (Chroustová 1978, 1979) (Tab. 1). Také vodní plž *Omphiscola glabra* byl úspěšně infikován a proběhl v něm kompletní vývoj (Rondelaud a kol. 2006, Dreyfuss a kol. 2007) (Tab. 1). V případě druhu *Radix peregra* byly redie a cercárie *F. magna* dokonce nalezeny i v přirozeně infikovaných plžích z Jižních Čech (u 6 plžů z 7277 vyšetřených, což je 0,08% prevalence) (Tab. 1) (Faltýnková a kol. 2006). Jiné potenciálně mezihostitelské plže se experimentálně nakazit nepodařilo (*Lymnaea palustris*, *Physa acuta*, *Succinella oblonga* a *Succinea putris*) (Erhardová-Kotrlá 1968a), u dalších vývoj proběhl jen do stadia sporocysty (*Lymnaea stagnalis*) či mateřských redií (*Radix peregra* a *R. ovata*) (Tab. 1) (Erhardová-Kotrlá 1968a).

Na americkém kontinentu slouží kromě meziphostitelů známých z Evropy i jiné druhy vodních plžů čeledi Lymnaeidae. Za přirozené meziphostitele *F. magna* jsou v oblastech Severní Ameriky považovány druhy *Lymnaea bulimoides techella*, *L. caperata*, *L. modicella*, *L. parva* a *L. palustris nuttalliana* (Tab. 1), experimentálně se podařilo nakazit *L. columela*, *L. ferruginea*, *L. palustris*, *L. humilis*, *L. umbrosa* a *L. stagnalis* (Tab. 1) (Foreyt 1978, Dunkel a kol. 1996). Meziphostitelské spektrum *F. magna* je v Severní Americe výrazně širší než v Evropě, což souvisí s faktem, že *F. magna* je v oblastech Severní Ameriky původnějším druhem. Z tohoto důvodu je možné předpokládat, že také v Evropě se *F. magna* postupem času adaptuje na další plže čeledi Lymnaeidae (Rondelaud a kol. 2006).

Tab. 1. Meziphostitelé *Fascioloides magna* infikovaní v přirozených (P) a experimentálních (Ex) podmínkách (Erhardová-Kotrlá 1968a, Foreyt 1978, Chroustová 1978, 1979, Dunkel a kol. 1996, Faltýnková a kol. 2006, Rondelaud a kol. 2006, Vignoles 2006, Dreyfuss a kol. 2007).

Druh meziphostitele	Výskyt	Typ infekce
<i>Galba (Lymnaea) truncatula</i>	Evropa	P
<i>Lymnaea (Stagnicola) palustris</i>	Evropa, S. Amerika	Ex
<i>Lymnaea stagnalis</i>	Evropa, S. Amerika	Ex
<i>Omphiscola glabra</i>	Evropa	Ex
<i>Radix ovata</i>	Evropa	Ex
<i>Radix peregra</i>	Evropa	P
<i>Lymnaea bulimoides techella</i>	S. Amerika	P
<i>Lymnaea caperata</i>	S. Amerika	P
<i>Lymnaea columela</i>	S. Amerika	Ex
<i>Lymnaea ferruginea</i>	S. Amerika	Ex
<i>Lymnaea humilis</i>	S. Amerika	Ex
<i>Lymnaea modicella</i>	S. Amerika	P
<i>Lymnaea palustris nuttalliana</i>	S. Amerika	P
<i>Lymnaea parva</i>	S. Amerika	P
<i>Lymnaea umbrosa</i>	S. Amerika	Ex

3.5 Hostitelské spektrum

Spektrum vnímavých hostitelů *F. magna* je značně široké. Podle průběhu infekce rozlišujeme tři skupiny hostitelů (Swales 1935, 1936): specifictí definitivní (“definitive hosts”), nespecifictí definitivní (“dead-end hosts”) a netypičtí hostitelé (“aberrant hosts”) (Pybus 2001).

3.5.1 Specifičtí definitivní hostitelé

Tato skupina hostitelů zahrnuje druhy, na které je parazit nejvíce adaptovaný. Vývoj motolice v nich proběhne celý a končí produkcí infekceschopných vajíček.

Mezi specifické definitivní hostitele patří většina druhů z čeledi jelenovitých (*Cervidae*). V původním areálu rozšíření *F. magna*, v Severní Americe, jsou jejími nejběžnějšími specifickými hostiteli jelen wapiti (*Cervus elaphus canadensis*), jelenec viržinský (*Odocoileus virginianus*) a karibu (*Rangifer tarandus*) (Foreyt a Todd 1976), zatímco na území Evropy se *F. magna* nejvíce adaptovala na jelena lesního (*Cervus elaphus*), daňka evropského (*Dama dama*) a srnce obecného (*Capreolus capreolus*) (Erhardová-Kotrlá 1971, Novobilský a kol. 2007b). Kromě těchto nejfrekventovanějších hostitelů je známo mnoho dalších druhů, ve kterých je *F. magna* schopna úspěšně dokončit svůj životní cyklus (Tab. 2).

3.5.2 Nespecifičtí definitivní hostitelé

V nespecifickém definitivním hostiteli juvenilní motolice dosáhnou jater a vytvoří se pseudocysty, které však nejsou propojeny se žlučovody (vajíčka z pseudocysty nemohou odcházet). Motolice často ani nedospějí a životní cyklus parazita je z těchto důvodů přerušen (Swales 1935, 1936). Jsou ale zaznamenány případy (silné infekce), při kterých byla v trusu nespecifických hostitelů vajíčka *F. magna* nalezena (Foreyt a Todd 1974).

Mezi nejčastější nespecifické definitivní hostitele patří tur domácí (*Bos taurus*), prase divoké (*Sus scrofa*), bizon (*Bison bison*), jak (*Bos grunniens*) a los (*Alces alces*), ojediněle lama (*Lama glama*) a kůň (*Equus caballus*) (Swales 1936, Novobilský 2007, Pybus 2001) (Tab. 2).

3.5.3 Netypičtí (aberrantní) hostitelé

V těle netypického hostitele juvenilní motolice neustále migrují, čímž způsobují rozsáhlá poškození orgánů a tkání, která jsou pro hostitele často fatální (Swales 1936).

Mezi netypické hostitele patří zejména zástupci malých turovitých přežvýkavců. Nejčastěji jsou to ovce domácí (*Ovis aries*) a koza domácí (*Capra hircus*). Dále se podařilo experimentálně nakazit také morče (*Cavia aperea porcellus*), králíka (*Oryctolagus cuniculus*, *f.domestica*) a kamzíka (*Rupicapra rupicapra*) (Tab. 2) (Swales 1935, Erhardová-Kotrlá a Blažek 1970, Foreyt a Todd 1976, Novobilský 2007).

Tab. 3. Hostitelské spektrum *Fascioloides magna*. Sdh; Specifiční definitivní hostitelé, Ndh; Nespecifiční definitivní hostitelé, Nh; Netypičtí hostitelé, P; Přirozené infekce, Ex; Experimentální infekce, E; Evropa, SA; Severní Amerika.

Druh hostitele	Typ hostitele	Typ infekce	Výskyt
Daněk evropský (<i>Dama dama</i>)	Sdh	P	E
Jelen lesní (<i>Cervus elaphus</i>)	Sdh	P	E
Jelen sika (<i>Sika nippon</i>)	Sdh	P	E
Jelenec ušatý (<i>Odocoileus hemionus hemionus</i>)	Sdh	P	SA
Jelenec ušatý (<i>Odocoileus hemionus columbianus</i>)	Sdh	P	SA
Jelenec viržinský (běloocasý) (<i>Odocoileus virginianus</i>)	Sdh	P	E, SA
Sambar indický (<i>Cervus unicolor</i>)	Sdh	P	E
Sob polární (karibu) (<i>Rangifer tarandus</i>)	Sdh	P	SA
Srnc obecný (<i>Capreolus capreolus</i>)	Sdh	P	E
Wapiti východní (<i>Cervus elaphus canadensis</i>)	Sdh	P	SA
Wapiti západní (<i>Cervus elaphus nelsoni</i>)	Sdh	P	SA
Bizon americký (<i>Bison bison</i>)	Ndh	P	SA
Bizon americký x Tur domácí (<i>Bison bison</i> x <i>Bos taurus</i>)	Ndh	P	SA
Jak domácí (<i>Bos grunniens</i>)	Ndh	P	SA
Kůň domácí (<i>Equus caballus</i>)	Ndh	P	E, SA
Lama krotká (<i>Lama glama</i>)	Ndh	P	SA
Los evropský (<i>Alces alces</i>)	Ndh	P	SA
Nilgau pestrý (<i>boselaphus tragocamelus</i>)	Ndh	P	E
Pekari páskovaný (<i>Dicotyles tajacu</i>)	Ndh	P	SA
Prase divoké (<i>Sus scrofa</i>)	Ndh	P	E, SA
Prase domácí (<i>Sus scrofa</i> , f. <i>domestica</i>)	Ndh	P	SA
Tur domácí (<i>Bos taurus</i>)	Ndh	P	E, SA
Kamzík horský (<i>Rupicapra rupicapra</i>)	Nh	Ex	
Koza domácí (<i>Capra hircus</i>)	Nh	P	E, SA
Králík domácí (<i>Oryctolagus cuniculus</i> , f. <i>domestica</i>)	Nh	Ex	
Morče domácí (<i>Cavia aperea porcellus</i>)	Nh	Ex	
Ovce domácí (<i>Ovis aries</i>)	Nh	P	E, SA
Ovce tlustorohá (<i>Ovis canadensis</i>)	Nh	Ex	

4. Patogenita *Fascioloides magna*

Patogenní působení *F. magna* závisí na infikovaném hostitelském druhu, počtu motolic v organismu, době trvání infekce, věkové kategorii hostitele a na jeho imunitním stavu. Některé příznaky parazitózy se však většinou projeví u všech typů hostitelů (Swales 1935, 1936, Pybus 2001).

Následkem migrace juvenilních stadií parazita a tvorby pseudocysty kolem dospělých motolic dochází často k výraznému poškození jaterního parenchymu (Obr. 3). Během fascioloidózy bývají játra zvětšená, se zaoblenými okraji a vláknitými přívěsky na serózní bláně (Pybus 2001, Novobilský a kol. 2007b). V některých případech tyto výběžky mohou i přirůstat k bránici či k přilehlé pobřišnici (peritoneu). Typickým projevem infekce *F. magna* je výskyt tmavé pigmentace v oblasti břišní dutiny a zejména v játrech, a to jak na povrchové seróze, tak i uvnitř jater, v jaterním parenchymu (Swales 1935, Novobilský a kol. 2007b, Pybus 2001). Tmavohnědá pigmentace je důsledkem přítomnosti metabolitů z trávení krve (hematin) a žluče (bilirubin), které vznikají ve střevě juvenilních i dospělých motolic během migrace. Pigmenty (hematin a bilirubin), mohou do jaterní tkáně a na povrch jater infiltrovat také z pseudocyst prostřednictvím lymfatického systému (Campbell 1960). Pigmentace se může kromě jater vyskytnout i v jiných tkáních, jako např. v jaterních lymfatických uzlinách, v předstěře (omentu), v okruží (mezenteriu), v plicích, a v plicních lymfatických uzlinách, zejména u nespecifických hostitelů nebo při masivních infekcích specifických definitivních hostitelů (Pybus 2001, Novobilský a kol. 2007b).

Obr. 3. Játra jelena lesního (*C. elaphus*) poškozená v důsledku infekce *F. magna*
(Foto Kašný). PC; pseudocysta.



4.1 Specifičtí definitivní hostitelé

V případě tohoto typu hostitelů pohlavně dospělí jedinci *F. magna* žijí v tenkostěnných jaterních pseudocystách hostitelského původu (Obr. 3). Tyto pseudocysty jsou propojeny kanálky se žlučovody, kterými odchází vajíčka do tenkého střeva a následně společně se stolicí do vnějšího prostředí (Swales 1935).

Infekce *F. magna* probíhá u specifických definitivních hostitelů nejčastěji subklinicky a teprve až při masivních infekcích dochází k náhlým úhynům (Pybus 2001). Příčiny úhynu souvisí nejčastěji s velkými ztrátami krve díky vnitřnímu krvácení jater, s rupturou jater či velkých cév, nebo se zánětem pobřišnice (Erhardová-Kotrlá a Blažek 1970, Novobilský 2007). Poškození hostitelského organismu závisí na druhu hostitele. Zatímco jelení zvěř většinou přežívá i velmi silné infekce (více než 200 motolic), u srnců či daňků bývá nákaza i malým množstvím parazitů (cca 5-10 motolic) fatální (Záhoř 1965).

Infekci *F. magna* mohou provázet i další negativní příznaky hostitele, jako jsou snížené hmotnostní přírůstky, snížená kvalita paroží nebo špatný průběh říje (Erhardová-Kotrlá 1971). Jsou známy i ojedinělé případy migrace motolic do páteřního kanálu a následných neuromotorických poruch (Erhardová-Kotrlá a Blažek 1970).

4.2 Nespecifičtí definitivní hostitelé

V nespecifickém definitivním hostiteli motolice dosáhnou jater stejně jako v případě specifických definitivních hostitelů ale na rozdíl od infekce specifických definitivních hostitelů se kolem juvenilních jedinců tvoří silnostěnné pseudocysty, které nejsou napojeny na žlučovody. V silnostěnných pseudocystách motolice obvykle nedospějí. Přestože v některých případech motolice dospívají a produkují vajíčka, tak díky absenci napojení pseudocysty na žlučovody vajíčka neodchází do střeva a hromadí se v pseudocystách. Tímto je životní cyklus parazita přerušen (Swales 1935, 1936).

Infekce *F. magna* u nespecifických definitivních hostitelů probíhá v některých případech zcela bez příznaků, podobně jako u specifických definitivních hostitelů, je možné však také sledovat výrazné váhové úbytky a celkové zhoršení tělesného stavu (Foreyt a Todd 1976, Chroustová a kol. 1980).

4.3 Netypičtí (aberrantní) hostitelé

Pokud se motolice vyskytnou v netypickém hostiteli, neusadí se v játrech, ale dlouhodobě migrují jeho tělem (Swales 1936, Pybus 2001). Způsobují tím rozsáhlá poškození tkáně, na

které hostitel obvykle umírá bez předchozích příznaků nebo ojediněle s příznaky celkové apatie a nechutenství (Swales 1936, Erhardová-Kotrlá a Blažek 1970, Foreyt a Todd 1976). Juvenilní jedinci *F. magna* mohou být v netypickém hostiteli nalezeni v různých částech těla, např. v játrech, v plicích, v břišní či hrudní dutině, v peritoneálním prostoru, uvnitř kosterního svalstva či v podkožním vazivu (Conboy a Stromberg 1991, Foreyt 1996). Při pitvě jsou často patrné léze na játrech, vazivo nahrazující parenchym či známky vnitřního krvácení v podobě sraženin (Foreyt 1996).

5. Rozšíření *Fascioloides magna*

F. magna se původně vyskytovala pouze v Severní Americe, odkud byla v 2. polovině 19. století zavlečena do Evropy spolu s jelenci virginskými (*Odocoileus virginianus*) a jeleny wapiti (*Cervus elaphus canadensis*), kteří byli dováženi do parků, zoologických zahrad a oborových chovů (Erhardová-Kotrlá 1971). Přes severoamerický původ byla *F. magna* poprvé popsána Bassim (1875), který motolici objevil u jelenů lesních (*C. elaphus*) v královském parku La Mandria nedaleko Italského Turína (zde se fascioloidóza doposud vyskytuje).

Na území dnešní České republiky byl výskyt *F. magna* poprvé zaznamenán v letech 1927-1930 (Sprehn), ale nálezy nebyly detailně popsány (Erhardová-Kotrlá 1968a). První neověřené údaje však předpokládají import *F. magna* již na přelomu 19. a 20. století, a to s jelenci viržinskými (*O. virginianus*) do oblasti jihočeských obor (Chroust 2004).

5.1 Rozšíření ve světě

Běžně se *F. magna* vyskytuje v původním areálu rozšíření, na území Severní Ameriky. Tamnější areál rozšíření zahrnuje zejména 5 oblastí: 1. oblast Velkých jezer, 2. spodní tok řeky Mississippi a jižní pobřeží Atlantiku, 3. severní pobřeží Tichého oceánu, 4. oblast Skalistých hor a 5. severní Quebec a Labradorský poloostrov (Pybus 2001) (Obr. 4,A). Konkrétně byla *F. magna* doposud zaznamenána v těchto státech Severní Ameriky: Alberta, Arkansas, Britská Kolumbie, Kalifornie, Colorado, Illinois, Iowa, Kansas, Louisiana, Michigan, Minnesota, Montana, New York, Oklahoma, Ontario, Oregon, Quebec, South Carolina, Texas, Washington, a Wisconsin (Swales 1935; Erhardová-Kotrlá 1971; Pybus 2001; Špakulová a kol. 2003, Novobilský 2007)

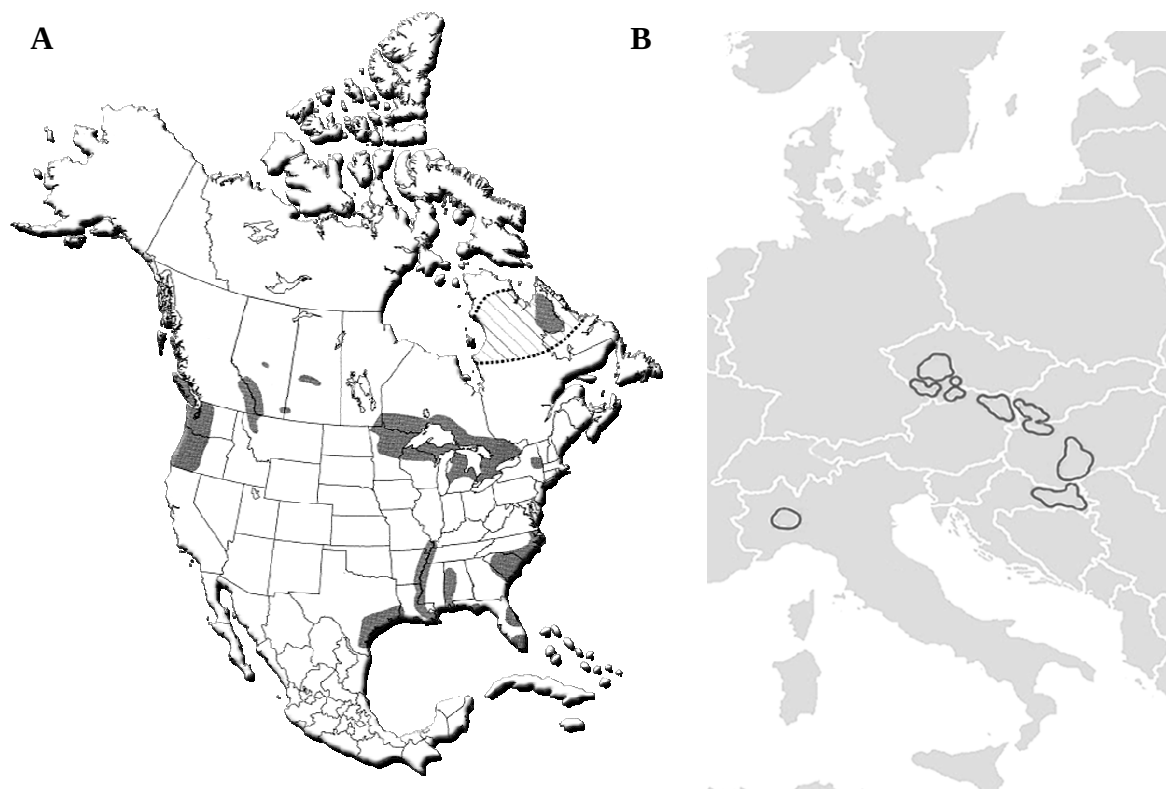
V devadesátých letech 20. století se *F. magna* rychle šířila díky migraci a importům definitivních hostitelů (zejména jelení zvěře) podél Dunaje na území Slovenska, Maďarska, Rakouska a Chorvatska (Rajský a kol. 1994, Winkelmayr 2001, Egri a kol. 2002, Marinkulić a kol. 2002, Ursprung a kol. 2002, Špakulová a kol. 2003, Chroust 2004) (Obr. 4,B).

První nález na Slovensku byl zaznamenán u laně (*C. elaphus*) v roce 1988 v okolí vodního díla Gabčíkovo (Rajský a kol. 1994). Poté následovalo rychlé rozšíření nákazy přičemž dnes areál výskytu *F. magna* zahrnuje především lužní lesy v okresech Dunajská Streda a Komárno (prevalence až 100% u *C. elaphus*) (Špakulová a kol. 2003). Na maďarské straně Dunaje byl první nález *F. magna* ohlášen v roce 1994 a v letech 1997 až 2003 dosáhla prevalence ve dvou hlavních oblastech rozšíření (Szigetköz a Gemenc) 46% u jelení zvěře (Egri a kol. 2002). Na území Rakouska byl pozitivní jelen (*C. elaphus*) zjištěn na podzim roku 2000 v oblasti

Dunajské nivy jižně od Fischmendu ([Winkelmayer 2001](#)). Po rozsáhlém průzkumu v dalších letech byla prokázána 66-70% prevalence a masivní infekce *F. magna* u jelenů (*C. elaphus*) okolo rakouské části Dunaje na východ od Vídně ([Ursprung a kol. 2002](#)). V lednu roku 2000 byl potvrzen první případ nákazy *F. magna* ve východním Chorvatsku, v oblasti Baranja. Jednalo se o jelena lesního (*C. elaphus*), v jehož játrech bylo nalezeno 22 jedinců *F. magna* ([Marinkulić a kol. 2002](#)). V letech 2002 až 2003 byla *F. magna* prokázána s vysokou prevalencí (až 60%) u chorvatských jelenů (*C. elaphus*) v oblasti soutoku Drávy a Dunaje ([Chroust 2004](#)). Nákazy motolicí *F. magna* byly zjištěny také v Německu ([Salomon 1932](#)), ve Španělsku ([Almarza 1935](#)) a v Polsku ([Ślusarski 1955](#)).

Ojedinelé nálezy *F. magna* byly zaznamenány i na jiných kontinentech, ale vždy se jednalo o infikovanou zvěř importovanou z USA nebo Kanady. V jižní Africe byl takto zaznamenán případ krávy (*Bos taurus*) nakažené *F. magna* ([Boomker a Dale-Kuys 1977](#)), v Austrálii byla potvrzena infekce *F. magna* u vola (*Bos taurus*) ([Arundel a Hamir 1982](#)). Dalším případem byl nakažený jelen wapiti (*C. elaphus*) na Kubě ([Lorenzo a kol. 1989](#)).

Obr. 4. Rozšíření *Fascioloides magna* v Severní Americe (A) a v Evropě (B). Šedě zvýrazněná (A) a ohraničená (B) území jsou oblasti výskytu *F. magna* ([Pybus 2001, Kašný a Novobilský 2008](#)).



5.2 Rozšíření v České republice

Na území České republiky se nákaza *F. magna* vyskytuje nejčastěji u specifických definitivních hostitelů, u jelenů lesních (*Cervus elaphus*), dále u srnců obecných (*Capreolus capreolus*) a daňků evropských (*Dama dama*). Ojediněle i u jelenců viržinských (*Odocoileus virginianus*) a jelenů sika (*Sika nippon*) (Erhardová-Kotrlá 1971, Novobilský 2006).

V 60. letech minulého století došlo k výraznému rozšíření *F. magna* na našem území a vytvoření permanentních ohnisek parazitózy (Erhardová-Kotrlá 1971, Chroust a Chroustová 2004, Horáčková 2007, Novobilský a kol. 2007b). Mezi stálé oblasti výskytu patří: (1) Českobudějovicko a Třeboňsko, (2) Písecko a Milevsko, (3) Příbramsko a Rožmitálsko (oblast Brd a Hřebenů) a (4) oblast Novohradských hor a jejich okolí (Erhardová-Kotrlá 1971) (Obr. 5).

V souvislosti s permanentním výskytem *F. magna* v NP Šumava se v budoucnu předpokládá šíření fascioloidózy i do sousedního německého NP Bavorský les, kde jsou jak vhodné meziphostitelé a hostitelé, tak i vhodné přírodní podmínky pro životní cyklus *F. magna* (Novobilský a kol. 2007b) (Obr. 5).

Obr. 5. Rozšíření *F. magna* v České republice (Kašný a Novobilský 2008). Šipka znázorňuje předpokládaný směr šíření fascioloidózy (Novobilský a kol. 2007b).



6. Možnosti diagnostiky *Fascioloides magna*

Ve své diplomové práci se budu mimo jiné zabývat také histopatologií nákazy *F. magna*. Z tohoto důvodu může být pro mne velmi účelné pokusit se faciolidózu u vybraných hostitelských druhů spolehlivě prokázat nejen postmortálně, ale i intravitálně.

Existuje několik různých technik, kterými lze diagnostikovat nákazu *F. magna*. Za klasické, přímé, a dlouhodobě používané metody je považováno vyšetření pitevní a vyšetření koprologické. V současnosti se k diagnostice parazitóz stále častěji využívají také metody nepřímé, založené na imunologických a molekulárně-biologických principech. Mezi hlavní přístupy patří imunologické vyšetření krve a diagnostika parazitární DNA s využitím PCR.

Nejspolehlivější metodou pro zachycení infekce *F. magna* je pato-anatomické vyšetření definitivního hostitele s přímým nálezem motolic v jaterním parenchymu nebo případně i v jiných orgánech (Horáčková 2007). Kromě nálezu živých či mrtvých motolic je důležitým diagnostickým znakem výskyt tmavého zabarvení, pigmentu, na povrchu i uvnitř orgánů břišní a hrudní dutiny, nejčastěji na játrech, plicích a mízních uzlinách (Swales 1935). Při infekcích hostitelů dalšími druhy jaterních motolic, vyskytujících se v České republice (*F. hepatica*, *D. dendriticum*) tyto patologické změny většinou nenastávají (Chroust a Chroustová 2004).

Nejčastěji používanou a finančně nenáročnou diagnostickou metodou je koprologické vyšetření trusu hostitele, s využitím sedimentačních metod. Takto je možné identifikovat zralá vajíčka přítomná v trusu. Nevýhodou této metody je její nespecifičnost. Vajíčka *F. magna* se totiž mikroskopicky nedají s naprostou jistotou odlišit od vajíček příbuzné *F. hepatica* (Kaufmann 1996).

Studie z poslední doby ukazují, že infekci *F. magna* lze diagnostikovat pomocí běžných imunologických metod. Bylo např. zjištěno, že již dva týdny po infekci se významně zvyšuje hladina protilátek v krvi hostitele, které specificky reagují s exkrečně-sekrečními proteiny (ESP) *F. magna*. Pomocí elektroforézy a imunoblotu byly objeveny proteinové antigeny o molekulové hmotnosti 40, 120 kDa jako druhově specifické pro *F. magna* (Novobilský a kol. 2007a). Předpokládáme že na základě těchto druhově specifických antigenů bude v budoucnu možné spolehlivě diagnostikovat infekci *F. magna* a současně ji také odlišit např. od infekce *F. hepatica*. Výzkum zaměřený tímto směrem na našem pracovišti v současné době probíhá.

Pro identifikaci *F. magna* je možné použít také metodu PCR založenou na amplifikaci úseků DNA některých známých ribozomálních (např. 18S, 28S, ITS1, ITS2) a mitochondriálních genů (např. *nad1* - podjednotka nikotinamid dehydrogenázy 1, *cox1* - cytochrom c oxidáza 1) (Mulvey a kol. 1991, Bildfell a kol. 2007, Králová-Hromadová a kol.

2008, Lotfy a kol. 2008). Ve spolupráci s kolegy z Parazitologického ústavu Slovenské akademie věd v Košicích chceme v budoucnosti ověřit možnosti využití molekulárně diagnostických metod pro identifikaci DNA *F. magna* v trusu hostitele.

7. Závěr

F. magna je významným endohelmintem jak v České republice, tak i mimo ni. Areál její evropské distribuce se od 19. století výrazně zvětšil a i v budoucnu se předpokládá jeho další rozšiřování. Studium biologie *F. magna* je proto stále významnějším tématem, kterému bych se chtěla věnovat i ve své magisterské práci. Během svého magisterského studia se chci více zaměřit na patogenní projevy fascioloidózy u jednotlivých typů hostitelských druhů. Pro naplnění tohoto tématu chci aplikovat zejména histologické metody a s jejich využitím prozkoumat zasažené tkáně mezihostitelů a hostitelů infikovaných *F. magna*. Dále budu také pokračovat v mapování výskytu *F. magna*, což je nezbytný krok pro navazující výzkum. V neposlední řadě si do budoucna kladu za cíl dokončit zavádění kompletního životního cyklu *F. magna* v laboratorních podmínkách.

8. Použitá literatura

Almarza N. (1935): Die Leberegel des Schafes. Beschreibung neuer Arten. *Z. Infekt. Kr. Haustiere* 47, 195–202.

Arundel J.H. a Hamir A.N. (1982): *Fascioloides magna* in cattle. *Aust. Vet. J.* 58, 35-36.

Bildfell R. J., Whipps C. M., Gillin C. M., Kent M. L. (2007): DNA-based identification of a hepatic trematode in an elk calf. *J. Wildl. Dis.* 43, 762-769.

Boomker, J. a Dale-Kuys, J.C. (1977): First report of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 44, 49-51.

Campbell W.C. (1960): Nature and possible significance of the pigment in fascioloidiasis. *J. Parasitol.* 46, 769-775.

Conboy G. A. a Stromberg B. E. (1991): Hematology and clinical pathology of experimental *Fascioloides magna* infection in cattle and guinea pigs. *Vet. Parasitol.* 40, 241-255.

Dreyfuss G., Novobilský A., Vignoles P., Bellet V., Koudela B., Rondelaud D. (2007): Prevalence and intensity of infections in the lymnaeid snail *Omphiscola glabra* experimentally infected with *Fasciola hepatica*, *Fascioloides magna* and *Paramphistomum daubneyi*. *J. Helminthol.* 81, 7-12.

Dunkel A. M., Ronglie M. C., Johnson G. R., Knapp S. E. (1996): Distribution of potential intermediate hosts for *Fasciola hepatica* and *Fascioloides magna* in Montana, USA. *Vet. Parasitol.* 62, 63-70.

Egri B., Sztojkov V., Törzsök G. (2002): Ergebnisse der Untersuchungen über die Bekämpfungsmethoden des Amerikanischen Riesenleberegels (*Fascioloides magna* Bassi, 1875) in Ungarn (1997-2002). In: Symposium „Erforschung und Bekämpfung des Amerikanischen Reiseleberegels (*Fascioloides magna*).“ Interreg-Projekt „Amri-Egel-Austria“, Niederösterreichischer Landesjagd-verband, Wien, Austria, November 21st 2002, 5-7.

Erhardová B. (1961): Vývojový cyklus motolice obrovské (*Fascioloides magna*) v podmínkách ČSSR. *Zoologické listy* 10, 9-18.

Erhardová B. (1968a): Parthenogenesis of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) under natural conditions. *Folia Parasitol.* 15, 233-242.

Erhardová B. (1968b): The development in the egg of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) and duration of the ovulation cycle. *Folia Parasitol.* 15, 341-349.

Erhardová-Kotrlá B. a Blažek K. (1970): Artificial infestation caused by the fluke *Fascioloides magna*. *Acta Vet.* 39, 287-295.

Erhardová-Kotrlá B. (1971): The occurrence of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) in Czechoslovakia. Prague; Academia.

Faltýnková A., Horáčková E., Hirtová L., Novobilský A., Modrý D., Scholz T. (2006): Is *Radix peregra* a new intermediate host of *Fascioloides magna* (Trematoda) in Europe? Field and experimental evidence. *Acta Parasitol.* 51, 87-90.

Foreyt J. W. (1992): Experimental *Fascioloides magna* infections of mule deer (*Odocoileus hemionus hemionus*). *J. Wildl. Dis.* 28, 183-187.

Foreyt W. J. (1996): Susceptibility of bighorn sheep (*Ovis canadensis*) to experimentally-induced *Fascioloides magna* infections. *J. Wildl. Dis.* 32, 556-559.

Foreyt W.J. a Todd A.C. (1974b): Efficacy of rafoxanide and oxyclozanide against *Fascioloides magna* in naturally infected cattle. *Am. J. Vet. Res.* 35, 375-377.

Foreyt W.J. a Todd A.C. (1976): Development of the large American liver fluke, *Fascioloides magna*, in white-tailed deer, cattle, and sheep. *J. Parasitol.* 62, 26-32.

Foreyt J. W. a Todd C. A. (1978): Experimental infection of lymnaeid snails in Wisconsin with miracidia of *Fascioloides magna* and *Fasciola hepatica*. *J. Parasitol.* 64, 1132-1134.

Galaktionov K. V. a Dobrovolskij A. A. (2003): The biology and evolution of Trematodes. Kluwer academic publishers, Dordrecht.

Horáčková E. (2007): Biologie a výskyt larválních stádií motolice obrovské (*Fascioloides magna*) v České republice. *Diplomová práce*.

Horák P. a Mikeš L. (2007): Helmintologie. Ve: Wolf P., Horák P. a kol.: Paraziti a jejich biologie. Nakladatelství TRITON, Praha.

Chroust K. a Chroustová E. (2004): Motolice obrovská (*Fascioloides magna*) u spárkaté zvěře v jihočeských lokalitách. *Veterinářství* 54, 296-304.

Chroustová E. (1978): *Lymnaea palustris* (Muller, 1774) jako další mezipřenositel motolice velké (*Fascioloides magna*) v ČSSR. *Veterinářství* 28, 130-132.

Chroustová E. (1979): Experimental infection of *Lymnaea palustris* snails with *Fascioloides magna*. *Vet. Par.* 5, 57-64.

Chroustová E., Hůlka J., Jaroš J. (1980): Prevence a terapie fascioloidózy skotu bithionolsulfoxidem. *Vet. Med.* 25, 557-563.

Janicki Z., Konjević D., Severin K. (2005): Monitoring and treatment of *Fascioloides magna* in semi-farm red deer husbandry in Croatia. *Vet. Res. Commun.* 29, 83-88.

Jones A., Bray R.A., Gibson D.I. (2001): Keys to the trematoda, vol.2. CABi publishing, King's Lynn.

Kaplan R. M., Dame J. B., Reddy G. R., Courtney C. H., (1995): A repetitive DNA probe for the sensitive detection of *Fasciola hepatica* infected snail. *Int. J. Parasitol.* 25, 601-610.

Kašný M. a Novobilský A. (2008): Je naše spárkatá zvěř ohrožena motolicí velkou? *Svět myslivosti* 12, 13-15.

Kaufmann J. (1996): Parasitic infections of domestic animals. Germany. A diagnostic manual. Birkhäuser Basel, Boston, Berlin.

Kearn G. C. (1998): Parazitism and the platyhelminthes. Chapman a Hall. London.

Králová-Hromadová I., Špakulová M., Horáčková E., Turčeková L., Novobilský A., Beck R., Koudela B., Marinkulić 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*. *J. Parasitol.* 94, 58-67.

Lotfy W. M., Brant S. V., DeJong R. J., Le T. H., Demiaszkiewicz A., Rajapakse R. P. V. J., Perera V. B. V. P., Laursen J. R., Loker E. S. (2008): Evolutionary origins, diversification, and biogeography of liver flukes (Digenea, Fasciolidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79, 248-255.

Lorenzo M., Ramiriz P., Mendez M., Alonso M., Ramos R. (1989): Reporte de *Fascioloides magna*, Bassi, 1875, parasitando un wapiti (*Cervus canadensis*) en Cuba. *Rev. Cub. Cien. Vet.* 20, 263-266.

Marinkulić A., Džakula N., Janicki Z., Hardy Z., Lucinger S., Živićnjak T. (2002): Appearance of American liver fluke (*Fascioloides magna*, Bassi, 1875) in Croatia - a case report. *Veterinarski archiv* 72, 319-325.

Novobilský A., Kašný M., Mikeš L., Kovarčík K., Koudela B. (2007a): Humoral immune responses during experimental infection with *Fascioloides magna* and *Fasciola hepatica* in goats and comparison of their excretory/secretory products. *Parasitol. Res.* 101, 357-364.

Novobilský A. (2007): The giant liver fluke *Fascioloides magna* in the Czech republic: distribution, intermediate hosts, and immunodiagnosics. *Disertační práce.*

Novobilský A., Horáčková E., Hirtová L., Modrý D., Koudela B. (2007b): The giant liver fluke *Fascioloides magna* (Bassi 1875) in cervids in the Czech republic and potential of its spreading to Germany. *Parasitol. Res.* 100, 549-553.

Píkula J., Beklová M., Štěrbá F., Buš A., Brandstatter L. (1997): Ecological conditions of distribution and population density of roe deer (*Capreolus capreolus*) in the Czech and Slovak republics. *XXXII International Symposium on Animal Production*.

Pybus M. J. (2001): Liver flukes. In: Samuel W. M., Pybus M. J., Kocan A. A. (eds.), *Parasitic diseases in wild mammals*, Iowa State Press, Iowa City.

Rajský D., Patus A., Bukovjan K. (1994): Prvý nález *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) na Slovensku. *Slov. Vet. Čas.* 19, 29-30.

Rondelaud D., Fousi M., Vignoles P., Moncef M., Dreyfuss G. (2007): Optimization of metacercarial production for three digenean species by the use of petri dishes for raising lettuce-fed *Galba truncatula*. *Parasitol. Res.* 100, 861-865.

Rondelaud D., Novobilský A., Vignoles P., Treuil P., Koudela B., Dreyfuss G. (2006): First studies on susceptibility of *Omphiscola glabra* (Gastropoda: Lymnaeidae) from central France to *Fascioloides magna*. *Parasitol. Res.* 98, 299-303.

Ronglie M. C., Dimke K. L., Knapp S. E., (1994): Detection of *Fasciola hepatica* in infected intermediate hosts using RT-PCR. *J. Parasitol.* 80, 748-755.

Salomon S. (1932): *Fascioloides magna* bei deutschen Rotwild. *Berliener und Muenchener Tierarzliche Wochenschrift* 48, 627-628.

Ślusarski W. (1955): Studia nad europejskimi przedstawicielami przywry *Fasciola magna* (Bassi 1875) Stiles, 1894. I. *Acta Parasitol. Pol.* 3, 1-59.

Swales W. E. (1935): The life cycle of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) the large liver fluke of ruminants, in Canada. With observation on the bionomics of the larval stages and the intermediate hosts, pathology of *Fascioloides magna* and control measures. *Can. J. Res.* 12, 177-215.

Swales W. E. (1936): Further studies on *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) Ward, 1917, as a parasite of ruminants. *Can. J. Res.* 14, 83-95.

Špakulová M., Rajský D., Sokol J., Vodňanský M. (2003): Cicavica obrovská (*Fascioloides magna*) významný pečeňový parazit prežúvavcov. Parpress, Bratislava.

Štěrbá F., Buš A., Brandstatter L., Pikula J. (1997): Analysis of main mortality causes of roe deer (*Capreolus capreolus*) in the Czech Republic. *XXXII International Symposium on Animal Production*.

Ursprung J., Juncker-von Voss M., Prosl H. (2002): *Fascioloides magna* in Austrian red deer. *Joint Annual Meeting Parasitology 2002*, Abstract C18.

Vignoles P., Novobilský A., Rondelaud D., Bellet V., Treuil P., Koudela B., Dreyfuss G (2006): Cercarial production of *Fascioloides magna* in the snail *Galba truncatula* (Gastropoda: Lymnaeidae). *Parasitol. Res.* 98, 462-467.

Ward H.B. (1917): On the structure and classification of North American parasitic worms. *J. Parasitol.* 4, 1-12.

Winkelmayer, R. (2001): Management von Wildkrankheiten; Medikamenteneinsatz in freier Wilbahn – pro und contra. In: Symposium „Erforschung und Bekämpfung des neu in Österreich auftretenden Amerikanischen Reiseleberegels (*Fascioloides magna*). Niederösterreichischer Landesjagdverband, Wien, Austria, November 27th 2001.

Yamaguti S. (1975): A synoptical review of life histories of digenetic trematodes of vertebrates. Part I, II. Keigaku Publishing Co.

Záhoř Z. (1965): Výskyt velké motolice (*Fascioloides magna* Bassi, 1875) u srnčí zvěře. *Veterinářství* 15, 322-324.