

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Adéla Mandysová

Potenciální přenašeči leishmanióz v jihovýchodní Asii
Potential vectors of leishmaniases in southeastern Asia

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Vít Dvořák, 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, 3. 5. 2022

Podpis

Velice ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Vítu Dvořákovi, Ph.D. za jeho vstřícnost, odbornou korekturu této práce a ochotu vždy poskytnout pomoc. Také bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu.

Abstrakt

Leishmaniózy patří mezi zanedbávaná tropická onemocnění způsobená intracelulárními parazitickými prvky rodu *Leishmania*. Přenášeny jsou krevsajícími flebotomy (Diptera: Psychodidae). Onemocnění se vyskytuje v mnoha částech světa, včetně jihovýchodní Asie. V tomto regionu dochází v posledních letech k nárůstu lidských případů. Nákazu zde způsobují především *Leishmania martiniquensis* a *L. orientalis* z podrodu *Mundinia*, jež jsou původci kutánní i viscerální leishmaniózy, poté *L. donovani* a *L. infantum* způsobující viscerální leishmaniózu (také zvanou kala-azar). Jako rezervoár parazitů by zde mohla sloužit domácí zvířata a mohla by tak být zapojena do zoonotického cyklu. Přestože je fauna flebotomů v této oblasti bohatá, žádný druh nebyl doposud shledán jako potvrzený přenašeč leishmanióz. V současné době se ukazuje, že by nákazu v oblasti jihovýchodní Asie mohly přenášet různé skupiny hmyzu. Potenciálními přenašeči by zde mohly být samice rodu *Sergentomyia* (Diptera: Psychodidae) a také tiplicí rodu *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae).

Klíčová slova: flebotom, leishmanióza, přenašeč, JV Asie, Thajsko

Abstract

Leishmaniasis are neglected tropical diseases caused by intracellular protozoan parasites of the genus *Leishmania*. They are transmitted by blood feeding phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). The disease occurs in many parts of the world, including southeastern Asia. Recently, the number of human leishmaniasis cases have been increasing in this region. *Leishmania martiniquensis* and *L. orientalis* of the subgenus *Mundinia* are the causative agents of cutaneous and visceral leishmaniasis, *L. donovani* and *L. infantum* are the causative agents only of visceral leishmaniasis (also known as kala-azar) here. Domestic animals may serve as natural reservoirs, suggesting their role in zoonotic cycle. Although the fauna of phlebotomine sandflies in this area is rich, no species has yet been proven as a vector of the disease. Recent studies suggest that other groups of insects in the southeastern Asia could transmit the disease. The potential vectors could be females of the genus *Sergentomyia* (Diptera: Psychodidae) and also biting midges of the genus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae).

Key words: sand fly, leishmaniasis, vector, southeastern Asia, Thailand

Seznam použitých zkratek

PM – peritrofická matrix

CL – kutánní leishmanióza

MCL – mukokutánní leishmanióza

VL – viscerální leishmanióza

PKDL – post-kala-azar dermální leishmanióza

WHO – World Health Organisation (Světová zdravotnická organizace)

ASEAN – Association of South East Asian Nations (Sdružení národů jihovýchodní Asie)

CDC – Centers for Disease Control and Prevention

PCR – polymerase chain reaction

HIV – human immunodeficiency virus

GMS – Greater Mekong Sub-region (podoblast Velkého Mekongu)

DAT – direct agglutination test (přímý aglutinační test)

mtDNA – mitochondriální DNA

cyt b – cytochrom b

COI – cytochrom oxidáza I

Obsah

1. Úvod	1
2. Leishmanióza a její původci	2
2.1 Význam a výskyt leishmanióz.....	2
2.2 Taxonomické zařazení rodu <i>Leishmania</i>	2
2.3 Vývojový cyklus leishmáníí.....	3
2.4 Formy onemocnění.....	4
2.5 Přenašeči.....	5
3. Leishmaniózy jihovýchodní Asie, jejich původci a přenašeči	7
3.1 Thajsko	8
3.1.1 Leishmaniózy	8
3.1.2 Přenašeči.....	12
3.2 Vietnam	17
3.3 Malajsie	18
3.4 Myanmar (Barma)	20
3.5 Kambodža.....	20
3.6 Laos	21
4. Alternativní potenciální přenašeči leishmanióz	21
5. Závěr	23
Použitá literatura:	28

1. Úvod

Leishmaniózy patří mezi nejvíce nebezpečná onemocnění na světě přenášená hmyzem, v různých částech světa postihují až 1 milion lidí ročně. Dle WHO se řadí mezi tzv. zanedbávaná tropická onemocnění (neglected tropical diseases), vyskytující se především v tropických a subtropických oblastech Asie, Afriky, Jižní Ameriky a také Evropy (Pigott et al., 2014). Jejich původci jsou intracelulární parazitičtí prvoci rodu *Leishmania* ze třídy Kinetoplastida, kteří napadají v první řadě bílé krvinky hostitele, poté i sliznice a orgány.

Onemocnění má tři hlavní klinické formy a stupeň jejich projevu závisí na několika faktorech, především na imunitním systému člověka. Kutánní neboli kožní leishmanióza je nejčastější a nejméně závažnou formou, kdy dochází k poškození kůže a tvorbě vředů a lézí po těle. Mukokutánní leishmanióza, která je méně častá, postihuje sliznice krku, nosní a ústní dutiny. Nejzávažnější formou je viscerální leishmanióza, někdy také nazývaná kala-azar, kdy parazit napadá játra, slezinu a kostní dřeň. Projevuje se horečkami, anémií, zvětšením uvedených orgánů a narušením jejich funkce (Gurel et al., 2020).

Leishmánie jsou přenášeny ve Starém světě hmyzem rodu *Phlebotomus* a v Novém světě rodem *Lutzomyia* (Pigott et al., 2014). Jedná se o velice drobný hmyz z řádu Diptera a čeledi Psychodidae. Obě pohlaví se živí rostlinnými šťávami, ovšem samice sají i krev, čímž parazity přenáší dále (Killick-Kendrick, 1999). Rozlišujeme zoonotický cyklus, ve kterém jsou definitivními hostiteli zvířata a nákaza koluje mezi nimi, ačkoliv člověk se může také nakazit, a antroponotický cyklus, kdy hlavním rezervoárem parazita je člověk.

Ve své práci se zaměřuji na země tzv. podoblasti Velkého Mekongu, tvořící značnou část jihovýchodní Asie, a zahrnující Thajsko, Vietnam, Malajsii, Myanmar (Barmu), Kambodžu a Laos. Pravděpodobným rezervoárem leishmáníí jsou v tomto regionu domácí a hospodářská zvířata (především hlodavci, kočky, psi a dobytek), která se zde vyskytují ve vysokém počtu (Chusri et al., 2014; Junsiri et al., 2017). Věk, pohlaví, zdravotní stav a životní podmínky zdejších lidí jsou důležitými faktory ovlivňujícími riziko nákazy (Sriwongpan et al., 2021). Ani v současné době není zcela jasná role zdejších flebotomů v přenosu leishmanióz (Ruang-areerate et al., 2019). Za potenciální přenašeče je zde považováno několik druhů rodů *Phlebotomus* a *Sergentomyia*. Kromě flebotomů se diskutuje i o možných alternativních hmyzích vektorech, kterými jsou tiplíci rodu *Culicoides* z čeledi Ceratopogonidae.

Cílem této práce bude shrnout dosavadní poznatky o výskytu leishmanióz v některých zemích JV Asie, jejich hostitelích a potenciálních přenašečích.

2. Leishmanióza a její původci

2.1 Význam a výskyt leishmanióz

Hmyzem přenosní parazitičtí prvoci rodu *Leishmania* způsobují závažná onemocnění zvaná leishmaniózy (Akhoundi et al., 2016). Leishmaniózy patří mezi tzv. zanedbávaná tropická onemocnění (neglected tropical diseases), což je řada nemocí vyskytujících se především v chudých tropických oblastech s nedostatečnou zdravotnickou péčí, jimž přes jejich závažný dopad na lidské zdraví není věnována dostatečná pozornost. Leishmaniózy každoročně postihnou 700 000 až 1 milion lidí a více než miliarda lidí dnes žije v endemických oblastech s rizikem nákazy (WHO, 2021). Potvrzenými přenašeči leishmanióz jsou flebotomové (Diptera: Phlebotomidae) rodu *Phlebotomus* ve Starém světě a *Lutzomyia* v Novém světě, přičemž více než 90 druhů flebotomů je potvrzenými či potenciálními přenašeči parazitů na člověka (Maroli et al., 2013). Leishmaniózy jsou rozšířeny v mnoha oblastech Afriky, Asie, Latinské Ameriky, a dokonce i Evropy, celkem v 98 různých zemích (Alvar et al., 2012). Přestože se jedná o velice závažnou chorobu, stále chybí informace a přesná data o výskytu nákazy především z chudších částí světa. V některých oblastech je skutečné množství nakažených lidí téměř jistě větší, než kolik je hlášených případů. Důvodem nedostatečného hlášení případů je špatná diagnostika a nedostupnost lékařské péče. Problémem je také nedostatek léčiv v chudších oblastech (Desjeux, 2004; Pigott et al., 2014).

2.2 Taxonomické zařazení rodu *Leishmania*

Leishmánie jsou parazitičtí prvoci, kteří se řadí do říše Prostista, třídy Kinetoplastida, řádu Trypanosomatida, čeledi Trypanosomatidae a rodu *Leishmania*. Dosud bylo popsáno 53 druhů leishmanií, přičemž 31 druhů napadá savce a okolo 20 druhů z nich je infekčních pro člověka (Akhoundi et al., 2016).

V minulosti byly leishmánie klasifikovány podle toho, jakou formu onemocnění způsobovaly. Například ve Starém světě byly za původce kutánní leishmaniózy považovány typicky *Leishmania major* či *L. tropica*, zatímco *L. donovani* podle tehdejších úsudků způsobovala viscerální formu onemocnění. Roku 1987 byl ovšem vytvořen nový fylogenetický strom, který se používá dodnes, a v němž je rod *Leishmania* rozdělen na podrody *L. (Leishmania)*, *L. (Viannia)* a *L. (Sauroleishmania)* (Lainson & Shaw, 1987). Podrod *Sauroleishmania* zahrnuje druhy, které nejsou patogenní pro člověka a ve Starém světě napadají plazy, zatímco druhy zbývajících dvou podrodů parazitují i na lidech (Bates, 2007).

V současné době se leishmánie dělí na skupiny *Euleishmania* a *Paraleishmania* (Cupolillo et al., 2000). Do skupiny *Euleishmania* jsou zahrnovány podrody *Leishmania*, *Viannia*, *Sauroleishmania*

a *Mundinia*. Do skupiny *Paraleishmania* se řadí *L. herreri*, *L. equatorensis*, *L. deanei*, *L. colombiensis*, *L. hertigi* a bývalý rod *Endotrypanum* (Akhoundi et al., 2016).

Zatímco v minulosti bylo taxonomické určování jednotlivých druhů leishmáníí postaveno na biologických, geografických, epidemiologických a imunologických metodách, dnes se používají převážně biochemické a molekulárně biologické metody, např. multilokusová enzymová elektroforéza (MLEE). I přesto se náhled na postavení některých druhů rodu *Leishmania* stále vyvíjí (Schönian et al., 2010). Jako příklad lze uvést podrod *Mundinia*, vytvořený teprve v roce 2018 pro několik druhů leishmáníí způsobujících onemocnění u zvířat i lidí, jejichž fylogenetické postavení nebylo po dlouhou dobu známo (Serenio, 2019).

2.3 Vývojový cyklus leishmáníí

Vývojový cyklus leishmáníí je dvouhostitelský. Paraziti kolují mezi hmyzími přenašeči, kterými jsou podle klasického pojetí flebotomové (Diptera: Psychodidae), přestože se uvažuje i o alternativních přenašečích, a hostiteli, kterými jsou nejčastěji savci, včetně člověka (Dostálová & Volf, 2012).

Lze rozdělit dva způsoby vývoje leishmáníí podle místa jejich výskytu v zažívacím traktu přenašeče. Podrod *Viannia* se vyznačuje tzv. peripylariárním vývojem, při němž leishmáníe nejprve migrují do zadního střeva flebotoma a teprve poté do mesenteronu. Druhy z podrodu *Leishmania* patří mezi tzv. suprapylariární parazity, kteří se vyvíjí pouze v mesenteronu. Suprapylariární vývojový cyklus je více popsán a má ho většina leishmáníí Starého světa (Kamhawi, 2006). V této kapitole se tedy budu zabývat jen touto skupinou.

Samice flebotoma nasaje krev hostitele, která obsahuje infikované makrofágy s intracelulárními kulovitými amastigoty (Bates & Rogers, 2004). Jakmile se nasátá krev dostane do mesenteronu, obalí ji flebotomem nově vytvořená peritrofická matrix, která slouží především jako obrana proti parazitům a je složena z chitinu, proteinů a proteoglykanů. Pro leishmáníe je ovšem tvorba peritrofické matrix (PM) důležitá, jelikož je chrání před degradací trávicími enzymy ve střevě flebotoma. Pokusy založené na blokaci tvorby PM prostřednictvím enzymu chitinázy jsou toho důkazem. V mesenteronu takto modifikovaných flebotomů jsou amastigoti zničeni již čtyři hodiny po sání. Promastigoti jsou ovšem již schopni přežít i bez PM (Pimenta et al., 1997).

Amastigoti se v PM diferencují na protáhlé a pohyblivé procyklické promastigoty s krátkým bičíkem (Dostálová & Volf, 2012). Ti se dále množí a mění se na podlouhlé a štíhlé nektomonádní promastigoty, kteří se hromadí v anteriorní části PM, z níž unikají. V dalším kroku se část nektomonád musí přichytit na epiteliální stěnu mesenteronu a část migruje na anteriorní stranu. Z nektomonád se poté stávají leptomonádní promastigoti, množící se a vyskytující se v lumen mesenteronu. Dalším vývojovým stádiem jsou haptomonády, které se přichycují na kutikulu stomodeální valvy (Bates & Rogers, 2004). Stomodeální valva je pro flebotomy důležitá během sání potravy. Nejen, že umožňuje jednostranný tok přijímaných šťáv nebo krve dále do střeva, ale také zabraňuje jejich regurgitaci.

Leishmánie ovšem stomodeální valvu poškozují tím, že ničí její cylindrické buňky a chitinovou výstelku. Poškozením valvy se během sání flebotoma vrací přijímaná potrava zpět i spolu s parazity, což zajišťuje jejich přenos na hostitele (Volf et al., 2004).

Pro definitivního hostitele jsou infekční tzv. metacykličtí promastigoti, kteří se do jeho krve dostávají během sání flebotoma. Promastigoti jsou v krvi hostitele fagocytováni makrofágy do tzv. fagosomu, který se po spojení s lysozomem stává fagolysozomem. Zde proběhne diferenciacce parazitů na amastigoty, kteří z makrofágů unikají a napadají další buňky, kterými kromě makrofágů mohou být i dendritické buňky (Handman & Bullen, 2002). Amastigoti v krvi hostitele jsou nasáty samičí flebotoma, kde se opět přemění na promastigoty a množí, čímž se celý cyklus opakuje (Bailey & Lockwood, 2007).

Rozlišujeme tzv. zoonotický cyklus, při němž paraziti kolují jak mezi domácími, tak mezi divokými zvířaty a mohou být přeneseny i na člověka, a antroponotický cyklus, kdy jediným rezervoárem leishmáníí je člověk (Kamhawi, 2006).

2.4 Formy onemocnění

Lidské leishmaniózy mají více klinických forem, které se projevují na základě imunity a genetického pozadí hostitele, faktorů prostředí nebo i druhu parazita (Hepburn, 2000). Hlavními formami jsou kutánní, mukokutánní, viscerální leishmanióza a post-kala-azar dermální leishmanióza.

Kutánní leishmanióza (CL) je nejčastější formou onemocnění a předpokládá se, že každoročně postihne 600 000 až 1 milion lidí (WHO, 2021). V posledních letech přibývá množství importovaných případů i v zemích, kde se leishmaniózy běžně nevyskytují. Děje se tak v důsledku většího turismu a migrace lidí z endemických oblastí (Wall et al., 2012). Druhy leishmáníí, které způsobují CL, se vyskytují ve Starém i Novém světě. V Africe, Indii, na Blízkém východě a ve Středomoří ji způsobují *L. major*, *L. tropica* a *L. aethiopica*. V Latinské Americe převažují druhy *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. amazonensis* a *L. guyanensis* (Burza et al., 2018). V místě sání infekčního flebotoma nejprve vzniká puchýřek, který se postupně zvětšuje a stane se vředem, který se může sám zahojit a zanechat po sobě drobnou jizvu (Goto & Lauletta Lindoso, 2012; Gurel et al., 2020). Tato forma se nazývá lokalizovaná CL. Existuje nicméně více forem, které mohou člověka postihnout. Vzácnější formou je tzv. diseminovaná leishmanióza projevující se mnohačetnými lézemi po těle. Z lokalizované CL se může vyvinout také difuzní CL vyskytující se v Africe, Střední a Jižní Americe. Je charakteristická noduly pokrývajícími odhalené části těla hostitele (Gurel et al., 2020).

Mukokutánní leishmanióza (MCL) se vyskytuje až na výjimky v Jižní Americe a je za ni zodpovědná nejčastěji *L. braziliensis*. Tato forma ovšem může být způsobena i jinými druhy, jimiž jsou *L. panamensis*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis*, *L. major*, *L. tropica* a *L. infantum*. MCL se v první fázi projevuje jako zánět nosní sliznice, což je způsobeno proniknutím parazita do slizničních tkání, lymfatického nebo krevního systému člověka. Následně se na nosní sliznici utváří vředy a dochází

k perforaci nosní přepážky (Reithinger et al., 2007). Napadena může být také ústní sliznice, části obličeje, hltanu, hrtanu a měkkého patra (Goto & Lauletta Lindoso, 2012).

Nejzávažnější formou onemocnění je viscerální leishmanióza (VL), někdy nazývaná jako kala-azar, která neléčená často končí smrtí člověka. Při tomto onemocnění jsou napadena játra a slezina, což se projeví jejich zvětšením. Pacienti také trpí horečkami, anémií a sníženým počtem lymfocytů v důsledku napadení kostní dřeně. Inkubační doba VL se pohybuje v rozmezí dvou týdnů až 18 měsíců, v některých případech se ovšem symptomy mohou projevit až po několika letech. Antroponotickou formu VL způsobuje *L. donovani*, která koluje pouze mezi lidmi a vyskytuje se především v tropických a subtropických oblastech Asie a Východní Afriky. Zoonotická VL, kolující mezi lidmi a zvířaty, je způsobena *L. infantum* a je přenášena hlavně v Latinské Americe a v oblasti Středomoří. Jejím nejčastějším zvířecím rezervoárem jsou psi (Ready, 2014).

Následkem VL se u pacientů během roku až pěti let po jejím vyléčení může vyvinout tzv. post-kala-azar dermální leishmanióza (PKDL). Projevuje se drobnými lézemi na různých částech těla, zejména na obličeji, rukou a trupu. Přestože člověk není ohrožen na životě, slouží jako rezervoár parazita, který je potenciálně nebezpečný pro další hostitele (Ghosh et al., 2021). PKDL může vzniknout v důsledku reinfekce nebo reaktivací latentních leishmáníí, které nebyly zničeny během léčby VL. Způsobuje ji nejčastěji *L. donovani*, někdy také *L. infantum* (Ganguly et al., 2010).

Častou komplikací může být koinfekce VL u HIV pozitivních lidí. Tito pacienti poté mohou mít vážnější průběh VL a vyšší riziko relapsu. Je proto snaha vyvinout účinnou léčbu, která by fungovala proti leishmanióze a zároveň zabránila vzniku relapsu (Monge-Maillo & López-Vélez, 2016).

Léčba leishmanióz se odvíjí od klinických projevů nemoci, druhu parazita a dostupnosti lékařské péče v dané oblasti (McGwire & Satoskar, 2016). Velmi často se k léčbě různých forem leishmaniózy používá pentavalentní antimon, který je ovšem toxický pro některé orgány a leishmánie si proti němu již vybudovaly rezistenci (Handler et al., 2015). Kromě toho se k léčbě onemocnění používá amfotericin B. Ten ovšem vyvolává silné vedlejší účinky, proto jsou pacienti během léčby hospitalizováni a pozorováni. Existuje několik typů amfotericinu, např. liposomální amfotericin B nebo lipidový komplex amfotericinu B. Dalšími léky jsou také pentamidin, paromycin nebo miltefosin, který je jediným schváleným perorálním lékem proti leishmaniózám (Chakravarty & Sundar, 2019; McGwire & Satoskar, 2016).

2.5 Přenašeči

Důležitou roli v cyklu leishmanióz hrají jejich hmyzí přenašeči. Jsou jimi flebotomové, kteří náleží do řádu Diptera, podřádu Nematocera, čeledi Psychodidae a podčeledi Phlebotominae. Podčeď Phlebotominae zahrnuje rody *Phlebotomus*, *Sergentomyia* a *Chinius* vyskytující se ve Starém světě a rody *Lutzomyia*, *Brumptomyia* a *Warileya* v Novém světě. Taxonomické zařazování flebotomů

v minulosti vycházelo z morfoloogické analýzy druhově specifických znaků. Dnes máme k dispozici přesnější molekulární metody (např. izoenzymová analýza, DNA barcoding a sekvenční analýza genových markerů, proteinové profilování pomocí hmotnostní spektrometrie), umožňující lépe charakterizovat a jednoznačněji určit jednotlivé druhy, znázornit vnitrodruhové i mezidruhové rozdílnosti (Akhoundi et al., 2016) a snáze identifikovat např. kryptické druhy flebotomů (Depaquit, 2014).

Tělo dospělého flebotoma obvykle nebývá větší než 3 mm a je pokryto chlupy. Pokud nelétá, má křídla v typickém postavení připomínající písmeno ‚V‘. Potravou samců i samic je cukr vyskytující se v rostlinných šťávách nebo medovice, kterou produkují mšice. Samice na rozdíl od samců také potřebuje sát krev různých živočichů, která je zdrojem živin důležitých pro produkci vajíček. U některých druhů může docházet k tzv. autogenii, kdy samice je schopna naklást první snůšku vajíček i bez předchozího nasátí krve (Killick-Kendrick, 1999).

Nasátá samice klade vajíčka na místa s vyšším obsahem organického materiálu, např. na hnůj, do jeskyní, kmenů stromů, trhlin v půdě či do hlodavčích nor. Z vajíček se po několika dnech líhnou larvy, které mají čtyři vývojová stádia. Následně se larvy zakuklí a přemění na dospělé (Dvorak et al., 2018). Ti jsou aktivní především brzy ráno, večer a v noci. Celý vývojový cyklus flebotomů probíhá na vlhkých a teplých stanovištích souše a nevyžaduje vodu (Maroli et al., 2013).

Při sání krve flebotom svým sosákem naruší v určitém místě kůži a poničí povrchové kapiláry hostitele (Gomes & Oliveira, 2012). Aby v místě sání nedocházelo ke srážení krve a spouštění lokálních imunitních reakcí, injikuje přenašeč do rány své sliny obsahující různé antikoagulační, imunomodulační, vazodilatační a protizánětlivé látky (Andrade et al., 2007). Činnost těchto látek zvyšuje pravděpodobnost úspěšné infekce, jelikož se slinami jsou přenášeni i promastigoti infekční pro hostitele (Rohoušová & Volf, 2006). Dalším faktorem, vedoucím ke zvýšené virulenci, je poškození stomodeální valvy flebotoma leishmáními. Flebotom se v důsledku toho snaží sát opakovaně a na více různých místech těla hostitele (Schlein et al., 1992).

Přenos leishmanióz ovšem není typický pro všechny flebotomy, jsou ho schopny jen některé druhy. Velká část z nich dokonce ani nesaje lidskou krev nebo parazit ve střevě flebotoma není schopen dokončit svůj vývoj. Killick-Kendrick (1990) proto vytvořil několik kritérií, které daný druh přenašeče leishmanióz musí splňovat, aby se stal potvrzeným:

- a) Musí být schopen sát na lidech.
- b) V případě zoonotického cyklu musí být schopen sát na zvířecích hostitelích.
- c) Vektor musí být nakažen ve volné přírodě, a to stejným druhem leishmánie, který infikuje i lidi.
- d) Po strávení nasáté krve musí být ve střevě přenašeče umožněn vývoj parazita.
- e) Vektor musí být schopen přenosu parazita na hostitele.

Mnohdy je ovšem velmi obtížné splnit všechna tato kritéria, a proto je daný druh přenašeče označován jako „potenciální“ (Killick-Kendrick, 1990). V současnosti je popsáno 98 druhů z rodů *Phlebotomus* a

Lutzomyia, které jsou potenciálními či potvrzenými přenašeči lidských leishmanióz (Maroli et al., 2013).

Rod *Phlebotomus* zahrnuje již zhruba 13 podrodů a vyskytuje se ve Středomoří, Africe, centrální a jihovýchodní (JV) Asii, na Blízkém východě a v oblasti Pacifiku. Rod *Sergentomyia* zahrnuje 10 podrodů, vyskytujících se v Austrálii, Asii, Africe, Evropě a na Indickém subkontinentu. U rodu *Chinius* jsou popsány pouze 4 druhy: *Chinius junlianensis*, *Ch. barbazani*, *Ch. eunicegalatae* a *Ch. samarensis*, vzácně nalézané v různých oblastech Asie (Akhoundi et al., 2016). V Novém světě, tedy Severní, Střední a Jižní Americe, pojetí rodů a podrodů flebotomů prošlo v poslední době důkladnou revizí, která taxonomii celé skupiny výrazně proměnila povýšením většiny podrodů na úroveň rodu. V této práci se jimi ovšem nezabývám.

Mnohé druhy rodů *Sergentomyia*, *Lutzomyia* a *Phlebotomus* kromě leishmanióz přenáší také různé arboviry. Medicínsky významná je rovněž Carriónova choroba, onemocnění způsobené gram-negativní bakterií *Bartonella bacilliformis*, přenášené flebotomy rodu *Lutzomyia*. Projevuje se bolestí kloubů, horečkou, bolestí hlavy, člověk může upadnout do kómatu a pokud není léčena, může končit smrtí. Vyskytuje se pouze v Peru, Ekvádoru a Kolumbii, svým rozšířením je tedy velmi omezené oproti leishmaniózám, které lze nalézt napříč mnoha kontinenty (Maroli et al., 2013).

Častým cílem v prevenci proti nákaze leishmaniózami je hubení jejich hmyzích vektorů. Jakýkoli biologický či chemický boj proti flebotomům je nicméně velice složitý. Jedním faktorem je jejich velká druhová rozmanitost (Killick-Kendrick, 1999), zároveň je často velmi obtížné najít líhniště těchto přenašečů. Pokud jsou ovšem místa výskytu a líhnutí známá, lze použít insekticidy nebo zcela mikrohabitaty přenašečů zničit. V oblastech, kde žijí lidé a kde se hojně leishmaniózy přenáší, se používají chemické postřiky, zejména na stěny domů nebo na zvířecí přístřešky. Ve městech jsou tyto postupy mnohem častější a účinnější než na venkově, a to z důvodu lepší dostupnosti insekticidů, potřebné výbavy a kvalifikovaných osob, které taková chemická ošetření mohou provádět (Alexander & Maroli, 2003).

3. Leishmaniózy jihovýchodní Asie, jejich původci a přenašeči

Jihovýchodní (JV) Asii tvoří celkem 11 států – Brunej, Kambodža, Indonésie, Laos, Myanmar, Malajsie, Filipíny, Singapur, Thajsko, Východní Timor a Vietnam. Celá tato geografická oblast se nachází jižně od Číny a sousedí s Indickým subkontinentem.

Tato práce pojednává o leishmaniózách a jejich přenašečích pouze v Thajsku, Vietnamu, Malajsii, Myanmaru, Kambodže a Laosu, tedy zemích vyčleňovaných do tzv. podoblasti Velkého Mekongu (Greater Mekong Sub-region, GMS). Všechny tyto státy, navíc spolu s Filipínami, Brunejí, Indonésií a Singapurem, jsou také členy tzv. Sdružení národů jihovýchodní Asie (ASEAN). Hlavním cílem tohoto sdružení je urychlení ekonomického, sociálního a kulturního rozvoje členských zemí (ASEAN, 2020). Přesto se tyto státy dodnes potýkají s chudobou a výskytem zanedbávaných

tropických onemocnění, kam patří i leishmaniózy (Hotez et al., 2015). Po dlouhou dobu nebyly v oblasti JV Asie zaznamenány žádné autochtonní případy nákazy, proto zde ani dosud nebylo provedeno příliš mnoho studií týkajících se leishmanióz ve srovnání s ostatními částmi Asie, především Indickým subkontinentem (Vu et al., 2020). V následku toho existuje jen malé množství dat o zdejších hmyzích přenašečích.

Znalosti, nashromážděné o flebotomech v tomto regionu v prvních dvou třetinách 20. století, shrnuje monografie Lewis (1978). Svým zaměřením pokrývá celou Orientální neboli Indomalajskou biogeografickou oblast, jejíž součástí jsou také Indie, Pákistán a Bangladéš, tedy země s velmi významným počtem případů leishmanióz, ale zcela odlišnou epidemiologií jejich přenosu a druhovým složením flebofauny. Autor celou Orientální oblast dělí na několik podoblastí, z nichž se s regionem, na nějž se v práci zaměřuji, překrývá s tzv. centrální oblastí. Také uvádí celkem 17 druhů rodu *Sergentomyia* pro Západní Malajsii. Velmi rozšířeným druhem už tehdy byl *P. argentipes*, žijící často v blízkosti lidských obydlí. Zmíněný je též *P. betisi* a *P. kiangsuensis*. Tato práce rovněž uvádí vůbec jediné, nicméně dnes už velmi zastaralé, mapy výskytu jednotlivých druhů flebotomů v tomto regionu.

Až od roku 1996, kdy byl hlášen první případ autochtonní infekce v Thajsku, je zdejší fauně flebotomů věnována větší pozornost (Depaquit et al., 2019). V tomto regionu dochází k šíření leishmanióz a jejich přenašečů v důsledku klimatických změn, industrializace, kácení lesů a podobných zásahů do životního prostředí (Conlan et al., 2011). Vyskytuje se zde pouze viscerální a kutánní leishmanióza, mukokutánní forma doposud nebyla v zemích Velkého Mekongu hlášena.

3.1 Thajsko

Thajsko má ze všech zemí, kterými se v této práci zabývám, nejvíce hlášených lidských případů leishmanióz, a je také jedinou zemí JV Asie, která je endemická pro CL a VL (WHO, 2020). Zejména v posledních letech zde dochází k nárůstu případů lidských leishmanióz a do roku 2018 zde bylo prozatím hlášeno 22 případů (Jariyapan et al., 2018). To je také důvod, proč se převážná část publikací o leishmaniózách a jejich přenašečích v JV Asii zabývá právě touto zemí (Vu et al., 2020). Hlavním používaným léčivem proti leishmaniózám je v Thajsku amfotericin B. Ostatní léčiva, především pentavalentní antimon, hojně používaný v jiných částech světa, je v této oblasti velmi málo dostupný (Chiewchanvit et al., 2015). Fauna flebotomů je zde bohatá, nicméně málo prozkoumaná. Velké množství druhů také žije v jeskyních.

3.1.1 Leishmaniózy

První autochtonní CL zaznamenanou v Thajsku popsal Kattipathanapong et al. (2012) u tříletého dítěte, původce nákazy ovšem dodnes není známý. Do té doby byly v zemi hlášeny pouze případy CL importované z jiných zemí. Jako příklad lze uvést jednu z nejstarších dostupných studií uskutečněnou

mezi lety 1984-1992, která zaznamenala dohromady 11 případů CL u přistěhovalých pracovníků pocházejících ze Saudské Arábie a Libye, kde nejspíše došlo k nákaze. Ani v jednom případě ovšem nebylo možné leishmání zařadit do druhu, protože nebyly kultivovány (Viriyavejakul et al., 1997).

První případ VL, který nebyl do Thajska importován, byl popsán roku 1996 u dítěte pocházejícího z jižní části Thajska, u kterého byli po laboratorních vyšetřeních kostní dřevě identifikováni amastigoti leishmanií, kteří ovšem nebyli určeni do druhu (Thisyakorn et al., 1999). Další případ lidské VL zaznamenal Kongkaew et al. (2007), kde byla díky mikroskopickému pozorování a PCR jako původce onemocnění určena *L. donovani*, autoři studie ovšem neuvádí, jaký gen byl pro PCR analýzu použit a druhové určení tohoto parazita by tak mohlo být pochybné. Zároveň bylo v místě bydliště pacienta chyceno 118 flebotomů, z 85 % zde byla zastoupena *S. gemmea*, z 15 % *S. barraudi* a pouze dva exempláře patřily k druhu *P. stantoni*. Ani jeden z těchto druhů hmyzu nicméně není potvrzeným přenašečem leishmanióz. Roku 2006 byl zaznamenán další autochtonní případ VL v jižním Thajsku. Pozornost upoutal parazit, který byl původcem nemoci u pacienta. Velmi se totiž lišil v sekvencích genů pro ITS1 a minixonů od ostatních, v té době známých, zástupců rodu *Leishmania*. Bylo proto poukázáno na to, že v Thajsku by mohl za nákazu být zodpovědný zcela nový druh leishmáníe. V okolí bydliště nakaženého byly odchyceny druhy *S. gemmea* (89,7 %), *S. barraudi* (5,6 %), *S. indica* (0,9 %) a *P. stantoni* (3,8 %). Výsledky PCR na přítomnost leishmanií byly u všech zkoumaných flebotomů negativní. Kromě pacienta byly odebrány vzorky krve také místním obyvatelům a domácím zvířatům vyskytujícím se v okolí. K detekci protilátek proti leishmaniím byl použit přímý aglutinační test (DAT), který prokázal přítomnost protilátek u devíti koček. Přestože se nepodařilo určit žádného potvrzeného přenašeče, autoři článku nevylučují, že by se v této oblasti mohli vyskytovat další potenciální vektorů leishmanióz, kteří prozatím nebyli odhaleni (Sukmee et al., 2008).

Parazit zodpovědný za VL z této studie byl později identifikován jako nový druh a označen „*L. siamensis*“, používání tohoto označení je však problematické. Toto druhové jméno není platné, protože „*L. siamensis*“ nebyla nikdy řádně formálně popsána a ani nebyl zcela jasně definován její vztah k ostatním druhům leishmanií, navíc k analýzám používaná sekvence rRNA ITS1 neposkytuje dostatek dat k tomu, aby mohla být jednoznačně taxonomicky zařazena (Pothirat et al., 2014). Výsledky sekvenční analýzy pěti lidských izolátů „*L. siamensis*“ z autochtonních thajských případů, založené na použití čtyř různých genetických markerů (SSU-rRNA, ITS1, hsp70 a cytochromu b) naopak upozornily na fakt, že nejspíše zahrnuje více druhů. V rámci „*L. siamensis*“ byly proto definovány dvě geneticky odlišné linie, označované jako PG a TR (Leelayoova et al., 2013).

Druhovou identitu jedné z těchto linií určila studie zabývající se lidským případem VL na severu Thajska. Sekvenování genu pro velkou podjednotku RNA polymerázy II překvapivě ukázalo, že je parazit z tohoto pacienta totožný s *L. martiniquensis* (Pothirat et al., 2014). Ta byla poprvé izolována na ostrově Martinik ležícím v Karibském moři, formálně popsána teprve krátce předtím (Desbois et al., 2014) a dnes náleží do podrodu *Mundinia*. Pothirat et al. (2014) do analýzy zahrnuli i

některé starší thajské izoláty, jejichž sekvence byla rovněž totožná, a soudí se, že většina parazitů v minulosti identifikovaných jako „*L. siamensis*“ tedy ve skutečnosti nejspíše náleží k druhu *L. martiniquensis*. Autoři se zároveň pokusili sestavit fylogenetický strom leishmání zahrnující nejen izoláty „*L. siamensis*“ (později *L. martiniquensis*) z Thajska, ale také z Německa a ze Spojených států odebrané z koní (Müller et al., 2009; Reuss et al., 2012) a jeden izolát ze skotu ve Švýcarsku (Lobsiger et al., 2010). Skutečnou identitu parazitů způsobujících nákazy v Thajsku poté shrnuje Leelayoova et al. (2017). Porovnáním sekvencí SSU-rRNA, ITS1 a hsp70 genů u „*L. siamensis*“ a *L. martiniquensis* bylo potvrzeno, že všechny případy, kromě jednoho, byly opravdu způsobené *L. martiniquensis*. Rekonstrukce fylogenetického stromu poté odhaluje, že obě skupiny parazitů jsou monofyletické a naznačuje tak, že jsou si blíže příbuzné.

Odpověď na otázku druhového určení zbývajících thajských izolátů „*L. siamensis*“, které není možné ztotožnit s druhem *L. martiniquensis*, přinesla Jariyapan et al. (2018), která ve své práci popisuje případ CL u ženy ze severu země. Ve vzorcích odebraných z kožních lézí byl nalezen druh leishmání identický s některými dříve nalezenými thajskými izoláty označovanými jako „*L. siamensis*“, ale odlišnými od jiných, později identifikovaných jako *L. martiniquensis*. Tyto odlišné izoláty byly autory studie zahrnuty do formálně nově popsáného druhu *L. orientalis*, což brání dalšímu nesprávnému používání neplatného jména „*L. siamensis*“.

Doposud byl v Thajsku zaznamenán jen jediný případ nákazy *L. infantum*. Roku 2007 byla její přítomnost zjištěna PCR metodou ze vzorků kostní dřeně muže z Bangkoku s příznaky VL. Vzhledem k negativním výsledkům DAT u lidí a zvířat žijících v blízkosti bydliště pacienta a faktu, že muž v minulosti často cestoval po Thajsku, nebylo možné určit, kde k nákaze došlo (Maharom et al., 2008).

Značné množství studií se v Thajsku zabývá také koinfekcí leishmaniózy s HIV u lidí, protože tito lidé mají sníženou imunitu a jsou tak náchylnější k různým onemocněním. První takovou nákazu zde zaznamenal Suankratay et al. (2010). Parazit zodpovědný za VL v tomto případě byl po sekvenování určen jako v té době dosud nepojmenovaný, ale již v minulosti nalezený, druh leishmání, později označený jako „*L. siamensis*“. O dva roky později vyšla další práce popisující VL a diseminovanou CL u HIV pozitivní pacientky (Bualert et al., 2012) a následně u dalších dvou lidí taktéž s příznaky obou forem leishmaniózy (Chusri et al., 2012). Ve všech případech byla za původce onemocnění označena opět „*L. siamensis*“. Pozdější analýzy ale ukázaly, že se jednalo o dva různé druhy. Zatímco parazit popsáný v pracích od Suankratay et al. (2010) a Chusri et al. (2012) byl identifikován jako *L. martiniquensis*, v případě původce nákazy ze studie od Bualert et al. (2012) se jednalo o *L. orientalis* (Jariyapan et al., 2018). Na jihu Thajska byla poté u HIV pozitivního pacienta hlášena další nákaza CL, opět způsobená „*L. siamensis*“ a později identifikovaná jako *L. martiniquensis* (Phumee et al., 2014; Leelayoova et al., 2017). Stejný parazit byl poté původcem diseminované CL u mužů s HIV i ze severní části Thajska (Chiewchanvit et al., 2015). První asymptomatická nákaza *L. martiniquensis* v Thajsku byla odhalena u 28leté ženy s HIV. Ačkoliv

krevní testy zůstaly negativní, PCR provedená ze slin umožnila detekci parazita. Ukázalo se tedy, že by se tato metoda mohla používat k odhalování i asymptomatických případů (Siriya-satien et al., 2016).

Manomat et al. (2017) provedl v letech 2015-2016 studii v provincii Trang na určení prevalence leishmaniózy u HIV pacientů. Kromě jiného, cílem studie taktéž bylo vymezit rizikové faktory zvyšující pravděpodobnost nákazy leishmaniózami. Bylo zjištěno, že vyšší riziko infekce mají lidé žijící v domech postavených na kůlech nad vodou, což poskytuje flebotomům více možností proniknutí dovnitř lidských obydlí. Dalším faktorem je množství CD4⁺ lymfocytů v krvi. Z celkového počtu 724 HIV pozitivních lidí účastnících se výzkumu byla přibližně u čtvrtiny detekována DNA leishmáníí či protilátky proti nim. Nejčastěji byla nalezena *L. martiniquensis* a „*L. siamensis*“, poté *L. donovani* komplex a *L. major*. Byla také identifikována *L. lainsoni*, která se běžně vyskytuje v Novém světě a toto je její vůbec první nález ve Starém světě. Na tuto práci poté navázal Charoensakulchai et al. (2020) v další studii uskutečněné opět v provincii Trang, kde uvádí rozdílné faktory pro každý druh leishmáníe zvlášť, které zvyšují riziko nákazy u HIV pacientů. Pro nákazu „*L. siamensis*“ je to používání drog, množství CD4⁺ lymfocytů, nepoužívání repelentů proti hmyzu nebo přítomnost více onemocnění současně. *L. martiniquensis* v této studii překvapivě převažovala u žen. Nákaza *L. donovani* komplexem více hrozí lidem s menším množstvím CD4⁺ lymfocytů, oportunními infekcemi a samozřejmě těm, kteří nepoužívají repelenty.

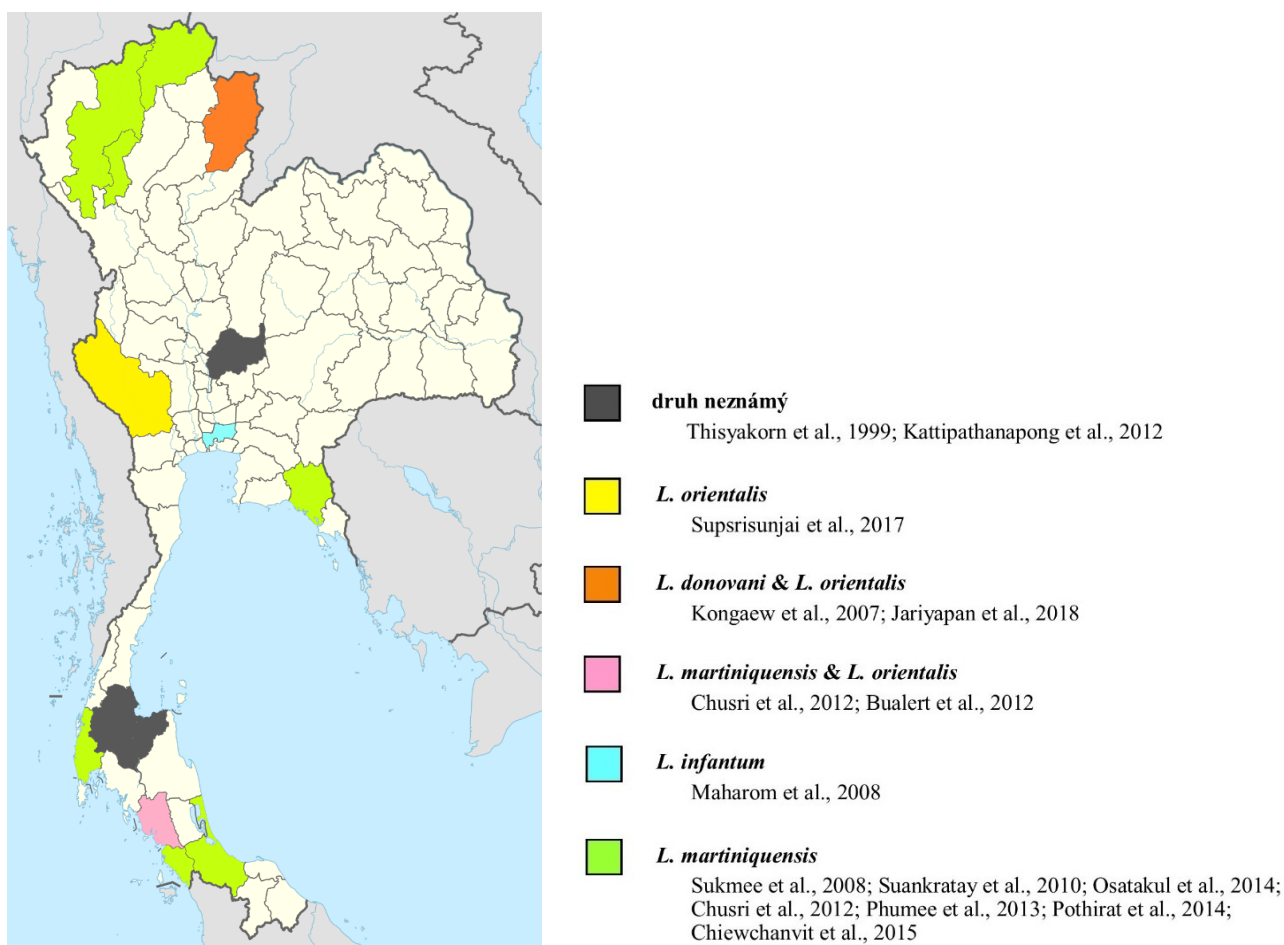
Rizikové faktory a prevalence leishmaniózy byly studovány i u imunokompetentních hostitelů. Celkem bylo dotazováno 329 lidí v provincii Chiang Rai (vesničané z postižené lokality a studenti z městské oblasti), přičemž 28 z nich bylo pozitivních. U jednoho člověka byla nalezena *L. martiniquensis*, 12 lidí bylo nakaženo *L. orientalis* a v ostatních případech nebyl parazit určen do druhu. Bylo zjištěno, že větší riziko nákazy mají ženy a starší lidé. Přítomnost domácích zvířat, a dokonce termitů také zvyšuje pravděpodobnost nákazy (Sriwongpan et al., 2021).

Potenciálními rezervoáry leishmáníí by v Thajsku mohly být krysy obecné (*Rattus rattus*). To naznačuje studie, během níž byly odebrány vzorky krve od psů, koček, krys a veverek Berdmoreových (*Menetes berdmorei*). Právě u dvou krys obecných, chycených v provincii Songkhla, byla detekována DNA „*L. siamensis*“. Stejně tak byla DNA parazita stejného druhu nalezena u flebotomů a člověka pocházejícího z této provincie (Chusri et al., 2014). Výzkum na prevalenci leishmaniózy uskutečněný v roce 2015 odhalil přítomnost *L. martiniquensis* opět u krys obecné, což poukazuje na možnost zapojení tohoto zvířete do zoonotického cyklu přenosu (Sriwongpan et al., 2021).

Nimsuphan et al. (2014) zjistil, že rezervoárem leishmáníí by mohly být i domácí kočky. Z 237 zkoumaných vzorků kočičího krevního séra pomocí DAT analýzy byly dva pozitivní (0,84 %). PCR testy těchto vzorků byly však negativní. To naznačuje, že obě kočky již v někdy minulosti nemoc prodělaly nebo je množství parazitů v krvi příliš nízké. Souběžně byly odebrány i vzorky 407 psů, ani jeden ale nebyl pozitivní. Další provedená studie se nezabývala pouze séroprevalencí leishmáníí u koček a psů, ale také u krys, rejsek, krav a buvolů. Metodou DAT byla zjištěna přítomnost protilátek u 14 z 519 psů (2,7 %), 14 z 250 koček (5,6 %) a také u 3 buvolů (3,16 %). Takto nízkou séroprevalenci

autoři zdůvodňují tím, že v Thajsku zatím nebyl hlášen žádný případ zvířecí leishmaniózy a také nižším počtem flebotomů v oblasti, kde tato studie probíhala (Junsiri et al., 2017).

Lidské leishmaniózy byly v Thajsku hlášeny z různých provincií napříč celou zemí. Doposud zde byly nalezeny pouze čtyři druhy leishmání, které byly zodpovědné za nákazu místních lidí: *L. donovani*, *L. infantum*, *L. martiniquensis* a *L. orientalis*. Existuje pouze jediný hlášený případ nákazy *L. donovani* a stejně tak *L. infantum*. Nejčastěji identifikovaným původcem lidských leishmanióz v Thajsku je *L. martiniquensis*, která spolu s nedávno popsanou *L. orientalis* patří do podrodu *Mundinia* zahrnujícího také druhy *L. enriettii*, *L. macropodum* a dosud formálně nepopsanou leishmání, izolovanou v Ghaně.



Obr. 1: Mapa Thajska s barevně zvýrazněnými provinciemi s výskytem leishmání.

3.1.2 Přenašeči

V Thajsku je ze všech zemí GMS nejvíce prozkoumaná také fauna flebotomů, jejich biologie a výskyt. Jeden z prvních článků, zmiňující flebotomy v Thajsku (tehdy nazývaném Siam), pochází již z roku 1938 a popisuje výskyt tří druhů. Nejpočetnějším byl *P. squamipleuris*, běžně se vyskytující také v Indii. Dalším byl *P. bailyi* var. *campester*, forma druhu *P. bailyi* (dnes *S. bailyi*), lišící se od něj

v několika morfologických znacích. Poslední odchycený druh, vykazující stejnou velikost jako *P. barraudi* (dnes *S. barraudi*), avšak lišící se počtem zubů v cibariu, byl pojmenován jako *P. barraudi* var. *siamensis* (Causey, 1938). Následné shrnutí flebofauny, se zmínkou o druzích vyskytujících se také v Thajsku, je poskytnuto v již uvedené monografii Lewis (1978).

V letech 1987-1990 byla poté provedena studie, kde se autoři zabývali výskytem a ekologií různých druhů flebotomů. Nalezeny byly tři známé druhy v různých provinciích: *P. argentipes* a vůbec poprvé byly v oblasti JV Asie odchyceny druhy *P. major major* a *P. hoepflii*, který byl zaznamenán jako antropofilní druh, schopný žít se lidskou krví. Nicméně ani u něj, ani u ostatních odchycených druhů nebylo prokázáno, že by hrály roli v přenosu leishmaniózy. Zbýlé dva druhy byly v Thajsku nalezeny během sání na dobytku (Apiwathnasorn et al., 1993). Spolu se *S. anodontis* byl *P. major major* nejpočetnějším druhem odchyceným i o několik let později během dalších výzkumných prací provedených v jeskyních v provincii Kanchanaburi, kde bylo zjištěno, že je schopný sát také na člověku. Poznatky z této studie tedy naznačují, že by v zemi mohl být potenciálním přenašečem leishmaniózy (Apiwathnasorn et al., 2011). Přesto ale zatím nebyl v Thajsku nalezen žádný infikovaný jedinec. Životní cyklus a biologii tohoto druhu popsali Polseela & Apiwathnasorn (2016) díky jeho úspěšné kolonizaci v laboratoři. Jeho vývoj od vajíčka po dospělce trvá průměrně 66 dní. Také byla zaznamenána poměrně velká mortalita (62 %) jednotlivých vývojových stádií poukazující na jejich menší odolnost vůči horším podmínkám prostředí. Naopak *P. stantoni*, který byl též kolonizovaný, se ukázal jako druh odolnější. Nejen, že ze všech nakladených vajíček vylíhly larvy, ale také všechny přežily až do dospělosti. V Thajsku byli samci tohoto druhu také první, u nichž byla zjištěna infekce entomopatogenními hlísticemi z rodu *Didilia*. Nakažení jedinci mají špatně vyvinuté genitálie a v důsledku toho se nemohou pářit se samicemi. Také je zpomalen jejich vývoj a zkrácena délka života. Diskutuje se tak o možném využití těchto hlístic ke kontrole populací flebotomů a následnému omezení šíření leishmaniózy (Sor-Suwan et al., 2017a).

V letech 2004-2005 byly v thajských jeskyních nalezeny a následně popsány hned dva nové druhy flebotomů. Jedním z nich byl *P. mascomai*, identifikovaný na základě morfologických znaků a sekvencí genu pro cytochrom b (cyt b), který byl zařazen do podrodu *Euphlebotomus*, kam rovněž patří např. *P. argentipes*, klíčový přenašeč *L. donovani* v Indii (Muller et al., 2007). Do stejného podrodu byl následně umístěn, díky molekulárním metodám a morfologickým znakům, nově popsáný *P. barguesae* (Depaquit et al., 2009). Depaquit et al. (2006) také rozšířil seznam flebotomů o nový druh, pojmenovaný jako *Chinius barbazani*, který byl chycen ve vápencové jeskyni v provincii Ratchaburi.

V další studii, provedené mezi lety 2005-2006 v jeskyni nacházející se v provincii Saraburi v centrální části Thajska, bylo odchyceno 13 druhů rodu *Phlebotomus* a *Sergentomyia*. Početní převahu měli zástupci rodu *Sergentomyia*: *S. silvatica* (43,5 %), *S. anodontis* (31,5 %) a *S. dentata* (15,3 %). Počet jedinců v průběhu roku osciloval, nejvíce hmyzu bylo nalezeno v červenci během období dešťů, což jen dokazuje, že flebotomové pro svůj vývoj a přežití potřebují vyšší vlhkost a

stálou teplotu kolem 23-27°C. Převážnou část tvořily samice (Polseela et al., 2007). Trochu jiné výsledky přinesla studie z provincie Phitsanulok, kde největší množství flebotomů bylo pochyťáno v průběhu března a dubna (Polseela et al., 2011b).

V provinciích na jihu země, kde byla v minulosti hlášena nákaza leishmaniózami, byl sledován výskyt flebotomů, tentokrát nikoliv v jeskyních, ale na kaučukových a palmových plantážích. Celkem bylo odchyceno a identifikováno 2 698 flebotomů převážně náležejících do rodu *Sergentomyia*, ze kterého byla nejvíce zastoupena *S. gemmea* (81,4 %). Z rodu *Phlebotomus* byl nalezen pouze *P. argentipes* (1 %) (Sukra et al., 2013). Tento druh byl již v minulosti identifikován během několika terénních odchytů, třeba v provincii Saraburi, kde tvořil pouhých 0,8 % všech chycených jedinců (Polseela et al., 2011a). Přestože jeho počty nejsou příliš vysoké, mohl by být v Thajsku potenciálním přenašečem leishmanióz (Sukra et al., 2013).

Výše zmíněná *S. gemmea* je rovněž považována za potenciálního přenašeče dříve zvané „*L. siamensis*“. To, zda by tomu tak mohlo být, se snažil zjistit Kanjanopas et al. (2013), když na jihu Thajska provedl odchvy flebotomů v oblasti bydliště HIV pozitivního pacienta s VL. Celkem bylo identifikováno 71 samic, nejvíce zastoupená byla právě *S. gemmea* (49,3 %), poté *S. iyengari* (42,3 %), *S. barraudi* (4,2 %) a *P. stantoni* (4,2 %). Po provedení PCR a sekvenování genu pro hsp70 bylo zjištěno, že u některých samic byla přítomna DNA „*L. siamensis*“. Jelikož ale samice rodu *Sergentomyia* sají krev zvířat, dalo by se předpokládat, že by mohly být zapojeny v zoonotickém cyklu přenosu leishmanióz. O druhu *S. gemmea* jako potenciálním přenašeči „*L. siamensis*“ se zmiňuje také článek z roku 2014. V některých samicích byla detekována DNA „*L. siamensis*“ pomocí PCR amplifikace genu pro ITS1. Pozitivně testována byla též *S. barraudi*. Autoři upozorňují, že u samic nebylo možné prokázat přítomnost nasáté krve. Není proto jasné, zda šlo o náhodnou detekci v čerstvě nasátých samicích, kde by leishmánie nepřečkaly následné strávení krve, nebo o rozvinuté infekce (Chusri et al., 2014). Bylo zjištěno, že se *S. gemmea* hůře adaptuje na změny klimatu, např. oproti *S. barraudi*, která je odolnější. Vyskytuje se především na plantážích a v ovocných sadech v jižních částech Thajska (Ruang-areerate et al., 2019). I přesto byla ale odchycena i na úplném severu, v provincii Chiang Mai. Její vůbec první nález v této provincii zaznamenal Sor-Suwan et al. (2017b) a uvádí, že zde byla nejpočetnějším druhem.

V letech 2010-2011 byl uskutečněn další terénní výzkum v thajských jeskyních, během kterého byl chycen dosud nepopsaný druh flebotoma. Na základě sekvenování části cyt b a morfologických znaků byl zařazen do rodu *Sergentomyia* a pojmenován jako *S. phadangensis* (Polseela et al., 2016a). Jednalo se také o nejpočetněji zastoupený druh, čítající téměř 32 % všech jedinců na této lokalitě (Jaturas et al., 2018).

Další, kdo studoval roční oscilace počtu flebotomů, byl Panthawong et al. (2015). Výzkum sezónní dynamiky po dobu jednoho roku v provincii Satun, kde se již leishmanióza v minulosti vyskytla, zaznamenal přítomnost 9 druhů: *P. stantoni*, *P. argentipes*, *S. gemmea*, *S. indica*, *S. barraudi*, *S. iyengari*, *S. bailyi*, *S. pertubans* a *S. silvatica*. Za celou dobu výzkumu byl odchycen pouze jeden

exemplář druhu *P. argentipes*. Metodou PCR nebyla u žádného flebotoma prokázána přítomnost leishmanií. Stejně jako ve dříve provedených studiích, i tentokrát byla nejhojnějším druhem *S. gemmea* (57,2 %), která se ve studované oblasti vyskytovala po celý rok, nejvíce ovšem v červnu. Ostatní flebotomové byli zaznamenáváni převážně v období od dubna do června, kdy v Thajsku bývá nejtepleji a začíná období dešťů (Panthawong et al., 2015). Bylo také vypořádáno, že samci, kteří se vždy živí jen rostlinnými šťávami, se zde hojněji vyskytují spíše během února a března (Thammapalo et al., 2020). V té samé provincii byla roku 2015 provedena další studie zabývající se především noční aktivitou flebotomů. Bylo pochyceno 6 739 flebotomů, mezi kterými početně převažovala *S. indica* (72,8 %), teprve po ní potenciální přenašeč *S. gemmea* (26,6 %), u které bylo zjištěno, že existuje negativní korelace mezi jejich počtem a vlhkostí vzduchu, a naopak pozitivní korelace s teplotou. Nejmenší počet jedinců tohoto druhu byl chycen mezi 04:00h–06:00h. Naopak nejvíce mezi 22:00h–00:00h, v tomto časovém rozmezí, kdy jsou hmyzí vektorů nejaktivnější, lidem tudíž hrozí největší riziko nákazy leishmaniózami (Choocherd & Phasuk, 2018). Poněkud odlišné druhové zastoupení flebotomů v provincii Satun bylo pozorováno roku 2019. Vůbec nejčastější zde byla *S. anodontis* (26,8 %), následovaná *S. barraudi* (6,4 %) (Thammapalo et al., 2020). Nejpočetněji zastoupená byla *S. anodontis* také během odchytů v několika jeskyních v Uthai Thani provincii na severu Thajska. Kromě ní zde byly chyceny druhy *P. argentipes*, *P. stantoni*, *S. barraudi*, *S. silvatica*, *S. gemmea*, *S. indica* a *Ch. barbazani*. Na rozdíl od většiny ostatních studií provedených v Thajsku a zmiňujících počet odchycených flebotomů v průběhu roku, se tato velmi odlišuje. Nejvíce flebotomů totiž bylo nalezeno v prosinci (Polseela et al., 2015).

Flebotomové nejsou příliš dobří letci a většinou se moc nevzdálí od místa svého vylíhnutí (Killick-Kendrick, 1999). Jak ukázal výzkum, takovým líhništěm by v Thajsku mohly být hromady dřeva a místa v blízkosti nebo přímo uvnitř jeskyní. Byla také provedena analýza půdy v místech, kde byli nalezeni flebotomové. Podle výsledků byla na většině míst mírně zásaditá se středním až vyšším zastoupením anorganických prvků (především fosforu a draslíku) a organické hmoty. Všechny tyto parametry flebotomům poskytují vhodné podmínky pro líhnutí a vývoj (Thammapalo et al., 2020).

Kromě mnoha výše zmíněných prací, zabývajících se flebofaunou na pevnině, proběhl výzkum flebofauny také na thajském ostrově Lang Ga Jiew. Studie byla uskutečněna v místních jeskyních, známém hnízdišti salangany ostrovní (*Collocalia fuciphaga*), ptáka z čeledi rorýsovitých (Apodidae), jehož hnízda jsou využívána pro kulinární účely. Ptáci i proto většinou hnízdí hluboko uvnitř, na lidem málo přístupných místech. V rámci výzkumu bylo odchyceno 1 702 jedinců převážně druhů rodu *Sergentomyia* (*S. anodontis*, *S. bailyi*, *S. gemmea*, *S. hodgsoni* a *S. punjabensis*). Ze všech druhů byla nejpočetnější *S. hodgsoni* (94,7 %), která byla dle autorů studie zařazena mezi tzv. troglofilní druhy preferující život v jeskyních. Rod *Phlebotomus* byl zastoupen pouze druhem *P. stantoni*. Množství odchycených flebotomů během celého roku různě kolísalo a vrcholu dosáhlo v červnu. Výsledky studie ukazují, že ostrovní fauna flebotomů je oproti pevnině chudší. V porovnání s počtem odchycených flebotomů na pevnině, uvedených v pracích od Apiwathnasorn et al. (2011);

Polseela et al. (2007) a Polseela et al. (2011b), je patrné, že na ostrově je jejich abundance přinejmenším dvakrát menší. To může být dáno dostupností potravy nebo různými faktory prostředí. Autoři se nicméně vůbec nezmiňují o možném styku těchto jeskynních ostrovních flebotomů s lidmi a ani nebyla provedena analýza přítomnosti leishmanií u samic (Chittsamart et al., 2015). Zatím se také jedná o jedinou thajskou studii zabývající se výskytem flebotomů na některém z ostrovů, a není proto možné její výsledky řádně porovnat s žádnou jinou. Studie srovnávající velikost a tvar křídel u *S. hodgsoni* a *P. stantoni* odchycených na různých místech Thajska, však kromě populací z pevniny zahrnuje i tři thajské ostrovy včetně ostrova Lang Ga Jiew. Křídla obou druhů byla výrazně menší na ostrovech a zároveň se zmenšovala u populací žijících více na jihu země. Stejně tak tvar křídel v rámci stejného druhu byl zřetelně rozdílný mezi populacemi s různým geografickým rozšířením (Sumruayphol et al., 2017).

Bylo zjištěno, že potenciálním přenašečem leishmaniózy by mohla být také *S. iyengari*. Siripattanapipong et al. (2018) realizoval odchvy flebotomů v leishmaniózou postižené provincii Trang, na lokalitě s případem koinfekce leishmaniózy a AIDS. Byly identifikovány druhy *S. gemmea*, *S. iyengari*, *S. barraudi*, *P. stantoni* a u všech těchto druhů (nikoli všech jedinců) byla u nasátých samic detekována lidská DNA. V jedné ze samic *S. iyengari* byla také objevena krev mabuji východní (*Mabuia multifasciata*), která náleží mezi šupinaté plazi. Pouze u jedné samice *S. iyengari* byla nalezena DNA „*L. siamensis*“. Na základě výsledků studie bylo proto poukázáno na to, že by se tento druh mohl považovat za potenciálního přenašeče lidských leishmanióz. Jelikož ovšem nebyl zjištěn přesný zdroj krve, přenašeč nesplnil jedno z důležitých kritérií pro to, aby se stal potvrzeným.

Již mnohokrát zmíněná *S. barraudi* je též považována za potenciálního přenašeče a je předpokládáno, že se vyskytuje napříč celým Thajskem (Ruang-areerate et al., 2019). Phasuk et al. (2019) provedl rozbor nasáté krve chycených samic z jeskyně v provincii Songkhla. Pomocí PCR a sekvenování genu pro cyt b bylo u tří analyzovaných vzorků zjištěno, že krev patřila ve dvou případech člověku a v jednom případě dokonce slonovi. V obou případech autoři vyzývají k dalším výzkumům a pozorováním zabývajícím se rolí přenosu lidských leishmanií touto skupinou hmyzu.

Identifikace flebotomů na základě morfologických znaků je mnohdy velice obtížná, především vzhledem k jejich malé velikosti a značné rozmanitosti. V Thajsku se proto uplatnila molekulární metoda DNA barcodingu, umožňující určení flebotomů do druhu na základě porovnávání krátkého úseku genu pro mitochondriální cytochrom c oxidázu I (COI). Tato technika byla v Thajsku poprvé použita na zdokumentování diverzity flebotomů v jeskyni Wihan na severu země. Většinu pochytaných jedinců se podařilo taxonomicky zařadit, někteří ovšem nebyli identifikováni a mohlo by se proto jednat o nové druhy. Výsledky také ukazují na možnou existenci kryptických druhů v rámci *S. barraudi* (Polseela et al., 2016b). Podobný průzkum, provedený ve čtyřech různých, turistům zpřístupněných jeskyních v severním Thajsku, ukázal, že diverzita flebotomů je poměrně velká. Zatímco na základě morfologických znaků bylo určeno 13 druhů, metodou DNA barcodingu bylo

odhaleno 22 MOTU (Molecular Operational Taxonomic Units). I v této studii bylo ukázáno na existenci kryptických druhů v rámci *S. barraudi* (Sukantamala et al., 2017).

Studie thajské flebofauny s geograficky nejširším záběrem sledovala výskyt flebotomů a leishmáníí mezi lety 2016-2018 v šesti thajských provinciích nacházejících se od severu až po jih země (Phuphisut et al., 2021). Opět ukazuje, že fauna flebotomů je v Thajsku velice rozmanitá a do značné míry stále nedostatečně prozkoumaná. Některé jedince nebylo možné zařadit až na úroveň druhu pouze na základě morfologických znaků. Pomocí metody DNA barcodingu bylo však zaznamenáno 12 druhů: nejpočetněji zastoupená *S. iyengari* (2 970 jedinců), *Idiophlebotomus teshi*, *P. mascomai*, *P. stantoni*, *S. anodontis*, *S. bailyi*, *S. barraudi*, *S. gemmea*, *S. indica*, *S. khawi*, *S. pertubans* a *S. rudnicki*. Studie odhalila šest unikátních sekvencí, které nebylo možné ztotožnit s žádným ze známých druhů, a u čtyř druhů (*S. anodontis*, *S. barraudi*, *S. khawi*, *S. pertubans*) variabilita sekvencí ukazuje na existenci kryptických druhů, což naznačila i předchozí studie (Sukantamala et al., 2017). U žádného flebotoma PCR analýza nedetekovala přítomnost leishmáníí.

Jak ukazuje několik výzkumných prací, flebotomové mohou být infikováni také trypanosomami. Takovým druhem byl v Thajsku *P. stantoni*, u kterého byla metodou PCR odhalena přítomnost pravděpodobně nového druhu trypanosomy. Spolu s tímto flebotomem bylo úplně poprvé v Thajsku odchyceno několik jedinců druhů *S. khawi* a *S. hibernus* (Phumee et al., 2016). Diskutuje se, že *S. khawi* by mohla být potenciálním přenašečem lidských i zvířecích leishmanióz, a to na základě jednoho *L. martiniquensis* pozitivního vzorku. Kromě toho byla jedna samice *S. khawi* současně infikována jak leishmáníí, tak trypanosomou (Srisuton et al., 2019). Následující studie, zabývající se nejen přítomností trypanosom, ale také leishmáníí a krve u nasátých samic, ukázala, že někteří flebotomové sají krev tzv. oportunně. Takové chování vykazuje *P. argentipes*, *S. anodontis*, *S. barraudi*, *S. silvatica* a *S. hodgsoni hodgsoni*, kdy u některých samic byla detekována krev člověka, u jiných samic téhož druhu naopak krev psí či hlodavčí. Lidská DNA byla též nalezena u druhů *S. hamidi*, *S. hodgsoni*, *S. khawi* a *I. asperulus*. Kvůli malému množství analyzovaných vzorků ovšem nelze s jistotou prokázat, že se jedná o antropofilní druhy. Žádný z identifikovaných flebotomů nebyl nakažen leishmáníemi (Buatong et al., 2022).

Přestože byla v Thajsku provedena v posledních letech řada studií, zaměřená na složení flebofauny, jejich role v přenosu leishmáníí zůstává dodnes nejasná a žádný ze zaznamenaných druhů nebyl dosud prokázán jako přenašeč (Chanmol et al., 2019).

3.2 Vietnam

Teprve v roce 2001 byly hlášeny první případy lidské VL ve Vietnamu. Přesto od té doby zatím nebylo poskytnuto příliš mnoho informací o leishmáníích v této zemi (Rosypal et al., 2009). Stejně tak bylo provedeno pouze několik málo studií zabývajících se výskytem a druhovým složením místních flebotomů (Vu et al., 2021).

Průzkum výskytu leishmáníí zde realizoval Rosypal et al. (2009) v sedmi různých provinciích. Od 41 psů byly odebrány vzorky krve. Krevní sérum bylo poté zkoumáno na přítomnost protilátek proti proteinu K39 vyskytujícímu se u amastigotů. V žádném ze vzorků nebyly protilátky detekovány a autoři článku na základě výsledků usuzují, že psi pravděpodobně nejsou zodpovědní za šíření lidské VL ve Vietnamu. O několik let později přeci jen u jednoho psa byly protilátky proti *L. infantum* sekvenováním a PCR analýzou detekovány (Colella et al., 2020).

V severovýchodní části Vietnamu v provincii Quang Ninh poté proběhla studie zaměřená na výskyt a ekologii flebotomů. Z celkového počtu 416 chycených flebotomů převažovaly druhy patřící do rodu *Sergentomyia* (79,7 %), následně rodu *Phlebotomus* (13,7 %), *Chinius* (6,1 %) a *Idiophlebotomus* (0,8 %). Bylo identifikováno celkem 10 druhů: *S. silvatica*, která byla nejvíce zastoupená, *S. barraudi*, *S. hivernus*, *S. bailyi*, *P. mascomai*, *P. stantoni*, *P. yunshengensis*, *P. betisi*, *I. longiforceps* a *Ch. junlianensis*, což je vůbec první nález některého z druhů rodu *Chinius* ve Vietnamu. Pět vzorků pojmenovaných spl nebylo identifikováno jako žádný dosud pojmenovaný druh (Vu et al., 2020). Po pozdějším zkoumání jejich morfologie se ovšem ukázalo, že jimi nejspíše byly samice druhu *P. yunshengensis* (Vu et al., 2021). Preferovaným habitatem většiny zdejších flebotomů jsou jeskyně (z 416 jedinců jich bylo 375 polapeno v jeskyních, což činí 90,15 %). Ostatní flebotomové byli posbíráni buď v okolí psích přístřešků nebo ve vnitřních prostorech. Zde byly identifikovány druhy *S. hivernus* a *P. stantoni*. Dvě samice *P. stantoni* byly dokonce nalezeny v domě člověka, který byl v minulosti nakažen leishmáníem (Vu et al., 2020). Ačkoliv *P. stantoni* není prokázaným přenašečem leishmaniózy, v nedávné studii byla prokázána přítomnost lidské krve v nasátých samicích (Siripattanapipong et al., 2018).

Vu et al. (2021) provedl ještě další studii flebofauny, opět na severu Vietnamu v šesti různých provinciích. Rod *Sergentomyia* byl opět nejvíce zastoupený (79,96 %), po něm následoval rod *Phlebotomus* (13,15 %), rod *Chinius* (1,2 %), rod *Idiophlebotomus* (0,54 %) a *Grassomyia* (0,23 %). Nejpočetnější byla *S. silvatica*, *S. barraudi* a *P. stantoni*, který byl nejčastěji v blízkosti psů a uvnitř budov. Ostatní druhy byly převážně nalezeny v jeskyních blízko lidských obydlí. Tuto skutečnost je důležité si uvědomit kvůli možnému kontaktu lidí s potenciálními přenašeči leishmaniózy, kteří ve Vietnamu stále nejsou dostatečně prozkoumáni. Tato práce také uvádí předběžný popis samic druhu *P. yunshengensis*, do té doby neznámých, a zároveň několik dalších morfologicky odlišných, ale dosud zřejmě nepopsaných druhů.

3.3 Malajsie

Leishmanióza není v Malajsii endemická (Ab Rahman & Abdullah, 2011). V posledních letech ovšem v zemi přibývá jak legálních, tak ilegálních imigrantů z Indie, Nepálu, Indonésie, Thajska, Bangladéše, Filipín a dalších států. Děje se tak v důsledku vyšší poptávky po pracovní síle hlavně v

oblasti zemědělství, stavebnictví a v průmyslu. Do Malajsie tak mohou přicestovat lidé, kteří se leishmaniózami nakazili v některé ze zemí, kde parazit koluje běžně (Azian et al., 2016).

První hlášený případ leishmaniózy zde byl popsán roku 1995. Pacientem byl tehdy 35letý muž z Bangladéše, který již rok pobýval v Malajsii. Byl zde hospitalizován s horečkou a hepatosplenomegálií. Po neúspěšné léčbě antibiotiky mu byl odebrán vzorek kostní dřeně, ve kterém byli detekováni amastigoti *L. donovani* zodpovědní za VL. Pacientovi byl nitrožilně podáván pentamidin, který je oproti často používaným antimonálními přípravkům více toxický (Hamidah et al., 1995).

Jak již bylo zmíněno výše, do Malajsie velmi často migrují pracovníci z ostatních zemí JV Asie a Indického subkontinentu. V sedmi vybraných spolkových státech Malajsijského poloostrova byl proto proveden výzkum na séroprevenci leishmaniózy u asymptomatických přistěhovalých pracovníků. Z celkového počtu 2 153 vzorků bylo přes 55 % séropozitivních. Největší zastoupení pozitivních vzorků pocházelo od nepálských pracovníků, po nich vzorky od přistěhovalců z Indie, Bangladéše, Myanmaru, Vietnamu a Indonésie. Zároveň v těch samých oblastech byly uskutečněny odchvy flebotomů pomocí CDC (Centers for Disease Control and Prevention) světelných pastí. Celkem bylo chyceno 981 jedinců rodu *Phlebotomus* a 237 jedinců rodu *Sergentomyia*. U žádného flebotoma nebyla zjištěna přítomnost leishmanií (Azian et al., 2016).

Ve vzácných případech může u člověka dojít ke koinfekci leishmaniózou a malárií. Takovým příkladem byl dělník přistěhovalý do Malajsie z Nepálu. Již dva týdny po příjezdu do země se u něj začala projevovat horečka a bolesti břicha. Výsledky krevního odběru ukázaly na přítomnost prvoka *Plasmodium vivax*, parazita zodpovědného za onemocnění malárií. Ani po léčbě antimalariky se pacientův stav příliš nezlepšil. Byl mu proto odebrán vzorek kostní dřeně, ze kterého byla zjištěna přítomnost amastigotů *Leishmania donovani* komplexu, původců VL (Ab Rahman & Abdullah, 2011).

Průzkumů zdejší flebofauny nebylo provedeno mnoho. Potřeba popisovat druhy není velká nejspíše proto, že jich většina není antropofilních (Ab Rahman & Abdullah, 2011). Mezi lety 1958-1959 bylo v Malajsii pochyťáno několik již popsaných druhů flebotomů v jeskyních ve dvou různých geografických oblastech: *S. reidi*, *S. iyengari malayensis*, *S. zeylanicus malayae*, *S. traubi*, *S. whartoni*, *S. squamipleuris indica*, také *P. argentipes* a *P. stantoni*, vyskytující se i ve Vietnamu a Thajsku. Byly popsány i do té doby neznámé druhy *S. anodontis* a *I. asperulus* (Quate & Fairchild, 1961).

V letech 1973-1975 Knudsen et al. (1979) provedl výzkum flebofauny, kde k odchytu byly vybrány štěrby a duté kmeny pralesních stromů. Celkem bylo identifikováno 770 samic náležejících do 15 různých druhů. Nejpočetnější byl druh *S. gombaki*, který tvořil 46,3 % všech nalezených jedinců, dalšími druhy byly *P. stantoni*, který byl poprvé popsán již roku 1914 v malajsijském hlavním městě Kuala Lumpur (Newstead, 1914), *S. iyengari*, *S. malayae*, *S. whartoni*, *S. jefferyi*, *S. tambori*, *S. gemmea*, *S. hamidi* a *S. barraudi*, potom také *P. frondifer* z rodu *Idiophlebotomus*, Rovněž byly nalezeny čtyři nové druhy, které autory nebyly zařazeny do žádného podrodu: *S. pachystoma*, *S. reidi*,

S. cheongi a *S. knudseni*. Výzkum ukázal, že jediným na člověku sajícím flebotomem byla *S. gombaki*. Potvrzeným přenašečem VL na nedalekém Indickém subkontinentu je *P. argentipes*, který ovšem během tohoto výzkumu nebyl nalezen (Knudsen et al., 1979). V minulosti byl však v Malajsii odchycen, např. v lesní rezervaci Ulu Gombak (Lewis & Killick-Kendrick, 1973).

V Malajsii se flebotomové hojně vyskytují také v jeskyních a vápencových oblastech. Mezi lety 2001-2002 byl proto na západě země uskutečněn jejich odchyt za použití CO₂ a CDC světelných pastí. Pro výzkum byly záměrně vybrány jeskyně v blízkosti lidských obydlí, přestože zde nebyly hlášeny žádné případy nákazy lidskými leishmaniózami. Celkem bylo odchyceno šest druhů rodu *Phlebotomus* a 12 druhů rodu *Sergentomyia*. Pouze ve dvou zkoumaných oblastech u druhů *P. argentipes*, *P. major major*, *P. asperulus* a *P. stantoni* bylo zjištěno, že sají i na lidech. U rodu *Sergentomyia* nebyla tato schopnost zaznamenána vůbec (Shahar et al., 2011). V další malajsijské jeskyni byl poté poprvé odchycen, osekvenován a díky tomu formálně popsán samec druhu *P. betisi* (Khadri et al., 2008).

3.4 Myanmar (Barma)

Z Myanmaru pochází velmi málo dat o leishmaniózách a jejich přenašečích. Phumee et al. (2013) v letech 2011-2012 provedla PCR analýzy vzorků šesti pacientů k detekci DNA parazita tehdy pojmenovaného jako „*L. siamensis*“. Tři lidé pocházeli z města Yangon, který se nachází v Myanmaru, ostatní z Thajska. První autochtonní nákaza leishmaniózou v Myanmaru byla popsána u 60letého muže, kterému se po těle objevily nodulární léze a vředy u úst. U pacienta byl odebrán vzorek krve, slin a moči a také byla provedena tkáňová biopsie. Na základě PCR z těchto vzorků u něj byla diagnostikována přítomnost „*L. siamensis*“. Pacient byl léčen liposomálním amfotericinem B po dobu 40 dní (Noppakun et al., 2014; Phumee et al., 2013). Dcera tohoto muže byla taktéž díky PCR pozitivně testována na přítomnost „*L. siamensis*“. Dalším z pacientů byl HIV pozitivní 34letý muž. Na krku, rukou a hrudníku se mu začaly tvořit začervenalé pupínky. Po provedení PCR u něj byla také diagnostikována „*L. siamensis*“. K léčbě byl opět použit liposomální amfotericin B (Phumee et al., 2013). Ve všech třech případech bylo po pozdějším zkoumání izolátů determinovaných jako „*L. siamensis*“ díky sekvenování DNA zjištěno, že se jednalo o *L. martiniquensis* (Jariyapan et al., 2018).

3.5 Kambodža

V Kambodže zatím nebyla hlášena žádná nákaza lidskými leishmaniemi. Také máme velmi málo informací o zdejší fauně flebotomů. Donedávna zde bylo zaznamenáno celkem šest druhů: *S. barraudi*, *S. pertubans*, *S. bailyi*, *S. silvatica*, *S. khawi* a *Grassomyia indica* (Parot & Clastier, 1952 v Loyer et al., 2016). Loyer et al. (2016) také popsal nový druh, který byl na základě morfologických znaků zařazen do rodu *Idiophlebotomus* a pojmenován jako *I. nicolegerae*. Autoři studie v zemi poté zaznamenaly další tři druhy, a to *S. anodontis*, *P. stantoni* a *P. stantoni kiangsuensis*.

3.6 Laos

Ani z Laosu neboli Laoské lidově demokratické republiky nemáme téměř žádné informace o leishmaniózách a jejich přenašečích. Existují pouze dvě dostupné práce zabývající se zdejšími druhy flebotomů. Jednu provedla Léger et al. (2010) v jeskyních, kde objevila dosud nepopsaný druh. Celkem deset samic a dva samci byli na základě morfologického zkoumání zařazeni do rodu *Chinius* a pojmenováni jako *Ch. eunicegalatiae*. Jisté nesrovnalosti mezi morfologickými znaky obou pohlaví ovšem vytvořily pochybnosti, zda se jednalo o stejný druh. Bylo tedy navrženo, aby se v oblasti výskytu těchto druhů uskutečnily další studie a na pozdější určování jedinců do druhu byly použity i molekulární metody.

Druhá studie se zabývala taxonomickým postavením v JV Asii často nalézaného potenciálního přenašeče leishmaniózy, jímž je *S. gemmea*. Odchyt flebotomů se prováděl pomocí CDC světelných pastí v laoské vesnici na kaučukové plantáži a potom také v Thajsku. Odchycení jedinci byli určeni do druhů na základě morfologických znaků a sekvencí genu pro cyt b byl sestaven fylogenetický strom. Z celkového počtu 90 odchycených jedinců pouze dva byli identifikováni jako *S. gemmea*. Ze srovnání jejich morfologie a typových exemplářů, uložených v londýnském Přírodopisném muzeu, vyplynulo, že většina flebotomů v GenBank označená jako *S. gemmea*, je ve skutečnosti *S. khawi* nebo *S. hivernus*. Jeden odchycený jedinec se lišil sekvencemi cyt b, měl také odlišné cibarium od již známých druhů a byl popsán jako *S. raynali*. Autoři článku tedy naznačují, že by bylo vhodné revidovat klasifikaci druhu *S. gemmea* kvůli velké heterogenitě, možnosti existence kryptických druhů a případné špatné identifikaci. Zároveň také kvůli malému množství důkazů zpochybňují její roli v přenosu leishmanií (Depaquit et al., 2019).

4. Alternativní potenciální přenašeči leishmaniózy

V posledních letech sílí úvahy, že přenašeči leishmaniózy by kromě flebotomů mohly být i jiné skupiny hematofágního hmyzu. První taková podpůrná data, pro možnost zapojení alternativních přenašečů, pocházejí z Austrálie. Úplně první případ tamní autochtonní nákazy CL byl hlášen u klokanů rudých (*Macropus rufus*). Nový druh parazita, odebraný z kožních lézí vytvořených na končetinách, ocasu a uších infikovaných zvířat, byl později popsán jako *L. macropodum* (Rose et al., 2004). V oblasti výskytu nákazy byly všechny odchycené samice rodu *Sergentomyia* testované negativně na přítomnost parazita PCR metodou. Autoři studie se proto rozhodli otestovat i tiplíky (Diptera: Ceratopogonidae), kteří se ve zkoumané oblasti vyskytovali v hojném počtu. U některých vzorků byla po provedení PCR velice nečekaně nalezena DNA leishmanií. Zkoumané druhy hmyzu byly identifikovány jako *Forcipomyia (Lasiohelea) peregrinator* a *F. (Lasiohelea) townsvillensis*, živící se zde obvykle krví klokanů. Nebyla ovšem dokázána schopnost přenosu parazita z nakaženého zvířete na zdravé. To je jediné (a nejdůležitější) kritérium, které nebylo během tohoto výzkumu a pozorování splněno, a proto

tiplíci nebyli shledáni potvrzenými přenašeči leishmaniózy (Dougall et al., 2011). Tuto myšlenku později podpořil další výzkum, který ukázal, že *L. macropodum* infikující tiplíky *F. (Lasiohelea)* nebyly ani po sedmi dnech vydefekovány a mohlo by tudíž eventuálně dojít k úspěšnému dokončení jejich vývoje v těle hmyzu (Panahi et al., 2020).

Tiplíci náleží mezi krevsající hmyz z řádu Diptera, čeledi Ceratopogonidae a rodu *Culicoides*. Jsou známí jako přenašeči filárií a také různých arbovirových onemocnění, např. katarální horečky ovcí nebo moru koní (Slama et al., 2014). Jejich role v přenosu leishmání je v současné době velice diskutované téma nejen díky datům z terénních odchytů, ale také vzhledem k výsledkům několika laboratorních studií. Pokusné infekce *L. infantum* provedené na druhu *Culicoides nubeculosus* ukázaly, že již po třech dnech od sání dochází k redukcii počtu parazitů a po týdnu k jejich úplné defekaci. Promastigoti tohoto druhu se totiž u tiplíků nejsou schopni přichytit na stěnu jejich mesenteronu (Seblova et al., 2012). Slama et al. (2014) ve své práci zmiňuje přesný opak dokázaný v této studii. Tvrdí, že na základě experimentů, které Seblova et al. (2012) provedla, se podařilo prokázat úspěšnou infekci leishmání u tiplíků. Seblova et al. (2014) poté na tuto špatně vyloženou informaci reaguje a opakuje, že parazité nemohou v tiplících dokončit celý vývojový cyklus a nelze tudíž o tiplících uvažovat jako o jejich přenašečích. Zároveň je zdůrazněno, že PCR analýza přítomnosti leishmání v zažívacím traktu hmyzu nemusí být vždy nejspolehlivější, protože v předešlých studiích byli podle PCR tiplíci pozitivní, přestože všichni paraziti byli defekováni. Standardně používanou metodou by proto mělo vedle PCR být také již osvědčené mikroskopování (Seblova et al., 2012, 2014).

Následovaly další experimentální infekce tiplíků, tentokrát ovšem druhy z nového podrodu *Mundinia*. Již zmíněný *C. nubeculosus* a *C. sonorensis* byli nakaženi *L. enriettii*. Výsledky pokusu jednoznačně ukázaly, že leishmáním je umožněn i pozdní vývoj ve střevě *C. sonorensis*. Infekce *C. nubeculosus* ani tentokrát příliš úspěšné nebyly, paraziti byli po několika dnech vydefekováni (Seblova et al., 2015). Bylo zjištěno, že kromě *L. enriettii* v mesenteronu *C. sonorensis* dokáže přežít i *L. orientalis*, poprvé popsána v Thajsku (Chanmol et al., 2019; Jariyapan et al., 2018). Na druhu *C. sonorensis* se poté v laboratorních podmínkách zkoumala schopnost přenosu zástupců podrodu *Mundinia* na myši. Přenos *L. martiniquensis*, *L. orientalis* a leishmání izolované z Ghany byl úspěšný. Bylo poukázáno na to, že tiplíci by skutečně mohli hrát roli v přenosu leishmání z podrodu *Mundinia*, které v JV Asii nejčastěji působí lidské leishmaniózy. Rovněž bylo zdůrazněno, že je nutné uskutečnit terénní výzkumy, které by tuto roli potvrdily (Becvar et al., 2021).

Fauna tiplíků je ze zemí JV Asie nejvíce prozkoumaná v Thajsku, kde je prozatím známo 99 druhů (Thepparat et al., 2015). První a dosud jediná studie zkoumající tiplíky jako potenciální přenašeče leishmaniózy zde byla provedena v letech 2019-2020. V okolí bydliště člověka nakaženého CL byly odchyceny druhy *C. mahasarakhamense* (47,53 %), *C. guttifer* (22,87 %), *C. innoxius* (12,56 %), *C. huffi* (9,42 %), *C. palpifer* (4,48 %), *C. oxystoma* (2,24 %) a *C. sumatrae* (0,90 %). U třech analyzovaných tiplíků druhu *C. mahasarakhamense* PCR prokázala přítomnost *L. martiniquensis*.

Tento nález dokazuje, že druhy z podrodu *Mundinia*, více než jiné skupiny leishmanií, by mohly kromě flebotomů být přenášeny i touto skupinou hmyzu. V této studii bylo ovšem splněno jen jediné kritérium, všechny zbývající musí být v budoucnu splněny, aby se tiplicí mohli stát potvrzenými přenašeči (Sunantaraporn et al., 2021). Předchozí rozbory nasátých samic *C. mahasarakhamense* však prokázaly přítomnost pouze slepičí krve, nikoliv lidské (Jomkumsing et al., 2021). Dalšími zvířaty, na kterých tiplicí sají krev, jsou buvoli a dobytek (Pramual et al., 2021). Dosud nebyly v Thajsku nalezeny žádné výrazně antropofilní druhy rodu *Culicoides* (Sunantaraporn et al., 2021).

5. Závěr

Ve své práci jsem se pokusila shrnout dostupné poznatky o leishmaniózách, jejich potenciálních hostitelích a přenašečích v oblasti jihovýchodní Asie. Jedním z největších problémů při psaní byl nedostatek publikací zabývajících se touto problematikou ve většině zemí Velkého Mekongu. Nejméně dostupných informací máme z Kambodži a Laosu, odkud neexistují vůbec žádné informace o leishmaniózách a pouze málo jich je o zdejší fauně flebotomů. Naopak z Myanmaru nepochází žádná data o flebotomech a byly zde hlášeny pouze tři případy lidských leishmanióz, přestože tato země sousedí s Indií, kde je onemocnění hojně rozšířeno. Nedostatečné množství vědeckých studií a hlášení případů nálezů je částečně způsobeno četnými občanskými nepokoji a dlouhodobě velmi nestabilní politickou situací v zemi. V důsledku toho se již mnoho let na thajsko-myanmarých hranicích zakládají tábory pro barské uprchlíky. Lidé zde nejčastěji trpí infekcemi dolních cest dýchacích, průjmů, úplavicí a také malárií. Přestože v těchto táborech ubývají zkušení zdravotníci a množství uprchlíků je stále vysoké, za posledních 18 let došlo k výraznému snížení výskytu zmíněných chorob, a to díky vytvoření zdravotnického a hygienického programu. Leishmanióza v těchto uprchlických táborech diagnostikována dosud nebyla (Mohr et al., 2022). V uprchlických táborech v jiných částech světa je situace jiná, např. v Turecku, kde jsou leishmaniózy hojně rozšířeny mezi syrskými imigranty a jsou tak zdrojem nákazy pro další obyvatele (Yentur Doni et al., 2020). Málo dohledatelných informací bylo také k situaci ve Vietnamu. Dokumentované případy lidských leishmanióz jsou tak k dispozici spíše z bohatších zemí, kterými jsou Malajsie a hlavně Thajsko, kde je onemocnění na vzestupu (Hotez et al., 2015). Thajsko má také vysokou prevalenci lidí s HIV a cca 40 % případů leishmanióz bylo diagnostikováno právě u nich (Manomat et al., 2017). U takových pacientů často může dojít k nálezům současně VL a CL, někdy i diseminovanou (Chusri et al., 2012).

Donedávna byla za původce téměř všech lidských leishmanióz v JV Asii označována „*L. siamensis*“, která však nikdy nebyla formálně popsána. Výzkumy později ukázaly, že „*L. siamensis*“ zahrnovala více druhů – *L. martiniquensis* a *L. orientalis*, které jsou dnes hlavními původci lidských nálezů v tomto regionu a náleží do podrodu *Mundinia*. U těchto druhů máme nově k dispozici i první osekvenované genomy a jejich srovnání (Anuntasomboon et al., 2022; Anuntakarun et al., 2022;

Almutairi et al., 2021). Vzácně byly v JV Asii nalezeny také *L. infantum* a *L. donovani*, případy těchto nálezů jsou ovšem špatně dokumentované (Maharom et al., 2008; Kongkaew et al., 2007).

Leishmaniózy jsou v JV Asii přenášeny nejspíše zoonoticky, přesto zatím žádné zvíře nebylo potvrzeno jako rezervoár. Metodou DAT byly zjištěny protilátky proti leishmáníím v krvi psů, koček a buvolů z Thajska (Junsiri et al., 2017). Sekvenování a PCR analýza také odhalily protilátky proti *L. infantum* u psa z Vietnamu (Colella et al., 2020). Velmi zvažovaným rezervoárem jsou krysy obecné (*Rattus rattus*), u dvou PCR testy odhalily přítomnost „*L. siamensis*“ (později identifikované jako *L. martiniquensis*) v thajské provincii Songkhla (Chusri et al., 2014). V provincii Chiang Rai byla jedna krysa PCR pozitivní a zároveň byly v její plazmě metodou DAT detekovány protilátky proti leishmáníím (Sriwongpan et al., 2021).

Ve většině zemí JV Asie, kromě Thajska, máme pouze jednotlivé lokální studie a zcela chybí celkový přehled zdejší flebofauny. První, kdo se pokusil vytvořit seznam všech druhů flebotomů vyskytujících se v Thajsku, byl Apiwathnasorn et al. (2011). Ve své práci uvádí celkem 26 druhů, kam ovšem nebyl zahrnut *P. argentipes* kvůli absenci mezi odchycenými druhy v prováděném výzkumu, přestože byl jeho výskyt zaznamenán i dříve v minulosti (Lewis, 1978). Později ho do aktualizovaného seznamu nicméně zařadila Polseela et al. (2016b) a byl rozšířen i o nově popsané druhy *S. raynali* (Depaquit et al., 2019), *S. hivernus* a *S. khawii* (Phumee et al., 2016), přesto v současné době chybí aktualizovaný přehled všech druhů. Ve studii zabývající se detekcí flebovirů v Thajsku byl nedávno zmíněn také *P. papatasi*, který ovšem dosud nebyl uveden v žádném dostupném literárním zdroji z JV Asie (Phumee et al., 2021). Tento přenašeč zoonotické CL je běžně rozšířen na severu Afriky, Blízkém Východě a v jižní Evropě (Karmaoui, 2020). Druhy flebotomů zaznamenané nejen v Thajsku, ale také ve všech zemích GMS, jsou uvedeny v tabulce níže (Tab. 1), kterou jsem zpracovala na základě dostupných literárních zdrojů.

Za posledních 15 let bylo v regionu popsáno šest nových druhů flebotomů: *Ch. barbazani*, *Ch. eunicegalatine*, *S. phadangensis*, *S. raynali*, *I. nicolegerae* a *P. barguesae*. Taxonomické určování flebotomů je tradičně postaveno na morfologických znacích, stále častěji se ale používají molekulární metody, nejčastěji sekvenování genu pro cyt b, COI nebo další, většinou mitochondriální DNA (mtDNA) markery. U blízce příbuzných druhů je mnohdy, kvůli jejich velké podobnosti a variabilitě morfologických znaků, srovnávání podle morfologie nedostačující, problémem je i nedostatek referenčních sekvencí u některých mtDNA markerů. Identifikace na základě morfologie také vyžaduje zkušeného odborníka (Depaquit, 2014). Jako alternativní morfologický přístup k rozlišování jednotlivých druhů byly navrženy charakteristické znaky vajíček. V Thajsku již byly zkoumány a popsány vaječné obaly u druhů *P. stantoni*, *S. khawi* a *G. indica* (Jariyapan et al., 2022). Vajíčka flebotomů jsou ovšem velice malá a v přírodě je nemožné je najít. Do budoucna proto tato metoda nebude mít nejspíše příliš velké využití. V praxi se ale začal používat přístup kombinující jak morfologické, tak molekulární znaky. Například využitím morfologické analýzy, sekvenováním cyt b a MALDI-TOF proteinového profilování byl v nedávné době popsán *P. creticus* (Dvořák et al., 2020).

Výsledky získané během mnoha terénních výzkumů v JV Asii jasně ukazují, že odchycení flebotomové určitého druhu jsou zastoupeni ve stovkách jedinců, zatímco jiní pouze v jednotkách. Je tedy otázkou, zda takto velká variabilita v počtu odchycených jedinců různých druhů flebotomů je skutečně dána početností druhů na určité lokalitě, či jejich rozdílnou senzitivitou na světelné pasti, které se běžně používají k odchytu flebotomů. Důležitým atraktantem pro krevsající hmyz je CO₂, a slouží proto často jako návnada. Studie provedená v thajské provincii Chiang Rai ovšem jeho efektivitu zpochybnila. Na určená místa v jeskyni, před jeskyní a u vstupu do jeskyně byly umístěny současně pasti s CO₂ a bez CO₂. Ukázalo se, že ve všech pastech s CO₂ bylo odchyceno mnohem méně jedinců než v těch bez atraktantu (Somwang et al., 2021).

Ani jeden druh flebotoma nebyl v zemích Velkého Mekongu označen za potvrzeného přenašeče leishmanióz (Buatong et al., 2022). Mezi odchycenými flebotomy téměř vždy převažují zástupci rodu *Sergentomyia* nad druhy rodu *Phlebotomus*. Protože některé druhy rodu *Sergentomyia* jsou považovány za přenašeče leishmáníí infikujících plazy a sají tedy krev na nich, předpokládalo se, že nepřenášejí žádné lidské leishmaniózy (Maia & Depaquit, 2016). Recentní výzkumy ovšem prokázaly rovněž přítomnost krve teplokrevných obratlovců, včetně lidské, v nasátých samicích. Největší indicií, že by rod *Sergentomyia* mohl přenášet lidské leishmáníe, máme ze Senegalu, kde byli pitvou v přední části střeva nenasáté samice *S. dubia* nalezeni metacykličtí promastigoti *L. infantum*, poukazující na rozvinutou infekci (Senghor et al., 2016). Nákazu by v JV Asii pravděpodobně mohly přenášet *S. gemmea* a *S. barraudi* převažující v leishmaniózou postižených oblastech (Kanjanopas et al., 2013; Sukra et al., 2013), dále *S. iyengari* (Siripattanapong et al., 2018), *S. khawi* (Srisuton et al., 2019) a *P. stantoni* (Sriwongpan et al., 2021). U všech těchto druhů PCR analýzy odhalily přítomnost leishmáníí schopných infikovat člověka, a jsou proto považovány za potenciální přenašeče.

Původcem téměř všech lidských leishmanióz je v JV Asii *L. martiniquensis*, kromě tohoto regionu se ale vyskytuje také v Evropě či Americe, a je proto evidentní, že vzhledem k takto různorodému geografickému rozšíření se na jejím přenosu nejspíše podílí více skupin hmyzu. Přibývají také indicie, že tato skupina parazitů by mohla být v Thajsku přenášena tiplíky, kteří náleží do jiné čeledi dvoukřídleho hmyzu. Stejně jako u některých zástupců rodu *Sergentomyia*, i u tiplíků druhu *C. mahasarakhamense*, byla totiž detekována DNA *L. martiniquensis* (Sunantaraporn et al., 2021). V laboratorních podmínkách byl úspěšně infikován *C. sonorensis* leishmáníemi z podrodu *Mundinia*, kterým se podařilo napadnout stomodeální valvu a vytvořit i pozdější (metacyklická) stádia. Dále byl také demonstrován *in vivo* přenos parazitů z tiplíků na myši (Becvar et al., 2021).

Leishmaniózy jsou v JV Asii oproti jiným oblastem mnohem méně rozšířeny, např. v porovnání se sousedním Indickým subkontinentem, kde ročně přibudou desítky tisíc lidských případů (WHO, 2021) a převažuje tam VL antroponotického charakteru, způsobená *L. donovani*, kterou přenáší *P. argentipes* (Dhiman, 2014). V regionu Velkého Mekongu je ovšem problém v nedostatečném hlášení případů a potom také omezená dostupnost diagnostické techniky, proto by skutečný počet infikovaných lidí mohl být o něco vyšší (Conlan et al., 2011). Přestože je zde

onemocnění na vzestupu, místní odborníci a lékaři stále nemají dostatek zkušeností s jeho léčbou a diagnostikou (Jariyapan et al., 2018). Proti leishmaniózám zatím neexistuje žádná účinná vakcína a léčba onemocnění tak spočívá v používání léků s výraznými vedlejšími účinky a je spojená s častým rizikem vzniku rezistence (McGwire & Satoskar, 2016). Do budoucna bude důležité provádět další výzkumy a studie zabývající se nejen epidemiologií tohoto onemocnění v JV Asii, ale také rolí zdejších potenciálních přenašečů a zvířecích rezervoárů.

Druh	Thajsko	Vietnam	Malajsie	Myanmar	Kambodža	Laos
rod <i>Phlebotomus</i>						
<i>P. hoepflii</i>	+	-	-	?	-	-
<i>P. argentipes</i>	+	-	+	?	-	-
<i>P. major major</i>	+	-	+	?	-	-
<i>P. philippinensis gouldi</i>	+	-	-	?	-	-
* <i>P. stantoni</i>	+	+	+	?	+	-
<i>P. teshi</i>	+	-	-	?	-	-
<i>P. barguesae</i>	+	-	-	?	-	-
<i>P. mascomai</i>	+	+	-	?	-	-
<i>P. kiangsuensis</i>	+	-	-	?	+	-
<i>P. frondifer</i>	-	-	+	?	-	-
<i>P. betisi</i>	+	+	-	?	-	-
<i>P. pholetor</i>	+	-	-	?	-	-
<i>P. yunshengensis</i>	-	+	-	?	-	-
<i>P. papatasi</i>	+	-	-	?	-	-
rod <i>Sergentomyia</i>						
* <i>S. barraudi</i>	+	+	-	?	+	-
* <i>S. gemmea</i>	+	-	+	?	-	+
<i>S. pertubans</i>	+	-	-	?	+	-
* <i>S. iyengari</i>	+	-	+	?	-	-
<i>S. bailyi</i>	+	+	-	?	+	-
<i>S. silvatica</i>	+	+	-	?	+	-
<i>S. anodontis</i>	+	-	+	?	+	-
<i>S. dentata</i>	+	-	-	?	-	-
<i>S. bravicaulis</i>	+	-	-	?	-	-
<i>S. hodgsoni hodgsoni</i>	+	-	-	?	-	-
<i>S. quatei</i>	+	-	-	?	-	-
<i>S. indica</i>	+	-	-	?	-	-
<i>S. hivernus</i>	+	+	-	?	-	+
<i>S. punjabensis</i>	+	-	-	?	-	-
<i>S. phadangensis</i>	+	-	-	?	-	-
* <i>S. khawi</i>	+	-	-	?	+	+
<i>S. raynali</i>	+	-	-	?	-	+

<i>S. iyengari malayensis</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. zeylanicus malayae</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. traubi</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. whartoni</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. squamipleuris indica</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. gombaki</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. jefferyi</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. tambori</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. hamidi</i>	+	-	+	?	-	-
<i>S. pachystoma</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. cheongi</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. knudseni</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. reidi</i>	-	-	+	?	-	-
<i>S. rudnicki</i>	+	-	-	?	-	-
<i>S. hodgsoni</i>	+	-	-	?	-	-
rod Chinius						
<i>Ch. barbazani</i>	+	-	-	?	-	-
<i>Ch. eunicegalatine</i>	-	-	-	?	-	+
<i>Ch. junlianensis</i>	-	+	-	?	-	-
rod Idiophlebotomus						
<i>I. longiforceps</i>	+	+	-	?	-	-
<i>I. nicolegerae</i>	+	-	-	?	+	-
<i>I. asperulus</i>	+	-	+	?	-	-
rod Grassomyia						
<i>G. indica</i>	+	-	-	?	+	-
rod Nemopulpus						
<i>N. vietnamensis</i>	+	-	-	?	-	-

Tab. 1: Přehled druhů flebotomů vyskytujících se v zemích JV Asie.

Vysvětlivky: + (druh byl zaznamenán), - (druh nebyl zaznamenán), ? (nejsou informace o výskytu),
* (druhy, u kterých byla nalezena DNA leishmáníi).

Použitá literatura:

- Ab Rahman, A. K., & Abdullah, F. H. (2011). Visceral leishmaniasis (kala-azar) and malaria coinfection in an immigrant in the state of Terengganu, Malaysia: A case report. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, *44*(1), 72–76.
- Akhoundi, M., Kuhls, K., Cannet, A., Votýpka, J., Marty, P., Delaunay, P., & Sereno, D. (2016). A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *10*(3), e0004349.
- Alexander, B., & Maroli, M. (2003). Control of phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, *17*(1), 1–18.
- Almutairi, H., Urbaniak, M. D., Bates, M. D., Jariyapan, N., Kwakye-Nuako, G., Thomaz Soccol, V., Al-Salem, W. S., Dillon, R. J., Bates, P. A., & Gatherer, D. (2021). Chromosome-scale genome sequencing, assembly and annotation of six genomes from subfamily Leishmaniinae. *Scientific Data*, *8*(1), 234.
- Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., Boer, M. den, & the WHO Leishmaniasis Control Team. (2012). Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *PLoS ONE*, *7*(5), e35671.
- Andrade, B. B., de Oliveira, C. I., Brodskyn, C. I., Barral, A., & Barral-Netto, M. (2007). Role of Sand Fly Saliva in Human and Experimental Leishmaniasis: Current Insights. *Scandinavian Journal of Immunology*, *66*(2–3), 122–127.
- Anuntakarun, S., Phumee, A., Sawaswong, V., Praianantathavorn, K., Poomipak, W., Jitvaropas, R., Siriyasatien, P., & Payungporn, S. (2022). Genome Assembly and Genome Annotation of *Leishmania martiniquensis* Isolated from a Leishmaniasis Patient in Thailand. *Journal of Parasitology Research*, *2022*, 1–7.
- Anuntasomboon, P., Siripattanapipong, S., Unajak, S., Choowongkamon, K., Burchmore, R., Leelayoova, S., Mungthin, M., & E-kobon, T. (2022). Comparative Draft Genomes of *Leishmania orientalis* Isolate PCM2 (Formerly Named *Leishmania siamensis*) and *Leishmania martiniquensis* Isolate PCM3 from the Southern Province of Thailand. *Biology*, *11*(4), 515.
- Apiwathnasorn, C., Sucharit, S., Surathin, K., & Deesin, T. (1993). Anthropophilic and zoophilic phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) from Thailand. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *9*(2), 135–137.
- Apiwathnasorn, C., Samung, Y., Prummongkol, S., Phayakaphon, A., & Panasopolkul, C. (2011). Cavernicolous species of phlebotomine sand flies from Kanchanaburi Province, with an updated species list for Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *42*(6), 1405–1409.
- Azian, M. N., Hakim, S. L., Khadri, M. S., Yusri, M. Y., Adela, J. I., Noor, M., Nurhainis, O. S., Karnan, G., & Shamilah, H. (2016). Leishmaniasis in Peninsular Malaysia: The role of immigrant workers and the vector. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *47*(4), 607–616.

- Bailey, M. S., & Lockwood, D. N. J. (2007). Cutaneous leishmaniasis. *Clinics in Dermatology*, 25(2), 203–211.
- Bates, P. A., & Rogers, M. E. (2004). New Insights into the Developmental Biology and Transmission Mechanisms of *Leishmania*. *Current Molecular Medicine*, 4(6), 601–609.
- Bates, P. A. (2007). Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology*, 37(10), 1097–1106.
- Becvar, T., Vojtkova, B., Siriyasatien, P., Votypka, J., Modry, D., Jahn, P., Bates, P., Carpenter, S., Volf, P., & Sadlova, J. (2021). Experimental transmission of *Leishmania (Mundinia)* parasites by biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). *PLOS Pathogens*, 17(6), e1009654.
- Bualert, L., Charungkiattikul, W., Thongsuksai, P., Mungthin, M., Siripattanapipong, S., Khositnithikul, R., Naaglor, T., Ravel, C., El Baidouri, F., & Leelayoova, S. (2012). Autochthonous Disseminated Dermal and Visceral Leishmaniasis in an AIDS Patient, Southern Thailand, Caused by *Leishmania siamensis*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86(5), 821–824.
- Buatong, J., Dvorak, V., Thepparat, A., Thongkhao, K., Koyadun, S., Siriyasatien, P., & Pengsakul, T. (2022). Phlebotomine Sand Flies in Southern Thailand: Entomological Survey, Identification of Blood Meals and Molecular Detection of *Trypanosoma* spp. *Insects*, 13(2), 197.
- Burza, S., Croft, S. L., & Boelaert, M. (2018). Leishmaniasis. *The Lancet*, 392(10151), 951–970.
- Causey, O. R. (1938). Phlebotomus of Siam with a description of a new variety. *American Journal of Epidemiology*, 28(3), 487–489.
- Colella, V., Nguyen, V. L., Tan, D. Y., Lu, N., Fang, F., Zhijuan, Y., Wang, J., Liu, X., Chen, X., Dong, J., Nurcahyo, W., Hadi, U. K., Venturina, V., Tong, K. B. Y., Tsai, Y.-L., Taweethavonsawat, P., Tiwananthagorn, S., Le, T. Q., Bui, K. L., ... Halos, L. (2020). Zoonotic Vectorborne Pathogens and Ectoparasites of Dogs and Cats in Eastern and Southeast Asia. *Emerging Infectious Diseases*, 26(6), 1221–1233.
- Conlan, J. V., Sripa, B., Attwood, S., & Newton, P. N. (2011). A review of parasitic zoonoses in a changing Southeast Asia. *Veterinary Parasitology*, 182(1), 22–40.
- Cupolillo, E., Medina-Acosta, E., Noyes, H., Momen, H., & Grimaldi, G. (2000). A Revised Classification for *Leishmania* and *Endotrypanum*. *Parasitology Today*, 16(4), 142–144.
- Depaquit, J., Léger, N., & Beales, P. (2006). *Chinius barbazani* n. sp. de Thaïlande (Diptera: Psychodidae). *Parasite (Paris, France)*, 13(2), 151–158.
- Depaquit, J., Muller, F., & Léger, N. (2009). *Phlebotomus (Euphlebotomus) barguesae* n. sp. from Thailand (Diptera – Psychodidae). *Parasites & Vectors*, 2(1), 5.
- Depaquit, J. (2014). Molecular systematics applied to Phlebotomine sandflies: Review and perspectives. *Infection, Genetics and Evolution*, 28, 744–756.
- Depaquit, J., Vongphayloth, K., Siriyasatien, P., Polseela, R., Phumee, A., Loyer, M., Vol, A., Varlot, G., Rahola, N., Brey, P. T., Sutherland, I. W., Hertz, J. C., Gay, F., & Léger, N. (2019). On the true identity of *Sergentomyia gemmea* and description of a closely related species: *Se. raynali* n. sp. *Medical and Veterinary Entomology*, 33(4), 521–529.

- Desbois, N., Pratlong, F., Quist, D., & Dedet, J.-P. (2014). *Leishmania (Leishmania) martiniquensis* n. sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), description of the parasite responsible for cutaneous leishmaniasis in Martinique Island (French West Indies). *Parasite*, 21, 12.
- Desjeux, P. (2004). Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 27(5), 305–318.
- Dhiman, R. C. (2014). Emerging Vector-Borne Zoonoses: Eco-Epidemiology and Public Health Implications in India. *Frontiers in Public Health*, 2, 168.
- Dostálová, A., & Volf, P. (2012). *Leishmania* development in sand flies: Parasite-vector interactions overview. *Parasites & Vectors*, 5, 276.
- Dougall, A. M., Alexander, B., Holt, D. C., Harris, T., Sultan, A. H., Bates, P. A., Rose, K., & Walton, S. F. (2011). Evidence incriminating midges (Diptera: Ceratopogonidae) as potential vectors of *Leishmania* in Australia. *International Journal for Parasitology*, 41(5), 571–579.
- Dvorak, V., Shaw, J., & Volf, P. (2018). Parasite Biology: The Vectors. In F. Bruschi & L. Gradoni (Ed.), *The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases* (s. 31–77). Springer International Publishing.
- Dvořák, V., Tsirigotakis, N., Pavlou, C., Dokianakis, E., Akhoundi, M., Halada, P., Volf, P., Depaquit, J., & Antoniou, M. (2020). Sand fly fauna of Crete and the description of *Phlebotomus (Adlerius) creticus* n. sp. (Diptera: Psychodidae). *Parasites & Vectors*, 13(1), 547.
- Ganguly, S., Das, N. K., Barbhuiya, J. N., & Chatterjee, M. (2010). Post-kala-azar dermal leishmaniasis – an overview: Post-kala-azar dermal leishmaniasis. *International Journal of Dermatology*, 49(8), 921–931.
- Ghosh, P., Roy, P., Chaudhuri, S., & Das, N. (2021). Epidemiology of post-kala-azar dermal leishmaniasis. *Indian Journal of Dermatology*, 66(1), 12–23.
- Gomes, R., & Oliveira, F. (2012). The Immune Response to Sand Fly Salivary Proteins and Its Influence on *Leishmania* Immunity. *Frontiers in Immunology*, 3, 110.
- Goto, H., & Lauletta Lindoso, J. A. (2012). Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 26(2), 293–307.
- Gurel, M. S., Tekin, B., & Uzun, S. (2020). Cutaneous leishmaniasis: A great imitator. *Clinics in Dermatology*, 38(2), 140–151.
- Hamidah, N. H., Cheong, S. K., & Abu Hassan, J. (1995). A case of kala-azar diagnosed by bone marrow aspiration. *The Malaysian Journal of Pathology*, 17(1), 39–41.
- Handler, M. Z., Patel, P. A., Kapila, R., Al-Qubati, Y., & Schwartz, R. A. (2015). Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 73(6), 911–926.
- Handman, E., & Bullen, D. V. R. (2002). Interaction of *Leishmania* with the host macrophage. *Trends in Parasitology*, 18(8), 332–334.
- Hepburn, N. C. (2000). Cutaneous leishmaniasis. *Clinical and Experimental Dermatology*, 25(5), 363–370.

- Hotez, P. J., Bottazzi, M. E., Strych, U., Chang, L.-Y., Lim, Y. A. L., Goodenow, M. M., & AbuBakar, S. (2015). Neglected Tropical Diseases among the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN): Overview and Update. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *9*(4), e0003575.
- Chakravarty, J., & Sundar, S. (2019). Current and emerging medications for the treatment of leishmaniasis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, *20*(10), 1251–1265.
- Chanmol, W., Jariyapan, N., Somboon, P., Bates, M. D., & Bates, P. A. (2019). Development of *Leishmania orientalis* in the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) and the biting midge *Culicoides soronensis* (Diptera: Ceratopogonidae). *Acta Tropica*, *199*, 105157.
- Charoensakulchai, S., Bualert, L., Manomat, J., Mungthin, M., Leelayoova, S., Tan-Ariya, P., Siripattanapipong, S., Naaglor, T., & Piyaraj, P. (2020). Risk Factors of *Leishmania* Infection among HIV-Infected Patients in Trang Province, Southern Thailand: A Study on Three Prevalent Species. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *103*(4), 1502–1509.
- Chiewchanvit, S., Tovanabuttra, N., Jariyapan, N., Bates, M. D., Mahanupab, P., Chuamanochan, M., Tantiworawit, A., & Bates, P. A. (2015). Chronic generalized fibrotic skin lesions from disseminated leishmaniasis caused by *Leishmania martiniquensis* in two patients from northern Thailand infected with HIV. *British Journal of Dermatology*, *173*(3), 663–670.
- Chittsamart, B., Samruayphol, S., Sungvorayothin, S., Pothiwat, R., Samung, Y., & Apiwathnasorn, C. (2015). Phlebotomine sand flies of edible-nest swiftlet cave of Lang Ga Jiew Island, Chumphon province, Thailand. *Tropical Biomedicine*, *32*(3), 402–406.
- Choocherd, S., & Phasuk, J. (2018). Nocturnal activity of phlebotomine sand flies in satun province, Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *49*(3), 383–390.
- Chusri, S., Hortiwakul, T., Silpapojakul, K., & Siriyasatien, P. (2012). Consecutive cutaneous and visceral leishmaniasis manifestations involving a novel *Leishmania* species in two HIV patients in Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *87*(1), 76–80.
- Chusri, S., Thammapalo, S., Chusri, S., Thammapalo, S., Silpapojakul, K., & Siriyasatien, P. (2014). Animal reservoirs and potential vectors of *Leishmania siamensis* in southern Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *45*(1), 13–19.
- Jariyapan, N., Daroontum, T., Jaiwong, K., Chanmol, W., Intakhan, N., Sor-suwan, S., Siriyasatien, P., Somboon, P., Bates, M. D., & Bates, P. A. (2018). *Leishmania (Mundinia) orientalis* n. sp. (Trypanosomatidae), a parasite from Thailand responsible for localised cutaneous leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, *11*(1), 351.
- Jariyapan, N., Tippawangkosol, P., Sor-Suwan, S., Mano, C., Yasanga, T., Somboon, P., Depaquit, J., & Siriyasatien, P. (2022). Significance of eggshell morphology as an additional tool to distinguish species of sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *PLoS ONE*, *17*(2), e0263268.
- Jaturas, N., Vitta, A., Samung, Y., Apiwathnasorn, C., & Polseela, R. (2018). Species composition and nocturnal activity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) inhabiting a limestone cave in Thailand. *Journal of Vector Ecology*, *43*(1), 52–58.
- Jomkumsing, P., Surapinit, A., Saengpara, T., & Pramual, P. (2021). Genetic variation, DNA barcoding and blood meal identification of *Culicoides* Latreille biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) in Thailand. *Acta Tropica*, *217*, 105866.

- Junsiri, W., Wongnarkpet, S., Chimnoi, W., Kengradomkij, C., Kajeerum, W., Pangjai, D., & Nimsuphan, B. (2017). Seroprevalence of *Leishmania* infection in domestic animals in Songkhla and Satun provinces, southern Thailand. *Tropical Biomedicine*, 34(2), 352–362.
- Kamhawi, S. (2006). Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? *Trends in Parasitology*, 22(9), 439–445.
- Kanjanopas, K., Siripattanapipong, S., Ninsaeng, U., Hitakarun, A., Jitkaew, S., Kaewtaphaya, P., Tan-ariya, P., Mungthin, M., Charoenwong, C., & Leelayoova, S. (2013). *Sergentomyia* (*Neophlebotomus*) *gemmea*, a potential vector of *Leishmania siamensis* in southern Thailand. *BMC Infectious Diseases*, 13(1), 333.
- Karmaoui, A. (2020). Seasonal Distribution of *Phlebotomus papatasi*, Vector of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis. *Acta Parasitologica*, 65(3), 585–598.
- Kattipathanapong, P., Akaraphanth, R., Krudsood, S., Riganti, M., & Viriyavejakul, P. (2012). The first reported case of autochthonous cutaneous leishmaniasis in Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 43(1), 17–20.
- Khadri, M. S., Depaquit, J., Bargues, M. D., Ferté, H., Mas-coma, S., Lee, H. L., Ahmad, A. H., & Léger, N. (2008). First description of the male of *Phlebotomus betisi* Lewis and Wharton, 1963 (Diptera: Psychodidae). *Parasitology International*, 57(3), 295–299.
- Killick-Kendrick, R. (1990). Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: A review. *Medical and Veterinary Entomology*, 4(1), 1–24.
- Killick-Kendrick, R. (1999). The biology and control of Phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology*, 17(3), 279–289.
- Knudsen, A. B., Lewis, D. J., Tesh, R. B., Rudnick, A., Jeffery, J., & Singh, I. (1979). Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) from a Primary Hill Forest in West Malaysia. *Journal of Medical Entomology*, 15(3), 286–291.
- Kongkaew, W., Siriarayaporn, P., Leelayoova, S., Supparatpinyo, K., Areechokchai, D., Duang-ngern, P., Chanachai, K., Sukmee, T., Samung, Y., & Sridurongkathum, P. (2007). Autochthonous visceral leishmaniasis: A report of a second case in Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 38(1), 8–12.
- Lainson, R., Shaw, J. J. (1987). Evolution, classification and geographical distribution. In: *The Leishmaniasis in Biology and Medicine* (s. 1–120). Volume I. Biology and Epidemiology.
- Leelayoova, S., Siripattanapipong, S., Hitakarun, A., Kato, H., Tan-ariya, P., Siriyasatien, P., Osatakul, S., & Mungthin, M. (2013). Multilocus characterization and phylogenetic analysis of *Leishmania siamensis* isolated from autochthonous visceral leishmaniasis cases, southern Thailand. *BMC Microbiology*, 13(1), 60.
- Leelayoova, S., Siripattanapipong, S., Manomat, J., Piyaraj, P., Tan-ariya, P., Bualert, L., & Mungthin, M. (2017). Leishmaniasis in Thailand: A Review of Causative Agents and Situations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 96(3), 534–542.
- Léger, N., Depaquit, J., & Gay, F. (2010). *Chinius eunicegalatiae* n. sp. (Diptera; Psychodidae), a cavernicolous sandfly from Laos. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 104(7), 595–600.

- Lewis, D. J., & Killick-Kendrick, R. (1973). Some phlebotomid sandflies and other Diptera of Malaysia and Sri Lanka. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67(1), 4–5.
- Lewis, D. J. (1978). The phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) of the Oriental Region. *Bulletin of the British Museum (Natural History)*, 37(6), 217–343.
- Lobsiger, L., Müller, N., Schweizer, T., Frey, C. F., Wiederkehr, D., Zumkehr, B., & Gottstein, B. (2010). An autochthonous case of cutaneous bovine leishmaniasis in Switzerland. *Veterinary Parasitology*, 169(3–4), 408–414.
- Loyer, M., Depaquit, J., & Gay, F. (2016). A new cavernicolous sand fly from Cambodia: *Idiophlebotomus nicolegerae* n. sp. (Diptera: Psychodidae). *Acta Tropica*, 155, 43–50.
- Maharom, P., Siripattanapipong, S., Mungthin, M., Naaglor, T., Sukkawe, R., Pudkorn, R., Wattana, W., Wanachiwanawin, D., Areechokchai, D., & Leelayoova, S. (2008). Visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 39(6), 988–990.
- Maia, C., & Depaquit, J. (2016). Can *Sergentomyia* (Diptera, Psychodidae) play a role in the transmission of mammal-infecting *Leishmania*? *Parasite*, 23, 55.
- Manomat, J., Leelayoova, S., Bualert, L., Tan-ariya, P., Siripattanapipong, S., Mungthin, M., Naaglor, T., & Piyaraj, P. (2017). Prevalence and risk factors associated with *Leishmania* infection in Trang Province, southern Thailand. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(11), e0006095.
- Maroli, M., Feliciangeli, M. D., Bichaud, L., Charrel, R. N., & Gradoni, L. (2013). Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology*, 27(2), 123–147.
- McGwire, B. S., & Satoskar, A. R. (2016). Treatment Options for Leishmaniasis. *Current Clinical Microbiology Reports*, 3(4), 198–203.
- Mohr, O., Benner, M. T., Sansoenboon, A., Kaloy, W., McGready, R., & Carrara, V. I. (2022). Integrated primary health care services in two protracted refugee camp settings at the Thai–Myanmar border 2000–2018: Trends on mortality and incidence of infectious diseases. *Primary Health Care Research & Development*, 23, e17.
- Monge-Maillo, B., & López-Vélez, R. (2016). Treatment Options for Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection. *AIDS Reviews*, 18(1), 32–43.
- Muller, F., Depaquit, J., & Léger, N. (2007). *Phlebotomus (Euphlebotomus) mascomai* n. sp. (Diptera–Psychodidae). *Parasitology Research*, 101(6), 1597–1602.
- Müller, N., Welle, M., Lobsiger, L., Stoffel, M. H., Bogenbor, K. K., Hilbe, M., Gottstein, B., Frey, C. F., Geyer, C., & von Bomhard, W. (2009). Occurrence of *Leishmania* sp. in cutaneous lesions of horses in Central Europe. *Veterinary Parasitology*, 166(3–4), 346–351.
- Newstead, R. (1914). Notes on *Phlebotomus*, with descriptions of New Species. *Bulletin of Entomological Research*, 5(2), 179–192.

- Nimsuphan, B., Chimnoi, W., Kengradomkij, C., Pangjai, D., Jiyipong, T., Khomkao, J., Cheevasareechon, M., & Jirasutas, W. (2014). Detection of anti-*Leishmania donovani* complex antibodies of dogs and cats from southern Thailand. *Khon Kaen University Veterinary Journal*, 24(1), 9–19.
- Noppakun, N., Kraivichian, K., & Siriyasatien, P. (2014). Disseminated Dermal Leishmaniasis Caused by *Leishmania siamensis* in a Systemic Steroid Therapy Patient. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(5), 869–870.
- Panahi, E., Shivas, M., Hall-Mendelin, S., Kurucz, N., Rudd, P. A., De Araujo, R., Skinner, E. B., Melville, L., & Herrero, L. J. (2020). Utilising a novel surveillance system to investigate species of *Forcipomyia (Lasiohelea)* (Diptera: Ceratopogonidae) as the suspected vectors of *Leishmania macropodum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in the Darwin region of Australia. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 12, 192–198.
- Panthawong, A., Chareonviriyaphap, T., & Phasuk, J. (2015). Species diversity and seasonality of phlebotomine sand flies (Diptera:Psychodidae) in Satun Province, Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 46(5), 857–865.
- Phasuk, J., Inpankaew, T., Choocherd, S., & Samung, Y. (2019). Identification of mammalian blood meals from *Sergentomyia (Parrotomyia) barraudi* (Diptera: Psychodidae) in Songkhla Province, Southern Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 50(6), 991–995.
- Phumee, A., Tampanya, V., Vibhagool, A., Kraivichian, K., Siriyasatien, P., Noppakun, N., Sanprasert, V., Wilde, H., & Chusri, S. (2013). Detection of *Leishmania siamensis* DNA in Saliva by Polymerase Chain Reaction. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(5), 899–905.
- Phumee, A., Chusri, S., Kraivichian, K., Wititsuwannakul, J., Hortiwakul, T., Thavara, U., Silpapojakul, K., & Siriyasatien, P. (2014). Multiple cutaneous nodules in an HIV-infected patient. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(12), e3291.
- Phumee, A., Tawatsin, A., Thavara, U., Pongsakul, T., Thammapalo, S., Depaquit, J., Gay, F., & Siriyasatien, P. (2016). Detection of an Unknown *Trypanosoma* DNA in a *Phlebotomus stantoni* (Diptera: Psychodidae) Collected From Southern Thailand and Records of New Sand Flies With Reinstatement of *Sergentomyia hivernus* Raynal & Gaschen, 1935 (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 54(2), 429–434.
- Phumee, A., Wacharapluesadee, S., Petcharat, S., & Siriyasatien, P. (2021). A new cluster of rhabdovirus detected in field-caught sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) collected from southern Thailand. *Parasites & Vectors*, 14(1), 569.
- Phuphisut, O., Nitatsukprasert, C., Pathawong, N., Jaichapor, B., Pongsiri, A., Adisakwattana, P., & Ponlawat, A. (2021). Sand fly identification and screening for *Leishmania* spp. In six provinces of Thailand. *Parasites & Vectors*, 14(1), 352.
- Pigott, D. M., Bhatt, S., Golding, N., Duda, K. A., Battle, K. E., Brady, O. J., Messina, J. P., Balard, Y., Bastien, P., Pratlong, F., Brownstein, J. S., Freifeld, C. C., Mekaru, S. R., Gething, P. W., George, D. B., Myers, M. F., Reithinger, R., & Hay, S. I. (2014). Global distribution maps of the leishmaniasis. *ELife*, 3, e02851.

- Pimenta, P. F. P., Modi, G. B., Pereira, S. T., Shahabuddin, M., & Sacks, D. L. (1997). A novel role for the peritrophic matrix in protecting *Leishmania* from the hydrolytic activities of the sand fly midgut. *Parasitology*, *115*(4), 359–369.
- Polseela, R., Apiwathnasorn, C., & Samung, Y. (2007). Seasonal variation of cave-dwelling phlebotomine sandflies (Diptera:Psychodidae) in Phra Phothisat Cave, Saraburi Province, Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *38*(6), 1011–1015.
- Polseela, R., Apiwathnasorn, C., & Samung, Y. (2011a). Seasonal distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Tham Phra Phothisat temple, Saraburi province, Thailand. *Tropical Biomedicine*, *28*(2), 366–375.
- Polseela, R., Vitta, A., Nateeworanart, S., & Apiwathnasorn, C. (2011b). Distribution of cave-dwelling phlebotomine sand flies and their nocturnal and diurnal activity in Phitsanulok Province, Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *42*(6), 1395–1404.
- Polseela, R., Vitta, A., & Apiwathnasorn, C. (2015). Distribution of phlebotomine sand flies (Diptera:Psychodidae) in limestone caves, Khao Pathawi, Uthai Thani province, Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *46*(3), 425–433.
- Polseela, R., & Apiwathnasorn, C. (2016). Preliminary observations on biology of a man-and cattlebiting *Phlebotomus major major* and a cave dwelling *Phlebotomus stantoni* under laboratory conditions. *Tropical Biomedicine*, *33*(3), 403–408.
- Polseela, R., Depaquit, J., & Apiwathnasorn, C. (2016a). Description of *Sergentomyia phadangensis* n. sp. (Diptera, Psychodidae) of Thailand. *Parasites & Vectors*, *9*(1), 21.
- Polseela, R., Jaturas, N., Thanwisai, A., Sing, K.-W., & Wilson, J.-J. (2016b). Towards monitoring the sandflies (Diptera: Psychodidae) of Thailand: DNA barcoding the sandflies of Wihan Cave, Uttaradit. *Mitochondrial DNA Part A*, *27*(5), 3795–3801.
- Pothirat, T., Tantiworawit, A., Chaiwarith, R., Jariyapan, N., Wannasan, A., Siriyasatien, P., Supparatpinyo, K., Bates, M. D., Kwakye-Nuako, G., & Bates, P. A. (2014). First Isolation of *Leishmania* from Northern Thailand: Case Report, Identification as *Leishmania martiniquensis* and Phylogenetic Position within the *Leishmania enriettii* Complex. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *8*(12), e3339.
- Pramual, P., Jomkumsing, P., Piraonapicha, K., & Jumpato, W. (2021). Integrative taxonomy uncovers a new *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) biting midge species from Thailand. *Acta Tropica*, *220*, 105941.
- Quate, L. W., & Fairchild, G. B. (1961). Phlebotomus Sand Flies of Malaya and Borneo (Diptera: Psychodidae). *Pacific insects*, *3*, 203–222.
- Ready, P. (2014). Epidemiology of visceral leishmaniasis. *Clinical Epidemiology*, *6*, 147–154.
- Reithinger, R., Dujardin, J.-C., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B., & Brooker, S. (2007). Cutaneous leishmaniasis. *The Lancet Infectious Diseases*, *7*(9), 581–596.
- Reuss, S. M., Dunbar, M. D., Mays, M. B. C., Owen, J. L., Mallicote, M. F., Archer, L. L., & Wellehan, J. F. X. (2012). Autochthonous *Leishmania siamensis* in Horse, Florida, USA. *Emerging Infectious Diseases*, *18*(9), 1545–1546.

- Rohoušová, I., & Volf, P. (2006). Sand fly saliva: Effects on host immune response and *Leishmania* transmission. *Folia Parasitologica*, 53(3), 161–171.
- Rose, K., Curtis, J., Baldwin, T., Mathis, A., Kumar, B., Sakthianandeswaren, A., Spurck, T., Low Choy, J., & Handman, E. (2004). Cutaneous leishmaniasis in red kangaroos: Isolation and characterisation of the causative organisms. *International Journal for Parasitology*, 34(6), 655–664.
- Rosypal, A. C., Hailemariam, S., Wekheye, V., Huong, L. T. T., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., & Tidwell, R. R. (2009). Survey of Dogs From Vietnam for Antibodies to Visceralizing *Leishmania* spp. *Journal of Parasitology*, 95(3), 767.
- Ruang-areerate, T., Piyaraj, P., Ponlawat, A., Mungthin, M., & Leelayoova, S. (2019). Distribution and predicting environmental suitability of *Sergentomyia gemmea* and *Sergentomyia barraudi* (Diptera: Psychodidae) in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 50(1), 64–78.
- Seblova, V., Sadlova, J., Carpenter, S., & Volf, P. (2012). Development of *Leishmania* Parasites in *Culicoides nubeculosus* (Diptera: Ceratopogonidae) and Implications for Screening Vector Competence. *Journal of Medical Entomology*, 49(5), 967–970.
- Seblova, V., Sadlova, J., Carpenter, S., & Volf, P. (2014). Speculations on biting midges and other bloodsucking arthropods as alternative vectors of *Leishmania*. *Parasites & Vectors*, 7(1), 222.
- Seblova, V., Sadlova, J., Vojtkova, B., Votypka, J., Carpenter, S., Bates, P. A., & Volf, P. (2015). The Biting Midge *Culicoides sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) Is Capable of Developing Late Stage Infections of *Leishmania enriettii*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(9), e0004060.
- Senghor, M. W., Niang, A. A., Depaquit, J., Ferté, H., Faye, M. N., Elguero, E., Gaye, O., Alten, B., Perktas, U., Cassan, C., Faye, B., & Bañuls, A.-L. (2016). Transmission of *Leishmania infantum* in the Canine Leishmaniasis Focus of Mont-Rolland, Senegal: Ecological, Parasitological and Molecular Evidence for a Possible Role of *Sergentomyia* Sand Flies. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(11), e0004940.
- Sereno, D. (2019). *Leishmania (Mundinia)* spp.: From description to emergence as new human and animal *Leishmania* pathogens. *New Microbes and New Infections*, 30, 100540.
- Shahar, M. K., Hassan, A. A., Lee, H. L., & Salmah, M. R. C. (2011). Studies of phlebotomine sand fly (Diptera: Psychodidae) populations in limestone areas and caves of western Malaysia. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 42(1), 83–93.
- Schlein, Y., Jacobson, R. L., & Messer, G. (1992). *Leishmania* infections damage the feeding mechanism of the sandfly vector and implement parasite transmission by bite. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(20), 9944–9948.
- Schönian, G., Mauricio, I., & Cupolillo, E. (2010). Is it time to revise the nomenclature of *Leishmania*? *Trends in Parasitology*, 26(10), 466–469.
- Siripattanapipong, S., Leelayoova, S., Ninsaeng, U., & Mungthin, M. (2018). Detection of DNA of *Leishmania siamensis* in *Sergentomyia (Neophlebotomus) iyengari* (Diptera: Psychodidae) and Molecular Identification of Blood Meals of Sand Flies in an Affected Area, Southern Thailand. *Journal of Medical Entomology*, 55(5), 1277–1283.

- Siriyasatien, P., Chusri, S., Kraivichian, K., Jariyapan, N., Hortiwakul, T., Silpapojakul, K., Pym, A. M., & Phumee, A. (2016). Early detection of novel *Leishmania* species DNA in the saliva of two HIV-infected patients. *BMC Infectious Diseases*, *16*(1), 89.
- Slama, D., Haouas, N., Remadi, L., Mezhoud, H., Babba, H., & Chaker, E. (2014). First detection of *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae). *Parasites & Vectors*, *7*(1), 51.
- Somwang, P., Khositharattanakool, P., Pathawong, N., Pongsiri, A., Davidson, S. A., & Ponlawat, A. (2021). Field evaluation of four commercial light traps, trap placement, and effect of carbon dioxide on phlebotomine sand fly collection in northern Thailand. *Acta Tropica*, *220*, 105953.
- Sor-Suwan, S., Jariyapan, N., Mano, C., Apiwathnasorn, C., Sriwichai, P., Samung, Y., Siriyasatien, P., Bates, P. A., & Somboon, P. (2017a). *Didilia* sp. infecting *Phlebotomus stantoni* in Thailand. *Tropical Biomedicine*, *34*(4), 956–962.
- Sor-Suwan, S., Jariyapan, N., Mano, C., Apiwathnasorn, C., Sriwichai, P., Samung, Y., Siriyasatien, P., Bates, P. A., & Somboon, P. (2017b). Species composition and population dynamics of phlebotomine sand flies in a *Leishmania* infected area of Chiang Mai, Thailand. *Tropical Biomedicine*, *34*(4), 855–862.
- Srisuton, P., Phumee, A., Sunantaraporn, S., Boonserm, R., Sor-suwan, S., Brownell, N., Pengsakul, T., & Siriyasatien, P. (2019). Detection of *Leishmania* and *Trypanosoma* DNA in Field-Caught Sand Flies from Endemic and Non-Endemic Areas of Leishmaniasis in Southern Thailand. *Insects*, *10*(8), 238.
- Sriwongpan, P., Nedsuwan, S., Manomat, J., Charoensakulchai, S., Lacharojana, K., Sankwan, J., Kobpungton, N., Sriwongpun, T., Leelayoova, S., Mungthin, M., Siripattanapipong, S., Ruang-areerate, T., Naaglor, T., Eamchotchawalit, T., & Piyaraj, P. (2021). Prevalence and associated risk factors of *Leishmania* infection among immunocompetent hosts, a community-based study in Chiang Rai, Thailand. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *15*(7), e0009545.
- Suankratay, C., Suwanpimolkul, G., Wilde, H., & Siriyasatien, P. (2010). Autochthonous Visceral Leishmaniasis in a Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected Patient: The First in Thailand and Review of the Literature. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *82*(1), 4–8.
- Sukantamala, J., Sing, K.-W., Jaturas, N., Polseela, R., & Wilson, J.-J. (2017). Unexpected diversity of sandflies (Diptera: Psychodidae) in tourist caves in Northern Thailand. *Mitochondrial DNA Part A*, *28*(6), 949–955.
- Sukmee, T., Siripattanapipong, S., Mungthin, M., Worapong, J., Rangsin, R., Samung, Y., Kongkaew, W., Bumrungsana, K., Chanachai, K., Apiwathanasorn, C., Rujirojindakul, P., Wattanasri, S., Ungchusak, K., & Leelayoova, S. (2008). A suspected new species of *Leishmania*, the causative agent of visceral leishmaniasis in a Thai patient. *International Journal for Parasitology*, *38*(6), 617–622.
- Sukra, K., Kanjanopas, K., Amsakul, S., Rittaton, V., Mungthin, M., & Leelayoova, S. (2013). A survey of sandflies in the affected areas of leishmaniasis, southern Thailand. *Parasitology Research*, *112*(1), 297–302.

- Sumruayphol, S., Chittsamart, B., Polseela, R., Sriwichai, P., Samung, Y., Apiwathnasorn, C., & Dujardin, J.-P. (2017). Wing geometry of *Phlebotomus stantoni* and *Sergentomyia hodgsoni* from different geographical locations in Thailand. *Comptes Rendus Biologies*, 340(1), 37–46.
- Sunantaraporn, S., Thepparat, A., Phumee, A., Sor-Suwan, S., Boonserm, R., Bellis, G., & Siriyasatien, P. (2021). *Culicoides Latreille* (Diptera: Ceratopogonidae) as potential vectors for *Leishmania martiniquensis* and *Trypanosoma* sp. in northern Thailand. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(12), e0010014.
- Thammapalo, S., Pawestri, A. R., Kolaeh, K., Boondej, P., Benarlee, R., Apiwathnasorn, C., & Kumlert, R. (2020). Distribution of Phlebotomine Sandflies in the Cave Area of Satun Province, Thailand. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 5(4), 174.
- Thepparat, A., Bellis, G., Ketavan, C., Ruangsittichai, J., Sumruayphol, S., & Apiwathnasorn, C. (2015). Ten species of *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) newly recorded from Thailand. *Zootaxa*, 4033(1), 48–56.
- Thisyakorn, U., Jongwutiwes, S., Vanichsetakul, P., & Lertsapcharoen, P. (1999). Visceral leishmaniasis: The first indigenous case report in Thailand. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(1), 23–24.
- Viriyavejakul, P., Viravan, C., Riganti, M., & Punpoowong, B. (1997). Imported cutaneous leishmaniasis in Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 28(3), 558–562.
- Volf, P., Hajmova, M., Sadlova, J., & Votypka, J. (2004). Blocked stomodeal valve of the insect vector: Similar mechanism of transmission in two trypanosomatid models. *International Journal for Parasitology*, 34(11), 1221–1227.
- Vu, N. S., Tran, S. H., Tran, P. V., Tran, T. C., Tran, D. N., Dang, A. D., Nguyen, Y. T., Vu, L. T., Ngo, P. K., Nguyen, H. V., Cassan, C., Nguyen, C. V., Rahola, N., & Bañuls, A.-L. (2020). Diversity and Ecology of Sand Flies (Diptera: Psychodidae), Potential Vectors of *Leishmania* in the Quang Ninh Province, Vietnam. *Journal of Medical Entomology*, 57(1), 259–265.
- Vu, S. N., Tran, H. S., Tran, V. P., Tran, C. T., Tran, N. D., Dang, D. A., Nguyen, T. Y., Vu, T. L., Ngo, K. P., Nguyen, V. H., Hoàng, N. A., Cassan, C., Prudhomme, J., Depaquit, J., Rahola, N., & Bañuls, A.-L. (2021). Taxonomical insights and ecology of sandfly (Diptera: Psychodidae) species in six provinces of Northern Vietnam. *Parasite*, 28, 85.
- Wall, E. C., Watson, J., Armstrong, M., Chiodini, P. L., & Lockwood, D. N. (2012). Epidemiology of Imported Cutaneous Leishmaniasis at the Hospital for Tropical Diseases, London, United Kingdom: Use of Polymerase Chain Reaction to Identify the Species. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86(1), 115–118.
- Yentur Doni, N., Gurses, G., Dikme, R., Aksoy, M., Yildiz Zeyrek, F., Simsek, Z., Satoskar, A. R., Varikuty, S., & Yesilova, Y. (2020). Cutaneous Leishmaniasis due to Three *Leishmania* Species Among Syrian Refugees in Sanliurfa, Southeastern Turkey. *Acta Parasitologica*, 65(4), 936–948.

Sekundární citace:

Parot, L., Clastrier, J. (1952). Note sur les phlébotomes LXV. *Arch. Inst. Pasteur Algerie*, 2, 152–170.

Internetové zdroje:

WHO (2021), <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> [4.12.2021]

WHO (2020), https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/leishmaniasis/leishmaniasis.html [20.4.2022]

ASEAN (2020), <https://asean.org/> [5.2.2022]