

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Kateřina Brixí

Prvoci osidlující ústní dutinu člověka a domácích zvířat
Protists in oral cavity of humans and animals

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. RNDr. Jan Tachezy, Ph.D.

Praha, 2022

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 1. 5. 2022

Podpis:

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli prof. RNDr. Janu Tachezemu, Ph.D. za cenné rady a připomínky a také za trpělivost při psaní této práce.

ABSTRAKT

V ústní dutině člověka a domácích zvířat se mohou vyskytovat různé druhy prvoků, jako je *Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*, *Trichomonas gallinae*, *Trichomonas stableri*, *Trichomonas gypaetini*, *Trichomonas equibuccalis*, *Trichomonas bixi*, *Tetratrichomonas canistomae*, *Tetratrichomonas felistomae* a *Tetratrichomonas empyemagenae*. Ve většině případů jsou tyto prvoci označovány za komenzály a je jim věnována poměrně malá pozornost, protože nebývají primární příčinou závažných zdravotních potíží. Na základě shrnutí dosavadních poznatků ovšem lze usoudit, že výstižnější označení pro *Entamoeba gingivalis* a *Trichomonas tenax* je oportunní patogen, zatímco *Trichomonas gallinae* je primárním patogenem. O ostatních prvocích existuje jen velmi málo studií a poznatků o jejich patogenitě, nelze proto jednoznačně posoudit jejich význam pro hostitele. Prvoci z ústní dutiny by nicméně neměli být opomíjeni, protože v některých případech mohou u svého hostitele způsobit vážné zdravotní komplikace.

Klíčová slova: prvok, parazit, ústní dutina, *Trichomonas*, *Entamoeba*, člověk, pes, kočka, kuň

ABSTRACT

Trichomonas tenax, *Trichomonas gallinae*, *Trichomonas gypaetini*, *Trichomonas stableri*, *Trichomonas equibuccalis*, *Trichomonas bixi*, *Tetratrichomonas canistomae*, *Tetratrichomonas felistomae* and *Tetratrichomonas empyemagenae* are unicellular eukaryotes (protists) that may occur in oral cavity of humans and domestic animals. These protozoans are mostly referred as commensals and relatively low attention is paid to them, since they usually are not primary cause of serious health problems. However, based on current knowledge, it can be concluded that more appropriate term for *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* would be an opportunistic pathogen, while *Trichomonas gallinae* is a primary pathogen. There are very little studies and findings about the rest of oral protozoans and their pathogenicity, therefore it is not possible to assess their significance for a host. Nevertheless, the oral protozoans should not be neglected, as in some cases they can cause serious health complications in their host.

Keywords: protist, parasite, oral cavity, *Trichomonas*, *Entamoeba*, human, dog, cat, horse

OBSAH

1	ÚVOD.....	1
2	LITERÁRNÍ ČÁST.....	2
2.1	<i>Conosa (Amoebozoa)</i>	2
2.1.1	<i>Entamoeba gingivalis</i>	2
2.2	<i>Parabasalia (Metamonada)</i>	7
2.2.1	<i>Trichomonas tenax</i>	7
2.2.2	<i>Trichomonas gallinae</i>	12
2.2.3	<i>Trichomonas gypaetini</i>	17
2.2.4	<i>Trichomonas stableri</i>	18
2.2.5	<i>Trichomonas equibuccalis</i>	19
2.2.6	<i>Trichomonas bixi</i>	20
2.2.7	<i>Tetratrichomonas canistomae</i>	21
2.2.8	<i>Tetratrichomonas felistomae</i>	22
2.2.9	<i>Tetratrichomonas empyemagena</i>	22
3	ZÁVĚR.....	24
4	LITERATURA	25
5	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	35

1 ÚVOD

Ústní dutina různých obratlovců má vlastní specifický mikrobiom, v němž se kromě bakterií mohou vyskytovat také prvoci. Jedná se o druh *Entamoeba gingivalis* ze skupiny *Conosa* (*Amoebozoa*) a trichomonády ze skupiny *Parabasalia* (*Metamonada*), konkrétně *Trichomonas tenax*, *Trichomonas gallinae*, *Trichomonas stableri*, *Trichomonas gypaetini*, *Trichomonas equibuccalis*, *Trichomonas bixi*, *Tetratrichomonas canistomae*, *Tetratrichomonas felistomae* a *Tetratrichomonas empyemagena*.

Prvoci v ústní dutině ve většině případů nezpůsobují závažné zdravotní potíže, je jim proto věnována menší pozornost. *Trichomonas tenax* a *Entamoeba gingivalis*, které se vyskytují v ústní dutině člověka, jsou ve většině případů označovány za komenzály, na druhou stranu je často zmiňován jejich výskyt v souvislosti s onemocněními ústní dutiny, gingivitidou (zánět dásní) a periodontitidou (zánět ozubice). Kromě těchto dvou druhů se v ústní dutině, a především v dýchacím traktu člověka, může vyskytovat druh *Tetratrichomonas empyemagena*.

Trichomonas gallinae z ústní dutiny ptáků je původcem ptačí trichomonózy, která může končit i smrtí infikovaného jedince. Protože je příčinou masových úhynů zejména u pěvců, je této trichomonádě věnována zvýšená pozornost. Při výzkumu ptačích orálních trichomonád byly v roce 2014 popsány dva nové druhy *Trichomonas gypaetini* a *Trichomonas stableri*.

V ústní dutině koní se vyskytuje druh *Trichomonas equibuccalis*, který byl doposud zaznamenán pouze dvakrát.

U psů a koček byly na počátku minulého století objeveny druhy *Tetratrichomonas canistomae*, respektive *Tetratrichomonas felistomae*. V roce 2017 byl u obou těchto hostitelů objeven a popsán nový druh *Trichomonas bixi*.

Cílem této práce je shrnutí dosavadních poznatků o prvocích, kteří se vyskytují v ústní dutině člověka a zvířat, jejich rozšíření a zejména vlivu na ústní dutinu a zdravotní stav hostitele.

2 LITERÁRNÍ ČÁST

2.1 *Conosa (Amoebozoa)*

2.1.1 *Entamoeba gingivalis*

Entamoeba gingivalis je jediným zástupcem skupiny *Amoebozoa* vyskytující se v ústní dutině člověka. Tato améba byla popsána v roce 1849 pod jménem *Amoeba gengivalis* a jedná se o první amébu nalezenou u člověka (Gros, 1849). Ve starší literatuře bývá označována jako *Endamoeba gingivalis* (Smith & Barrett, 1915).

Morfologie a životní cyklus

Trofozoit je jedinou buněčnou formou *E. gingivalis*, cysty pravděpodobně netvoří. Trofozoit je 5-35 µm velká améba (Bhaijee & Bell, 2011; Bonner *et al.*, 2018; Bradbury *et al.*, 2019; Foda & El-Malky, 2012), která při pohybu vytváří eruptivní lobopodie, ale občas může tvořit i filopodie (Wantland *et al.*, 1961). Jádro je velké 3-5 µm, je kulovitého až vejčitého tvaru s hladkou vnější membránou a vnitřní membránou, na níž se váže vrstva periferního chromatinu. Uprostřed jádra se nachází nápadný karyosom (syn. endosom) (Bradbury *et al.*, 2019; Keller *et al.*, 1967; Perez-Jaffe *et al.*, 1998; Wantland *et al.*, 1961). Na mikroskopických preparátech jsou uvnitř buňky dobře viditelné potravní vakuoly se zbytky fagocytovaného materiálu, protože tato *Entamoeba* intenzivně fagocyтуje a živí se bakteriemi, popřípadě i hostitelskými buňkami (Bonner *et al.*, 2018).

V současné době se má za to, že *E. gingivalis* netvoří cysty (Clark *et al.*, 2006; Luszczak *et al.*, 2016; Mielnik-Blaszczak *et al.*, 2018; Stensvold *et al.*, 2021). Nicméně Bonner a kol. ve svém souhrnném článku uvádějí, že na začátku minulého století byly cysty v několika pracích popsány (Chiavaro 1914; Smith and Barrett 1915; Craig 1916 převzato z Bonner *et al.*, 2018) a zmiňuje se o nich i Wantland ve svých dvou pracích (Wantland *et al.*, 1961; Wantland *et al.*, 1963). K šíření však cysty nepotřebuje, může se šířit i přímo, a to kapénkovou infekcí, líbáním, slinami a přes kontaminované nádoby, přístroje a potraviny (Mielnik-Blaszczak *et al.*, 2018).

Výskyt

I přes nemalé množství studií, v nichž se autoři alespoň okrajově věnují vyhodnocení prevalence *E. gingivalis*, až do nedávna chyběl ucelený obraz o jejím výskytu v lidské populaci (Badri *et al.*, 2021). Výsledné hodnoty prevalence v různých jednotlivých pracích se pohybují ve velmi širokém rozmezí, od 15 % (Bao *et al.*, 2020) až do 95 % (Mielnik-Blaszczak *et al.*, 2018). To je pravděpodobně ovlivněno zejména vybranými vzorky vyšetřovaných osob a použitými metodami v jednotlivých studiích. Vzorek vyšetřovaných osob je buď malý (Trim *et al.*, 2011), nebo pochází pouze z malého regionu (Rosa *et al.*, 2020). V některých případech se jedná pouze o pacienty dentální

kliniky (Bonner *et al.*, 2014), u nichž se dá předpokládat, že se mezi nimi vyskytuje větší podíl jedinců s nějakou patologií ústní dutiny, což může zkreslit výsledky. Anebo se může jednat o jinak specifickou skupinu lidí, například HIV pozitivní osoby (Cembranelli *et al.*, 2013).

V roce 2020 provedli Badri a kol. (Badri *et al.*, 2021) meta-analýzu 52 studií, které se věnovaly výskytu *E. gingivalis*. Jsou mezi nimi zastoupeny země ze všech kontinentů, ovšem ne rovnoměrně. Nejvíce studií bylo provedeno na Blízkém Východě a v Evropě, co se týče jednotlivých států, nejvíce jich proběhlo v Íránu, poté v Iráku a v Brazílii a Polsku. Z výsledků této meta-analýzy vyplývá, že globální prevalence se pohybuje okolo 37 %, nejvyšší by měla být v Jordánsku (87 %) a nejnižší naopak v Portugalsku (3 %). Vyplývá z ní také, že by se prevalence měla s věkem zvyšovat a že je nezávislá na pohlaví (Badri *et al.*, 2021).

Diagnostické metody

Metodické rozdíly spočívají v odlišných postupech odebrání vzorků z různých míst ústní dutiny (Zaffino *et al.*, 2019) a ve způsobech detekce. V rámci ústní dutiny se *E. gingivalis* nejčastěji vyskytuje v zubním plaku a kameni, v zubních kazech, v mezizubních prostorech, a zejména v zubních jamkách (Bonner *et al.*, 2014; Mielnik-Blaszczak *et al.*, 2018; Trim *et al.*, 2011), přičemž nejčastěji jsou odebrány vzorky slin a zubního plaku, subgingiválního plaku a materiálu seškrábnutého z povrchu dásní (Badri *et al.*, 2021).

Přímé metody zahrnují morfologické určování pomocí světelné mikroskopie nativních preparátů, nebo fixovaných vzorků za použití různých barvicích metod, zejména barvení dle Giemsy, trichromem, pomocí hematoxylinu a eosinu či železitého hematoxylinu (Badri *et al.*, 2021). V případě améb však morfologie nemůže být použita ke spolehlivému určení druhu (Garcia *et al.*, 2018b), protože zástupci rodu *Entamoeba* nejsou morfologicky diverzifikovaní a často je nelze na základě morfologie rozlišit (Clark *et al.*, 2006). Cysty jsou u rodu *Entamoeba* hlavním identifikačním kritériem (Clark *et al.*, 2006) a jak je zmíněno výše, *E. gingivalis* cysty nevytváří a nemohou být proto použity k diagnostice.

S rozvojem molekulárních metod začal být k určování používán gen pro malou podjednotku ribozomu (18S rRNA). V roce 1995 byla navržena sonda pro *in situ* hybridizaci (Yamamoto *et al.*, 1995), o rok později byly vyzkoušeny první specifické primery pro amplifikaci fragmentu 18S rRNA pomocí PCR (Kikuta *et al.*, 1996). Od té doby byly navrženy další primery pro PCR (Bonner *et al.*, 2014; Trim *et al.*, 2011; Zaffino *et al.*, 2019), které však mohou být různě citlivé a různě specifické, takže i výsledky se mohou lišit. Rozdíl je i v citlivosti konvenční PCR a real-time PCR, jako příklad rozdílné citlivosti molekulárních metod lze uvést studii R. Trima a kol. z roku 2011, kde prostřednictvím konvenční PCR bylo odhaleno 27 % pozitivních osob, zatímco prostřednictvím real-time PCR 69 % pozitivních (Trim *et al.*, 2011). V této studii bylo jako sonda použito barvivo

SYBR Green (Trim *et al.*, 2011). V roce 2019 byly pro diagnostiku *E. gingivalis* pomocí real-time PCR navrženy dvě TaqMan sondy cílící specificky na obě varianty tohoto druhu (Zaffino *et al.*, 2019).

Patogenita

Ve všech studiích se projevuje určitý trend ve výskytu *E. gingivalis* – ve větší míře a mnohem častěji se vyskytují u lidí se špatnou ústní hygienou či s patologií ústní dutiny (Jaskoski, 1963; Luszczak *et al.*, 2016; Rosa *et al.*, 2020). Dosud ale nebyla vyjasněna otázka, zda se jedná o komenzála či parazita. Kromě výše zmíněných jedinců se může nacházet i u lidí s dobrou ústní hygienou a se zdravou a normální ústní dutinou bez patologických změn, ač o poznání méně často (Garcia *et al.*, 2018a; Jaskoski, 1963).

Není ale jasné, jaký má vliv na ústní dutinu a jakou hraje roli při vzniku periodontitidy, s níž bývá nejčastěji spojována, či jiných patologických změn. Nebylo zjištěno, že by sama *E. gingivalis* dokázala rozrušovat zdravou tkáň, ale pokud je tkáň již narušena, dokáže pronikat dovnitř. Bylo pozorováno, že pomocí pseudopodií aktivně vyhledává mezery mezi buňkami na povrchu dásní (Bao *et al.*, 2021). V tkáni, kam pronikne, následně dochází k zánětu a rozvoji anaerobního prostředí, což je velmi příhodné pro růst a množení entamoeb (Kikuta *et al.*, 1996; Luszczak *et al.*, 2016; Yamamoto *et al.*, 1995). Nachází se i v zanícených lézích okolo zubních implantátů, někdy společně s *Trichomonas tenax* (Arpag & Kaya, 2020; Bao *et al.*, 2020). Při průniku améby do již narušené tkáně dochází k zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů, zejména IL-8, který atrahuje neutrofilů. Ty však proti amébám nedokážou účinně zasáhnout, a naopak jimi dokonce mohou být fagocytovány. Navíc dochází ke zvýšení produkce TNF, který hraje roli ve zvyšování permeability těsných spojů, a ke zvýšení produkce metaloproteáz fibroblasty hostitele. Metaloproteázy spolu s produkty neutrofilů rozrušují extracelulární matrix, což usnadňuje prvokům pronikat dále do tkáně. Kromě neutrofilů mohou entamoeby pohlcovat i části hostitelských buněk, u nichž vyvolávají zvýšenou míru buněčné smrti. Byla pozorována také trogocytóza hostitelských buněk. Ta většinou probíhá tak, že se améba přichytí na buňku v oblasti blízko jádra pomocí digipodií, kterými pak proniká do cytoplasmy, jejíž část améba pohltí, pravděpodobně i s jádrem, což vede ke smrti buňky. Je tedy možné, že za zvýšenou úmrtností buněk stojí právě trogocytóza, ale není vyloučena ani možnost, že améby sekretují látky způsobující buněčnou smrt (Bao *et al.*, 2021; Bao *et al.*, 2020; Bonner *et al.*, 2018).

Otázku patogenity komplikuje genetická diverzita v rámci druhu, tento polymorfismus genu pro malou ribozomální podjednotku (18S rRNA) používaného pro identifikaci ztěžuje i možnosti správné detekce, a tedy i určení prevalence. Tato genetická variabilita byla poprvé zaznamenána pomocí riboprintingu (Clark & Diamond, 1997) a posléze i pomocí LSSP-PCR (low-stringency single specific primer PCR) (Cembranelli *et al.*, 2013) v rámci jiných studií a v obou případech se zkoumané sekvence rozdělily na dvě skupiny. Po osekvenování genu pro 18S rRNA bylo potvrzeno, že v ústní dutině lidí se skutečně vyskytují dvě blízké příbuzné varianty *E. gingivalis* se sekvenční podobností

89 %. Původní, již dříve známá sekvence byla označena jako *E. gingivalis* ST1 (subtype 1) a nově odlišená varianta jako *E. gingivalis* ST2 – kamaktli varianta (Garcia *et al.*, 2018a; Garcia *et al.*, 2018b). Autoři této studie se též zaměřili na prevalenci obou variant, a to u tří skupin vyšetřovaných lidí: u lidí se zdravou ústní dutinou, u lidí podstupujících ortodontickou léčbu a u lidí s onemocněním ozubice (periodontia), přičemž obě varianty byly zjištěny u všech tří skupin. Ko-infekce oběma variantami byla rovněž zjištěna u všech tří skupin, ale u skupiny se zdravou ústní dutinou byla frekvence o něco nižší. Co se týče samostatných infekcí, ST1 byla téměř stejně častá u skupiny s onemocněním ozubice a skupiny se zdravou ústní dutinou, zatímco u skupiny lidí podstupujících léčbu byla o něco nižší. Rozdíly ve frekvencích u jednotlivých skupin však nebyly signifikantní. Frekvence ST2 – kamaktli varianty byla nejvyšší u skupiny lidí podstupujících léčbu, dále u lidí s onemocněním ozubice a nejnižší byla u lidí se zdravou ústní dutinou, zde rozdíly byly signifikantní (Garcia *et al.*, 2018a). Zda zjištěné varianty reprezentují dva samostatné druhy, zatím nebylo vyjasněno (Garcia *et al.*, 2018a; Garcia *et al.*, 2018b).

Infekce mimo ústní dutinu

Ačkoliv přirozeným místem výskytu *E. gingivalis* je ústní dutina, jsou známy i případy infekcí mimo ústní dutinu. Odtud se může snadno dostat do plic, ale zatím bylo zjištěno jen pár případů. Jednak byla *E. gingivalis* detekována ve sputu, kromě toho byla v jednom případě zjištěna mikroskopickým vyšetřením aspirátu odebraného z plicního abscesu pacienta, avšak s entamoebou i různé druhy bakterií, zejména aktinomycety, které bývají asociovány s infekcemi *E. gingivalis* (Jian *et al.*, 2008). Společně s aktinomycetami byla *E. gingivalis* nalezena také v nekrotické kostní tkáni při osteomyelitidě horní a dolní čelisti (Bhajee & Bell, 2011; Kalmar J. *et al.*, 1996). Vzácně mohou tyto améby být nalezeny v lézích na krku a na hlavě, v jednom případě byla *E. gingivalis* nalezena v uzlině, která se vytvořila pacientce v levé horní části krku po částečné glosektomii (Perez-Jaffe *et al.*, 1998), v jiném případě byly v hnisu z mozkového abscesu zjištěny dva druhy bakterií (*Eikenella corrodens* a *Prevotella* sp.) a améboidní trofozoiti z rodu *Entamoeba*, o nichž se autoři domnívají, že se jedná právě o *E. gingivalis* (Ozum *et al.*, 2008).

E. gingivalis se může vyskytovat také v urogenitálním traktu žen, vždy společně s aktinomycetami (Clark & Diamond, 1992; DeMoraes-Ruehsen *et al.*, 1980; McNeill & Demoraesruehsen, 1978). Tyto infekce bývají dávány do souvislosti zejména s užíváním nitroděložního tělíska. Nicméně tento vztah nelze brát jako absolutní, neboť pozitivní nález mělo pouze 1 % uživatelék a v roce 2012 navíc bylo zjištěno, že tento druh se vyskytuje také u žen, které používají jiné metody antikoncepce. Ženy, v jejichž urogenitálním traktu se vyskytovaly *E. gingivalis* a aktinomycety, častěji trpěly gynekologickými obtížemi, zejména záněty a výtokem, po odstranění nitroděložního tělíska tyto obtíže a nežádoucí mikroorganismy zmizely (Bradbury *et al.*, 2019; Clark & Diamond, 1992; DeMoraes-Ruehsen *et al.*, 1980; Foda & El-Malky, 2012). Bylo prokázáno, že u většiny žen

s pozitivním nálezem v urogenitálním traktu je *E. gingivalis* přítomna i v ústní dutině (Foda & El-Malky, 2012). Recentně byl zaznamenán případ uživatelky nitroděložního tělíska, u níž byla v cerviko-vaginálním stěru kromě aktinomycet a *E. gingivalis* zjištěna i *Entamoeba polecki*, která se jinak vyskytuje v trávicí soustavě prasat (Bradbury *et al.*, 2019).

E. gingivalis pravděpodobně není primárním patogenem, protože sama nedokáže pronikat do nepoškozené tkáně dásní a všechny případy infekce mimo ústní dutinu byly spojeny s přítomností bakterií či předchozím lékařským zákrokem, v jehož důsledku došlo k narušení integrity tkání či imunity. Tuto entamoebu tedy nelze označit za neškodného komenzála, výstižnější označení je oportunní patogen. Proto by neměla být opomíjena, protože má schopnost dále rozkládat již narušené tkáně a její přítomnost v ústní dutině s patologickými změnami může vést ke zhoršení stavu, nebo může v kombinaci s bakteriemi způsobit závažné komplikace při infekci jiných částí těla.

Léčba

Vzhledem k tomu, že je *E. gingivalis* často označována za komenzála, je věnována velmi malá pozornost vývoji účinných látek k léčbě její infekce, většina nových látek proti amébám je cílena na *Entamoeba histolytica*. *E. gingivalis* byla cílem pouze jedné studie, kde byly *in vitro* testovány účinky nanočástic kurkuminu a jeho výsledky byly srovnatelné s metronidazolem, který lze také použít pro eliminaci této améby (Ramesh *et al.*, 2021). Metronidazol je první volbou v případě protozoálních nákaz (Ansari *et al.*, 2020), eventuálně mohou být užity jemu příbuzné látky jako tinidazol, secnidazol a ornidazol (Darde *et al.*, 2018). K léčbě amébiáz mohou být použity paromomycin či jodochinol (Jian *et al.*, 2008). Výše zmíněný plicní absces, v němž byly nalezeny trofozoiti *E. gingivalis*, zmizel po šesti týdnech léčby klindamycinem a penicilinem (Jian *et al.*, 2008).

Entamoeba sp. v ústní dutině zvířat

Entamoeba se mohou vyskytovat také v ústní dutině různých zvířecích druhů. Entamoeba určená jako *E. gingivalis* byla zjištěna u několika druhů primátů (Levine, 1961; Rousset *et al.*, 1970). Améba z ústní dutiny prasat byla označena jako *Entamoeba suigingivalis* (Levine, 1961). Simitch (1939) našel amébu v ústní dutině 16 koní z 22 a 3 oslů ze 4 vyšetřovaných (Simitch, 1939). V několika případech byly zjištěny améby v ústní dutině psů. Simitch (1938), který tyto psí améby označuje jako samostatný druh *Entamoeba canibuccalis*, zaznamenal 3 infikované psy ze 165 vyšetřovaných (Simitch, 1938). Rousset (1970) našel amébu, určenou jako *E. gingivalis*, u 7 psů ze 100 (Rousset *et al.*, 1970). V Patelově studii bylo 4,34 % psů pozitivních na *Entamoeba* sp. bez bližšího určení druhu (Patel *et al.*, 2017). Není jasné, zda entamoeba nalezené v ústních dutinách zvířat, jsou samostatnými druhy, či se jedná o *E. gingivalis*.

2.2 *Parabasalia (Metamonada)*

2.2.1 *Trichomonas tenax*

Trichomonas tenax se vyskytuje zejména v ústní dutině člověka, může se však nacházet i v ústní dutině domácích zvířat (Dybicz *et al.*, 2018). Jde o první trichomonádu nalezenou u člověka, poprvé byla pozorována v roce 1773 Müllerem, který ji pojmenoval *Cercaria tenax* (Müller, 1773). Ve starší literatuře může být nalezena také pod názvy *Trichomonas buccalis* či *Trichomonas elongata* (Levine, 1961).

Morfologie

Trofozoiti jsou oválného až hruškovitého tvaru, o velikosti 7-10 μm x 5-6 μm . K pohybu používají čtyři přední volné bičíky a jeden zpětný bičík, který je asociovaný s undulující membránou a nemá volný konec. Undulující membrána a costa, která ji podkládá, jsou kratší než délka těla. V přední části buňky se nachází oválné či vejčité jádro, jehož rozměry jsou 1,5-3,3 μm x 1-2,5 μm . Dorsálně od jádra se nachází parabazální aparát, který je tyčovitěho tvaru, nebo tvaru písmene V. Jádro je obklopeno rozšířenou částí axostylu, tzv. capitulum, a v anteriorní části na axostyl navazuje pelta. Kmen axostylu je tenký a pokračuje směrem k zadní části, kde vybíhá z buňky terminální segment o průměrné délce 3,2 μm (Brooks & Schuster, 1984; Honigberg & Lee, 1959). Na snímcích z transmisního elektronového mikroskopu jsou v cytoplasmě viditelné elektrodensní hydrogenosomy (anaerobní typ mitochondrií (Müller *et al.*, 2012)) a četné potravní vakuoly, protože tato trichomonáda fagocytuje bakterie a popřípadě i buňky hostitele (Brooks & Schuster, 1984; Ribeiro *et al.*, 2015).

T. tenax může vytvářet améboidní formu umožňující přichycení na tkáň hostitele a fagocytózu bakterií a hostitelských buněk (Brooks & Schuster, 1984; Ribeiro *et al.*, 2015). Byla pozorována i pseudocysta, kterou trichomonády tvoří převážně za stresových podmínek (Ribeiro *et al.*, 2015). Jedná se o kulovitou nepohyblivou formu s internalizovanými bičíky, která nemá vytvořenou buněčnou stěnu (Pereira-Neves *et al.*, 2003).

Výskyt

Mezi hostiteli se *T. tenax* přenáší prostřednictvím infikovaných slin, jimi kontaminovaného nádobí, líbáním a kapénkovou infekcí (Hersh, 1985).

Výsledky studií zabývajících se prevalencí *T. tenax* jsou velmi různorodé, u lidí se zánětem v ústní dutině se prevalence *T. tenax* pohybuje v rozmezí 0–94 % (Marty *et al.*, 2017). Tyto rozdíly mohou být způsobeny zejména odlišnými metodami odběru a zpracování vzorků a identifikace trichomonád (Marty *et al.*, 2017).

Z meta-analýzy z roku 2020 vyplývá, že globální prevalence *T. tenax* činí 17 %. Ze všech států byla nejvyšší v Chile (56 %) a naopak nejnižší byla v Keni (3 %). V případě obou zemí je toto číslo výsledkem vždy jedné studie. Nejvíce prací v jednom státě bylo provedeno v Polsku (11), poté v Íránu (8) a Iráku (7). Na škále kontinentů je výskyt *T. tenax* nejvyšší v Jižní Americe (23 %) a nejnižší v Severní Americe (13 %), kde však bylo provedeno nejméně studií. Nejvíce studií je z Evropy (24) a z Asie (21) (Eslahi *et al.*, 2021).

Podle této meta-analýzy pohlaví hostitele nekoreluje s výskytem *T. tenax* v jeho ústní dutině. Výskyt je ale patrně ovlivněn věkem, jedinci starší 45 let jsou infikováni častěji. Ve všech studiích byla pozorována korelace mezi výskytem *T. tenax* a stavem ústní dutiny (Eslahi *et al.*, 2021; Marty *et al.*, 2017).

Ve studii z roku 2019, která se zabývá prevalencí *T. tenax*, se sekvenováním a porovnáním sedmi genů ukázalo, že odebrané trichomonády tvoří v rámci druhu *T. tenax* tři skupiny, přičemž ve dvou z nich byly výrazně častěji přítomny kmeny izolované od pacientů s periodontitidou. Zdá se tedy, že s patologiemi ústní dutiny jsou asociované specifické klony *T. tenax* (Benabdelkader *et al.*, 2019).

Diagnostické metody

Nejrozšířenější diagnostickou metodou je morfologické určení na základě mikroskopie nativních preparátů, nebo fixovaných preparátů barvených dle Giemsy, trichromem nebo methylenovou modří (Eslahi *et al.*, 2021). Pokud se trichomonády vyskytují v améboidní formě, kdy nejsou dost dobře patrné všechny vnitřní struktury, může být identifikace poněkud ztížena (Bellanger *et al.*, 2008). Přesto jsou tyto přímé metody široce rozšířené, protože jsou jednoduše proveditelné a postačují pro nasazení správné léčby (Marty *et al.*, 2017). K detekci přítomnosti *T. tenax* může být použita také metoda *in vitro* kultivace (Marty *et al.*, 2017). Při nízkých počtech trofozoitů ale nemusí být přímé i kultivační metody dostatečně citlivé (Mallat *et al.*, 2004; Marty *et al.*, 2017).

Molekulární diagnostika je méně rozšířená, z 65 studií zahrnutých v meta-analýze z roku 2020 jich pouze 10 zjišťovalo prevalenci *T. tenax* pomocí molekulárních metod (Eslahi *et al.*, 2021; Marty *et al.*, 2017). Jako cíl pro amplifikaci fragmentu pomocí PCR jsou nejčastěji používány gen pro malou podjednotku ribozomu (18S rRNA) (Kikuta *et al.*, 1997) a sekvence ITS1-5,8S rRNA-ITS2 (ITS, internal transcribed spacer) (Felleisen, 1997).

Patogenita

Výskyt *T. tenax* výrazně koreluje se stavem ústní dutiny. Tato trichomonáda byla nalezena i u osob se zdravou ústní dutinou a dobrou úrovní ústní hygieny, mnohem častěji se ale objevuje u osob se špatnou ústní hygienou a patologií ústní dutiny (Benabdelkader *et al.*, 2019; Eslahi *et al.*, 2021; Hersh, 1985; Marty *et al.*, 2017). To pravděpodobně souvisí se závažností onemocnění a zánětu. U pacientů

s gingivitidou se sice nalézají také, ale její prevalence je u nich nižší než u pacientů s periodontitidou. V případě zánětu ozubice pak výskyt pozitivně koreluje se stupněm rozvoje nemoci (Benabdelkader *et al.*, 2019; Marty *et al.*, 2017; Yaseen *et al.*, 2021). *T. tenax* lze nalézt v plaku, zubním kameni a kazech (Shiota *et al.*, 1998), zejména ale v zanícených a zhnisaných místech a zubních jamkách, kde vzniká mikroaerofilní prostředí, které je velmi příznivé pro její množení a přežívání (Duboucher *et al.*, 2000; Marty *et al.*, 2017).

Nelze jednoznačně určit, zda je *T. tenax* příčinou či důsledkem onemocnění dásní. Často je označována za komenzála, který se živí bakteriemi (Lewis *et al.*, 2003) a ústní dutinu nijak neovlivňuje. V roce 2015 byla provedena studie, která se zaměřila právě na toto téma. Pro testování cytotoxicity byli trofozoiti *T. tenax* kultivováni s několika typy buněčných kultur: s monovrstvou MDCK (Madin-Darby canine kidney) epiteliálních buněk, s monovrstvou HeLa buněk a se sféroidy vytvořenými z fibroblastů a epiteliálních buněk dásní. Ukázalo se, že trofozoiti v améboidní formě rychle adherují ke všem typům buněk (Ribeiro *et al.*, 2015). K přichycování na buňky používá *T. tenax* protein příbuzný fibronektinu, který se nachází na plasmatické membráně a axostylu (Ribaux *et al.*, 1983). Po přichycení buňky poškozuje. V kulturách s monovrstvami buněk bylo pozorováno, že dochází ke zvětšování mezibuněčných prostor a tím k rozrušování monovrstvy. Trichomonády následně tvořily shluky okolo zbývajících buněk, které byly po 24 hodinách kultivace všechny zničeny. V případě sféroidů byla situace velmi podobná, trichomonády dokázaly efektivně narušovat jejich povrch a pronikat dále dovnitř tím, že rozšiřovaly mezibuněčné prostory. Bylo pozorováno, že po přichycení trichomonád docházelo k pohlcování částí hostitelských buněk, které pak měly snížený počet mikrokvlů a následně docházelo k „blebbing“ a tvorbě apoptotických tělísek. V potravních vakuolách trichomonád pak byly viditelné zbytky buněk (Ribeiro *et al.*, 2015).

Bóznér a Demeš se na počátku 90. let věnovali otázce, zda *T. tenax* má proteolytickou aktivitu, podobně jako je tomu u trichomonád v urogenitálním a trávicím traktu. Podařilo se jim prokázat, že zdrojem proteolytické aktivity je několik druhů cysteinových proteáz (Boznér & Demes, 1991a) a mezi nimi i enzymy štěpící kolagen typu I, III, IV a V (Boznér & Demes, 1991b). Později se ukázalo, že kmen, na kterém byly tyto studie prováděny, patří do druhu z rodu *Tetratrichomonas*. Vlastnosti přisuzované ve studiích Bóznéra a Demeše *T. tenax* se tak vztahují k jinému druhu (Kutisova *et al.*, 2005). Nicméně Yamamoto a kol. (2000), Nagao a kol. (2000) a El Sibaei a kol. (2012), kteří se zabývali stejnou tematikou, prováděli experimenty na jiných kmenech a nezávisle došli k podobným výsledkům jako Bóznér a Demeš.

El Sibaei a kol. (2012) zjistili, že *T. tenax* produkuje 19 druhů cysteinových proteáz, z toho 7 proteáz bylo společných u všech odebraných kmenů (El Sibaei *et al.*, 2012). Pomocí těchto proteáz, jmenovitě enzymem příbuzným katepsinu B, dokáže štěpit kolagen (Yamamoto *et al.*, 2000). Kromě toho produkuje také dva typy hemolysinů. Jeden je proteinové povahy, je sekretovaný ven z buňky

a pravděpodobně se jedná o cysteinovou proteázu. Druhý je lipidové povahy a pravděpodobně je vázaný na buněčné struktury (Nagao *et al.*, 2000). *T. tenax* tak nemusí narušovat tkáň pouze pohlcováním a zabíjením buněk, ale i degradací extracelulární matrix.

Govro a Stuart se v roce 2016 testovaly, zda *T. tenax* vyvolává produkci prozánětlivých cytokinů, stejně jako tomu je v případě odpovědi na infekci *Trichomonas vaginalis* u lidí či *Tritrichomonas foetus* u skotu. Ukázalo se, že nezávisle na poměru trofozoitů a makrofágů, kteří byli pro tento experiment použiti, a délce společné inkubace, *T. tenax* nedokáže vyvolat zvýšenou tvorbu cytokinů. Pouze u jedné varianty byla pozorována statisticky významně vyšší hladina IL-8 než u negativní kontroly. Vyvolávání zánětlivé imunitní odpovědi tak zřejmě není jedním z patogenních mechanismů *T. tenax* (Govro & Stuart, 2016).

Infekce mimo ústní dutinu

Kromě ústní dutiny se *T. tenax* může dostávat i dále do těla. V jednom případě byla *T. tenax* zjištěna v infra-aurikulární uzlině společně s *Mycobacterium tuberculosis*. Druh trichomonád byl určen na základě morfologické podobnosti s trichomonádami nalezenými v ústní dutině. Zde trichomonády pravděpodobně pronikly do sliznice a následně do lymfatických cév, odkud byly lymfou zaneseny do uzliny (Duboucher *et al.*, 2000).

V hnisu ze subhepatického abscesu byly společně s pěti druhy bakterií nalezeni bičíkatí prvoci, kteří byli na základě morfologie určeni jako *Trichomonas tenax*. Popis uvedený v článku však zmiňuje volný konec zpětného bičíku za undulující membránou (Jakobsen *et al.*, 1987), což se neshoduje s obecným popisem rodu *Trichomonas*, pro který je typické právě naopak to, že zadní bičík nemá volný konec (Kutisova *et al.*, 2005). Vystavají tak pochybnosti, zda šlo skutečně o rod *Trichomonas*, je více pravděpodobné, že se jednalo o *Pentatrichomonas hominis* vyskytující se v trávicím traktu člověka a dalších savců (Crucitti *et al.*, 2004).

Trichomonády se mohou vyskytovat i v mléčné žláze žen s fibrocystickou mastopatií. K infekci patrně dochází přenosem z ústní dutiny na bradavku, odkud se skrz ductus mohou trichomonády dostat dále do žlázy. Je možné, že právě trichomonády jsou jednou z příčin histologických změn typických pro fibrocystickou mastopatii (Krvavac, 1998).

V jednom případě byli trofozoiti, dle morfologie určeni jako *T. tenax*, nalezeni v podčelistní slinné žláze, kam se patrně dostali z ústní dutiny přes Whartonův vývod. Tento případ se od ostatních liší tím, že infekce nebyla spojena s výskytem bakterií ani žádnou patologickou změnou slinné žlázy (Duboucher *et al.*, 1995).

V souvislosti s výskytem *T. tenax* mimo ústní dutinu jsou nejčastěji zmiňovány infekce dýchacího traktu, kam se trichomonády velmi snadno mohou dostat aspirací (Maritz *et al.*, 2014). Poprvé byly

trichomonády v plicích zaznamenány v roce 1867 (Hersh, 1985). U pacientů mohou způsobovat plicní empyém (pyothorax) (Hersh, 1985; Lewis *et al.*, 2003; Shiota *et al.*, 1998), ale mohou být příčinou také plicní eozinofilie (ElKamel *et al.*, 1996), zánětu poplicnice (Leterrier *et al.*, 2012) či (pyo)pneumothoraxu (Bellanger *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2021). Plicní trichomonázy se převážně vyskytují u imunosuprimovaných jedinců, pacientů s nádory (Lewis *et al.*, 2003; Shiota *et al.*, 1998), lidí majících chronické plicní onemocnění (ElKamel *et al.*, 1996), u lidí podstupujících léčbu či zotavujících se po operaci (Bellanger *et al.*, 2008) a u lidí s různými kombinacemi těchto faktorů (Leterrier *et al.*, 2012; Lewis *et al.*, 2003; Mallat *et al.*, 2004). V 60 % případů se trichomonády v plicích nacházejí jako přidružená infekce u zápalu plic způsobeného *Pneumocystis jirovecii*. Až ve 30 % případů se vyskytují u lidí se syndromem akutní dechové tísně (ARDS) (Duboucher *et al.*, 2008).

Pleuropulmonární infekce jsou zjišťovány rozbořem sputa, výplachu průdušek a pleurální tekutiny odebrané z místa empyému (Hersh, 1985). Ve většině případů byly ve vzorcích pozitivních na trichomonády nalezeny také bakterie jednoho či více různých druhů (Bellanger *et al.*, 2008; Hersh, 1985; Lewis *et al.*, 2003; Mallat *et al.*, 2004; Shiota *et al.*, 1998), popřípadě se trichomonády mohou vyskytovat společně s *Pneumocystis jirovecii* (Duboucher *et al.*, 2008). V Číně byla zaznamenán případ 16letého chlapce u nějž byl oboustranný zápal plic a pyopneumothorax způsoben *T. tenax* v kombinaci s *Geotrichum capitatum* (*Sacharomycetes*) (Wu *et al.*, 2021). Infekce dýchacího traktu trichomonádami je tak pravděpodobně sekundární k infekci jinými mikroorganismy. Ty v plicích vytvářejí hypoxické prostředí příhodné pro trichomonády, které jsou mikroaerofilními organismy (Duboucher *et al.*, 2008; Maritz *et al.*, 2014). Trichomonády se navíc mohou živit bakteriemi přítomnými v plicích (Lewis *et al.*, 2003).

Přestože *T. tenax* sama nejspíš nedokáže vyvolat plicní onemocnění, měly by infekce dýchacího traktu touto trichomonádou i tak být považovány za rizikové, zejména u výše zmíněných skupin pacientů, protože přítomnost trichomonád v dýchacím traktu může závažným způsobem zkomplikovat léčbu (Lewis *et al.*, 2003). Nestačí nasadit samotná antibiotika, která eliminují primární bakteriální infekci, k úspěšnému vyléčení vede jejich kombinace s metronidazolem (Bellanger *et al.*, 2008; ElKamel *et al.*, 1996; Wu *et al.*, 2021).

Léčba

Léčbě infekce *T. tenax* je věnována pouze malá pozornost, většina prací se zaměřuje na léčbu *T. vaginalis* a *T. foetus*. V případě potřeby je k léčbě *T. tenax* použit metronidazol, popřípadě další látky odvozené od 5-nitroimidazolu, např. tinidazol, které se používají k léčbě ostatních trichomonád (Friedman *et al.*, 2020; Gehl *et al.*, 2021). Tyto látky bývají nasazovány jak v případě výskytu *T. tenax* v ústní dutině (Zvetkova A *et al.*, 1988), tak v případě mimoorální infekce (Bellanger *et al.*, 2008; Duboucher *et al.*, 2000; ElKamel *et al.*, 1996; Hersh, 1985; Jakobsen *et al.*, 1987; Lewis *et al.*, 2003;

Wu *et al.*, 2021). V současné době je zmiňován problém rostoucí rezistence vůči metronidazolu u *T. vaginalis* a *T. foetus*, jsou proto hledány látky, které by mohly metronidazol nahradit (Friedman *et al.*, 2020; Gehl *et al.*, 2021). Teoreticky by tato nová léčiva mohla být použita i pro léčbu infekce *T. tenax*.

Na *T. tenax* je zaměřena pouze jedna studie, kde autoři zkoumali *in vitro* efekt ethanolového extraktu slupky granátového jablka (*Punica granatum*) na růst a pohyblivost trofozoitů *T. tenax*. Dle výsledků dokáže tento extrakt inhibovat trofozoity *T. tenax* a autoři studie navrhuji, že by mohl být použit jako antiparazitikum při orálních infekcích *T. tenax* (El-Sherbini & Shoukry, 2012). Nicméně vyvstává otázka, zda jsou skutečně účinné látky obsažené ve slupce, či vysoce koncentrovaný ethanol použitý k přípravě extraktu.

Infekce v ústní dutině zvířat

T. tenax byla považována za hostitelsky specifického parazita, nicméně se ukázalo, že se nešíří jen mezi lidmi, ale může se přenášet i na zvířata (Maritz *et al.*, 2014). V roce 2000 byla pomocí molekulárních metod prokázána přítomnost *T. tenax* v ústní dutině kočky a psa (Cielecka *et al.*, 2000). V roce 2016 byla *T. tenax* shledána jako druhá nejčastější trichomonáda přítomná v ústní dutině psů a koček na území České republiky (Kellerova & Tachezy, 2017). Byl zaznamenán případ feny, u níž byla *T. tenax* původcem cysty v čelistní slinné žláze. Jednalo se ovšem o staré zvíře, které dlouhodobě trpělo problémy s ústní dutinou a pokročilou periodontitidou (Szczepaniak *et al.*, 2016). V Polsku byla tato trichomonáda zjištěna u 4,93 % psů a 5,26 % koček a u jednoho koně ze 102 vyšetřovaných koní. Ze sedmi pozitivních psů tři měli majitele, u nichž byla rovněž potvrzena *T. tenax*. U všech pozitivních psů se vyskytoval v ústní dutině zubní kámen nebo zánět nebo obojí. Zubní kámen se vyskytoval i u dvou ze tří pozitivních koček. Jedna pozitivní kočka a jediný pozitivní kůň byli zdraví a mladí (Dybicz *et al.*, 2018). Výskyt *T. tenax* u domácích zvířat tak patrně souvisí se zhoršeným stavem ústní dutiny, stejně jako u lidí.

2.2.2 *Trichomonas gallinae*

Trichomonas gallinae se vyskytuje v ústní dutině ptáků. Tuto trichomonádu u ptáků poprvé pozoroval Rivolta v roce 1878, který prvoky získané z horní části trávicího traktu nazval *Cercomonas gallinae* a prvoky získané z jater nazval *Cercomonas hepaticum* (Rivolta, 1878). Později bylo zjištěno, že se jedná o stejný druh patřící do rodu *Trichomonas*. Ve starší literatuře lze najít *T. gallinae* také pod názvy *Trichomonas columbae*, *Trichomonas diversa*, *Trichomonas halli* (Levine, 1961; Stabler, 1954).

Od roku 2005 je *T. gallinae* věnována zvýšená pozornost v souvislosti s masivními úhyny, které způsobuje zejména u pěvců (Pennycott *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2010). Zavlečení tohoto patogenu do naivní populace může vést ke zvýšené mortalitě a morbiditě, což může zásadně ovlivnit

volně žijící ptačí populace a představovat tak riziko především pro ohrožené druhy (Bunbury *et al.*, 2007; Daszak *et al.*, 2000; Quillfeldt *et al.*, 2018).

Morfologie

Trofozoiti jsou hruškovitého či vejčitého tvaru, velcí 7–11 μm . Z přední části buňky vycházejí čtyři přední, nesterilně dlouhé volné bičíky, které měří 11–13 μm . Jeden zpětný bičík je asociovaný s undulující membránou, která sahá do dvou třetin až tří čtvrtin délky těla a je podložena costou. Zpětný bičík nemá volný konec. Jádru umístěné poblíž bazálních tělísek bičíků je velké 2,5–3 μm a je kryto capitulem axostylu. Na capitulum navazuje poloměsíčitá pelta, která kryje basální tělíska bičíků. Terminální segment axostylu vyčníhající z těla buňky svou délkou odpovídá třetině délky těla. V cytoplasmě jsou pod elektronovým mikroskopem viditelná četná glykogenová granula a hydrogenosomy (BonDurant & Honigberg, 1994; Mehlhorn *et al.*, 2009; Tasca & De Carli, 2003). Kromě trofozoitů může *T. gallinae* vytvářet i kulovitou pseudocystu (Tasca & De Carli, 2003).

Diagnostické metody

Přímé metody spočívají v mikroskopickém vyšetření preparátů získaných výtěrem z ústní dutiny. Může se jednat buď o nativní preparáty či preparáty fixované a barvené dle Giemsy, dle Papanicolaoua, stříbrem, železitým hematoxylinem, methylenovou modří, akridinovou oranží či malachitovou zelení. Tyto metody jsou ovšem poměrně málo citlivé, zejména v případech, kdy jsou počty trichomonády v tkáni hostitele nízké. I při nízkých počtech trofozoitů je dostatečně citlivá kultivační metoda (Amin *et al.*, 2014). Při nesprávné teplotě a dlouhodobé kultivaci může dojít ke ztrátě virulence a patogenicity (Stabler *et al.*, 1964).

Z molekulárních metod je používána zejména amplifikace fragmentu pomocí PCR. Pro konvenční PCR jsou používány sekvence ITS1-5,8S rRNA-ITS2 (Felleisen, 1997), gen pro malou podjednotku ribozomu (18S rRNA) (Cepicka *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2010) a gen pro hydrogenosomální Fe-hydrogenázu (Lawson *et al.*, 2011). V roce 2020 byly navrženy a vyzkoušeny primery pro amplifikaci fragmentu 18S rRNA pomocí real-time PCR, které používá barvivo SYBR Green jako sondu (Renteria-Solis *et al.*, 2020). Pro fylogenetické analýzy bývá také používán gen pro α -tubulin a gen pro velkou podjednotku RNA polymerázy II (Rpb1) (Edgcomb *et al.*, 2001; Malik *et al.*, 2011).

Diverzita

U trichomonád izolovaných z ústní dutiny ptáků se vyskytuje celá řada genotypů dle sekvencí ITS1-5,8S rRNA-ITS2 a genů pro 18S rRNA a Fe-hydrogenázu (Gerhold *et al.*, 2008; Grabensteiner *et al.*, 2010; Martinez-Herrero *et al.*, 2014; Quillfeldt *et al.*, 2018; Sansano-Maestre *et al.*, 2016). Tyto genotypy se mohou vzájemně lišit hostitelskou specifitou a virulencí (Martinez-Herrero *et al.*, 2021; Martinez-Herrero *et al.*, 2014). U jednoho ptáka může být nalezeno i více genotypů (Grabensteiner *et al.*, 2010; Zimre-Grabensteiner *et al.*, 2011).

Na základě fylogenetických analýz výše zmíněných sekvencí byla zjištěna vysoká diverzita v rámci druhu *T. gallinae*. Kromě toho bylo také prokázáno, že některé genotypy nenáleží k *T. gallinae*, ale jsou tomuto druhu pouze příbuzné a některé skupiny genotypů jsou blíže příbuzné *T. tenax*, *T. bixi*, *T. vaginalis* nebo rodu *Tetratrichomonas* než *T. gallinae*. V ústní dutině ptáků se tak pravděpodobně vyskytuje celá řada dosud nepopsaných druhů trichomonád (Anderson *et al.*, 2009; Gerhold *et al.*, 2008; Grabensteiner *et al.*, 2010; Martinez-Herrero *et al.*, 2017; Martinez-Herrero *et al.*, 2014; Quillfeldt *et al.*, 2018). Ze skupiny příbuzné *T. vaginalis* byly jako samostatné druhy doposud popsány *Trichomonas stableri* a *Trichomonas gypaetini* (Girard *et al.*, 2014a; Martinez-Diaz *et al.*, 2015).

Výskyt

T. gallinae je rozšířena celosvětově (Gerhold *et al.*, 2008). Původními hostiteli této trichomonády jsou měkkozobí (*Columbiformes*) (Stabler, 1947). Často se tato trichomonáda vyskytuje u dravců (*Accipitriformes*) (Martinez-Herrero *et al.*, 2021; Martinez-Herrero *et al.*, 2014; Merling de Chapa *et al.*, 2021; Quillfeldt *et al.*, 2018), sokolů (*Falconiformes*) (Samour & Naldo, 2003), sov (*Strigiformes*) (Niedringhaus *et al.*, 2019) a v posledních dvou dekáдах i u pěvců (*Passeriformes*) (Anderson *et al.*, 2009; Chavatte *et al.*, 2019; Chi *et al.*, 2013; Lawson *et al.*, 2011; Martinez-Herrero *et al.*, 2014; Robinson *et al.*, 2010). *T. gallinae* byla zjištěna také u hrabavých (*Galliformes*) (Stabler, 1954), papoušků (*Psittaciformes*) (McKeon *et al.*, 1997; Park, 2011), krátkokřídých (*Gruiformes*) (Silvanose *et al.*, 1998) a šplhavců (*Piciformes*) (Ecco *et al.*, 2012).

Prevalence *T. gallinae* se liší mezi infikovanými druhy i v rámci druhu v různých částech světa (Bunbury *et al.*, 2007; Sansano-Maestre *et al.*, 2009).

T. gallinae se horizontálně a interspecificky šíří prostřednictvím kontaminované vody a potravy, poskytované zejména člověkem na krmítkách. Bylo prokázáno, že pokud je voda znečištěná organickým materiálem, mohou v ní trofozoiti přežívat 16–18 hodin (Purple & Gerhold, 2015). Organický materiál pravděpodobně poskytuje trichomonádám zdroj živin a jeho přítomnost vede ke snížení koncentrace kyslíku rozpuštěného ve vodě, což napomáhá k delšímu přežívání *T. gallinae*, protože se jedná o mikraerofilního prvoka. Ve vodě s uměle sníženým obsahem kyslíku trofozoiti přežívají až 30 hodin (Gerhold *et al.*, 2013; Purple *et al.*, 2019; Purple *et al.*, 2015). Ve vlhké potravě trofozoiti přežívají okolo 24 hodin, pokud se jedná o krmnou směs, která obsahuje jemný organický materiál, mohou trofozoiti přežívat až 48 hodin (McBurney *et al.*, 2017).

U měkkozobých se navíc trichomonády mohou mezi dospělci přenášet během námluv a z rodičů na potomky při krmení tzv. holubím mlékem (Stabler, 1947; Stabler, 1954). Draví ptáci se nejčastěji nakazí pozřením infikované kořisti. U jestřábů Cooperových (*Accipiter cooperi*) bylo pozorováno, že mláďata párů hnízdících v městském prostředí jsou častěji nakažena *T. gallinae* než mláďata

z mimoměstských oblastí, pravděpodobně proto, že u městských dravců tvoří měkkozobí větší procento kořisti (Boal *et al.*, 1998).

Patogenita

Infekce *T. gallinae* může být zcela asymptomatická, či způsobit ptačí trichomonózu. Závažnost onemocnění závisí na virulenci konkrétního genotypu *T. gallinae* (Martinez-Herrero *et al.*, 2021).

Trichomonóza postihuje horní část trávicího traktu, zejména ústní dutinu, hltan, vole a jícen (Stabler, 1954). Zpočátku se projevuje zánětem sliznice a malými nažloutlými lézemi, kde dochází k odlupování epitelu a otoku submukózy. Postupně dochází k rozšiřování lézí, objevuje se nejprve hnisavý později i krvavý exsudát, páchnoucí výtok z ústní dutiny a nozder. Léze se dále zvětšují a spojují, dochází ke vzniku rozsáhlých oblastí kaseózních nekróz. Ty mají za následek sníženou průchodnost jícnu, či jeho úplné zablokování. Infikovaní ptáci nemohou polykat potravu, nemohou zavřít zobák, objevuje se u nich mohutné slinění. Dochází k úbytku tělesného tuku a dehydrataci, ptáci jsou slabí a apatičtí, nakonec umírají vyhladověním (Narcisi *et al.*, 1991; Stabler, 1941; Stabler, 1947).

V závislosti na virulenci konkrétního genotypu *T. gallinae* se infekce z horní části trávicího traktu může šířit dále do těla. Společně s tím dochází k ucupávání cév postižených orgánů a hromadění leukocytů okolo nich. Infekce se šíří nejprve do plic a do jater. Zpočátku jsou na játrech patrné pouze malé žlutavé nekrotické léze, které se postupně rozšiřují a spojují. Probíhá tuková degenerace hepatocytů, posléze vznikají kaseózní nekrózy, které mohou postihnout celá játra. V průběhu rozvoje onemocnění se v plicích a průduškách hromadí hnisavý a následně krvavý exsudát, někdy vznikají i kaseózní léze. Během rozvoje onemocnění je možné pozorovat degenerativní změny ledvin a pohlavních orgánů. Z povrchu jater se léze mohou šířit také do slinivky břišní a na povrch žláznatého žaludku, tenkého střeva, plic a vzdušných vaků, substernálních membrán a perikardu, následkem čehož mohou vznikat kaseózní nekrózy myokardu. Infikované mohou být také hlavové siny, očnice a mozek (Narcisi *et al.*, 1991; Stabler, 1947; Stabler, 1954; Stabler & Engley, 1946). Trofozoiti jsou po těle roznášeni patrně krví, kde bývají nalezeni, nebo se šíří přímo kontaktem s nakaženým místem. Bylo prokázáno, že se mohou po těle rozšířit bez proniknutí do lumen trávicího traktu a žlučovodu (Jaquette, 1950; Stabler, 1954; Stabler & Engley, 1946).

Při kultivaci trofozoitů *T. gallinae* s monovrstvami buněk linie kuřecího hepatomu LMH (leghorn male hepatoma) a buněk linie křepelčího fibrosarkomu QT35 (quail tumor) bylo pozorováno, že po přichycení na vrstvu buněk docházelo k intenzivní proliferaci trofozoitů a jejich shlukování. V místech shluků trofozoitů byly buňky narušeny nejdříve, po delší době kultivace začaly v monovrstvě vznikat díry, na jejichž okraji se trofozoiti shromažďovali. Pokud došlo k úplnému rozkladu vrstvy, trofozoiti se následně soustřeďovali okolo jednotlivých uvolněných buněk v supernatantu. Kultivace s filtráty z axenické kultury *T. gallinae* a z již infikovaných buněčných

kultur měla na vrstvy LMH a QT35 buněk stejné dopady jako jejich kultivace s trofozoity. Cytotoxicita *T. gallinae* tak není dána pouze přímým kontaktem s tkání, ale i působením látek sekretovaných trofozoity. (Amin *et al.*, 2012a).

Na rozrušování tkání se podílí celá řada proteolytických enzymů, mezi nimi cysteinové proteázy příbuzné katepsinu L a metaloproteáza příbuzná peptidáze T, které jsou přítomné ve vyšším množství u méně virulentních kmenů, a cysteinové proteázy příbuzné kalpainu a serinové proteázy příbuzné subtilisinu, které se více vyskytují u virulentnějších kmenů (Amin *et al.*, 2012b; Martinez-Herrero *et al.*, 2019a). Potenciálními virulenčními faktory mohou být také proteázy a jiné molekuly hrající roli v adhezi trofozoitů na hostitelské buňky. Mezi ně patří proteiny podobné imunodominantnímu variabilnímu povrchovému antigenu (immuno-dominant variable surface antigen-like protein), metaloproteáze GP63 a β -kateninu a malátdehydrogenáza (Martinez-Herrero *et al.*, 2019a).

Dalšími enzymy, které se mohou podílet na patogenitě *T. gallinae*, jsou ekto-5'-nukleotidáza a nukleosid-trifosfát difosfhydroláza (NTPDáza) vázané na vnější stranu plasmatické membrány. NTPDáza štěpí nukleosid-trifosfát (NTP) a nukleosid-difosfát (NDP) až na nukleosid-monofosfát (NMP), který je dále degradován ekto-5'-nukleotidázou. Oba enzymy vykazují nejvyšší afinitu k nukleotidům obsahujícím adenin (Borges *et al.*, 2008; Borges *et al.*, 2007). Mohou sloužit jako zdroj nukleosidů, zejména právě adenosinu, protože trichomonády nedokážou samy syntetizovat puriny a pyrimidiny *de novo* (Heyworth *et al.*, 1982; Heyworth *et al.*, 1984). Zároveň také mohou fungovat jako obrana před imunitním systémem hostitele, protože snižují hladinu extracelulárního prozánětlivě působícího ATP a generují adenosin, který má protizánětlivé účinky. Při kultivaci *T. gallinae* s antibiotiky (penicilin, streptomycin) byla pozorována snížená míra hydrolýzy nukleotidů, antibiotika tak patrně mohou přispívat ke snížení patogenity (Borges *et al.*, 2008; Borges *et al.*, 2007).

Hemolytická aktivita *T. gallinae* byla pozorována vůči erytrocytům různých druhů zvířat, nebyl však identifikován žádný hemolysin, který by tento jev vyvolával. Mechanismus hemolýzy je patrně závislý na kontaktu. Bylo pozorováno, že erytrocyty adherují k povrchu trofozoitů, jimiž jsou následně fagocytovány. Míra hemolytické aktivity ovšem neodpovídá míře virulence jednotlivých kmenů (De Carli *et al.*, 1996; De Carli & Tasca, 2002; Gerhold *et al.*, 2009).

Léčba

K léčbě ptačí trichomonózy způsobené *T. gallinae* se používají nitroimidazolová léčiva, zejména dimetridazol, ronidazol, carnidazol, metronidazol, méně často pak ornidazol a tinidazol (Franssen & Lumeij, 1992; Munoz *et al.*, 1998; Rouffaer *et al.*, 2014; Zimre-Grabensteiner *et al.*, 2011). Podobně jako u dalších trichomonád, u *T. gallinae* je od roku 1990 pozorován nárůst rezistencí či snížená citlivost k těmto léčivům (Franssen & Lumeij, 1992; Lumeij & Zwijnenberg, 1990; Munoz *et al.*, 1998). Citlivost vůči jednotlivým léčebným přípravkům se nicméně liší mezi různými kmeny

T. gallinae (Franssen & Lumeij, 1992; Munoz *et al.*, 1998; Rouffaer *et al.*, 2014; Zimre-Grabensteiner *et al.*, 2011). Rezistentní kmeny byly ve vyšší míře zjištěny u poštovních holubů, kterým jsou preventivně podávány malé, subterapeutické dávky nitroimidazolových léčiv, což může být příčinou rozvoje rezistencí zejména u těchto ptáků (Lumeij & Zwijnenberg, 1990; Rouffaer *et al.*, 2014; Zimre-Grabensteiner *et al.*, 2011).

Především kvůli tomuto snižování účinnosti používaných léčiv jsou hledány alternativní látky efektivní proti *T. gallinae*, pozornost je věnována zejména látkám rostlinného původu. U vodného roztoku extraktu z česneku (*Allium sativum*) a esenciálního oleje z pelargonie (*Pelargonium roseum*) byly pozorovány antitrichomonální účinky, nicméně pro úspěšnou léčbu musí být podávány ve vyšších dávkách (Seddiek *et al.*, 2014; Tabari & Youssefi, 2018). Alkoholové extrakty ze zázvoru (*Zingiber officinale*) a levandule lékařské (*Lavandula angustifolia*) mají antitrichomonální účinky i při nízkých dávkách (Malekifard *et al.*, 2021). Alkaloidový extrakt z rostliny *Peganum harmala*, esenciální olej z pelyňku *Artemisia sieberi* a esenciální olej a nanoemulze z rostliny *Cymbopogon flexuosus* se ukázaly být při použití *in vivo* účinnější než metronidazol (Baccegga *et al.*, 2021; Tabari *et al.*, 2017; Youssefi *et al.*, 2017).

Kromě rostlinných látek byla vyzkoušena také molekula chitosanu, která dokáže *in vitro* usmrtit přes 90 % trofozoitů i v nízkých koncentracích (Tavassoli *et al.*, 2012). Lashkenari a kol. (2020) testovali působení čistých nanočástic ZnO a ZnO nanočástic pokrytých poly-rhodanidem na kulturu *T. gallinae* v porovnání s metronidazolem. Oba typy nanočástic byly schopny významně snižovat viabilitu trofozoitů i při dávkách pětikrát nižších, než byly dávky metronidazolu, a v kratším časovém intervalu (Lashkenari *et al.*, 2020).

Ve snaze snížit vedlejší účinky používaných léčiv jsou hledány i nosiče účinných látek. Doposud byly úspěšné *in vitro* pokusy s chitosanovými kapsulemi vázanými na celulózové nanofibrily a nanočásticemi zeolitu Y pokrytými kyselinou taninovou (Lehi *et al.*, 2019; Rezaee *et al.*, 2019). Nanočástice lactoferrinu byly úspěšně použity *in vivo* (Tabari *et al.*, 2021).

2.2.3 *Trichomonas gypaetini*

Trichomonas gypaetini byla doposud zjištěna v ústní dutině pouze u několika druhů dravých a mrchožravých ptáků (Martinez-Diaz *et al.*, 2015; Tomikawa *et al.*, 2021).

Jako samostatný druh byla popsána v roce 2015. U trichomonád izolovaných z ústních dutin supů hnědých (*Aegypius monachus*) a supů mrchožravých (*Neophron percnopterus*) byla provedena genetická analýza fragmentů 18S rRNA a ITS1-5,8S rRNA-ITS2. Bylo zjištěno, že sekvence se shodují s dříve získanou sekvencí z ústní dutiny orlosupa bradatého (*Gypaetus barbatus*), a celá tato skupina sekvencí je blíže příbuzná druhu *T. vaginalis* než druhu *T. gallinae* (Grabensteiner *et al.*, 2010; Martinez-Diaz *et al.*, 2015). Předpokládá se, že ke stejnému druhu patří také izolát, který byl

získán z ústní dutiny orla bělohlavého (*Haliaeetus leucocephalus*), a jehož sekvence úseku ITS1-5,8 rRNA-ITS2 se plně shoduje se sekvencí stejného úseku získanou z ústní dutiny orlosupa bradatého (Grabensteiner *et al.*, 2010; Kelly-Clark *et al.*, 2013). V roce 2021 byla *T. gypaetini* získána v Japonsku z ústních dutin orlů východních (*Haliaeetus pelagicus*) a orlů mořských (*Haliaeetus albicilla*). Na základě sekvencí genů pro Fe-hydrogenázu a velkou podjednotku pro RNA polymerázu II (Rpb1) bylo potvrzeno, že *T. gypaetini* je samostatný druh (Tomikawa *et al.*, 2021).

Byl zaznamenán pouze jeden případ patologie způsobené *T. gypaetini*, a to u mláděte supy hnědého (*Aegypius monachus*). Ptáče bylo podvyživené, dehydratované, napadené všenkami a v ústní dutině a hltanu byly nalezeny četné léze připomínající léze způsobené *T. gallinae*. Izolovaní trofozoiti byli pomocí molekulárních metod určeni jako *T. gypaetini*. Mládě se zotavilo po několikadenní léčbě metronidazolem a trimethoprim-sulfamethoxazolem (Martinez-Herrero *et al.*, 2019b). *T. gypaetini* je tak pravděpodobně oportunním patogenem, protože u zdravých dospělých ptáků infikovaných touto trichomonádou nebyly zjištěny žádné klinické příznaky ptačí trichomonózy (Martinez-Diaz *et al.*, 2015; Tomikawa *et al.*, 2021).

Morfologie

Morfologicky je trofozoit *T. gypaetini* velmi podobný druhu *T. gallinae*, je ovšem menší a má delší axostyl v poměru k délce těla. Trofozoit je hruškovitého až oválného tvaru, velký $8,1 \pm 1,1 \mu\text{m}$ x $5,8 \pm 1,2 \mu\text{m}$. V přední části buňky se nachází jádro s rozměry $3,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$ x $2,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$ a poblíž něj se nachází basální tělíska bičíků. Čtyři přední bičíky jsou volné, nestejně dlouhé a jejich délka se pohybuje v rozmezí $12 \pm 1,6$ – $14,4 \pm 1,4 \mu\text{m}$. Zpětný bičík měří $12,8 \pm 2,2 \mu\text{m}$, je asociován s undulující membránou a nemá volný konec. Undulující membrána je podložena costou o délce $8,5 \pm 1,2 \mu\text{m}$. Axostyl prochází celou buňkou a na zadním konci vybíhá jeho část dlouhá $7,6 \pm 1,9 \mu\text{m}$ (Martinez-Diaz *et al.*, 2015).

2.2.4 *Trichomonas stableri*

Trichomonas stableri byla doposud zjištěna pouze u holuba pruhocasého (*Patagioenas fasciata monilis*) v Kalifornii (Girard *et al.*, 2014a; Girard *et al.*, 2014b; Rogers *et al.*, 2018).

V rámci studie zabývající se zvýšenou mortalitou holubů pruhocasých bylo zjištěno, že jedinci tohoto druhu holubů jsou kromě *T. gallinae* infikováni ještě další trichomonádou, která je morfologicky a geneticky odlišná, a je blíže příbuzná *T. vaginalis* nežli *T. gallinae*. Tato trichomonáda byla autory studie následně popsána jako samostatný druh *Trichomonas stableri* (Girard *et al.*, 2014a). Stejně jako *T. gallinae* může *T. stableri* u svých hostitelů způsobit ptačí trichomonózu, která má u obou druhů trichomonád stejnou patogenezi (Girard *et al.*, 2014a; Girard *et al.*, 2014b). Byly zaznamenány i případy, kdy byl pták infikován oběma druhy trichomonád (Girard *et al.*, 2014b; Rogers *et al.*, 2018).

Morfologie

Trofozoiti *T. stableri* vytvářejí dvě formy: štíhlou (slender) a kulovitou (rounded). Trofozoit ve štíhlé formě má rozměry $12,98 \pm 0,85 \mu\text{m} \times 5,95 \pm 0,94 \mu\text{m}$, v kulovité formě má rozměry $8,09 \pm 0,79 \mu\text{m} \times 5,88 \pm 0,64 \mu\text{m}$. Je pravděpodobné, že tento polymorfismus je důsledkem nesynchronizovaných buněčných dělení (Girard *et al.*, 2014a).

2.2.5 *Trichomonas equibuccalis*

Trichomonas equibuccalis byla popsána Simitchem v roce 1939 (Simitch, 1939). Do dnešní doby byla provedena pouze jedna další studie zabývající se touto trichomonádou, a to v roce 1992 v Německu (Schöl *et al.*, 1992).

Morfologie

Trofozoit je vejčitého až hruškovitého tvaru, měřící v průměru $7,6 \mu\text{m} \times 6,3 \mu\text{m}$. Na předním konci buňky se nachází jádro velké asi $1,5\text{--}2 \mu\text{m}$ a u něj se nachází bazální tělísko, z něž vycházejí bičíky. Čtyři přední bičíky jsou volné, jeden bičík je zpětný a asociovaný s undulující membránou. Bičík nemá volný konec. Na zadním konci z buňky vybíhá terminální segment axostylu dlouhý v průměru $7,8 \mu\text{m}$ (Schöl *et al.*, 1992; Simitch, 1939).

Výskyt

T. equibuccalis se vyskytuje v ústní dutině koní a oslů. V roce 1939 na Veterinární fakultě v Bělehradě byla tato trichomonáda objevena u 7 koní z 22 a u 2 oslů ze 4 vyšetřovaných. Experimentálně se podařilo kmenem izolovaným z ústní dutiny koně nakazit osla a naopak. Pokusy o infikování ústní dutiny koz, ovcí a krav byly neúspěšné (Simitch, 1939).

Cílem studie provedené v roce 1992 bylo zjistit, zda se *T. equibuccalis* vyskytuje u koní v Německu. To se potvrdilo, Schöl a kol. objevili *T. equibuccalis* u 9 z 60 vyšetřovaných koní (Schöl *et al.*, 1992).

T. equibuccalis se v roce 2016 podařilo izolovat i na území České republiky z ústní dutiny osmnáctiletého anglického plnokrevníka. Nejednalo se však o součást rozsáhlejší studie, vyšetřen byl jen tento jeden kůň. Izolát je uchováván jako kryostabilát na katedře parazitologie Univerzity Karlovy (Kellerova & Tachezy, 2017).

Pro fylogenetickou analýzu byl osekvenován gen pro ssrRNA (malá podjednotka ribozomální DNA) a oblast ITS1-5,8S rRNA-ITS2 této trichomonády. Fylogenetická analýza ukázala, že *T. equibuccalis* je nejbližší příbuzná druhu *T. bixi* (Kellerova & Tachezy, 2017).

Patogenita

Nejsou žádné poznatky o tom, zda je *T. equibuccalis* komenzál či oportunní patogen, jak působí na tkáň v ústní dutině koní, a zda může být příčinou zdravotních komplikací, například dušnosti, pokud se dostane do plic.

Ve studii z roku 1992 byl u všech pozitivních koní zjištěn zubní kámen, čtyři z nich navíc trpěli kašlem a kolikou a lumbagem. Nutno dodat, že se jednalo o zvířata hospitalizovaná na veterinární klinice univerzity v Mnichově, nebo o koně v jejím vlastnictví (Schöl *et al.*, 1992). Stejně tak byla studie z roku 1939 prováděna na veterinární fakultě (Simitch, 1939), je proto nutno brát v potaz, že mezi vyšetřovanými zvířaty se s vyšší pravděpodobností vyskytovali nemocní jedinci.

2.2.6 *Trichomonas bixi*

Trichomonas bixi se vyskytuje v ústní dutině psů a koček. Poprvé byla tato trichomonáda zmíněna v práci Kutisové a kol. kde byla označena jako kmen BRIXI druhu *Trichomonas canistomae*. Fylogenetická analýza sekvence ITS1-5,8S rRNA-ITS2 ukázala, že patří do rodu *Trichomonas*, ale liší se od *T. tenax* (Kutisova *et al.*, 2005).

Kellerová a Tachezy (2017) ve studii zabývající se výskytem trichomonád u psů a koček v České republice ukázali, že v ústní dutině těchto zvířat se kromě *T. tenax* vyskytuje další druh z rodu *Trichomonas*, který je morfologicky nerozlišitelný od *T. tenax*. Na základě porovnání sekvence ITS1-5,8S rRNA-ITS2 bylo zjištěno, že se jedná o samostatný druh, který zahrnuje i kmen BRIXI. Tento druh byl pojmenován *Trichomonas bixi* (Kellerová & Tachezy, 2017).

Morfologie

Trofozoiti jsou vejčitého až hruškovitého tvaru, měřící na délku $6,6 \pm 1,2 \mu\text{m}$ a na šířku $4 \pm 0,8 \mu\text{m}$. Z přední části buňky vycházejí čtyři přední volné bičíky a jeden zpětný, který se přikládá k povrchu buňky a vytváří undulující membránu. Tento zpětný bičík nemá volný konec, sahá maximálně do tří čtvrtin délky těla. S bazálním tělískem zpětného bičíku je spojen přední konec costy typu A. Poblíž předního konce buňky se nachází oválné či vejčité jádro s rozměry $1,6 \pm 0,5 \mu\text{m}$ na délku a $1 \pm 0,3 \mu\text{m}$ na šířku. Jádro je obklopeno rozšířeným capitulem axostylu. Kmen axostylu je tenký a na zadním konci vybíhá z buňky část dlouhá $5,6 \pm 2,1 \mu\text{m}$. Parabazální aparát je hákovitého tvaru a je podepřen dvěma parabazálními filamenty. Při použití imunofluorescenční mikroskopie je možné v cytoplasmě vidět hydrogenosomy (Kellerová & Tachezy, 2017).

Výskyt

Trichomonas bixi je nejvíce rozšířenou trichomonádou ústní dutiny psů a koček v České republice. Tato trichomonáda byla zjištěna u 30,6 % vyšetřovaných psů. Častěji byli infikováni psi starší tři let, jedinci s příznaky dentálního onemocnění a kříženci. U koček je méně rozšířená než u psů, bylo

infikováno 6,6 % vyšetřovaných jedinců, častěji zvířata starší tří let a kříženci plemen (Kellerova & Tachezy, 2017).

V Německu v roce 1992 v rámci dvou studií zaměřených na výskyt trichomonád v ústní dutině psů a koček bylo zjištěno 31 pozitivních psů ze 121 vyšetřovaných a 21 pozitivních koček ze 110 vyšetřovaných. Z pozitivních psů 13 trpělo pouze onemocněním ústní dutiny (stomatitida či zubní kámen), 17 trpělo onemocněním ústní dutiny a jinou nemocí či patologií a jeden pes měl zdravou ústní dutinu a vykazoval pouze apatii. Všechny 21 koček pozitivních koček trpělo stomatitidou a bylo infikováno virem kočičí leukémie, virem kočičí imunodeficiency nebo virem kočičí infekční peritonitidy. U izolovaných trichomonád byly pozorovány znaky rodu *Trichomonas* a autoři je proto označili jako *Trichomonas canistomae* a *Trichomonas felistomae* a zpochybnili jejich zařazení do rodu *Tetratrichomonas* (Beelitz *et al.*, 1992; Gothe *et al.*, 1992). Je však možné, že se jednalo o zástupce druhu *T. bixi*, který se vyskytuje v ústní dutině psů i koček, a který byl popsán jako samostatný druh až v roce 2017.

Ve dvou případech byl v ústní dutině psů zaznamenán rod *Trichomonas* bez bližšího určení druhu. V Polsku v roce 1998 byly trichomonády objeveny u 11 z 44 psů. Všichni pozitivní psi měli klinické příznaky spojené s výskytem zubního kamene, šest z nich trpělo dalším onemocněním. Na základě morfologie bylo určeno, že patří do rodu *Trichomonas* (Cielecka *et al.*, 1998). Ve Velké Británii byl *Trichomonas* sp. zjištěn u 56,52 % vyšetřovaných psů, mezi nimiž byla zdravá zvířata i jedinci s různými stupni rozvoje periodontálního onemocnění. Bylo pozorováno, že se stupněm rozvoje onemocnění roste i četnost výskytu trichomonád v ústní dutině. Trichomonády tak patrně hrají roli v rozvoji periodontálních onemocnění (Patel *et al.*, 2017).

2.2.7 *Tetratrichomonas canistomae*

Tetratrichomonas canistomae se vyskytuje v ústní dutině psů. Tohoto bičíkovce popsali v roce 1927 Hegner a Ratcliffe pod jménem *Trichomonas canistomae* (Hegner & Ratcliffe, 1927a). V roce 1978 byla na základě morfologie přearažena do rodu *Tetratrichomonas* (Honigberg, 1978). Levine (1961) vyslovil myšlenku, že *Tetratrichomonas canistomae* a *Tetratrichomonas felistomae* jsou zástupci jednoho druhu (Levine, 1961).

Morfologie

Trofozoit je hruškovitého tvaru, o velikosti 7-12 μm x 3-4 μm . Z mohutného bazálního tělíska vycházejí čtyři volné přední bičíky, které jsou dlouhé přibližně stejně jako tělo, a jeden zpětný bičík, který je asociovaný s undulující membránou. Konec zpětného bičíku je volný a odpovídá asi polovině délky těla. Undulující membrána se táhne po celé délce těla a je podložena tenkou costou. Axostyl je tenký, nitkovitý a vybíhá daleko za zadní okraj buňky (Hegner & Ratcliffe, 1927a; Levine, 1961).

Výskyt

Hegner a Ratcliffe objevili *Tt. canistomae* u 22 z 23 vyšetřovaných psů. Všichni pozitivní psi byli chováni v laboratoři odděleně, pouze během čištění klecí jim byl umožněn vzájemný kontakt, který pravděpodobně umožnil rozšíření tetratrichomonády mezi všechna laboratorní zvířata. Tetratrichomonády byly nalezeny v odebraném zubním kameni, přičemž nejvíce jich bylo získáno z okolí zubů s kazy (Hegner & Ratcliffe, 1927a).

Simitch a Kostitch zaznamenali ve skupině 165 psů ze Skopje přítomnost trichomonád u 23 z nich, Rousset a kol. našli trichomonády u 15 ze 100 vyšetřovaných psů. V obou studiích byli prvoci určeni jako *Trichomonas canistomae* (k přearžení do rodu *Tetratrichomonas* došlo až později). V obou pracích ale chybí podrobný popis izolovaných prvoků, který by umožňoval určit, zda se jednalo o zástupce rodu *Trichomonas* či *Tetratrichomonas* (Rousset *et al.*, 1970; Simitch & Kostitch, 1938).

2.2.8 *Tetratrichomonas felistomae*

Tetratrichomonas felistomae se vyskytuje v ústní dutině koček. Popsána byla Hegnerem a Ratcliffem v roce 1927 (Hegner & Ratcliffe, 1927b). Je možné, že *Tetratrichomonas canistomae* a *Tetratrichomonas felistomae* náleží do stejného druhu (Levine, 1961).

Morfologie

Trofozoit měří na délku 6-11 μm a na šířku 3-4 μm . Z přední části buňky vycházejí čtyři přední volné bičíky, které jsou delší než tělo, a jeden zpětný bičík asociovaný s undulující membránou, který má dlouhý volný konec (Hegner & Ratcliffe, 1927b). Undulující membrána, která dosahuje téměř k zadnímu konci těla, je podložena nápadnou costou. Axostyl vybíhá daleko za zadní konec těla (Levine, 1961).

Výskyt

Tt. felistomae zaznamenali Hegner a Ratcliffe v roce 1927 v Baltimoru u 2 koček z 28 vyšetřovaných (Hegner & Ratcliffe, 1927b). Gothe a kol. se v roce 1992 zaměřili na výskyt *Tt. felistomae* v Německu. Ze 110 vyšetřovaných bylo 21 koček pozitivních na přítomnost trichomonád v ústní dutině. Z morfologického popisu bičíkovců izolovaných v rámci této studie vyplývá, že se šlo o zástupce rodu *Trichomonas* (Gothé *et al.*, 1992). Je tak možné, že izolované trichomonády nepatřily do druhu *Tt. felistomae*, ale do druhu *T. bixi*.

2.2.9 *Tetratrichomonas empyemagena*

Tetratrichomonas empyemagena je druh vyskytující se v dýchacím traktu, popřípadě i ústní dutině člověka (Lopez-Escamilla *et al.*, 2013). Jako samostatný druh byla odlišena v roce 2009, kdy bylo na základě fylogenetické analýzy sekvencí oblasti ITS1-5,8S rRNA-ITS2 a genu pro malou

podjednotku ribozomu (18S rRNA) zjištěno, že bičíkatí prvoci nalezení v odebrané pleurální tekutině patří do rodu *Tetratrichomonas* a zároveň se liší od ostatních druhů (Mantini *et al.*, 2009). V roce 2013 byly zaznamenány dva případy výskytu tetratrichomonád v pleurální tekutině. Na základě analýzy oblasti ITS1-5,8S rRNA-ITS2 bylo zjištěno, že jsou tyto izoláty shodné s druhem izolovaným v roce 2009. Pro tento druh bylo následně navrženo jméno *Tetratrichomonas empyemagenae* (Lopez-Escamilla *et al.*, 2013). Podrobný morfologický popis tohoto konkrétního druhu dosud nebyl proveden.

Patogenita

Tetratrichomonas empyemagenae byla doposud zaznamenána pouze u lidí trpících plicním onemocněním, konkrétně se jednalo ve dvou případech o empyém pravé plíce a v jednom případě o pravostranný pneumothorax a levostranný empyém. Ve všech případech plicní infekce touto tetratrichomonádou bylo v pleurální tekutině nalezeno také několik druhů bakterií (Lopez-Escamilla *et al.*, 2013; Mantini *et al.*, 2009). Přítomnost a proliferace *Tt. empyemagenae* je tak patrně vázána na bakteriální infekci, díky které v plicích vzniká pro tetratrichomonády příhodné mikroaerofilní prostředí (Dong *et al.*, 2019; Lopez-Escamilla *et al.*, 2013). Zda se *Tt. empyemagenae* vyskytuje i u zdravých lidí, dosud nebylo zdokumentováno. U jednoho pacienta byla *Tt. empyemagenae*, společně s *T. tenax*, zjištěna ve vzorcích odebraných z ústní dutiny (Lopez-Escamilla *et al.*, 2013).

Léčba

Ve všech zaznamenaných případech plicní infekce *Tetratrichomonas empyemagenae* se jednalo o smíšené infekce s bakteriemi, proto byla nasazena kombinovaná léčba metronidazolem, který je používán k léčbě protozoálních nákaz (Ansari *et al.*, 2020), a antibiotiky, v těchto případech se jednalo o amoxicilin (Mantini *et al.*, 2009) a piperacillin/tazobactam (Lopez-Escamilla *et al.*, 2013).

Další tetratrichomonády v dýchacím traktu a ústní dutině člověka

Kromě *Tt. empyemagenae* a *T. tenax* se v dýchacím traktu a ústní dutině člověka může vyskytovat druh *Tetratrichomonas* sp. blízkce příbuzný *Tetratrichomonas gallinarum*. Tento druh byl rozpoznán na základě genetické analýzy trichomonád izolovaných z průdušek, ústní dutiny či sputa pacientů plicního oddělení Institutu experimentální a klinické medicíny v Tallinnu (Kutisova *et al.*, 2005). V Číně byl zaznamenán případ pyopneumothoraxu způsobeného bakteriemi a bičíkatými prvoky, kteří byli pomocí PCR identifikováni jako rod *Tetratrichomonas*, nicméně bez bližšího určení druhu (Dong *et al.*, 2019). *Tt. empyemagenae* není totožná s *Tetratrichomonas* sp. příbuzným *Tt. gallinarum* (Mantini *et al.*, 2009). Pro správné a přesné určení druhu tetratrichomonád v dýchacím traktu je proto nutná molekulární diagnostika.

3 ZÁVĚR

Prvoci v ústní dutině lidí a zvířat jsou označováni převážně za komenzály a je jim věnována menší pozornost, neměli by však být opomíjeni a podceňováni. *Entamoeba gingivalis* a *Trichomonas tenax*, které se vyskytující v ústní dutině člověka, mohou mít cytotoxický efekt na buňky a jejich zvýšený výskyt u lidí s onemocněním ústní dutiny nasvědčuje tomu, že nejsou pouhými komenzály. Výstižnější by proto bylo nazvat tyto prvoky oportunními patogeny. Mohou způsobovat závažné zdravotní komplikace, zejména u lidí se sníženou imunitou, u nichž se mohou rozšířit i do vnitřních orgánů a tkání. U *Trichomonas tenax* je potřeba ověřit zoonotický potenciál, zejména zjistit, zda je možný přenos z domácích zvířat na člověka.

Tetratrichomonas empyemagen byla doposud nalezena pouze u pacientů s plicním onemocněním. Další studie by měly ukázat, zda je tento prvok přítomný také u zdravých lidí a jaké faktory mají vliv na rozvoj a průběh plicního onemocnění. Rovněž je otázkou, co je zdrojem této nákazy.

Trichomonas gallinae je patogenní pro různé druhy ptáků a z důvodu nárůstu rezistence vůči nitroimidazolovým léčivům je nutné najít alternativní léčivou látku, kterou by v ideálním případě bylo možné podávat i divokým ptákům. Aby bylo alespoň částečně zmírněno masové šíření a přenos této trichomonády na nové druhy, měla by laická veřejnost být poučena o správném udržování krmítek a vodních zdrojů, které ptactvu poskytuje. U *Trichomonas stableri* a *Trichomonas gypaetini*, které byly popsány poměrně recentně, je třeba blíže specifikovat jejich virulenci a spektrum hostitelů.

O *Trichomonas equibuccalis*, ač je známa od roku 1939, existuje velmi málo poznatků. Pro popis rozšíření, vlivu na ústní dutinu a zdravotní stav koní jsou potřeba další studie.

U trichomonád z ústní dutiny psů a koček by se budoucí studie měly zaměřit na zjištění výskytu prvoka *Tetratrichomonas felistomae*, který byl zaznamenán pouze jednou v USA, a *Tetratrichomonas canistomae*, o jehož výskytu existují sporné informace. Dalším tématem je patogenita jednotlivých druhů, především druhu *Trichomonas bixi*, jehož výskyt může souviset se vznikem a rozvojem periodontálního onemocnění u psů.

Pro přesnou identifikaci druhu, popřípadě genotypu či varianty, by měly být používány molekulární metody. Sekvence genů uložené ve veřejných databázích umožňují srovnání a i zpětné dohledání výskytu nového druhu v době před jeho popsáním. Nelze vyloučit, že diverzita orálních prvků u různých hostitelů je mnohem vyšší, stejně jako je tomu v případě trichomonád ptáků.

4 LITERATURA

- Amin, A., Bilic, I., Berger, E. and Hess, M. (2012a). *Trichomonas gallinae*, in comparison to *Tetratrichomonas gallinarum*, induces distinctive cytopathogenic effects in tissue cultures. *Veterinary Parasitology*, **186**, 196-206. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.11.037.
- Amin, A., Bilic, I., Liebhart, D. and Hess, M. (2014). Trichomonads in birds - a review. *Parasitology*, **141**, 733-747. doi: 10.1017/s0031182013002096.
- Amin, A., Nobauer, K., Patzl, M., Berger, E., Hess, M. and Bilic, I. (2012b). Cysteine peptidases, secreted by *Trichomonas gallinae*, are involved in the cytopathogenic effects on a permanent chicken liver cell culture. *Plos One*, **7**. doi: 10.1371/journal.pone.0037417.
- Anderson, N. L., Grahn, R. A., Van Hoosear, K. and BonDurant, R. H. (2009). Studies of trichomonad protozoa in free ranging songbirds: Prevalence of *Trichomonas gallinae* in house finches (*Carpodacus mexicanus*) and corvids and a novel trichomonad in mockingbirds (*Mimus polyglottos*). *Veterinary Parasitology*, **161**, 178-186. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.01.023.
- Ansari, M. F., Inam, A., Ahmad, K., Fatima, S., Agarwal, S. M. and Azam, A. (2020). Synthesis of metronidazole based thiazolidinone analogs as promising antiamoebic agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **30**. doi: 10.1016/j.bmcl.2020.127549.
- Arpag, O. F. and Kaya, O. M. (2020). Presence of *Trichomonas tenax* and *Entamoeba gingivalis* in peri-implantitis lesions. *Quintessence International*, **51**, 212-218. doi: 10.3290/j.qi.a43948.
- Baccega, B., Islabao, Y. W., de Mello, A. B., Martins, F. O., dos Santos, C. C., Ourique, A. F., Gundel, S. D., de Macedo, M. R. P., Vianna, E. E. S., Farias, N. A. D. and Oliveira, C. B. (2021). In vitro and in vivo activity of the essential oil and nanoemulsion of *Cymbopogon flexuosus* against *Trichomonas gallinae*. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, **11**, 32-43.
- Badri, M., Olfatifar, M., Abdoli, A., Houshmand, E., Zarabadipour, M., Abadi, P. A., Johkool, M. G., Ghorbani, A. and Eslahi, A. V. (2021). Current global status and the epidemiology of *Entamoeba gingivalis* in humans: A systematic review and meta-analysis. *Acta Parasitologica*, **66**, 1102-1113. doi: 10.1007/s11686-021-00423-2.
- Bao, X., Weiner, J., Meckes, O., Dommisch, H. and Schaefer, A. S. (2021). *Entamoeba gingivalis* exerts severe pathogenic effects on the oral mucosa. *Journal of Dental Research*, **100**, 771-776. doi: 10.1177/00220345211004498.
- Bao, X., Wiehe, R., Dommisch, H. and Schaefer, A. S. (2020). *Entamoeba gingivalis* causes oral inflammation and tissue destruction. *Journal of Dental Research*, **99**, 561-567. doi: 10.1177/0022034520901738.
- Beelitz, P., Schöl, H. and Gothe, R. (1992). Trichomonaden-Infektionen der Mundhöhle bei Hunden. *Kleintierpraxis*, **37**, 281-284.
- Bellanger, A. P., Cabaret, O., Costa, J. M., Foulet, F., Bretagne, S. and Botterel, F. (2008). Two unusual occurrences of trichomoniasis: Rapid species identification by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, **46**, 3159-3161. doi: 10.1128/jcm.00322-08.
- Benabdelkader, S., Andreani, J., Gillet, A., Terrer, E., Pignoly, M., Chaudet, H., Aboudharam, G. and La Scola, B. (2019). Specific clones of *Trichomonas tenax* are associated with periodontitis. *Plos One*, **14**. doi: 10.1371/journal.pone.0213338.
- Bhaijee, F. and Bell, D. (2011). *Entamoeba gingivalis* in acute osteomyelitis of the mandible. *Case Reports in Medicine*, **2011**. doi: 10.1155/2011/357301.
- Boal, C. W., Mannan, R. W. and Hudelson, K. S. (1998). Trichomoniasis in Cooper's hawks from Arizona. *Journal of Wildlife Diseases*, **34**, 590-593. doi: 10.7589/0090-3558-34.3.590.
- BonDurant, R. and Honigberg, B. (1994). Trichomonads of veterinary importance. In *Parasitic protozoa* pp. 111-188. Elsevier.
- Bonner, M., Amard, V., Bar-Pinatel, C., Charpentier, F., Chatard, J. M., Desmuyck, Y., Ihler, S., Rochet, J. P., de La Tribouille, V. R., Saladin, L., Verdy, M., Girones, N., Fresno, M. and Santi-Rocca, J. (2014). Detection of the amoeba *Entamoeba gingivalis* in periodontal pockets. *Parasite*, **21**. doi: 10.1051/parasite/2014029.

- Bonner, M., Fresno, M., Girones, N., Guillen, N. and Santi-Rocca, J.** (2018). Reassessing the role of *Entamoeba gingivalis* in periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **8**. doi: 10.3389/fcimb.2018.00379.
- Borges, F. P., De Brum Vieira, P., Wiltuschnig, R. C., Tasca, T., De Carli, G. A. and Bonan, C. D.** (2008). Characterization of nucleoside triphosphate diphosphohydrolase activity in *Trichomonas gallinae* and the influence of penicillin and streptomycin in extracellular nucleotide hydrolysis. *FEMS microbiology letters*, **283**, 189-195.
- Borges, F. P., Gottardi, B., Stuepp, C., Larré, A. B., Tasca, T., De Carli, G. A. and Bonan, C. D.** (2007). Characterization of an ecto-5'-nucleotidase (EC 3.1. 3.5) activity in intact trophozoites of *Trichomonas gallinae*. *Veterinary Parasitology*, **143**, 106-111.
- Bozner, P. and Demes, P.** (1991a). Cell-associated and extracellular proteolytic activity of an oral flagellate, *Trichomonas tenax*. *Archives of Oral Biology*, **36**, 77-83. doi: 10.1016/0003-9969(91)90056-z.
- Bozner, P. and Demes, P.** (1991b). Degradation of collagen types I, III, IV and V by extracellular proteinases of an oral flagellate *Trichomonas tenax*. *Archives of Oral Biology*, **36**, 765-770. doi: 10.1016/0003-9969(91)90043-t.
- Bradbury, R. S., Roy, S., Ali, I. K., Morrison, J. R., Waldner, D., Hebbeln, K., Aldous, W., Jepson, R., Delavan, H. R., Ndubuisi, M. and Bishop, H. S.** (2019). Case Report: Cervicovaginal co-colonization with *Entamoeba gingivalis* and *Entamoeba polecki* in association with an intrauterine device. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **100**, 311-313. doi: 10.4269/ajtmh.18-0522.
- Brooks, B. and Schuster, F. L.** (1984). Oral protozoa: Survey, isolation, and ultrastructure of *Trichomonas tenax* from clinical practice. *Transactions of the American Microscopical Society*, **103**, 376-382. doi: 10.2307/3226474.
- Bunbury, N., Jones, C. G., Greenwood, A. G. and Bell, D. J.** (2007). *Trichomonas gallinae* in Mauritian columbids: Implications for an endangered endemic. *Journal of Wildlife Diseases*, **43**, 399-407. doi: 10.7589/0090-3558-43.3.399.
- Cembranelli, S. B. S., Souto, F. O., Ferreira-Paim, K., Richinho, T. T., Nunes, P. L., Nascentes, G. A. N., Ferreira, T. B., Correia, D. and Lages-Silva, E.** (2013). First evidence of genetic intraspecific variability and occurrence of *Entamoeba gingivalis* in HIV(+)/AIDS. *Plos One*, **8**. doi: 10.1371/journal.pone.0082864.
- Cepicka, I., Kutišová, K., Tachezy, J., Kulda, J. and Flegr, J.** (2005). Cryptic species within the *Tetratrichomonas gallinarum* species complex revealed by molecular polymorphism. *Veterinary Parasitology*, **128**, 11-21. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.11.003.
- Cielecka, D., Borsuk, P., Grytner-Ziecina, B. and Turkowicz, M.** (2000). First detection of *Trichomonas tenax* in dog and cat by PCR-RFLP. *Acta Parasitologica*, **45**, 350-352.
- Cielecka, D., Grytner-Ziecina, B., Morawska, E. and Morawska, G.** (1998). Oral protozoa of the genus *Trichomonas* in dogs. *Wiadomości Parazytologiczne*, **44**.
- Clark, C. G. and Diamond, L. S.** (1992). Colonization of the uterus by the oral protozoan *Entamoeba gingivalis*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **46**, 158-160. doi: 10.4269/ajtmh.1992.46.158.
- Clark, C. G. and Diamond, L. S.** (1997). Intraspecific variation and phylogenetic relationships in the genus *Entamoeba* as revealed by riboprinting. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **44**, 142-154. doi: 10.1111/j.1550-7408.1997.tb05951.x.
- Clark, C. G., Kaffashian, F., Tawari, B., Windsor, J. J., Twigg-Flesner, A., Davies-Morel, M. C. G., Blessmann, J., Ebert, F., Peschel, B., Le Van, A., Jackson, C. J., Macfarlane, L. and Tannich, E.** (2006). New insights into the phylogeny of *Entamoeba* species provided by analysis of four new small-subunit rRNA genes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **56**, 2235-2239. doi: 10.1099/ijs.0.64208-0.
- Crucitti, T., Abdellati, S., Ross, D., Chagalucha, J., Van Dyck, E. and Buve, A.** (2004). Detection of *Pentatrichomonas hominis* DNA in biological specimens by PCR. *Letters in Applied Microbiology*, **38**, 510-516.
- Darde, M. L., Fougere, E. and Buxeraud, J.** (2018). Antiamoebic drugs. *Actualites Pharmaceutiques*, **57**, 1-6. doi: 10.1016/j.actpha.2018.09.021.

- Daszak, P., Cunningham, A. A. and Hyatt, A. D.** (2000). Emerging infectious diseases of wildlife--threats to biodiversity and human health. *science*, **287**, 443-449.
- De Carli, G., Da Silva, A., Wendorff, A. and Rott, M.** (1996). Lysis of erythrocytes by *Trichomonas gallinae*. *Avian Diseases*, 228-230.
- De Carli, G. A. and Tasca, T.** (2002). *Trichomonas gallinae*: a possible contact-dependent mechanism in the hemolytic activity. *Veterinary Parasitology*, **106**, 277-283.
- DeMoraes-Ruehsen, M., McNeill, R. E., Frost, J. K., Gupta, P. K., Diamond, L. S. and Honigberg, B. M.** (1980). Amebae resembling *Entamoeba gingivalis* in the genital tracts of IUD users. *Acta Cytologica*, **24**, 413-420.
- Dong, N., Jin, X. W., Huang, J. H., Chen, K. L., Li, Y. P., Chen, C. S., Hu, D. W. and Xie, Y. P.** (2019). *Tetratrichomonas* in pyopneumothorax. *American Journal of Emergency Medicine*, **37**. doi: 10.1016/j.ajem.2019.03.029.
- Duboucher, C., Farto-Bensasson, F., Cheron, M., Peltier, J. Y., Beaufils, F. and Perie, G.** (2000). Lymph node infection by *Trichomonas tenax*: Report of a case with co-infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *Human Pathology*, **31**, 1317-1321. doi: 10.1053/hupa.2000.18502.
- Duboucher, C., Mogenet, M. and Perie, G.** (1995). Salivary trichomoniasis. A case report of infestation of a submaxillary gland by *Trichomonas tenax*. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **119**, 277-279.
- Duboucher, C., Pierce, R. J., Capron, M., Dei-Cas, E. and Viscogliosi, E.** (2008). Recent advances in pulmonary trichomonosis. *Trends in Parasitology*, **24**, 201-202. doi: 10.1016/j.pt.2008.02.005.
- Dybicz, M., Perkowski, K., Baltaza, W., Padzik, M., Sedzikowska, A. and Chomicz, L.** (2018). Molecular identification of *Trichomonas tenax* in the oral environment of domesticated animals in Poland - potential effects of host diversity for human health. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, **25**, 464-468. doi: 10.26444/aaem/92309.
- Ecco, R., Preis, I. S., Vilela, D. A. R., Luppi, M. M., Malta, M. C. C., Beckstead, R. B., Stimmelmayer, R. and Gerhold, R. W.** (2012). Molecular confirmation of *Trichomonas gallinae* and other parabasalids from Brazil using the 5.8S and ITS-1 rRNA regions. *Veterinary Parasitology*, **190**, 36-42. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.05.029.
- Edgcomb, V. P., Roger, A. J., Simpson, A. G. B., Kysela, D. T. and Sogin, M. L.** (2001). Evolutionary relationships among "jakobid" flagellates as indicated by alpha- and beta-tubulin phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, **18**, 514-522. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a003830.
- El-Sherbini, G. T. and Shoukry, N. M.** (2012). In vitro Effect of Pomegranate Peel Extract on *Trichomonas tenax*. *Life Science Journal-Acta Zhengzhou University Overseas Edition*, **9**, 791-797.
- El Sibaei, M. M., Abdel-Fattah, N. S., Ahmed, S. A. and Abou-Seri, H. M.** (2012). Growth kinetics, antigen profiling, and proteinase activity of Egyptian *Trichomonas tenax* isolates derived from patients having oral infections. *Experimental Parasitology*, **130**, 416-422. doi: 10.1016/j.exppara.2012.01.018.
- ElKamel, A., Rouetbi, N., Chakroun, M. and Battikh, M.** (1996). Pulmonary eosinophilia due to *Trichomonas tenax*. *Thorax*, **51**, 554-555. doi: 10.1136/thx.51.5.554.
- Eslahi, A. V., Olfatifar, M., Abdoli, A., Houshmand, E., Johkool, M. G., Zarabadipour, M., Abadi, P. A., Ghorbani, A., Mirzadeh, M. and Badri, M.** (2021). The neglected role of *Trichomonas tenax* in oral diseases: A systematic review and meta-analysis. *Acta Parasitologica*, **66**, 715-732. doi: 10.1007/s11686-021-00340-4.
- Felleisen, R. S. J.** (1997). Comparative sequence analysis of 5 center dot 8S rRNA genes and internal transcribed spacer (ITS) regions of trichomonadid protozoa. *Parasitology*, **115**, 111-119. doi: 10.1017/s0031182097001212.
- Foda, A. A. and El-Malky, M. M.** (2012). Prevalence of genital tract infection with *Entamoeba gingivalis* among copper T 380A intrauterine device users in Egypt. *Contraception*, **85**, 108-112. doi: 10.1016/j.contraception.2011.04.006.

- Franssen, F. and Lumeij, J.** (1992). In vitro nitroimidazole resistance of *Trichomonas gallinae* and successful therapy with an increased dosage of ronidazole in racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, **15**, 409-415.
- Friedman, M., Tam, C. C., Cheng, L. W. and Land, K. M.** (2020). Anti-trichomonad activities of different compounds from foods, marine products, and medicinal plants: a review. *Bmc Complementary Medicine and Therapies*, **20**. doi: 10.1186/s12906-020-03061-9.
- Garcia, G., Ramos, F., Maldonado, J., Fernandez, A., Yanez, J., Hernandez, L. and Gaytan, P.** (2018a). Prevalence of two *Entamoeba gingivalis* ST1 and ST2-kamaktli subtypes in the human oral cavity under various conditions. *Parasitology Research*, **117**, 2941-2948. doi: 10.1007/s00436-018-5990-8.
- Garcia, G., Ramos, F., Martinez-Hernandez, F., Hernandez, L., Yanez, J. and Gaytan, P.** (2018b). A new subtype of *Entamoeba gingivalis*: "*E. gingivalis* ST2, kamaktli variant". *Parasitology Research*, **117**, 1277-1284. doi: 10.1007/s00436-018-5798-6.
- Gehl, V., Paunkov, A. and Leitsch, D.** (2021). A reassessment of the role of oxygen scavenging enzymes in the emergence of metronidazole resistance in trichomonads. *International Journal for Parasitology-Drugs and Drug Resistance*, **16**, 38-44. doi: 10.1016/j.ijpddr.2021.04.004.
- Gerhold, R. W., Maestas, L. P. and Harnage, P. M.** (2013). Persistence of two *Trichomonas gallinae* isolates in chlorinated and distilled water with or without organic material. *Avian Diseases*, **57**, 681-683.
- Gerhold, R. W., Yabsley, M. J. and Fischer, J. R.** (2009). Hemolytic activity of *Trichomonas gallinae* isolates does not correspond with clinical virulence. *Veterinary Parasitology*, **160**, 221-224.
- Gerhold, R. W., Yabsley, M. J., Smith, A. J., Ostergaard, E., Mannan, W., Cann, J. D. and Fischer, J. R.** (2008). Molecular characterization of the *Trichomonas gallinae* morphologic complex in the United States. *Journal of Parasitology*, **94**, 1335-1341. doi: 10.1645/ge-1585.1.
- Girard, Y. A., Rogers, K. H., Gerhold, R., Land, K. M., Lenaghan, S. C., Woods, L. W., Haberkern, N., Hopper, M., Cann, J. D. and Johnson, C. K.** (2014a). *Trichomonas stableri* n. sp., an agent of trichomonosis in Pacific Coast band-tailed pigeons (*Patagioenas fasciata monilis*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, **3**, 32-40.
- Girard, Y. A., Rogers, K. H., Woods, L. W., Chouicha, N., Miller, W. A. and Johnson, C. K.** (2014b). Dual-pathogen etiology of avian trichomonosis in a declining band-tailed pigeon population. *Infection Genetics and Evolution*, **24**, 146-156. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.002.
- Gothe, R., Beelitz, P., Schöl, H. and Beer, B.** (1992). Trichomonaden-Infektionen der Mundhöhle bei Katzen in Süddeutschland. *Tierärztl Prax*, **20**, 195-198.
- Govro, E. J. and Stuart, M. K.** (2016). Cytokine response of human THP-1 macrophages to *Trichomonas tenax*. *Experimental Parasitology*, **169**, 77-80. doi: 10.1016/j.exppara.2016.07.011.
- Grabensteiner, E., Bilic, I., Kolbe, T. and Hess, M.** (2010). Molecular analysis of clonal trichomonad isolates indicate the existence of heterogenic species present in different birds and within the same host. *Veterinary Parasitology*, **172**, 53-64.
- Gros, G.** (1849). *Fragments d'helminthologie et de physiologie microscopique*.
- Hegner, R. and Ratcliffe, H.** (1927a). Trichomonads from the mouth of the dog. *The Journal of Parasitology*, **14**, 51-53.
- Hegner, R. and Ratcliffe, H.** (1927b). Trichomonads from the vagina of the monkey, from the mouth of the cat and man, and from the intestine of the monkey, opossum and prairie-dog. *The Journal of Parasitology*, **14**, 27-35.
- Hersh, S. M.** (1985). Pulmonary trichomoniasis and *Trichomonas tenax*. *Journal of Medical Microbiology*, **20**, 1-10. doi: 10.1099/00222615-20-1-1.
- Heyworth, P. G., Gutteridge, W. E. and Ginger, C. D.** (1982). Purine metabolism in *Trichomonas vaginalis*. *FEBS letters*, **141**, 106-110.
- Heyworth, P. G., Gutteridge, W. E. and Ginger, C. D.** (1984). Pyrimidine metabolism in *Trichomonas vaginalis*. *FEBS letters*, **176**, 55-60.
- Honigberg, B.** (1978). Trichomonads of veterinary importance. *Parasitic protozoa*, **2**, 164-273.

- Honigberg, B. and Lee, J. (1959). Structure and division of *Trichomonas tenax* (OF Müller). *American Journal of Epidemiology*, **69**, 177-201.
- Chavatte, J. M., Giraud, P., Esperet, D., Place, G., Cavalier, F. and Landau, I. (2019). An outbreak of trichomonosis in European greenfinches *Chloris chloris* and European goldfinches *Carduelis carduelis* wintering in Northern France. *Parasite*, **26**. doi: 10.1051/parasite/2019022.
- Chi, J. F., Lawson, B., Durrant, C., Beckmann, K., John, S., Alrefaei, A. F., Kirkbride, K., Bell, D. J., Cunningham, A. A. and Tyler, K. M. (2013). The finch epidemic strain of *Trichomonas gallinae* is predominant in British non-passerines. *Parasitology*, **140**, 1234-1245. doi: 10.1017/s0031182013000930.
- Jakobsen, E. B., Friismøller, A. and Friis, J. (1987). *Trichomonas* species in a subhepatic abscess. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **6**, 296-297. doi: 10.1007/bf02017616.
- Jaquette, D. S. (1950). Hepatic trichomoniasis in esophagotomized pigeons. *Poultry Science*, **29**, 157-158.
- Jaskoski, B. J. (1963). Incidence of oral protozoa. *Transactions of the American Microscopical Society*, **82**, 418. doi: 10.2307/3224205.
- Jian, B., Kolansky, A. S., Baloach, Z. W. and Gupta, P. K. (2008). *Entamoeba gingivalis* pulmonary abscess - Diagnosed by fine needle aspiration. *Cytojournal*, **5**. doi: 10.4103/1742-6413.43179.
- Kalmar J., Chouairy C., Pollan L. and J., S. (1996). Maxillary osteomyelitis and *Entamoeba gingivalis*: Case report and literature review. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, **82**, 205.
- Keller, O., Orland, F. J. and Baird, G. (1967). Ultrastructure of *Entamoeba gingivalis*. *Journal of Dental Research*, **46**, 1010-&. doi: 10.1177/00220345670460050201.
- Kellerova, P. and Tachezy, J. (2017). Zoonotic *Trichomonas tenax* and a new trichomonad species, *Trichomonas brixi* n. sp., from the oral cavities of dogs and cats. *International Journal for Parasitology*, **47**, 247-255. doi: 10.1016/j.ijpara.2016.12.006.
- Kelly-Clark, W. K., McBurney, S., Forzan, M. J., Desmarchelier, M. and Greenwood, S. J. (2013). Detection and characterization of a *Trichomonas* isolate from a rehabilitated bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **44**, 1123-1126. doi: 10.1638/2013-0085r.1.
- Kikuta, N., Yamamoto, A., Fukura, K. and Goto, N. (1997). Specific and sensitive detection of *Trichomonas tenax* by the polymerase chain reaction. *Letters in Applied Microbiology*, **24**, 193-197. doi: 10.1046/j.1472-765X.1997.00379.x.
- Kikuta, N., Yamamoto, A. and Goto, N. (1996). Detection and identification of *Entamoeba gingivalis* by specific amplification of rRNA gene. *Canadian Journal of Microbiology*, **42**, 1248-1251. doi: 10.1139/m96-161.
- Krvavac, S. (1998). Trichomoniasis of the breast diseased by fibrocystic mastopathy: pathogenic rather than saprophytic relationship (*Trichomonas* in fibrocystic mastopathy process). *Medicinski arhiv*, **52**, 143-145.
- Kutisova, K., Kulda, J., Cepicka, I., Flegr, J., Koudela, B., Teras, J. and Tachezy, J. (2005). *Tetratrichomonads* from the oral cavity and respiratory tract of humans. *Parasitology*, **131**, 309-319. doi: 10.1017/s0031182005008000.
- Lashkenari, M. S., Nikpay, A., Soltani, M. and Gerayeli, A. (2020). In vitro antiprotozoal activity of poly(rhodanine)-coated zinc oxide nanoparticles against *Trichomonas gallinae*. *Journal of Dispersion Science and Technology*, **41**, 495-502. doi: 10.1080/01932691.2019.1591972.
- Lawson, B., Cunningham, A. A., Chantrey, J., Hughes, L. A., John, S. K., Bunbury, N., Bell, D. J. and Tyler, K. M. (2011). A clonal strain of *Trichomonas gallinae* is the aetiologic agent of an emerging avian epidemic disease. *Infection Genetics and Evolution*, **11**, 1638-1645. doi: 10.1016/j.meegid.2011.06.007.
- Lehi, A. Y., Shagholani, H., Ghorbani, M., Nikpay, A., Lashkenari, M. S. and Soltani, M. (2019). Chitosan nanocapsule-mounted cellulose nanofibrils as nanoships for smart drug delivery systems and treatment of avian trichomoniasis. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **95**, 290-299. doi: 10.1016/j.jtice.2018.07.014.

- Leterrier, M., Morio, F., Renard, B., Poirier, A. S., Miegville, M. and Chambreuil, G. (2012). Trichomonads in pleural effusion: case report, literature review and utility of PCR for species identification. *New Microbiologica*, **35**, 83-87.
- Levine, N. D. (1961). Protozoan parasites of domestic animals and of man. *Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man*.
- Lewis, K. L., Doherty, D. E., Ribes, J., Seabolt, J. P. and Bensadoun, E. S. (2003). Empyema caused by trichomonas. *Chest*, **123**, 291-292. doi: 10.1378/chest.123.1.291.
- Lopez-Escamilla, E., Sanchez-Aguillon, F., Alatorre-Fernandez, C. P., Aguilar-Zapata, D., Arroyo-Escalante, S., Arellano, T., Moncada-Barron, D., Romero-Valdovinos, M., Martinez-Hernandez, F., Rodriguez-Zulueta, P. and Maravilla, P. (2013). New *Tetratrichomonas* species in two patients with pleural empyema. *Journal of Clinical Microbiology*, **51**, 3143-3146. doi: 10.1128/jcm.01056-13.
- Lumeij, J. T. and Zwijsenbergh, R. J. G. (1990). Failure of nitro-imidazole drugs to control trichomoniasis in the racing pigeon (*Columba livia domestica*). *Avian Pathology*, **19**, 165-166. doi: 10.1080/03079459008418665.
- Luszczak, J., Bartosik, M., Rzymowska, J., Sochaczewska-Dolecka, A., Tomaszek, E., Wysokinska-Miszczuk, J. and Bogucka-Kocka, A. (2016). The occurrence of *Entamoeba gingivalis* among patients with periodontal disease. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, **29**, 86-89. doi: 10.1515/cipms-2016-0017.
- Malekifard, F., Tavassoli, M. and Alimoradi, M. (2021). In vitro assessment of anti-*Trichomonas* effects of *Zingiber officinale* and *Lavandula angustifolia* alcoholic extracts on *Trichomonas gallinae*. *Veterinary Research Forum*, **12**, 95-100. doi: 10.30466/vrf.2019.102620.2444.
- Malik, S. B., Brochu, C. D., Bilic, I., Yuan, J., Hess, M., Logsdon, J. M. and Carlton, J. M. (2011). Phylogeny of parasitic parabasalia and free-living relatives inferred from conventional markers vs. Rpb1, a single-copy gene. *Plos One*, **6**. doi: 10.1371/journal.pone.0020774.
- Mallat, H., Podglajen, I., Lavarde, W., Mainardi, J. L., Frappier, K. and Cornet, M. (2004). Molecular characterization of *Trichomonas tenax* causing pulmonary infection. *Journal of Clinical Microbiology*, **42**, 3886-3887. doi: 10.1128/jcm.42.8.3886-3887.2004.
- Mantini, C., Souppart, L., Noel, C., Duong, T. H., Mornet, M., Carroger, G., Dupont, P., Masseret, E., Goustille, J., Capron, M., Duboucher, C., Dei-Cas, E. and Viscogliosi, E. (2009). Molecular characterization of a new *Tetratrichomonas* species in a patient with empyema. *Journal of Clinical Microbiology*, **47**, 2336-2339. doi: 10.1128/jcm.00353-09.
- Maritz, J. M., Land, K. M., Carlton, J. M. and Hirt, R. P. (2014). What is the importance of zoonotic trichomonads for human health? *Trends in Parasitology*, **30**, 333-341. doi: 10.1016/j.pt.2014.05.005.
- Martinez-Diaz, R. A., Ponce-Gordo, F., Rodriguez-Arce, I., del Martinez-Herrero, M. C., Gonzalez, F. G., Molina-Lopez, R. A. and Gomez-Munoz, M. T. (2015). *Trichomonas gypaetini* n. sp., a new trichomonad from the upper gastrointestinal tract of scavenging birds of prey. *Parasitology Research*, **114**, 101-112. doi: 10.1007/s00436-014-4165-5.
- Martinez-Herrero, M. C., Garijo-Toledo, M. M., Liebhart, D., Ganas, P., Martinez-Diaz, R. A., Ponce-Gordo, F., Carrero-Ruiz, A., Hess, M. and Gomez-Munoz, M. T. (2017). Novel avian oropharyngeal trichomonads isolated from European turtle doves (*Streptopelia turtur*) and racing pigeons (*Columba livia*): genetic and morphometric characterisation of clonal cultures. *Infection Genetics and Evolution*, **55**, 93-103. doi: 10.1016/j.meegid.2017.08.028.
- Martinez-Herrero, M. C., Sansano-Maestre, J., Azami-Conesa, I., Gonzalez-Gonzalez, F., Regalado, L. S., Garijo-Toledo, M. M. and Gomez-Munoz, M. T. (2021). Sequence subtyping of *Trichomonas gallinae* from Bonelli's eagle (*Aquila fasciata*) during four years (2014-2017) reveals that MLS type is associated with lesions. *Avian Pathology*, **50**, 339-349. doi: 10.1080/03079457.2021.1940099.
- Martinez-Herrero, M. C., Sansano-Maestre, J., Lopez Marquez, I., Obon, E., Ponce, C., Gonzalez, J., Garijo-Toledo, M. M. and Gomez-Munoz, M. T. (2014). Genetic characterization of oropharyngeal trichomonad isolates from wild birds indicates that genotype is associated with host species, diet and presence of pathognomonic lesions. *Avian Pathology*, **43**, 535-546. doi: 10.1080/03079457.2014.967660.

- Martinez-Herrero, M. D., Garijo-Toledo, M. M., Gonzalez, F., Bilic, I., Liebhart, D., Ganas, P., Hess, M. and Gomez-Munoz, M. T.** (2019a). Membrane associated proteins of two *Trichomonas gallinae* clones vary with the virulence. *Plos One*, **14**. doi: 10.1371/journal.pone.0224032.
- Martinez-Herrero, M. D., Gonzalez-Gonzalez, F., Lopez-Marquez, I., Garcia-Pena, F. J., Sansano-Maestre, J., Martinez-Diaz, R. A., Ponce-Gordo, F., Garijo-Toledo, M. M. and Gomez-Munoz, M. T.** (2019b). Oropharyngeal trichomonosis due to *Trichomonas gypaetini* in a cinereous vulture (*Aegypius monachus*) fledgling in Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, **55**, 153-157. doi: 10.7589/2017-11-274.
- Marty, M., Lemaitre, M., Kemoun, P., Morrier, J. J. and Monsarrat, P.** (2017). *Trichomonas tenax* and periodontal diseases: a concise review. *Parasitology*, **144**, 1417-1425. doi: 10.1017/s0031182017000701.
- McBurney, S., Kelly-Clark, W. K., Forzan, M. J., Vanderstichel, R., Teather, K. and Greenwood, S. J.** (2017). Persistence of *Trichomonas gallinae* in birdseed. *Avian Diseases*, **61**, 311-315. doi: 10.1637/11545-113016-RegR1.
- McKeon, T., Dunsmore, J. and Raidal, S. R.** (1997). *Trichomonas gallinae* in budgerigars and columbid birds in Perth, Western Australia. *Australian Veterinary Journal*, **75**, 652-655. doi: 10.1111/j.1751-0813.1997.tb15363.x.
- McNeill, R. E. and Demoraesruehsen, M.** (1978). Ameba trophozoites in cervico-vaginal smear of a patient using an intrauterine device. A case report. *Acta Cytologica*, **22**, 91-92.
- Mehlhorn, H., Al-Quraishy, S., Aziza, A. and Hess, M.** (2009). Fine structure of the bird parasites *Trichomonas gallinae* and *Tetratrichomonas gallinarum* from cultures. *Parasitology Research*, **105**, 751-756. doi: 10.1007/s00436-009-1451-8.
- Merling de Chapa, M., Auls, S., Kenntner, N. and Krone, O.** (2021). To get sick or not to get sick- *Trichomonas* infections in two Accipiter species from Germany. *Parasitology Research*, **120**, 3555-3567.
- Mielnik-Blaszczak, M., Rzymowska, J., Michalowski, A., Skawinska-Bednarczyk, A. and Blaszczyk, J.** (2018). *Entamoeba gingivalis* - prevalence and correlation with dental caries in children from rural and urban regions of Lublin Province, Eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, **25**, 656-658. doi: 10.26444/aaem/80403.
- Müller, M., Mentel, M., van Hellemond, J. J., Henze, K., Woehle, C., Gould, S. B., Yu, R.-Y., van der Giezen, M., Tielens, A. G. and Martin, W. F.** (2012). Biochemistry and evolution of anaerobic energy metabolism in eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **76**, 444-495.
- Müller, O. F.** (1773). *Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorum, helminthicorum et testaceorum non marinorum succincta historia*, Heineck et Faber.
- Munoz, E., Castella, J. and Gutierrez, J. F.** (1998). In vivo and in vitro sensitivity of *Trichomonas gallinae* to some nitroimidazole drugs. *Veterinary Parasitology*, **78**, 239-246. doi: 10.1016/s0304-4017(98)00164-2.
- Nagao, E., Yamamoto, A., Igarashi, T., Goto, N. and Sasa, R.** (2000). Two distinct hemolysins in *Trichomonas tenax* ATCC 30207. *Oral Microbiology and Immunology*, **15**, 355-359. doi: 10.1034/j.1399-302x.2000.150603.x.
- Narcisi, E., Sevoian, M. and Honigberg, B.** (1991). Pathologic changes in pigeons infected with a virulent *Trichomonas gallinae* strain (Eiberg). *Avian Diseases*, 55-61.
- Niedringhaus, K. D., Burchfield, H. J., Elsmo, E. J., Cleveland, C. A., Fenton, H., Shock, B. C., Muise, C., Brown, J. D., Munk, B., Ellis, A., Hall, R. J. and Yabsley, M. J.** (2019). Trichomonosis due to *Trichomonas gallinae* infection in barn owls (*Tyto alba*) and barred owls (*Stria varia*) from the eastern United States. *Veterinary Parasitology- Regional Studies and Reports*, **16**. doi: 10.1016/j.vprsr.2019.100281.
- Ozum, U., Karadag, O., Egilmez, R., Engin, A., Oztoprak, I. and Ozcelik, S.** (2008). A case of brain abscess due to *Entamoeba* species, *Eikenella corrodens* and *Prevotella* species. *British Journal of Neurosurgery*, **22**, 596-598. doi: 10.1080/02688690801894646.
- Park, F. J.** (2011). Avian trichomoniasis: a study of lesions and relative prevalence in a variety of captive and free-living bird species as seen in an Australian avian practice. *Australian Veterinary Journal*, **89**, 82-88. doi: 10.1111/j.1751-0813.2010.00681.x.

- Patel, N., Colyer, A., Harris, S., Holcombe, L. and Andrew, P. (2017). The prevalence of canine oral protozoa and their association with periodontal disease. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **64**, 286-292.
- Pennycott, T., Lawson, B., Cunningham, A., Simpson, V. and Chantrey, J. (2005). Necrotic ingluvitis in wild finches. *Veterinary Record*, **157**, 360-360. doi: 10.1136/vr.157.12.360.
- Pereira-Neves, A., Ribeiro, K. C. and Benchimol, M. (2003). Pseudocysts in trichomonads - New insights. *Protist*, **154**, 313-329. doi: 10.1078/143446103322454095.
- Perez-Jaffe, L., Katz, R. and Gupta, P. K. (1998). *Entamoeba gingivalis* identified in a left upper neck nodule by fine-needle aspiration: A case report. *Diagnostic Cytopathology*, **18**, 458-461. doi: 10.1002/(sici)1097-0339(199806)18:6<458::Aid-dc15>3.0.Co;2-g.
- Purple, K., Amacker, T., Williams, C. and Gerhold, R. (2019). Artificially decreased dissolved oxygen increases the persistence of *Trichomonas gallinae* in water. *International Journal for Parasitology-Parasites and Wildlife*, **9**, 100-103. doi: 10.1016/j.ijppaw.2019.04.002.
- Purple, K. E. and Gerhold, R. W. (2015). Persistence of two Isolates of *Trichomonas gallinae* in simulated bird baths with and without organic material. *Avian Diseases*, **59**, 472-474. doi: 10.1637/11089-041115-Reg.1.
- Purple, K. E., Humm, J. M., Kirby, R. B., Saidak, C. G. and Gerhold, R. (2015). *Trichomonas gallinae* persistence in four water treatments. *Journal of Wildlife Diseases*, **51**, 739-742. doi: 10.7589/2014-05-137.
- Quillfeldt, P., Schumm, Y. R., Marek, C., Mader, V., Fischer, D. and Marx, M. (2018). Prevalence and genotyping of *Trichomonas* infections in wild birds in central Germany. *Plos One*, **13**. doi: 10.1371/journal.pone.0200798.
- Ramesh, K., Samander, K. and Suman (2021). Nano-curcumin: A potential herbal alternative with enhanced anti-*E. gingivalis* efficacy. *Research Journal of Biotechnology*, **16**, 51-56.
- Renteria-Solis, Z., Tran, N. H. B., Taha, S. and Dauschies, A. (2020). A SYBR green I real-time polymerase chain reaction (PCR) assay for detection and quantification of *Trichomonas gallinae*. *Parasitology Research*, **119**, 3909-3913. doi: 10.1007/s00436-020-06887-x.
- Rezaee, H., Ghorbani, M., Nikpay, A. and Soltani, M. (2019). Tannic acid-coated zeolite Y nanoparticles as novel drug nanocarrier with controlled release behavior and anti-protozoan activity against *Trichomonas gallinae*. *Journal of Dispersion Science and Technology*, **40**, 587-593. doi: 10.1080/01932691.2018.1475240.
- Ribaux, C. L., Magloire, H., Joffre, A. and Morrier, J. J. (1983). Immunohistochemical localization of fibronectin-like protein on the cell-surface of the oral flagellate *Trichomonas tenax*. *Journal De Biologie Buccale*, **11**, 41-51.
- Ribeiro, L. C., Santos, C. and Benchimol, M. (2015). Is *Trichomonas tenax* a parasite or a commensal? *Protist*, **166**, 196-210. doi: 10.1016/j.protis.2015.02.002.
- Rivolta, S. (1878). Una forma di croup prodotta da un infusorio, nei polli. *G Anatom Fisiol e Patol Animal*, **10**, 149-154.
- Robinson, R. A., Lawson, B., Toms, M. P., Peck, K. M., Kirkwood, J. K., Chantrey, J., Clatworthy, I. R., Evans, A. D., Hughes, L. A. and Hutchinson, O. C. (2010). Emerging infectious disease leads to rapid population declines of common British birds. *Plos One*, **5**, e12215.
- Rogers, K. H., Girard, Y. A., Woods, L. W. and Johnson, C. K. (2018). Avian trichomonosis mortality events in band-tailed pigeons (*Patagioenas fasciata*) in California during winter 2014-2015. *International Journal for Parasitology-Parasites and Wildlife*, **7**, 261-267. doi: 10.1016/j.ijppaw.2018.06.006.
- Rosa, J. A. A., Fernandez, M. D., Vieira, I. S., Madi, R. R., de Melo, C. M. and Oliveira, C. C. D. (2020). Detection of oral *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in adult Quilombola population with periodontal disease. *Odovtos International Journal of Dental Sciences*, **22**, 157-164. doi: 10.15517/ijds.2020.40888.
- Rouffaer, L. O., Adriaensen, C., De Boeck, C., Claerebout, E. and Martel, A. (2014). Racing pigeons: A reservoir for nitro-imidazole-resistant *Trichomonas gallinae*. *Journal of Parasitology*, **100**, 360-363. doi: 10.1645/13-359.1.

- Rousset, J., Laissus, B. and Michel, C. (1970). Preliminary data on canine enzootics due to *Trichomonas canistomae* and *Entamoeba gingivalis* in Parisian dogs. *Comptes Rendus Des Seances De La Societe De Biologie Et De Ses Filiales*, **164**, 2468-2469.
- Samour, J. H. and Naldo, J. L. (2003). Diagnosis and therapeutic management of trichomoniasis in falcons in Saudi Arabia. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, **17**, 136-143. doi: 10.1647/2001-047.
- Sansano-Maestre, J., del Carmen Martínez-Herrero, M., Garijo-Toledo, M. M. and Gómez-Muñoz, M. T. (2016). RAPD analysis and sequencing of ITS1/5.8 S rRNA/ITS2 and Fe-hydrogenase as tools for genetic classification of potentially pathogenic isolates of *Trichomonas gallinae*. *Research in Veterinary Science*, **107**, 182-189.
- Sansano-Maestre, J., Garijo-Toledo, M. M. and Gomez-Munoz, M. T. (2009). Prevalence and genotyping of *Trichomonas gallinae* in pigeons and birds of prey. *Avian Pathology*, **38**, 201-207. doi: 10.1080/03079450902912135.
- Seddiek, S. A., El-Shorbagy, M. M., Khater, H. F. and Ali, A. M. (2014). The antitrichomonal efficacy of garlic and metronidazole against *Trichomonas gallinae* infecting domestic pigeons. *Parasitology Research*, **113**, 1319-1329. doi: 10.1007/s00436-014-3771-6.
- Shiota, T., Arizono, N., Morimoto, T., Shimatsu, A. and Nakao, K. (1998). *Trichomonas tenax* empyema in an immunocompromised patient with advanced cancer. *Parasite*, **5**, 375-377. doi: 10.1051/parasite/1998054375.
- Schöl, H., Beelitz, P. and Gothe, R. (1992). Trichomonaden-Infektionen der Mundhöhle bei Pferden in Süddeutschland. *Tierärztliche Praxis-Munich Then Stuttgart*, **20**, 608-610.
- Silvanose, C., Samour, J., Naldo, J. and Bailey, T. (1998). Oro-pharyngeal protozoa in captive bustards: Clinical and pathological considerations. *Avian Pathology*, **27**, 526-530.
- Simitch, T. (1938). Sur une amibe buccale du chien *Entamæba canibuccalis* n. sp. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **16**, 251-253.
- Simitch, T. (1939). *Trichomonas equibuccalis* n. sp. parasite de la bouche du cheval et de l'âne. *Rivista di Parasitologia*, **III**.
- Simitch, T. and Kostitch, D. (1938). Présence de *Trichomonas canistomae* Hegner et Ratcliff chez les chiens de la Serbie du sud. Sa différenciation d'avec *Trichomonas elongata* Steinberg. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **16**, 33-35.
- Smith, A. J. and Barrett, M. (1915). The parasite of oral endamebiasis, *Endameba gingivalis* (Gros). *The Journal of Parasitology*, **1**, 159-174.
- Stabler, R. M. (1941). Further studies on trichomoniasis in birds. *The Auk*, **58**, 558-562.
- Stabler, R. M. (1947). *Trichomonas gallinae*, pathogenic trichomonad of birds. *The Journal of Parasitology*, **33**, 207-213.
- Stabler, R. M. (1954). *Trichomonas gallinae*: a review. *Experimental Parasitology*, **3**, 368-402.
- Stabler, R. M. and Engley, F. B. (1946). Studies on *Trichomonas gallinae* infections in pigeon squabs. *The Journal of Parasitology*, **32**, 225-232.
- Stabler, R. M., King, V. M. and Honigberg, B. M. (1964). Effect of certain laboratory procedures on virulence of the Jones' Barn strain of *Trichomonas gallinae* for pigeon. *Journal of Parasitology*, **50**, 36-&. doi: 10.2307/3276023.
- Stensvold, C. R., Nielsen, M., Baraka, V., Lood, R., Fuursted, K. and Nielsen, H. V. (2021). *Entamoeba gingivalis*: epidemiology, genetic diversity and association with oral microbiota signatures in North Eastern Tanzania. *Journal of Oral Microbiology*, **13**. doi: 10.1080/20002297.2021.1924598.
- Szczepaniak, K., Lojszczyk-Szczepaniak, A., Tomczuk, K., Skrzypek, T., Lisiak, B. and Abbass, Z. A. (2016). Canine *Trichomonas tenax* mandibular gland infestation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **58**. doi: 10.1186/s13028-016-0197-4.
- Tabari, M. A., Pozniak, B., Abrishami, A., Moradpour, A. A., Shahavi, M. H., Kazemi, S. and Youssefi, M. R. (2021). Antitrichomonal activity of metronidazole-loaded lactoferrin nanoparticles in pigeon trichomoniasis. *Parasitology Research*, **120**, 3263-3272. doi: 10.1007/s00436-021-07263-z.
- Tabari, M. A. and Youssefi, M. R. (2018). In vitro and in vivo evaluations of *Pelargonium roseum* essential oil activity against *Trichomonas gallinae*. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, **8**, 136-142.

- Tabari, M. A., Youssefi, M. R. and Moghadamnia, A. A.** (2017). Antitrichomonal activity of *Peganum harmala* alkaloid extract against trichomoniasis in pigeon (*Columba livia domestica*). *British Poultry Science*, **58**, 236-241. doi: 10.1080/00071668.2017.1280725.
- Tasca, T. and De Carli, G. A.** (2003). Scanning electron microscopy study of *Trichomonas gallinae*. *Veterinary Parasitology*, **118**, 37-42. doi: 10.1016/j.vetpar.2003.09.009.
- Tavassoli, M., Imani, A., Tajik, H., Moradi, M. and Pourseyed, S. R.** (2012). Novel in vitro efficiency of chitosan biomolecule against *Trichomonas gallinae*. *Iranian Journal of Parasitology*, **7**, 92-96.
- Tomikawa, S., Nakagun, S., Watanabe, Y., Saito, K. and Kobayashi, Y.** (2021). Molecular characterization of *Trichomonas gypaetini* isolated from the upper alimentary tract of Steller's sea eagles (*Haliaeetus pelagicus*) and white-tailed sea eagles (*Haliaeetus albicilla*) in Hokkaido, Japan. *Parasitology Research*, **120**, 2189-2198. doi: 10.1007/s00436-021-07160-5.
- Trim, R. D., Skinner, M. A., Farone, M. B., DuBois, J. D. and Newsome, A. L.** (2011). Use of PCR to detect *Entamoeba gingivalis* in diseased gingival pockets and demonstrate its absence in healthy gingival sites. *Parasitology Research*, **109**, 857-864. doi: 10.1007/s00436-011-2312-9.
- Wantland, W. W., Wantland, E. M. and Remo, J. W.** (1961). Cytology and morphogenesis of *Entamoeba gingivalis*. *Journal of Dental Research*, **40**, 624-&. doi: 10.1177/00220345610400033301.
- Wantland, W. W., Winquist, D. L. and Wantland, E. M.** (1963). Collection, identification, and cultivation of oral protozoa. *Journal of Dental Research*, **42**, 1234-&. doi: 10.1177/00220345630420051801.
- Wu, Y. H., Ye, Y. Z., Yang, Y. L., Yang, W. G., Lin, J. Y. and Cao, K.** (2021). Pyopneumothorax from coinfection by *Trichomonas tenax* and *Geotrichum capitatum* in a child from China: a case report. *Bmc Infectious Diseases*, **21**. doi: 10.1186/s12879-021-06539-0.
- Yamamoto, A., Asaga, E., Nagao, E., Igarashi, T. and Goto, N.** (2000). Characterization of the cathepsin B-like proteinases of *Trichomonas tenax* ATCC 30207. *Oral Microbiology and Immunology*, **15**, 360-364. doi: 10.1034/j.1399-302x.2000.150604.x.
- Yamamoto, A., Kikuta, N., Hashimoto, T., Oyaizu, H. and Goto, N.** (1995). Nucleotide sequence of the SrRNA gene of *Entamoeba gingivalis*: Applications for construction of a species-specific DNA probe and phylogenetic analysis. *Microbiology and Immunology*, **39**, 185-192. doi: 10.1111/j.1348-0421.1995.tb02187.x.
- Yaseen, A., Mahafzah, A., Dababseh, D., Taim, D., Hamdan, A. A., Al-Fraihat, E., Hassona, Y., Sahin, G. O., Santi-Rocca, J. and Sallam, M.** (2021). Oral colonization by *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax*: A PCR-based study in health, gingivitis, and periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **11**. doi: 10.3389/fcimb.2021.782805.
- Youssefi, M., Tabari, M. A. and Moghadamnia, A.** (2017). In vitro and in vivo activity of *Artemisia sieberi* against *Trichomonas gallinae*. *Iranian Journal of Veterinary Research*, **18**, 25.
- Zaffino, M., Dubar, M., Debourgogne, A., Bisson, C. and Machouart, M.** (2019). Development of a new TaqMan PCR assay for the detection of both *Entamoeba gingivalis* genotypes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **95**. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.114886.
- Zimre-Grabensteiner, E., Arshad, N., Amin, A. and Hess, M.** (2011). Genetically different clonal isolates of *Trichomonas gallinae*, obtained from the same bird, can vary in their drug susceptibility, an in vitro evidence. *Parasitology International*, **60**, 213-215.
- Zvetkova A, Isev V and R, S.** (1988). Humoral immune response against *Trichomonas tenax* in patients with chronic catarrhal gingivitis before and after specific Fasigyn treatment. *Stomatologia*, **70**, 4-8.

5 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

18S rRNA	malá podjednotka ribozomu
5,8S rRNA	velká podjednotka ribozomu
IL-8	interleukin 8
ITS1	internal transcribed spacer 1
ITS2	internal transcribed spacer 2
LMH	leghorn male hepatoma
LSSP-PCR	low-stringency single specific primer PCR
NDP	nukleosid-difosfát
NMP	nukleosid-monofosfát
NTP	nukleosid-trifosfát
PCR	polymerase chain reaction
QT35	quail tumor
Rpb1	malá podjednotka RNA polymerázy II
TNF	tumor necrosis factor