

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Kamila Pařízková

Krevní paraziti lesních kopytníků se zaměřením na rod *Plasmodium*
Blood parasites (namely genus *Plasmodium*) of game ungulates

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jan Votýpka, Ph.D.

Praha, 2019

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 15. srpna 2019

Podpis:

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Janu Votýpkovi, Ph.D. za jeho ochotu, trpělivost a poskytnuté rady k mé bakalářské práci. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a nejbližším, kteří mě v psaní práce podporovali.

Abstrakt

Haematozoa je skupina prvoků parazitujících u savců, ptáků a plazů, pro které je charakteristický vývoj v krevních buňkách. Někteří zástupci třídy Haematozoa mohou způsobit závažná onemocnění lidí a ztráty v chovech hospodářských a domácích zvířat. U kopytníků se vyskytují tři rody krevních parazitů – *Theileria*, *Babesia* a *Plasmodium*. Tato práce je zaměřena především na rod *Plasmodium* u lesních kopytníků. Přenašečem těchto parazitů u kopytníků jsou komáři rodu *Anopheles*. Areál výskytu plasmodií u kopytníků zasahoval až donedávna pouze do Starého Světa, kde byly popsány druhy *P. cephalophi*, *P. bubalis* a *P. caprae*. Tyto druhy byly tradičně popisovány na základě své morfologie pod světelným mikroskopem. Objev molekulárních metod umožnil podrobnější popis a objevení nového druhu *P. odocoilei* u jelenovitých v Severní a v Jižní Americe. V práci jsou shrnuty dosavadní informace vztahující se k výskytu krevních parazitů u lesních kopytníků.

Klíčová slova: *Plasmodium*, *Babesia*, *Theileria*, kopytníci

Abstract

Haematozoa is a group of protozoa parasitizing in mammals, birds and reptiles that are characterized by development in blood cells. Some representatives of the Haematozoa class may cause serious human illnesses and losses in livestock and domestic animals. In ungulates there are three genera of blood parasites - *Theileria*, *Babesia* and *Plasmodium*. This thesis is focused mainly on the genus *Plasmodium* in forest ungulates. The vectors of these parasites in ungulates are mosquitoes of the genus *Anopheles*. Until recently, the area of *Plasmodium* in ungulates only reached the Old World, where *P. cephalophi*, *P. bubalis* and *P. caprae* were described. These species have traditionally been described on the basis of their morphology under a light microscope. The discovery of molecular methods has allowed a more detailed description and discovery of a new species of *P. odocoilei* in cervids in North and South America. The paper summarizes the present information related to the occurrence of blood parasites in forest ungulates.

Key words: *Plasmodium*, *Babesia*, *Theileria*, ungulates

Seznam použitých zkratk:

Asl	Adenylosuccinate lyase
ClpC	Caseinolytic protease
Cox1	Cytochrome c oxidase subunit 1
Cytb	Cytochrome b
ECT	East Coast fever
PCR	Polymerase Chain Reaction

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Třída Haematozoa.....	1
2.1 Obecná charakteristika rodu <i>Babesia</i>	3
2.2 Obecná charakteristika rodu <i>Theileria</i>	4
2.3 Obecná charakteristika rodu <i>Plasmodium</i>	5
3 <i>Plasmodium</i> u kopytníků.....	5
3.1 Objev a znovuobjevení.....	5
3.2 Fylogenetické postavení.....	6
3.3 Přenašeči.....	7
3.4 Erytrocytární vývoj.....	8
3.5 Klinické příznaky.....	9
3.6 Výskyt a geografické rozšíření.....	10
3.6.1 <i>Plasmodium cephalophi</i>	11
3.6.2 <i>Plasmodium caprae</i>	12
3.6.3 <i>Plasmodium bubalis</i>	12
3.6.4 <i>Plasmodium odocoilei</i>	13
4 <i>Babesia</i> u kopytníků.....	14
4.1 <i>Babesia bovis</i>	14
4.2 <i>Babesia divergens</i>	15
4.3 <i>Babesia bigemina</i>	16
4.4 <i>Babesia odocoilei</i>	16
4.5 <i>Babesia capreoli</i>	17
4.6 <i>Babesia venatorum</i>	17
5 <i>Theileria</i> u kopytníků.....	18
5.1 <i>Theileria cervi</i>	18
5.2 <i>Theileria uilenbergi</i>	19
5.3 <i>Theileria luwenshuni</i>	19
5.4 <i>Theileria capreoli</i>	20
6 Závěr.....	20
7 Seznam literatury.....	22

1 Úvod

Rod *Plasmodium* náleží spolu s rody *Babesia* a *Theileria* do třídy Haematozoa, která zahrnuje významné zástupce způsobující onemocnění člověka a domácích i volně žijících zvířat. Přenašeči plasmodií jsou různé rody komárů, a to v závislosti na skupině obratlovčích hostitelů, u kterých se paraziti přirozeně vyskytují.

Plasmodium je krevním parazitem u široké škály obratlovců – typickými hostiteli jsou savci (např. hlodavci a primáti), ptáci a plazi.

Nemalou skupinu hostitelů však tvoří i kopytníci. Narozdíl od ostatních savčích hostitelů je výzkum parazitů rodu *Plasmodium* u kopytníků komplikován jejich většinou nízkou parazitémií, mající za následek že k jejich detekci většinou nepostačují pouze mikroskopické metody. Díky metodám molekulárních technik došlo v posledních letech k objevení a znovuobjevení několika druhů plasmodií u kopytníků ve Starém i Novém světě. Přesto však studií a relevantních informací o kopytnících jako hostitelích rodu *Plasmodium* není mnoho.

Ve své práci se proto soustředí na přehled dosavadních informací vztahujících se k výskytu krevních parazitů skupiny Haematozoa, zejména pak rodu *Plasmodium* u kopytníků a to především u zástupců jelenovitých a dalších lesních kopytníků. Součástí literární rešerše je také obecná charakteristika rodu *Plasmodium* a dalších blízkých příbuzných rodů krevních parazitů a přehled jejich výskytu u lesních kopytníků.

2 Třída Haematozoa

Třída Haematozoa náleží do kmene Apicomplexa, který je pojmenován podle apikálního komplexu. Apikální komplex je soubor organel sloužící ke vniknutí do hostitelské buňky. Zástupci třídy Haematozoa jsou dvouhostitelští paraziti (Volf & Horák, 2007).

Třída Haematozoa obsahuje řád Haemosporida a řád Piroplasmida.

Zástupci řádu Haemosporida jsou obligátní heteroxenní paraziti infikující obojživelníky, plazy, ptáky a savce. Hlavním přenašečem těchto parazitů je krevsající hmyz z řádu Diptera (Valkiūnas, 2005). Z neznámějších rodů sem náleží *Haemoproteus*, jehož přenašečem jsou tiplíci (čeleď Ceratopogonidae) a kloši (čeleď Hippoboscidae), rod *Leucocytozoon* přenášený muchničkami (čeleď Simuliidae) a tiplíky (čeleď Ceratopogonidae) a rod *Plasmodium*. Rod *Plasmodium* je přenášený komáry (čeleď

Culicidae) rodů *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, flebotomy (čeleď Psychodidae) rodů *Phlebotomus*, *Lutzomyia* a tiplíky (čeleď Ceratopogonidae) rodu *Culicoides* (Archibald et al., 2017). V životním cyklu Haemosporida se merogonie odehrává u obratlovců, zatímco sporogonie u krevsajících dvoukřídlých (Valkiūnas, 2005). Následující cyklus je popsán na rodu *Plasmodium*. Při bodnutí dvoukřídlým hmyzem dochází k injikaci sporozoitů do krevního řečiště. Sporozoiti se přesouvají do jaterních buněk, kde se transformují do exoerytrocytárních merozoitů. Merozoiti dále pronikají do erytrocytů a mění se v meronty. K tvorbě gametocytů dochází pouze v červených krvinkách. V tuto chvíli je krev infekční pro přenašeče. Při nasátí se do těla vektora dostanou gametocyty, z nichž se v trávicím traktu vyvinou gamety. Splynutím gamet vznikají pohyblivé zygoty (ookinety). Ookinet se přichytí na stěnu střeva a transformuje se do oocysty plné sporozoitů. Sporozoiti migrují do slinných žláz komára, aby při jeho příštím sání mohli infikovat dalšího hostitele (Archibald et al., 2017).

Řád Piropasmida představuje krevní parazity způsobující vážné onemocnění zvířat (i lidí), které vedou k významným ekonomickým ztrátám v subtropích a tropech (Mehlhorn & Schein, 1985). Jedná se o rod *Babesia*, *Theileria* a *Cytauxzoon* (Jalovecka et al., 2019). Jako vektory byly doposud identifikovány pouze klíšťata (čeleď Ixodidae). Pro většinu zástupců řádu Piropasmida jsou však přenašeči zatím neznámí (Archibald et al., 2017). Životní cyklus řádu Piropasmida zahrnuje merogonii, gamogonii a sporogonii. Infikované klíště při sání na hostiteli spolu se slinami uvolňuje sporozoity. Ty následně infikují erytrocyty, kde se nepohlavně dělí. V erytrocytech se vyvíjí merozoiti, kteří opouští hostitelskou buňku a napadají další červené krvinky. To se mnohokrát opakuje. Někteří meronti se uvnitř červené krvinky přemění v gametocyty, které čekají na nasátí klíštětem. Po nasátí infikovaných krvinek dochází ve střevě klíštěte k pohlavnímu množení a vznikají gamety. Gamety splynou v zygotu, která opouští střevní buňku a je hemolymfou transportována do slinných žláz, kde probíhá sporogonie. Vyvíjející se sporozoiti jsou infekční pro obratlovce (Archibald et al., 2017). Jednotlivé odlišnosti v životním cyklu rodů *Babesia* a *Theileria* jsou uvedeny v kapitolách 2.1 a 2.2.

Z těchto dvou řádů infikují kopytníky 3 rody krevních parazitů – rod *Babesia*, rod *Theileria* a rod *Plasmodium*.

2.1 Obecná charakteristika rodu *Babesia*

Za objevitele rodu *Babesia* je považován Victor Babeş, který tyto parazity identifikoval v krvi ovcí a skotu v roce 1888 v Rumunsku (Kreier, 1977). V roce 1893 Kilborne a Smith odhalili původce texaské horečky skotu a za přenašeče onemocnění označili klíšťata (Smith & Kilborne, 1893). Jednalo se tedy o první případ, kdy byl prokázán přenos parazitů na obratlovce členovci.

Babesia je kosmopolitně rozšířený parazit erytrocytů. Neformálně se *Babesia* rozděluje podle velikosti trofozoitů na dvě morfologicky odlišné skupiny, a to na tzv. malé babesie s velikostí trofozoitů 1,5 – 2 µm (např. *B. gibsoni*, *B. microti*, *B. rodhaini*) a tzv. velké babesie s velikostí trofozoitů 2,5 – 5 µm (např. *B. bovis*, *B. caballi*, *B. canis*). V životním cyklu není zygota roznášena pouze do slinných žláz klíštěte, jako tomu je u rodu *Theileria*, ale i do vaječníků, díky čemuž dochází k transovariálnímu přenosu parazitů (Homer et al., 2000) do dalších generací klíšťat.

Babesia způsobují onemocnění zvané babesióza. Babesiózou mohou onemocnět nejen zvířata, ale i lidé – jedná se tedy o zoonotické onemocnění. Významné *Babesia* jsou především ty, které způsobují těžká až smrtelná onemocnění hospodářských a domácích zvířat – např. skotu (*B. bovis*, *B. bigemina*), koní (*B. equi*) a psů (Homer et al., 2000). Původců psí babesiózy je několik, ve středoevropských podmínkách se jedná především o *B. canis canis* přenášený pijákem lužním (*Dermacentor reticulatus*) (Kubelová & Široký, 2010). Klinické případy způsobené *B. canis* jsou opakovaně hlášené i v České republice. V posledních desetiletích se psí babesióza stala lokálně endemickou ve všech zemích hraničních s Českou republikou (Mitkova et al., 2017). V České republice dochází k vzestupu případů tohoto onemocnění v důsledku cestovního ruchu, nejčastěji ze Středomoří (Svobodová & Svobodová, 2004). V ČR jsou hlášeny i autochtonní případy, což představuje problém vzhledem k závažnosti této infekce u psů (Mitkova et al., 2017). Onemocnění se projevuje horečkou, anémií, hematurií, zduřením jater a sleziny. Jedná se o zoonózu, zdrojem infekce pro klíšťata jsou tedy zvířata. Člověka mohou infikovat 3 druhy – *B. divergens*, *B. microti* a *B. bovis*. Babesióza u lidí byla poprvé zdokumentována v roce 1957 v bývalé Jugoslávii. Od té doby bylo zaznamenáno několik případů lidské babesiózy, kdy hlavním rizikovým faktorem byla splenektomie, která byla zjištěna u většiny pacientů s babesiózou (Brasseur & Gorenflot, 1992). Nejvíce případů lidské babesiózy je z Nového světa, kde způsobuje závažná onemocnění u lidí se sníženou imunitou nebo po již zmíněné splenektomii (Archibald et al., 2017). Infekce se vyskytuje hlavně od pozdního jara až do

počátku podzimu, kdy je klíště nejvíce aktivní (Brasseur & Gorenflot, 1992). V Evropě je většina infekcí způsobena *B. bovis* a *B. microti*, přičemž infekce u člověka způsobená *B. microti* je vzácná.

Výskyt babesiózy je vázán na geografické rozšíření příslušného vektora. V Evropě se se psí babesiózou setkáme zejména ve Středomoří, kde je jejím přenašečem klíště *Rhipicephalus sanguineus*. Naopak severněji od této oblasti se vyskytuje klíště *Dermacentor reticulatus*, které zde působí také jako přenašeč *Babesia canis* (Svobodová & Svobodová, 2004). V USA je babesióza běžná v oblastech, kde se nachází klíště *Ixodes scapularis*, které přenáší parazita *B. microti*. V Evropě je *B. microti* vázána na klíště obecné (*Ixodes ricinus*) (Meer-Scherrer et al., 2004). *B. divergens* je omezena pouze na chladnější oblasti severní Evropy a jejím výhradním přenašečem je klíště obecné (*Ixodes ricinus*) (Ristic, 1988). V subtropických a tropických oblastech patří mezi nejdůležitější klíš'ata skotu *Rhipicephalus annulatus* a *Rhipicephalus microplus*. Tyto klíš'ata jsou považovány za hlavní přenašeče *B. bovis* a *B. bigemina* (Bock et al, 2004).

2.2 Obecná charakteristika rodu *Theileria*

Theileria je parazit nejen erytrocytů, ale i lymfatických tkání obratlovců, čímž se liší od rodu *Babesia*. První merogonie probíhá v lymfocytech nebo makrofázích, v nichž se následně vyvíjí schizonti, kteří infikují červené krvinky. *Theileria* dosahuje velikosti pouze 1 – 2 μm (Mehlhorn & Schein, 1985), proto může v krevním roztěru připomínat tzv. malé babesie (Homer et al., 2000).

Theileria způsobují závažná onemocnění dobytka v tropických a subtropických oblastech. Okolo čtyřiceti druhů *Theileria* infikuje hlavně kopytníky v Asii a v Africe. Kromě kopytníků infikuje i jiné hostitele – např. vačnatce v Austrálii nebo lišky (Archibald et al., 2017). Nejdůležitějším zástupcem je *T. parva* – původce východoafrické pobřežní horečky skotu - „East Coast fever“ (ECT) ve východní a střední Africe. Mortalita u nakažených zvířat je až 90% (Volf & Horák, 2007). Paraziti *T. parva* se podle přítomnosti schizontů seskupují do tzv. transformujících se a netransformujících se druhů (Sivakumar et al., 2014). Transformace a šíření schizontů vedou k patologiím jako je např. enzootická ECT a endemické onemocnění „corridor disease“ způsobené *T. parva*. Dalšími zástupci jsou např. *T. annulata*, původce tropické theileriózy u skotu a *T. lestoquardi*, která způsobuje maligní theileriózu u koz a ovcí. Mezi tzv. netransformující se druhy patří např. *T. taurotragi* (Mans et al., 2015).

2.3 Obecná charakteristika rodu *Plasmodium*

Plasmodium je parazit, jehož zástupci jsou známí především jako původci malárie, způsobující u člověka horečnaté stavy, zimnici, bolest hlavy, nevolnost a zvracení (Kumar et al., 2016). *Plasmodium* má vysokou hostitelskou specifitu, infikuje savce, ptáky, plazy, ale také obojživelníky (Archibald et al., 2017).

Malárie způsobená parazity z rodu *Plasmodium* patří mezi jedno z nejzávažnějších onemocnění. Na malárii umírá přibližně půl milionů lidí ročně, zejména děti v subsaharské Africe (Archibald et al., 2017). Od roku 2000 do roku 2015 poklesl počet úmrtí o 48% (WHO, 2015). Přibližně 50 druhů *Plasmodium* parazituje v savcích, především v primátech a hlodavcích, více než 40 druhů v ptácích a 50 druhů v plazech. Pouze 2 druhy byly popsány u obojživelníků (Archibald et al., 2017). Lidská malárie je způsobena 4 druhy – *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* a *P. malariae* (Volf & Horák, 2007). Pro člověka je nejvíce patogenní *P. falciparum* způsobující maligní terciární malárii. Může vyvolat těžký průběh i u vysoce odolných jedinců. Vyskytuje se především v tropické Africe, severozápadní Indii, na Sri Lance, ale může zasahovat i do mírného pásma (Förstl, 2003). *Plasmodium knowlesi* je patogen běžně se vyskytující v primátech jihovýchodní Asie, ale podle studie Cox-Singh et al. (2008) je hlavní příčinou lidské malárie v Malajsii. Tento druh je tedy považován za páteho parazita patogenního pro člověka. Nákaza člověka opičím *Plasmodium knowlesi* může být u lidí až fatální, kdežto u makaků žádné onemocnění nezpůsobuje. Byl však zaznamenán i případ, kdy i u člověka infikovaného opičím *Plasmodium* se jednalo pouze o asymptomatické onemocnění (Imwong et al., 2019). Jiným savčím hostitelem jsou např. hlodavci. Jsou známy 4 druhy – *Plasmodium berghei*, *P. chabaudi*, *P. vinckei* a *P. yoelii* (Mehlborn, 2001). Nejznámějším případem ptačí malárie jsou Havajské ostrovy, kam se parazit dostal jako invazní druh. Zavlečené *Plasmodium relictum* tak způsobilo masivní vymírání místních ptačích druhů (Van Riper et al., 2008).

3 *Plasmodium* u kopytníků

3.1 Objev a znovuobjevení

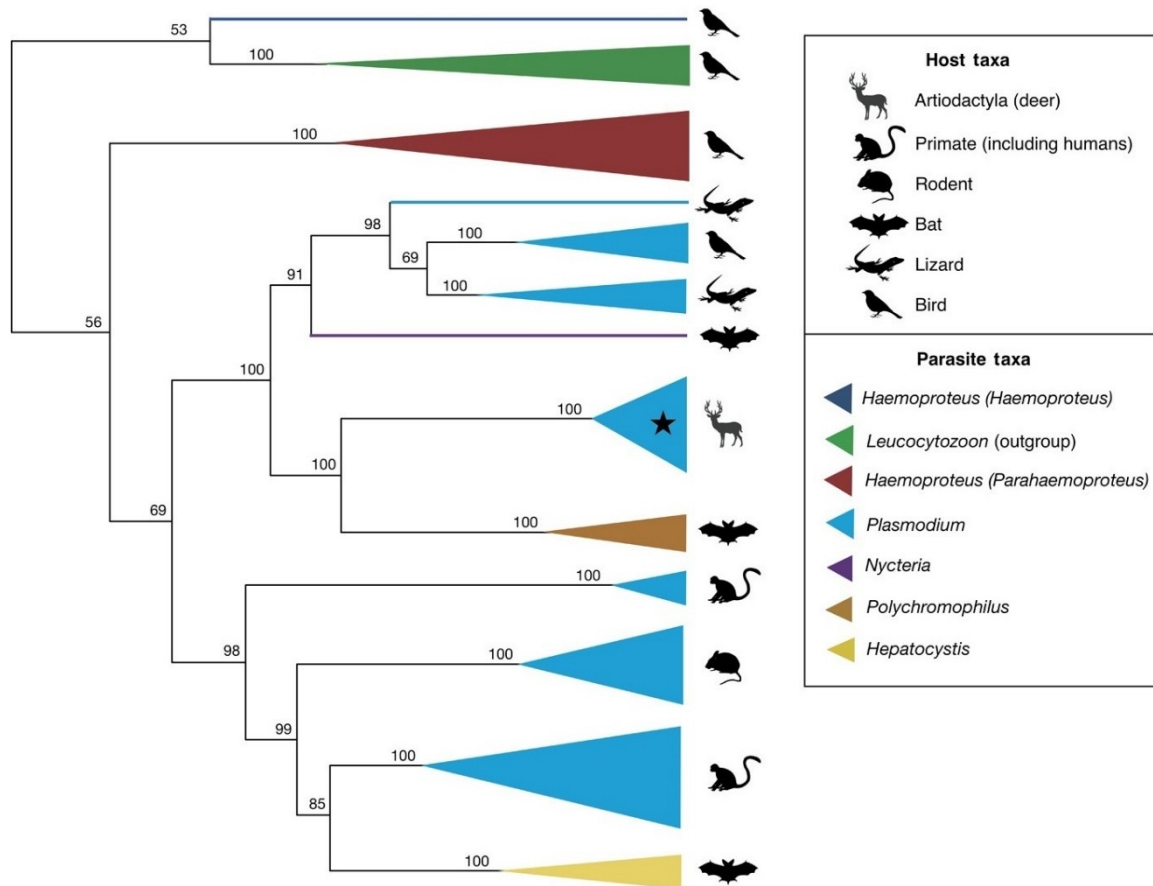
Kopytníci nepředstavují typické hostitele pro rod *Plasmodium*, ale v posledních letech vzrostlo množství nálezů tohoto parazita právě v krvi kopytníků. Poprvé bylo *Plasmodium* u kopytníků spatřeno v roce 1913 v krvi mladé chocholátky schovávané (*Sylvicapra grimmia*) v Malawi. Následně byl tento parazit objeven i v další mladé antilopě stejného

druhu. U jedné z antilop došlo k akutnímu záchvatu trvajícím pouze 4 dny, ke kterému došlo možná kvůli stresu ze zajetí. Paraziti brzy po záchvatu zcela zmizeli z periferní krve. U druhé mladé antilopy přetrvávali paraziti v krvi několik měsíců a neprojevovaly se u ní žádné příznaky malárie (Bruce et al., 1913). V následujících letech bylo *Plasmodium* popsáno i u dalších druhů kopytníků – u buvola domácího (*Bubalus bubalis*) v Indii (Sheather, 1919), u kozy domácí (*Capra aegagrus hircus*) v Zambii a africké Sitatungy (*Tragelaphus spekii*) (Templeton et al., 2016a) a u kančila jávského (*Tragulus javanicus*) v Malajsii (Martinsen et al., 2016). Ve Studii Kuttler et al. (1967) identifikovali autoři nový druh *Plasmodium* u kopytníků v krvi splenektomizovaných jelenců běloocasých (*Odocoileus virginianus*) v Texasu. Tento objev *Plasmodium odocoilei* vzbudil velký zájem, protože se jednalo o první nález *Plasmodium* u kopytníků z Nového světa a po dobu delší než padesát let nebyly hlášeny jiné případy. Po více než sto letech od prvního popisu *Plasmodium* u kopytníků byly znovuobjeveny u afrických, asijských a severoamerických kopytníků díky metodám molekulárních technik. U kopytníků byla zdokumentována extrémně slabá krevní parazitémie, což pravděpodobně vysvětluje, proč *Plasmodium odocoilei*, *P. cephalophi* a *P. bubalis* vzdorovali všem pokusům o znovuobjevení metodami světelné mikroskopie, ačkoliv studií krevních parazitů kopytníků proběhlo několik. Mimo jiné se *Plasmodium* u kopytníků obvykle stává pozorovatelným v krvi jen po splenektomii nebo jiném stresu (Templeton et al., 2016b). Nejnovějším a zároveň jediným případem z Jižní Ameriky je nález *Plasmodium* u jelence pampového (*Ozotoceros bezoarticus*) (Asada et al., 2018). Okultní povaha krevních stádií parazitů tak zdůrazňuje potřebu molekulárních metod při objevování a znovuobjevení těchto cizopasníků u kopytníků (Templeton et al., 2016b).

3.2 Fylogenetické postavení

Rod *Plasmodium* se rozpadá do několika více či méně monofyletických skupin. Na základě fylogenetické analýzy genů mitochondriálních, jaderných a apicoplastu tvoří zástupci *Plasmodium* z kopytníků monofyletickou skupinu, která je však značně vzdálená ostatním zástupcům rodu *Plasmodium* (Martinsen et al., 2016). Na základě fylogenetických studií je zřejmé, že rod *Plasmodium* je parafyletický, protože příslušná monofyletická skupina kromě rodu *Plasmodium* zahrnuje i rody *Polychromophilus*, *Nycteria* a *Hepatocystis* infikující netopýry (obrázek 1). *Plasmodium odocoilei* z amerických jelenců běloocasých společně s *Plasmodium bubalis* z asijských buvolů, *Plasmodium caprae* z afrických koz a

Plasmodium cephalophi z afrických chocholatek tvoří monofyletickou skupinu sesterskou právě k rodu *Polychromophilus* z netopýrů (Templeton et al., 2016b).



Obrázek 1: Multigenová fylogeneze zobrazující vztahy mezi parazity rodu *Plasmodium* získaných z jelenců běloocasých (*Odocoileus virginianus*) (označené černou hvězdičkou) a jinými zástupci skupiny Haematozoa z různých obratlovců. Hostitelské taxony jsou označeny různými symboly a rody parazitů různými barvami. Velikost trojúhelníků označuje relativní počet taxonů parazitů ve skupině. Fylogeneze byla rekonstruována Bayesovými analýzami mitochondriálních genů (*cytb*, *cox1*), jaderných genů (*asl*) a genů apicoplastu (*clpC*). Hodnoty Bayesovské posteriorní pravděpodobnosti jsou uvedeny nad uzly. Převzato a upraveno z Martinsen et al. (2016).

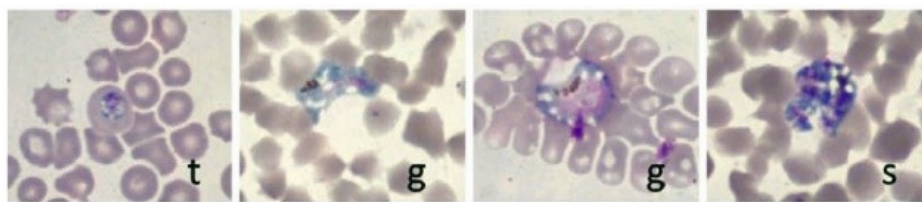
3.3 Přenašeči

Za přenašeče rodu *Plasmodium* jsou u kopytníků (stejně jako u ostatních savců) považováni komáři rodu *Anopheles*. Tito komáři se dají rozlišit od ostatních komárů hned na první pohled. Při sezení nezaujímají polohu těla rovnoběžnou s podkladem, ale jejich zadní část je značně vyvýšena nad hlavu, samičky mají dlouhé palpy a z vajíček kladených

na vodní hladinu se vyvíjejí larvy, které narozdíl od ostatních komárů postrádají respirační sífón. Komáři rodu *Anopheles* jsou rozšířeni po celém světě, kromě Antarktidy. V různých geografických oblastech je *Plasmodium* přenášeno různými druhy komárů *Anopheles* (CDC, 2018). Studie Wharton et al. (1963) Wharton et al. (1963) potvrdila drobného kopytníka kančila jávského (*Tragulus javanicus*) jako vhodné vektory plasmodií právě komáři rodu *Anopheles* – konkrétně *A. umbrosus*, *A. letifer*, *A. baezai* a *A. roperi*. Všichni zkoumaní komáři *A. umbrosus* byli náchylní k infekci *Plasmodium*. *A. umbrosus* a *A. letifer* se zdáli být efektivnějšími hostiteli a vývoj parazitů byl u nich velmi rychlý (Wharton et al., 1963). V případě jelence běloocasého byl potvrzen jako přenašeč komár *Anopheles punctipennis* – analýza DNA ze slinných žláz potvrdila, že tento druh komárů je vhodným vektorem parazitů (Martinsen et al., 2016). U několika různých druhů komárů rodu *Anopheles* z Gabonských lesů byla zjištěna přítomnost druhů rodu *Plasmodium* vyskytujících se v dané oblasti u chocholatek *Cephalophus callipygus*, *C. nigrifrons*, *C. monticola* a *C. dorsalis* (Boundenga et al., 2016). Pro potvrzení komárů *Anopheles* jakožto jediného vektora pro parazity malárie u kopytníků bude však zapotřebí dalšího vzorkování více druhů krevsajících dvoukřídlých, případně další experimentální pokusy.

3.4 Erytrocytární vývoj

Znalost životního cyklu *Plasmodium* u kopytníků je stále zatím neúplná. Jsou známa pouze krevní stádia parazitů a není jasné, kde se odehrává prvotní merogonie (Templeton et al., 2016b). Parazité u kopytníků se shodují s morfologickými znaky, které charakterizují rod *Plasmodium*: asexuální replikace v krevních buňkách schizontů, produkce gametocytů v krevních buňkách a viditelný hemozoinový pigment uvnitř schizontů a gametocytů (Martinsen et al., 2016). Následující popis krevních stádií je popsán na jelenci běloocasém s infekcí *Plasmodium odocoilei*. Jednotlivé fáze vývoje v červených krvinkách jsou znázorněny na obrázku 2. Prvním viditelným stádiem v krvi jsou trofozoiti s jedním jádrem na okraji. Parazit roste, začíná se objevovat pigment hemozoin a výrazné vakuoly. S dalším růstem parazita vykazuje erytrocyt značné změny: zvětšuje se, na povrchu jsou přítomny výběžky a odbarvuje se do růžova. Nápadné vakuoly a výrazná změna tvaru erytrocytu jsou charakteristickým rysem pro *P. odocoilei* a *P. cephalophi*. Dochází k jadernému dělení a ke vzniku schizontů až s jedenácti jádry. Ve stádiu větších schizontů se začne hromadit pigment s nápadnými bílými vakuolami. V některých červených krvinkách dochází ke vzniku gametocytů s přítomným pigmentem – čímž se liší od ostatních druhů *Plasmodium* (Garnham & Kuttler, 1980).



Obrázek 2: Krevní stádia *Plasmodium odocoilei* u *Odocoileus virginianus* pod světelným mikroskopem. (t) trofozoiti, (g) gametocyty a (s) schizonti. Převzato a upraveno z Martinsen et al. (2016) Martinsen et al. (2016).

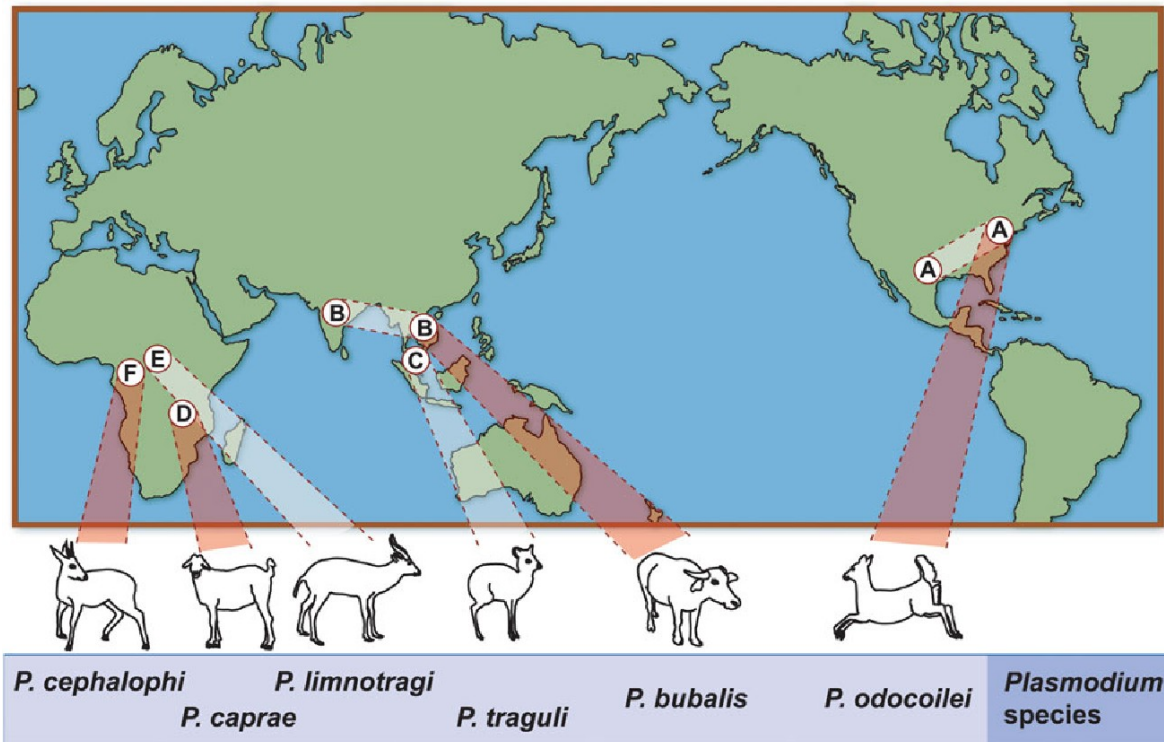
3.5 Klinické příznaky

Nízká parazitémie v krvi infikovaných kopytníků a jejich špatná detekce ve světelném mikroskopu vedla k popisu nákazy u kopytníků jako chronická okultní infekce bez významných zdravotních důsledků. Guggisberg et al. (2018) poprvé přichází s molekulárními studiemi na jelenci běloocasém s cílem zjistit, jaký má *Plasmodium* dopad na zdraví infikovaných jedinců. Vzhledem k odlišným klinickým projevům u dospělých a dětských pacientů u většiny lidských onemocnění, kdy u malých dětí může být infekce až fatální, se tato studie zaměřuje především na mláďata jedinců. Krev byla odebrána od mláďat ve věku tří, šesti a osmi měsíců života. Ze 33 zkoumaných mláďat byla čtyři mláďata pozitivní na *Plasmodium odocoilei* ve věku tří měsíců, dvě mláďata byla pozitivní až v šesti měsících života a u jednoho se paraziti objevili až v osmi měsících života (Guggisberg et al., 2018). Detekce parazitů u nezanedbatelného počtu mláďat (během prvních osmi měsíců života se infikovalo 21 % mláďat) v raném věku života mohla být způsobena poklesem mateřských protilátek (Gaydos et al., 2002). Symptomy spojené s onemocněním však nebyly pozorovány ani u jednoho z nich. U dvou infikovaných mláďat byla při pozdějších odběrech PCR negativní, což může naznačovat, že buď došlo k přirozenému vymizení parazita, nebo jsou hostitelé schopni kontrolovat replikaci parazitů v hladinách pod hranici detekce. U dalších dvou zvířat byla DNA přítomna po dobu několika měsíců, což naznačuje, že paraziti mají schopnost perzistentní parazitémie, případně že docházelo k opakované reinfekci. Ačkoliv nebyly pozorovány žádné zjevné symptomy onemocnění, nejmladší nakažená zvířata vykazovala zvýšenou míru úmrtnosti ve srovnání s neinfikovanými mláďaty a jedinci nakažení v raném věku se dožívali o šest měsíců méně. Lze tedy spekulovat, že infekce *Plasmodium* může mít u kopytníků značný negativní dopad na zdraví, ačkoli nákaza nezpůsobuje zjevné příznaky (Guggisberg et al., 2018).

Kopytníci jsou často náchylní k řadě dalších patogenů. U nakažených jedinců byl nalezen virus EDHV (virus epizootického hemoragického onemocnění) častěji než u nenakažených. Infekce *Plasmodium* pravděpodobně souvisí se zvýšeným rizikem získání EHDV, který mohl navíc přispět ke smrti infikovaných jelenů (Guggisberg et al., 2018). U kopytníků byly kromě koinfekce zaznamenány erythrocyty vykazující srpkovitost, což je určitě zajímavé vzhledem k předchozí studii naznačující možný vliv infekce na přežití. U kopytníků byla srpkovitá anémie objevena již v roce 1840 – tedy o 70 let dříve než u lidí (Esin et al., 2017). Jelení srpkovité erythrocyty jsou podobné lidským, ale narozdíl od lidí u kopytníků nebyly pozorovány žádné patologické následky (Steinberg, 2019). Zajímavostí je také to, že kopytníci bez srpkovité anémie se nachází pouze u arktických a subarktických nebo hornatých stanovišť, což naznačuje možné spojení s nižší prevalencí krevních parazitů. Zda jeleni trpící srpkovitou anémií jsou odolní vůči malárii však zůstává nedořešenou otázkou (Esin et al., 2017).

3.6 Výskyt a geografické rozšíření

Plasmodium u kopytníků má geografické rozšíření obvykle omezené na lesní prostředí. Až donedávna se zdálo, že zasahuje pouze do tropů Starého světa. Nedávný objev nového druhu *Plasmodium odocolei* v Severní Americe se tak stal prvním případem z Nového světa (Templeton et al., 2016b). Původ těchto cizopasníků v Novém světě pravděpodobně souvisí s příchodem předka jelence běloocasého do Severní Ameriky přes Beringův most. Předek současných jelenovitých byl pravděpodobně doprovázen i ancestrální formou *Plasmodium* a v následujících letech podstoupil hostitel i parazit řadu evolučních změn, které vedly k dnešnímu *Plasmodium odocolei*. Druhou a zároveň méně pravděpodobnou hypotézou je přeskok parazita na jelence běloocasého od dovezených kopytníků (např. antilopy jelení) a jeho následná adaptace na nového hostitele. Vzhledem k fylogenetické vzdálenosti zástupců rodu *Plasmodium* u kopytníků v Novém a Starém světě, je však tato myšlenka méně pravděpodobná. Zároveň je nepravděpodobné, že by parazit z antilopy byl infekční pro jeleny, vzhledem k vzájemné příbuzenské vzdálenosti mezi těmito skupinami hostitelů. Kromě toho u antilopy jelení nebyli pozorováni žádní paraziti způsobující malárii (Garnham & Kuttler, 1980). V minulém roce se objevil další případ, a to z Jižní Ameriky – *Plasmodium* u jelence pampového (*Ozotoceros bezoarticus*), které je blízce příbuzné severoamerickému druhu (Asada et al., 2018). Globální distribuce popsanych druhů *Plasmodium* u kopytníků je znázorněna na obrázku 3 (vyjma nového druhu *Plasmodium* z Jižní Ameriky).



Obrázek 3: Globální distribuce popsaných druhů rodu *Plasmodium* u kopytníků včetně hostitelů: (A) jelenec běloocasý, (B) buvol domácí, (C) kančilovití, (D) koza domácí, (E) sitatunga a (F) chocholotka schovávaná. Druhy parazitů jsou uvedeny pod příslušnými hostiteli. Převzato a upraveno z Templeton et al. (2016b).

3.6.1 *Plasmodium cephalophi*

První zmínka o *Plasmodium* u kopytníků pochází z Malawi z roku 1913, kdy byli parazité nalezeni v krvi chocholatky schovávané (*Sylvicapra grimmia*). U nemocné antilopy došlo k akutnímu záchvatu trvajícím čtyři dny. Tento parazit byl popsán jako *Plasmodium* na základě morfologické podobnosti intraerytrocytárních stádií lidskému *Plasmodium*. Lišil se však výrazným zvětšením červených krvinek a uspořádáním pigmentu. U člověka je pigment rozptýlen v cytoplazmě parazita, kdežto zde je shromážděn na jednom místě a je zbarven do světle žluté barvy. Na tomto druhu *Plasmodium* je pozoruhodná také jeho velikost – merozoiti dosahují velikosti 4 μm na 3,5 μm , což odpovídá velikosti normální červené krvinky antilopy. Dospělí schizonti měří v průměru 10 μm (Bruce et al, 1913). V roce 1964 byl tento druh znovu nalezen a popsán jako *Plasmodium cephalophi*. Záznam o výskytu *Plasmodium cephalophi* u chocholatek pochází z dnešních afrických států Malawi, Zimbabwe a Zambie.

U nemocných jedinců se projevoval určitý stupeň anémie, játra a další vnitřní orgány nebyly poškozeny (Keymer, 1966). Bray & Garnham (1964) navrhli jako možného

přenašeče komára *Anopheles rufipes*, který však zatím nebyl potvrzen a přenašeč tak zůstává dosud neznámý.

3.6.2 *Plasmodium caprae*

Plasmodium bylo v kozách poprvé identifikováno v Angole v roce 1923. Teprve nedávný průzkum charakterizoval *Plasmodium* izolací a sekvenací DNA ze vzorku kozí krve v Zambii. Z 53 krevních vzorků z koz byl jeden pozitivní na *Plasmodium*. Na základě sekvencí cytb byl parazit izolovaný z kozí krve definován jako nový typ a následně označen jako *Plasmodium caprae* (Templeton et al., 2016a). Parazit však není omezen pouze na Afriku (jako je tomu na obrázku č. 3). Na základě testování pomocí PCR bylo *Plasmodium caprae* zjištěno nejen z Afriky, ale i ze západní a jihovýchodní Asie. Studium proběhlo v pěti zemích – Thajsko, Súdán, Írán, Keňa a Myanmar, a ve všech byl výskyt *Plasmodium* u domácích koz potvrzen (Kaewthamasorn et al., 2018). U nakažených zvířat byly v krvi přítomny zvětšené krvinky obsahující trofozoity s nahromaděným hemozoinem a se dvěma vakuolami. Velikost erytrocytů byla přibližně 6 μm . U jiných byl patrný hemozoin ve tvaru dvojité tyčinky, stejně jako u *Plasmodium cephalophi* a *Plasmodium bubalis*.

U většiny případů byla nízká parazitémie bez klinických příznaků. Pro *Plasmodium caprae* nebyl zatím potvrzen žádný členovec jako vektor, ale vzhledem k široké distribuci parazitů v Asii i Africe je pravděpodobný přenos místními druhy komárů rodu *Anopheles* (Kaewthamasorn et al., 2018).

3.6.3 *Plasmodium bubalis*

Sheather (1919) poprvé pozoroval *Plasmodium bubalis* u buvolů domácích (*Bubalus bubalis*) v Indii. V krevním nátěru mrtvého zvířete byla nalezena celá řada vývojových stádií parazita. Nejmenší nalezení paraziti připomínali vzhledem Piroplasmida a měřili kolem 1 μm . Se zvětšující se velikostí se zvětšovala i centrální vakuola. U organismů měřící více než 3 μm byl v cytoplasmě nalezen nový morfologický znak – tmavě hnědý pigment. Parazité dorůstali do velikosti 6 μm . U některých se pigment ukládal do jedné skvrny, u jiných byl rozptýlen v cytoplasmě. V krevním filmu byly přítomny leukocyty obsahující granule pigmentu, což by vypovídalo o pohlcení celého parazita. Buňky, které obsahovaly takto velkého cizopasníka, byly velké až 14 μm . V buňkách se nevyskytoval pouze jeden parazit, ale docházelo i k vícečetné infekci s počtem až pěti parazitů v jedné krvince. Infikovaná krev z buvolů byla použita jako zdroj infekce pro šest zdravých

buvolů. U nainfikovaných buvolů však nebyla následně zjištěna žádná infekce a s největší pravděpodobností byli paraziti mrtví již před přenosem na nové hostitele (Sheather, 1919). Indie byla jediná oblast, kde byla hlášena malárie u buvolů. Díky další studii Templeton et al. (2016a) byla tato oblast výskytu rozšířena na Thajsko a Vietnam. Prostřednictvím těchto průzkumů byly pozorovány tři genetické linie: dva odlišné typy infikující asijské buvolky (typ I a typ II) a jeden infikující kozy (typ III – *Plasmodium caprae*), který je blíže příbuzný typu II (Templeton et al., 2016a).

Kromě přítomnosti *Plasmodium* v krvi vykazovala krev řadu změn spojenou s anémií. U buvolů docházelo k horečkám bez periodicity, u některých i k průjemným projevům (Sheather, 1919). U buvola není dosud znám přenašeč. Vzhledem k ostatním druhům kopytníků můžeme zvažovat komáry rodu *Anopheles* (Templeton et al., 2016a).

3.6.4 *Plasmodium odocoilei*

Poprvé bylo *Plasmodium odocoilei* pozorováno Kuttlerem v roce 1967 v Texasu. Hostitelem byl jelen, u kterého byla provedena splenektomie a následně proběhlo pozorování vývoje latentních erythrocytárních infekcí. Pozorovaný parazit morfologií připomínal rod *Babesia*. Byli pozorováni trofozoiti s nahromaděným pigmentem, které vedly k úvaze, zda se nejedná o rod *Plasmodium* (Kuttler et al., 1967). Garnham tyto parazity popsal jako *Plasmodium odocoilei* v roce 1980. Infikovaný jelenec běloocasý (*Odocoileus virginianus*) pocházel z východního Texasu. Infekce (parazitémie) byla velmi nízká – zhruba 1 parazit na 30 000 červených krvinek. V krvi byli vidět trofozoiti s nápadnými vakuolami a nezralí schizonti až s jedenácti jádry a s pigmentem lokalizovaným do jediného místa. Nakažená krvinka se zvětšuje a mění barvu do růžova. Neobvyklým rysem tohoto parazita jsou špičaté výběžky patrné na povrchu infikovaného erythrocytu, kterým trochu připomíná trypanosomy s undulující membránou (Garnham & Kuttler, 1980). Výskyt *Plasmodium* u jelenovitých v Severní Americe potvrdil o 40 let později výzkum Martinsen et al. (2016) v Národním zoologickém parku ve Washingtonu, D.C. Studie přinesla zprávy o infekci s prevalencí až 25 % a s extrémně nízkou parazitémií u jelenců běloocasých ve všech východních státech USA (Martinsen et al., 2016).

U dospělých jelenů se neprojevovaly žádné zjevné příznaky infekce, avšak mláďata vykazovala zvýšenou míru úmrtnosti (Guggisberg et al., 2018). Přenašečem tohoto druhu parazita je komár *Anopheles punctipennis* (Martinsen et al., 2016).

Na základě znovuobjevení *Plasmodium* u kopytníků v Severní Americe zahájili Asada et al. (2018) výzkum jelenovitých v Jižní Americe. Byly odebrány vzorky DNA z jelenů pampových (*Ozotoceros bezoarticus*), mazamů šedohnědých (*Mazama gouazoubira*), jelenů bahenních (*Blastocerus dichotomus*) a buvolů domácích (*Bubalus bubalis*). Polymerázová řetězová reakce odhalila výskyt *Plasmodium* u jelenů pampových v Brazíli, u kterých byl zkoumán vztah sekvencí genu *cytb* a *cox1* k sekvencím *Plasmodium odocoilei*. Rozdíl mezi sekvencemi *Plasmodium* z brazilských a severoamerických jelenů byl při délce 607 bp pouze 1 nukleotid pro *cytb* a při délce 982 bp 6 nukleotidů pro *cox1*. Tato fylogenetická analýza naznačuje, že *Plasmodium* z jelence pampového tvoří společně s *P. odocoilei* monofyletickou skupinu představující jeden druh (Asada et al., 2018). Santos et al. (2018) provedli v jižní Brazílii vzorkování na dalších jelenovitých (*Mazama nana*, *Mazama americana* a *Blastocerus dichotomus*). Žádné z těchto zvířat však nebylo pozitivní na *Plasmodium*. Negativní výsledky mohly být způsobeny nízkou parazitémií, která může během cyklu parazita kolísat. Pro popis nejen tohoto druhu *Plasmodium* bude zapotřebí dalších testování různých druhů kopytníků, rovněž by bylo vhodné popsat morfologii na základě pozorování v mikroskopu.

4 *Babesia* u kopytníků

Na rozdíl od rodu *Plasmodium* je *Babesia* typický patogen vyskytující se u kopytníků. Rod *Babesia* obsahuje přes více než 110 druhů, z toho převážná většina způsobuje nákazy přežvýkavcům. Hostiteli jsou zejména koně, ovce, kozy, vodní buvoli a skot (Archibald et al., 2017). *Babesia* je nebezpečná pro hospodářská, domácí i divoká zvířata, kterým způsobuje horečnaté a mnohdy smrtelné onemocnění doprovázené anémií a hemoglobinurií (Uilenberg, 2006). U lesních kopytníků se setkáváme především s druhy *Babesia bovis*, *B. divergens*, *B. bigemina*, *B. odocoilei*, *B. capreoli* a *B. venatorum*.

4.1 *Babesia bovis*

Victor Babeş v roce 1888 objevil rod *Babesia* u skotu v Rumunsku. Původně se domníval, že se jedná o bakterii *Haematococcus bovis*. Později dostal tento parazit jméno *Babesia bovis*. *B. bovis* se řadí mezi tzv. malé babesie. Dosahují velikosti $2 \times 1,5 \mu\text{m}$, mírně větší než *B. divergens*. Charakteristické jsou prstencové formy parazita (Laha et al., 2015).

Babesia bovis je původce bovinní babesiózy. Postihuje hlavně skot a hovězí dobytek v tropických a subtropických oblastech světa (Mendes et al., 2019). Z jelenovitých je *B. bovis* opakovaně hlášena u jelence běloocasého (*Odocoileus virginianus*) v severním a

severovýchodním Mexiku – státy Tamaulipas, Nuevo León a Coahuila (Cantu et al., 2007; Cantu-Martinez et al., 2008). Žádné příznaky nákazy nebyly pozorovány (Cantu-Martinez et al., 2008). Nejvyšší frekvence infekce byla pozorována u jelenců, kteří žijí se skotem v kontinuálním pastevním systému (Cantu-C et al., 2009). Pozdější výzkum ukázal, že se *B. bovis* nachází i u jelenců v Texasu (Holman et al., 2011). Vektorem *B. bovis* je *Rhipicephalus microplus* (Chauvin et al., 2009).

4.2 Babesia divergens

M'Fadyean a Stockman poprvé popsali *Babesia divergens* v roce 1911 u býka. Paraziti v červené krvince vykazují řadu forem: protáhlé, zaoblené, hranaté a hruškovité. V buňce se vyskytuje 1 či 2 paraziti. V případě dvou parazitů v buňce zaujímají periferní část krvinky. *Babesia divergens* je poměrně malá. Měří 1 µm na délku a 0,6 µm na šířku, čímž se odlišuje od *B. bigemina* (M'Fadyean & Stockman, 1911).

Babesióza („redwater fever“) způsobená *Babesia divergens* patří mezi nejdůležitější onemocnění skotu (Zintl et al., 2003). U subklinického onemocnění vykazuje skot nízkou parazitémií, může však trpět mírnou horečkou a anorexií. Zvíře se z nemoci snadno zotaví (Gray & Murphy, 1985). U závažnějších případů dochází k vysoké horečce, anémii, anorexii, průjmům, dehydrataci, hemoglobinurii, k oslabení organismu, zvýšenému srdečnímu tepu a následně k úmrtí. Výskyt tohoto parazita je vázán na Evropu. *B. divergens* je jediným patogenem, který infikuje skot v severní Evropě (Zintl et al., 2003). Bouattour & Darghouth (1996) objevili parazita v turu domácím (*Bos taurus*) v Tunisku, což naznačuje, že rozšíření parazita může přesahovat z Evropy do severní Afriky. Z volně žijících kopytníků je přítomnost *B. divergens* hlášena u srnce obecného (*Capreolus capreolus*) ve Slovinsku (Duh et al., 2005), Španělsku (Sanmartin et al., 2007), Itálii (Tampieri et al., 2008), Polsku a Švýcarsku (Malandrin et al., 2010). *Babesia divergens* je přenášena klíštětem obecným (*Ixodes ricinus*). Problém představuje globální oteplování – změna klimatu by mohla vést k prodloužení doby aktivity klíštěte a tím zvýšit i riziko infekce (Zintl et al., 2003).

4.3 Babesia bigemina

Poprvé byl tento parazit popsán u skotu v roce 1893 ve studii Smith a Kilborne (Riek, 1964). Pro *Babesia bigemina* je charakteristické periferní umístění v erytrocytu (Bouattour & Darghouth, 1996). Parazit má značný počet forem, nejčastěji se ale setkáváme s hruškovitým tvarem. V krvince se většinou nachází dvojice Piroplasmida, které jsou

téměř identické. Parazit má vždy zřetelně odlišitelnou cytoplasmu a chromatin. Hruškovité formy dosahují délky 3,2 – 3,5 μm a šířky 1,6 – 1,7 μm (M'Fadyean & Stockman, 1911).

Babesióza u skotu způsobuje vysokou nemocnost a úmrtnost vedoucí k závažným ekonomickým ztrátám. *B. bigemina* je původně popsána jako patogen skotu v tropických a subtropických oblastech (Chauvin et al., 2009). Sérologické výsledky ze studie Cantu et al. (2007) poskytly informace o přítomnosti *Babesia bigemina* u jelenců běloocasých (*Odocoileus virginianus*) v severním Mexiku na ranči Nuevo León. U jelenců v době odběru nebyly pozorovány žádné známky nemoci. Jelenec zatím není hlášen jako rezervoár *Babesia* pro skot, tudíž nepředstavuje žádné riziko pro zdraví domácích zvířat (Cantu et al., 2007). V Texasu jsou jelenci též nositelem *B. bigemina* (Holman et al., 2011). Přenašeči jsou klíšťata *Rhipicephalus microplus* a *R. annulatus* (Antunes et al., 2019).

4.4 *Babesia odocoilei*

V roce 1970 byla poprvé objevena *Babesia odocoilei* u jelence běloocasého (*Odocoileus virginianus*) v Texasu. O jejich objev a popis se zasloužili Emerson a Wright (Gray et al., 1991). Parazitémie u jelence je poměrně vysoká (9,5 %). *Babesia odocoilei* nabývají různých tvarů – oválný, améboidní, kruhovitý, protáhlý. Narozdíl od ostatních jeleních *Babesia* není tak zřetelné periferní umístění v buňce. Kruhovité formy měří v průměru 1,5 μm (Gray et al., 1991).

V zoologickém institutu v New Yorku byla *Babesia odocoilei* diagnostikována rovněž u dvou sobů (*Rangifer tarandus*), u kterých se projevovaly typické příznaky babesiózy (Bartlett et al., 2009). Infekce *Babesia odocoilei* byla dále identifikována např. v severoamerických losech (Gallatin et al., 2003), u pouštních ovcí (*Ovis canadensis nelsoni*) v Kalifornii, u pižmoně severního (*Ovibos moschatus*) nebo u wapiti (*Cervus elaphus canadensis*) v New Yorku (Schoelkopf et al., 2005). *Babesia odocoilei* u losů způsobuje těžkou anémii, která může mít za následek smrt (Gallatin et al., 2003). Dalším možným hostitelem je severoamerický jelen sika (*Cervus nippon*), u kterého však zatím nebyly zaznamenány žádné infekce (Gray et al., 1991). V Oklahomě a v Texasu přenáší tyto babesie klíště *Ixodes scapularis* (Bartlett et al., 2009), u losů hraje pravděpodobně roli v přenosu klíště *Dermacentor albipictus*. Vzhledem k výskytu v Kalifornii je uvažováno i o zapojení klíště *Ixodes pacificus* (Schoelkopf et al., 2005).

4.5 *Babesia capreoli*

První zpráva o *Babesia capreoli* je z roku 1976, kdy hostitelem byl jelen evropský (*Cervus elaphus*) ze Skotska (Adam et al., 1976). V krvi jelena se vyskytovali paraziti kulatého nebo nepravidelně oválného tvaru, čímž připomínají *Babesia divergens*. Stejně tak leží na periférii erytrocytu. Odlišností je však její větší velikost a přítomnost parazitů ve tvaru půlkruhu. Příležitostně byly pozorovány krvinky se dvěma parazity. Nakažený jelen nevykazoval žádné příznaky onemocnění (Adam et al., 1976).

B. capreoli se vyskytuje u volně žijících evropských jelenů v Maďarsku, Itálii, Švédsku, Belgii, Německu, Skotsku, Irsku a v Nizozemsku. Jelen evropský není jediným hostitelem – Enigk a Friedhoff v roce 1962 popsali *B. capreoli* ze srnce obecného (*Capreolus capreolus*) v Německu (Malandrin et al., 2010). Ve splenektomizovaném srnci vyvolává *B. capreoli* fatální infekce (Adam et al., 1976) s parazitémií až 20 – 25 % (Malandrin et al., 2010). Příznaky zahrnovaly hematurii, hemoglobinurii, splenomegálii, hemosiredózu jater a sleziny, plicní edém (Malandrin et al., 2010). Další případy u srnců pochází např. ze Španělska (Remesar et al., 2019) a z Itálie (Cancrini et al., 2006). U soba evropského (*Rangifer tarandus tarandus*) dochází též k smrtelné nákaze s klasickými příznaky babesiózy (Langton et al., 2003). V Irsku byli tyto paraziti pozorováni u neobvyklého hostitele – jelena sika (*Cervus nippon*). Tento jelen je odolnější proti *Babesia* než srnec a neprojevují se u něj žádné symptomy (Gray et al., 1991). Za přenašeče je označováno klíště obecné (*Ixodes ricinus*) (Adam et al., 1976).

4.6 *Babesia venatorum*

Babesia venatorum je nejnověji popsáným druhem babesií vyskytujících se u kopytníků, navíc se zoonotickým potenciálem. Poprvé byla pozorována v roce 2003 v Evropě a označena jako *Babesia* sp. EU1. Fylogenetická analýza naznačovala nejbližší příbuznost k druhu *Plasmodium odocoilei* (Herwaldt et al., 2003).

Tento parazit infikuje srnce obecné (*Capreolus capreolus*) a je také původcem vzácně se vyskytujících lidských babesióz (Herwaldt et al., 2003). Tito parazité byli identifikováni v klíšťatech *Ixodes ricinus* ve Slovinsku (Duh et al., 2005), v Polsku (Cieniuch et al., 2009), v Nizozemsku (Wielinga et al., 2009), ve Francii (Reis et al., 2011), v Belgii (Lempereur et al., 2011), v Itálii (Cassini et al., 2010) a ve Švýcarsku (Rybářová et al., 2017). V západní Francii byl tento parazit přítomen u srnců a za přenašeče bylo rovněž

označeno klíště *Ixodes ricinus* (Bonnet et al., 2007). *B. venatorum* byla nalezena i v ČR – poblíž přehrady Nové Hrady a to také v klíštěti *Ixodes ricinus* (Rybářová et al., 2017).

5 *Theileria* u kopytníků

Zhruba 40 druhů rodu *Theileria* rovněž infikuje hlavně kopytníky a to v Asii, Americe, v Africe, ale i v Evropě. Tento rod parazitů se vyskytuje u široké škály domácích i volně žijících zvířat. Mezi běžné hostitele se řadí skot, koně, ovce a vodní buvoli. Theilerióza je zodpovědná za obrovské ztráty v chovech skotu. Nejdůležitější jsou dva druhy: *T. parva* způsobující ECT v Africe a *T. annulata* způsobující středomořskou nebo tropickou theileriózu (Archibald et al., 2017). Lesní kopytníci jsou hostiteli pro *T. cervi*, *T. uilenbergi*, *T. luwenshuni* a *T. capreoli*, *T. separata* a nepojmenované druhy *Theileria* sp. OT3 z Itálie a Španělska a *Theileria* sp. 3185/02 ze Španělska, Německa a Maďarska. Tyto formálně nepojmenované druhy byly identifikovány u srnce obecného (*Capreolus capreolus*) (Remesar et al., 2019).

5.1 *Theileria cervi*

Theileria cervi objevil Kreier v roce 1962 v Severní Americe u jelence běloocasého (*Odocoileus virginianus*) (Laird et al., 1988). Tento parazit je z převážné většiny nepatogenní (Wang et al., 2019). Infikuje širokou škálu hostitelů. V Brazílii byla nalezena u mazama šedohnědého (*Mazama gouazoubira*) a jelence bahenního (*Blastocercus dichotomus*) (Silviera et al., 2011) a u jelence pampového (*Ozotoceros bezoarticus*) (Silviera et al., 2013). V Rusku, Číně a Japonsku byl tento parazit izolován z jelenů sika (*Cervus nippon*) a v severovýchodní Číně ze srnců sibiřských (*Capreolus pygargus*) (Wang et al., 2019). V severní Americe byla *T. cervi* pozorována u jelence běloocasého (*Odocoileus virginianus*), u kterého byla zjištěna chronická infekce. Hostitel byl podvyživený a koinfikovaný jinými parazity. Infekce neměla žádný vliv na úmrtnost jelenů a byla zjištěna vyšší prevalence u divokých jelenů než u chovných (Cauvin et al., 2019). Dalším hostitelem v Severní Americe je wapiti (*Cervus canadensis*) (Chae et al., 1999) a jelenec ušatý (*Odocoileus hemionus*) (Laird et al., 1988). Na populaci jelenců ušatých má *T. cervi* negativní dopad. Vysoká morbidita a úmrtnost v této populaci jelenců jsou neobvyklé projevy infekce *T. cervi* (Wood et al., 2013). Přenašečem *T. cervi* je klíště *Amblyomma americanum* (Laird et al., 1988).

5.2 *Theileria uilenbergi*

V roce 1958 Yang a kolegové poprvé zaznamenali *Theileria uilenbergi* u ovcí a koz v Číně v provincii S'-čchuan (Zhang et al., 2014). V buňkách hostitele se objevují různé formy *T. uilenbergi*. Z počátku infekce jsou vidět hruškovité, jehlicovité a tyčinkovité formy. Později se objevují kulovité a oválné formy o velikosti 1 – 2.5 μm . V pozdější fázi theileriózy jsou přítomni paraziti ve tvaru kříže (Li et al., 2009).

Theileria uilenbergi způsobuje v Číně theileriózu ovcí a koz a může vést k významným ekonomickým ztrátám (Zhang et al., 2014). V severozápadní Číně byla detekována i u srnců obecných (*Capreolus capreolus*) a jelenů sika (*Cervus nippon*). Byly zasažené dvě oblasti – Qilian Mountain s nízkou prevalencí a Long Mountain, kde nebyly nalezeny skoro žádné infekce. V oblastech s vysokou mírou infekce pravděpodobně existuje vztah mezi věkem jedince a rezistencí, kdy mladí jeleni si postupně získávají imunitu a stávají se tak rezistentní proti parazitům (Li et al., 2014). Klíšťata rodu *Haemophysalis* jsou pravděpodobně jedinými vektory *T. uilenbergi*. U ovcí jsou paraziti přenášeni klíšťaty *Haemaphysalis qinghaiensis* a *H. longicornis* (Li et al., 2009).

5.3 *Theileria luwenshuni*

Theileria luwenshuni je vysoce patogenní pro malé domácí přežvýkavce, jako jsou ovce a kozy. Způsobuje značné hospodářské ztráty pro kozí a ovčí průmysl. *T. luwenshuni* má široké rozšíření v Číně (Yin et al., 2008). Na lesních farmách v severovýchodní Číně byly odebrány vzorky krve z koz a z volně žijících srnců sibiřských (*Capreolus pygargus*) a následná analýza odhalila infekci třemi různými druhy rodu *Theileria*: *T. luwenshuni*, *T. cervi* a *T. capreoli*, z nichž se *T. luwenshuni* vyskytovala pouze u koz. Druh *T. luwenshuni* byl v Číně v Kan-su nalezen i u lesních kopytníků – u srnce obecného (*Capreolus capreolus*), jelena sika (*Cervus nippon*) a jelena evropského (*Cervus elaphus*). Všechna tato zvířata vykazovala nízkou parazitémií, současně však i horečku, anémii, žloutenku a zvětšené lymfatické uzliny (Li et al., 2015). Další případ je hlášen u koz v Myanmaru v jihovýchodní Asii, kam mohli být zavlečeni z Číny přes infikované domácí/volně žijící přežvýkavce (Bawm et al., 2018). V roli vektora se účastní klíšťata *Haemaphysalis qinghaiensis* a *H. longicornis* (Li et al., 2015; Li et al., 2007). Podle Lee et al. (2016) mohou tyto parazity přenášet rovněž kloši *Lipoptena fortisetosa*.

5.4 *Theileria capreoli*

Theileria capreoli je u jelenovitých hlášena poměrně častým parazitem. Rukhlyadev poprvé popsal tyto parazity u srnce obecného (*Capreolus capreolus*) v roce 1939 (Sanmartin et al., 2007). U srnce jsou hlášeny případy z Maďarska, Španělska a Německa (Hornok et al., 2017; Kauffmann et al., 2016; Wang et al., 2019). Následně byla zaznamenána u jelena evropského (*Cervus elaphus*) v Maďarsku a v Polsku (Hornok et al., 2017; Sawczuk & Maciejewska, 2008). V severozápadním Polsku byla u jelenů zjištěna vysoká prevalence, u většiny z nich byla *Theileria* detekována pouze v krvi a neměla žádný vliv na jeho životní funkce (Sawczuk & Maciejewska, 2008). V Maďarsku a v Itálii infikuje *T. capreoli* daňky evropské (*Dama dama*) a v Maďarsku byla nalezena u jednoho jedince muflona (Hornok et al., 2017). V severovýchodní Číně byla *T. capreoli* izolována ze srnce sibiřského (*Capreolus pygarpus*) (Wang et al., 2019). Theilerióza je jedním z nejčastějších onemocnění u domácích zvířat v Koreji. Han et al. (2009) poprvé přichází s nálezem *Theileria* u volně žijícího jedince srnčíka čínského (*Hydropotes inermis*). U srnčíka bylo pozorováno *Plasmodium*, u kterého byla zjištěna pomocí PCR 98% podobnost k *Theileria capreoli*. U srnčíka nevedla tato nákaza k žádným symptomickým projevům nemoci (Han et al., 2009). Jsou navrhováni zatím dva přenašeči – klíště *Ixodes ricinus* v případě jelena evropského v Polsku (Sawczuk & Maciejewska, 2008) a klíště *Haemaphysalis concinna*, které je pravděpodobně vektorem pro *T. capreoli* vyskytující se v Maďarsku (Hornok et al., 2017).

6 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo v rámci literární rešerše shrnout dostupné informace o rodech krevních parazitů, zejména rodu *Plasmodium*, a podat ucelený přehled jejich výskytu u volně žijících kopytníků, zejména jelenovitých.

Rod *Babesia* a *Theileria* způsobují závažná onemocnění skotu v tropických a subtropických oblastech světa. S rodem *Babesia* se u lesních kopytníků setkáme v Evropě a Severní Americe. *B. odocoilei* a *B. capreoli* představují parazity infikující jelenovité v Evropě. *Theileria* je u lesních kopytníků geograficky rozšířená více než babesie, a zasahuje až do Asie. *T. luwenshuni* vyskytující se u jelenovitých v Asii může pro své hostitele představovat zdravotní riziko. Ani jeden z těchto rodů se nevyskytuje u volně žijících afrických kopytníků.

V Africe se u kopytníků můžeme setkat se dvěma druhy plasmodií – *P. caprae* a *P. cephalophi*. Zatímco *P. cephalophi* je rozšířené u chocholatek schovávaných (*Sylvicapra grimmia*) v dnešních afrických státech Malawi, Zimbabwe a Zambie, druh *P. caprae* se vyskytuje u afrických domácích koz v Zambii a Angole. Rozšíření tohoto parazita u koz však není omezeno pouze na Afriku., ale zasahuje i do západní a jihovýchodní Asie.

Z kopytníků je typickým hostitelem plasmodií v Asii buvol domácí (*Bubalus bubalis*). Ačkoliv tento parazit nepředstavuje ohrožení na životě, u infikovaných hostitelů může vyvolat příznaky projevující se anémií, nepravidelnou horečkou a průjemným onemocněním.

P. odocoilei z jelence běloocasého (*Odocoileus virginianus*) a jemu blízce příbuzný (či identický) druh z jelence pampového (*Ozotoceros bezoarticus*) představují významné zástupce krevních parazitů u jelenovitých v Severní a Jižní Americe. Toto nedávné zjištění výskytu rodu *Plasmodium* u kopytníků v Novém Světě přitáhlo na tuto skupinu hostitelů a jejich krevních parazitů novou pozornost.

Informace o prevalenci, hostitelské specifitě či celkové druhové diverzitě plasmodií vyskytujících se u kopytníků jsou stále značně neúplné. Chybí znalosti ohledně vývoje v obratlovčím hostiteli a také přenašeči těchto parazitů nebyli dosud definitivně potvrzeni.

V Evropě dosud nebyl zaznamenán žádný případ plasmodií u lesních kopytníků. Vzhledem k počtu vzrůstajících hlášených případů tohoto parazita u kopytníků v jiných oblastech světa, včetně temperátních lesů Severní Ameriky, je určitá pravděpodobnost, že se plasmodia mohou vyskytovat i u kopytníků v Evropě. Předpokládaným přenašečem plasmodií u kopytníků je komár rodu *Anopheles*, který se vyskytuje i na našem území. Na tuto problematiku výskytu plasmodií u našich lesních kopytníků bych se chtěla zaměřit ve své budoucí diplomové práci.

7 Seznam literatury

- Adam, K. M. G., Blewett, D. A., Brocklesby, D. W., & Sharman, G. A. M. (1976). The isolation and characterization of a Babesia from red deer (*Cervus elaphus*). *Parasitology*, *73*, 1–11.
- Antunes, S., Couto, J., Ferrolho, J., Sanches, G. S., Octavio, J., Charrez, M., ... Domingos, A. (2019). Transcriptome and proteome response of Rhipicephalus annulatus tick vector to Babesia bigemina infection. *Frontiers in Psychology*, *10*, 1–17.
- Archibald, J. M., Simpson, A. G. B., Slamovits, C. H., Margulis, L., Melkonian, M., Chapman, D. J., & Corliss, J. O. (2017). Handbook of the protists. Cham: Springer., 567–624.
- Asada, M., Takeda, M., Tomas, W. M., Pellegrin, A., Henrique, C., Oliveira, S. De, ... Kaneko, O. (2018). Close relationship of Plasmodium sequences detected from South American pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) to Plasmodium spp. in North American white-tailed deer. *IJP: Parasites and Wildlife*, *7*, 44–47.
- Bartlett, S. L., Abou-madi, N., Messick, J. B., Birkenheuer, A., & Kollias, G. V. (2009). Diagnosis and treatment of Babesia odocoilei in captive reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) and recognition of three novel host species. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *40*, 152–159.
- Bawm, S., Kakisaka, K., Thu, M. J., Chel, H. M., Min, Y., Oo, N., ... Katakura, K. (2018). First molecular detection of Theileria luwenshuni from goats in Myanmar. *Parasitology Research*, *117*, 3361–3364.
- Bock, R., Jackson, L., Vos, A. D. E., & Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitology*, *129*, 247–269.
- Bonnet, S., Jouglin, M., Hostis, M. L., & Chauvin, A. (2007). Babesia sp. EU1 from roe deer and transmission within Ixodes ricinus. *Emerging Infectious Diseases*, *13*, 1208–1210.
- Bouattour, A., & Darghouth, M. A. (1996). First report of Babesia divergens in Tunisia. *Veterinary Parasitology*, *63*, 161–165.
- Boundenga, L., Makanga, B., Ollomo, B., & Gilabert, A. (2016). Haemosporidian parasites of antelopes and other vertebrates from Gabon, Central Africa. *PLOS One*, *11*, 1–13.
- Brasseur, P., & Gorenflot, A. (1992). Human babesiosis in Europe. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, *87*, 131–132.
- Bray, R. S., & Garnham, P. C. C. (1964). Anopheles as vectors of animal malaria parasites. *London School of Hygiene and Tropical Medicine*, *31*, 143–147.
- Bruce, D., Bruce, Lady, Harvey, D., & Hamerton, A. E. (1913). Plasmodium cephalophi, sp. nov.

Scientific Commission of the Royal Society, 87, 45–47.

- Cancrini, G., Gabrielli, S., Lori, A., Grifoni, G., & Calderini, P. (2006). Morphology and genetics of a *Babesia* isolate from *Capreolus capreolus*. *Journal of Wildlife Diseases*, 44, 168–171.
- Cantu-c, A. A., Ortega-s, J. A., García-vázquez, Z., Mosqueda, J., Scott, E., George, J. E., ... George, J. E. (2009). Epizootiology of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in free-ranging white-tailed deer in northeastern México. *Journal of Parasitology*, 95, 536–542.
- Cantu-Martinez, M. A., Salinas-Melendez, J. A., Zarate-Ramos, J. J., avalos- Ramirez, R., Martinez-Munoz, A., & Segura-Correa, J. C. (2008). Prevalence of antibodies against *Babesia bigemina* and *B. bovis* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus texanus*) in farms of northeastern Mexico. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7, 121–123.
- Cantu, A., Ortega-s, J. A., Mosqueda, J., Garcia-vazquez, Z., & Henke, S. E. (2007). Immunologic and molecular identification of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in free-ranging white-tailed deer in northern Mexico. *Journal of Wildlife Diseases*, 43, 504–507.
- Cassini, R., Bonoli, C., Montarsi, F., Tessarin, C., Marcer, F., & Galuppi, R. (2010). Detection of *Babesia* EU1 in *Ixodes ricinus* ticks in northern Italy. *Veterinary Parasitology*, 171, 151–154.
- Cauvin, A., Hood, K., Shuman, R., Orange, J., Blackburn, J. K., Saylor, K. A., & Wisely, S. M. (2019). The impact of vector control on the prevalence of *Theileria cervi* in farmed Florida white - tailed deer, *Odocoileus virginianus*. *Parasites & Vectors*, 12, 1–9.
- CDC. (2018). Anopheles mosquitos. Retrieved from <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/#tabs-1-5>
- Chae, A. J., Waghela, S. D., Craig, T. M., Kocan, A. A., Wagner, G. G., & Holman, P. J. (1999). Two *Theileria cervi* SSU rRNA gene sequence types found in isolates from white-tailed deer and elk in North America. *Journal of Wildlife Diseases*, 35, 458–465.
- Chauvin, A. C., Moreau, E. M., Bonnet, S. B., Plantard, O. P., & Malandrin, L. M. (2009). *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Veterinary Research*, 40, 1–18.
- Cieniuch, S., Stańczak, J., & Ruczaj, A. (2009). The first detection of *Babesia* EU1 and *Babesia canis canis* in *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) collected in urban and rural areas in northern Poland. *Polish Journal of Microbiology*, 58, 231–236.
- Cox-singh, J., Davis, T. M. E., Lee, K., Shamsul, S. S. G., Matusop, A., Ratnam, S., ... Singh, B. (2008). *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clinical Infectious Diseases*, 46, 165–171.

- Duh, D., Petrovec, M., Bidovec, A., & Zupanz, T. A. (2005). Cervids as Babesia hosts, Slovenia. *Emerging Infectious Diseases*, *11*, 1121–1123.
- Esin, A., Bergendahl, L. T., Savolainen, V., Marsh, J. A., & Warnecke, T. (2017). The genetic basis and evolution of red blood cell sickling in deer. *Nature Ecology & Evolution*, *2*, 367–376.
- Förstl, M. (2003). Praktický atlas lékařské parazitologie. Hradec Králové: Nucleus HK.
- Gallatin, L. L., Irizarry-rovira, A. R., Renninger, M. L., Holman, P. J., Wagner, G. G., Sojka, J. E., & Christian, J. A. (2003). Babesia odocoilei infection in elk. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *223*, 1–6.
- Garnham, P. C. ., & Kuttler, K. L. (1980). A malaria parasite of the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and its relation with known species of *Plasmodium* in other ungulates. *Proceedings of the Royal Society of London*, *402*, 395–402.
- Gaydos, J. K., Stallknecht, D. E., Kavanaugh, D., Olson, R. J., Fuchs, E. R., Deer, W., & Fuchs, E. R. (2002). Dynamics of maternal antibodies to hemorrhagic disease viruses (Reoviridae orbivirus) in white-tailed deer. *Journal of Wildlife Diseases*, *38*, 253–257.
- Gray, J. S., & Murphy, T. M. (1985). Bovine babesiosis in Ireland. *Irish Veterinary Journal*, *42*, 9–14.
- Gray, J. S., Murphy, T. M., Waldrup, K. A., Wagner, G. G., Blewett, D. A., Harrington, R., ... Harrington, R. (1991). Comparative studies of *Babesia* spp. from white-tailed and sika deer. *Journal of Wildlife Diseases*, *27*, 86–91.
- Guggisberg, A., Saylor, K., Wisely, S., & Odom John, A. (2018). Natural history of *Plasmodium odocoilei* malaria infection in farmed white-tailed deer. *Atmosphere*, *3*, 1–8.
- Han, J., Jang, H., Lee, S., & Na, K. (2009). High prevalence of *Theileria* sp. in wild chinese water deer (*Hydropotes inermis argyropus*) in south Korea. *Veterinary Parasitology*, *164*, 311–314.
- Herwaldt, B. L., Cacciò, S., Gherlinzoni, F., Aspöck, H., Slemenda, S. B., Piccaluga, P., ... Pieniazek, N. J. (2003). Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, *9*, 942–948.
- Holman, P. J., Carroll, J. E., Pugh, R., & Davis, D. S. (2011). Veterinary parasitology molecular detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from Tom Green County in central Texas. *Veterinary Parasitology*, *177*, 298–304.
- Homer, M. J., Aguilar-Delfin, I., Telford III, S. R., Krause, P. J., & Persing, D. H. (2000).

Babesiosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 13, 451–469.

- Hornok, S., Sugár, L., Horváth, G., Kovács, T., Micsutka, A., Gönczi, E., ... Hofmann-Lehmann, R. (2017). Evidence for host specificity of *Theileria capreoli* genotypes in cervids. *Parasites & Vectors*, 10, 4–7.
- Imwong, M., Madmanee, W., Suwannasin, K., Kunasol, C., Peto, T. J., Tripura, R., ... White, N. J. (2019). Asymptomatic natural human infections with the simian malaria parasites *Plasmodium cynomolgi* and *Plasmodium knowlesi*. *The Journal of Infectious Diseases*, 219, 695–702.
- Jalovecka, M., Sojka, D., Ascencio, M., & Schnittger, L. (2019). Babesia life cycle – when Phylogeny meets biology. *Trends in Parasitology*, 35, 356–368.
- Kaewthamasorn, M., Takeda, M., Saiwichai, T., & Gitaka, J. N. (2018). Genetic homogeneity of goat malaria parasites in Asia and Africa suggests their expansion with domestic goat host. *Scientific Reports*, 8, 1–7.
- Kauffmann, M., Rehbein, S., Hamel, D., Lutz, W., Heddergott, M., Kurt, P., & Silaghi, C. (2016). *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in roe deer (*Capreolus capreolus*), fallow deer (*Dama dama*) and mouflon (*Ovis musimon*) in Germany. *Molecular and Cellular Probes*, 1, 1–9.
- Keymer, I. F. (1966). Studies on *Plasmodium* (*Vinckeia*) *cephalophi* of the grey duiker (*Sylvicapra grimmia*). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 60, 129–138.
- Kreier, J. P. (1977). Parasitic protozoa (IV). New York: Academic Press.
- Kubelová, M., & Šíroký, P. (2010). Výskyt a šíření psí babesiózy ve střední Evropě. *Veterinářství* 60, 198–202.
- Kumar, C. A., Gaikwad, D., & Baveja, S. (2016). Clinical and haematological profile in malaria at a tertiary care hospital. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 5, 3–6.
- Kuttler, K. L., Robinson, R. M., & Rogers, W. P. (1967). Exacerbation of latent erythrocytic infections in deer following splenectomy. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science*, 31, 317–319.
- Laha, R., Das, M., & Sen, A. (2015). Morphology, epidemiology, and phylogeny of *Babesia*: An overview. *Tropical Parasitology*, 5, 94–100.
- Laird, J. S., Kocan, A. A., Kocan, K. M., Presley, S. M., Hair, J. A., Laird, J. S., ... Presley, M. (1988). Susceptibility of *Amblyomma americanum* to natural and experimental infections with *Theileria cervi*. *Journal of Wildlife Diseases*, 24, 679–683.

- Langton, C., Gray, J. S., Waters, P. F., & Holman, P. J. (2003). Naturally acquired babesiosis in a reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) herd in Great Britain. *Parasitology Research*, *89*, 194–198.
- Lee, S., Kim, K., Kwon, O., Ock, Y., Kim, T., Choi, D., & Kwak, D. (2016). Novel detection of *Coxiella* spp., *Theileria luwenshuni*, and *T. ovis* endosymbionts in deer keds (*Lipoptena fortisetosa*). *PLOS One*, *11*, 1–10.
- Lempereur, L., Cat, A. De, Caron, Y., Madder, M., Claerebout, E., Saegerman, C., & Losson, B. (2011). First molecular evidence of potentially zoonotic *Babesia microti* and *Babesia* sp. EU1 in *Ixodes ricinus* ticks in Belgium. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *11*, 125–130.
- Li, Y., Chen, Z., Liu, Z., Yang, J., Li, Q., Li, Y., ... Yin, H. (2014). Molecular identification of *Theileria* parasites of northwestern Chinese Cervidae. *Parasites & Vectors*, *7*, 1–7.
- Li, Y., Liu, J., Liu, Z., Yang, J., Li, Y., Li, Q., ... Yin, H. (2015). Report of *Theileria luwenshuni* and *Theileria* sp. RSR from cervids in Gansu, China. *Parasitology Research*, *114*, 2023–2029.
- Li, Y., Luo, J., & Guan, G. (2009). Experimental transmission of *Theileria uilenbergi* infective for small ruminants by *Haemaphysalis longicornis* and *Haemaphysalis qinghaiensis*. *Parasitology Research*, *104*, 1227–1231.
- Li, Y., Luo, J., & Liu, Z. (2007). Experimental transmission of *Theileria* sp. (China 1) infective for small ruminants by *Haemaphysalis longicornis* and *Haemaphysalis qinghaiensis*. *Parasitology Research*, *101*, 533–538.
- M'Fadyean, S. J., & Stockman, S. (1911). A new species of piroplasm found in the blood of british cattle. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, *24*, 340–354.
- Malandrin, L., Jouglin, M., Sun, Y., Brisseau, N., & Chauvin, A. (2010). Redescription of *Babesia capreoli* (Enigk and Friedhoff, 1962) from roe deer (*Capreolus capreolus*): Isolation, cultivation, host specificity, molecular characterisation and differentiation from *Babesia divergens*. *International Journal for Parasitology*, *40*, 277–284.
- Mans, B. J., Pienaar, R., & Latif, A. A. (2015). A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, *4*, 104–118.
- Martinsen, E. S., Mcinerney, N., Brightman, H., Ferebee, K., Walsh, T., Meshea, W. J., ... Fleischer, R. C. (2016). Hidden in plain sight: Cryptic and endemic malaria parasites in North American white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Science Advances*, *2*, 1–8.
- Meer-Scherrer, L., Adelson, M., Mordechai, E., Lottaz, B., & Tilton, R. (2004). *Babesia microti*

- infection in Europe. *Current Microbiology*, *48*, 435–437.
- Mehlhorn, H. (2001). Encyclopedic reference of parasitology: diseases, treatment, therapy (2). New York: Springer.
- Mehlhorn, H., & Schein, E. (1985). The piroplasms: life cycle and sexual stages. *Advances in Parasitology*, *23*, 37–103.
- Mendes, N. S., Angélica, I., Ramos, D. S., Herrera, H. M., Bosco, J., & Campos, V. (2019). Genetic diversity of *Babesia bovis* in beef cattle in a large wetland in Brazil. *Parasitology Research*, *118*, 2027–2040.
- Mitkova, B., Hrazdilova, K., Novotna, M., Jurankova, J., Hofmannova, L., Forejtek, P., & Modry, D. (2017). Autochthonous *Babesia canis*, *Hepatozoon canis* and imported *Babesia gibsoni* infection in dogs in the Czech Republic. *Veterinarni Medicina*, *62*, 138–146.
- Reis, C., Cote, M., Paul, R. E. L., & Bonnet, S. (2011). Questing ticks in Suburban Forest are infected by at least six tick-borne pathogens. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *11*, 907–916.
- Remesar, S., Díaz, P., Prieto, A., Markina, F., Manuel, J., Cao, D., ... Morrondo, P. (2019). Prevalence and distribution of *Babesia* and *Theileria* species in roe deer from Spain. *IJP: Parasites and Wildlife*, *9*, 195–201.
- Riek, R. F. (1964). The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Australian Journal of Agricultural Research*, *15*, 802–821.
- Ristic, M. (1988). *Babesiosis of domestic animals and man*. CRC Press.
- Rybářová, M., Honsová, M., Papoušek, I., & Šíroký, P. (2017). Variability of species of *Babesia* Starcovici, 1893 in three sympatric ticks (*Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* and *Haemaphysalis concinna*) at the edge of Pannonia in the Czech Republic and Slovakia. *Folia Parasitologica*, *64*, 1–6.
- Sanmartin, J. G., Aurtenetxe, O., Barral, M., Marco, I., Lavin, S., Garci, J., ... Hurtado, A. (2007). Molecular detection and characterization of piroplasms infecting cervids and chamois in northern Spain. *Parasitology*, *134*, 391–398.
- Santos, C. L., Guimarães, L. D. O., Grazziotin, A. L., Morais, W. De, Cubas, Z. S., Oliveira, M. J. De, ... Kirchgatter, K. (2018). First molecular screening of *Plasmodium* species in ungulates from Southern Brazil. *BMC Research Notes*, *11*, 5–9.
- Sawczuk, M., & Maciejewska, A. (2008). Identification and molecular characterization of *Theileria* sp. infecting red deer (*Cervus elaphus*) in northwestern Poland. *Journal of Wildlife Diseases*,

54, 225–230.

- Schoelkopf, L., Hutchinson, C. E., Bendele, K. G., Goff, W. L., Willette, M., Rasmussen, J. M., ... Holman, P. J. (2005). New ruminant hosts and wider geographic range identified for *Babesia odocoilei* (Emerson and Wright 1970). *Journal of Wildlife Diseases*, *41*, 683–690.
- Sheather, A. L. (1919). A malarial parasite in the blood of a buffalo. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, *32*, 223–229.
- Silviera, J. A. G., Rabelo, É. M. L., Lacerda, A. C. R., Borges, P. A. L., Tomás, W. M., Pellegrin, A. O., ... Ribeiro, M. F. B. (2013). Ticks and Tick-borne Diseases Molecular detection and identification of hemoparasites in pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758) from the Pantanal Brazil. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *4*, 341–345.
- Silviera, J. A., Rabelo, E. M., & Ribeiro, M. F. (2011). Detection of *Theileria* and *Babesia* in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in the State of Minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*, *177*, 61–66.
- Sivakumar, T., Hayashida, K., Sugimoto, C., & Yokoyama, N. (2014). Evolution and genetic diversity of *Theileria*. *Infection, Genetics and Evolution*, *27*, 250–263.
- Smith, T., & Kilborne, F. L. (1893). Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever. Washington: Government Printing Office.
- Steinberg, M. H. (2019). “Sickling” in vertebrates: Animal studies vs. sickle cell disease. *Blood Reviews*, *36*, 88–94.
- Svobodová, Z., & Svobodová, V. (2004). Babesióza psů v České republice. *Veterinářství*, *54*, 76–79.
- Tampieri, M. P., Galuppi, R., Bonoli, C., Cancrini, G., Moretti, A., & Pietrobelli, M. (2008). Wild ungulates as *Babesia* hosts in northern and central Italy. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *8*, 667–674.
- Templeton, T. J., Asada, M., Jiratanh, M., Ishikawa, S. A., Tiawsirisup, S., Sivakumar, T., ... Sugimoto, C. (2016a). Ungulate malaria parasites. *Nature Publishing Group*, *6*, 1–8.
- Templeton, T. J., Martinsen, E., & Kaewthamasorn, M. (2016b). The rediscovery of malaria parasites of ungulates. *Parasitology*, *143*, 1501–1508.
- Uilenberg, G. (2006). *Babesia*—A historical overview. *Veterinary Parasitology*, *138*, 3–10.
- Valkiūnas, G. (2005). Avian malaria parasites and other haemosporidia. Boca Raton: CRC Press.
- Van Riper III, C., Van Riper, S. G., Goff, L., & Laird, M. (2008). The epizootiology and ecological

- significance of malaria in hawaiian land birds. *Ecological Monographs*, 56, 327–344.
- Volf, P., & Horák, P. (2007). Paraziti a jejich biologie. Praha: Triton., 50–137.
- Wang, H., Yang, J., Mukhtar, M. U., Liu, Z., Zhang, M., & Wang, X. (2019). Molecular detection and identification of tick-borne bacteria and protozoans in goats and wild Siberian roe deer (*Capreolus pygargus*) from Heilongjiang Province, northeastern China. *Parasites & Vectors*, 12, 1–8.
- Wharton, R. H., Eyles, D. O. N. E., Warren, M., & Moorhouse, D. E. (1963). Investigations leading to the Identification of Members of the *Anopheles umbrosus* group as the Probable Vectors of Mouse Deer Malaria. *The Bulletin of the World Health Organization*, 29, 357–374.
- WHO. (2015). World malaria report 2015. World Health Organization.
- Wielinga, P. R., Fonville, M., Sprong, H., Gaasenbeek, C., Borgsteede, F., & Giessen, J. (2009). Persistent detection of *Babesia* EU1 and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* in the Netherlands during a 5-Year surveillance: 2003–2007. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 9, 119–121.
- Wood, J., Johnson, E. M., Allen, K. E., Campbell, G. A., Rezabek, G., Bradway, D. S., ... Panciera, R. J. (2013). Merogonic stages of *Theileria cervi* in mule deer (*Odocoileus hemionus*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25, 662–665.
- Yin, H., Liu, Z., Guan, G., Liu, A., Ma, M., Ren, Q., & Luo, J. (2008). Detection and differentiation of *Theileria luwenshuni* and *T. uilenbergi* Infection in Small Ruminants by PCR. *Transboundary and Emerging Diseases*, 55, 233–237.
- Zhang, X., Liu, Z., Yang, J., Chen, Z., Guan, G., Ren, Q., ... Li, Y. (2014). Multiplex PCR for diagnosis of *Theileria uilenbergi*, *Theileria luwenshuni*, and *Theileria ovis* in small ruminants. *Parasitology Research*, 114, 527–531.
- Zintl, A., Mulcahy, G., Skerrett, H. E., Taylor, S. M., & Gray, J. S. (2003). *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 622–636.