

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program:

Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor:

Molekulární biologie a biochemie organismů



Markéta Grešová

**Leishmanióza a její přenašeči na Balkáně**

Leishmaniasis and its vectors in the Balkan area

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Vít Dvořák, PhD.

Praha 2016

**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 11. 5. 2016

Podpis

Veliké díky patří mému školiteli za jeho vstřícnou pomoc a odbornou korekturu mé práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a nejbližším za podporu při psaní.

## Abstrakt

Leishmanióza je parazitární onemocnění přenášené krevsajícími flebotomy, které se vyskytuje v mnoha oblastech světa. Kromě Ameriky, Afriky a Asie se s ní setkáváme i v Jižní Evropě, především v oblasti Středomoří, kde *L. infantum* působí hlavně viscerální, ojediněle i kožní formu nemoci. Mezi evropská ohniska patří i Balkánský poloostrov, kde po masivním poklesu počtu případů v 50. letech 20. století, díky plošným kampaním za účelem eradikace malárie, počty leishmanióz znovu narůstají. Hlavními přenašeči leishmanií na člověka jsou v této oblasti flebotomové podrodu *Larroussius*, především *P. neglectus*, *P. perfiliewi* a *P. tobbi*. Hlavním rezervoárovým zvířetem je pes domácí, v současné době je také studován epidemiologický význam koček a divokých zvířat (zajáci, šakali, lišky). Nejvíce případů lidských leishmanióz je hlášeno z Albánie a Řecka, kde se můžeme setkat také s druhem *L. tropica* působícím kožní onemocnění. Tato bakalářská práce se zabývá zmapováním výskytu leishmanióz a jejich přenašečů v jednotlivých balkánských zemích.

**Klíčová slova:** leishmanióza, Evropa, Balkán, *L. infantum*, flebotomové

## Abstract

Leishmaniasis are parasitic diseases transmitted by bloodsucking sand flies, which are distributed worldwide. Beside America, Africa and Asia, they are also present in southern Europe, mostly in the Mediterranean area, where *L. infantum* causes mainly visceral, rarely also cutaneous form of the disease. Balkan Peninsula is also one of endemic regions. Here, thanks to huge malaria eradication campaign in the 1950's, number of cases declined massively. Nevertheless, leishmaniasis has been reemerging since then. The main vectors of human leishmaniasis are sand flies of the subgenus *Larroussius*, mainly *P. neglectus*, *P. perfiliewi* and *P. tobbi*. The main reservoir animal is a domestic dog. Currently, the epidemiological significance of domestic cats and wild animals (hare, jackal, fox) is also studied. Most cases of human leishmaniasis are reported from Albania and Greece, where *L. tropica* is also present, causing cutaneous form of the disease. The aim of this thesis is to summarize the occurrence of leishmaniasis and its vectors in individual Balkan countries.

**Key words:** leishmaniasis, Europe, Balkan, *L. infantum*, sand flies

## Seznam použitých zkratk:

CDC	Center for Disease Control and Prevention
DDT	dichloro-diphenyltrichlorethan
DNA	deoxyribonucleic acid
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
HIV	human immunodeficiency virus
hsp70	heat-shock protein 70
IFAT	indirect immunofluorescent antibody test
KL	kožní leishmanióza
MKL	mukokutánní leishmanióza
PCR	polymerase chain reaction
SSU rRNA	structure of the small subunit ribosomal ribonucleic acid
UV	ultra violet
VL	viscerální leishmanióza
WHO	World Health Organisation

## Obsah

1. Úvod .....	1
2. Charakteristika rodu <i>Leishmania</i> .....	2
2.1. Taxonomické zařazení .....	2
2.2. Životní cyklus .....	3
2.3. Přenašeči .....	5
2.4. Klinické příznaky .....	5
3. Epidemiologie ve světě .....	7
4. Leishmaniózy balkánských zemí .....	8
4.1. Albánie .....	8
4.2. Bosna a Hercegovina .....	11
4.3. Bulharsko .....	11
4.4. Černá Hora .....	14
4.5. Chorvatsko .....	16
4.6. Makedonie .....	18
4.7. Kosovo .....	19
4.8. Rumunsko .....	19
4.9. Řecko .....	20
4.10. Slovinsko .....	23
4.11. Srbsko .....	24
4.12. Turecko .....	25
5. Diskuze a závěr .....	26
Použitá literatura .....	30
Přílohy .....	39

## 1. Úvod

Leishmanióza je protozoální onemocnění způsobené více než 20 druhy prvoků rodu *Leishmania*. Setkáváme se s ním jak v Novém světě (Jižní a Střední Amerika), tak ve Starém světě, a to hlavně v Africe, jihovýchodní Asii, ale i v Evropě v oblastech kolem Středozevního moře. Každoročně se touto nemocí nakazí více než milion lidí a kolem 300 milionů lidí je nákazou ohroženo (WHO, February 2015).

Přenašeči leishmanií jsou flebotomové (*Diptera, Phlebotominae*) rodu *Lutzomyia* v Novém světě a rodu *Phlebotomus* ve Starém světě (Killick-Kendrick, 2002). Flebotomové jsou drobní krevsající dvoukřídli, kteří jsou významnými trapiči lidí i zvířat a kromě leishmaniózy přenášejí i virová a bakteriální onemocnění. Když se zaměříme na Evropu, zjistíme, že výskyt jednotlivých druhů je v některých oblastech dosud nedostatečně zdokumentovaný, a proto je nyní mapování výskytu jednotlivých druhů flebotomů předmětem zájmu vědeckých týmů i zdravotnických organizací. Mezi důležité endemické oblasti patří Balkánský poloostrov, který je významný nejen z epidemiologického, ale i biogeografického hlediska; v této oblasti dochází ke kontaktu areálů výskytu západomořských a východomořských druhů flebotomů. Jde zároveň o region, z něhož je k dispozici v rámci Evropy nejméně aktuálních informací. Epidemiologicky patří Balkán mezi důležité oblasti hlavně z toho důvodu, že díky současným změnám klimatu a dalším faktorům by mohlo dojít k rozšíření výskytu flebotomů z Balkánu dál do střední Evropy, což by znamenalo rapidní nárůst počtu jedinců ohrožených nakažením.

Ve své práci se zaměřuji právě na oblast Balkánu (kam spadají země bývalé Jugoslávie, Albánie, Bulharsko a Řecko), kterou ze severu vymezují řeky Dunaj, Soča a Sáva a z jihu Středozevní moře. Chtěla bych shrnout dosavadní poznatky ohledně publikovaných případů leishmanióz jak u lidí, tak u zvířat, a literární údaje týkající se výskytu jednotlivých druhů flebotomů v této oblasti, včetně diskuse nad předpokládaným výskytem druhů v oblastech, odkud literární údaje chybí.

## 2. Charakteristika rodu *Leishmania*

*Leishmania* je rod protozoálních parazitů, jehož zástupci byli objevováni již v 19. století, ale formálně popsán byl až v roce 1903 Charlesem Donovanem a Williamem Leishmanem, po kterém byl pojmenován. Svému hostiteli mohou druhy tohoto rodu způsobovat více či méně závažné zdravotní obtíže s různými projevy v závislosti na imunitní reakci hostitele a konkrétním druhu, kterým je hostitel nakažen.

### 2.1. Taxonomické zařazení

Díky morfologické podobnosti známých druhů leishmanií je jejich přesné taxonomické určení obtížné. Dříve hrála hlavní roli hlavně klinická, epidemiologická a geografická kritéria, ale v dnešní době dáváme přednost biochemickým, imunologickým a molekulárním metodám, které nám dávají mnohem přesnější výsledky (Schonian *et al.*, 2010), nicméně i přes veškeré pokročilé metody analýzy dat není taxonomická pozice některých druhů stále úplně jasná (Akhoundi *et al.*, 2016).

Prvky rodu *Leishmania* řadíme do říše *Excavata*, kmene *Euglenozoa*, třídy *Kinetoplastida*, řádu *Trypanosomatidae* (Simpson *et al.*, 2004). Samotný rod pak dělíme do dvou hlavních fylogenetických linií: *Euleishmania* a *Paraleishmania* (Cupolillo *et al.*, 2000). Sekce *Euleishmania* se skládá ze čtyř podrodů: *Leishmania*, *Viannia*, *Sauroleishmania* a *L. enriettii* komplex. Sekce *Paraleishmania* pak zahrnuje druhy *L. hertigi*, *L. deanei*, *L. herreri*, *L. equatorensis* a *L. colombiensis* stejně tak, jako bývalý rod *Endotrypanum*, přičemž pouze u *L. colombiensis* byla zjištěna patogenita u člověka (Akhoundi *et al.*, 2016). V dnešní době je popsáno více než 30 druhů leishmanií, z nichž více než 20 může způsobovat lidskou leishmaniózu. Fylogenetický strom, který se používá i dnes, byl sestaven již v roce 1987 (Lainson a Shaw). Od té doby, a to zejména v posledních letech, ale vzniklo mnoho prací, které poukazují na to, že je tento systém zastaralý, a nabádají k jeho revizi. (Akhoundi *et al.*, 2016; Franco *et al.*, 2010; Schonian *et al.*, 2010; Votýpka *et al.*, 2015).

Nedávné studie, založené na fylogenetické analýze genu pro heat-shock protein 70 (hsp70), ukazují na existenci osmi monofyletických skupin, z nichž čtyři náleží do podrodu *Leishmania* (*L. tropica*, *L. donovani*, *L. major*, *L. mexicana*) a čtyři do podrodu *Viannia* (*L. braziliensis*, *L. lainsoni*, *L. guyanensis*, *L. naiffi*) (Fraga *et al.*, 2009; Schonian *et al.*, 2010). Tyto skupiny odpovídají buď přímo určitému druhu, nebo tvoří tzv.

komplexy; pro člověka jsou patogenní zástupci všech skupin až na *L. lainsoni* a *L. naiffi* (Asato *et al.*, 2009).

**Table 1. Simplified nomenclature of the genus *Leishmania***

Genus	Subgenus	Species complex	Species included in the hsp70 study, named accordingly to the actual <i>Leishmania</i> nomenclature	Species validated by the hsp70 study
<i>Leishmania</i>	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. donovani</i>	<i>L. donovani</i>	<i>L. donovani</i>
			<i>L. infantum</i>	
			<i>L. archibaldi</i>	
			<i>L. major</i>	<i>L. major</i>
			<i>L. tropica</i>	<i>L. tropica</i>
			<i>L. mexicana</i>	<i>L. mexicana</i>
	<i>L. (Viannia)</i>		<i>L. amazonensis</i>	
			<i>L. garnhami</i>	
			<i>L. lainsoni</i>	<i>L. lainsoni</i>
			<i>L. guyanensis</i>	<i>L. guyanensis</i>
<i>L. (Sauroleishmania)</i>		<i>L. panamensis</i>		
		<i>L. naiffi</i>	<i>L. naiffi</i>	
		<i>L. braziliensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	
		<i>L. peruviana</i>		
		<i>L. tarentolae</i>		

Obrázek 1: Rozdělení leishmanií do skupin na základě analýzy hsp70, převzato z Schönian *et al.* (2010)

Pro člověka je nejzávažnější *L. donovani* komplex, jehož zástupci *L. donovani*, *L. archibaldi*, která ale v dnešní době již není uznávána jako validní druh (Baidouri *et al.*, 2013), *L. infantum*, a *L. chagasi* způsobují viscerální leishmaniózu (Fraga *et al.*, 2009), která je nejzávažnější formou onemocnění a neléčená často končí smrtí pacienta.

## 2.2. Životní cyklus

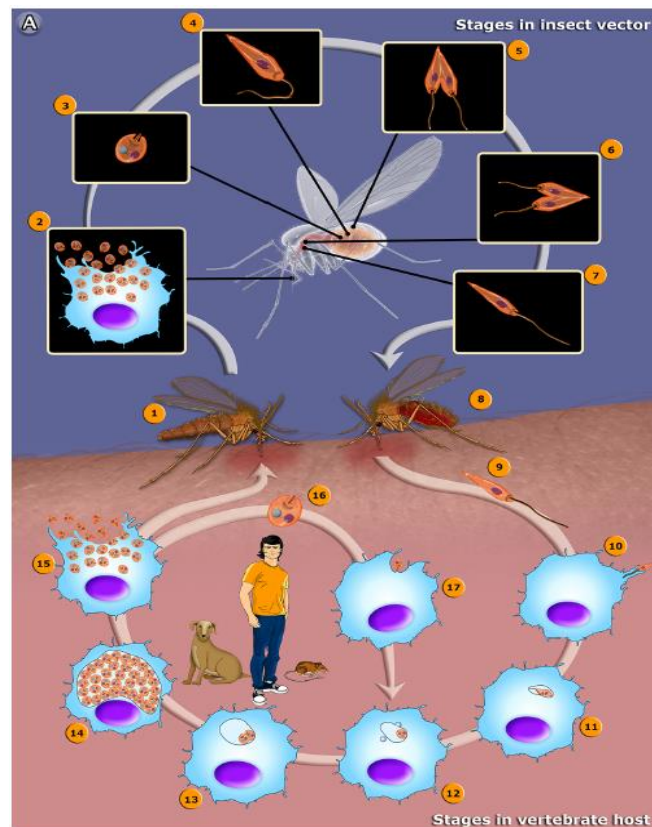
*Leishmanie* mají životní cyklus, kde hlavní roli hrají hematofágní samice flebotomů, které slouží jako horizontální přenašeči parazita na savčího hostitele, kde k nákaze dojde po sání infikovanou samicí.

Ve střevech flebotomů se *Leishmanie* vyvíjí extracelulárně ve formě promastigota a prochází zde čtyřmi vývojovými stádii. Prvním je procyklický promastigot, který se množí ve středním střevě flebotoma v nasáté krvi a vyvíjí se v nektomonádního promastigota, který se již nedělí. V této formě parazit migruje anteriálně střevem až ke stomodeální valvě, kde se mění na leptomonádního promastigota, jež se opět dělí a diferencuje do posledního stádia – metacyklického promastigota (Gossage *et al.*, 2003). Tato forma je infekční pro savčího hostitele.

V savčím hostiteli dochází k dramatické změně jak ve vzhledu, tak v životním stylu parazita. Ten se mění z extracelulárního promastigota na intracelulárního amastigota, a to



již během 12–24 hodin od infikování hostitele (Sharma & Singh, 2008). Parazit se dostane do kůže hostitele při bodnutí společně se slinami flebotoma. Zde napadá hlavně neutrofilní buňky a makrofágy (Teixeira *et al.*, 2013). Makrofágy jsou stěžejní pro další vývoj infekce. Právě uvnitř makrofágů se parazit přeměňuje z promastigota na amastigota a poté zde dochází k jeho rapidní proliferaci, což má za následek prasknutí makrofágu a uvolnění amastigotů do tkáně. Tyto amastigoti mohou být opět nasáti samicí flebotoma nebo mohou infikovat další makrofágy (Teixeira *et al.*, 2013). Nakažené makrofágy pak mohou zůstat v kůži v místě bodnutí, což se projeví jako kožní leishmanióza, nebo mohou migrovat do sliznic (mukokutánní leishmanióza) či do orgánů (viscerální leishmanióza). Toto stadium je chronické a infekce může zůstat asymptomatická v závislosti na imunitě hostitele i po celý jeho život. (Sharma & Singh, 2008).



Obrázek 2: životní cyklus *Leishmanie*, převzato z Teixeira *et al.* (2013). (1) Samice nasaje krev z nakaženého savce. (2) Infikovaný makrofág s amastigoty. (3) Amastigot. (4) Amastigot se transformuje na procyklický promastigot. (5) Procyklický promastigot se dělí ve střevě flebotoma. (6) Promastigoti migrují ke stomodeální valvě a znovu se dělí. (7) Promastigoti se mění na infekční metacyklické promastigoty. (8) Samice injikuje promastigoty do tkáně savce během sání krve. (9) Metacyklický promastigot. (10) Metacyklický promastigot infikuje makrofág, (11) přeměňuje se na amastigota a tvoří parazitoformní vakuolu (12), kde se množí (13). (14) Masivním množením dochází k destrukci makrofágu a uvolnění amastigotů do tkáně (15). (16) Amastigot. (17) Amastigot napadá další makrofág-šíření infekce.

Podle druhu savčího hostitele rozlišujeme dva typy leishmaniózu: zoonotickou leishmaniózu, kdy rezervoárovými hostiteli jsou domácí či divoká zvířata a člověk je pouze náhodný hostitel, a antroponotickou leishmaniózu, kde je člověk jediným rezervoárem a zdrojem přenosu infekce (Gramiccia and Gradoni, 2007).

### 2.3. Přenašeči

Leishmanie přenáší krevsající samice flebotomů (*Diptera: Psychodidae: Phlebotominae*). Druhů flebotomů je v dnešní době popsáno přes 800, z nichž pouze okolo stovky je předpokládaných či prokázaných jako přenašeči leishmanií (Maroli *et al.*, 2013). Vyskytují se hlavně v teplých oblastech Jižní Evropy, Asie, Afriky, Austrálie a Střední a Jižní Ameriky. Druhy žijící ve Starém světě se adaptovaly na převážně aridní ekosystémy, zatímco druhy v Novém světě preferují vlhké oblasti v okolí lidských obydlí či blízkosti lesů (Sharma & Singh, 2008).

Flebotomové jsou velmi drobní, zřídka dosahují délky 3 mm (Killick-Kendrick, 1999). Charakteristickými znaky jsou silně chlupatá křídla lacentovitého tvaru používaná k pro ně typickému způsobu letu. Flebotomové jsou totiž špatní letci a spíše než létají, tak poskakují. Jejich životní cyklus zahrnuje stádia vajíčka, larvy (4 instary), kukly a dospělého jedince. Prochází tedy přeměnou dokonalou (Killick-Kendrick, 1999). Vývoj vajíček není vázán na vodu, probíhá v terestrických habitatech, které jsou poměrně obtížně definovatelné. Určitým vodítkem je fakt, že jsou špatní letci, a tím pádem se dospělý flebotom během svého života zpravidla nedostává od líníště příliš daleko.

Larva pro svůj vývoj potřebuje zdroj organických živin a dostatek vlhkosti. Typy líníšť se ale mezidruhově liší v závislosti na dlouhodobé adaptaci k vnějšímu okolí. Obecně ale platí, že si samičky na vykladení vybírají místa, jako jsou například hlodavčí nory, příbytky pro domácí zvířata, lidská obydlí, či skladiště odpadu (Sharma & Singh, 2008), kde mají larvy vyhovující prostředí dostačující k jejich zakuklení.

### 2.4. Klinické příznaky

Lidskou leishmaniózu mohou způsobovat pouze zástupci podrodu *Viannia* a *Leishmania* (Sádlová, 1999). *Sauroleishmania* způsobuje parazitární onemocnění jen u studenokrevných živočichů, především plazů, a vyskytuje se pouze ve Starém světě (Croan, 1996).

Klinický průběh leishmaniózy může být různý, od asymptomatického projevu až po stav končící smrtí. Na základě klinických příznaků dělíme leishmaniózy na tři základní typy: kožní, mukokutánní a viscerální leishmaniózu. Jeden druh leishmanie může způsobovat i více typů projevů, v závislosti na imunitní odpovědi hostitele. Například *L. infantum* může způsobit jak kožní, tak viscerální leishmaniózu (Svobodová *et al.*, 2009).

Nejčastější, co do počtu případů, je kožní leishmanióza (KL). Projevuje se kožními lézemi, které většinou vznikají na místech, která jsou lehce přístupná pro flebotomy, což je například obličej nebo krk. Tyto léze mohou i po vyléčení zanechat ošklivé jizvy či změny pigmentace kůže (Pace, 2014), nicméně ve většině případů nejsou život ohrožujícím stavem. U KL může často docházet ke spontánnímu vyléčení (Blum *et al.*, 2012), ovšem neléčení této nemoci zvyšuje riziko přechodu do mukokutánní fáze (Monge-Maillo, 2013). Nejčastějšími původci KL ve starém světě jsou: *L. aethiopica*, *L. major* a *L. tropica* (Monge-Maillo, 2013), ale může být způsobena i *L. infantum*, která je zodpovědná hlavně za viscerální leishmaniózu. V Novém Světě KL způsobují zástupci komplexu *L. mexicana* (*L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. pifanoi*, *L. garnhami*, a *L. venezuelensis*) nebo podrodu *Viannia* (*L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. panamensis*, *L. naiiffi*, *L. shawi*, *L. lainsoni*, a *L. peruviana*) (Akhoundi *et al.*, 2016).

Mukokutánní leishmanióza (MKL) vzniká jako chronické stadium po nákaze KL, které se může objevit i po několika letech od vyléčení kožních lézí (Pérez-Ayala, 2009). Leishmanie v tomto případě napadají ústní a nosní sliznice, kde tvoří ošklivé léze. V některých případech může dojít k perforaci či úplnému zničení nosní přepážky (Amazon, 2011). Výskyt MKL je typický v Novém světě a způsobují ho druhy *L. amazonensis*, *L. guyanensis*, *L. panamensis* a *L. braziliensis*.

Viscerální leishmanióza (VL) je nejzávažnější formou nemoci, kde parazit napadá vnitřní orgány, a která bez řádného léčení vede ve většině případů ke smrti pacienta. Objevení prvních příznaků může trvat od 10 dní až po rok (Pace, 2014). Symptomů je mnoho: horečka, ztráta hmotnosti, slabost, anorexie. V dalším stadiu nemoci dochází k hepato- či splenomegalii, neboli zduření jater a sleziny (Desjeux & Alvar, 2003).

Zvláštní formou, respektive komplikací VL je tzv. post-kala-azar dermální leishmanióza. Ta se projevuje u pacientů, kteří se léčí na VL, ve formě vyrážky a pupínek, které se vyskytují hlavně v obličejí, ale mohou být roztroušené po celém těle (Pace, 2014; WHO, 2012). Setkáme se s ní v místech endemických pro VL. Ta jsou hlavně ve východní Africe v oblasti Etiopie a v Indii, kde nemoc způsobuje *L. donovani* a v severní Africe,

Latinské Americe a jižní Evropě v oblasti Mediteránu, kde se vyskytuje *L. infantum* (Moncaz *et al.*, 2014; Pérez-Ayala, 2009). V Novém Světě je VL přenášena hlavně *L. chagasi*, která je druhově identická s *L. infantum*, což bylo dlouho diskutováno a potvrzeno až po důkladné analýze dat (Kuhls *et al.*, 2011).

### 3. Epidemiologie ve světě

Leishmanióza patří mezi zanedbávané tropické nemoci (tzv. neglected diseases), ačkoliv patří mezi první tři parazitární onemocnění s nejvyšší úmrtností ve světě (Pace, 2014). Občas se jí také říká nemoc chudých, jelikož nejvíce postihuje chudé, zemědělské oblasti. Leishmanie jsou endemické v Jihovýchodní Asii, východní Africe a Latinské Americe, ale setkáme se s nimi i v oblastech kolem Středoziemního moře a celkově postihují již 98 států. (Pace, 2014). Jejich areál se vyskytuje v rozmezí 45° severně a 30° jižně od rovníku (Gramiccia and Gradoni, 2007).

Každoročně je zaznamenáno přibližně 200–400 tisíc nových případů VL a 0,7–1,2 milionů případů KL, přitom více než 90 % z celkového množství všech případů VL je hlášeno pouze ze šesti zemí: Etiopie, Indie, Bangladéš, Súdán, Jižní Súdán a Brazílie (Alvar *et al.*, 2012). KL je geograficky více rozšířená. Hlavní ohniska jsou v Americe, v okolí Středoziemního moře a v Západní Asii, čímž se rozumí území od Středního Východu po Centrální Asii. Nejvíce je zasaženo těchto deset zemí: Afghánistán, Alžírsko, Brazílie, Kolumbie, Írán, Sýrie, Etiopie, Severní Súdán, Kostarika a Peru, ve kterých je až 75 % ze všech potvrzených případů.

Problém VL je aktuální také v Evropě (viz. příloha 1 a 2), a to zejména ve Středomoří (Španělsko, Portugalsko, Francie, Itálie, Balkánské země). Mezi lety 1996–2005 bylo celkem zaznamenáno okolo 4 700 případů, z nichž nejvíce zasažená byla Itálie (1677), Albánie (1148) a Španělsko (945) (Marina Gramiccia *et al.*, 2007). Hlavním patogenem je *L. infantum*, která majoritně způsobuje lidskou i zoonotickou VL a v některých případech i KL (Pennisi, 2015). Výjimečně se v Evropě můžeme setkat i s druhem *L. tropica*, která způsobuje KL, a to v Řecku či na Krétě (Gradoni, 2013).

Za posledních deset let množství hlášených případů leishmanióz vzrostlo, a to i v lokalitách, které nejsou pro leishmanie endemické. Naštěstí se ale jedná pouze o případy importované z endemických oblastí. V daném období (viz výše) se objevilo celkem 50 případů leishmanióz ve Velké Británii, 12 v Belgii, 3 ve Finsku a dokonce

16 v České republice (Marina Gramiccia *et al.*, 2007). To se děje díky mnoha faktorům, například zvyšující se zájem turistů o tropické oblasti a nárůst popularity různých outdoorových činností v těchto lokalitách či vojenské operace. Mansueto *et al.* (2014) předpokládá do roku 2020 nárůst o 600 milionů turistů, kteří ročně navštíví tyto oblasti, což je téměř dvojnásobek nálezem potencionálně ohrožených lidí oproti roku 2010.

Největší problém potom nastává v diagnóze onemocnění v neendemických oblastech. Místní lékaři často zaměňují příznaky VL za jiné nemoci, což pak může vést ke komplikacím při léčbě.

#### 4. Leishmaniózy balkánských zemí

S leishmaniózou se setkáme i na Balkánském poloostrově, kde postihuje zejména chudší venkovské oblasti. Častěji zasaženi bývají také více muži než ženy, což může souviset s odlišným způsobem obživy, kdy muži tráví více času venku na poli nebo například rybařením.

Hlavním rezervoárem jsou, tak jako v jiných částech Středomoří, psi, roli sekundárních hostitelů mohou sehrát i kočky a koně (M Gramiccia, 2011), v poslední době diskutovaná role divokých zvířat nebyla v tomto regionu zatím studována.

Podle Alvar *et al.* (2012) bylo na území Balkánu, v letech 2004–2008 zaznamenáváno více než 150 nových případů VL ročně, především v Albánii a v Řecku. Několik případů bylo také hlášeno z Bosny a Hercegoviny, Bulharska, Chorvatska, Černé Hory, Slovinska a Turecka. KL se v Evropě vyskytuje pouze vzácně. V průběhu čtyř let (2004–2008) bylo hlášeno průměrně 60 případů ročně, z nichž šest bylo z Albánie, dva z Chorvatska a tři z Řecka (Alvar *et al.*, 2012). Dále jsou tu také státy, kde se leishmanióza v minulosti vyskytovala, ale jejich nynější endemický status není potvrzen (Srbsko a Slovinsko) (Gramiccia *et al.*, 2007).

##### 4.1. Albánie

Leishmanióza se vyskytuje ve všech regionech Albánie (Petrela *et al.*, 2010). První dokumentované případy leishmaniózy se tu objevují již v roce 1938 (Velo *et al.*, 2003), její největší prevalence je v severní oblasti Albánie. Největší ohniska nemoci byla nalezena v regionech Lezhë a Pukë v severní části Albánie a v regionu Librazhd v centrální části Albánie (Velo *et al.*, 2003). Pacienti jsou z převážné většiny (více než 70 %) malé děti

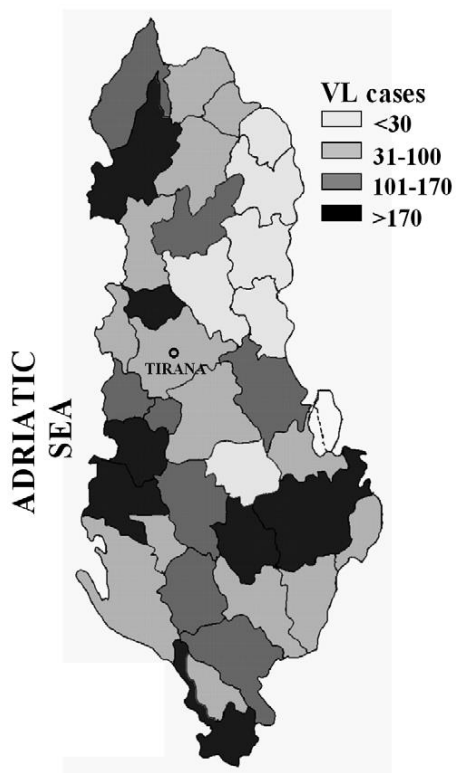
(majoritně mladší 5 let). Další rizikovou skupinou jsou pak dospělí lidé trpící imunodeficiencí často způsobenou virem HIV (Lito *et al.*, 2002).

Důkladnější monitorování případů lidské leishmaniózy probíhá v Albánii až po druhé světové válce, kdy incidence začala mít postupně rostoucí charakter. Mezi lety 1947–1962 bylo zaznamenáno pouhých 130 případů, což odpovídá zhruba osmi případům ročně (Todhe, 1963 v Velo *et al.*, 2003), v letech 1960–1984 už ale bylo hlášeno 1 264 případů (Adhami & Murati, 1986 v Velo *et al.*, 2003). To odpovídá zhruba 50 případům ročně a v rozmezí let 1984–1996 se průměrný počet nových onemocnění zvedl dokonce na 87 ročně (1 136 celkem) (Kero & Xinxo, 1998 v Velo *et al.*, 2003). Na přelomu tisíciletí (1997) byl průměrný roční počet případů 173, zatímco už v roce 2001 jich už bylo více než 200 (Velo *et al.*, 2003).

V těchto letech, díky občanským nepokojům a válkou s Kosovem, Albánie nebyla úplně politicky stabilní. To vedlo k pozvolnému úpadku ekonomie a sociální a zdravotní infrastruktury. Následkem bylo zhoršení hygienických podmínek místních obyvatel a jejich podvýživa. To všechno plus nedostatek informovanosti, jak nemoc poznat a jak jí předcházet, vedlo k rapidnímu rozšiřování leishmanióz (Bianchi *et al.*, 1998).

Další studii provedl až Petrela *et al.* (2010) na dětech podezřelých na VL, které byly hospitalizovány v Univerzitní nemocnici v Tiraně v období 1995–2009. Zjistil, že ačkoli je Albánie země s neustále se vyvíjející ekonomikou, zdravotnictvím a sociálními poměry, její incidence VL u dětí je stále daleko vyšší (25/100 000), než v jiných evropských zemích, které jsou pro ni endemické. Za pozorované období bylo hospitalizováno 1 210 dětí s podezřením na VL, z nichž více než 70 % pocházelo z městských oblastí. To může, dle Petrely *et al.* (2010), být způsobeno tím, že v nejchudších agrárních oblastech, kde jsou ohniska VL nejčtetnější, je povědomí a schopnost rozeznat leishmaniózu pořád velmi nízká, takže většina případů z těchto lokalit zůstává nezaznamenána. Hospitalizovány ale nebyly jen děti. V rozmezí let 1998–2008 oddělení pro kontrolu infekčních nemocí v Tiraně zaznamenalo 126 případů VL u lidí ve věkové skupině 15–60 let. Dále byla v období 1993–2010 diagnostikována také koinfekce HIV-*Leishmania* u 26 pacientů (z celkových 300 HIV pozitivních).

Z dat, co uvádí Pipero *et al.* (2014), vyplývá, že od roku 2002 dochází k výraznému poklesu výskytu VL v Albánii (z 374 případů v roce 2002 na 24 v roce 2013); tato data reflektují úspěch národních i nadnárodních zdravotních organizací dostat leishmaniózu pod kontrolu.



Obrázek 3: Schématická mapa Albánie ukazující stratifikaci VL u dětí podle okresů v letech 1998–2009. Převzato z Petrela *et al.* (2010)

Systematičtější studium flebofauny Albánie probíhá až v posledních patnácti letech. Jednu retrospektivní studii provedli Adhami & Murati (2000) (Velo *et al.*, 2003). Tato studie probíhala v letech 1958 až 1998; za tu dobu bylo chyceno celkem 13 054 flebotomů na 345 sběrných místech po celé Albánii. Identifikovány byly tři druhy flebotomů patřící do podrodu *Laroussius*, kteří hrají významnou roli pro přenos leishmanií (Felicangeli, 2004; Chaniotis *et al.*, 2000). Největší prevalenci měl *P. neglectus* (62,3 %), který je považován za hlavního přenašeče *L. infantum* v Albánii, *P. perfiliewi* a *P. tobbi* měli prevalenci srovnatelnou. Tyto výsledky se shodovaly s výsledky terénního sběru, který provedla Velo *et al.* (2003) v létě (červenec a srpen) roku 2001. Její sběr byl proveden pouze na 18 místech Albánie a chyceno bylo celkem 262 flebotomů. Identifikováno ale bylo už více druhů; pět druhů patřících do rodu *Phlebotomus* (*P. papatasi*, *P. neglectus*, *P. perfiliewi*, *P. tobbi*, a *P. similis*) a jeden druh náležící rodu *Sergentomyia* (*S. minuta*).

Během léta (červen až říjen) roku 2002 provedla Velo *et al.* (2005) další terénní sběr flebotomů na šesti místech dvou regionů Albánie; tři lokality z regionu Kruje centrální části Albánie a tři v Lezhë, oblasti na severu. Oba tyto regiony jsou kopcovitého rázu, sběr probíhal ve výšce 200 (Lezhë), respektive 600 (Kruje) metrů nad mořem. Flebotomové byli sbíráni pomocí CDC (Center for Disease Control and Prevention)

a leповých pastí, které byly umístěny jak ve venkovních ohradách hospodářských zvířat, tak v jejich příbytcích. Ke sběru byly také použity ruční či mechanické respirátory, které se využívaly hlavně pro sběr živých flebotomů uvnitř lidských obydlí.

Mezi téměř 850 chycenými flebotomy bylo identifikováno celkem pět různých druhů. Určování druhů proběhlo morfologicky, což je důležité zejména pro určení *P. similis*, který je pomocí molekulárních metod snadné zaměnit za *P. sergenti* díky jejich velmi blízké příbuznosti (Depaquit *et al.*, 1998; Depaquit *et al.*, 2002)

Nejhojněji byl zastoupen *Phlebotomus neglectus* (75,6 %), následovaný *P. Perfiliewi* (14,4 %), *P. papatasi* (4,6 %), *P. tobbi* (3,6 %) a *P. similis* (1,8 %). Nejvíce flebotomů bylo chyceno v regionu Kruje, kde byli zaznamenáni zástupci všech zmíněných pěti druhů, zatímco v regionu Lezhë byli chyceni pouze *P. neglectus*, *P. perfiliewi* a *P. tobbi*. Velo *et al.* (2005) otestovala 36 nasátých samic na přítomnost leishmaniální DNA pomocí metody polymerase chain reaction (PCR), ovšem žádná nebyla pozitivní.

#### 4.2. Bosna a Hercegovina

Dat z Bosny a Hercegoviny je velmi málo. Jediná data ohledně lidské leishmaniózy jsou z Gramiccia *et al.* (2007), která uvádí, že v letech 1996–2005 zde bylo zaznamenáno 15 případů VL. Záznamy psí leishmaniózy jsou pouze z roku 1998, kdy Jazić *et al.* (1998) našel 14 toulavých psů z okolí Mostaru a z roku 2013, kdy Omeragić *et al.* (2013) prováděl parazitologický výzkum na psech v oblasti Tuzla. Ze 134 psů testovaných (pomocí indirect immunofluorescent antibody test - IFAT a enzyme-linked immuno sorbent assay - ELISA) na přítomnost různých parazitů včetně *L. infantum* bylo pozitivních 2,24 %.

Co se týče výskytu flebotomů, tak jediným potvrzeným druhem je zde *P. papatasi*, který je přenašečem virového horečnatého onemocnění (Hukíć, 2009).

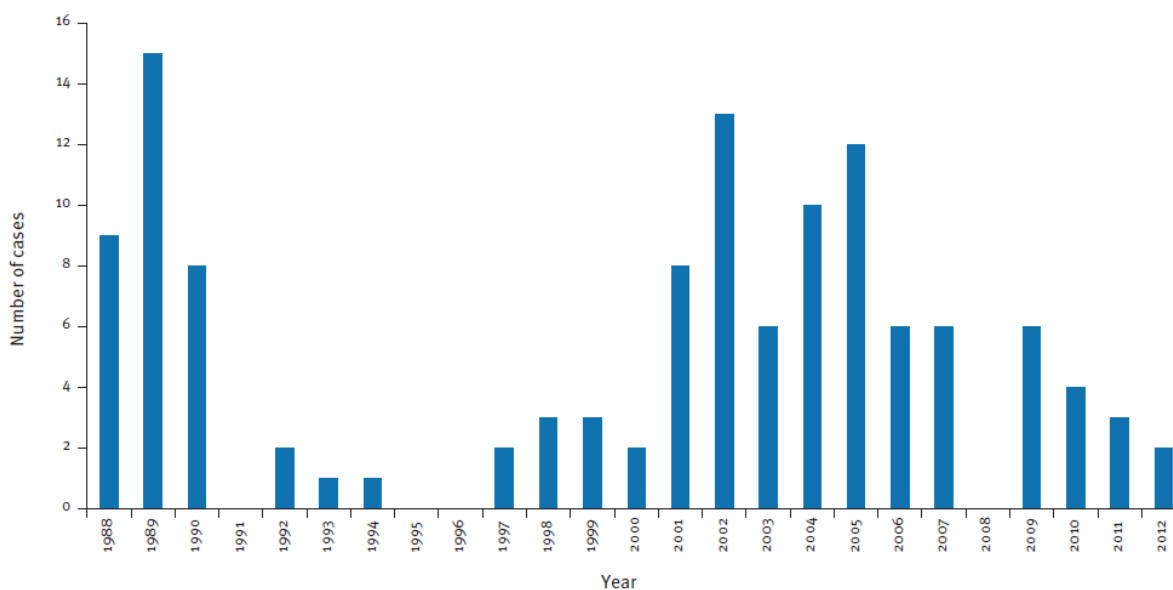
#### 4.3. Bulharsko

První dva případy VL v Bulharsku zaznamenal Mollov v roce 1921 (Gruev, 1949 v Harizanov *et al.*, 2013a). Šlo ale pouze o importované případy z Řecka, první autochtonní výskyt VL byl popsán stejným autorem až o 16 let později. V následujících letech, až do roku 1953, bylo hlášeno pouze 57 autochtonních případů VL, z nichž 50 bylo nalezeno u dětí. V období 1953–1988 byl výskyt VL na území Bulharska téměř nulový, což je považováno za následek snížení početnosti populací flebotomů díky plošnému používání DDT (dichloro-diphenyltrichlorethan) za účelem eradikace malárie (Filipov *et al.*, 2005)



v Harizanov *et al.*, 2013a). Oproti tomu od roku 1988 se výskyt leishmaniózy rapidně zvýšil a případy jsou hlášeny z většiny oblastí Bulharska, nejrizikovější jsou mírně kopcovité oblasti s průměrnou výškou 300 m n. m. Největší množství případů bylo zjištěno z regionu Blagoevgrad, který leží v jihozápadní části Bulharska, a z regionu Stara Zagora, který leží v centrálním Bulharsku (Harizanov *et al.*, 2013a).

V letech 1988–2012 bylo registrováno celkem 122 případů, z nichž 118 bylo autochtonních z 13 regionů Bulharska, kde postižené byly jak vesničky, tak i městské oblasti. Zbylé čtyři případy byly importovány z endemických zemí kolem Středoziemního moře, konkrétně dva z Itálie a dva ze Španělska (Harizanov *et al.*, 2013a). V tomto období (1988–2012) se nové případy VL objevovaly každoročně s výjimkou let 1991, 1995, 1996 a 2008, kdy nebyl registrován jediný případ. Naopak v letech 1989, 2002, 2004 a 2005 bylo případů zaznamenáno nejvíce (viz obrázek 4) (Harizanov *et al.*, 2013a).



Obrázek 4: Graf ročního výskytu nových případů VL v Bulharsku. Převzato z Harizanov *et al.* (2013)

Nejvíce postiženou věkovou skupinou byly opět děti s průměrným věkem 4,7 let. Dětských pacientů do 18 let bylo celkem 68, z nichž 48 bylo mladších 5 let. 18 z nich pak bylo v rozmezí 1–2 let života a 15 dokonce mladších 12 měsíců. Zbytek pacientů (54) byli dospělí lidé, z nichž pouze u jednoho se prokázala koinfekce s virem HIV (Harizanov *et al.*, 2013b). V tomto se Bulharsko liší od ostatních států jižní Evropy, kde v minulosti až 70 % dospělých lidí nakažených VL bylo spojováno s infekcí virem HIV (Desjeux & Alvar, 2003).

Distribuce případů VL v Bulharsku může být na první pohled zvláštní. Většina z nich je totiž hlášena z městských oblastí. To ale Harizanov *et al.* (2013a) vysvětluje tím, že většina lidí žijících ve městech má velmi blízký vztah k zemědělským oblastem (která jsou pro flebotomy a tedy pro šíření leishmanióz ideální), jelikož zde mají své příbuzné, které jezdí často navštěvovat a věnují se zde různým venkovním aktivitám (farmaření, zemědělství, lov), čímž samozřejmě zvyšují riziko nákazy.

Rezervoárem *L. infantum* jsou hlavně psi, ačkoliv psí rezervoár v Bulharsku bylo dlouhou dobu těžké potvrdit, protože všechna krevní séra, odebraná těmto psům, byla na protilátky proti leishmaniím negativní. Až na podzim roku 2006 byli na soukromou veterinární kliniku přivezeni dva psi z Petriče s podezřením na psí leishmaniózu, která u nich byla sérologicky potvrzena, což byly první dva ověřené případy psí leishmaniózy v Bulharsku (Tsatchev *et al.*, 2010).

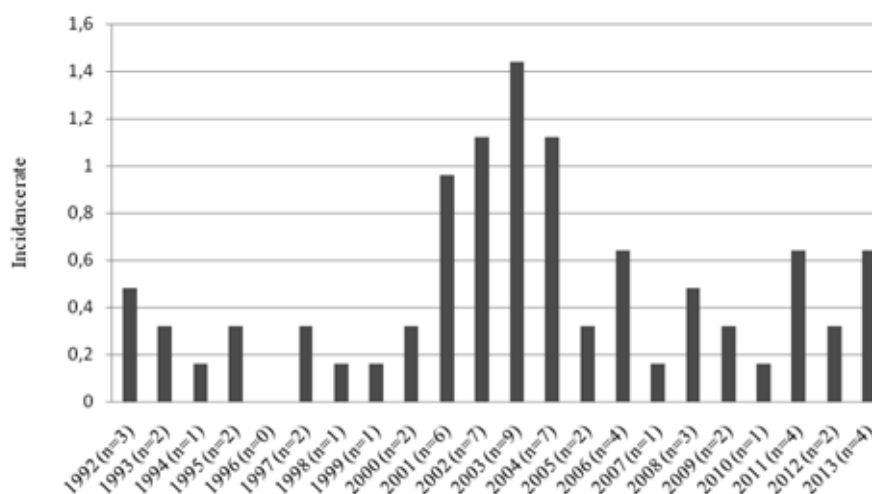
Další studii na vektory přenášené nemoci u psů v Bulharsku provedla Pantchev *et al.* (2015). Testováno bylo 167 domácích, nikoliv toulavých psů z oblasti Stara Zagora, a testování bylo na přítomnost bakterií (*Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, *Babesia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*) i parazitů (*Angiostrongylus vasorum* a *Dirofilaria immitis*), včetně *L. infantum*. Všechny vzorky byly testované imunologicky pomocí ELISA metody, ze které vyšly všechny vzorky negativní až na jeden pozitivní a dva hraniční výsledky, což bylo interpretováno jako „cross-reaction“ s Babesíí, díky vysoké hodnotě anti-*B. canis* protilátek, kterou všechny tři vzorky vykazovaly. Dané tři vzorky byly následně testovány na *L. infantum* ještě pomocí IFA testu, který byl pro všechny jednoznačně negativní. Tyto výsledky jsou však v rozporu s daty ohledně VL u lidí, která má nejvyšší četnost v jižním Bulharsku, tedy právě v této oblasti. To, že by za nulové pozitivní výsledky na *L. infantum* mohly používané repelenty Pantchev, odmítla z důvodu vysokého počtu psů pozitivních na *D. immitis*, který je přenášen komáry, proti kterým jsou tyto repelenty primárně určeny. Jedním z možných vysvětlení může být prostá potravní preference *P. papatasi* a *P. sergenti*, kteří jsou v Bulharsku nejrozšířenější na lidech (Killick-Kendrick & Killick-Kendrick, 1999; Pantchev, 2015). Dalším možným vysvětlením je fakt, že u mnoha psů může nemoc zůstat asymptomatická a pomocí klasických serologických testů ji není možno odhalit, psi jsou seronegativní, odhalí ji až PCR testy (Baneth *et al.*, 2008).

Na zmapování výskytu a diverzity flebotomů v Bulharsku bohužel není udělána žádná současná komplexní studie. Harizanov *et al.* (2013a) uvádí těchto pět druhů, které byly na území Bulharska v minulosti identifikovány: *Phlebotomus papatasi*, *P. sergenti*,

*P. perniciosus*, *P. balcanicus*, a *P. tobbi*. Identifikace *P. perniciosus* je ale sporná, protože jeho klasický areál je v západním Mediteránu (Maroli *et al.*, 2013; Seccombe *et al.*, 1993). Je tedy vysoce nepravděpodobné, že by se tento druh v Bulharsku opravdu vyskytoval. Nejspíš šlo o špatnou identifikaci druhu *P. perfiliewi*, který se na Balkáně vyskytuje hojně.

#### 4.4. Černá Hora

Černá hora patří mezi endemické státy s nízkou incidencí leishmanióz. V období let 1992–2013 bylo celkem zaznamenáno pouze 66 případů. Ač v malém množství, nové případy se zde objevují každoročně, kromě roku 1996, kdy nebyl hlášený žádný případ. Nejvyšší počet nových pacientů byl v letech 2001–2004 stejně tak, jako tomu bylo například v Bulharsku či v Itálii (Medenica *et al.*, 2015).

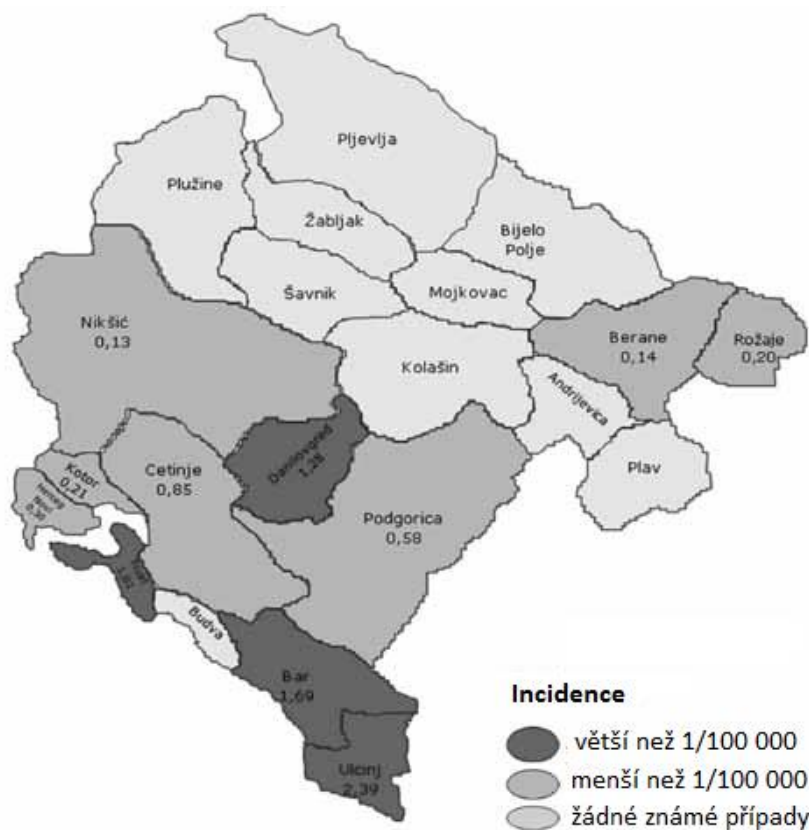


Obrázek 5: Graf incidence VL v Černé Hoře, převzato z Medenica *et al.* (2015)

Zasaženi byli lidé ze všech věkových kategorií (věkový rozptyl 0–62 let), přičemž ale nejvyšší incidenci měly děti do sedmi let života, což odpovídá tomu, že malé děti obecně jsou velmi ohroženou věkovou skupinou z důvodu časté podvýživy a tudíž nedokonalé odpovědi imunitnímu systému (Kumar Chandra, 1997; Medenica *et al.*, 2015).

Z celkového počtu 66 případů bylo 65 určeno jako VL a jeden byl diagnostikován jako KL. Kožní a viscerální leishmanióza může být způsobena tím samým druhem leishmanie a přenášena jedním druhem flebotoma. Díky tomu je velmi nepravděpodobné, že by se v celé Černé Hoře za sledované období vyskytoval pouze jeden člověk trpící KL. Pravděpodobnější je, že lidé, u kterých se tato forma nemoci projevila (třeba jen v lehké formě), nekontaktovali lékaře (Medenica *et al.*, 2015).

Černá hora je administrativně rozdělena na 21 regionů. V 11 z nich byly zaznamenány případy VL, a to hlavně v pobřežních regionech. Nejvíce zasaženy byly regiony Ulcinj a Bar, ze kterého je záznam historicky prvního výskytu VL na území Černé Hory (Ivović *et al.*, 2003).



Obrázek 6: rozšíření VL v Černé Hoře. Převzato a upraveno z Medenica *et al.* (2015).

V regionu Bar byl proveden rozsáhlý terénní sběr flebotomů, který měl za cíl zmapovat druhové zastoupení a ekologii jednotlivých druhů a také najít korelaci mezi výskytem jednotlivých druhů a výskytem VL. Sběr provedl Ivović *et al.* a probíhal v letech 1996–1999 v měsících nejvyšší aktivity flebotomů (1. červenec až 30. srpen). Chytalo se ve čtyřech lokalitách (Zagradje, Stary Bar, Rap a Bartula) a pro odchyt byly použity jak světelné a leповé pasti, tak i ruční aspirátory. Celkem bylo odchyceno 4 770 flebotomů (2 373 samic) pěti druhů. Nejčastěji byl zastoupen *Phlebotomus neglectus* (celkem 60 % ze všech chycených flebotomů), dále *P. tobbi* (16 %), *Sergentomyia minuta* (12 %), *P. papatasi* (11 %) a *P. perfiliewi* (1 %) (V Ivović *et al.*, 2003). Místa, kde byli flebotomové chyceni, se mezidruhově lišila. Například *P. papatasi*, který byl odchycen v lokalitách Zagradje a Stari Bar, byl nalezen pouze uvnitř lidských obydlí, nejčastěji v temných rozích ložnic či obývacích pokojů. Oproti tomu *P. neglectus* byl většinou chycen na osvětlených venkovních zdech domů, v prasklinách či mezerách kamenných zídek nebo v puklinách

kmenů olivovníků. Výskyt *P. perfiliewi* byl poměrně vzácný. Většinou byl chycen, stejně jako *P. tobbi*, blízko osvětlení na vnějších zdech domů a méně často také uvnitř obydlí. *S. minuta* byla také nalezena na osvětlených zdech, ale ve stejném poměru byla chycena také na lepových pastech umístěných v norách hlodavců a plazů (Ivović *et al.*, 2003).

Samice z těchto terénních sběrů byly následně vypitvány a jejich střevo bylo prohlédnuto na přítomnost promastigotů leishmanií. Z celkového počtu 1 493 samic byly pozitivní pouze dvě. Obě byly určeny jako *Phlebotomus neglectus*. Jedna z infikovaných samic byla odchycena ve městě Komina a druhá ve Starém Baru. Obě byly odchyceny začátkem srpna roku 2003 (Ivović *et al.*, 2004).

#### 4.5. Chorvatsko

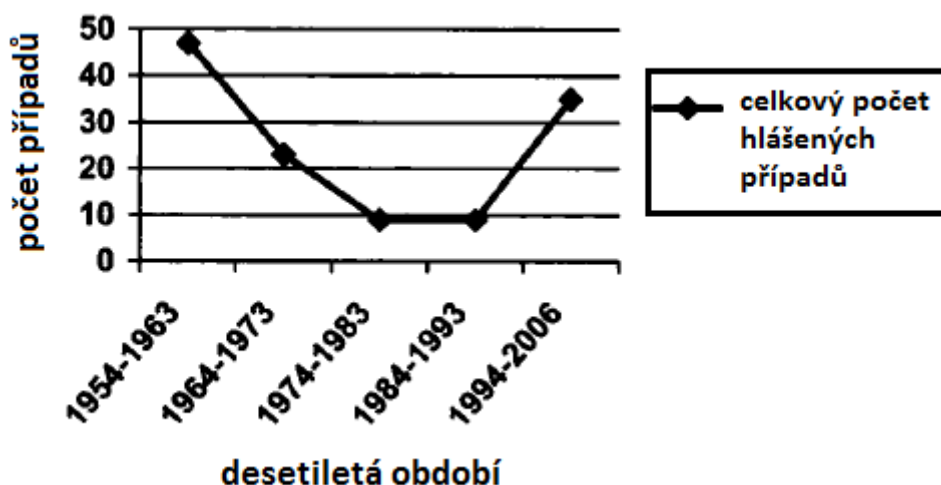
O lidské a psí leishmanióze jsou z pobřežní části jižního Chorvatska záznamy již od roku 1931 (Punda-Polič, 1998). Od té doby až do roku 1957 bylo popsáno celkem 398 případů VL z regionu Dalmácie. Více než 90 % postižených byly děti mladší 10 let s úmrtností 4 %. První výskyt kožní leishmaniózy byl zaznamenán až v roce 1945. Od té doby do roku 1957 bylo celkem hlášeno více než 200 případů KL ze dvou oblastí jižního Chorvatska: Splitu a Makarska (Tartaglia, 1957 v Bosnić *et al.*, 2006). Koncem 50. let počet leishmanióz výrazně klesl, stejně jako tomu bylo například u Albánie a Srbska, z důvodu používání insekticidů jako antimalarického prostředku. (Sever-Prebilić *et al.*, 2002).

V roce 1998 provedl Punda-Polič retrospektivní analýzu záznamů pacientů s diagnózou VL přijatých na Oddělení infekčních nemocí v Univerzitní nemocnici ve Splitu v letech 1975–1997. Zjistil, že během celého sledovaného období bylo na VL diagnostikováno pouze 14 pacientů. Tři případy byly zaznamenány mezi lety 1975–1991 (dva v roce 1983 a jeden v roce 1985). Zbýlých 11 bylo registrováno mezi dubnem roku 1992 a červnem roku 1997, což autor přisuzuje zhoršeným životním podmínkám díky válce. Celkově od poválečného období počet případů roste viz. obrázek 8. Osm ze čtrnácti případů byly děti mladší pěti let, což z leishmaniózy opět dělá hlavně pediatrické onemocnění. Počet nakažených dospělých se ale od roku 1989 v Jižní Evropě stále zvyšuje, a to hlavně kvůli koinfekci HIV/*Leishmania* (Alvar *et al.*, 1997). Ačkoliv Chorvatsko není zemí s příliš vysokým počtem lidí nakažených HIV, kvůli zvyšujícímu se počtu mladých lidí užívajících intravenózně drogy je riziko rozšiřování HIV stále větší (Alvar *et al.*, 1997).

V letech 2007–2009 provedla Šiško-Kraljević *et al.* (2013) serologickou studii, testující lidi z různých oblastí Chorvatska na přítomnost protilátek proti *L. infantum*.

Z celkového počtu 2 035 testovaných osob bez příznaků onemocnění, bylo seropozitivních 231 (11,4 %). Nejčastěji byly seropozitivní děti do věku 9 let. Nejvyšší seroprevalence byla v Centrální Dalmacii (22,2 %) a nejnižší v oblasti Brod-Prosavina (0,0 %). Celkově byla nalezena vysoká kolerace mezi seropozitivitou a bydlištěm lidí v přímořských a ostrovních lokalitách, zejména na jižní části pobřeží. V kontinentální části Chorvatska byla seropozitivní pouze jedna žena ve věku 40 let. Jelikož je tato oblast pro flebotomy neendemická, Šiško-Kraljević *et al.* (2013) předpokládá, že se tato žena nakazila při návštěvě pobřežních oblastí, kam lidé z vnitrozemí jezdí často na dovolenou.

Do roku 2002 nebyly zaznamenány žádné autochtonní případy výskytu leishmaniózy v severní části Chorvatska. Většina všech pacientů pocházela z přímořských a ostrovních oblastí jižního Chorvatska, ze střední a jižní Dalmacie. To z nich dělalo téměř jediné části Chorvatska, které jsou považovány pro leishmanie za endemické (Bosnić *et al.*, 2006; Sever-Prebilić *et al.*, 2002). Ovšem v posledních letech se ojedinělé autochtonní případy objevily i ve kontinentálních částech Chorvatska (Mulić *et al.*, 2009).



Obrázek 7: Hlášené případy leishmaniózy v období 1954-2006, rozdělená na desetiletá období. Převzato a upraveno z Mulić *et al.* (2009).

V zimě roku 2003 byl v jižním Chorvatsku poblíž vesničky Trolokve nalezen mrtvý vlk obecný (*Canis lupus*), který zemřel na následky viscerální leishmaniózy, což bylo zjištěno na základě nalezených amastigotů leishmanií v krevním roztěru ze stehenní žíly (Beck *et al.*, 2008). Jde o první projev patogenních klinických příznaků leishmaniózy u vlka obecného v Chorvatsku. Tento případ byl dosud sice ojedinělým přenosem *L. infantum* z psů na vlky, ovšem je zde potenciální možnost šíření těchto případů a budoucího přenosu zoonotické leishmaniózy na lidi (Beck *et al.*, 2008).

Bosnić *et al.* (2006) provedl tříletou entomologickou studii (2002–2004) mapující výskyt flebotomů pomocí pastí typu Onderstepoort s ultrafialovým (UV) zářením ve třech oblastech jižní Dalmacie: Šibenik–Knin, Split–Dalmacia a Dubrovnik–Neretva. Celkem bylo odchyceno 2 917 flebotomů, identifikováno bylo pět druhů, z nichž čtyři náleželi do rodu *Phlebotomus* a jeden do rodu *Sergentomyia*. Nejrozšířenější byl *P. tobbi*, který byl chycen všude, kromě městečka Komolac (oblast Dubrovnik–Neretva) a *P. neglectus*, kterého se nepodařilo chytit pouze v obci Slivno (oblast Šibenik–Knin). Dalším druhem byla *S. minuta*, která se nejhojněji vyskytovala na ostrově Hvar, kde bylo chyceno také několik *P. mascittii*, což byl úplně první nález tohoto druhu na území bývalé Jugoslávie. Poslední identifikovaný druh byl *P. perfiliewi*. *P. neglectus*, *P. perfiliewi* a *P. tobbi* jsou prokázanými vektory VL.

Studii flebofauny v souvislosti s výskytem ilegálních skládek odpadů provedl Ivović *et al.* (2015), který se věnoval hlavně oblasti Istrie, kde chytal jak na chorvatské, tak na slovinské části poloostrova. Tyto skládky se často nalézají nejen uprostřed lesů či u tranzitních silnic, ale i u lidských obydlí, a kromě odložených spotřebičů a suti často obsahují i odpadky z domácností včetně zbytků jídla. Tím jsou lákavým cílem pro hmyz a drobné hlodavce, kteří jsou známi jako přenašeči různých patogenů a hostitelé pro vektory přenášející patogeny na lidi, včetně flebotomů (Desjeux, 2001). Celkem bylo chyceno 119 jedinců (83 z Chorvatska a 36 ze Slovinska) pěti druhů, kromě již výše zmíněných také *P. perniciosus* (26,5 %), přičemž nejhojněji byla zastoupena *S. minuta* (68,7 %). Ivović provedl také odchyt hlodavců na daných skládkách, na kterých provedl testy na přítomnost leishmanií. Na studovaných lokalitách bylo odchyceno celkem 173 hlodavců (6 *R. rattus*, 76 *M. musculus*, 47 *A. agrarius*, 26 *A. flavicollis* a 18 *A. sylvaticus*). Autor poměr chycených hlodavců v jednotlivých zemích neuvádí. Sleziny těchto hlodavců byly molekulárně testovány pomocí PCR na přítomnost konzervované sekvence v kinetoplastidové DNA, která je přítomna u všech druhů leishmanií, přičemž jedna krysa obecná (*Rattus rattus*) byla na leishmanie pozitivní, všichni ostatní vyšetřovaní hlodavci byli negativní.

#### 4.6. Makedonie

Literární zdroje o leishmanióze a jejích přenašečích v Makedonii jsou nepoččetné. Dle Disease vector ecology profile (1993) se zde v letech 1942–1947 vyskytlo 105 případů

VL a v letech 1960–1969 15 případů VL. Gramiccia *et al.* (2007) uvádí, že zde v letech 2003–2005 bylo zaznamenáno 20 případů VL.

Studii na psí leishmaniózu provedla Stefanovska *et al.* (2012) v různých regionech Makedonie. Pomocí IFAT metody otestovala celkem 144 psů pocházejících jak z vesniček, tak z měst, přičemž pozitivních na *L. infantum* bylo celkem 50 (34,7 %) z nich.

V letech 1970–1981 na několika místech Makedonie provedl Miščević *et al.* (1998) odchyt flebotomů. Ti byli chyceni na 31 z 37 odchytových lokalit poblíž měst Skopje, Kumanovo a Veles. Chycení flebotomové byli identifikováni jako: *P. perfiliewi*, jehož výskyt byl výrazně nejhojnější, *P. papatasi*, *P. neglectus*, *P. tobbi*, *Sergentomyia minuta*, *S. dentata bruchoni*, *P. simiçi* a *P. chinensis balcanicus*, který se v dnešní době již považuje za samostatný druh *P. balcanicus*, nikoliv jako poddruh *P. chinensis* (Seccombe *et al.*, 1993).

#### 4.7. Kosovo

Vzhledem k okolnostem celkem nedávného vzniku této země prakticky není dostupná žádná literatura, zabývající se tamější situací ohledně leishmanióz nebo flebotomů. Jedinou drobnou zmínku uvádí Krüger *et al.* (2011), který provedl odchyt flebotomů v okolí německých vojenských základen v severním Afghánistánu. K jejich analýze použil jako referenční vzorky i 4 jedince chycené v Kosovu, určené jako *P. neglectus*, *P. perfiliewi* a dva jednoho druhu *S. minuta*.

#### 4.8. Rumunsko

V Rumunsku se leishmanióza vyskytuje pouze zcela výjimečně. První případ VL publikoval Manicatide (1912). Další případy VL (celkem 24) byly zaznamenány až v roce 1934 v regionu Oltenia. V následujících letech 1944–1955 bylo hlášeno 26 autochtonních případů lidské leishmaniózy, všechny z jižního Rumunska (Găman *et al.*, 2010). KL se v Rumunsku také sporadicky vyskytuje, nicméně jde o případy importované z endemických oblastí. První případy KL jsou datovány z roku 1976 a 1978, kdy nemoc propukla u tří dívek po návratu z Alžírsko (Palage, 1978 v Neghina *et al.*, 2011). Mezi lety 1969–1998 nejsou známy žádné autochtonní případy lidských leishmanióz na území Rumunska. Otevření rumunských hranic po pádu komunismu ale způsobilo zavlečení této nemoci zpět. Díky narůstající migraci místních obyvatel na jih za prací, je od roku 1999 hlášeno 19 importovaných případů VL (Mircean *et al.*, 2014). Další ojedinělý případ lidské leishmaniózy byl zaznamenán až v roce 2013. Pacient pocházel ze severovýchodní části



Rumunska a v minulosti nikdy nebyl v zahraničí, pouze cestoval do jižnějších oblastí Rumunska (Gogoase, 2013 v Mircean *et al.*, 2014).

Psí leishmanióza byla na území Rumunska poprvé zaznamenána v roce 1934 (Mihăilescu 1934 v Mircean *et al.*, 2014), ale žádné rozsáhlejší studie nebyly provedeny. Jedinou studii na psí vektorem přenášené nemoci provedl Hamel *et al.* (2012). Ten testoval molekulárně (PCR) i sérologicky (IFAT) 216 psů z Rumunska a Maďarska importovaných do Německa na přítomnost parazitů i bakterií a mimo jiné i na přítomnost leishmanií. Z celkového počtu bylo na leishmanie pozitivních pouze šest jedinců (2,8 %), přičemž dva z nich pocházeli z Maďarska.

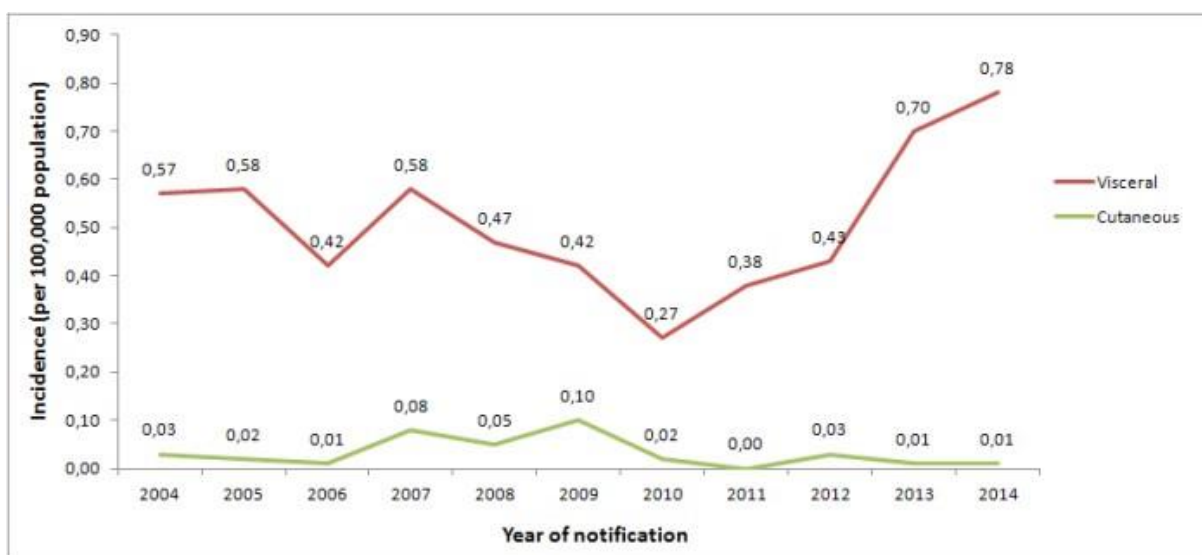
Na výskyt flebotomů v Rumunsku není příliš mnoho publikací. Dle Dancesco (2008) se v Rumunsku vyskytuje osm druhů flebotomů: *P. neglectus*, *P. perfiliewi*, *P. papatasi*, *P. longiductus*, *P. balcanicus*, *P. sergenti*, *P. alexandri* a *S. minuta*. Synantropní je pouze *P. papatasi*, který se vyskytuje hlavně uvnitř či v blízkosti lidských obydlí, ostatní druhy se vyskytují volně v přírodě nezávisle na člověku, například v puklinách skal či v jeskyních, v hlodavčích norách i v ruinách starých domů. Prokázanými přenašeči *L. infantum* jsou zástupci podrodu *Larrousius* *P. perfiliewi* a *P. neglectus*.

#### 4.9. Řecko

První zmínky o výskytu leishmanióz jsou v Řecku datovány již v roce 1835 z ostrova Spetses. Nemoci, v té době neznámé příčiny, která postihovala hlavně děti a často končila letálně, místní obyvatelé říkali „ponos“ (bolest). Nemoc podobných příznaků byla zaznamenána na ostrově Hydra v roce 1881, kde ji místí nazývali „tsanaki“. Obě nemoci byly začátkem 20. století identifikovány jako VL (Chaniotis *et al.*, 1994). Do 40. let dvacátého století byla VL a KL běžná na mnoha územích Řecka, během druhé světové války se ale incidence leishmanióz na delší dobu rapidně snížila v souvislosti s používáním DDT. Od 80. let ale zaznamenáváme opětovný nárůst případů jak u lidí, tak u psů (Ntais *et al.*, 2013). Nejvyšší koncentrace výskytu leishmanióz je v okolí Athén (Ivović *et al.*, 2007). V letech 1951–1979, kdy byla provedena epidemiologická studie, bylo v Řecku zaregistrováno celkem 1 415 případů, z nichž jedna třetina byla autochtonní v Athénách a jejich nejbližším okolí (Tselentis *et al.*, 1994). Dle údajů řeckého ministerstva zdravotnictví bylo v okolí Athén v letech 1962–1992 nahlášeno dalších 1 005 případů. Po detailnějším prozkoumání bylo zjištěno, že většina (90 %) případů je koncentrována v oblastech kolem bývalých lomů: Mount Egaleo, Mount Hymettus a kopce Tourkovounia

(Tselentis *et al.*, 1994), které se nachází na periferii Athén. Tyto lomy flebotomům slouží jako ideální lůhniště, jelikož je zde spousta mikrohabitatů ve škvírách a otvorech, ideálních pro život larev, a zároveň jsou tato místa častým útočištěm pro toulavé psy zajišťující zdroj krve pro samice flebotomů.

Maltezou *et al.* (2000) provedl retrospektivní studii (1986–1998) v jižním Řecku, kde se zabýval hlavně dětskými případy VL. Více než polovina (56 %) dětí pocházela z Athén či kopců obklopujících Athény. Mezi 82 nakaženými dětmi bylo i 12 imigrantů, převážně z Albánie, ale také z Ruska a Afriky. Další studie byla během let 1994–2001 provedena v severozápadním Řecku v regionu Epiros (Papadopoulou *et al.* 2005) a byla zaměřena jak na lidské, tak na psí leishmaniózy. Testované byly subjekty jak s podezřením na leishmaniózu, tak bez klinických příznaků. Z 1 200 zdravých HIV negativních dobrovolníků bylo na VL sérologicky pozitivních šest lidí, mezi nimiž bylo i jedno dítě (10 let). Sérologické testy také potvrdily VL u 14 ze 111 pacientů s předchozím podezřením na leishmaniózu. Osm z nich byli imigranti z Albánie z vesničky poblíž hranic s Řeckem, zbytek byli obyvatelé řecké pohraniční vesničky Filiates. Leishmanióza byla také sérologicky potvrzena u 293 z 1 200 zdravých psů a u 159 z 350 psů s klinickými příznaky.



Obrázek 8: Průměrná roční incidence (vztaženo na 100 000 obyvatel) leishmanióz v Řecku v letech 2004–2014, převzato z <http://www2.keelpno.gr/blog/?p=6401&lang=en>

V dnešní době jsou leishmaniózy rozšířeny už téměř po celém území Řecku a incidence zvláště VL má již delší dobu rostoucí charakter (viz obrázek 9). V letech 2005–2010 Ntais *et al.* (2013) uvádí celkem 326 autochtonních a jeden importovaný

případ leishmaniózy v Řecku, přitom VL bylo 297 a KL 30. Nejčastěji byli postiženi pacienti ve věku 15–64 let, majoritně muži (více než 70 %) a pouze jeden z nich byl současně pozitivní na HIV. Na leishmaniózy bylo sérologicky testováno i 5 772 psů jak domácích, tak toulavých, přičemž celkem 22,09 % bylo seropozitivních. Prevalence se lišila v rámci regionů, v některých dosahovala až 50 %; rozdíl byl také mezi toulavými a domácími psy, kde prevalence u toulavých psů byla o necelých 10 % vyšší (Ntais *et al.*, 2013). U 47 lidských pacientů se ze vzorku tkáně podařilo izolovat parazita, který byl u 45 případů VL identifikován jako *L. infantum* a u dvou případů KL jako *L. tropica*. Z psích vzorků bylo identifikováno 164 jako *L. infantum* a jeden jako *L. tropica*, která je ovšem považována pro Řecko za endemickou pouze na Krétě. Z jiných oblastí Řecka dosud nejsou dostupné žádné materiály, dokazující, že by byla *L. tropica* rozšířena i tam (Ntais *et al.*, 2013).

Na přítomnost leishmanií byly v Řecku testovány kromě psů také lišky (*Vulpes vulpes*) (Karayiannis *et al.*, 2015) a zajáci (*Lepus europaeus*) (Tsokana *et al.*, 2016), kteří mohou být sekundárními rezervoáry pro *L. infantum* (Jaffe *et al.*, 2004; Molina *et al.*, 2012). Otestováno bylo celkem 47 lišek z oblasti Fthiotida nacházející se v jižním Řecku (Karayiannis *et al.*, 2015), kde se každoročně vyskytne okolo pěti případů VL (Ntais *et al.*, 2013). Odebrány byly vzorky krve, sleziny či lymfatických uzlin a byly testovány molekulárně pomocí PCR na přítomnost genu ITS1, přičemž pozitivních bylo celkem 28 vzorků lišek (59,5 %). Toto je sice celkem vysoká prevalence, ale možnost přenosu leishmaniózy z lišek na lidi dosud nebyla prokázána (Karayiannis *et al.*, 2015). Studii leishmaniózy u zajíců (*Lepus europaeus*) provedl Tsokana *et al.* (2016). Během let 2007–2011 otestoval pomocí PCR celkem 166 vzorků slezin zajíců ze dvou oblastí severního Řecka (Chalkidiki a Thessaloniki). Na přítomnost DNA leishmanií bylo pozitivních 39 (23,5 %) vzorků, což je v Řecku první pozitivní nález leishmanií u zajíců.

Nejnovější studii flebofauny v Řecku provedla Chaskopoulou *et al.* (2016) v létě (květen až říjen) roku 2011. Tato studie ale nezahrnovala celé Řecko, pouze oblast kolem Soluně. Celkově bylo pomocí CDC a lepových pastí chyceno 78 069 flebotomů šesti druhů: *P. perfiliewi*, *P. simici*, *P. tobbi*, *P. papatasi*, *Sergentomyia minuta* a *S. dentata*, přičemž nejhojněji byli zastoupeni *P. perfiliewi* (77,6 %) a *P. simici* (16,8 %). Daleko obsáhlejší studii flebotomů v Řecku provedl Ivović *et al.* (2007) v letech 1999–2004 na čtrnácti místech kontinentálního Řecka a na čtyřech řeckých ostrovech (Kefalonie, Kréta, Rhodos a Samos). Tato místa byla vytipována na základě údajů z oficiální národní výroční zprávy

(Official Annual Country Report) pro rok 1998 o nejvyšší incidenci VL v Řecku. Pro odchyt byly použity světelné a leповé pasti i pasti typu Onderstepoort s UV zářením a chyceno bylo celkem 8 688 flebotomů, které identifikoval jako deset druhů: *P. neglectus*, *P. perfiliewi*, *P. tobbi*, *P. papatasi*, *P. similis*, *P. alexandri*, *P. balcanicus*, *P. mascittii*, *S. minuta* a *S. dentata*. Nejhojněji zastoupeni byli *P. neglectus* a *P. perfiliewi* následováni *P. similis*. Geograficky nejrozšířenější ale byli *P. perfiliewi* a *P. tobbi*, prokázání vektorů VL, kteří byli chyceni na 12 z celkových 18 odchyťových míst. Na druhou stranu *P. mascittii* byl chycen pouze na Krétě. Z novějších analýz ale vyšlo najevo, že tento chycený druh původně určený jako *P. mascittii* je ve skutečnosti jiný, nově popsáný druh *P. killicki* (Kasap *et al.*, 2015).

Kréta je spolu s Athénami hlavní endemickou oblastí přenosu viscerální i kožní leishmaniózy v Řecku (Ivović *et al.*, 2007). Vyskytují se tu dva druhy leishmanií: *L. infantum* přenášená *P. neglectus* a *L. tropica*, jejímž předpokládaným vektorem je *P. similis* (Christodoulou *et al.*, 2012), nicméně geograficky se k Balkánu již řadit nedá, a proto je zde uvedena pouze okrajově v rámci Řecka.

#### 4.10. Slovinsko

V minulosti Slovinsko patřilo mezi pro leishmaniózu endemické státy. Žádná současná studie ale na výskyt leishmanióz ve Slovinsku nebyla provedena, tudíž je nynější endemická Slovinska diskutabilní (Gramiccia *et al.*, 2007).

Odchyty flebotomů v rámci studie mapující souvislost jejich výskytu s ilegálními skládkami odpadu provedl Ivović *et al.* (2015), který se zaměřil na lokality jak ve Slovinsku, tak také Chorvatsku (blíže popisují v kapitole 4.5). Odchyt byl proveden pomocí CDC a BG-Sentinel pastí. Ve Slovinsku bylo chyceno 36 flebotomů identifikováno jako pět druhů: *P. papatasi* (44,4 %), *P. perniciosus* (38,9 %), *P. mascittii* (8,3 %), *P. neglectus* (5,6 %) a *Sergentomyia minuta* (2,8 %). Všichni tito flebotomové byli chyceni na zabydlených i nezabydlených místech poblíž skládek, až na *P. papatasi*, který byl chycen také na farmě ve Slovinské vesničce Velike Žablje. Chycené samice byly molekulárně testovány pomocí PCR na přítomnost konzervované sekvence v kinetoplastidové DNA, která je přítomna u všech druhů leishmanií, ale žádná testovaná samice nebyla pozitivní. Jak už bylo zmíněno v kapitole 4.5, současně bylo na studovaných lokalitách odchyceno celkem 173 hlodavců pěti druhů a odebrané sleziny byly testovány na přítomnost DNA leishmanií stejným protokolem jako u samic flebotomů. Autor neuvádí přesný původ

těchto odchytnům, není tedy jasné, kolik z uvedených hlodavců bylo odchytno na slovinských lokalitách, nicméně jediný na leishmanie pozitivní kus (*Rattus rattus*) pocházel z Chorvatska (Ivović *et al.*, 2015).



Obrázek 9: mapa poloostrova Istrie ukazující místa s výskytem ilegálních skládek odpadu, převzato z (Ivović *et al.*, 2015)

#### 4.11. Srbsko

V poválečné dekádě (1945–1955) výskyt leishmaniózy v Srbsku (tehdy v rámci Jugoslávie) kolísal. V následujících třech letech bylo zaznamenáno 17 případů VL (Milovanovic *et al.*, 1960 v Dakic *et al.*, 2009), což byl oproti předchozím rokům velmi malý počet. Náhlé snížení počtu případů je podobně jako v Albánii připisováno použití insekticidů k eradikaci malárie. Další záznamy o VL v Srbsku jsou z let 1968 a 1969, kdy byly zaznamenány ojedinělé případy v Niši (jihovýchodní Srbsko). Podle epidemiologických dat v období 1991 až 2000 bylo v Srbsku (a Černé Hoře) hlášeno dalších 38 autochtonních a jeden importovaný případ VL (Dakic *et al.*, 2009).

Dakic *et al.* (2009) také provedl diagnostickou studii na lidech podezřelých na VL. Tato studie pokryla období od ledna 2001 do prosince 2007 a celkově zahrnovala 134 pacientů podezřelých na VL. Testovány byly vzorky kostní dřeně a dohromady bylo zjištěno 22 pozitivních pacientů na VL. Další případ se objevil až v květnu roku 2011, kdy

byl na Hematologické klinice hospitalizován 58 letý muž z kraje Niš s podezřením na HIV/VL koinfekci, které se také potvrdilo (Marjanović *et al.*, 2012).

Na prevalenci leishmanióz u psů provedla studii Savić *et al.* (2014). V letech 2009–2013 bylo otestováno celkem 551 psů pomocí serologických ELISA testů. Na leishmanie bylo pozitivních 220 (40 %) z nich. Další studii provedl Ćirović *et al.* (2014) na šakalech (*Canis aureus*), kteří jsou považováni za potencionální přenašeče leishmanióz (Khan *et al.*, 2012). Stavby těchto zvířat se v Srbsku od 80. let zvyšují (Milenković, 2003 v Ćirović *et al.* 2014), takže dnes se vyskytují na více než polovině rozlohy státu a jejich oportunistické potravní zvyky je přivádějí do blízkosti lidských obydlí, což zvyšuje jejich epidemiologický význam potenciálního rezervoárového hostitele leishmaniózy. Ve studii byly vyšetřovány různé tkáně (slezina, játra, plíce, srdce, ledviny) zvířat původem z dvanácti lokalit, pokrývajících většinu Srbska. Z počtu 216 zvířat, testovaných pomocí real-time PCR, zaměřené na gen pro malou podjednotku ribozomální RNA (SSU rRNA), bylo 15 (6,9 %) pozitivních na přítomnost DNA leishmanií.

Další čtyřletou (2010–2013) studii provedl Ćirović *et al.* (2014) na přítomnost leishmanií u šakalů (*Canis aureus*). Šakali jsou hlavně lovci, ovšem v případě nouze nepohrdnou ovocem či zbytky jídel, které najdou v odpadcích (Ćirović *et al.*, 2014b). Díky tomu, že jsou to psovité šelmy a tomuto oportunisticky blízkému vztahu k člověku, lze předpokládat jejich možná role jako rezervoárů pro přenos leishmanií na člověka (Jaffe, *et al.*, 2004). Z celkem 216 odebraných vzorků slezin šakalů, které Ćirović *et al.* (2014) otestoval pomocí Real-time PCR, bylo pozitivních 16 (6,9 %).

V oblasti kolem Niši byly prováděny odchyty flebotomů, kteří byli identifikováni jako *Phlebotomus major*, *P. simiíci* a *P. perfiliewi* (Petrović *et al.*, 1980 v Dakic *et al.*, 2009). Další odchyt flebotomů provedl Miščević *et al.* (1998) na 18 lokalitách v jižním Srbsku mezi lety 1969–1999. Identifikováno bylo osm druhů: *P. papatasi*, *P. perfiliewi*, *P. neglectus (major)*, *P. tobbi*, *P. simiíci*, *P. sergenti*, *P. chinensis balcanicus*, dnes již známý jako samostatný druh *P. balcanicus* (Seccombe *et al.*, 1993), a *Sergentomyia minuta*.

#### 4.12. Turecko

Turecko je velmi rozlehlá země rozkládající se na území Asie a jihovýchodní Evropy a z hlediska epidemiologie leishmanióz má značný význam, neboť je zde v různých regionech zdokumentována řada ohnisek, v nichž je do přenosu leishmanióz zapojeno několik druhů z bohaté turecké flebofauny (Svobodová *et al.*, 2009; Volf *et al.*, 2002).

Evropská část Turecka, region Thrákie, který se řadí k Balkánu, však zabírá pouze méně než 5 % celkové rozlohy, ve své práci proto uvádím jen stručné informace, které se vztahují k ní.

Studii na detekci leishmanií a flebovirů ve flebotomech provedl v tomto regionu Ergunay *et al.* (2014). Chytil na čtyřech lokalitách v oblastech Edirne a Tekirdag v turecké Thrákii a v sedmnácti lokalitách na Kypru. Celkově bylo chyceno 2 690 flebotomů, z nichž většina byla chycena na Kypru (84,6 %) a pouze malé množství v Turecku (15,4 %). Morfologická identifikace flebotomů z Kypru prokázala přítomnost osmi druhů: *P. perfiliewi sensu lato* (72,6 %), *P. tobbi* (19,7 %), *P. papatasi* (2,8 %), *Laroussius sp.* (1,6 %) a *S. azizi* (1,6 %), *Sergentomyia sp.* (0,9 %), *S. minuta* (0,5 %) a *P. jacusieli* (0,1 %). Zbytek jedinců byl rozdělen do poolů pro detekci leishmanií a flebovirů pomocí PCR. Žádný z poolů z Thrákie nebyl na leishmanie pozitivní (Ergunay *et al.*, 2014).

## 5. Diskuze a závěr

Ve své práci jsem se pokusila shrnout dostupné informace o výskytu a přenosu leishmanií a nahlédnout do problematiky druhového zastoupení a areálu výskytu flebotomů v jednotlivých balkánských zemích. Při psaní jsem narazila na několik problémů. Hned prvním z nich byla samotná definice Balkánu a polemika, které země jsou balkánské a které už nikoliv. Definice je totiž mnoho a záleží na tom, z jakého hlediska (historického, geografického, kulturního, náboženského) se na něj nahlíží. Já jsem vzala v potaz geografické hranice Balkánského poloostrova dle Jelavich (2009) vytyčené ze severu řekami Dunaj, Sáva a Soča a zahrнула jsem celé státy, jejichž území je úplně nebo částečně pod touto hranicí. Dalším problémem byla dostupnost literatury. Mnoho studií bylo provedeno v druhé polovině minulého století a v současnosti nové práce nebyly publikovány nebo vyšly pouze v národním jazyce v obtížně dostupném periodiku, což mi znemožnilo jejich použití. V některých státech dokonce žádné studie publikovány nebyly. Například z Bosny a Hercegoviny jsem nenašla jedinou práci mapující situaci leishmanií či flebotomů, ačkoliv se jedná o polohou významnou oblast obklopenou pro leishmanie endemickými státy. Dá se tedy předpokládat, že flebotomové a zřejmě i leishmanie se zde s největší pravděpodobností vyskytovat budou. To samé platí pro Kosovo, i když tam se jedná o mnohem menší oblast a stát s ještě kratší historií samostatnosti.

Nejvíce zasaženou zemí je Albánie s prevalencí 25/100 000 obyvatel, hlavně dětských pacientů. Hned za ní je Řecko s incidencí 0,78/100 000 a Černá Hora s incidencí vyšší než 0,6/100 000 obyvatel. Trend leishmaniózy v jednotlivých zemích byl ale v určitých časových obdobích dost podobný, zvláště v 50. letech minulého století, kdy počet leishmaniózy výrazně klesl na celém území Balkánu díky masivnímu postřiku DDT za účelem eradikovat zde přenašeče malárie. Vymýcení malárie na Balkáně proběhlo úspěšně, ovšem leishmanióza se začala znovu objevovat a rozšiřovat do dalších oblastí. Je otázkou, zda k tomu přispělo i to, že larvální vývoj flebotomů není, na rozdíl od komárů, vázán na vodní prostředí, a minimálně část antimalarických opatření se tak flebotomům vyhnula. Svůj význam má jistě také to, že na rozdíl od antroponotické malárie je leishmanióza zoonózou, jejíž hlavní rezervoárová zvířata jsou velmi běžná. Klasickými rezervoáry pro *L. infantum* v Evropě jsou psi. Důležitou roli v epidemiologii leishmaniózy ale mohou kromě těchto klasických rezervoárů hrát také divoká zvířata. Například v Madridu bylo v minulých letech objeveno velké ohnisko VL, kde zajícovci jako je zajíc iberský (*Lepus granatensis*) a králík divoký (*Oryctolagus cuniculus*), hráli hlavní roli v přenosu leishmanií (García *et al.*, 2014). *L. infantum* již byla v Evropě detekována u psovitých šelem (šakali, lišky, vlci), zajícovců a hlodavců, přičemž největší pozornost je upřena na lišky obecné (*Vulpes vulpes*) díky taxonomické příbuznosti se psy, a také proto, že jsou v Evropě nejběžnějšími volně žijícími šelmami (Millán *et al.*, 2014). Na Balkáně je dosud hlášeno pouze několik případů výskytů leishmanií v divokých zvířatech, jelikož nebylo provedeno mnoho studií zaměřujících se na jejich potenciální roli v přenosu leishmanií. Záznamy jsou například ze Srbska, kde byli nalezeni nakažení šakali (Ćirović *et al.*, 2014); jeden nakažený vlk byl nalezen i v Chorvatsku (Beck *et al.*, 2008), kde Ivović *et al.* (2015) našel také infikovanou krysou. Další záznamy jsou pak už jen z Řecka, kde byly nalezeny nakažené lišky (Karayiannis *et al.*, 2015) a zajáci (Tsokana *et al.*, 2016). Většinou se jedná buď o náhodné nálezy, nebo výsledky lokálních studií. Pokud by záběr těchto studií byl v budoucnu rozšířen, je možné, že odhalí zapojení méně klasických rezervoárových druhů do přenosu leishmaniózy ve větší míře.

Žádné komplexní entomologické studie, které by pokrývaly rozsáhlejší území Balkánu, nebyly v minulosti provedeny. Důvodem je patrně vedle finanční a logistické náročnosti práce v terénu především komplexní a složitá historie této oblasti, včetně nedávno proběhlých opakovaných válečných operací a s nimi související administrativní a socioekonomické změny. Z mnoha států Balkánu jsou informace o výskytu jednotlivých



druhů pouze mozaikovitě a někde chybí úplně, což podtrhuje význam v současnosti probíhajících studií (European Centre for Disease Prevention and Control, VectorNet), které mají za cíl tuto oblast komplexně zmapovat. Z biogeografického hlediska je přitom oblast Balkánu významná, dochází zde totiž ke kontaktu a patrně i překryvu hranic výskytu východních a západních druhů mediteránních flebotomů. Také byl přímo z této oblasti (řecké části Makedonie) v minulosti popsán jeden druh podrodu *Adlerius*, konkrétně *P. balcanicus* Theodor, 1958 (Seccombe *et al.*, 1993).

Podle dostupných literárních údajů o areálu výskytu jednotlivých flebotomů na Balkáně je patrně nejrozšířenějším druhem *P. perfiliewi*, který byl zaznamenán ve všech zemích kromě Slovinska, a *P. papatasi*, jehož výskyt literatura nepotvrzuje pouze v Chorvatsku. Dalšími hojně rozšířenými druhy jsou *P. tobbi* a *S. minuta*, kteří nebyli nalezeni pouze v Rumunsku a Slovinsku, respektive v Albánii a Bulharsku. Posledním významným a hodně rozšířeným druhem je *P. neglectus*, který byl chycen všude až na Bulharsko a Turecko. Zde ovšem dochází díky omezení záběru mé práce výhradně na region Balkánu k určitému zkreslení, neboť *P. neglectus* je mimo oblast balkánské Thrákie v jiných regionech Turecka poměrně běžně zastoupen v rámci výskytu různých druhů komplexu *Phlebotomus major s. l.*, jehož zástupci mají dosud nedořešené geografické rozšíření (Erisoz Kasap *et al.*, 2013). Dle počtu chycených jedinců byl nejhojněji zastoupen *P. perfiliewi*, hned za ním *P. neglectus* a *P. tobbi*, naopak *P. papatasi* je přes šíři výskytu na většině areálu zřejmě spíše nepočtený.

Poměrně rozšířeným druhem je také *P. balcanicus* (Bulharsko, Makedonie, Rumunsko, Řecko, Srbsko), který je předpokládaným vektorem pro přenos *L. infantum* v Srbsku a Řecku (Ivović *et al.*, 2007), ale jehož role na Balkáně zatím nebyla prokázána. Je však známo, že v Gruzii v okolí města Tbilisi, tamějším ohnisku pro VL, kde hlavním přenašečem je *P. kandelakii* (Larrousius), bylo chyceno i několik jedinců *P. balcanicus* (*Adlerius*) pozitivních na *L. infantum* (Giorgobiani *et al.*, 2012).

Za zmínku také stojí *P. mascittii* z podrodu *Transphlebotomus*, který byl nalezen v Chorvatsku, Řecku a Slovinsku. Tento druh jako přenašeč leishmanií nebyl potvrzen, ale uvažuje se o jeho zapojení do přenosu v jižním Německu, kde se několik autochtonních případů VL již objevilo, a kde je vedle sporadicky se vyskytujícího *P. perniciosus* prakticky jediným druhem flebotoma (Naucke *et al.*, 2008). Sporadické nálezy tohoto druhu v různých zemích Balkánu naznačují, že se zřejmě na přenosu leishmanií na člověka ve větší míře podílet nebude. Výskyt ostatních zástupců podrodu *Transphlebotomus*

z Balkánu dosud potvrzen nebyl, díky velmi obtížné morfologické identifikaci (Depaquit *et al.*, 2005) se ovšem vyloučit nedá. Do tohoto podrodu byly tradičně řazeny další dva druhy, *P. canaaniticus* a *P. economidesi*, u nichž se předpokládá výskyt na Blízkém východě, respektive na Kypru. Recentně však byly popsány na základě morfologických i molekulárních znaků dva nové druhy tohoto podrodu, *P. killicki* z Kréty a *P. anaticus* z Turecka, kde byl zároveň zaznamenán sympatrický výskyt s *P. economidesi*, uváděným poprvé mimo Kypr (Kasap *et al.*, 2015). Tyto nové údaje ilustrují, že naše představy o vymezení geografického areálu druhů podrodu *Transphlebotomus* nejsou dosud příliš přesné a je možné, že některý z nově popsaných druhů se vyskytuje i v oblasti Balkánu, kde byl díky velké morfologické podobnosti v minulosti považován za *P. mascittii*.

Nejasný je přesný areál výskytu *P. sergenti* a *P. similis*, dvou sesterských druhů podrodu *Paraphlebotomus*, jelikož díky vysoké míře morfologické podobnosti často dochází k chybnému určení *P. similis* jako *P. sergenti* (Christodoulou *et al.*, 2012). Oba druhy expandovaly v miocénu z původní oblasti ve střední Asii a jejich rozšíření do Evropy proběhlo pravděpodobně odlišně (*P. similis* severní cestou, *P. sergenti* jižní cestou přes Afriku) (Depaquit *et al.*, 2002). *P. sergenti* je zatím jediným potvrzeným druhem z podrodu *Paraphlebotomus*, specifickým pro přenos *L. tropica* (Dostálová & Volf, 2012). Jediné známé ohnisko výskytu této leishmanie v Evropě je na Krétě, kde se ovšem *P. sergenti* nevyskytuje a předpokládá se, že přenašečem je *P. similis* (Christodoulou *et al.*, 2012), který se podle současného pohledu vyskytuje jak na řeckých ostrovech, tak i v pevninském Řecku (Ivović *et al.*, 2007). Celkové vymezení výskytu obou druhů není stále zřejmé a nedá se vyloučit, že *P. similis* zasahuje i do dalších balkánských zemí, z nichž byl v minulosti na základě morfologických znaků uváděn *P. sergenti*.

Lze očekávat, že detailnější studium flebofauny Balkánu přinese přesnější představu o míře výskytu jednotlivých druhů v jednotlivých zemích. Může například dojít k rozšíření dosud sporadicky zaznamenaných druhů ze západního Středomoří, nejspíš k pronikání *P. perniciosus* přes Itálii do Slovinska či většímu rozšíření výskytu *P. kandelakii*, který je potvrzeným vektorem pro leishmanie na Středním východě (Ivović *et al.*, 2015). Je také třeba zmínit, že téměř všechny studie zabývající se výskytem jednotlivých druhů flebotomů na Balkáně vycházely při druhovém určování prakticky výhradně z tradičních klíčů založených na hodnocení morfologických znaků (Lewis, 1982) a nebraly v potaz znaky molekulární, kterých se jinak v současné době využívá ve zvýšené míře (Jérôme Depaquit, 2014). Dá se očekávat, že jejich využití k druhové identifikaci

balkánských flebotomů přinese nové a přesnější poznatky, ať už bude využito DNA barcodingu, který se uplatnil při studiu flebotomů v jiných oblastech světa (Nzelu *et al.*, 2015; Polseela *et al.*, 2015), nebo proteinových profilů pomocí metody MALDI-TOF (Dvorak *et al.*, 2014).

## Použitá literatura

### Primární citace

- Akhoundi, M., Denis, S., Kuhls, K., Cannet, A., Votýpka, J., & Marty, P. (2016). A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies, (March). <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004349>
- Alvar, J., Cañavate C., Gutiérrez-Solar B., Jiménez M., Laguna F., López-Vélez R., Molina R. (1997). Leishmania and Human Immunodeficiency Virus Coinfection : the First 10 Years, *10*(2), 298–319.
- Alvar, J., Bern, C., Desjeux, P., & Cano, J. (2012). Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence, *7*(5). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
- Asato, Y., Oshiro, M., Kaung, C., Yamamoto, Y., Kato, H., Diego, J., Mimori T., Gomez E., Hashiguchi Y., Uezato, H. (2009). Experimental Parasitology Phylogenetic analysis of the genus Leishmania by cytochrome b gene sequencing. *Experimental Parasitology*, *121*(4), 352–361. <http://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.12.013>
- Baidouri, F. El, Diancourt, L., Berry, V., Pratlong, F., Marty, P., & Ravel, C. (2013). Genetic Structure and Evolution of the Leishmania Genus in Africa and Eurasia : What Does MLSA Tell Us, *7*(6). <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002255>
- Baneth, G., Koutinas, A. F., Solano-gallego, L., Bourdeau, P., & Ferrer, L. (2008). Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis : part one, (May). <http://doi.org/10.1016/j.pt.2008.04.001>
- Beck, A., Beck, R., Kusak, J., Gudan, A., Martinković, F., Atruković, B., Hohšteter M., Huber, D., Marinculić A., Grabarević Ž. (2008). A Case of Visceral Leishmaniosis in a Gray Wolf (Canis lupus ) from Croatia, *44*(2), 451–456.
- Bianchi, L., Reali, M. F., Naraci, G., & Martinucci, M. E. (1998). Visceral leishmaniasis in Shkodër, Albania, 2–4.
- Blum, J., Lockwood, D. N. J., Visser, L., Harms, G., Bailey, M. S., Caumes, E., Clerinx J., Thiel P., Morizot G, Hatz CH., Buffet, P. (2012). Local or systemic treatment for New World cutaneous leishmaniasis ? Re-evaluating the evidence for the risk of mucosal leishmaniasis. *International Health*, *4*(3), 153–163. <http://doi.org/10.1016/j.inhe.2012.06.004>
- Bosnić, S., Gradoni, L., Khoury, C., & Maroli, M. (2006). ScienceDirect ELSEVIER A review of leishmaniasis in Dalmatia ( Croatia ) and results from recent surveys on phlebotomine sandflies in three southern counties, *99*, 42–49. <http://doi.org/10.1016/j>

- Ćirović, D., Dimosthenis, Chochlakis, Snežana, T., Sukara, R., Aleksandra, P., Tselentis, Y., & Psaroulaki, A. (2014). Presence of Leishmania and Brucella Species in the Golden Jackal *Canis aureus* in Serbia, 2014. <http://doi.org/10.1155/2014/728516>
- Ćirović, D., Chochlakis, D., Snežana, T., Sukara, R., Penezić, A., Tselentis, Y., & Psaroulaki, A. (2014). Presence of Leishmania and Brucella Species in the Golden Jackal *Canis aureus* in Serbia, 2014. <http://doi.org/10.1155/2014/728516>
- Ćirović, D., Penezić, A., Milenković, M., & Paunović, M. (2014). Winter diet composition of the golden jackal (*Canis aureus* L., 1758) in Serbia, 79, 132–137. <http://doi.org/10.1016/j.mambio.2013.11.003>
- Croan, D. (1996). Phylogenetic relationships between Leishmania, Vianna and Sauroleishmania inferred from comparison of variable domain within the RNA polymerase II largest subunit gene, 79(1996), 97–102.
- Cupolillo, E., Medina-Acosta E., Momen, H., Grimaldi Jr. G. (2000). A Revised Classification for Leishmania and Endotrypanum, 16(4), 0–2.
- Dakic, Z. D., Pelemis, M. R., Stevanovic, G. D., Poluga, J. L., Lavadinovic, L. S., Milosevic, I. S., ... Pavlovic, M. D. (2009). Epidemiology and diagnostics of visceral leishmaniasis in Serbia. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(12), 1173–1176. <http://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02768.x>
- Dancesco, P. (2008). LES ESPECES DE PHLEBOTOMES (DIPTERA:PSYCHODIDAE) DE ROUMANIE , CERTAINS ASPECTS DE LEUR ÉCOLOGIE ET NOUVELLES STATIONS DE CAPTURE, 11, 185–199.
- Depaquit, J., Léger, N., & Ferté, H. (1998). Le statut taxinomique de *Phlebotomus sergenti* P Approches morphologique et morphométrique . *ARR OT*, 1917, vecteur de *Leishmania tropica* (WRIGHT, 1903) et *Phlebotomus similis* PERFILIEV, 1963 (Diptera - Psychodidae), 33(0).
- Depaquit, J., Ferté, H., Léger, N., Hanafi, H., Maroli, M., Morillas-marquez, F., Rioux J.A., Svobodová M., Volf, P. (2002). ITS 2 sequences heterogeneity in *Phlebotomus sergenti* and *Phlebotomus similis* (Diptera, Psychodidae): possible consequences in their ability to transmit *Leishmania tropica*, 32, 1123–1131.
- Depaquit, J., Naucke, T. J., Schmitt, C., Ferté, H., & Léger, N. (2005). A molecular analysis of the subgenus *Transphlebotomus* Artemiev, 1984 (*Phlebotomus*, Diptera, Psychodidae) inferred from ND4 mtDNA with new northern records of *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908, 113–116. <http://doi.org/10.1007/s00436-004-1254-x>
- Depaquit, J. (2014). Infection, Genetics and Evolution Molecular systematics applied to Phlebotomine sandflies: Review and perspectives. *Infection, Genetics and Evolution*, 28, 744–756. <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.10.027>
- Desjeux, P. (2001). The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide, 239–243.
- Desjeux, P., & Alvar, J. (2003). *Leishmania* / HIV co-infections: epidemiology in Europe, 97(1). <http://doi.org/10.1179/000349803225002499>
- Disease vector ecology profile. Defense pest management information analysis center Yugoslav Republic. Second Edition (1993).

- Dostálová, A., & Volf, P. (2012). Leishmania development in sand flies : parasite-vector interactions overview, 1–12. <http://doi.org/10.1186/1756-3305-5-276>
- Dujardin, J. C., Campino, L., Cañavate, C., Dedet, J. P., Gradoni, L., Soteriadou, K., ... Boelaert, M. (2008). Spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 14(7), 1013–1018. <http://doi.org/10.3201/eid1407.071589>
- Dvorak, V., Halada, P., Hlavackova, K., Dokianakis, E., Antoniou, M., & Volf, P. (2014). Identification of phlebotomine sand flies ( Diptera : Psychodidae ) by matrix-assisted laser desorption / ionization time of flight mass spectrometry, 1–7.
- Ergunay, K., Kasap, O. E., Orsten, S., Oter, K., Gunay, F., Zeynep, A., & Yoldar, A. (2014). Phlebovirus and Leishmania detection in sandflies from eastern Thrace and northern Cyprus, 1–13.
- Feliciangeli, M. D. (2004). Natural breeding places of phlebotomine sandflies, 71–80.
- Fraga, J., Margarita, A., Doncker, S. De, Dujardin, J., & Auwera, G. Van Der. (2009). Infection , Genetics and Evolution Phylogeny of Leishmania species based on the heat-shock protein 70 gene §, 10, 238–245. <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.11.007>
- Franco, F. A. L., Morillas-M??rquez, F., Bar??n, S. D., Morales-Yuste, M., G??lvez, R., D??az, V., ... Mart??n-S??nchez, J. (2010). Genetic structure of Phlebotomus (Larrousius) ariasi populations, the vector of Leishmania infantum in the western Mediterranean: Epidemiological implications. *International Journal for Parasitology*, 40(11), 1335–1346. <http://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.03.017>
- Găman, A., Cameli, D., & Găman, G. (2010). A case of visceral leishmaniasis in Oltenia region ( Romania ), 51(2), 391–394.
- García, N., Moreno, I., Alvarez, J., Luisa, M., Cruz, D., Navarro, A., Pérez-Sancho M., García-Seco T., Rodríguez-Bertos A., Conty M. L., Toraño A., Prieto A., Domínguez L., Domínguez, M. (2014). Evidence of Leishmania infantum Infection in Rabbits ( Oryctolagus cuniculus ) in a Natural Area in Madrid , Spain, 2014.
- Giorgobiani, E., Lawyer, P. G., Babuadze, G., Dolidze, N., Jochim, R. C., Tskhvaradze, L., Kikaleishvili K., Kamhawi, S. (2012). Incrimination of Phlebotomus kandelakii and Phlebotomus balcanicus as Vectors of Leishmania infantum in Tbilisi , Georgia, 6(4). <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001609>
- Gossage, S. M., Rogers, M. E., & Bates, P. A. (2003). Two separate growth phases during the development of Leishmania in sand flies : implications for understanding the life cycle, 33, 1027–1034. [http://doi.org/10.1016/S0020-7519\(03\)00142-5](http://doi.org/10.1016/S0020-7519(03)00142-5)
- Gradoni, L. (2013). Epidemiological surveillance of leishmaniasis in the European Union : operational and research challenges, 1–3.
- Gramiccia, M. (2011). Veterinary Parasitology Recent advances in leishmaniosis in pet animals : Epidemiology , diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. *Veterinary Parasitology*, 181(1), 23–30. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.04.019>
- Gramiccia, M., Gradoni, L., Takken, W., & Knols, B. G. J. (2007). *Emerging pests and vector-borne diseases in Europe edited by* : (Vol. 1).
- Guerra J. A., Prestes S. R., Silveira H., Coelho L., Gama P., Moura A., Amato V., Barbosa M. Ferreira

- L. (2011). Mucosal Leishmaniasis Caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in the Brazilian Amazon, *5*(3), 1–5.  
<http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000980>
- Hamel, D., Silaghi, C., & Lescai, D. (2012). Epidemiological aspects on vector-borne infections in stray and pet dogs from Romania and Hungary with focus on *Babesia* spp., 1537–1545.  
<http://doi.org/10.1007/s00436-011-2659-y>
- Harizanov, R., Rainova, I., Tzvetkova, N., Kaftandjiev, I., Bikov, I., & Mikov, O. (2013a). Geographical distribution and epidemiological characteristics of visceral leishmaniasis in Bulgaria, 1988 to 2012, 1–6.
- Harizanov, R. N., Kaftandjiev, I. T., Jordanova, D. P., Marinova, I. B., & Tsvetkova, N. D. (2013b). Clinical features, diagnostic tools, and treatment regimens for visceral leishmaniasis in Bulgaria. <http://doi.org/10.1179/2047773213Y.0000000101>
- Hukić, M., Bešić I. (2009). Sandfly – pappataci fever in bosnia and herzegovina: the new-old disease, *9*(1), 39–43.
- Chaniotis, B., Gozalo Garcia, G., & Tselentis, Y. (1994). Leishmaniasis in greater Athens, Greece. Entomological studies. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, *88*(6), 659–663.
- Chaniotis, B., Spyridaki, I., Scoulika, E., & Antoniou, M. (2000). Colonization of *Phlebotomus neglectus* (Diptera : Psychodidae), the Major Vector of Visceral Leishmaniasis in Greece  
 Colonization of *Phlebotomus neglectus* (Diptera : Psychodidae), the Major Vector of Visceral Leishmaniasis in Greece, *37*(3), 346–348.
- Chaskopoulou, A., Giantsis, I. A., Demir, S., & Claude, M. (2016). Acta Tropica Species composition, activity patterns and blood meal analysis of sand fly populations (Diptera : Psychodidae) in the metropolitan region of Thessaloniki, an endemic focus of canine leishmaniasis. *Acta Tropica*, *158*, 170–176. <http://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.03.006>
- Christodoulou, V., Antoniou, M., Ntais, P., Messaritakis, I., & Ivovic, V. (2012). Re-Emergence of Visceral and Cutaneous Leishmaniasis in the Greek Island of Crete, *12*(3), 214–222.  
<http://doi.org/10.1089/vbz.2011.0004>
- Ivović, V., Ivović, M., & Miscević, Z. (2003). Sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Bar area of Montenegro (Yugoslavia). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, *97*(2), 193–7.  
<http://doi.org/10.1179/000349803235001543>
- Ivovic, V., Depaquit, J., Leger, N., Urano, A., & Papadopoulos, B. (2004). Sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Bar area of Montenegro (Yugoslavia). 2. Presence of promastigotes in *Phlebotomus neglectus* and first record of *P. kandelakii*. *Ann Trop Med Parasitol*, *98*(4), 425–427. <http://doi.org/10.1179/000349804225003352>
- Ivović, V., Patakakis, M., Tselentis, Y., & Chaniotis, B. (2007). Faunistic study of sandflies in Greece. *Medical and Veterinary Entomology*, *21*(1), 121–124.  
<http://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2006.00649.x>
- Ivović, V., Kalan K., Zupan S., Bužan E. (2015). ILLEGAL WASTE SITES AS A POTENTIAL MICRO FOCI OF MEDITERRANEAN LEISHMANIASIS : FIRST RECORDS OF, *65*(3), 348–357.  
<http://doi.org/10.1515/acve-2015-0029>
- Jaffe, C. L., Baneth, G., Abdeen, Z. A., Schlein, Y., & Warburg, A. (2004). Leishmaniasis in Israel and the Palestian Leishmaniasis in Israel and the Palestinian Authority, (August), 5–10.

<http://doi.org/10.1016/j.pt.2004.05.001>

- Jažić A., Zuko A., Čanković M. (1998): Leishmaniasis in dogs in the area of Blagaj (Mostar), Bosnia - Herzegovina. *Giornale Italiano di Medicina Tropicale*, 3,3-4, 59-60. (Workshop on New Trends in Leishmaniasis Epidemiology and Control in the Mediterranean Area, Palermo, 10-13, 1997)
- Jelavich Barbara: History of the Balkans: Eighteenth and Nineteenth Centuries v. 1 Jun 2009
- Karayiannis, S., Ntais, P., Messaritakis, I., & Antoniou, M. (2015). Detection of *Leishmania infantum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Central Greece, 1574–1578. <http://doi.org/10.1017/S0031182015001158>
- Kasap, O. E., Votýpka, J., & Alten, B. (2013). *Acta Tropica* The distribution of the *Phlebotomus major* complex (Diptera : Psychodidae) in Turkey, 127, 204–211. <http://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.05.001>
- Kasap, O., Dvorak, V., Depaquit, J., Alten, B., Votycka, J., & Volf, P. (2015). Infection, Genetics and Evolution Phylogeography of the subgenus *Transphlebotomus* Artemiev with description of two new species, *Phlebotomus anatolicus* n. sp. and *Phlebotomus killicki* n. sp. *Infection, Genetics and Evolution*, 34, 467–479. <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.05.025>
- Khan, M. A. H. N. A., Khanm, S. S., Bashu, J., Rima, U. K., Pervin, M., Hossain, M. Z., Habib M. A., Chowdhury G. A., Hossain, M. M. (2012). VISCERAL LEISHMANIASIS IS ENDEMIC IN GOLDEN JACKALS OF BANGLADESH AGRICULTURAL UNIVERSITY CAMPUS, A THREAT FOR EXPANDING FUTURE ZONOTIC VISCERAL LEISHMANIASIS, 10, 101–109.
- Killick-Kendrick, R. (1999). The Biology and Control of Phlebotomine Sand Flies, (99).
- Killick-Kendrick, R. (2002). Phlebotomine Sand Flies: Biology and control. *Clin Dermatol*, 17(3), 279–289. [http://doi.org/S0738-081X\(99\)00046-2](http://doi.org/S0738-081X(99)00046-2) [pii]
- Killick-Kendrick, R., & Killick-Kendrick, M. (1999). Biology of sand fly vectors of Mediterranean canine leishmaniasis. *Canine Leishmaniasis: An Update. Canine Leishmaniasis: An Update.*
- Krüger, A., Strüven, L., Post, R. J., & Faulde, M. (2011). The sandflies (Diptera : Psychodidae, Phlebotominae) in military camps in northern Afghanistan (2007 – 2009), as identified by morphology and DNA “barcoding,” 105(2), 163–176. <http://doi.org/10.1179/136485911X12899838683241>
- Kuhls, K., Zahangir, M., Cupolillo, E., Ferreira, G. E. M., Isabel, L., Oddone, R., Feliciangeli M. D., Wirth T., Miles, M. A., Schonian G. (2011). Comparative Microsatellite Typing of New World *Leishmania infantum* Reveals Low Heterogeneity among Populations and Its Recent Old World Origin, 5(6), 1–16. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001155>
- Kumar Chandra, R. (1997). Nutrition and the immune system : an introduction, 460–463.
- Lewis, D. J. (1982). A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). *Entomology Series*, 45(2), 121–209.
- Lito, G., Davachi, F., Sulcebe, G., Breg, H., & Basha, M. (2002). Original Report Pediatric visceral leishmaniasis in Albania, 48–50.
- Maltezou, H. C., Sifas, C., Mavrikou, M., Spyridis, P., Stavrinnadis, C., Karpathios, T., & Kafetzis, D. A. (2000). Visceral Leishmaniasis during Childhood in Southern Greece, 1139–1144.

- Mansueto, P., Seidita, A., Vitale, G., & Cascio, A. (2014). ScienceDirect Leishmaniasis in travelers : A literature review. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 12(6), 563–581. <http://doi.org/10.1016/j.tmaid.2014.09.007>
- Marjanović, G., Otašević, S., Dragonjić, L. P., & Kocić, B. (2012). University of Niš, Medical Faculty of Niš, 18000, 64(4), 1271–1276. <http://doi.org/10.2298/ABS1204271M>
- 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. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x>
- Medenica, S., Jovanović, S., Dožić, I., Miličić, B., & Lakićević, N. (2015). Epidemiological Surveillance of Leishmaniasis in, 143, 707–711. <http://doi.org/10.2298/SARH1512707M>
- Millán, J., Ferroglio, E., & Solano-gallego, L. (2014). Role of wildlife in the epidemiology of *Leishmania infantum* infection in Europe, 2005–2014. <http://doi.org/10.1007/s00436-014-3929-2>
- Mircean, V., Dumitrache, M. O., Mircean, M., Bolfa, P., Györke, A., & Mihalca, A. D. (2014). Autochthonous canine leishmaniasis in Romania : neglected or ( re ) emerging ?, 1–3. <http://doi.org/10.1186/1756-3305-7-135>
- Miščević, Z., Milutinović, M., & Ivović, V. (1998). Fauna and distribution of Sandflies (diptera, phlebotomidae) in Yugoslavia, Croatia, Macedonia and their role in the transmission of parasitic and viral Diseases, 619(05).
- Moncaz, A., Kirstein, O., Gebresellassie, A., Lemma, W., Yared, S., Gebre-michael, T., Hailu A., Shenker M., Warburg, A. (2014). Acta Tropica Characterization of breeding sites of *Phlebotomus orientalis* – The vector of visceral leishmaniasis in northwestern Ethiopia. *Acta Tropica*, 139, 5–14. <http://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.06.013>
- Monge-Maillo, B. (2013). Therapeutic Options for Old World Cutaneous Leishmaniasis and New World Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis, 1889–1920. <http://doi.org/10.1007/s40265-013-0132-1>
- Mulić, R. (2009). Occurrence of Visceral and Cutaneous Leishmaniasis in Croatia.
- Naucke, T. J., Menn, B., Massberg, D., & Lorentz, S. (2008). Sandflies and leishmaniasis in Germany, 65–68. <http://doi.org/10.1007/s00436-008-1052-y>
- Neghina, R., Neghina, A. M., & Marincu, I. (2011). Epidemiology and history of human parasitic diseases in Romania, 1333–1346. <http://doi.org/10.1007/s00436-011-2256-0>
- Ntais, P., Sifaki-pistola, D., Christodoulou, V., Messaritakis, I., Pralong, F., Poupalos, G., & Antoniou, M. (2013). Leishmaniasis in Greece, 89(5), 906–915. <http://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0070>
- Nzelu, C. O., Cáceres, A. G., Arrunátegui-jiménez, M., Yañez-Trujillano H., Luna-Caipo D., Holguín-Mauricci C., Katakura K., Hashiguchi Y., Kato, H. (2015). Acta Tropica DNA barcoding for identification of sand fly species ( Diptera : Psychodidae ) from leishmaniasis-endemic areas of Peru, 145, 45–51. <http://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.02.003>
- Omeragić J., Hrvat H., Crnkčić Ć.: Occurrence of protozoa in dogs in the area of Tuzla. International Congress “One World - One Health - One Vision”, Sarajevo, B&H, 2015



- Pace, D. (2014). Leishmaniasis, 10–18. <http://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.07.016>
- Pantchev, N. (2015). *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, in Bulgaria, 114, 117–130. <http://doi.org/10.1007/s00436-015-4518-8>
- Papadopoulou, C., Kostoula, A., Dimitriou, D., & Panagiou, A. (2005). Human and canine leishmaniasis in asymptomatic and symptomatic population in Northwestern Greece, 53–60. <http://doi.org/10.1016/j.jinf.2004.05.004>
- Pennisi, M. G. (2015). Veterinary Parasitology Leishmaniosis of companion animals in Europe : An update. *Veterinary Parasitology*, 208(1-2), 35–47. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.023>
- Pérez-Ayala, A. (2009). Imported Leishmaniasis: A Heterogeneous Group of Diseases , 16(6), 395–401. <http://doi.org/10.1111/j.1708-8305.2009.00341.x>
- Petrela, R., Kuneshka, L., Foto, E., Zavalani, F., & Gradoni, L. (2010). Pediatric Visceral Leishmaniasis in Albania : A Retrospective Analysis of 1 , 210 Consecutive Hospitalized Patients ( 1995 – 2009 ), 4(9). <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000814>
- Pigott, D. M., Brady, O. J., Myers, M., Bhatt, S., Golding, N., & Duda, K. A. (2014). Global distribution maps of the Leishmaniases Global distribution maps of the leishmaniases, (JUNE). <http://doi.org/10.7554/eLife.02851>
- Pipero, P., & Meta, E. (2014). Healthcare Epidemiological Features of Visceral Leishmaniosis in Albania, (July), 91–100.
- Poiseela, R., Jaturas, N., Thanwisai, A., & Sing, K. (2015). Towards monitoring the sandflies ( Diptera : Psychodidae ) of Thailand : DNA barcoding the sandflies of Wihan Cave , Uttaradit Towards monitoring the sandflies ( Diptera : Psychodidae ) of Thailand : DNA barcoding the sandflies of Wihan Cave , Uttaradit, 1736(September), 0–7. <http://doi.org/10.3109/19401736.2015.1082085>
- Punda-Polič, V. (1998). Visceral leishmaniasis in southern Croatia, 351, 21000.
- Sádlová, J. (1999). The life history of *Leishmania* (Kinetoplastid: Trypanosomatidae). *Acta Zool. Bohem.* 63: 331-366
- Savić, S. (2014). Emerging vector-borne diseases – incidence through vectors, 2(December), 1–4. <http://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00267>
- Seccombe, A. k, Ready, P. D., & Huddleston, L. M. (1993a). A • Catalogue of Old World Phlebotomine, (8) . *Occ. Pap. Syst. Ent*, 8(8), 1–60.
- Sever-Prebilić, M., Prebili, I., Doki, S., & Ivani, N. (2002). A Case of Visceral Leishmaniasis in the Northern Adriatic Region, 26, 545–550.
- Sharma, U., & Singh, S. (2008). Insect vectors of *Leishmania*: Distribution, physiology and their control. *Journal of Vector Borne Diseases*, 45(4), 255–272.
- Schonian, G., Mauricio, I., & Cupolillo, E. (2010). Is it time to revise the nomenclature of *Leishmania* ? <http://doi.org/10.1136/bmj.c1350>.
- Simpson, A. G. B., Gill, E. E., Callahan, H. A., Litaker, R. W., & Roger, A. J. (2004). Early Evolution within Kinetoplastids ( Euglenozoa ), and the Late Emergence of Trypanosomatids,

155(December), 407–422.

Stefanovska, J., Farkas, R., & Kochevski, Z. (2012). Prevalence of some vector born diseases in dogs in R M.pdf.

Svobodová, M., Alten B., Zídková L., Dvořák, V., Hlavačková, J., Myšková J., Šeblová V., Kasap, O. E., Belen A., Votýpka J., Volf P. (2009). Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* transmitted by *Phlebotomus tobbi* q, 39, 251–256. <http://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.06.016>

Šiško-Kraljević, K., Jerončić, A., & Mohar, B. (2013). Asymptomatic *Leishmania infantum* infections in humans living in endemic and non-endemic areas of Croatia, 2007 to 2009, 1–8.

Teixeira, D. E., Benchimol, M., Rodrigues, J. C. F., & Crepaldi, P. H. (2013). The Cell Biology of *Leishmania* : How to Teach Using Animations, 9(10), 8–11. <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003594>

Tsatchev, I., Kyriazis, I. D., Boutsini, S., Karagouni, E., & Dotsika, E. (2010). First report of canine visceral leishmaniasis in Bulgaria, 34(5), 465–469. <http://doi.org/10.3906/vet-0905-16>

Tselentis, Y., Gikas, A., & Chaniotis, B. (1994). Kala-azar in Athens basin, 8913.

Tsokana, C. N., Sokos, C., Giannakopoulos, A., Mamuris, Z., & Birtsas, P. (2016). First evidence of *Leishmania* infection in European brown hare (*Lepus europaeus*) in Greece : GIS analysis and phylogenetic position within the *Leishmania* spp, 313–321. <http://doi.org/10.1007/s00436-015-4749-8>

Velo, E., Parassitologia, L., & Superiore, I. (2003). VISCERAL Has, (August 2001), 288–290.

Velo, E., Papparisto, a, Bongiorno, G., Di Muccio, T., Khoury, C., Bino, S., Gramiccia S., Gradoni I., Maroli, M. (2005). Entomological and parasitological study on phlebotomine sandflies in central and northern Albania. *Parasite (Paris, France)*, 12(1), 45–49.

Volf, P., Ozbel, Y., Akkafa, F., Svobodová, M., Votýpka, J., & Chang, K. P. (2002). Sand flies (Diptera: Phlebotominae) in Sanliurfa, Turkey: relationship of *Phlebotomus sergenti* with the epidemic of anthroponotic cutaneous leishmaniasis. *Journal of Medical Entomology*, 39(1), 12–15. <http://doi.org/10.1603/0022-2585-39.1.12>

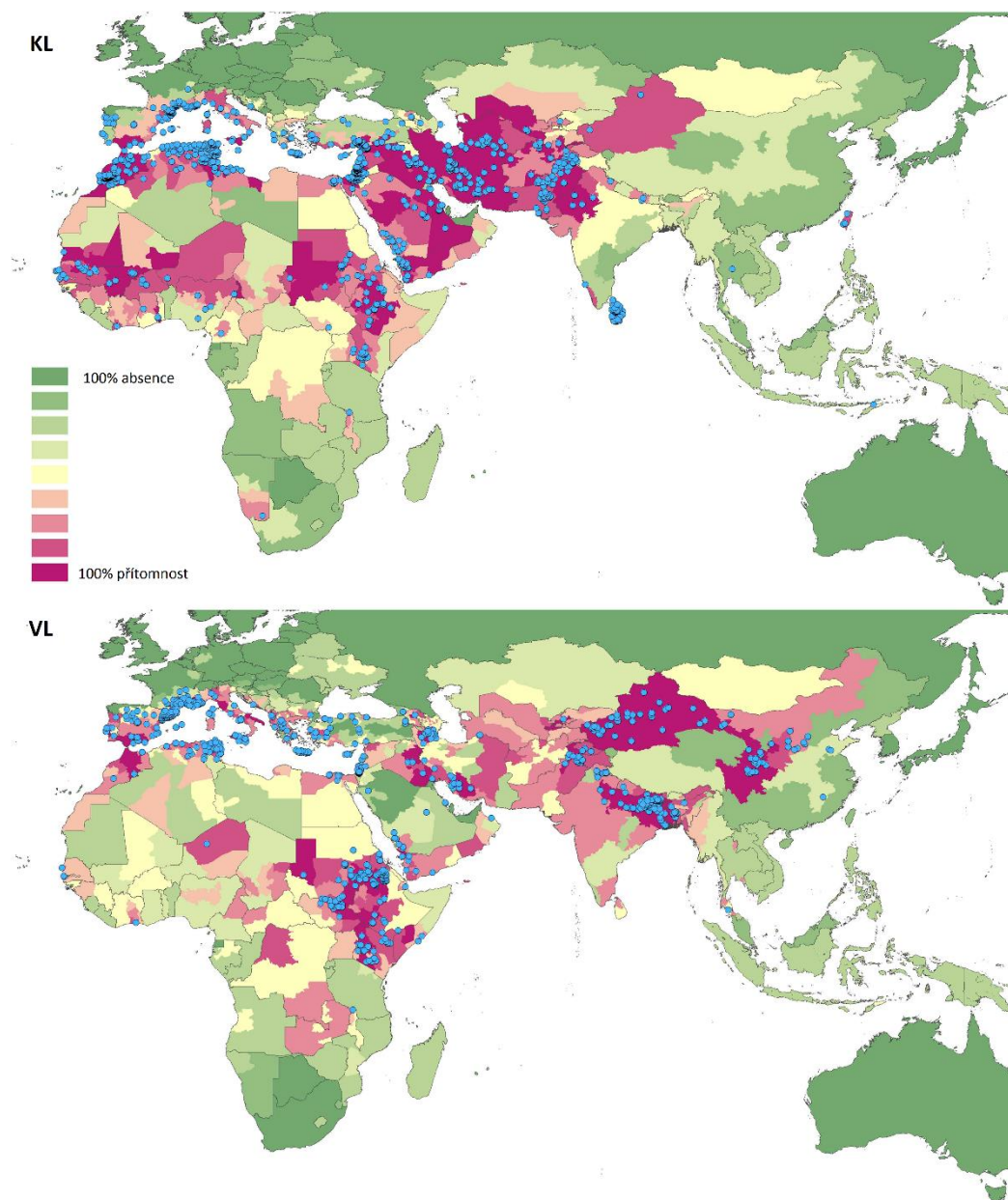
Votýpka, J., Avila-levy, C. M., Grellier, P., Maslov, D. A., Lukes, J., & Yurchenko, V. (2015). New Approaches to Systematics of Trypanosomatidae : Criteria for Taxonomic ( Re ) description, 31(10), 460–469. <http://doi.org/10.1016/j.pt.2015.06.015>

WHO. (2012). The Post Kala-azar Dermal Leishmaniasis ( PKDL ) Atlas A Manual for Health Workers.

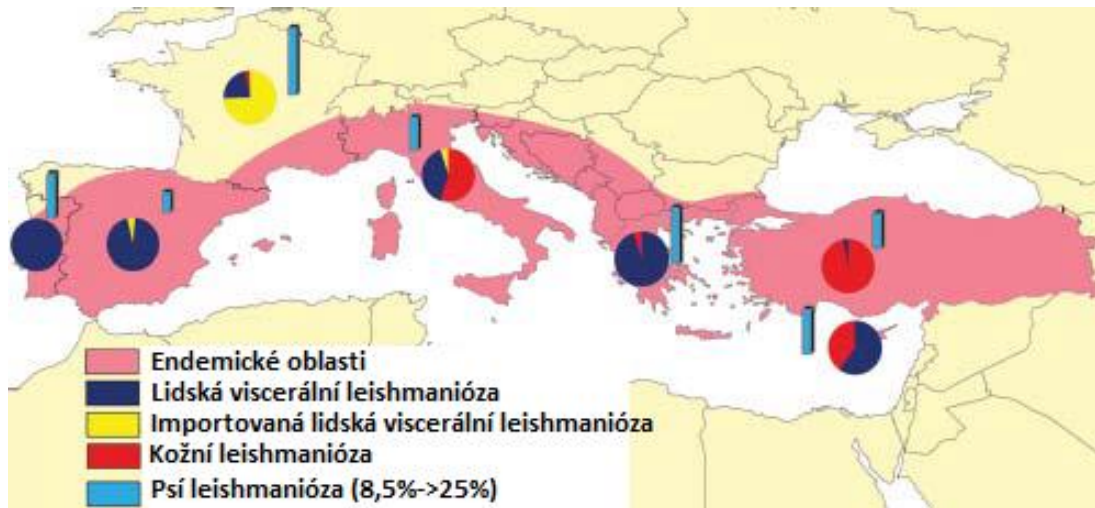
## Sekundární citace

- Adhami, J. & Murati, N. (1986). [The distribution characteristics of visceral leishmaniasis, 1960-1984.] *Higjena dhe Epidemiologjia*, 5, 12-21 [in Albanian]
- Adhami, J. & Murati, N. (2000). [Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of domestic places in Albania.] *Revista Mjeksove*, 1, 60-75 [in Albanian]
- Filipov G, Hristova T, Harizanov R, Mitkova N. On certain aspects of the epidemiology of visceral leishmaniasis. *Disinfection Disinsection Deratization Bull.* 2005;(1-4):24-8. Bulgarian
- Gogoșe MG, Teodorescu I, Preda C, Ionescu SC: Two case reports on visceral leishmaniasis diagnosed in Romania. *Roum Arch Microbiol Immunol* 2013, 72:49–62
- Gruev T. Contribution to the study of leishmaniasis (kala-azar) in Bulgaria. *Medical records.* 1949;8:845-55. Bulgarian
- Kero, A. & Xinxo, A. (1998). Epidemiological characteristics of leishmaniasis in Albania in the period 1984-1996. *Giornale di Italiano di Medicina Tropicale*, 3, 55-57
- Mihăilescu M, Niciloff D: Two cases of spontaneous canine leishmaniasis in Romania [in romanian]. *Arhiva vet* 1934, 26:43–53
- M. Milenković and M. Paunovic, "Phenomenon of golden jackal (*Canis aureus* Linnaeus, 1758), expansion in Serbia," in *Proceedings of the Carpathian Workshop on Large Carnivores Conservation. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats, Brasov, Romania, 2003*
- Palage I, Grapini I, Bornuz M, Onesciuc C, Iurasog G, Spinu C (1978) Leishmanioza cutanata africana: trei cazuri de buton de Biskra. *Rev Ig Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol Pneumoftiziol Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol* 23:247–252
- Petrovic Z. *Epidemiology of kala-azar in Serbia.* Belgrade: Institute for Medical Research, 1980 (Serbian)
- Tartaglia, P., 1957. Visceral and cutaneous leishmaniasis in Dalmatia. *Liječ. Vjesn.* 79, 511–522 (in Croatian)
- Todhe, P. (1963). [Infantile leishmaniasis in Shkodra district.] *Mjekësia Popullore*, 2, 13–18 [in Albanian]

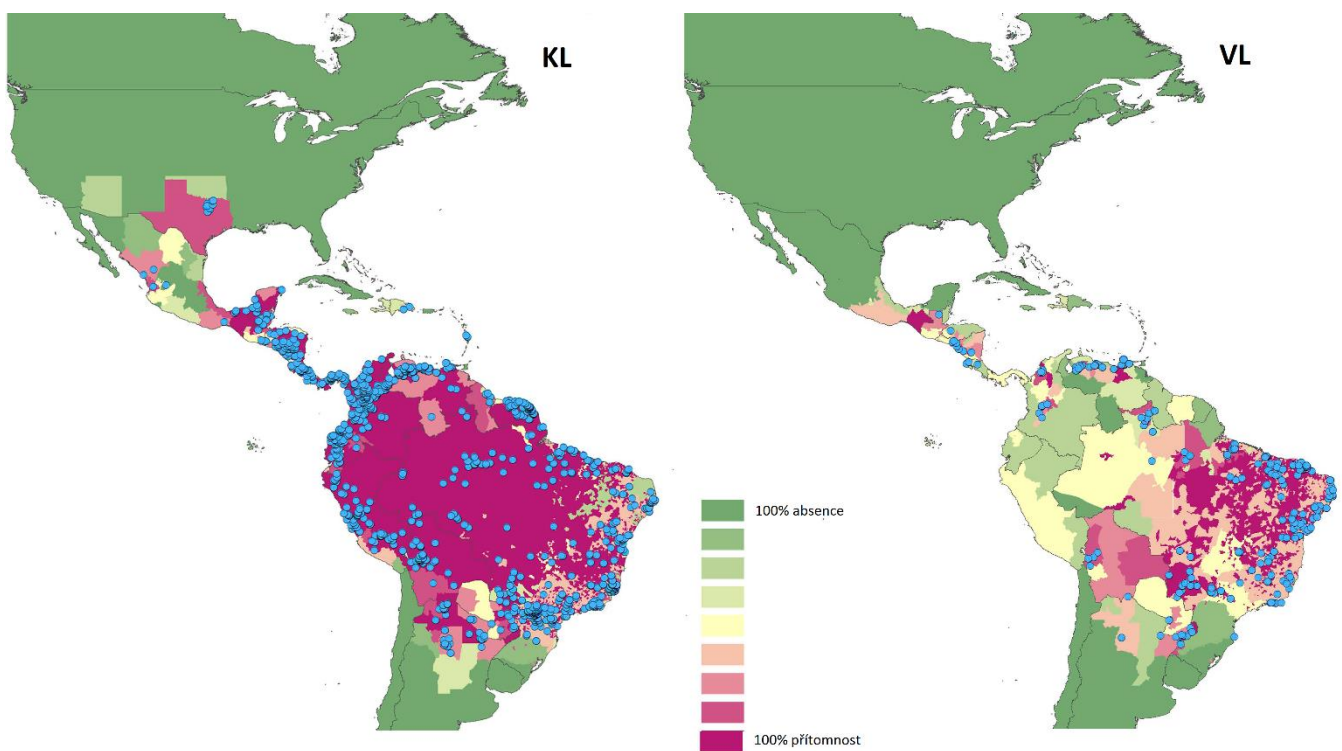
## Přílohy



Příloha 1: Mapa výskytu KL a VL ve Starém Světě. Modré tečky značí ohniska výskytu. Převzato a upraveno z Pigott *et al.* (2014)



Příloha 2: Mapa leishmanióz v Jižní Evropě. Převzato a upraveno z Dujardin et al. (2008)



Příloha 3: Mapa výskytu KL a VL v Novém Světě. Modré tečky značí ohniska výskytu. Převzato a upraveno z Pigott *et al.* (2014)