

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0474**

Identifikácia vírusu EBHS a vybraných patogénov ako možnej príčiny poklesu početnosti zajaca poľného (*Lepus europaeus*) na Slovensku

Zodpovedný riešiteľ **MVDr. Rastislav Jurčík, PhD.**

Príjemca **Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum Lužianky
Virologický ústav, Biomedicínske centrum SAV Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Nie je

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Nie sú

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Slamečka, J., Sládeček, T., Jurčík, R., Kaštier, P., Šmehýl, P. (2017): Bewirtschaftung des Feldhasen (*Lepus europaeus*, Pall.) in der Slowakei. Beiträge zur Jagd- und Wildforschung, Bd. 42 (2017), 283-289

Jurčík, R., Slamečka, J., Sládeček, T., Kudelová, M. (2018): Der gesundheitliche Zustand des Feldhasen (*Lepus europaeus*, Pall.) in der südwestlichen Slowakei. Beiträge zur Jagd- und Wildforschung, Bd. 43 (2018), 221-230, ISSN: 1436-3895, ISBN: 978-3-7888-1730-5

Jurčík, R., Slamečka, J., Sládeček, T., Ondruška, Ľ. (2020): Endoparasiten der Hasenpopulation in südwestlichen Slowakei in den Jahren 2016 – 2019. In: Beiträge zur Jagd- und Wildforschung. - ISSN 1436-3895. – Bd.45 (2020), s. 177-185. Article; WoS
Slamečka, J., Sládeček, T., Jurčík, R., Ondruška, Ľ. (2018): Development of Brown Hare (*Lepus europaeus*) Population Parameters in Slovakia. In: Modern aspects of sustainable management of game populations. Book of Abstracts. 13 – 16 June 2018, Sofia, Bulgaria, p. 25

Kúdelová, M - Koperová, P - Belvončíková, P - Šebová, R (2018) Investigation of the occurrence of European brown hare syndrome virus (EBHSV) in *Lepus europaeus* hares in Slovakia. In Power of Viruses: programme and abstracts. - Zagreb, Croatia: Croatian Microbiology Society, 2018, p. 56. ISBN 978-953-7778-15-6.

Koperová Petronela, Belvončíková Petra, Šebová Radka, Kúdelová Marcela. (2018): Incidence of European brown hare syndrome virus in European brown hare *Lepus europaeus* in Slovakia. Zborník recenzovaných príspevkov. Študentská vedecká

konferencia 2018, 25.4.2018, Bratislava, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského Bratislava

Slamečka Jaroslav, Sládeček Tomáš, Jurčík Rastislav, Ondruška Ľubomír: Development of Brown Hare (*Lepus Europaeus*) Population Parameters in Slovakia. In: Modern aspects of sustainable management of game populations. Book of Abstracts. 13 – 16 June 2018, Sofia, Bulgaria, p. 25

Kúdelová, M - Koperová, P - Belvončíková, P - Šebová, R (2018) Investigation of the occurrence of European brown hare syndrome virus (EBHSV) in *Lepus europaeus* hares in Slovakia. In Power of Viruses: programme and abstracts. - Zagreb, Croatia: Croatian Microbiology Society, 2018, p. 56. ISBN 978-953-7778-15-6.

Jurčík, R., Slamečka, J., Sládeček, T., Ondruška, Ľ. (2018): Parametre chorobnosti zajacov poľných ulovených v revíroch juhozápadného Slovenska. In. Zborník z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou Poľovnícky manažment a ochrana zveri, XXXI. ročník, 11.05.2018, TU Zvolen, s. 98-103, ISBN 978-80-228-3085-0.

Jurčík, R., Slamečka, J., Sládeček, T., Kudelová, M., Ondruška, Ľ., Parkányi, V. (2018): Monotoring vybraných patogénov a vírusu EBHS ako možnej príčiny poklesu početnosti zajaca poľného (*Lepus europaeus*) na Slovensku In: 50 rokov genetiky a experimentálnej biológie vo VÚŽV Nitra, Zborník vedeckých a odborných prác (recenzovaný). 18.5.2018, s.88-96, NPPC – VÚŽV Nitra, ISBN 978-80-89162-68-0

Slamečka, J., Sládeček, T., Jurčík, R. (2018): Vybrané parametre populačnej dynamiky zajaca poľného (*Lepus europaeus*) na Slovensku. In: 50 rokov genetiky a experimentálnej biológie vo VÚŽV Nitra, Zborník vedeckých a odborných prác (recenzovaný). 18.5.2018, s.80-87, NPPC – VÚŽV Nitra, ISBN 978-80-89162-68-0

Slamečka J., Jurčík R., Capcarová M., Sládeček T. (2018): Brown Hare (*Lepus Europaeus*) as a Bioindicator in Agricultural Landscape. In: The 6th International Scientific Conference „Animal Biotechnology 2018“, Slovak J. Anim. Sci., 51,2018, (4), 177-178. ISSN 1337-9984.

Sládeček, T., Jurčík, R., Slamečka, J., Ondruška, Ľ. (2018): Effect Of Humic Substances on the Reproduction Parameters of Farmed Brown Hare. In: Slovak J. Anim. Sci., 51, 2018 (2): 86–90, ISSN 1337-9984

Slamečka, J., Jurčík, R., Sládeček, T. (2019): Populace zajíců a virus EBHS. In: Svět myslivosti, Roč. 20, 2019, č. 6, s. 22-23, ISSN: 1212-8422

Slamečka, J. – Jurčík, R. - Sládeček, T. (2017). Koluje v našich zajacoch vírus EBHS? In: Naše poľovníctvo. ISSN 1336-5568. Roč. 14, č. 5, str. 6 - 7

Uplatnenie výsledkov projektu

Priebežné výsledky v podobe protokolov so zhodnotením populačnej dynamiky a zdravotného stavu zajacov sme zasielali predstaviteľom poľných združení aj s odporúčaniami na zlepšenie obhospodarovania zajacov v ich revíroch. Priebežné správy za jednotlivé revíry sme prezentovali na Komisiách pre poľovníctvo Slovenskej poľníckej komory. Priebežné správy a záverečnú správu z výsledkami riešenia projektu sme zasielali Štátnej veterinárnej a potravinovej správe a Lesníckej sekcii MPRV SR. Ako aplikačný výsledok sme odovzdali ŠVaPS Diagnostický protokol pre diagnostiku infekcie vírusom EBHSV. Zavedením novej metodiky pre diagnostiku EBHSV je umožnená kvalitná, špecifická a efektívna identifikácia vírusu u zajacov monitorovaných pre možný výskyt tejto infekcie. Včasná diagnostika EBHSV umožňuje identifikáciu šírenia infekcie resp. potenciálneho zamorenia lokalít - biotopov, v ktorých tieto zajace žijú. Metodika svojou citlivosťou predstavuje významný nástroj na identifikáciu EBHSV aj u zajacov, ktoré nejavia príznaky ochorenia a to aj v období mimo lovnej sezóny. Metodika popísaná v odovzdanom protokole môže prispieť k zvýšeniu početnosti populácie zajacov, ktoré sú aj obchodnou komoditou na Slovensku.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Cieľ č.1: Podľa metodiky projektu sme vykonali počas 4 rokov 39 odberov vzoriek na 20 lokalitách juhozápadného Slovenska. Na prítomnosť protilátok proti patogénom vybraných zoonóz sme vyšetrili krvné séra 237 zajacov. Nezistili sme žiadne protilátky proti brucelóze a Q horúčke, čo je významný poznatok tohto projektu. Protilátky proti chlamydióze sa vyskytli len v jednom prípade čo je 0,42 % z vyšetrených vzoriek. Menej ako 3 % dosahovala prevalencia protilátok leptospirózy a tularémie. Protilátky proti jednobunkovému

parazitovi *Toxoplasma gondii* boli v 12,24 % prípadov. Podľa našich zistení v sledovanom období zoonózy nespôsobovali pokles početnosti zajacov poľných. Na základe patologicko-anatomických vyšetrení 235 ulovených zajacov sme zistili, že najčastejšie postihnutými orgánmi sú pľúca, orgán v priamom kontakte s vonkajším prostredím (22,98% prípadov) a detoxikačné orgány pečeň (25,53 %) a obličky (16,17 %). Zmeny na reprodukčných orgánoch sme zaznamenali ojedinele, čo poukazuje na zachovanú reprodukčnú schopnosť zajacov. Koprologickým vyšetrením trusu 235 zajacov sme zistili, že populácie zajacov sú silno premorené kokciíami rodu *Eimeria* (v jednotlivých rokoch 85,7 -100 %). S výnimkou roku 2018 bolo premorenie juvenilných zajacov vždy 100%. Zaznamenali sme 9 druhov rodu *Eimeria* najvyššie zastúpenie má *Eimeria semisculpta* (73,47 % -93,33%). Vysokú mieru premorenia zajačích populácií sme zistili aj pri vlasovke zajačej (*Trichostrongylus retortaeformis*). V jednotlivých rokoch 53,6 % – 80 % zajacov v intenzite infekcie nízkej až strednej. Nižšiu prevalenciu dosahoval v populáciách zajacov tenkohlavec zajačí (*Trichocephalus leporis*) od 8,33 % do 17,86 %, väčšinou v nízkej a strednej II. Premorenie pľúcny červom *Protostrongylus commutatus* bolo 2,04 % - 5,36 %. V jednom revíri sme zaznamenali žalúdočného červa *Graphidium strigosum*. Pre stanovenie parametrov populačnej dynamiky sme odobrali vzorky z 1102 zajacov poľných z dvadsiatich lokalít. Za cele sledované obdobie sme zistili prírastok 39,66 %, zo 100 ulovených zajacov bolo 39,66 juvenilných. Pre stabilnú populáciu by mal ročný prírastok dosahovať minimálne 50 %. Prírastok medziročne kolísal od 32,97 % do 45,83 %. Negatívnym zistením je nízky počet juvenilných zajacov na jednu dospelú samicu ($r = 1,11$ až $1,68$). Hodnota „ r “ by nemala klesnúť pod 2,0. Poukazuje to na nízku mieru prežívania mláďat. Sexuálny index sa pohyboval v limitoch normálnych hodnôt. Výskumom týchto parametrov sme dokázali postupný pokles početnosti zajačích populácií. Cieľ č.2: V rámci epidemiologického prieskumu EBHSV v zajačej populácii sme zajacov metódami nested RT-PCR (v cDNA) a nested PCR (v RNA) vykonali 460 testov vzoriek z 215 zajacov. Celkový počet EBHSV infikovaných zajacov v rokoch 2016-2019 bol 144 zajacov, čo je 66,9 %. Incidencia EBHSV sa v jednotlivých rokoch pohybovala od 57,9 % do 81,5 %. Pri 16 odberoch v revíroch z celkových 39 bolo všetky vyšetrené zajace pozitívne na EBHSV. Cieľ 3: V rámci riešenia sme vyvinuli nested RT-PCR metódu vhodnú na detekciu EBHSV v pečeni a krvi zajacov. Testovanie krvi umožňuje zisťovať premorenie EBHSV pri živých zajacoch, čo má význam pri exporte zveri. Diagnostický protokol novej metódy poskytujeme ŠVaPS na ďalšie využitie.

Významným výsledkom projektu je zistenie vysokej miery premorenia vírusom EBHS, čo doposiaľ nebolo známe ani publikované. Kolísanie prírastku zajačej zveri je závislé na mnohých faktoroch. Hľadanie závislosti vplyvu zdravia a konkrétne vplyvu EBHSV na populácie zajacov nebolo možné riešiť v rámci tohto projektu. Prírastky sú však výrazne nižšie ako v minulých desaťročiach a predpokladáme, že vysoká incidencia EBHSV mala svoj významný podiel na tomto fakte. Výsledky analýz zdravotného stavu zajacov poukazujú na to, že v praxi často používané „občerstvovanie krvi“, pri ktorom sa zajace presúvajú medzi lokalitami, často bez veterinárnych vyšetrení, je veľmi rizikové a môže prispievať k zvyšovaniu chorobnosti v zajačej populácii o čom budeme informovať aj SPK.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Objective No. 1: In accordance with the project's methodology, we performed 39 sample collections from 20 locations of southwestern Slovakia over the course of 4 years. We tested blood serum from 237 hares for pathogen antibodies. We did not determine any antibodies against brucellosis and Q fever, which is important knowledge stemming from this project. Antibodies against chlamydiosis were detected in only one case, which represents only 0.42 % of the examined samples. Leptospirosis and tularaemia antibodies reached prevalence of less than 3 %. Antibodies against the single-cell parasite *Toxoplasma gondii* were detected in 12.24 % of cases. According to our results, during the monitored period zoonoses did not cause a decrease in the brown hare's population. Based on pathological-anatomical examinations of 235 harvested hares we determined that the most frequently affected organs are lungs, an organ in direct contact with the outside environment (22.8 % cases), and detoxication organs liver (25.53 %) and kidneys (16.17 %). Changes on reproductive organs were detected only rarely, which indicates that the reproductive functions of hares are preserved. Based on coprological examination of 253 hares' faeces, we determined

strong prevalence of *Eimeria* sp. coccidias in the hare populations (in the individual years, 85.7 – 100 %). With the exception of 2018, it occurred in 100 % of juvenile hares. We determined 9 species of *Eimeria*, of which the most prevalent was *Eimeria semisculpta* (73.47 % - 93.33 %). High rate of occurrence in hare populations was determined also for *Trichostrongylus retortaeformis*. In the individual years, 53.6 % - 80 % of hares with low to moderate infection intensity. Lower occurrence in the hare populations was determined for *Trichocephalus leporis*, from 8.33 % to 17.86 % in low to moderate infection intensity. In one hunting ground, *Graphidium strigosum* was recorded. To determine the parameters of population dynamics, we collected samples from 1102 brown hares from twenty locations. Over the course of the entire monitored period, recruitment of 39.66 % was determined: of 100 harvested hares, 39.66 were juvenile. To maintain stable population, annual recruitment should reach 50 % at minimum. Between years, recruitment fluctuated from 32.97 % to 45.83 %. A negative phenomenon was a low number of juvenile hares per adult female ($r = 1.11$ to 1.68). The value “ r ” should not fall under 2.0. This indicates low survival rate of leverets. Sex index ranged between the limits of normal values. Based on these parameters we proved a gradual decline of the hare population. Objective No. 2: Within the epidemiology screening for EBHSV in the population of hare, we performed 460 tests of samples from 215 hares using the nested RT-PCR (on cDNA) and nested PCR (on RNA) methods. The total number of EBHSV infected hares in years 2016 – 2019 was 144, which is 66.9 %. Incidence of EBHSV in the individual years ranged from 57.9 to 81.5 %. In samples collected from 16 hunting grounds out of the 39 total, all examined hares were EBHSV positive. Objective No. 3: In the process of solving the project, we developed a nested RT-PCR method suitable for detection of EBHSV in liver and blood of hares. Testing of blood allows to determine EBHSV prevalence in live hares, which is applicable in export of animals. We provide the diagnostic procedure of the new method to the State Veterinary and Food Administration of the Slovak Republic for further use. An important result of the experiment is the determined high rate of EBHS virus prevalence, which has not been known or published up till now. Fluctuation in the population recruitment of hares depends on a number of factors. Searching for dependency between the effect of health, in particular the impact of EBHSV, on hare population was impossible to solve in the framework of this project. However, the recruitments are markedly lower than in previous decades and we presume that the high incidence of EBHSV played an important role in this fact. The results of the analyses of hares’ fitness indicate that the in practice often used “blood refreshment,” in which hares are moved between locations, often without veterinary assessment, represents high risk and can contribute to increased morbidity of hares, which we will present to Slovak Hunters' Chamber as well.