

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program Biologie

Studijní obor Biologie



Pavλίna Vobořilová

Patogenní trichomonády domácích zvířat

Pathogenic trichomonads of domestic animals

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: prof. RNDr. Jan Tachezy, Ph.D.

Praha, 2012

Prohlášení:

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

V Praze dne 27. 08. 2012

.....

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat především svému školiteli prof. RNDr. Janu Tachezemu, Ph.D. za cenné rady, Mgr. Jitce Hostomské, Ph.D. za pomoc při psaní této práce a také celému týmu protozoologické laboratoře katedry parazitologie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy. V neposlední řadě také své rodině za všestrannou podporu.

Abstrakt

Patogenní trichomonády domácích zvířat jsou anaerobní prvoci vyskytující se v trávicím a reprodukčním traktu. Způsobují většinou závažná onemocnění, která mají za následek ekonomické ztráty v hospodářství a u chovatelů. Mezi takové trichomonády se řadí *Cochlosoma anatis*. Parazituje ve střevech ptáků, kde je příčinou tzv. runting syndromu, enteritidy. *Trichomonas gallinae* postihuje zažívací trakt holubů a tyto těžké infekce představují hrozbu u volně žijících migrujících ptáků a ohrožených druhů dravých ptáků. *Histomonas meleagridis* představuje původce nejznámějšího, smrtelného a velice obávaného onemocnění krůt a brojlerů pro hospodářskou produkci, tzv. „blackhead disease (černohlavost)“. *Tritrichomonas foetus* způsobuje nejvýznamnější sexuálně přenosné onemocnění tritrichomonózu skotu, které způsobuje značné ztráty hovězí produkce po celém světě. *T. foetus* byl nedávno identifikován také jako původce průjmového onemocnění koček. Podobně nedávno popsáný druh *Tritrichomonas mobilensis* pravděpodobně narušuje střevní sliznici u kotulů.

Tato práce zahrnuje obecnou charakteristiku jednotlivých druhů a podrobný souhrn dosavadních znalostí popisujících jednotlivá onemocnění. Popis pojímá problematiku zdrojů a přenosu nákazy, hostitelskou specifitu parazita, rozšíření onemocnění. Shrnuje znalosti o patogenezí a virulenci parazita; uvádí jednotlivé popsané projevy onemocnění a patologické nálezy. Dále je také popsána používaná diagnostika a léčba onemocnění či preventivní zásady. Souhrnem těchto informací by měla práce poukázat na případné nedostatečné znalosti v některých oblastech etiologie, epizootologie, patogenezí, symptomatologie, patologie, diagnostiky a terapie. Dále práce upozorňuje na nově identifikované původce onemocnění u koček (*T. foetus*) a kotulů (*T. mobilensis*), kteří představují do budoucna významný předmět výzkumu. Neboť nová onemocnění přináší mnoho nezodpovězených otázek ohledně jejich vzniku, průběhu a terapie.

Klíčová slova: trichomonády, cochlosoma, trichomonas, histomonas, tritrichomonas, patogenezí, patologie

Abstract

Pathogenic trichomonads of domestic animals are anaerobic protozoa found in the gastrointestinal and reproductive tract. They are responsible for serious diseases, which result in economic losses in agriculture. *Cochlosoma anatis* parasitizes in the intestine of birds, where it causes so-called runting syndrome and enteritis. *Trichomonas gallinae* is found in the gastrointestinal tract of pigeons and represents a dangerous infection of wild migratory birds and endangered birds of prey. *Histomonas meleagridis* is the causative agent of the best known, fatal and very redoubtable disease of turkeys and hens, so-called „blackhead disease". *Tritrichomonas foetus* is the causative agent of the most important sexually transmitted infection, tritrichomonosis in cattle, which causes significant economic losses in global beef production. *T. foetus* was recently identified as the causal agent of diarrheal disease in cats. Also *Tritrichomonas mobilensis* was recently described as a new species which probably disrupts the intestinal mucosa of squirrel monkeys.

This work includes the general characteristics of these species and a detailed summary of the current knowledge on the diseases they are causing. The description covers the issue of sources and disease transmission, host specificity of the parasite and distribution of disease. It summarizes knowledge about the pathogenesis and virulence of the parasite; it lists the various manifestations of the disease and pathologic findings. It also describes current diagnostic and therapeutical methods as well as the preventive principles employed in prophylaxis. This work, which is based on summary of this information, should refer to any lack of knowledge in areas of etiology, epidemiology, pathogenesis, symptomatology, pathology, diagnosis and therapy. In addition, the study points to the newly identified causative agents of disease in cats (*T. foetus*) and squirrel monkeys (*T. mobilensis*), which represent a significant subject for future research. These new diseases raise many questions about the origin, course and therapy.

Key words: trichomonads, cochlosoma, trichomonas, histomonas, tritrichomonas, pathogenesis, pathology

OBSAH

1. Úvod	7
2. Patogenní trichomonády.....	8
2.1 Stavba buňky patogenních trichomonád	9
2.2 Buněčný cyklus	11
3. Jednotlivá onemocnění	12
3.1 <i>Cochlosoma anatis</i>	12
3.2 <i>Trichomonas gallinae</i>	15
3.3 <i>Histomonas meleagridis</i>	20
3.4 <i>Tritrichomonas foetus</i>	24
3.4.1 Tritrichomonóza skotu	25
3.4.2 Tritrichomonóza koček	27
3.4.3 <i>Tritrichomonas foetus</i> u prasat	30
3.5 <i>Tritrichomonas mobilensis</i>	31
4. Závěr	33
5. Seznam použitých zkratk	33
6. Seznam použité literatury	34

1. ÚVOD

Patogenní trichomonády jsou anaerobní prvoci, kteří způsobují závažná onemocnění zvířat a lidí. Nejvýznamnějším takovým prvokem z hlediska humánní medicíny je *Trichomonas vaginalis*. Je znám jako původce trichomonózy u lidí, která se projevuje onemocněním urogenitálního traktu. Toto onemocnění se považuje za nejčastěji se vyskytující neviróvé sexuálně přenosné onemocnění na světě s odhadovanými 170 miliony nových případů za rok (WHO, 2001) Z hlediska veterinární praxe a hospodářství je obdobně významným onemocněním tritrichomonóza skotu, jehož příčinou je *Tritrichomonas foetus*. Tento parazit způsobuje reprodukční poruchy u skotu, což má za následek značné ekonomické ztráty v hospodářství. V USA mohou roční ztráty hovězího masa dosahovat až několika set miliónů dolarů. Nedávno byl *T. foetus* označen jako původce průjmového onemocnění u koček. Nově byl popsán nový druh *Tritrichomonas mobilensis* pravděpodobně způsobující střevní onemocnění u kotulů.

Mezi patogenními trichomonádami se vyskytují druhy, které napadají ptáky a v hospodářských chovech a u chovatelů zapříčiňují rozsáhlé ekonomické ztráty. Jedná se zejména o *Histomonas meleagridis*, způsobující nakažlivé a smrtelné enterohepatitidy hlavně v chovech krůt a drůbeže. *Cochlosoma anatis* je původcem průjmů a zakrslosti kachen. *Trichomonas gallinae* je příčinou trichomonózy holubů, která postihuje i jiné ptačí druhy. V nedávné době propukla epidemie trichomonózy u pěnkvav ve Velké Británii a rapidně se šíří přes Švédsko a Finsko do Evropy.

Cílem této práce je shrnout informace o patogenních trichomonádách domácích zvířat, přičemž jejím těžištěm je podrobný popis onemocnění, která způsobují.

2. PATOGENNÍ TRICHOMONÁDY

Trichomonády jsou prvoci kmene Parabasalia, který je součástí velké skupiny výhradně jednobuněčných eukaryotických organismů zvané Excavata. V rámci parabasalidů tvoří trichomonády dvě velké třídy: Trichomonadea a Tritrichomonadea. Tito prvoci patří mezi endobiotické komenzály a parazity bezobratlých živočichů a obratlovců včetně savců. V hostiteli zpravidla obývají dýchací, gastrointestinální nebo reprodukční trakt. Jako příklad lze uvést komenzální *Pentatrichomonas hominis*, který žije ve střevech člověka a dalších savců, případně ptáků (Wenrich, 1944 v Gookin, 2007). Nepatogenními trichomonádami žijícími v ústní dutině jsou např. *Trichomonas tenax* v ústech lidí a opic (Wenrich, 1944 v Hersh, 1985); *Trichomonas canistomae* v ústní dutině psů, *Trichomonas equibuccalis* v ústní dutině koní a *Trichomonas felistomae* v ústní dutině koček (Stockdale et al., 2006).

V této práci budu uvádět patogenní druhy trichomonád domestikovaných zvířat taxonomicky zařazených podle nově navrhané klasifikace: říše Excavata a kmen Parabasalia (Adl et al., 2005) rozdělený do šesti tříd: Hypotrichomonadea, Trichomonadea, Tritrichomonadea, Cristamonadea, Trichonymphea, Spirotrichonymphea (Čepička et al., 2010). Mezi patogenní trichomonády domácích zvířat zde řadím, jak je vyobrazeno v Tabulce 1, patogenní druhy trichomonád z řádu Trichomonadida a Tritrichomonadida.

Tabulka 1.: Taxonomické rozdělení patogenních trichomonád domácích zvířat (upraveno podle Čepička et al., 2010)

Řád	Čeleď	Rod	Druh
Trichomonadida	Trichomonadidae	Cochlosoma	<i>Cochlosoma anatis</i>
		Trichomonas	<i>Trichomonas gallinae</i>
Tritrichomonadida	Dientamoebidae	Histomonas	<i>Histomonas meleagridis</i>
	Tritrichomonadidae	Tritrichomonas	<i>Tritrichomonas foetus</i>
			<i>Tritrichomonas mobilensis</i>

Řád Trichomonadida (Kirby, 1947 v Čepička et al., 2010), charakterizuje jednojaderný mastigont se čtyřmi až šesti předními bičíky a jedním zpětným bičíkem, který tvoří undulující membránu. Řád Tritrichomonadea (Čepička et al., 2010) se vyznačuje třemi volně pohyblivými bičíky a zpětným čtvrtým bičíkem, který opět tvoří undulující membránu. Počet bičíků však může být redukován nebo mohou zcela chybět.

2.1. Stavba buňky patogenních trichomonád

Trichomonády mají pleomorfní buňky, obvykle tvaru hruškovitého, ovoidního nebo vřetenovitého, některé mohou mít i améboidní tvar. Velikost buňky se pohybuje v rozmezí 6-25 x 1,5-12 μm . Trichomonády jsou eukaryotické organismy obsahující řadu známých organel. Vzhledem k parazitickému způsobu života je trichomonádní eukaryotická buňka modifikována a z běžných eukaryotických organel postrádá peroxizomy a mitochondrie. Navíc obsahuje hydrogenozomy a specifické cytoskeletární a buněčné struktury, které jsou dále uvedeny.

Plazmatická membrána

Buňka je kryta plazmatickou membránou, která je plastická a umožňuje trichomonádám améboidní pohyb po substrátu. Membrána obsahuje řadu receptorů a jiných proteinů umožňující trichomonádám komunikaci, migraci a adhezi v prostředí hostitele. Plazmatická membrána zprostředkovává endocytózou příjem potravy a to fagocytózou nebo v případě *T. gallinae* pinocytózou (Mehlhorn et al., 2009).

Golgiho komplex

Mezi cytoplazmatické organely patří mohutně vyvinutý Golgiho komplex, jehož cisterny tvoří spolu s žíhanými fibrilami parabazální aparát. Podle tohoto komplexu byl pojmenován kmen Parabasalia. Golgiho aparát je velmi prominentní a nedělí se během mitózy (Benchimol, 2004)

Hydrogenozóm

Hydrogenozóm, byl poprvé popsán a biochemicky analyzován právě u trichomonád (Čerkasov et al., 1978). Hydrogenozóm je poměrně malá organela (0,3-1,2 μm) nacházející se převážně v přední perinukleární oblasti buňky. Ohraničen je dvojitou membránou, vnitřní membrána netvoří krysty. Hydrogenozómy nemají vlastní genom, všechny proteiny jsou kódovány v jádře, syntetizovány na volných polyribosomech a importovány do hydrogenozómu na základě signální sekvence (Lahti and Johnson, 1991). V hydrogenozómu probíhá metabolismus produktů glykolýzy. Do hydrogenozómu vstupuje pyruvát a malát z cytosolu. Pyruvát je oxidativní dekarboxylázou přeměněn na acetyl koenzym A a CO_2 . Během tohoto procesu se uvolňuje molekulární vodík. Acetyl koenzym A je převeden na acetát, přičemž substrátovou fosforylací vzniká ATP (Benchimol, 2009). Mezi další funkce hydrogenozómu spadá tvorba železo-sírných (Fe-S) center (Tachezy et al., 2001) a ochrana před oxidativním stresem.

Cytoskelet

Významnými cytoskeletálními strukturami trichomonád jsou axostyl, pelta a kosta. Axostyl a pelta jsou složeny z mikrotubulů. Pelta se nachází na přední straně buňky nad jádrem a chrání bazální tělíska bičíků (kinetozómy). Axostyl vede buňkou z capitabula (přední část axostylu) a vyčnívá na posteriorním konci (Benchimol, 2004).

Trichomonády jsou charakterizovány třemi až pěti předními bičíky a jedním zpětným bičíkem, který tvoří undulující membránu. Undulující membrána představuje dobré řešení pro pohyb ve viskózním prostředí, jako je obsah střeva nebo krev. Undulující membrána je většinou podložena silnou žíhanou fibrilou – kostou, která pravděpodobně slouží k tlumení nárazů undulující membrány. U několika druhů je jedním z morfologických rysů v rozeznávání jednotlivých trichomonád. U cochlosom je kosta specifickou adaptací, která se podílí na struktuře adhezivního disku (Pecka et al., 1996).

Bičíky vycházejí z bazálních tělísek a skládají se z axonemy s 9 + 2 mikrotubuly. Bazální tělíska se skládají z kontraktilních centrinových vláken, která umožňují internalizaci bičíku při tvorbě pseudocyst. Pseudocysty netvoří skutečnou stěnu jako u cysty vytvářející pevný

tvár buňky. Při tvorbě pseudocysty dochází k internalizaci pohybových organel trofozoitů, které tak zůstanou neporušené (Benchimol, 2004).

2.2. Buněčný cyklus

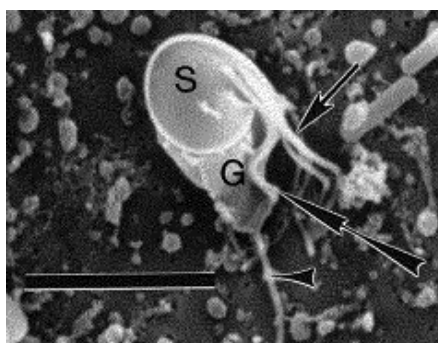
Trichomonády mají jednoduchý vývoj, ve kterém dominuje stádium trofozoita. Trofozoiti se rozmnožují binárním dělením a přenáší se z hostitele na hostitele. Replikace probíhá přes uzavřenou mitózu za účasti vřeténka, bičků a axostylu. Uzavřená mitóza je považována za primitivní, protože dělicí vřeténko je extranukleární a nedochází k rozpadu jaderné membrány (tzv. kryptopleuomitóza). Trichomonády mají jedno jádro lokalizované v přední části buňky. Geny jsou uspořádané do lineárních chromozomů. Během replikace jsou přítomny všechny mitotické fáze (Benchimol, 2004).

Za nevhodných podmínek, například snížení teploty, vytváří trichomonády pseudocysty neboli nepravé cysty. Ačkoliv byla dříve pseudocysta popisována jako degenerovaná buněčná forma, v současnosti se považuje za odolnější stádium trichomonád, které může pomoci přežít nepříznivé podmínky. Tvorba pseudocyst byla popsána u střevních trichomonád. K rozdělení dochází také u pseudocyst s tím rozdílem, že se jádro a mastigont rozdělí bez rozdělení cytoplasmy a vytvoří polymastigonta. Za stabilizovaných podmínek prostředí se z polymastigonta vytvářejí opět trofozoiti (Pereira-Neves et al., 2003)

3. JEDNOTLIVÁ ONEMOCNĚNÍ

3.1. *Cochlosoma anatis*

Cochlosoma anatis poprvé popsal Kotlán (1923) ze střev mladých kachen (*Anas platyrhynchos*) (Travis, 1938). Na rozdíl od ostatních trichomonád se vyznačuje adhezivním diskem na ventrální straně (obr. 1). Má šest bičíků vycházejících z přední části buňky, přičemž pátý bičík je zpětný a tvoří undulující membránu (obr. 1) (Pecka et al., 1996). Považuje se za původce tzv. runting syndromu (syndromu zakrslosti) u kachen (Bollinger and Barker, 1996; Bollinger et al., 1996) a enteritidy u krůt (Cooper et al., 1995).



Obr. 1: *Cochlosoma anatis*: adhezivní disk (S), přední bičíky (šipka), undulující membrána (dvojitá šipka) a zpětný bičík (malá šipka) (převzato z článku Lindsay et al., 1999).

Epizootologie

Zdrojem infekce jsou trofozoiti vylučovaní fekáliemi nakažených zvířat. *Cochlosoma* se v okolním prostředí transformuje na pseudocystu, která parazitovi zajišťuje infekčnost v kontaminovaném krmivu a stelivu (Evans et al., 2006; Lindsay et al., 1999). Hostitel se nakazí orálně, inkubační doba po požití pseudocysty odpovídá 48 hodinám (Evans et al., 2006). Během tří týdnů se *C. anatis* rozšíří z duodena do tračníku, slepé střevo osidluje jen ojedinelé. U mladých ptáčat zůstává v celém úseku střev a k lokalizaci v distální části střev dochází v pozdější fázi infekce nebo u starších ptáků. Distribuce *C. anatis* ve střevech závisí i na střevním obsahu jako jsou produkty lipolýzy, žlučové soli a hlen. Lokalizace infekce se může lišit nejen v závislosti na druhu hostitele, ale i na míře akutnosti infekce. Prokázáno však bylo, že počet trofozoitů je nízký v přední části tenkého střeva a distálně se zvyšuje (Bollinger et al., 1996).

Infekce se šíří mechanickým přenosem, který zajišťuje stájový hmyz. Například moucha domácí (*Musca domestica*) je schopna roznášet infekční trofozoity až 20 km od ohniska (Brazil et al., 2007; McElroy et al., 2005).

Cochlosoma anatis napadá vodní ptáky, hlavně kachny, pak krůty a husy domácí (Bollinger and Barker, 1996; Bollinger et al., 1996; Pecka, 1991; Pecka et al., 1996; Travis, 1938) (McNeil and Hinshaw, 1942). Nález *C. anatis* je hlášen i u hrabavých ptáků (Lindsay et al., 1999) a pěvců, především pěnkvav (Filippich and O'Donoghue, 1997; Travis, 1938; Watkins et al., 1989). Výskyt *Cochlosoma* sp. u netopýrů a rejsků indikují, že tento rod není striktně specifický pro ptáky (Pecka et al., 1996; Watkins et al., 1989).

Rozšíření infekce bylo zaznamenáno v severní Americe, Evropě a Íránu (Brazil et al., 2007; Gharagozlou and Dezfoulan, 2009; Travis, 1938).

Patogeneze

Trofozoiti *C. anatis* porušují střevní sliznici adhezí na epitelové buňky pomocí svého přísavného disku (Cooper et al., 1995; Pecka et al., 1996). Nacházejí se mezi klky v jejich bazální části. Nízký výskyt ve slepém střevě může být odrazem nedostatečného počtu klků v této části střeva nebo nevyhovujícím mikroprostředím (Bollinger et al., 1996).

Zvýšenou patogenitu u mladších ptáků způsobuje pravděpodobně širší distribuce *Cochlosoma* ve střevech ve srovnání s distálním rozšířením u dospělých ptáků. Ti jsou většinou odolnější proti infekci a fungují jako přenašeči. U mladých kachen při masivní invazi může dojít až k úmrtí (Campbell, 1945; Watkins et al., 1989).

C. anatis v mnoha případech způsobuje onemocnění sama, ale je zde možnost synergické interakce s bakteriemi (*Salmonella*), viry nebo jinými protozoi (*Hexamita*) (Bollinger and Barker, 1996; Cooper et al., 1995)

Klinické příznaky

Infekce u dospělých zdravých ptáků probíhá převážně subklinicky, i když v některých případech se objevuje abnormální trus. Mladí a vnímaví jedinci vykazují při infekci persistentní průjmy, zpožděný vývoj, pokles hmotnosti těla, nechut', podvýživu a redukováná ocasní pera (Filippich and O'Donoghue, 1997; Travis, 1938). U některých případů je jediným klinickým příznakem inapetence. U těžkých infekcí kachen byla popsána ztráta hmotnosti a opožděný vývoj, což bylo pojmenováno jako tzv. runting syndrom (syndrom zakrslosti). Dále může být infekce provázena chronickými průjmy, zhoršením kondice a zakrslostí. Ke snížení váhy dochází už týden po nakažení (Bollinger and Barker, 1996; Bollinger et al., 1996; Cooper et al., 1995). Ptáci mladší než 12 týdnů vykazují akutní formu infekce doprovázenou otupělostí a načechraným peřím. Jejich výkaly mají specificky žlutou barvu, či jsou vodnaté a

objemné (Watkins et al., 1989). Před smrtí se také objevuje dehydratace. Mezi mláďaty dochází k poměrně vysoké mortalitě (Filippich and O'Donoghue, 1997).

Patologický nález

Při pitvě je nápadná dehydratace těla. Cochlosomální infekce kachňat může významně ovlivnit střevní morfometrii a koncentraci slizničních enzymů. Histologické léze jsou charakterizovány krvácením, fúzí klků a jejich edémem, buněčnou infiltrací lamina propria lymfocyty, plazmatickými buňkami, histiocyty a heterofily, a vyšším počtem mitóz v kryptách epitelu. Je možné vidět i bičíkaté kuželovité prvky přisáté na epitelu nebo volně v lumen (Cooper et al., 1995; Gharagozlou and Dezfoulian, 2009). Hypertrofie klků v přední části tenkého střeva vzniká jako kompenzace atrofie klků a těžké poruchy asimilace živin v distální části střeva. Byla pozorována i změna disacharidázové aktivity v různých částech střev (Bollinger et al., 1996). Patogeneze těchto změn není známa. Mimo střevo byli také bičíkovci nalezeni ve spádových mízních uzlinách slepého střeva (McNeil and Hinshaw, 1942).

Diagnostika

Trofozoity lze detekovat nejdříve po 5 až 6 dnech po infekci (Lindsay et al., 1999). Diagnostika se provádí pomocí mikroskopické identifikace protozoí ve střevním roztěru. McElroy (2005) osekvenoval DNA kodující 16S RNA z *C. anatis* a umožnil tak detekci organismu pomocí molekulárních metod. Navrhl marker specifický pro *C. anatis*, který použil pro polymerázovou řetězovou reakci (PCR) identifikaci protozoí z mouchy domácí *Musca domestica* a ze střev krůt a ze vzorků trusu (McElroy et al., 2005).

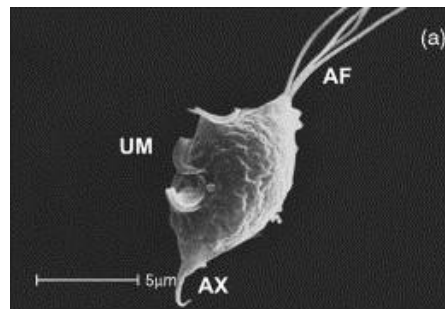
Terapie a prevence

Efektivně a bezpečně lze léčit subklinické infekce u dospělých rezervoárových ptáků metronidazolem nebo ronidazolem (Cooper et al., 1995; Filippich and O'Donoghue, 1997). Účinnost léčby u klinicky postižených mladých ptáků bývá různá. Někteří autoři uvádějí, že podávání metronidazolu u pěnkvav je kontraindikované (Cooper et al., 1995). Podle Filippicha lze podávat u pěnkvav konidazol v dávce 400mg/l pitné vody po dobu 5-ti dnů, s opakováním po 2 dnech (Filippich and O'Donoghue, 1997). Bollinger uvádí odeznění infekce u kachňat po týdnu podávání metranidazolu (Bollinger and Barker, 1996). Podávání léků v pitné vodě je běžná metoda a obecně se s ní léčí velké množství ptáků, jeho účinnost je však proměnlivá, protože příjem léku je ovlivněn objemem tekutiny a frekvencí pití.

Prevence je založena na léčbě všech nakažených jedinců, na pravidelném vyšetření trusu a na provedení opatření uvedených dále. Trofozoité jsou citlivé k většině dezinfekčních prostředků. Kromě farmakoterapie se proto dekontaminuje prostředí, kde se zvířata chovají, v provozech se zavádí přísná hygiena. Při zahájení léčby se musí veškeré krmivo zlikvidovat a nahradit novým. Nádrže na vodu by měly být pravidelně čištěny a udržovány v suchém prostředí (Filippich and O'Donoghue, 1997). Ačkoliv jsou trofozoité náchylné na vyschnutí a nepřežívají ani vystavení vodě a mrazu (Lindsay et al., 1999), poslední studie ukazují, že *C. anatis* vytváří v nepříznivých podmínkách pseudocysty (Evans et al., 2006). Ty ještě nebyly dostatečně testovány na odolnost k vnějším vlivům a tak je doporučováno dodržovat výše uvedená opatření.

3.2. *Trichomonas gallinae*

Trichomonas gallinae (syn. *Trichomonas hepatica*, *Trichomonas columbae*) je trichomonáda vejčitého až hruškovitého tvaru o průměrné velikosti 7-11 μm . Na apikálním pólu buňky jsou bičíky, čtyři volné mající délku 11 až 13 μm a pátý tvoří undulující membránu, není volně zakončen a zasahuje pouze do dvou třetin až tří čtvrtin buňky (obr. 2) (Mehlhorn et al., 2009). Rivolta v roce 1878 poprvé popsal *Trichomonas gallinae* z horní části trávicího traktu holubů jako původce ptačí trichomonózy, onemocnění nazývaného také jako trichomonóza holubů (Stabler, 1947).



Obr. 2.: *Trichomonas gallinae*: přední bičíky (AF), undulující membrána (UM), axostyl (AX) (převzato z článku Tasca and De Carli, 2003).

Epizootologie

Trichomonády nevyžadují mezihostitele nebo vektory a jsou přenášeny přímým kontaktem vnímavých ptáků s infikovanými jedinci; mohou se také šířit prostřednictvím kontaminovaného krmiva a pitné vody. K prvotní infekci holubů dochází při krmení rodiči tzv. holubím mlékem (Stabler, 1947). Dravci se nakazí konzumací infikovaných holubů nebo jiných ptáků (Krone et al., 2005).

Rezervoárem trichomonád jsou volně žijící latentně infikovaní dospělí ptáci, především holubi. Zdroj infekce u doma chovaných zvířat je kontaminace vodních zdrojů a potravy volně poletujícím ptactvem (Stabler, 1947). Jednou z podmínek rychlého šíření infekce je nevhodné prostředí v chovu, do čehož spadá nevhodné krmivo, nedostatek větrání, vlhkost a nedostatek slunce (Stabler, 1941).

Trichomonóza postihuje hlavně měkkozobé ptáky (Columbiformes) a dravce. Nakazit se mohou také jiné volně žijící řady ptáků, infekce byla hlášena u dropů, papoušků, hrabavých ptáků a pěvců (Ecco et al., 2012; Sansano-Maestre et al., 2009). U domácí drůbeže a bažantů je výskyt nemoci sporadický, trichomonády zde působí jako fakultativní patogen (Stabler, 1954).

U savců nejsou známy přirozené infekce; experimentálně byly provedeny nákazy u myší, krys, a morčat (Stabler, 1947).

Sansano, Jose a kol. 2009 ve svém článku shromáždili údaje o výskytu *T. gallinae* ve světě a dospěli k závěru, že trichomonóza je celosvětově rozšířené onemocnění. Široké rozmezí prevalence u řádu Columbidae se v USA pohybuje od 5,6 % po 95 %; ve Španělsku, San Cristobal kolem padesáti procent (Sansano-Maestre et al., 2009). *T. gallinae* se považuje za běžnou infekci voliéroových andulek v Austrálii a endemické nákazy andulčích hejn jsou často považovány za primární zdroje infekce pro ostatní hejna nebo domácí ptáky získané z obchodů. U andulek se objevuje prevalence *T. gallinae* od 0- 11,4 % (McKeon et al., 1997).

Trichomonóza představuje značné nebezpečí pro ohrožené ptačí druhy. Jedná se obzvláště o dravce, kteří jsou kvůli ztrátě přirozeného prostředí nuceni stavět hnízda v blízkosti městských oblastí a nahrazovat svou tradiční kořist městskými holuby (Sansano-Maestre et al., 2009). U jestřába Cooperova (*Accipiter cooperi*) v Arizoně a jestřába lesního (*Accipiter gentilis*) v Evropě byla prevalence *T. gallinae* v městských oblastech vyšší než padesát procent, zatímco mimo města byla pod deset procent. V jižním Portugalsku byl *T. gallinae* diagnostikován u 50 % mláďat orla jestřábího (*Hieraetus fasciatus*). V severovýchodním Španělsku se v tomto druhu dravce vyskytuje v 36 % zkoumaných mláďat. Parazit byl zaznamenán v průběhu celého roku, ale zdá se, že k většině infekcí dochází na jaře, v létě a na podzim (Sansano-Maestre et al., 2009). Další nebezpečí přináší zjištění o možnosti přenosu infekce migrujícími ptáky. *T. gallinae* je prvním prvokem, který se zdá být přenášen tímto způsobem. Tento problém nyní představují migrující pěnkavy z Velké Británie do Evropy přes Finsko a Švédsko, kde vypukla silná epidemie mezi pěnkavami v roce 2005 (Lawson et al., 2011).

Patogeneze

Pozřené trichomonády se usazují v dutině zobáku, jícnu a voleti, po 6 až 15 hodinách adherují na dlaždicový epitel patra a jícnu. Améboidním pohybem a enzymatickým působením narušují buněčné membrány epitelu, trofozoité migrují pod epitelové buňky, které se následně uvolňují do lumen jícnu. Zvýšená invaze trichomonád v místě deskvamace buněk je zřejmě zapříčiněna látkami vylučovanými odumřelým epitelem. Napadená sliznice se může měnit v erupce a vředy, které jsou místem vniku trofozoitů do těla. Při této generalizované formě se roznášejí krví po těle a napadají serózu a orgány tělní dutiny (Kietzmann, Jr., 1993; Narcisi et al., 1991; Perez Mesa et al., 1961).

Mezi trichomonádami se vyskytují kmeny nepatogenní a patogenní kmeny rozdílné virulence a holubi mají různou citlivost k patogennímu organismu. Pro vyvolání letální infekce stačí malá infekční dávka virulentních kmenů. Mnohé trichomonády se ale neudrží na epitelu jícnu a projdou dál do zažívacího traktu, kde je pro trichomonády fatální pH (Kietzmann, Jr., 1993; Stabler, 1947).

U nakažených ptáků může být *Trichomonas gallinae* jediným patogenním agens, nalezen byl však také společně s jinými parazity zažívacího traktu jako *Spironucleus sp.* (syn *Hexamita*), *Coccidia*, *Ascarida platyterci* a *Raillienina sp.* (McKeon et al., 1997; Stabler, 1947).

Předpokládá se, že kombinace vysoké prevalence *T. gallinae* s nízkou mírou patologických změn je výsledkem evolučně přizpůsobeného vztahu parazit – hostitel (Krone et al., 2005).

Klinické příznaky

U vnímavých jedinců se pozoruje matné načechrané peří, nadměrné slinění, vomitus, dyspnoe, celková slabost a anorexie; u poštovních holubů klesá výkonnost a někdy se dostavuje i ztráta orientace. Onemocnění převažuje v hlavových dutinách, ústech, hltanu, jícnu a voleti. Ze zobáku odkapává nažloutlá nebo nazelenalá tekutina (Ecco et al., 2012; Stabler, 1947). Příznaky akutní trichomonózy u různých druhů ptáků připomínají projevy celé škály dalších onemocnění. Obvykle se akutní případy projevují bez znatelných symptomů s kaseifikací a nekrotickými místy v útrobních dutinách nebo jako malá nažloutlá ložiska v horních oblastech trávicího traktu. Trvají několik dní, pak zmizí, už se nikdy neobjeví a pták je celoživotním nosičem patogena. V kontrastu k této mírné infekci jsou vnímaví jedinci, u kterých onemocnění končí smrtí cca za 10 dní. U některých smrtelných infekcí u jestřábů došlo pouze k nadměrnému slinění, doprovázenému velkým zanícením sliznice, bez

kaseózních změn. Při nakažení více virulentním kmenem *T. gallinae* je inkubační doba kratší, onemocnění má rychlý průběh a konečný patologický nález je rozsáhlý. Infekce začne malými nažloutlými oblastmi na sliznici dutiny ústní, často ve tkáni ohraničující nosní rozštěp, nebo na zadní části patrové záklopký, až přeroste do velikosti, která může zcela zablokovat průchod jícnu a zabránit ptákům k uzavření jejich úst (Ecco et al., 2012; McKeon et al., 1997; Stabler, 1947).

Při chronické infekci se mohou jedinci uzdravit, ale trichomonád se nezbaví a slouží jako přenašeči onemocnění (Stabler, 1947).

Patologický nález

Základní patologickou reakcí je hnisavý zánět projevující se kaseózními a nekrotickými lézemi (Perez Mesa et al., 1961). Popsána je stomatitida a faryngitida, na epitelu sliznice dutiny ústní, hltanu, hrtanu a jícnu nalézáme kaseózní nekrózu a eroze, která se může rozšířit do spodiny lebeční a do okolních tkání krku. Léze v jícnu a voleti mohou mít podobu žluté, okrouhlé a vyvýšené plošiny s kónickým hrotem s kaseózním středem. Tyto skvrny v horní části trávicího traktu jsou známé jako "žluté knoflíky". Kaseózní a nažloutlé diphtheritické membrány se mohou táhnout i přes žláznatý žaludek (proventriculus) do žaludku (ventriculus) (Ecco et al., 2012; Stabler, 1947). Těžká infiltrace leukocytů byla zaznamenána v submukóze zejména v hltanu a hrtanu v okolí rozšíření cév (Narcisi et al., 1991; Perez Mesa et al., 1961).

Přes vzniklé vředy v horním trávicím traktu vstupují trichomonády do dalších částí těla, kde se vyvíjejí nekrotické léze, které vedou ke smrti hostitele (Narcisi et al., 1991; Stabler, 1954). Nejčastěji napadeným orgánem postiženým tvorbou lézí bývají játra, která mohou být mírně bledá a zvětšená (hepatomegalie) (Narcisi et al., 1991; Perez Mesa et al., 1961). Na jaterní dysfunkci umírají holubi během 14 až 17 dnů. Léze z jater se mohou rozšířit do dalších útrobních orgánů a postihovat pankreas, tenké střevo, ledviny, oblast pupíku, slezinu a kostní dřeň. Mohou se vyskytnout peritoneální a perikardiální srůsty a kaseifikace hrotu srdeční komory. Kaseózní změny byly nalezeny i na plicích a vzdušných vacích, příčinou mohou být aspirované trichomonády z úst nebo tracheálních lézí. Parazit byl objeven i v krvi holuba. Přesto že *T. gallinae* není intracelulární parazit, byl pozorován v buňkách rozpadajícího se epitelu, jaterních epitelálních buňkách, makrofázích a fibroblastech (Stabler, 1947).

Diagnostika

Diagnóza trichomonózy se stanovuje mikroskopickým nálezem trichomonád ve výtěru z volete navlhčeným tamponem nebo u uhynulých kusů v otiskových preparátech z orgánových lézí (skrze nativní nebo barvené preparáty); trichomonády také mohou být kultivovány *in vitro*. Diagnózu podporuje klinický a pitevní nález. Průzkumná metoda používaná k určení výskytu infekce *Trichomonas gallinae* u holubů je přímé vyšetření krku tampóny (Stabler, 1947). Dnes se trichomonóza diagnostikuje pomocí molekulárně-analytických metod jako je detekce pomocí polymerázové řetězové reakce PCR.

Terapie a prevence

Pro zjemnění příznaků se používá mytí volete a úst, a podávání acriflavinu nebo modré skalice. K likvidaci parazita se používají nidazol, ornidazol, carnidazol, dimetridazol a metronidazol (Stabler, 1947). Existují ale již kmeny trichomonád rezistentní na tyto preparáty, přičemž rezistence je častější na metronidazol, než na ostatní nitroimidazolové produkty (Munoz et al., 1998). Léčebná opatření jsou tedy stále ještě v experimentálním stádiu. Antibiotika jsou indikována při podezření na sekundární bakteriální kontaminace (McKeon et al., 1997; Munoz et al., 1998)

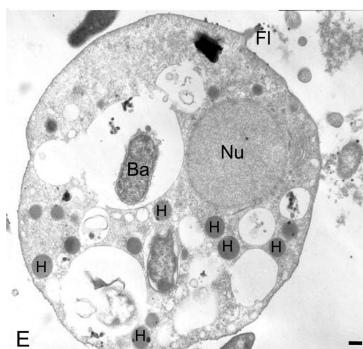
Prevence je založena na zoohygienických opatřeních (pravidelné umývání a dezinfikování krmítek a napáječek), v opakované kontrole zdravotního stavu holubů a zejména v kontrole zdravotního stavu u nově nakupovaných holubů (případně až přistoupení ke karanténě), kontrole a pře léčení rodičovských párů před líhnutím holoubat apod. (McKeon et al., 1997).

Ptáci již dříve infikovaní, kteří následně spontánně ztratí trichomonády, se stanou rezistentními proti dalšímu napadení. Rezistence vůči trichomonóze závisí na tom, zda ptáci přežili infekci jedním nebo více kmeny *T. gallinae* (Kocan, 1969; Kocan and Knisley, 1970).

3.3. *Histomonas meleagridis*

Histomonas meleagridis je etiologický agens histomonózy, onemocnění nazývaného „blackhead disease“, černohlavost (Tyzzer, 1920 v McDougald, 2005), nebo infekční enterohepatitis. Onemocnění bylo poprvé objeveno na Rhode Island v roce 1893 u krůt. Při první izolaci v roce 1895 byl původce popsán jako améba *Amoeba meleagridis*, což později vyvrátil Tyzzer (1920) a pojmenoval patogena *Histomonas meleagridis* (McDougald, 2005)

Histomonas meleagridis se vyskytuje ve dvou morfologicky odlišných formách: jedna se vyskytuje v lumen střev hostitele a druhá v tkáni. *Histomonas* měří 6-20 μm , na rozdíl od ostatních trichomonád nemá axostyl a undulující membránu. V lumen střeva se pohybuje pomocí jediného bičíku dlouhého 6-11 μm . Tkáňová forma je bez bičíku, améboidní a silně pleomorfní; má málo vyvinuté endoplazmatické retikulum, živí se pomocí fagocytózy a obsahuje potravní vakuoly, ve kterých jsou přítomny četné druhy bakterií (obr. 3) *Histomonády* nesou parabazální aparát a základy bičíku. Žádné cysty nebyly pozorovány (Mazet et al., 2008; McDougald, 2005).



Obr. 3: *Histomonas meleagridis*: hydrogenozóm (H), bičík (Fl), jádro (Nu), bakterie (Ba), 500 nm (převzato z článku Mazet et al., 2008).

Epizootologie

Histomonády parazitují ve střevech ptáků a jsou vylučovány trusem; ve vnějším prostředí přežívají jen krátkou dobu. Přenos mezi ptáky může probíhat přes meziphostitele, kterým je střevní helmint *Heterakis gallinarum*. *H. gallinarum* parazituje ve střevech ptáků, kde se nakazí histomonádou, která se po spáření červa uzavře do jeho vajíčka. Vajíčka jsou vylučována trusem, mezi ptactvem se dobře přenáší a infikují další jedince. Z pozřených vajíček se ve střevech ptáků líhnou larvy a spolu s ním se uvolňuje i histomonáda (McDougald, 2005).

Histomonas meleagridis se rozšiřuje mezi chovy za pomoci vektorů, například potěmnikem stájovým (*Alphitobius diaperinus*) (Huber et al., 2007). Mezi ptactvem dochází i

k přímému přenosu histomonád (Hu and McDougald, 2003) a to buď perorálně (Liebhart and Hess, 2009) nebo u krůt fenoménem kloakálního pití (cloacal drinking, viz dále) (Hu et al., 2004). Perorální infekce mezi ptáky se zdá být důležitější cestou přenosu než nákaza kontaminovanou podestýlkou a výkaly (Armstrong and McDougald, 2011).

Hlavním hostitelem histomonád jsou krůty, které jsou vysoce vnímavé; morbidita a úmrtnost u nich dosahuje 50-80% (Hu and McDougald, 2003). Vnímaví jsou zejména mladí ptáci. Kur domácí je k onemocnění odolnější, spíše slouží jako rezervoár infekce pro krůty. Asymptomatickými nosiči histomonád mohou být také kachny. Přestože histomonas parazituje především u hrabavých ptáků, jako jsou křepelky, pávy, tetřevy, orebice a další ptačí řády (McDougald, 2005)

Černohlavost krůt je významným hospodářským problémem rozšířeným na všech kontinentech (McDougald, 2005).

Patogeneze

Mladé krůty se infikují při setkání s infikovanými tekutými výkaly, kdy se histomonády dostanou do těla při tzv. kloakálním pití (Hu et al., 2004). Při něm se do kloaky obrácenou peristaltikou dostávají částice a antigeny z vnějšího prostředí, proti kterým se následně mohou tvořit protilátky (Sorvari and Sorvari, 1977). Histomonády ve střevech interagují s bakteriemi, což zesiluje jejich virulenci. U krůt je zvláště významná přítomnost *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, nebo *Bacillus subtilis*, případně kvasinek (*Candida spp.*) (McDougald, 2005). Histomonády se množí zejména ve slepém střevě, kde po odpadnutí bičíku invadují do střevní sliznice a způsobují vážné záněty. Z tkáně se dostávají do krevního řečiště a přes portální žílu jsou transportovány do jater, kde způsobují nekrotické léze (Liebhart and Hess, 2009; McDougald, 2005). *Histomonas meleagridis* je schopná navodit fatální histomonózu u různě starých krůt obou pohlaví, bez ohledu na nakažlivou dávku (Liebhart et al., 2008).

Klinické příznaky

Klinické příznaky histomonózy jsou variabilní, průběh může být akutní i chronický. Morbidita u krůt může dosahovat až 90%. Inkubační doba se pohybuje mezi 7-12 dny. Mortalita je až 70%, po přirozené infekci vrcholí obvykle kolem 17. dne po infekci, postupně klesá a končí asi za další 2 týdny. Prvními příznaky onemocnění jsou žlutý zapáchající pěnivý průjem, špinavé neupravené peří, shlukování, ospalost, zavřené oči, svěšená křídla, toporná chůze, hlava přitažená k tělu nebo založená pod křídlem, anorexie. Snížený příjem krmiva

snižuje u rostoucích krů'at hmotnostní přírůstky. U starších ptáků se pozoruje spíše chronický průběh, vyhublost a někdy v konečném stadiu onemocnění cyanóza kůže hlavy a kožních přívěsů v důsledku poruch krevního oběhu. Nákaza *H. meleagridis* může vést k redukované produkci vajec (McDougald, 2005).

Patologický nález

Při pitvě pozorujeme mírnou vyhublost a především různý stupeň závažnosti lézí v játrech a slepém střevu. Dále jsou léze hlášeny z ledvin, sleziny, pankreatu, plic a Fabriciovy burzy. Postižený může být i proventriculus (žláznatý žaludek) a okolní tkáň infikované z krve ze střev a mezenterických žil. Předpokládá se, že do burzy Fabriciovy proniknou histomonády kloakálním pitím, aniž by vstoupily do krevního řečiště. Mezi patologické změny patří echymózní krvácení na sliznici, sírově zbarvený trus a bilaterální dilatace střev přeplněných materiálem z nekrotického kaseózního výpotku nebo fibrinonekrotického exsudátu z odloupané sliznice. Seróza střev je zarudlá s hrubými povlaky fibrinu, což vede k adhezi mezi slepým a tenkým střevem. Zánět se může rozšířit do peritonea a způsobit těžké peritonitidy (McDougald, 2005; Senties-Cue et al., 2009)

Patologický nález na játrech je velmi variabilní. Nejčastěji pozorujeme nekrotické změny, často s erozemi s propadlými středy a jasně definovanými okraji. Jaterní léze mohou být četné malé bělavé uzlíky nebo žluté velké a překrývající se skvrny, nebo mohou mít vzhled leukózních nádorů či bakteriálních infekcí (McDougald, 2005; Reis, Jr. et al., 2009; Senties-Cue et al., 2009). Je také pozorována koagulativní nekróza hepatocytů s infiltrací zánětlivých buněk. V těchto ložiskách zánětu jsou vakuoly s histomonádami. Někdy může být přítomna až těžká dilatace žlučových cest s granulomatózním zánětem (Senties-Cue et al., 2009).

Na pankreatu se mohou objevit světlá ložiska. Bílé skvrny se mohou pozorovat po celé slezině. Léze v ledvinách se pohybují od několika světlých teček až po mnoho bledě žlutých uzlíků. Dále bylo pozorováno zvětšení burzy Fabriciovy s fibrinovým exsudátem v lumen (Senties-Cue et al., 2009). Dalšími nálezy byly otoky coelomické dutiny a perikardia (Reis, Jr. et al., 2009).

Při závažných infekcích se zvyšuje množství methemoglobinu, které způsobuje zmodrání kůže (odtud pochází název „blackhead“) (McDougald, 2005).

Diagnostika

Černohlavost u krůt je obvykle snadno diagnostikována patologií a histopatologií po obarvení hematoxylinem a eosinem a PAS barvení („periodic acid Schiff“). Pro odlišení histomonózy od plísňové infekce je doporučeno barvení podle Grocotta. U podezřelých případů může být proveden kultivační test; vzorky ze střev a jatrních lézí se kultivují *in vitro* na Dwyerově médiu (McDougald, 2005). Hlavní metodou pro identifikaci histomonád je polymerázová řetězová reakce (PCR) (Hafez et al., 2005). K rozlišení mezi podtypy *Histomonas meleagridis* byla vyvinuta metoda založená na PCR a sekvenování AT-bohatých ITS-1 sekvencí, tzv. metoda C-profilů (van der Heijden et al., 2006). Pro přesnou detekci *H. meleagridis* a jeho odlišení od jiných mikroorganismů v tkáňových vzorcích je používána metoda *in situ* hybridizace (Liebhart et al., 2006).

Terapie

Do nedávné doby se prováděla velmi efektivní léčba a prevence pomocí krmiv s nitroimidazoly a nitrofurany. Vzhledem k ukládání toxických látek ve svalovině hospodářských zvířat byly však tyto látky zakázány, a to jak v Evropské unii, tak v USA (Hess et al., 2008). Během uplynulých deseti let se proto testují nová léčiva. Pro prevenci histomonózy u krůt lze použít např. Nifurtimox ve směsi s dalšími antiprotozoiky (Hauck et al., 2010). Pro prevenci proti *Heterakis gallinarum* a tím nepřímo proti histomonóze se používají antihelmintika fenbendazol a albendazol (McDougald, 2005).

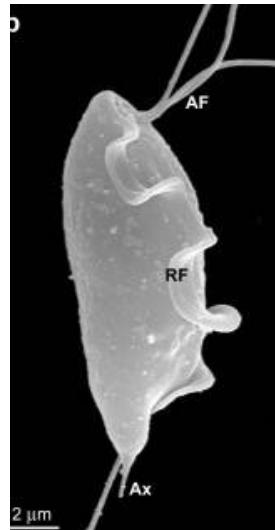
Kromě toho se v současné době přistupuje k alternativní léčbě přírodními produkty. Různé druhy bylinných extraktů se ukázaly být účinnými proti různým prvokům. Výtažky ze skořice, česneku, a citronu měly fatální účinky na histomonády *in vitro* stejně jako další přírodní organické sloučeniny. Bylinný produkt s výtažky z těchto tří rostlin a rozmarýnu lékařského účinkoval proti experimentální nákaze *H. meleagridis*. Rostlinné extrakty s éterickými oleji (RepaXolH) prokázaly pozastavení bakteriálního růstu a inhibici růstu u histomonád *in vitro* (Hauck and Hafez, 2007).

Krůty nevyvíjejí dostatečně silnou imunitní ochranu proti opětovnému nakažení histomonádami. Imunita není vysoce účinná a netrvá dlouho (McDougald, 2005). S tím souvisí problém vývoje vakcíny proti histomonóze, která by zamezila značným ekonomickým ztrátám a utrpení chovatelů. Dosud testované látky zatím nejsou dostatečně účinné. Slibných výsledků bylo dosaženo např. ve studii Liebhart (2010) s vakcínou perorálně podávanou mláďatům (Liebhart et al., 2011).

Preventivně je nezbytné dodržovat oddělený odchov a chov různých druhů i věkových kategorií drůbeže, jednorázové naskladnění a vyskladnění, pravidelné provádění dehelmintizace a sanitace výběhů (McDougald, 2005).

3.4. *Tritrichomonas foetus*

Tritrichomonas foetus je historicky spojen s pohlavní nemocí a reprodukčními ztrátami skotu. Tritrichomonády mají vřetenovitý až hruškovitý tvar buňky, která měří přibližně 10-25 μm x 3-12 μm (Riedmüller, 1928 v Tachezy et al., 2002). Mají tři přední bičíky dlouhé 11-17 μm a jeden zpětný, který vytváří charakteristickou undulující membránu (obr. 4). Je dlouhý asi 16 μm a je podepřen kostou (Lun et al., 2005). Dalším charakteristickým rysem *T. foetus* je axostyl, který probíhá parazitem a vyčnívá na zadním konci. Pelta se nachází v přední části buňky (Tachezy et al., 2002).



Obr. 4: *Tritrichomonas foetus*: přední bičíky (AF), volně zakončený zpětný bičík (RF), axostyl (Ax), 2 μm (převzato z článku Midlej et al., 2011).

Dominantní životní formou tritrichomonád je trofozoit. Nicméně za nepříznivých podmínek jako je stres, nepřítomnost živin, kontakt s léčivými nebo náhlé změny teploty, může dojít k vytvoření pseudocysty (Pereira-Neves et al., 2003). Pseudocysty jsou zřejmě ve vnějším prostředí odolnější než trofozoité. Složení jejich stěn neodpovídá složení stěn pravých cyst a během tohoto stádia se mohou i dělit. Z pseudocysty se tritrichomonáda externalizuje pomocí bičíku. (Pereira-Neves et al., 2003).

T. foetus byl zjištěn u různých druhů zvířat a výjimečně i u člověka. Cílový orgán a patogenita parazita se mění v závislosti na druhu hostitele (Stockdale et al., 2008). U skotu *T. foetus* infikuje urogenitální trakt a způsobuje onemocnění zvané tritrichomonóza skotu.

U koček je *T. foetus* příčinou tritrichomonózy koček, střevního onemocnění spojeného s chronickým průjmem (Levy et al., 2003). U malých přežvýkavců jako jsou ovce a kozy, se vyskytuje spíše jako komenzál. U prasat se vyskytuje v nosní dutině, v žaludku, tenkém střevě a slepém střevě a patogenita je zde nejistá (Tachezy et al., 2002). Tritrichomonády byly pozorovány také ve výkalech psů s průjmem (Gookin et al., 2005).

3.4.1. Tritrichomonóza skotu

Bovinní tritrichomonóza je sexuálně přenosné onemocnění vedoucí k neplodnosti a potratům u skotu, což má za následek hospodářské ztráty.

Epizootologie

Zdrojem nákazy jsou infikovaní býci, kteří mohou přenášet onemocnění po celý život. Přenos z býků na jalovice a krávy probíhá během přirozeného páření. *T. foetus* může perzistovat v endemickém stádu bez identifikace, což má za následek značný ekonomický dopad na dobytčí farmy, a to především ztráty novorozených telat, snížení hmotnosti a následné odstraňování a nahrazení nakaženého dobytka (Rodning et al., 2008). Infekce způsobuje interrupce u krav. Krávy se zbaví infekce během několika měsíců, zatímco býci jsou primárními nosiči stále, a mohou znovu infikovat již vyléčenou krávu. Nakažení býci jsou téměř vždy bez příznaků onemocnění. Krávy se mohou stát asymptomatickým nosičem jen zřídka (Lopez et al., 2000).

Umělá inseminace rozšířená v posledních desetiletích vedla k eradikaci hovězí tritrichomonosy ve střední a západní Evropě. V ostatních částech světa, jako je jižní Evropa, Jižní Amerika a část Severní Ameriky, Afrika a Austrálie, kde jsou rozsáhlá stáda množena přirozeným pohlavním stykem, je infekce *T. foetus* stále rozšířená (Rae et al., 2004; Rodning et al., 2008; Szonyi et al., 2012). Dovoz zvířat z těchto oblastí představuje potenciální riziko vzniku epidemie i v regionech, kde již byla tritrichomonóza u skotu eradikována.

Patogeneze

Paraziti po infekci adherují k poševní sliznici, kde způsobují záněty. Odtud se přesouvají do dělohy a vejcovodu (Corbeil et al., 1989). Endometrióza a katar může vyústit v přechodnou nebo trvalou neplodnost. Infekce probíhá pomalu, aniž by interferovala s oplodněním nebo časným vývojem plodu. Později se infekce může dostat až do vyvíjejícího se zárodka, tritrichomonády invadují do placenty a choria plodu (Rhyan et al., 1988), což vede k potratům a sterilitě. Mechanismy patogeneze nejsou zcela známy. Předpokládá se ale, že hlavní roli hraje především schopnost adherence buněk parazita k epitelu. *T. foetus* je schopen

přichycení k vaginálním epitelovým buňkám prostřednictvím filopodií (Felleisen, 1999). Proteinázami, hydrolázami nebo rozpustnými cytotoxiny porušuje vaginální epitel, indukuje apoptózu hostitelských buněk a zapříčiňuje tak odloupávání sliznice (Singh et al., 2004).

Tritrichomonády jsou závislé na získávání základních živin z bakteriální flóry a hostitelského sekretu. Změna mikroflóry pochvy významně přispívá k patogenitě tritrichomonád. Infekce *T. foetus* u býků je obvykle asymptomatická, a je omezena na epitelální povrch penisu, předkožky a močové trubice (Singh et al., 2004).

Klinické příznaky

Symptomy u krav se liší od mírných zánětů pochvy nebo endometritidy k akutnímu zánětu reprodukčního traktu. U pregnantních může hovězí tritrichomonóza vést k embryonálnímu úmrtí v prvním trimestru, interrupci, a sporadickým pyometrázám vedoucích v některých případech k infertilitě (Felleisen, 1999; Rae et al., 2004; Rodning et al., 2008; Szonyi et al., 2012). Po experimentální infekci pochvy 7×10^6 buněk *T. foetus* přetrvává genitální infekce u negravidních samic 13-28 týdnů skotu. U samic skotu infikovaných nižší dávkou (1×10^6 buněk) může být doba infekce kratší (6-10 týdnů) (Cobo et al., 2009).

Patologický nález

U krav je zejména napadena děloha, objevují se i záněty děložního hrdla s přechodnými infekcemi děložního čípku a pochvy. U býků je infikována předkožka, zasažena může být až močová trubice a hlubší části urogenitálního traktu zvířete (Lopez et al., 2000). Mezi nakaženými telaty je častý výskyt endometritidy, který je také doprovázen uterinním, cervikálním, a vaginálním katarem. Endometritis a děložní katar zabraňuje oplodnění a ovlivňuje pochod estrálního cyklu. Většina infikovaných telat zůstává trvale sterilní (Lopez et al., 2000).

U napadeného plodu byly popsány subpleurální emfyzematózní puchýře na slezině, játrech a parietálním peritoneu. Léze placenty mohou v různém rozsahu zahrnovat stromální edém, zánětlivé buňky (převážně mononukleáry) pronikající do choriového stromatu a mírné až středně závažné ložiskové nekrózy na epitelu chorionu. U plodu se vyskytují i záněty v dýchacích cestách, jako je bronchopneumonie. V patologickém nálezu se mohou vyskytovat volné a fagocytované mekonium a amniové zbytky v bronchiolech. U případů s pneumonií se tritrichomonády identifikují v dýchacích cestách a v makrofázích. Intersticiální pneumonie je charakterizována ztluštěním a hypercelularitou s interalveolárními septy se infiltrovanými zánětlivými buňkami. Rovněž napadeny mohou být části jícnu, slezu a střev, kde se nacházejí shluky tritrichomonád v kryptách slezu a střev (Rhyan et al., 1988).

Diagnostika

Diagnóza infekce je založena na mikroskopické identifikaci parazita po kultivaci na Diamondově médiu nebo komerčně dostupných médiích. Před nástupem molekulárních technik byla za zlatý standard považována diagnostická kultura *T. foetus* izolovaných z předkožky býků a cervikovaginálních sekretů krav (Lun et al., 2000; McMillen and Lew, 2006). Dnes se v laboratořích běžně používají techniky molekulární biologie, zejména PCR amplifikace ITS-1 (internal transcribed spacer-1) (Felleisen, 1997). PCR se používá k potvrzení identifikace kultivovaných organismů a vyloučení možné kontaminace ostatních druhů tritrichomonád.

Terapie a prevence

Podobně jako u *H. meleagridis* neexistují žádné účinné léčebné látky, které by byly povoleny pro terapii u užitkového skotu. Do nedávné doby se spoléhalo na zásady prevence, jako je použití umělé inseminace, utrácení nakažených zvířat, opakovaná kontrola býčích spermat a výměna starších býků za mladší. V dnešní době se nejvíce úsilí zaměřuje na vývoj imunoprofylaxe. Primárním cílem je blokovat adhezenci *T. foetus* na poševní epitel specifickými protilátkami a tím zabránit počáteční kolonizaci pochvy. Indukce protektivních protilátek IgG1 a IgA ve vaginálních a děložních sekretech se prokázala např. po očkování negravidních krav a jalovic antigeny *T. foetus* nebo celými buňkami (Cobo et al., 2009; Corbeil et al., 1989; Ikeda et al., 1993)

3.4.2. Tritrichomonóza koček

T. foetus byl definitivně potvrzen jako původce průjmového onemocnění u koček v roce 2003 (Levy et al., 2003). Kočičí izolát *T. foetus* může nakazit skot a naopak hovězí izolát *T. foetus* může nakazit kočky. Fenotypově se kočičí a hovězí izoláty *T. foetus* liší v patologii a perzistenci infekce, což bylo interpretováno jako normální vnitrodruhové variace (Stockdale et al., 2008). V roce 2010 bylo na základě genetických vztahů potvrzeno, že oba genotypy spadají do jediného druhu *T. foetus*. Šlapeta a kol. uvádí hypotézu, že *T. foetus* prochází diverzifikací, která může vést k zpřísnění hostitelské specifity (Šlapeta et al., 2010).

Epizootologie

Přenos mezi kočkami zajišťuje orálně fekální přenos. Trofozoité jsou uvolňovány ve stolici, přežívají až 24 hodin při pokojové teplotě (Gookin et al., 1999; Gookin et al., 2001) a za vhodných podmínek vydrží až sedm dnů (Hale et al., 2009). *T. foetus* může přežít průchod trávicím traktem hlemýžďe nebo slimáka. Životaschopný *T. foetus* přežíval v mokřém

krmivu po dobu pěti dnů (Van der Saag et al., 2011). Přímý přenos ze skotu na kočky není považován za pravděpodobný zdroj kočičí infekce (Stockdale et al., 2008). B5: Infekce pravděpodobně nejvíce postihuje kořata mladší dvanácti měsíců (Gookin et al., 1999), ačkoli novější studie vliv věku na vnímavost k infekci nepotvrdila (Xenoulis et al., 2010). Parazit se rozšiřuje ve velkých chovech, většinou se jedná o chovné stanice s čistokrevnými kočkami (Gookin et al., 1999; Gookin et al., 2004). Nákaza byla hlášena i u imunodeficientních koček (Miro et al., 2011).

Tritrichomonóza koček je hlášena z různých zemí světa: ze Severní Ameriky, Evropy, Austrálie (Bell et al., 2010; Bissett et al., 2008), Nového Zélandu, Koreje (Lim et al., 2012) a Japonska (Doi et al., 2012).

Patogeneze

T. foetus kolonizuje ileum, slepé střevo, tlusté střevo a konečník (Gookin et al., 2001; Stockdale et al., 2008). Není jasné, zda *T. foetus* způsobuje onemocnění sám, nebo jen v případě koinfekce střev jinými patogeny (Bissett et al., 2008; Gookin et al., 1999; Gookin et al., 2001). Často je nalézán například spolu s *Pentatrichomonas hominis* (Levy et al., 2003). Důležitou roli v patogenezi hraje adherence *T. foetus* ke střevní sliznici, kterou dále může invadovat do hlubších vrstev. Dalším možným patogenním mechanismem může být interakce *T. foetus* s bakteriální mikroflórou. Bylo zjištěno, že mikroflóra tlustého střeva může mít vliv na střevní trichomonády, což ovlivňuje průběh choroby. Ke zvýšené citlivosti koček na tritrichomonózu přispívá stav imunitního systému. Jedná se buď o nezralý imunitní systém mladých koček, koinfekce s jinými parazity, nebo další predispoziční faktory snižující aktivitu imunitního systému jako oční, respirační a kožní choroby (Gookin et al., 2004; Stockdale et al., 2009). Není vyloučeno, že některá plemena jsou k infekci *T. foetus* více náchylná (Bell et al., 2010).

Klinické příznaky

Hlavním klinickým příznakem tritrichomonózy u koček je průjem, který může být mírný až akutní nebo chronický. Výjimečně může infekce probíhat i asymptomaticky (Bell et al., 2010; Hale et al., 2009; Stockdale et al., 2008). Na zvířatech je dále pozorováno nadýmání a tenezmus. Průjmy jsou řídké až vodnaté, doprovázeny čerstvou krví, hlenem, odloupanou sliznicí a charakteristickým zápachem (Burgener et al., 2009). Těžké případy mohou vykazovat výrazný zánět anální oblasti, otok, zarudnutí a bolestivost, fekální inkontinenci nebo výhřez konečníku (Bell et al., 2010; Burgener et al., 2009). U nakažených koček mohou průjmy perzistovat až 2 roky; infekce může také přetrvávat celý život pouze s občasnými

průjmy (Lim et al., 2012). Nakažené kočky nevykazují jiné příznaky onemocnění, jen zřídka je pozorováno zvracení a ztráta hmotnosti (Bell et al., 2010; Burgener et al., 2009; Gookin et al., 2001). U některých koček došlo k spontánnímu vymizení průjmu do dvou let od počátku vzniku klinických příznaků, další důkazy o spontánní eliminaci *T. foetus* nebyly prokázány.

Patologický nález

Na histologickém vyšetření byly popsány lymfoplazmatické a neutrofilní kolitidy. Krypty střevního epitelu mohou vykazovat hypertrofii, mikroabscesy, hyperplázii a ztrátu pohárkových buněk. Mohou se objevit multifokální slizniční ulcerace a transmurální zánět a tím způsobená malabsorpce (Yaeger and Gookin, 2005). U jediné hlášené infekce *T. foetus* genitálního traktu koček byla popsána endometritida a pyometra.

Diagnostika

Tritrichomonády u koček mohou být diagnostikovány přímo světelnou mikroskopií z nátěru čerstvého trusu, nebo stěru z rektálního výtěru či hleny. Exkrementy skladované při pokojové teplotě jsou vhodným materiálem pro diagnostiku ještě po šesti hodinách (Hale et al., 2009). Diagnostika fekální kultury tritrichomonády se provádí pomocí speciálních kultivačních médií, například InPouch TF. Specifičtější a citlivější diagnostiku však představuje analýza vzorku trusu PCR (Gookin et al., 2002), která se provádí stejným způsobem jako v diagnostice *T. foetus* u skotu (Felleisen, 1997).

Terapie a prevence

Tritrichomonóza koček se léčí ronidazolem. Léčebná dávka se pohybuje v rozmezí 30-50 mg/kg denně po dobu 14-ti dnů (Gunn-Moore and Lalor, 2011; Lim et al., 2012). Ronidazol nicméně má závažné vedlejší účinky, a proto se v současné době usiluje o výrobu šetrnějších léčiv. V poslední době se ukázalo, že ronidazol působí na diarhoeu s nižší účinností než dříve a u léčených koček se neprokázalo žádné zlepšení klinických příznaků. Naznačuje to tedy možnost vzniku rezistence vůči 5-nitroimidazolů u tritrichomonád.

3.4.3. *Tritrichomonas foetus* u prasat

T. foetus se vyskytuje u prasat v nosní dutině, žaludku, tenkém, tlustém a slepém střevě. Trichomonády byly poprvé identifikovány v prasečím žaludku v roce 1843 a následně byly nazvány jako *Trichomonas suis* (Tachezy et al., 2002).

Nejprve byly trichomonády u prasat spojené s příčinou atrofické rýmy (Lun et al., 2005). Další studie však nepotvrdily kauzální souvislost trichomonády s tímto prasečím onemocněním a později byla identifikována jiná etiologie atrofické rýmy. Prasečí trichomonády jsou nyní považovány za neškodné symbionty. Na základě podobnosti morfologických, fyziologických znaků a antigenních vlastností *T. foetus* a *T. suis* bylo navrženo, že se jedná o jediný taxon (Cobo et al., 2001; Fitzgerald et al., 1958; Sanborn, 1955). Definitivní důkaz potom přinesly molekulární studie (Lun et al., 2005; Tachezy et al., 2002)

Z tohoto zjištění vyplývá důležitý epizootický problém. Hovězí trichomonóza je v dnešní době považována za zdolanou nákazu v mnoha evropských zemích, kde je používána umělá inseminace. Nicméně původce onemocnění je stále přítomen ve střevech prasat, kde tedy zůstal skryt pod názvem *T. suis*. Přirozená infekce prasat je přitom poměrně častá. Existence tohoto přírodního zdroje onemocnění poukazuje na nebezpečí reintrodukce tritrichomonózy u skotu, pokud jsou prasata a skot chována společně (Tachezy et al., 2002).

3.5. *Tritrichomonas mobilensis*

Tritrichomonas mobilensis byl popsán v roce 1986 ve střevech kotula amazonského (*Saimiri boliviensis boliviensis*) (Culberson et al., 1986). *T. mobilensis* má pleomorfní vřetenovitý tvar buňky velikosti 7-10,5 μm x 1,5-3 μm , tři bičíky na přední části a zpětný bičík tvořící undulující membránu (obr. 5) (Culberson et al., 1986). Morfologicky jsou mezi *T. mobilensis* a *T. foetus* patrné rozdíly v hydrogenosomech. Stejně jako *T. foetus* internalizuje *T. mobilensis* bičíky do pseudocysty (Midlej et al., 2011).



Obr. 5: *Tritrichomonas mobilensis*: přední bičíky (AF), volně zakončený zpětný bičík (RF), axostyl (Ax), 2 μm (převzato z článku Midlej et al., 2011).

Patogenita tohoto invazního prvka v gastrointestinálním traktu kotulů není ještě zcela známa. Přírozený výskyt byl popsán u kotula amazonského (*Saimiri boliviensis boliviensis*) a kotula veverkovitého (*Saimiri sciureus*) (Scimeca et al., 1989). Prokazatelné zánětlivé reakce v přirozeném hostiteli nebyly pozorovány. K přenosu infekce dochází zřejmě perorálně ve věku 1-2 měsíců. Zdrojem jsou fekáliemi vylučovaní trofozoité, kteří jsou přenášeni matkou na mláďata nebo se mláďata nakazí z trusem kontaminovaného prostředí (Brady et al., 1988). Dospělí kotulové jsou zřejmě celoživotní bezpříznakoví přenašeči (Scimeca et al., 1989)

T. mobilensis je lokalizován v tlustém střevě a v konečníku (Scimeca et al., 1989). Má tendenci adherovat na epitel střev pomocí výběžků připomínající pseudopodia na posteriorním konci (Demes et al., 1989). Prvok má cytopatogenní účinky na okolní tkáň (Midlej et al., 2011). U experimentálně infikovaných myší byla pozorována penetrace tritrichomonád hluboko do tkáně se smrtelnými následky (Culberson et al., 1988). *T. mobilensis* produkuje na svém povrchu lektin podobný hemaglutininu, který se váže na sialoglykoproteiny intestinální mukózy. Lokální rozdílná dostupnost tohoto proteinu ve střevech může způsobovat odpovídající rozdíly v hojnosti tritrichomonád (Scimeca et al.,

1989). Je pravděpodobné, že tato látka hraje podstatnou roli v patogenezi tritrichomonád (Pindak et al., 1988).

Klinické příznaky jsou nejisté. Pozorována byla nestandardní konzistence a velikost stolice (Brady et al., 1988).

Tritrichomonády nalézáme ve slepém a tlustého střevě (tračníku). Vstupují přímo do krypt střevní sliznice a byly pozorovány v intraepiteliálních vakuolách. Prvoci mohou migrovat i pod krypty na bazální membránu, byla potvrzena jejich přítomnost na lamina propria a pod sliznicí. Mohou být přítomny slizniční vředy a nekrózy a v případě chronické ulcerace byla pozorována reepitelizace sliznice. Zvýšená invaze tritrichomonád v místě slizniční ulcerace podporuje hypotézu, že trichomonády jsou patogeny (Scimeca et al., 1989). Na patologickém nálezu u experimentálně infikovaných myší byly tritrichomonády kultivovány z jater, plic a sleziny (Culberson et al., 1988).

Tyto organismy se diagnostikují přímým mikroskopickým vyšetřením čerstvých vzorků stolice a kultur. Vzhledem k tomu, že *T. mobilensis* může být pleomorfní, využívá se k identifikaci PCR (Felleisen, 1997).

Pro léčbu se používá metronidazol 25 mg/kg perorálně dvakrát denně po dobu 5 dnů (Brady et al., 1988). Sialová kyselina byla popsána jako možná prevence inhibice adheze tritrichomonád na sliznici střev (Demes et al., 1989).

4. Závěr

I přesto že jsou onemocnění histomonóza krůt a tritrichomonóza skotu poměrně dlouho známa jako původci těžkých ztrát v hospodářském průmyslu a chovech, k jejich úplné eradikaci dosud nedošlo. Soustavná vědecká činnost v objasnění patogenity trichomonád je nezbytným krokem pro vývoj účinných léků a eradikačních postupů. Způsob léčby užitkových zvířat není zcela vyřešen, neboť podávaná léčiva musí být šetrná a bez reziduí. Další problém představuje neustálý zdroj nákazy, jako je např. dlouho opomíjený rezervoár *Tritrichomonas foetus* u prasat pro tritrichomonózu skotu. Obdobnou problematikou pro hospodářskou ekonomiku je runting syndrom u kachen a enteritida u krůt, kde rezervoárem *Cochlosoma anatis* jsou vodní ptáci. Podobně pěnkvavky a migrující ptáci rozšiřují *Trichomonas gallinae* do Evropy.

Tritrichomonóza koček představuje nové onemocnění, které zahrnuje ještě mnoho otázek zejména v oblasti etiologie, epizootologie a patogeneze. Objasnění tohoto onemocnění povede k připravenosti veterinárních lékařů a preventivním opatřením u chovatelů. Trichomonády jsou studovány nejen z lékařského hlediska, ale i pro svou neobvyklou morfologii a evoluční původ. K mnoha otázkám evoluce trichomonád přispělo zjištění o schopnosti *T. foetus* se modifikovat na různé typy hostitelů a jejich části.

5. Seznam zkratek

ATP	adenosin nukleotid trifosfát
IgA	imunoglobulin třídy A
IgG1	imunoglobulin třídy G1
ITS	internal transcribed spacer
PAS	periodic acid Schiff
PCR	polymerázová řetězová reakce
WHO	World Health Organization, Světová zdravotnická organizace

6. Seznam použité literatury

- Adl, S.M., Simpson, A.G., Farmer, M.A., Andersen, R.A., Anderson, O.R., Barta, J.R., Bowser, S.S., Brugerolle, G., Fensome, R.A., Fredericq, S., James, T.Y., Karpov, S., Kugrens, P., Krug, J., Lane, C.E., Lewis, L.A., Lodge, J., Lynn, D.H., Mann, D.G., McCourt, R.M., Mendoza, L., Moestrup, O., Mozley-Standridge, S.E., Nerad, T.A., Shearer, C.A., Smirnov, A.V., Spiegel, F.W., Taylor, M.F., 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* 52, 399-451.
- Armstrong, P.L., McDougald, L.R., 2011. The infection of turkey poults with *Histomonas meleagridis* by contact with infected birds or contaminated cages. *Avian Dis.* 55, 48-50.
- Bell, E.T., Gowan, R.A., Lingard, A.E., McCoy, R.J., Slapeta, J., Malik, R., 2010. Naturally occurring *Tritrichomonas foetus* infections in Australian cats: 38 cases. *J. Feline. Med. Surg.* 12, 889-898.
- Benchimol, M., 2004. Trichomonads under Microscopy. *Microsc. Microanal.* 10, 528-550.
- Benchimol, M., 2009. Hydrogenosomes under microscopy. *Tissue Cell* 41, 151-168.
- Bissett, S.A., Gowan, R.A., O'Brien, C.R., Stone, M.R., Gookin, J.L., 2008. Feline diarrhoea associated with *Tritrichomonas cf. foetus* and *Giardia* co-infection in an Australian cattery. *Aust. Vet. J.* 86, 440-443.
- Bollinger, T.K., Barker, I.K., 1996. Runting of ducklings associated with *Cochlosoma anatis* infection. *Avian Dis.* 40, 181-185.
- Bollinger, T.K., Barker, I.K., Fernando, M.A., 1996. Effects of the intestinal flagellate, *Cochlosoma anatis*, on intestinal mucosal morphology and disaccharidase activity in Muscovy ducklings. *Int. J. Parasitol.* 26, 533-542.
- Brady, A.G., Pindak, F.F., Abee, C.R., Gardner, W.A., Jr., 1988. Enteric Trichomonads of Squirrel Monkeys (*Saimiri* sp): Natural Infestation and Treatment. *American Journal of Primatology* 14, 65-71.
- Brazil, S.H., Steelman, C.D., Szalanski, A.L., 2007. Detection of Pathogen DNA from Filth Fiels (Diptera: Muscidae) Using Filter Paper Spot Cards. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 24, 13-18.
- Burgener, I., Frey, C., Kook, P., Gottstein, B., 2009. [*Tritrichomonas fetus*: a new intestinal parasite in Swiss cats]. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 151, 383-389.
- Campbell, J.G., 1945. An infectious enteritis of young turkeys associated with *Cochlosoma* sp. *Br. Vet. J.* 101, 255-259.
- Cobo, E.R., Cano, D., Campero, C.M., 2001. Experimental infection with *Tritrichomonas suis* in heifers. *Vet. Parasitol.* 99, 73-78.
- Cobo, E.R., Corbeil, L.B., Gershwin, L.J., BonDurant, R.H., 2009. Preputial cellular and antibody responses of bulls vaccinated and/or challenged with *Tritrichomonas foetus*. *Vaccine* 28, 361-370.
- Cooper, G.L., Shivaprasad, H.L., Bickford, A.A., Nordhausen, R., Munn, R.J., Jeffrey, J.S., 1995. Enteritis in turkeys associated with an unusual flagellated protozoan (*Cochlosoma anatis*). *Avian Dis.* 39, 183-190.
- Corbeil, L.B., Hodgson, J.L., Jones, D.W., Corbeil, R.R., Widders, P.R., Stephens, L.R., 1989. Adherence of *Tritrichomonas foetus* to bovine vaginal epithelial cells. *Infect. Immun.* 57, 2158-2165.
- Culberson, D.E., Pindak, F.F., Gardner, W.A., Honigberg, B.M., 1986. *Tritrichomonas mobilensis* n. sp. (Zoomastigophorea: Trichomonadida) from the Bolivian squirrel monkey *Saimiri boliviensis boliviensis*. *J. Protozool.* 33, 301-304.

- Culberson, D.E., Scimeca, J.M., Gardner, W.A., Jr., Abee, C.R., 1988. Pathogenicity of *Tritrichomonas mobilensis*: subcutaneous inoculation in mice. *J. Parasitol.* 74, 774-780.
- Demes, P., Pindak, F.F., Wells, D.J., Gardner, W.A., Jr., 1989. Adherence and surface properties of *Tritrichomonas mobilensis*, an intestinal parasite of the squirrel monkey. *Parasitol. Res.* 75, 589-594.
- Doi, J., Hirota, J., Morita, A., Fukushima, K., Kamijyo, H., Ohta, H., Yamasaki, M., Takahashi, T., Katakura, K., Oku, Y., 2012. Intestinal *Tritrichomonas suis* (=T. foetus) infection in Japanese cats. *J. Vet. Med. Sci.* 74, 413-417.
- Ecco, R., Preis, I.S., Vilela, D.A., Luppi, M.M., Malta, M.C., Beckstead, R.B., Stimmelmayer, R., Gerhold, R.W., 2012. Molecular confirmation of *Trichomonas gallinae* and other parabasalids from Brazil using the 5.8S and ITS-1 rRNA regions. *Vet. Parasitol.*
- Čepička, I., Hampl, V., Kulda, J., 2010. Critical taxonomic revision of Parabasalids with description of one new genus and three new species. *Protist.* 161, 400-433.
- Čerkasov, J., Čerkasovova, A., Kulda, J., Vilhelmova, D., 1978. Respiration of hydrogenosomes of *Tritrichomonas foetus*. I. ADP-dependent oxidation of malate and pyruvate. *J. Biol. Chem.* 253, 1207-1214.
- Evans, N.P., Evans, R.D., Fitz-Coy, S., Pierson, F.W., Robertson, J.L., Lindsay, D.S., 2006. Identification of new morphological and life-cycle stages of *Cochlosoma anatis* and experimental transmission using pseudocyst. *Avian Dis.* 50, 22-27.
- Felleisen, R.S., 1997. Comparative sequence analysis of 5.8S rRNA genes and internal transcribed spacer (ITS) regions of trichomonadid protozoa. *Parasitology* 115 (Pt 2), 111-119.
- Felleisen, R.S., 1999. Host-parasite interaction in bovine infection with *Tritrichomonas foetus*. *Microbes. Infect.* 1, 807-816.
- Filippich, L.J., O'Donoghue, P.J., 1997. *Cochlosoma* infections in finches. *Aust. Vet. J.* 75, 561-563.
- Fitzgerald, P.R., Johnson, A.E., Hammond, D.M., Thorne, J.L., Hibler, C.P., 1958. Experimental infection of young pigs following intranasal inoculation with nasal, gastric, or cecal trichomonads from swine or with *Trichomonas foetus*. *J. Parasitol.* 44, 597-602.
- Gharagozlou, M.J., Dezfoulan, O., 2009. *Cochlosoma* infection in a turkey in Iran. *Korean J. Parasitol.* 47, 393-395.
- Gookin, J.L., Birkenheuer, A.J., Breitschwerdt, E.B., Levy, M.G., 2002. Single-tube nested PCR for detection of *trichomonas foetus* in feline feces. *J. Clin. Microbiol.* 40, 4126-4130.
- Gookin, J.L., Birkenheuer, A.J., St, J., V, Spector, M., Levy, M.G., 2005. Molecular characterization of trichomonads from feces of dogs with diarrhea. *J. Parasitol.* 91, 939-943.
- Gookin, J.L., Breitschwerdt, E.B., Levy, M.G., Gager, R.B., Benrud, J.G., 1999. Diarrhea associated with trichomonosis in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 215, 1450-1454.
- Gookin, J.L., Levy, M.G., Law, J.M., Papich, M.G., Poore, M.F., Breitschwerdt, E.B., 2001. Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1690-1697.
- Gookin, J.L., Stauffer, S.H., Levy, M.G., 2007. Identification of *Pentatrichomonas hominis* in feline fecal samples by polymerase chain reaction assay. *Vet. Parasitol.* 145, 11-15.
- Gookin, J.L., Stebbins, M.E., Hunt, E., Burlone, K., Fulton, M., Hochel, R., Talaat, M., Poore, M., Levy, M.G., 2004. Prevalence of and risk factors for feline *Tritrichomonas foetus* and giardia infection. *J. Clin. Microbiol.* 42, 2707-2710.

- Gunn-Moore, D., Lalor, S., 2011. Treatment of diarrhoea in cats caused by *Tritrichomonas foetus*. *Vet. Rec.* 168, 56-57.
- Hafez, H.M., Hauck, R., Luschow, D., McDougald, L., 2005. Comparison of the specificity and sensitivity of PCR, nested PCR, and real-time PCR for the diagnosis of histomoniasis. *Avian Dis.* 49, 366-370.
- Hale, S., Norris, J.M., Slapeta, J., 2009. Prolonged resilience of *Tritrichomonas foetus* in cat faeces at ambient temperature. *Vet. Parasitol.* 166, 60-65.
- Hauck, R., Fuller, A.L., Greif, G., McDougald, L.R., 2010. Evaluation of nifurtimox for potential use in control of histomoniasis in turkeys. *Avian Dis.* 54, 28-32.
- Hauck, R., Hafez, H.M., 2007. Effect of coated plant extracts on *Histomonas meleagridis* and growth of bacteria in vitro. *Avian Dis.* 51, 880-883.
- Hersh, S.M., 1985. Pulmonary trichomoniasis and *Trichomonas tenax*. *J. Med. Microbiol.* 20, 1-10.
- Hess, M., Liebhart, D., Grabensteiner, E., Singh, A., 2008. Cloned *Histomonas meleagridis* passaged in vitro resulted in reduced pathogenicity and is capable of protecting turkeys from histomoniasis. *Vaccine* 26, 4187-4193.
- Hu, J., Fuller, L., McDougald, L.R., 2004. Infection of turkeys with *Histomonas meleagridis* by the cloacal drop method. *Avian Dis.* 48, 746-750.
- Hu, J., McDougald, L.R., 2003. Direct lateral transmission of *Histomonas meleagridis* in turkeys. *Avian Dis.* 47, 489-492.
- Huber, K., Gouilloud, L., Zenner, L., 2007. A preliminary study of natural and experimental infection of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Histomonas meleagridis* (Protozoa: Sarcocystidae). *Avian Pathol.* 36, 279-282.
- Ikeda, J.S., BonDurant, R.H., Campero, C.M., Corbeil, L.B., 1993. Conservation of a protective surface antigen of *Tritrichomonas foetus*. *J. Clin. Microbiol.* 31, 3289-3295.
- Kietzmann, G.E., Jr., 1993. Relationships of *Trichomonas gallinae* to the palatal-esophageal junction of ring doves (*Streptopelia risoria*) as revealed by scanning electron microscopy. *J. Parasitol.* 79, 408-415.
- Kirby, H., 1947. Flagellate and host relationships of trichomonad flagellates. *J. Parasitol.* 33, 214-228.
- Kocan, R.M., 1969. Different organ preferences by the same strain of *Trichomonas gallinae* in different host species. *J. Parasitol.* 55, 1003.
- Kocan, R.M., Knisley, J.O., 1970. Challenge infection as a means of determining the rate of disease resistant *Trichomonas gallinae*-free birds in a population. *J. Wildl. Dis.* 6, 13-15.
- Krone, O., Altenkamp, R., Kenntner, N., 2005. Prevalence of *Trichomonas gallinae* in northern goshawks from the Berlin area of northeastern Germany. *J. Wildl. Dis.* 41, 304-309.
- Lahti, C.J., Johnson, P.J., 1991. *Trichomonas vaginalis* hydrogenosomal proteins are synthesized on free polyribosomes and may undergo processing upon maturation. *Mol. Biochem. Parasitol.* 46, 307-310.
- Lawson, B., Robinson, R.A., Neimanis, A., Handeland, K., Isomursu, M., Agren, E.O., Hamnes, I.S., Tyler, K.M., Chantrey, J., Hughes, L.A., Pennycott, T.W., Simpson, V.R., John, S.K., Peck, K.M., Toms, M.P., Bennett, M., Kirkwood, J.K., Cunningham, A.A., 2011. Evidence of spread of the emerging infectious disease, finch trichomonosis, by migrating birds. *Ecohealth.* 8, 143-153.
- Levy, M.G., Gookin, J.L., Poore, M., Birkenheuer, A.J., Dykstra, M.J., Litaker, R.W., 2003. *Tritrichomonas foetus* and not *Pentatrichomonas hominis* is the etiologic agent of feline trichomonal diarrhea. *J. Parasitol.* 89, 99-104.

- Liebhart, D., Grabensteiner, E., Hess, M., 2008. A virulent mono-eukaryotic culture of *Histomonas meleagridis* is capable of inducing fatal histomonosis in different aged turkeys of both sexes, regardless of the infective dose. *Avian Dis.* 52, 168-172.
- Liebhart, D., Hess, M., 2009. Oral infection of turkeys with in vitro-cultured *Histomonas meleagridis* results in high mortality. *Avian Pathol.* 38, 223-227.
- Liebhart, D., Weissenböck, H., Hess, M., 2006. In-situ hybridization for the detection and identification of *Histomonas meleagridis* in tissues. *J. Comp Pathol.* 135, 237-242.
- Liebhart, D., Windisch, M., Hess, M., 2010. Oral vaccination of 1-day-old turkeys with in vitro attenuated *Histomonas meleagridis* protects against histomonosis and has no negative effect on performance. *Avian Pathol.* 39, 399-403.
- Liebhart, D., Zahoor, M.A., Prokofieva, I., Hess, M., 2011. Safety of avirulent histomonads to be used as a vaccine determined in turkeys and chickens. *Poult. Sci.* 90, 996-1003.
- Lim, S., Park, S.I., Ahn, K.S., Oh, D.S., Shin, S.S., 2012. Efficacy of ronidazole for treatment of cats experimentally infected with a Korean isolate of *Tritrichomonas foetus*. *Korean J. Parasitol.* 50, 161-164.
- Lindsay, D.S., Larsen, C.T., Zajac, A.M., Pierson, F.W., 1999. Experimental *Cochlosoma anatis* infections in poultry. *Vet. Parasitol.* 81, 21-27.
- Lopez, L.B., Braga, M.B., Lopez, J.O., Arroyo, R., Costa e Silva Filho, 2000. Strategies by which some pathogenic trichomonads integrate diverse signals in the decision-making process. *An. Acad. Bras. Cienc.* 72, 173-186.
- Lun, Z., Parker, S., Gajadhar, A.A., 2000. Comparison of growth rates of *Tritrichomonas foetus* isolates from various geographic regions using three different culture media. *Vet. Parasitol.* 89, 199-208.
- Lun, Z.R., Chen, X.G., Zhu, X.Q., Li, X.R., Xie, M.Q., 2005. Are *Tritrichomonas foetus* and *Tritrichomonas suis* synonyms? *Trends Parasitol.* 21, 122-125.
- Mazet, M., Diogon, M., Alderete, J.F., Vivares, C.P., Delbac, F., 2008. First molecular characterisation of hydrogenosomes in the protozoan parasite *Histomonas meleagridis*. *Int. J. Parasitol.* 38, 177-190.
- McDougald, L.R., 2005. Blackhead disease (histomoniasis) in poultry: a critical review. *Avian Dis.* 49, 462-476.
- McElroy, S.M., Szalanski, A.L., McKay, T., Bermudez, A.J., Owens, C.B., Steelman, C.D., 2005. Molecular assay for the detection of *Cochlosoma anatis* in house flies and turkey specimens by polymerase chain reaction. *Vet. Parasitol.* 127, 165-168.
- McKeon, T., Dunsmore, J., Raidal, S.R., 1997. *Trichomonas gallinae* in budgerigars and columbid birds in Perth, Western Australia. *Aust. Vet. J.* 75, 652-655.
- McMillen, L., Lew, A.E., 2006. Improved detection of *Tritrichomonas foetus* in bovine diagnostic specimens using a novel probe-based real time PCR assay. *Vet. Parasitol.* 141, 204-215.
- McNeil, E., Hinshaw, W.R., 1942. *Cochlosoma rostratum* from the turkey. *J. Parasitol.* 28, 349-350.
- Mehlhorn, H., Al-Quraishy, S., Aziza, A., Hess, M., 2009. Fine structure of the bird parasites *Trichomonas gallinae* and *Tetratrichomonas gallinarum* from cultures. *Parasitol. Res.* 105, 751-756.
- Midlej, V., Pereira-Neves, A., Kist, L.W., Bogo, M.R., Benchimol, M., 2011. Ultrastructural features of *Tritrichomonas mobilensis* and comparison with *Tritrichomonas foetus*. *Vet. Parasitol.* 182, 171-180.
- Miro, G., Hernandez, L., Montoya, A., Arranz-Solis, D., Dado, D., Rojo-Montejo, S., Mendoza-Ibarra, J.A., Ortega-Mora, L.M., Pedraza-Diaz, S., 2011. First description of naturally acquired *Tritrichomonas foetus* infection in a Persian cattery in Spain. *Parasitol. Res.* 109, 1151-1154.

- Munoz, E., Castella, J., Gutierrez, J.F., 1998. In vivo and in vitro sensitivity of *Trichomonas gallinae* to some nitroimidazole drugs. *Vet. Parasitol.* 78, 239-246.
- Narcisi, E.M., Sevoian, M., Honigberg, B.M., 1991. Pathologic changes in pigeons infected with a virulent *Trichomonas gallinae* strain (Eiberg). *Avian Dis.* 35, 55-61.
- Pecka, Z., 1991. Domestic geese (*Anser anser* L.) as a new host of *Cochlosoma anatis* Kotlan, 1923. *Folia Parasitol. (Praha)* 38, 91-92.
- Pecka, Z., Nohýnková, E., Kulda, J., 1996. Ultrastructure of *Cochlosoma anatis* Kotlan, 1923 and Taxonomic Position of the Family Cochlosomatidae (Parabasala: Trichomonadida). *European Journal Protistology* 32, 190-201.
- Pereira-Neves, A., Ribeiro, K.C., Benchimol, M., 2003. Pseudocysts in trichomonads--new insights. *Protist.* 154, 313-329.
- Perez Mesa, C., Stabler, R., Berthrong, M., 1961. Histopathological Changes in the Domestic Pigeon Infected with *Trichomonas gallinae* (Jones' Barn Strain). *Avian Dis.* 5, 48-60.
- Pindak, F.F., Mora de, P.M., Gardner, W.A., Jr., Abee, C.R., 1988. Basic properties of *Tritrichomonas mobilensis* hemagglutinin. *J. Clin. Microbiol.* 26, 1460-1463.
- Rae, D.O., Crews, J.E., Greiner, E.C., Donovan, G.A., 2004. Epidemiology of *Tritrichomonas foetus* in beef bull populations in Florida. *Theriogenology* 61, 605-618.
- Reis, J.L., Jr., Beckstead, R.B., Brown, C.C., Gerhold, R.W., 2009. *Histomonas meleagridis* and capillariid infection in a captive chukar (*Alectoris chukar*). *Avian Dis.* 53, 637-639.
- Rhyan, J.C., Stackhouse, L.L., Quinn, W.J., 1988. Fetal and placental lesions in bovine abortion due to *Tritrichomonas foetus*. *Vet. Pathol.* 25, 350-355.
- Riedmüller, L., 1928. Ueber die Morphologie, Uebertragungsversuche und klinische Bedeutung der beim sporadischen Abortus des Rindes vorkommenden Trichomonaden. *Zentralbl. Bakteriol. I. Abt. Orig* 108, 103-118.
- Rodning, S.P., Wolfe, D.F., Carson, R.L., Wright, J.C., Stockdale, H.D., Pacoli, M.E., Busby, H.C., Rowe, S.E., 2008. Prevalence of *Tritrichomonas foetus* in several subpopulations of Alabama beef bulls. *Theriogenology* 69, 212-217.
- Sanborn, W.R., 1955. Microagglutination reactions of *Trichomonas suis*, *T. sp.*, and *T. foetus*. *J. Parasitol.* 41, 295-298.
- Sansano-Maestre, J., Garijo-Toledo, M.M., Gomez-Munoz, M.T., 2009. Prevalence and genotyping of *Trichomonas gallinae* in pigeons and birds of prey. *Avian Pathol.* 38, 201-207.
- Scimeca, J.M., Culberson, D.E., Abee, C.R., Gardner, W.A., Jr., 1989. Intestinal trichomonads (*Tritrichomonas mobilensis*) in the natural host *Saimiri sciureus* and *Saimiri boliviensis*. *Vet. Pathol.* 26, 144-147.
- Senties-Cue, G., Chin, R.P., Shivaprasad, H.L., 2009. Systemic histomoniasis associated with high mortality and unusual lesions in the bursa of Fabricius, kidneys, and lungs in commercial turkeys. *Avian Dis.* 53, 231-238.
- Singh, B.N., Lucas, J.J., Hayes, G.R., Kumar, I., Beach, D.H., Frajblat, M., Gilbert, R.O., Sommer, U., Costello, C.E., 2004. *Tritrichomonas foetus* induces apoptotic cell death in bovine vaginal epithelial cells. *Infect. Immun.* 72, 4151-4158.
- Šlapeta, J., Craig, S., McDonnell, D., Emery, D., 2010. *Tritrichomonas foetus* from domestic cats and cattle are genetically distinct. *Exp. Parasitol.* 126, 209-213.

- Sorvari, R., Sorvari, T.E., 1977. Bursa Fabricii as a peripheral lymphoid organ. Transport of various materials from the anal lips to the bursal lymphoid follicles with reference to its immunological importance. *Immunology* 32, 499-505.
- Stabler, R.M., 1941. Further Studies on Trichomoniasis in Birds. *The Auk* 58, 558-562.
- Stabler, R.M., 1947. *Trichomonas gallinae*, pathogenic trichomonad of birds. *J. Parasitol.* 33, 207-213.
- Stabler, R.M., 1954. *Trichomonas gallinae*: a review. *Exp. Parasitol.* 3, 368-402.
- Stockdale, H.D., Dillon, A.R., Newton, J.C., Bird, R.C., BonDurant, R.H., DeInnocentes, P., Barney, S., Bulter, J., Land, T., Spencer, J.A., Lindsay, D.S., Blagburn, B.L., 2008. Experimental infection of cats (*Felis catus*) with *Tritrichomonas foetus* isolated from cattle. *Vet. Parasitol.* 154, 156-161.
- Stockdale, H.D., Givens, M.D., Dykstra, C.C., Blagburn, B.L., 2009. *Tritrichomonas foetus* infections in surveyed pet cats. *Vet. Parasitol.* 160, 13-17.
- Stockdale, H.D., Spencer, J.A., Dykstra, C.C., Blagburn, B.L., West, G.S., Hankes, T., McMillan, K.L., 2006. Feline Trichomoniasis: An Emerging Disease? *COMPENDIUM*, 463-471.
- Szonyi, B., Srinath, I., Schwartz, A., Clavijo, A., Ivanek, R., 2012. Spatio-temporal epidemiology of *Tritrichomonas foetus* infection in Texas bulls based on state-wide diagnostic laboratory data. *Vet. Parasitol.* 186, 450-455.
- Tachezy, J., Sanchez, L.B., Muller, M., 2001. Mitochondrial type iron-sulfur cluster assembly in the amitochondriate eukaryotes *Trichomonas vaginalis* and *Giardia intestinalis*, as indicated by the phylogeny of *IscS*. *Mol. Biol. Evol.* 18, 1919-1928.
- Tachezy, J., Tachezy, R., Hampl, V., Sedinova, M., Vanacova, S., Vrlik, M., Van, R.M., Flegr, J., Kuldaa, J., 2002. Cattle pathogen *trichomonas foetus* (Riedmuller, 1928) and pig commensal *Tritrichomonas suis* (Gruby & Delafond, 1843) belong to the same species. *J. Eukaryot. Microbiol.* 49, 154-163.
- Tasca, T., De Carli, G.A., 2003. Scanning electron microscopy study of *Trichomonas gallinae*. *Vet. Parasitol.* 118, 37-42.
- Travis, B.V., 1938. A Synopsis of the Flagellate Genus *Cochlosoma* Kotlán, with the Description of Two New Species. *The Journal of Parasitology* 24, 343-351.
- Tyzzer, E.E., 1920. The flagellate character and reclassification of the parasite producing "blackhead" in turkeys-*Histomonas* (gen. nov.) *meleagridis* (Smith). *J. Parasitol.* 6, 124-131.
- van der Heijden, H.M., Landman, W.J., Greve, S., Peek, R., 2006. Genotyping of *Histomonas meleagridis* isolates based on Internal Transcribed Spacer-1 sequences. *Avian Pathol.* 35, 330-334.
- Van der Saag, M., McDonnell, D., Slapeta, J., 2011. Cat genotype *Tritrichomonas foetus* survives passage through the alimentary tract of two common slug species. *Vet. Parasitol.* 177, 262-266.
- Watkins, R.A., O'Dell, W.D., Pinter, A.J., 1989. Redescription of flagellar arrangement in the duck intestinal flagellate, *Cochlosoma anatis* and description of a new species, *Cochlosoma soricis* n. sp. from shrews. *J. Protozool.* 36, 527-531.
- Wenrich, D.H., 1944. Morphology of the intestinal trichomonad flagellates in man and similar forms in monkeys, cats, dogs and rats. *J. Morphol.* 74, 189-211.
- WHO. Global Prevalence and Incidence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections. Overview and Estimates. WHO/CDS/CSR/EDC/2001.10. Geneva, 2001.
- Xenoulis, P.G., Saridomichelakis, M.N., Read, S.A., Suchodolski, J.S., Steiner, J.M., 2010. Detection of *Tritrichomonas foetus* in cats in Greece. *J. Feline. Med. Surg.* 12, 831-833.

Yaeger, M.J., Gookin, J.L., 2005. Histologic features associated with tritrichomonas foetus-induced colitis in domestic cats. *Vet. Pathol.* 42, 797-804.