

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijný program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Ida Hanušniaková

Leishmaniózy severnej Afriky a ich prenášači
Leishmaniasis of northern Africa and their vectors

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Vít Dvořák, Ph.D.

Praha, 2018

Prehlásenie:

Prehlasujem, že som záverečnú prácu vypracovala samostatne a že som uviedla všetky použité informačné zdroje a literatúru. Táto práca, ani jej podstatná časť, nebola predložená k získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu.

V Prahe, 10. 5. 2018

.....

Ida Hanušniaková

Chcela by som sa poďakovať predovšetkým môjmu školiteľovi za všetky rady, pomoc a čas, ktoré mi venoval pri písaní tejto práce a tiež za jeho odbornú korektúru a prijatie do tímu. Taktiež by som sa chcela poďakovať svojej rodine a priateľom za podporu pri písaní.

Abstrakt

Leishmanióza patrí medzi najvýznamnejšie svetové ľudské i zvieracie ochorenia. Vyskytuje sa takmer na všetkých svetadieloch. Jej najbližší výskyt k nám je v Stredomorí, vrátane štátov severnej Afriky. Práve tu sa vyskytuje veľká časť všetkých registrovaných prípadov a táto prevalencia stále stúpa. Alžírsko je v počte prípadov druhé na svete a v ostatných krajinách je situácia dosť podobná. V krajinách severnej Afriky sa vyskytujú viscerálne a kutánne prejavy leishmaniózy. K najvýznamnejšími druhom rodu *Leishmania* v oblasti patrí *Leishmania major*, nasledovaná *L. infantum* a *L. tropica*. V Starom svete prenášajú leishmánie druhy *Phlebotomus*. Medzi najdôležitejšie prenášače patrí *Phlebotomus papatasi*, *P. sergenti*, *P. perfiliewi* či *P. perniciosus*. Za hlavné rezervoárové organizmy sú považované hlodavce (*Psammomys obesus*, *Meriones shawi*) a psi. U psov sa často prejavuje aj tzv. psia leishmanióza, pričom tieto zvieratá majú klinické prejavy a zároveň slúžia ako rezervoáre ochorenia. Táto bakalárska práca sa zaoberá výskytom jednotlivých druhov *Leishmania*, klinickými prejavmi v hostiteľoch a ich prenášačmi v severnej Afrike.

Kľúčové slová: leishmanióza, flebotomus, severná Afrika, *Leishmania*, rezervoárový hostiteľ

Abstract

Leishmaniasis belongs to the most important world human as well as animal diseases. It occurs in almost all continents. Its nearest area of occurrence from our point of view is the Mediterranean, including the states of North Africa. A significant portion of all registered cases occurs here and the prevalence has been increasing in last decades. Algeria is the second in the world in number of cases of cutaneous leishmaniasis and in the other countries the situation is quite similar. Two major forms of the disease occur in the region: visceral and cutaneous leishmaniasis. *Leishmania major* is the most abundant species in the area, followed by *L. infantum* and *L. tropica*. In the Old World, leishmanises are transmitted by sand flies of the genus *Phlebotomus*. The most important proven vectors are *Phlebotomus papatasi*, *P. sergenti*, *P. perfiliewi* or *P. perniciosus*. Rodents are considered to be main reservoir organisms (*Psammomys obesus*, *Meriones shawi*), together with dogs in which canine leishmaniasis may occur with clinical symptoms; at the same time they serve as reservoirs of the disease. This bachelor thesis summarizes occurrence of individual *Leishmania* species, clinical symptoms they cause in the hosts and their vectors in North Africa.

Key words: leishmaniasis, phlebotomus, North Africa, *Leishmania*, reservoir host

Zoznam skratiek

ACL	Anthroponotic cutaneous leishmaniasis
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CL	Cutaneous leishmaniasis
cyt b	Cytochrome b
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane
DNA	Deoxyribonucleic acid
hsp70	Heat shock protein 70
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry
MLEE	Multilocus enzyme electrophoresis
MLST	Multilocus sequence typing
mtDNA	Mitochondrial deoxyribonucleic acid
PCR-RFLP	Polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism
PKDL	Post-kala-azar dermal leishmaniasis
SSU rRNA	Small subunit ribosomal ribonucleic acid
VL	Visceral leishmaniasis
WHO	World Health Organization
ZCL	Zoonotic cutaneous leishmaniasis

Obsah

1	Úvod	1
2	Definícia rodu Leishmania	2
2.1	Taxonómia	2
2.2	Vývojový cyklus.....	4
2.3	Vektori	5
2.4	Klinické príznaky	7
3	Leishmaniózy v krajinách severnej Afriky	10
3.1	Maroko	10
3.2	Alžírsko	14
3.3	Tunisko.....	18
3.4	Líbya	21
3.5	Egypt	23
4	Diskusie a záver	25
	Použitá literatúra	28

1 Úvod

Leishmanióza je protozoálne parazitárne ochorenie ľudí a zvierat, ktoré vo svete spôsobuje viac ako 20 druhov prvoka *Leishmania* (Akhoundi *et al.*, 2017). Vyskytuje sa ako v Novom svete (južná a stredná Amerika), tak i v Starom svete (Afrika, Ázia, Blízky východ, Európa). Podľa World Health Organization (WHO) ročne spôsobí približne 20 – 30 tisíc úmrtí, pričom možnosti vypuknutiu ochorenia je vystavených takmer 1 milión ľudí (WHO, 2018).

Toto ochorenie je prenášané drobnými krvsajúcimi článkonožcami (Diptera, Psychodidae), kedy v Starom svete sú vektormi druhu rodu *Phlebotomus*. Sú častými trápičmi domácich i voľne žijúcich zvierat, ale i ľudí. Je popísaných zhruba deväťsto druhov flebotomov, z nich u stovky sa predpokladá alebo bola potvrdená rola v prenose leishmaniózy (Maroli *et al.*, 2013).

Leishmanióza má tri hlavné klinické prejavy: kutánna forma, muko-kutánna a viscerálna forma. Práve viscerálna forma si v endemických oblastiach vyžadava ročne najviac obetí. Liečba pacientov je buď veľmi drahá alebo je sprevádzaná veľkými vedľajšími účinkami, ku ktorým patrí napríklad toxicita. Najčastejšími pacientami sú malé deti, aj pretože majú ešte málo vyvinutý imunitný systém.

Do krajín severnej Afriky patrí Maroko, Alžírsko, Tunisko, Líbya a Egypt. Vo všetkých týchto krajinách sa leishmanióza vyskytuje už desaťročia a je tu endemická (Aoun & Bouratbine, 2014). V týchto oblastiach sú dobré klimatické podmienky pre vývoj vektorov, čo uľahčuje prenos na ďalšieho hostiteľa. Taktiež sú tu veľmi hojní rôzni hlodavci, ktorí slúžia ako rezervoáre leishmání. Keďže títo vektori sa vyvíjajú práve v brlohoch a hniezdach hlodavcov a sajú na nich, je miera infekčnosti vektorov veľmi vysoká. Potvrdeným rezervoárovým organizmom je aj pes, ako voľne žijúci, tak i domáci. Práve domáci psi môžu byť zdrojom nákazy pre ľudí v domácnosti, keďže títo psi ešte nemusia mať klinické prejavy, no už sú infekčné. Prenos na človeka potom závisí už len na flebotomoch, ktorých výskyt je v týchto krajinách veľmi hojný. Ochorenie je v týchto krajinách na vzostupe, čo môže byť zapríčinené environmentálnymi zmenami (Chaara *et al.*, 2014).

Vo svojej bakalárskej práci sa zameriavam na oblasť severnej Afriky, ktorá je geograficky oddelená od subsaharskej Afriky púšťou Sahara. Mojim cieľom je zmapovať výskyt jednotlivých druhov *Leishmania*, ich vektorov, rezervoárov a klinických prejavov. Opisujem aj biológiu niektorých druhov flebotomov, diskusiu nad ich potencionálnymi novými druhmi či boja proti nim.

2 Definícia rodu *Leishmania*

2.1 Taxonómia

Rod *Leishmania* patrí do ríše Protista, skupiny kmeňov Excavata, kmeňa Kinetoplastida, triedy Kinetoplastea, rádu Trypanosomatida a čeľade Trypanosomatidae (Akhoundi *et al.*, 2016). Vyskytuje sa predovšetkým v tropických a subtropických oblastiach Európy, Afriky, Ázie a Ameriky, kde sa každoročne vyskytne 0,7 – 1 milión nových prípadov a spôsobí 20 – 30 tisíc úmrtí (WHO, 2018).

Bolo popísaných približne 53 druhov v piatich podrodoch: *Leishmania*, *Viannia*, *Sauroleishmania*, *L. enriettii* komplex a *Paraleishmania*. Z týchto 53 druhov je 31 známych ako paraziti cicavcov, 20 z nich je patogénnych pre človeka. Podľa novších molekulárnych dát sa fylogenetický strom upravuje na dve sekcie – *Euleishmania* a *Paraleishmania*, pričom *Euleishmania* obsahuje podrody *Leishmania*, *Viannia*, *Sauroleishmania* a *Mundinia*. Do sekcie *Paraleishmania* sa radia druhy podrodov *Porcisia* a *Endotrypanum*. Na typizáciu druhov sa používajú gény napríklad pre tubulíny, uvažuje sa aj o potencionálnom využití génov pre históny (Akhoundi *et al.*, 2017). Druh *Viannia* je endemický iba v Novom svete a *Sauroleishmania* nie je druh patologický pre človeka a má nízky medicínálny význam, preto sa im v tejto práci viac venovať nebudem (Akhoundi *et al.*, 2016).

Lukeš *et al.* (2007) uvádza, že v Starom svete sa druhy viscerálnej leishmaniózy *L. donovani* a *L. infantum* oddelili približne pred miliónom rokov. *L. donovani* pravdepodobne rovnako ako človek vznikla vo východnej Afrike. Nozais (2003) uvádza, že *L. donovani* má pôvod vo východnej Afrike, rovnako ako ľudia. Oumeish (1999) uvádza, že *L. major* by mohla mať pôvod v severnej Afrike, keď bol ešte saharský región vlhký a zalesnený. Nevieme, či ochorenie priniesli na stredný východ ľudia, alebo bolo získané z iných rezervoárov. Vektor sa v Európe a Ázii vyskytoval už dávno pred príchodom ľudí. Ochorenie by ale mohlo mať pôvod v centrálnej Ázii v zvieracích rezervoároch, odkiaľ sa okolo 14. storočia n. l. rozšírilo do Indie, Stredozemia a západnej Afriky. Výskyt prvých fosílií flebotomov, ako ich prenášačov, ktoré boli objavené v Libanone, by mohol potvrdzovať túto teóriu (Toun *et al.*, 2008).

V minulosti sa druhová klasifikácia leishmánií zakladala na klinických prejavoch ochorenia. Druhy, ktoré spôsobovali kožné prejavy, boli považované za *L. tropica*, viscerálne prejavy za *L. donovani*. Ako prvý z tejto klasifikácie vybočil Nicolle (1908), ktorý zistil, že pôvodcovia ochorenia sa v Stredomorí a v Indii líšia, európsky druh pomenoval *L. infantum*. Vianna (1911) označil za pôvodcu ochorenia v Brazílii *L. braziliensis* a Yakimoff spolu so Schokorom (1914) označili za parazita v Ázii dva varianty *L. tropica* a to variant *minor* a *major*. Počas nasledujúcich desaťročí boli identifikované nové druhy, a až Lainson a Shaw (1979,1980) ich usporiadali do troch podrodov – *Leishmania*, *Viannia* a *Sauroleishmania*. Po neskorších izoláciách nových druhov z rôznych hostiteľov sa toto usporiadanie postupne menilo. Pomocou molekulárnych

technik sa taxonómia leishmanií upravila do súčasnej podoby. Používajú sa na to najmä malé ribozomálne podjednotky (SSU rRNA) a proteíny teplotného šoku (hsp70) (spracované podľa Espinosa *et al.*, 2016).

V roku 1904 bola ako prvá vydaná publikácia o výskyte leishmaniózy v Sudáne spôsobovanou *L. donovani*, išlo o druhý zaznamenaný prípad v Afrike (prvý bol v roku 1903 v Tunisku) (Neave, 1904). Na území severnej Afriky sa vyskytujú druhy *L. major*, *L. tropica* a *L. infantum* a niektorí autori ako samostatný druh vyčleňujú aj *L. killicki*. *L. major* je najčastejšia vo všetkých krajinách, kde spôsobuje viac než 90 % registrovaných prípadov. Vyskytuje sa najmä vo vidieckych oblastiach so semiaridnou, aridnou a saharskou klímou. *L. tropica* je najčastejšia v Maroku, a aj tu spôsobuje len 30 – 40 % prípadov ochorenia (Aoun & Bouratbine, 2014).

Vedľa taxonomických a fylogenetických štúdií sú potrebné aj iné metódy pre praktickú prácu s leishmániami z epidemiologického a medicínskeho pohľadu. Metódy na diagnostiku leishmanií rozdeľujeme na diagnostické (detekčné, identifikačné, diskriminačné a kvantifikačné, napr. PCR-RFLP, sekvenovanie) a na typizačné (napr. MLST, MLEE). Z hľadiska spracovaného materiálu ide o pestrú zmes parazitologických, sérologických a molekulárnych prístupov (Akhoundi *et al.*, 2017).

Metóda „Multilocus enzyme electrophoresis“ (MLEE) sa považuje za základnú identifikačnú techniku pre určovanie druhov leishmanií. Rovnako sa využívajú aj metódy založené na deoxyribonukleovej kyseline (DNA) – „Polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism“ (PCR-RFLP) hsp70 a DNA sekvenovanie. „Multilocus sequence typing“ (MLST) je štandardizovaná, citlivá a praktická metóda na určovanie druhov tohto rodu (Boité *et al.*, 2012).

MLEE je metóda založená na proteínoch, ktorá skúma enzýmy s podobnou alebo identickou špecifitou, ale s odlišnými štruktúrami nazvanými izoenzýmy. Tie sú potrebné pre metabolické procesy v rôznych bunkových kompartmentoch. Použitím definovaného setu izoenzýmov môže byť identifikovaný špecifický „mobility pattern“. Nediskrimuje populácie podľa homoplázie, nízkeho počtu markerov alebo heterozygoty cieľového génu používajúceho viac než jeden „mobility pattern“. MLEE je považovaná za „zlatý štandard“, referenčnú metódu, ku ktorej sa vďaka bohatej databáze s tisíckami spracovanými izolátmi a prepracovanému systému triedenia zymodémov (tzv. MON, podľa referenčného laboratória v Montpellier, Francúzsko) väčšina prác, predovšetkým epidemiologických štúdií, stále odkazuje. Jej hlavné nevýhody sú jednak nutnosť kultivácie a z nej vyplývajúce nároky na zariadenie. Ďalej sa nedoporučuje kvôli nedostatočnej diskriminačnej schopnosti u niektorých vzdialených populácií s podobným biochemickým profilom, napríklad populácii v rámci najčastejšieho stredozemného zymodému MON-1 (Di Muccio *et al.*, 2015).

PCR-RFLP je metóda, ktorá detekuje variácie medzi modelmi DNA fragmentov produkovanými restriktívnymi enzýmami, ktoré sú vizualizované na gély pomocou gélovej elektroforézy. Rôzne dĺžky,

rozdiely v počte a v modeloch DNA fragmentov môžu byť používané na diferenciáciu druhov *Leishmania*.

Za zmienku stojí ešte metóda „Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight“ (MALDI-TOF) hmotnostná spektrometria (MS), ktorá sa osvedčila ako účinná pri detekcii druhov *Leishmania*. Po ionizácii vzorky v špecifickom kyslom roztoku, MALDI-TOF MS používa laser zo spektrometra na odparovanie vzorky smerom k senzoru. „Čas letu“ vzorky závisí na molekulovej hmotnosti ionizovaných molekúl. Tento špecifický spektrálny proteín izolátu môže byť porovnaný s referenčnou databázou. Metóda je však vhodná len pre kultivovaných parazitov, nefunguje na klinické vzorky (Akhoundi *et al.*, 2017).

2.2 Vývojový cyklus

Leishmania patrí do skupiny hematoflagelátov a vyznačuje sa tým, že počas určitej časti vývojového štádia, resp. počas celého života, obsahuje bičík. Amastigoti ho majú rudimentárny. Dĺžka a funkčnosť bičíka závisí na vývojovom štádiu. Amastigot ho má miniatúrny a nepohyblivý, promastigot dlhší a pohyblivý (Bates, 2008). Promastigotný bičík je prispôsobený na mimobunkový pohyb v prenášačovi, amastigotný na život v makrofágoch cicavcov (Gluezn *et al.*, 2010). Promastigoti sa pomocou bičíka zachytávajú na mikrovilách čreva prenášača, ktoré rozoznávajú biochemicky. Toto spojenie je veľmi dôležité, pretože leishmánie sa musí udržať na stene stredného čreva počas defekácie hostiteľa, čo zabezpečujú špecifické receptory lipofosfoglykán. Prenášač, na stenu čreva ktorého sa dokáže viazať iba jeden druh parazita, sa nazýva špecifický prenášač. Ten, ktorého stena čreva dokáže viazať viac druhov parazita sa označuje ako permissívny prenášač (Volf & Pecková, 2007).

Prenášači rodu *Phlebotomus* sú tzv. „pool feeders“, čo znamená, že sajú vytekajúcu krv z malých hematómov z poranenej cievy. Hostiteľ sa nakazí metacyklickými promastigotami regurgitáciou počas sania samičky (Handman & Bullen, 2002).

Samička rodu *Phlebotomus* nasaje z nakazeného rezervoárového zvierata spolu s jeho krvou aj amastigotov rodu *Leishmania* v makrofágoch (Service, 2008). Zmena hostiteľa zapríčini premenu prvka v abdominálnom strednom čreve na procyklického promastigota s málo pohyblivým a krátkym bičíkom, ktorý sa delí. Po približne 48 – 72 hodinách sa premení na nektomonádneho promastigota so silne motilným dlhým bičíkom. Pre toto štádium je typické zachytávanie sa medzi mikrovily stredného čreva počas toho, ako prenášač defekuje. Presúvajú sa po anteriornej strane stredného čreva a menia sa na krátkobičíkaté leptomonády, ktoré vstupujú do ďalšej proliferačnej fázy. Neskôr sa diferencujú buď na infekčné metacyklické formy, alebo sa presúvajú k stomodeálnej chlopni, na ktorú sa zachytávajú (haptomonády), a pri ďalšom saní sa regurgitáciou prenášača dostávajú do nového hostiteľa. V ňom ich fagocytujú makrofágovia a premieňajú sa na amastigotov (Dostálová & Volf, 2012). Priemerný čas

potrebný na kompletný vývoj v prenášačovi je približne 6 až 9 dní (Kamhawi, 2006).

Parazit sa v pokožke hostiteľa nevyvíja len v makrofágoch, ale aj v neutrofiloch a dendritických bunkách. Keď je imunitná bunka preplnená prvokmi, môže buď prasknúť, čím sa jedinci uvoľnia do prostredia, alebo sa dostane do fázy apoptózy a nechá sa fagocytovať iným makrofágom (Arango Duque & Descoteaux, 2015).

Leishmanióza má niekoľko variant. Ochorenie začína v pokožke, kde môže aj ostať, túto formu nazývame kutánnu leishmaniózu. Niekedy sa dostane do slizníc (muko-kutánnu formu), respektíve až do vnútorných orgánov (viscerálnu formu), ktorá je najzávažnejšia (Pace, 2014). Autori sa nezhodujú, či je kala-azar, niekedy označovaná ako čierna smrť, synonymom pre viscerálnu formu, alebo je to jej ťažšia forma. Klinické príznaky ochorenia budú detailnejšie opísané v kapitole 2.4.

2.3 Vektori

Phlebotomus patrí do rádu *Diptera*, podrádu *Nematocera*, čeľade *Psychodidae* a podčeľade *Phlebotominae*. Flebotómovia (sand flies) sú malí, asi 3,5 mm dlhí, článkonožci. Na rozdiel od komárov nepotrebujú pre svoj vývoj stojatú vodu, avšak potrebujú vlhké a teplé prostredie. Vajíčka sú kladené do organicky bohatých miest, ako napríklad zvieracie exkrementy alebo pôda (Maroli *et al.*, 2013). Liahnutie lariev z vajíčok je závislé na teplote, larválny vývoj 4 instarov trvá približne tri týždne. Kompletný vývoj trvá v závislosti od druhu 35 – 69 dní. Tieto hodnoty platia pre laboratórny vývoj flebotomov (Volf & Volfová, 2011). Obe pohlavia sajú cukrové roztoky, samičky väčšiny druhov potrebujú minimálne jedenkrát sať krv kvôli vývoju vajíčok (Maroli *et al.*, 2013). Pre flebotomov sú charakteristické tri aspekty: pri odpočinku majú typicky zložené krídla nad abdomenom, sú pokrytí množstvom chlpkov po celom tele a pred usadením na začiatku satia typicky skackajú. Oproti komárom je ich nálet tichý. Vzdialenosť letu závisí od druhu a oblasti výskytu (habitátu) a ich rozptýlenie od liahnišťa zvyčajne neprevyšuje 1 km. Ich aktivita je súmráčna až nočná.

Miesta výskytu sú okrem domov aj jaskyne, brlohy hlodavcov, skaly, pôda, diery v stromoch, hniezda vtákov, termitiská a iné (Killick-Kendrick, 1999). Viaceré druhy sa adaptovali na mestské oblasti, kde našli vyhovujúce podmienky na svoj vývoj. Tu nachádzajú hostiteľov, na ktorých sajú, či už domestikované zvieratá (psi), divé zvieratá (hlodavce) alebo človeka (Fernandes *et al.*, 2017). Na detekciu lariev flebotomov v miestach výskytu sa používa napríklad flotácia lariev alebo kukiel z pôdy alebo vysušanie média (Feliciangeli, 2004). Najčastejšie používané pasce na odchyt dospelých jedincov sú CDC svetelné pasce (Centers for Disease Control and Prevention light traps) a lepiace pasce. Nevýhodou svetelných pascí je, že preferenčne priťahujú určité skupiny flebotomov, ktoré sú obzvlášť fototrofické. Pozitívom je, že sa k nim môže pridať ešte nádoba so suchým ľadom, ktorý je pre flebotomov atraktant.

Nevýhodou lepivých pascí je, že sa z nich zbierajú už usmrtené organizmy. Najväčšia výhoda je ich cena, dostupnosť, netoxickosť a možnosť prípravy ešte pred terénnym zberom (Alten *et al.*, 2015).

V súčasnosti poznáme približne 1 000 druhov flebotomov. Táto skupina je významná ako prenášači viacerých patogénov, napr. leishmánie, Bartonelly alebo niektorých arbovírusov (Galati *et al.*, 2017). Väčšina vírusov prenášaných flebotomami má u človeka asymptomatický alebo mierny priebeh, vzácne sa môžu vyskytovať aj závažnejšie stavy, no veľa sa o nich ešte ale nevie a môžu byť príčinou aj iných ochorení (Depaquit *et al.*, 2010). Flebotomovia sú výhradnými, potvrdenými a kľúčovými prenášačmi leishmánií. Rezervoárovým organizmom môže byť človek, pes, hlodavec, daman a niektoré ďalšie cicavce (Millán *et al.*, 2014). Jediná známa výnimka v prenose leishmánií je pakomárik (*Culicoides*, Ceratopogonidae) v Austrálii a hostiteľmi sú klokany, ide však o raritu (Dougall *et al.*, 2011).

Prenášačov delíme na potvrdených alebo pravdepodobných. Aby sme ich mohli definitívne potvrdiť, musia spĺňať kritériá, ktoré vypracoval v roku 1999 Killick-Kendrick:

- vektor sa musí nachádzať v rovnakom prostredí ako rezervoárový hostiteľ,
- vektor bodá rezervoárového hostiteľa,
- vektor umožňuje vývin parazita po strávení krvi na infekčné prenositeľné metacyklické štádium,
- parazit izolovaný z voľne žijúceho vektora je identický tomu, ktorý bol izolovaný z rezervoárového hostiteľa,
- vektor prenáša parazita bodnutím rezervoárového živočícha alebo iného hostiteľa

(Killick-Kendrick, 1999). Ak prenášač spĺňa všetky tieto kritéria, môžeme ho označiť za potvrdeného vektora ochorenia. Maroli *et al.* uvádza takéto počty vektorov: zo známych druhov flebotomov je 98 potvrdených či pravdepodobných prenášačov ľudských leishmanióz, z toho 42 flebotomov v Starom svete a 56 lutzomyí v Novom svete (2013).

V Starom svete sa vyskytujú rody: *Phlebotomus*, *Sergentomyia*, *Australophlebotomus*, *Idiophlebotomus*, *Spelaeophlebotomus*, *Spelaeomyia* a *Chinius*. Okrem rodov *Phlebotomus* a *Sergentomyia* sa ostatné rody do prenosu leishmánií nezapájajú.

Rod *Phlebotomus* so svojimi podrodmi nachádza najmä v Palearktickej oblasti, kde sa živí hlavne na teplokrvných cicavcoch. Vyskytujú sa v oblastiach Mediteránu, Stredného východu, Orientu až po regióny centrálnej Ázie. Ich výškový rozptyl je veľmi široký – našli sa v údolí Jericho (300 m p. m.) až po hory v Iráne (3 600 m n. m.). V tropických oblastiach, ako subsaharská Afrika alebo Tichý oceán, žije len niekoľko druhov.

Rod *Sergentomyia* naopak žije v tropických oblastiach Afriky, Ázie a niekoľko druhov aj

v Stredomorí (Akhoundi *et al.*, 2016). Napriek ich koexistencii v oblasti západnej Afriky, kde je rod *Phlebotomus* potvrdeným prenášačom kožnej leishmaniózy, rod *Sergentomyia* vo všeobecnosti toto ochorenie neprenáša (Paz *et al.*, 2011). Sajú najmä na studenokrvných stavovcoch, niektoré druhy však aj na cicavcoch. Prenášajú podrod leishmánie *Sauroleishmania* (Akhoundi *et al.*, 2016). Sú potvrdenými prenášačmi druhov leishmánií plazov, prenos leishmánií na človeka nebol preukázaný (Maia & Depaquit, 2016), avšak iní autori poukázali po analýze krvných vzoriek na ich antropofíliu. Niektoré druhy (napr. *S. schwetzi*) sa živia na psoch. Diagnostika flebotomov na základe PCR odhalila vysokú mieru na leishmánie pozitívnych samičiek, pričom viac ako 2 % z nich boli nenakrmené, čo znamená, že leishmánie prežili v prenášačovi aj po strávení krvi. Okrem toho sú pravdepodobne prenášači psej leishmaniózy v oblasti Mont-Rolland. Tieto výsledky môžu znamenať, že rod *Phlebotomus* nemusí byť výhradným prenášačom leishmaniózy v Starom svete (Senghor *et al.*, 2016). Do súčasnej doby však v žiadnom z ohnisk leishmaniózy sergentomyie ako prenášači v zmysle piatich kritérií potvrdeného prenášača preukázané neboli (Maia & Depaquit, 2016).

V Novom svete sa vyskytujú tri rody: *Brumptomyia*, *Warileya* a *Lutzomyia* (Shimabukuro *et al.*, 2017). Druhy komplexu *Lutzomyia longipalpis* sú najdôležitejším prenášačom leishmaniózy v Novom svete (Souza *et al.*, 2017). Zástupcami Nového sveta sa moja bakalárska práca nezaobrá.

V minulosti sa v boji proti flebotomom používalo často DDT (dichlórdifenyltrichlóretán), ako postrek v interiéri, v súčasnosti sa používa napríklad aplikovanie chemikálií do hniezd hlodavcov, impregnovanie moskytiér a závesov okolo postelí, repelenty proti hmyzu, impregnované obojky pre psi a podobne (Yaghoobi-Ershadi, 2016).

2.4 Klinické príznaky

Leishmanióza je ochorenie spôsobené viac ako 20 druhmi prvoka rodu *Leishmania*. Poznáme 4 možné prejavy tohto ochorenia: najzávažnejšia viscerálna leishmanióza (VL), ktorá neliečená končí smrťou, post-kala-azar dermálna leishmanióza (PKDL), muko-kutánná leishmanióza (MCL) a najčastejšia kutánná leishmanióza (CL). Môže byť klasifikovaná ako antroponotická alebo zoonotická, v závislosti na rezervoárovom organizme (WHO, 2014). Vo svete je infikovaných viac ako 12 miliónov osôb. Celkovo sa nachádza približne v 89 krajinách (Torres-Guerrero *et al.*, 2017). Po malárii má leishmanióza druhú najvyššiu mortalitu a morbiditu (Sundar & Singh, 2016).

Pre kutánnu leishmaniózu (CL) sú charakteristické kožné lézie, ktorých vzhľad a rozsah záleží na druhu parazita, genetických faktoroch hostiteľa a rozsahu aktivácie imunitného systému. CL sa prevažne nachádza na miestach prístupných pre prenášačov ako tvár, krk a končatiny. Prejavuje sa ako bezbolestné bradavice (papules), ktoré po týždňoch až mesiacoch prejdú do hrčky (nodule) s centrálnou jazvou. Liečba

trvá niekoľko mesiacov až rokov a na pokožke ostáva jazva s depigmentáciou (Pace, 2014). Akútna forma sa prejavuje ako malé bradavice (papules), ktorých centrum sa zväčšuje a hnisá a tvoria sa vlhké lézie. Lézie kutánnej formy môžu dosiahnuť viac ako 5 cm, vzácne sú v priemere väčšie ako 10 cm. Okrem chrupavky ucha vredy (ulceration) vzácne prechádzajú do subkutánnych tkanív. Sú väčšinou bezbolestné, ak nie je prítomná sekundárna infekcia (Bailey & Lockwood, 2007). V Starom svete sa ochorenie viaže na semiaridné oblasti až púšte, v Novom svete na lesy (Reithinger *et al.*, 2007). V severnej Amerike a v severnej Európe sa vyskytuje u tzv. vracajúcich sa cestovateľov, ako napríklad vedcov v teréne, turistov a vojakov (Hepburn, 2003). V čase uverejnenia článku (2013) neexistoval liek, ktorý by bol zároveň efektívny, lacný, ľahko manipulovateľný a bez vedľajších účinkov. Na liečbu sa používajú viaceré liečivá, napríklad deriváty päťmocného antimónu, ktorý má viaceré vedľajšie účinky, ako napríklad horúčka, bolesti kĺbov, bolesti svalov, tráviace problémy a pod. Napriek tomu je liečivo, obzvlášť v Starom svete, veľmi dobre účinné. Metronidazol nie je označovaný ako leishmanicid, ale viaceré štúdie potvrdzujú jeho účinok proti CL v Starom svete, je však potrebné doložiť jeho liečebný efekt cieľnými štúdiami. U amfotericínu B naopak kontrolovaná štúdia dokázala efektivitu pri liečbe CL, avšak kvôli vysokej cene a nefrotoxicite je jeho požívanie menej časté. Mohol by však liečiť rezistentnú CL (Masmoudi *et al.*, 2013).

Muko-kutánná forma (MCL) sa väčšinou objaví po vyliečení kutánnych prejavov leishmaniózy, avšak môžu sa vyskytnúť aj súčasne. Ohniskami výskytu sú prevažne nosné a orálne dutiny. Najčastejšie túto formu spôsobuje *Leishmania braziliensis*, avšak boli zaznamenané aj prípady nakazenia *L. panamensis*, *L. guyanensis* a *L. amazonensis*. Okrem nosných a ústnych dutín sa lézie môžu dostať až do orofarynxu a priedušnice (Handler *et al.*, 2015). Ochorenie sa môže prejavovať ako svrbenie nosa, začína sa tvoriť chrasta a oblasť krváca. Môže byť prítomný aj zápal a zvýšené prekrvenie oblasti. Po čase môže nastať tvorba vredov až perforácia nosnej prepážky. Ochorenie spôsobuje *L. major* a viscerotrofická *L. infantum*. Na liečbu sa používa dlhodobejšie dávkovanie päťmocného antimónu, päťmocného antimónu spolu s orálnym pentoxylínom, amfotericínu B deoxycholátu alebo lipozomálneho amfotericínu B (Goto & Lindoso, 2012).

Post-kala-azar dermálna leishmanióza je ochorenie, ktoré sa môže objaviť po vyliečení viscerálnej leishmaniózy, resp. ako dermálna komplikácia VL. Je častá hlavne v Indii a Sudáne, kde sa vyskytuje spoločne s aktívnou viscerálnou formou. Typické pre túto formu leishmaniózy sú depigmentované makuly, erytematózne plaky, bradavičnaté (papular) alebo hrčkaté (nodular) lézie bohaté na leishmánie. Možné riziká vzniku PKDL sú: predchádzajúce liečenie VL, jej priebeh, druh použitého liečiva, HIV infekcia, genetické faktory a iné. V Indii je zodpovedná za vznik PKDL *L. donovani*, v Brazílii *L. infantum chagasi*, v Európe a Južnej Amerike *L. infantum* (Trindade *et al.*, 2015). Liečba pozostáva z užívania lipozomálneho amfotericínu B. Lézie sa zvyčajne u indického typu vyliečia za 6 – 12 mesiacov a viac, u afrického typu môže

doba liečenia trvať aj tri roky. U niektorých pacientov je nutné liečbu predlžovať (Doganis *et al.*, 2015).

Viscerálnu formu spôsobuje v Ázii a Afrike *Leishmania donovani*, ktorá je prevažne antroponotická a v Latinskej Amerike a Mediteráne ju spôsobuje zoonotická *L. infantum*. Okrem prípadov turistov nachádzame *L. donovani* iba v Starom svete. Inkubačná doba je medzi 2 týždňami až 18 mesiacmi, veľké zápalové vnútorných orgánov sa vyvíjajú 2 – 8 mesiacov po nakazení alebo po objavení kožných lézií, avšak VL sa môže prejaviť až po niekoľkých rokoch. Ochorenie postupuje rýchlo a neliečené končí smrťou s úmrtnosťou až 75 – 95 %. Napriek tomu, že smrť môže nastať do dvoch rokov, objavuje sa aj spontánne vyliečenie sa. Parazit sa často množí vo vnútorných orgánoch bohatých na makrofágy, ako slezina, pečeň a kostná dreň, ktoré hypertrofujú (Ready, 2014). Symptómy sú dlhodobá horúčka, hepatomegália, pancytopenia, progresívna anémia, strata hmotnosti. U približne 50 % pacientov s VL sa v Sudáne a 1 – 3 % v Indii rozvinie aj PKDL. Na liečbu sa používa okrem päťmocného antimónu aj amfotericín B, lipozomálny amfotericín B a pentamidín (Sundar & Singh, 2016).

V oblasti Mediteránu, hlavne vo Francúzku, Španielsku, Portugalsku a Taliansku, sú tiež známe prípady súčasnej infekcie leishmaniózy a HIV. Obrovský rozmach choroby bol hlavne v 90. rokoch 20. storočia, kedy bolo zaznamenaných 1 440 prípadov. Vďaka zlepšeniu antivirovej terapie HIV pozitívnych pacientov sa podarilo toto číslo v rokoch 2001 – 2006 zmenšiť na 299 prípadov. Príznaky ochorenia HIV pozitívnych ľudí sa od imunokompetentných príliš nelíšia, avšak niektoré príznaky môžu pribudnúť, respektíve chýbať. U pacientov môže chýbať splenomegália, naopak sa parazit môže objaviť v pľúcach alebo tráviacom trakte. Objavujú sa ďalšie lézie na pokožke (reumatoidné výrastky a Kaposiho sarkóm). Leishmanióza môže vyvolať mnohonásobné delenie buniek imunitného systému a tak urýchliť nástup AIDS. Interakcia HIV-leishmánie na bunkovej úrovni by mohla ovplyvňovať priebeh infekcie. VL bráni imunologickú schopnosť HIV pozitívnych pacientov a zvyšuje nárast na úrovni HIV. Spoločná infekcia znižuje možnosť vyliečenia sa, zvyšuje toxicitu podávaných liečiv a zvyšuje mortalitu oproti HIV-negatívnym osobám. Zároveň bola pozorovaná aj možnosť vyvolania CL a MCL (Monge-Maillo *et al.*, 2014).

Okrem týchto druhov prejavov leishmaniózy sa vyskytuje ešte roztrúsená kutánná leishmanióza, ktorej opis je už nad rámec tejto podkapitoly (Torres-Guerrero *et al.*, 2017). Z epidemiologického hľadiska je veľmi významná aj psia leishmanióza spôsobená *L. infantum*. Veľkým problémom je táto forma v Mediteráne a v Brazílii, kde sú psi aj hlavnými rezervoárovými živočíchmi. V juhozápadnej Európe je infikovaných najmenej 2,5 milióna psov (Albuquerque *et al.*, 2017). Bol zaznamenaný prenos nielen bodnutím nakazeného flebotoma, ale aj transfúziou, transplacentárne, vertikálne a aj pohlavne. Ochorenie môže mať nešpecifické príznaky, ale aj typické lézie na sliznici a bývajú napadnuté aj vnútorné orgány. Najčastejšie príznaky sú kožné lézie. Často sa objavuje aj apatia, svalová atrofia a zlyhanie obličiek, čo je najčastejšia príčina úmrtí. Liečba je zdĺhavá a má veľmi veľa vedľajších účinkov (Kaszak *et al.*, 2015).

3 Leishmaniózy v krajinách severnej Afriky

Organizácia spojených národov (OSN) definuje severnú Afriku ako krajiny Alžírsko, Egypt, Líbya, Maroko, Západná Sahara, Sudán a Tunisko. Hranica medzi severnou Afrikou a subsaharskou Afrikou je daná púšťou Sahara ako účinnou bariérou a ňou je severná Afrika vymedzená aj prirodzene. Hotez *et al.* (2012) vo svojej definícii severnej Afriky ponecháva krajiny: Maroko, Alžírsko, Tunisko, Líbya a Egypt a týmto krajinám sa vo svojej bakalárskej práci budem aj venovať (OSN, 1999; Hotez *et al.*, 2012).

Leishmaniózy, spôsobené rôznymi druhmi rodu *Leishmania*, sú endemické v celom regióne, avšak zastúpenie jednotlivých pôvodcov, typy prenosových cyklov i klinické prejavy sa líšia. Celkovo však vo väčšine týchto zemí predstavujú významný zdravotný problém. Tisíciky nových prípadov leishmanióz sa každoročne diagnostikujú v Alžírsku, Líbyi, Maroku a Tunisku. V Egypte sa ich objavuje len niekoľko a to najmä na polostrove Sinaj (Aoun & Bouratbine, 2014). CL sa v oblasti vyskytuje dlhšie a má vyššiu prevalenciu ako VL. V tejto oblasti je ako jediný dokázaný pôvodca VL druh *L. infantum*, ktorý sa vyskytuje vo všetkých štátoch Maghrebu (Maroko, Alžírsko, Tunisko, Líbya) (Chaara *et al.*, 2014). CL v tejto oblasti spôsobujú druhy *Leishmania infantum*, *L. major*, *L. tropica* a *L. killicki*. *L. major* je najčastejšia v Alžírsku, Líbyi a Tunisku, kde spôsobuje až 90 % prípadov ochorenia. *L. tropica* je najrozšírenejšia v Maroku, kde je príčinou 30 – 40 % prípadov leishmanióz (Aoun & Bouratbine, 2014). *L. killicki* je druh, ktorý spôsobuje CL v Tunisku, Líbyi a Alžírsku (Chaara *et al.*, 2015).

Napriek tomu, že vedci leishmaniózu v severnej Afrike popisujú už viac ako storočie a spôsobuje tu každoročne tisíciky nových prípadov, je okolo tohto ochorenia ešte stále veľa neobjasneného. V týchto krajinách ju aj vzhľadom na stúpajúcu prevalenciu môžeme označiť za jednu z najzávažnejších „neglected diseases“. Nasledujúce podkapitoly detailnejšie sumarizujú doterajšie vedomosti o stave leishmanióz a ich prenášačoch v severnej Afrike.

3.1 Maroko

Geografická pozícia a klíma Maroka je členená do niekoľkých častí, od stredozemskej na severe až po saharskú na juhu, s niekoľkými aridnými a semiaridnými oblasťami, dedinskými a veľkomestskými aglomeráciami (Asmae *et al.*, 2014).

Leishmanióza je v Maroku endemická. Vyskytuje sa ako vo forme CL, tak aj VL. Ochorenie tu spôsobujú tri druhy: *L. major*, *L. tropica* a *L. infantum*. *L. major* spôsobuje zoonotickú kutánnu leishmaniózu (ZCL). Vyskytuje sa na juhu krajiny v okolí pohoria Atlas. Zo všetkých krajín severnej Afriky má *L. tropica* najväčšie zastúpenie a rozšírenie práve v Maroku. ňou spôsobovaná CL sa považuje za antroponózu (ACL), ale niektoré prípady naznačujú, že by mohla byť aj zoonotická (ZCL). Na severe sa vyskytuje sporadická

kutánná leishmanióza spôsobená *L. infantum* (Arroub *et al.*, 2013). Tento druh spôsobuje okrem CL a VL aj psiu leishmaniózu (Boussaa *et al.*, 2014). V centrálnom a južnom Maroku sú ňou spôsobené infekcie menej časté, avšak bol zaznamenaný ich vyšší výskyt vo forme privezených alebo autochtónnych prípadov (Kahime *et al.*, 2015). V súčasnosti už členenie Maroka na severnú oblasť s VL a južnú s CL neplatí úplne jednoznačne, keďže bol zaznamenaný výskyt viacerých druhov *Leishmania* spoločne v rovnakých oblastiach (Mhaidi *et al.*, 2018).

L. major je druh zodpovedný za ZCL. Vyskytuje sa v oblasti na juhu od pohoria Atlas (Rhajaoui, 2011) až po saharskú a pre-saharskú oblasť (Boussaa *et al.*, 2016). V aridnej oblasti Maroka je jej výskyt preukazovaný od roku 1914 (Rioux *et al.*, 1986, cit. podľa Ait Kbaich *et al.*, 2017). ZCL je najdôležitejšia z hľadiska počtu hlásených prípadov. Zvýšený výskyt tohto ochorenia môže byť následkom klimatických zmien a zmien v socioekonomických faktoroch, ako napríklad chudoba, zlá infraštruktúra či premena prírodných podmienok. Rovnako ako u ACL, aj u tejto formy je najviac ohrozená skupina detí (Kahime *et al.*, 2016). Vyskytuje sa tu len jeden zymodém – MON-25 (Chaara *et al.*, 2014). ZCL sa dlhodobo udržuje v populácii hlodavcov, najmä u druhov *Psammomys obesus* a *Meriones shawi grandis*, ktoré sú považované za hlavné rezervoárové cicavce. *M. shawi grandis* je hlavným infikovaným zvierateľom na juhu Maroka (Aoun & Bouratbine, 2014). Za jediného potvrdeného vektora sa považuje *P. papatasi*. Výskyt tohto druhu prenášača je kontrolovaný najmä minimálnou teplotou. Keďže sa vyskytuje v presaharských oblastiach, v ktorých sú sezónne teplotné zmeny, jeho výskyt a dynamika sú ovplyvnené teplotou. Dôležitá je aj teplota počas noci, keďže flebotómia majú nočnú aktivitu. *P. papatasi* je veľmi dobre adaptovaný na aridnú klímu (Boussaa *et al.*, 2016). Enormný nárast počtu ochorení v posledných rokoch môže byť zapríčinený ekologickými a environmentálnymi zmenami. Nahradenie ťavy motorovými vozidlami v saharských regiónoch, ako jediného kompetitora rastlín spoločne s *Ps. obesus*, zapríčinilo vo viacerých dôležitých oblastiach rozbuženie vegetácie, čo zvýšilo počty hlodavcov a zväčšilo tak oblasť rozšírenia hlodavcov a tohto ochorenia (Ashford, 2000).

Druhá najrozšírenejšia v krajine je *L. tropica*. Je zodpovedná za CL na juhu, v dedinkách v okolí Atlasu. Nové ohniská jej výskytu sa začínajú objavovať aj v centrálnom a severnom Maroku (Ait Kbaich *et al.*, 2017). ACL je charakterizovaná ako vidiecke a mestské ochorenie. Vzhľadom na časté cestovanie ľudí sa zvyšuje riziko prenesenia ochorenia do nových oblastí. Ochorenie sa vyskytuje u ľudí všetkých vekových kategórií, zvlášť u malých detí, ktoré sú ohrozené najviac, čo je spôsobené ich ešte nízkou imunologickou obranyschopnosťou proti infekcii. Za rezervoár je považovaný človek. Prenášačom je *P. sergenti*, ktorý má širokú geografickú distribúciu a bol zaznamenaný vo všetkých bioklimatických vidieckych i mestských oblastiach (Kahime *et al.*, 2016). Častejšie sa vyskytujú vo vidieckych oblastiach a to ako mimo, tak aj vo vnútri obydľí. Nachádzajú sa napríklad aj v jaskyniach (Yahia *et al.*, 2004). Vysoká miera nakazenosti

prenášačov potvrdzuje veľkú cirkuláciu parazita v oblasti. Štúdie ukazujú, že *P. sergenti* je primárny a jediný prenášač *L. tropica* v regióne, nie len preto, že tento druh bol jediný pozitívny prenášač na tento druh leishmánie, ale aj pre svoju hojnosť a mieru infekcie jedincov. *P. sergenti* saje prevažne, avšak nie výlučne, na ľuďoch (Ajaoud *et al.*, 2015). Zlá socioekonomická situácia, environmentálne podmienky a hlavne chudoba môžu prevalenciu ochorenia ešte zvýšiť. Ľudia, ktorí žijú v chudobných oblastiach blízko zvierat sú ľahkým terčom pre prenášačov, ktorí sa môžu nakaziť satím na človeku s aktívnou ACL (El Alem *et al.*, 2018). Nové ohniská sa začali vyskytovať na severe krajiny, kde sa *L. tropica* vyskytuje spolu s *L. major*. Ich spoločný výskyt komplikuje prevenciu, diagnostiku a liečbu, rovnako je zložité rozlíšiť druh patogéna na základe klinických prejavov lézií (Ait Kbaich *et al.*, 2017) a taktiež podľa ich vlastnej morfolologickej podobnosti v mikroskopických preparátoch (Arroub *et al.*, 2013). V Maroku sa vyskytuje až 10 rôznych zymodémov, pričom najčastejšie sú MON-102 a MON-107 (Chaara *et al.*, 2014).

L. infantum spôsobuje zoonotickú VL, ktorá je lokalizovaná prevažne na severe krajiny. Po prvýkrát bola popísaná v roku 1921 (Remlinger, 1921, citované podľa Rhajaoui, 2011). Spôsobuje takisto aj sporadickú CL, ktorá sa vyskytuje na severe (Mhaidi *et al.*, 2018). Najohrozenejšia veková skupina ľudí sú deti medzi 1. – 4. rokom života. Od roku 1996 začal počet prípadov VL v oblasti prudko narastať. Pred týmto rokom sa objavovalo približne 50 prípadov ročne, neskôr sa zvýšil na 100 – 150 prípadoch ročne. Pravdepodobnou príčinou tohto nárastu by mohli byť zlé socioekonomické podmienky v krajine, či voľní psi ako rezervoáre. Maximum prípadov je zaznamenaných na jar, čo sa odôvodňuje sezónnou aktivitou vektora, dlhou inkubačnou dobou ochorenia a variabilnou citlivosťou a prejavmi pacienta (Mniouil *et al.*, 2017). Okrem psov sú rezervoárom aj divoké líšky (Pesson *et al.*, 2004). Závažným problémom v krajine je okrem VL aj ťažké ochorenie psov – psia leishmanióza. Je to zoonotická choroba, ktorá je endemická na severe Maroka, avšak v minulosti bol zaznamenaný výskyt psej leishmaniózy už aj na juhu krajiny. Symptomatické i asymptomatické psy môžu byť zdrojom nákazy pre flebotomov, a tak hrať úlohu v prenose *L. infantum* na človeka. Diagnostika psov vzhľadom na rôzne symptómy môže byť problematická (Boussa *et al.*, 2014). *L. infantum* tu má dva zymodémy: MON-1 a MON-24 (Chaara *et al.*, 2014). Za vektorov sa považujú druhy podrodu *Larrousius*: *P. perniciosus*, *P. longicuspis* a *P. ariasi*. Zatiaľ čo jedinci *P. longicuspis* a *P. ariasi* sú potvrdení prenášači, rola *P. perniciosus* ako vektora ešte nebola plne potvrdená (Mhaidi *et al.*, 2018).

Flebotofauna je v Maroku veľmi bohatá. Celkovo tu boli popísané druhy rodu *Phlebotomus*, podrodu *Larrousius* (*P. ariasi*, *P. perniciosus*, *P. longicuspis*, *P. chadlii*), podrodu *Phlebotomus* (*P. papatasi*, *P. bergeroti*), podrodu *Paraphlebotomus* (*P. sergenti*, *P. alexandri*, *P. chabaudi*, *P. kazeruni*), druhy rodu *Sergentomyia*, podrodu *Sergentomyia* (*S. minuta*, *S. fallax*), podrodu *Sintonius* (*S. christophersi*), podrodu *Parrotomyia* (*S. africana*), podrodu *Grassomyia* (*S. dreyfussi*) (Kahime *et al.*, 2015, Depaquit, 2014, Boussaa

et al., 2009).

V minulosti sa štúdium flebotomov na úrovni ich biológie a populačnej genetiky sústreďovalo najmä na druhy, ktoré mali preukázaný alebo predpokladaný význam v prenose leishmánií. Vnútrodruhovú variabilitu *P. sergenti* je veľmi bohatá. V oblasti bolo identifikovaných 21 haplotypov, ktoré po fylogenetickej analýze haplotypov mitochondriálnej DNA (mtDNA) tvoria tri línie pomenované podľa oblasti výskytu: 10 patrí do centrálne-južnej línie, 3 do severozápadnej a 8 do oblasti Taza. Haplotypy centrálne-južnej oblasti a zo severozápadnej sa vyskytujú najmä vo svojej oblasti. Haplotypy oblasti Taza boli nájdené aj v centrálne-južnej oblasti. Tieto tri línie teda ukázali značnú regionálnu distribúciu flebotomov (Yahia et al., 2004). *P. sergenti* sa vyskytuje aj v Španielsku, kde *L. tropica* nie je endemická. Marocké a španielske ribozomálne haplotypy sú si blízko príbuzné. Výskyt rovnakého druhu vektora, cestovanie ľudí a antroponotický cyklus by časom mohol viesť k výskytu *L. tropica* aj v Španielsku. *P. sergenti* má podobne ako v Španielsku aj v Maroku dvojfázovú fenológiu – vyskytuje sa počas dvoch maxim na začiatku a na konci leta s minimálnym mesačným odstupom počas augusta (Barón et al., 2008).

P. papatasi má dvojitú fenológiu počas roka, a to v júni a novembri. Preferuje aridné a semiaridné oblasti, preto sa častejšie vyskytuje v nížinách než vo vyšších nadmorských výškach. Distribúcia populácie medzi severnou a južnou stranou Atlasu je limitovaná výškou 1000 m n. m. Pri nižších teplotách je menej aktívny. Bola naznačená aj negatívna korelácia medzi zrážkami a týmto druhom, čo by mohlo naznačovať, prečo je prenos *L. major* *P. papatasi* častejší na juhu ako na severe. Aj keď je *P. papatasi* rozšírený po celom Maroku, je hlavný vektor *L. major* iba v južnej časti Atlasu. Ten tvorí 4 hlavné geografické bariéry pre distribúciu druhov. Autori uvádzajú, že populácie na severe a na juhu od pohoria sa líšia v morfológii tvaru krídla a tvoria tak dve hlavné populácie v krajine. Severná populácia *P. papatasi* má relatívne väčšie krídla ako tá južná (Prudhomme et al., 2012). Morfológická variabilita pohlavných orgánov samčiek je u populácie na severnej a južnej strane Atlasu prekvapivo bohatá. Až 20 % jedincov malo na nich rôzne abnormality. Tieto fenotypové variácie súvisia so špecifickými environmentálnymi faktormi, asymetrické anomálie sa vyskytujú bežne a sú časté u väčšiny jedincov, ale symetrické anomálie sú typické pre prostredie zmenené človekom, ako napríklad skládky odpadu či miesta použitia odpadovej vody (Guernaoui et al., 2010). *P. papatasi* často saje buď vo zvieracích brlohoch alebo maštaliach. Dospelci sa môžu vyskytovať napríklad aj v puklinách stien a tmavých kútoch miestností. Napriek tomu, že má tento druh širokú distribúciu, je jeho vnútrodruhovú variabilitu na základe mikrosatelitov pomerne malá. Jedinci, ktorí boli nájdení v Maroku, Tunisku a Alžírsku vytvorili jednu spoločnú subpopuláciu z celkových 7 subpopulácií Starého sveta (Hamarsheh et al., 2009).

V Maroku sa zväčša *P. perniciosus* a *P. longicuspis* chytajú do pascí spoločne, no ich vzájomná identifikácia je zložitá. Na juhozápade sa ukazuje ako dominantný druh *P. perniciosus*, ktorý je však hojný

po celej krajine (Guernaoui *et al.*, 2005). Samčekovia druhu *P. perniciosus* sa líšia morfológiou kopulačných orgánov. Tieto formy sa nazývajú typická a atypická. Typická forma sa vyskytuje prevažne na severe, atypická je rozšírená po celej krajine. Toto rozšírenie je spôsobené ich rôznymi ekologickými preferenciami. Typická preferuje strednú nadmorskú výšku (800 – 1000 m n. m.), saharskú klímu a piesočnatú pôdu, atypická sa vyskytuje vo vyšších nadmorských výškach (1100 – 1200 m n. m.), vlhších podmienkach a vlhkom piesku (Zarrouk *et al.*, 2016). *P. perniciosus* preferuje vlhké a polovlhké oblasti (Asmae *et al.*, 2014).

Keď autori porovnali počty flebotomov chytených vo vnútri ľudských obydlií a mimo nich, zistili, že oba druhy rodu *Sergentomyia* (*S. minuta* a *S. fallax*) sa zdali byť exofilné. Rod *Phlebotomus* vo všeobecnosti, a hlavne samičky mali tendenciu byť viac endofilné (Boussaa *et al.*, 2007). Na dvoch najvýznamnejších prenášačoch v Maroku (*P. sergenti* a *P. papatasi*) sa v minulosti uskutočnil terénny výskum v snahe vyvinúť účinný a ekologický spôsob ich eradikácie. Novým prostriedkom na boj proti prenášačom by mohlo byť používanie atraktívnych návnad s toxickým cukrom. Pokus bol uskutočnený v centrálnom Maroku, v okolí rieky Ourika, keď sa označili buď plochy bohaté na cukor (tie obsahovali najmä zrelé ovocie kaktusu), alebo plochy chudobné na cukor (zelená vegetácia vhodná na pletivé kŕmenie) a zároveň obe obsahovali atraktívne návnady s cukrom a toxínom. Tento toxín, dinotefurán, pôsobí ako žalúdočný jed a má nízku toxicitu pre cicavcov. Cukre boli aplikované buď na vegetáciu alebo na návnadové stanice. Takto pripravené návnady boli neskôr na vegetácii neviditeľné. Na konci 4 týždňovej skúšobnej doby sa na oboch druhoch stanoviska zaznamenala redukcia denzity oboch pohlaví *P. papatasi* a *P. sergenti* už po jednej aplikácii, u chudobných i bohatých stanovísk to bolo s úspešnosťou približne 80 %. Cukry boli pre ne atraktívne a porovnateľné s cukrami vyskytujúcimi sa v prírode, takže by sa pomocou nich dala dosiahnuť kontrola flebotomov. Táto metóda je šetrná k životnému prostrediu, lacná a dlhodobou udržateľná (Qualls *et al.*, 2015).

3.2 Alžírsko

Alžírsko má najväčšiu rozlohu z pomedzi krajín severnej Afriky. Charakteristické sú preň vlhké oblasti so stredozemskou klímou na severe a semiaridné až aridné oblasti Sahary na juhu.

Leishmanióza sa v krajine prejavuje v dvoch formách: ako CL, ktorú spôsobujú druhy *L. infantum*, *L. major* a *L. killicki*, a VL, ktorú spôsobuje druh *L. infantum*. Najrozšírenejšia z nich je *L. major* (Boubidi *et al.*, 2011). Po Afganistane je Alžírsko krajina s najväčším výskytom CL na svete. Napriek tomu, že CL je v krajine závažný problém, je dostupných málo recentných dát. V rokoch 2005 a 2010 sa vyskytli dve veľké vypuknutia ochorenia s mimoriadne veľkými počtami prípadov (Selmane, 2015). V období 2004 – 2008 bolo ročne zaznamenaných približne 44 050 prípadov CL, ktoré boli spôsobené buď ZCL (*L. major*) alebo

sporadickou CL (*L. infantum*) (Izri *et al.*, 2014). CL je v krajine nazývaná aj „Biskra boil“ podľa púštnej oázy Biskra, kde sa tradične vyskytovala už na začiatku 20. storočia (Aoun & Bouratbine, 2014).

Geograficky sa *L. major* rozprestiera v obrovských stepiach aridných a semiaridných oblastí od západu až po východ krajiny, severne od Sahary. Spôsobuje CL a jej cyklus je zoonotický (Harrat *et al.*, 1996). Prípady spôsobené *L. major* sú v krajine hlásené od začiatku 20. storočia. Tento druh je v krajine najrozšírenejší, tvorí 90 % všetkých registrovaných prípadov (Aoun & Bouratbine, 2014). Rezervoárovými organizmami sú hlodavce: *Ps. obesus* a *M. shawi* (Boubidi *et al.*, 2011). Prenášač je *P. papatasi* (Bounamous *et al.*, 2014). Región Ghardaïa v centrálnej časti Alžírsku okupujú spoločne druhy *L. major* a *L. killicki*, v tejto oblasti bolo zaznamenané jedno z dvoch hlavných prepuknutí CL v roku 2005 (Garni *et al.*, 2014).

L. killicki sa vyskytuje na juhu Alžírsku a v najsevernejšej časti východného pobrežia. Spôsobuje ZCL (Zeroual *et al.*, 2016). Tento druh bol popísaný v Tunisku v roku 1986. Na rozdiel od Tuniska, v Alžírsku sa najčastejšie vyskytuje v preľudnených mestách, kde je často viacero pacientov z jednej rodiny, čo naznačuje pravdepodobný antroponotický prenos. Štúdia leishmánií v ohnisku epidémie CL v provincii Ghardaïa v strednom Alžírsku zaznamenala vedľa kmeňov *L. major* aj výskyt nových kmeňov blízkych *L. killicki*, o ktorých autori vyslovili hypotézu, že by mohlo ísť o nový druh (Harrat *et al.*, 2009). Charakterizácia týchto kmeňov pomocou metód MLEE a MLST v rámci štúdie porovnávajúca dvadsaťpäť rôznych kmeňov *L. killicki* z Alžírsku, Tuniska a Líbye s tridsiatimi kmeňmi *L. tropica* zo zemí Maghrebu a ďalších oblastí existenciu nového druhu nepotvrdila a výsledky naznačujú, že sa *L. killicki* vyvíja v rámci širokého komplexu *L. tropica* momentálne samostatne (Chaara *et al.*, 2015). V rovnakých oblastiach sa vyskytujú zároveň potvrdení prenášači *P. papatasi* (*L. major*) a *P. sergenti* (*L. tropica*) (Harrat *et al.*, 2009). Potvrdený prenášač *L. killicki* je *P. sergenti* (Bounamous *et al.*, 2014), ktorý tu bol nájdený prirodzene infikovaný neďaleko brlohov *Massoutiera mzabi*. Tento hlodavec je v oblasti celkom hojný a mohol by byť jej potenciónálny rezervoár (Garni *et al.*, 2014).

L. tropica sa vyskytuje v subsaharskej oblasti, kde sa nachádzajú jej najdôležitejšie ohniská, oproti *L. major* je však jej rozšírenie malé (Zeroual *et al.*, 2016). Spôsobuje CL. Je zvyčajne považovaná za antroponózu, ktorá sa vyskytuje najmä v hyperendemických oblastiach, kde je častý antroponotický prenos, bola však vyizolovaná aj zo zvierat. Rezervoárom sú potkany, psi a damany. Oblasti výskytu sporadických prípadov CL taktiež naznačujú zoonotický cyklus (Boubidi *et al.*, 2011). *L. tropica* má antroponotický cyklus v mestských oblastiach a zoonotický vo vidieckych. Nárast tohto druhu v oblasti je zrejme zapríčinený environmentálnymi zmenami (Mihoubi *et al.*, 2008). Prenášaná je druhom *P. sergenti* (Bounamous *et al.*, 2014).

Výskyt *L. infantum* je v krajine asociovaný s vlhkým a polovlhkým prostredím pozdĺž pobrežia. Tento druh je endemický po celej severnej časti Alžírsku (Seridi *et al.*, 2008), pokrýva všetky vlhké,

polovlhké, aridné a semiaridné bioklimatické zóny. Na juhu bol nájdený v spoločnom ohnisku s *L. major* (Harrat *et al.*, 1996). V Alžírsku má *L. infantum* dva klinické prejavy: ako ľudská VL a sporadická CL. Sever krajiny je hlavnou endemickou oblasťou ľudskej VL s viac než 200 prípadmi ročne. Prípady VL sú teda najčastejšie vo vlhkých a polovlhkých oblastiach (Berdjane-Brouk *et al.*, 2012). Po analýze enzýmového polymorfizmu sa zistilo, že sa v Mediteráne vyskytuje 12 zymodémov *L. infantum*, z toho 6 sa nachádza v Alžírsku (MON-1,24,34,77,80,281), čo je najviac zo všetkých krajín severnej Afriky. Izoenzýmová charakteristika 97 izolátov z Alžírska ukázala, že MON-1 je v krajine najčastejší a najrozšírenejší a nachádza sa nielen vo vlhkých a polovlhkých oblastiach severného Alžírska, ale aj aridných a semiaridných južných častiach. Prvý prípad psej leishmaniózy, závažného ochorenia psov, bol zaznamenaný v roku 1910 (Sergent & Sergent, 1910). Psi boli označené za hlavné rezervoáre *L. infantum* (Aït-Oudhia *et al.*, 2011). Potvrdenými vektormi sú tu druhy podrodu *Larroussius*: *P. perniciosus* a *P. perfiliewi* (Berdjane-Brouk *et al.*, 2012). Za potenciálneho vektora bol v aridných oblastiach považovaný aj *P. longicuspis*, ktorý bol aj nájdený prirodzene infikovaný týmto druhom leishmánie. Tieto druhy flebotomov sa často vyskytujú v podobných lokalitách (Benallal *et al.*, 2017). V minulosti boli v aridných zónach Sahary ohlásené autochtonné prípady VL, kde je druh *P. longicuspis* hojný. Bol teda epidemiologicky identifikovaný ako vektor *L. infantum* v aridných oblastiach (Berdjane-Brouk *et al.*, 2012). V rokoch 1998 – 2008 bolo v celej krajine zaznamenaných 1562 prípadov VL, z čoho 1274 prípadov pochádzalo z centrálnej a východnej časti severného Alžírska. Najviac prípadov bolo zaznamenaných u detí do 5 rokov, s podielom viac než 81 %, ktoré žijú vo vidieckych oblastiach. Dospelí ľudia tvorili len približne 5 % prípadov (Adel *et al.*, 2014).

V Alžírsku bolo zaznamenaných 22 druhov flebotomov, z ktorých 12 patrilo do rodu *Phlebotomus* a 10 do rodu *Sergentomyia*. Na väčšine územia je dominantný druh *P. papatasi* (podrod *Phlebotomus*), ďalej sa tu vyskytujú druhy podrodu *Phlebotomus* (*P. bergeroti*), podrodu *Paraphlebotomus* (*P. sergenti*, *P. alexandri*, *P. chabaudi*, *P. kazeruni*), podrodu *Larroussius* (*P. perniciosus*, *P. longicuspis*, *P. langeroni*, *P. perfiliewi*, *P. chadlii*, *P. ariasi*), podrodu *Sergentomyia* (*S. minuta*, *S. fallax*, *S. antennata*, *S. schwetzi*) podrodu *Parrotomyia* (*S. eremitis*, *S. lewisi*), podrodu *Grassomyia* (*S. dreyfuss*), podrodu *Sintonius* (*S. clydei*, *S. christophersi*, *S. tiberiadis*) (Belazzoug, 1991). V roku 2009 bol ešte objavený druh *P. mascittii* (*Transphlebotomus*) (Berdjane-Brouk *et al.*, 2012) a v 2014 *P. riouxi* (*Paraphlebotomus*) (Bounamous *et al.*, 2014).

P. perniciosus je najrozšírenejší flebotomus vo vlhkých aj aridných oblastiach. Rovnako ako v Maroku, tak aj v Alžírsku bola nájdená jeho atypická forma. Je veľmi častá v severozápadnej časti krajiny a postupne klesá smerom juh (Benallal *et al.*, 2017). Druh *P. chadlii* je široko rozšírený vo vlhkých, polovlhkých a aridných zónach krajiny. Jedinci, ktorých sa podarilo chytiť, sa vyskytovali hlavne vo zvieracích príbytkoch. Rozšírenie tohto druhu sa v Mediteráne zhoduje s druhom *P. ariasi*, potvrdeným

vektorom *L. infantum*. Pomocou mitochondriálneho cytochrómu b (cyt b) sa zistilo, že by *P. chadlii* mohol byť sesterskou skupinou druhov *P. ariasi*. Keďže samičky, ktoré autori chytili, neboli nasaté, neurčili ich potravné preferencie a ani ich vektorovú rolu v prenose leishmánií. Títo autori taktiež po prvýkrát zaznamenali v krajine výskyt druhu *P. mascittii*. Aj keď bol tento druh popísaný v mnohých krajinách Mediteránu, vždy bol nájdený len v malých počtoch. V južných regiónoch bol jeho výskyt asociovaný spoločne s *P. ariasi* a *P. perniciosus* a bol popísaný ako antropofilný a agresívny druh. O jeho možnej roli ako prenášača leishmánií v Mediteráne sa ešte stále špekuluje kvôli jeho výskytu v endemických oblastiach ľudskej a psej leishmaniózy, ešte však nebola potvrdená (Berdjane-Brouk *et al.*, 2011).

P. riouxi a *P. chabaudi* (podrod *Paraphlebotomus*) predstavujú taxonomicky nedoriešenú dvojicu. Morfológicky sa od seba tieto dva druhy odlišujú veľmi ťažko a nedávna analýza populácií *P. riouxi* z Alžírsku a Tuniska neprinesla žiadne nové fylogenetické a biologické charakteristiky druhu, preto autori navrhujú označovať *P. riouxi* za poddruh alebo synonymum *P. chabaudi*. Oba taxóny boli nájdené spolu v Tunisku. Boli porovnané ich fragmenty mtDNA cyt b a morfológia tela (Tabbabi *et al.*, 2014). Oproti tomu Lehtel *et al.* uvádza, že podľa ich fylogenetickú analýzu sú to dve odlišné taxonomické vetvy v súlade s morfológickou identifikáciou. Považujú ich teda za dva rôzne druhy (2017).

Aj druhová identifikácia samičiek podrodu *Larroussius* na základe ich morfológie je častokrát veľmi obťažná. Boli preto snahy o aplikáciu molekulárnych metód na tento účel. Autori sa pokúsili určiť bežne sa vyskytujúce druhy rodu *Phlebotomus* v Mediteráne na základe PCR-RFLP mtDNA cyt b. Táto technika na alžírsku flebotomy nefunguje, pretože to na rozlíšenie jednotlivých druhov nestačí a je potrebné použiť kombináciu aspoň dvoch rôznych markerov. Je to spôsobené aj konzervovanými úsekmi DNA sekvenácií, jednoduché restriktívne štiepenie PCR produktov nemôže odlíšiť niektoré druhy patriace do iných rodov, napríklad *P. ariasi* a *S. schwetzi* alebo podrodov, *P. sergenti* a *P. ariasi*. Táto metóda nie je dostatočne rozlišujúca na to, aby bola v Mediteráne používaná v bežnej praxi. V podstate je jednoduchšie najprv identifikovať druhy morfológicky a až potom použiť PCR-RFLP metódy pre druhy, kde je morfológická analýza zložitá, napríklad u druhov *P. chabaudi* a *P. riouxi* (Bouamrous *et al.*, 2014).

Naopak spektroskopická metóda MALDI-TOF MS, ktorá je založená na porovnaní druhovo špecifických proteínových profilov, sa osvedčila ako účinný identifikačný prístup v doposiaľ prvej terénnej štúdiu zameranej na 6 druhov flebotomov vyskytujúcich sa v Alžírsku (*P. perniciosus*, *P. perfiliewi*, *P. longicuspis*, *P. papatasi*, *P. sergenti* a *S. minuta*). Presné porovnanie profilov MS umožnilo odhaliť jedinečné píky a tým umožniť klasifikáciu vzoriek na úrovni druhu a pohlavia. Keď sa novovytvorená databáza autorov porovnala už s prvými slepými testami, 94 % vzoriek malo rovnakú identifikáciu na základe MALDI-TOF MS a morfológie, čo predstavuje až prekvapivo vynikajúcu úspešnosť. Táto technika sa teda v Alžírsku osvedčila ako veľmi nádejná na možné budúce širšie využitie (Lafri *et al.*, 2016).

3.3 Tunisko

Tunisko je z krajín severnej Afriky rozlohou najmenšie, avšak rozsah výskytu leishmanióz vzhľadom k rozlohe je tu z pomedzi všetkých krajín najväčší. Na severe je preň typická vlhká pobrežná klíma, ktorá smerom na juh prechádza do semiaridnej až aridnej klímy. Na juhu Tuniska je púštna oblasť Sahary.

Leishmanióza sa vyskytuje na viacerých územiach krajiny a spôsobujú ju tu *L. infantum* na severe a v centrálnej časti, ktorá je zodpovedná za VL a CL, *L. major* v centrálnej a južnej časti a spôsobuje CL a *L. killicki*, ktorá sa vyskytuje v mikroohniskách v centre a na juhovýchode a spôsobuje CL. Ich identifikácia a klasifikácia bola uskutočnená pomocou MLEE (Chargui *et al.*, 2009). CL tu má rôzne formy: chronická CL (*L. killicki*), sporadická CL (*L. infantum*) a zoonotická CL (*L. major*). Na severozápade krajiny by mohli spoločne cirkulovať *L. infantum* a *L. major*, ako naznačujú koinfekcie v ježkoch druhu *Aterix algirus* (Chemkhi *et al.*, 2015). Najčastejšie a najviac zastúpené zymodémy sú *L. major* MON-25 a *L. infantum* MON-1, ktoré majú aj najväčšiu geografickú distribúciu (Haouas *et al.*, 2012).

L. major, ktorá spôsobuje ZCL, je v krajine známa ako „Le Bouton de Gafsa“, čiže vyrážka Gafsy. ZCL bola po prvýkrát popísaná v roku 1884 práve v oblasti Gafsa na juhozápade Tuniska (Déperet & Boinet, 1884, citované podľa Harrabi *et al.*, 2015). V tejto oblasti je dodnes ZCL najviac endemická v celom Tunisku. ZCL v oblasti zastupuje typický model opakovane sa objavujúcej zoonózy. Väčšina kmeňov izolovaných v Tunisku patrí zymodému MON-25 (Harrabi *et al.*, 2015). Spôsobuje 2000 – 4000 prípadov ročne (Haouas *et al.*, 2012). *L. major* je najrozšírenejšia v centrálnej a južnej časti Tuniska. Spôsobuje tu veľké zdravotné problémy. Prenášačom je *P. papatasi* a za hlavného rezervoárového živočicha je označený *Ps. obesus*, ktorý je hojný v aridných a semiaridných oblastiach. Za ďalšie rezervoáre sú považované *M. shawi* a *M. libycus*, ktoré majú nočnú aktivitu a kvôli svojim migračným aktivitám rozširujú ochorenie do ďalších oblastí. Druh *Mustela nivalis* bol taktiež objavený prirodzene infikovaný *L. major* MON-25 v endemickom území centrálneho Tuniska, avšak jeho potencionálna rezervoárová rola ešte nebola plne potvrdená (Chamkhi *et al.*, 2015). Ďalším prirodzene infikovaným druhom bol *Ctenodactylus gundi*, ktorého jedince boli nájdené najviac infikované *L. major* a menej druhom *L. tropica*. Tento druh hlodavca by mohol mať podstatnú úlohu v prenosovom cykle a mala by byť uvažovaná jeho rola ako potencionálneho rezervoára v endemických oblastiach ľudských kutánných leishmanióz v Tunisku (Ghawar *et al.*, 2018). Svoj význam by mohol mať aj druh *Ps. vexillaris*, avšak jeho rola ešte nebola potvrdená (Ben Othman *et al.*, 2018). K potencionálnym rezervoárovým hosťiteľom môžeme zaradiť ešte Ježa túlavého (*Aterix algirus*), kedy u všetkých 6 jedincov v severozápadnom Tunisku bola molekulárnymi technikami izolovaná *L. major*, v troch prípadoch bola zistená spoločná infekcia s *L. infantum* (Chemkhi *et al.*, 2015). Pre *L. major* existujú modely, ktoré sa pokúšajú identifikovať súvislosť medzi výskytom ZCL a možnými rizikovými faktormi. Tieto modely si kladú za úlohu vytvoriť predpovede kontroly a prevencie prípadov ZCL. V rizikových oblastiach model zvýraznil

faktory ako vysoké množstvo hlodavcov, priemerná teplota, zrážky a priemerná vlhkosť (Talmoudi *et al.*, 2017).

Chronická CL je spôsobovaná *L. killicki* MON-8. Tento variant druhu *L. tropica* bol objavený práve v mikroohnisku v roku 1986 v juhovýchodnom Tunisku (Rioux *et al.*, 1986, citované podľa Bouratbine *et al.*, 2005) a zistilo sa, že sa šíri aj do stredného a juhozápadného Tuniska (Bouratbine *et al.*, 2005). Prenášaná je *P. sergenti*, no rezervoár ešte nebol odhalený. Potencionálnym a nájdeným už aj prirodzene infikovaným, rezervoárom by mohol byť hlodavec *C. gundi*, čo by mohlo potvrdiť predchádzajúce špekulácie ohľadom tohto druhu (Chemkhi *et al.*, 2015), keď boli možné infekcie leishmániami zistené pomocou niekoľkých molekulárnych techník, ako RFLP a sekvenovanie (Jaouadi *et al.*, 2011) alebo RFLP a real time PCR (Bousslimi *et al.*, 2012).

VL, ktorej pôvodcom je *L. infantum*, je v krajine popisovaná od roku 1904 (Laveran & Cathoire, 1904, citované podľa Haouas *et al.*, 2012). Ročne spôsobuje približne 150 prípadov a spôsobuje ju MON-1, ktorý sa vyskytuje prevažne vo vlhkých oblastiach na pobreží. Za sporadickú CL je zodpovedný MON-24 (Haouas *et al.*, 2012). VL je v krajine považovaná za zoonotickú so psami ako hlavnými rezervoármi. V krajine sa vyskytujú 3 hlavné zymodémy tohto druhu: MON-1, 24 a 80, ktoré zároveň reprezentujú rôzne klinické prejavy: VL, CL a psiu leishmaniózu. Okrem toho sa MON-24 delí ešte na dve skupiny kmeňov, a to dermatotrofickú a viscerotrofickú skupinu. Prenášačmi sú tri druhy rodu *Phlebotomus*, v závislosti od environmentálnych podmienok: *P. perfiliewi* bol nájdený vo vlhkých oblastiach v ohniskách CL, *P. perniciosus* v aridných a semiaridných oblastiach CL a VL a *P. longicuspis* v Saharských oblastiach s výskytom VL (Chargui *et al.*, 2009). V rokoch 1982 – 1991 bolo zaznamenaných viac než 200 prípadov VL z centrálnej a južnej oblasti, ktoré sú zväčša aridné. Podobne aj u sporadickej CL boli v roku 2006 zaznamenané nové prípady v centrálnej oblasti, pričom dovtedy bola limitovaná na severe (Barhoumi *et al.*, 2015). Epidémii CL u ľudí predchádza vysoká prevalenciou *L. infantum* u psov a vektorov. Vysoká prevalencia u psov teda zvýši prevalenciu na vektoroch, čo vedie k vyššiemu možnému výskytu ochorení u ľudí. Vysoká prevalencia u psov je teda kľúčový faktor, ktorý spúšťa prenos na človeka, avšak utratenie séropozitívnych psov nie je riešenie. Na základe matematických modelov je najúčinnějšía stratégia na zníženie prevalencie CL u ľudí boj s prenášačmi, ktorý je potrebný zaviesť najmä vo vznikajúcich ohniskách (Kaabi & Zhioua, 2018).

Flebotofauna je v krajine veľmi bohatá. Celkovo sa v Tunisku vyskytuje 16 druhov flebotomov a sú to druhy rodu *Phlebotomus*, podrodu *Phlebotomus* (*P. papatasi*), *Paraphlebotomus* (*P. chabaudi*, *P. riouxi*, *P. alexandri*, *P. sergenti*), *Larroussius* (*P. langeroni*, *P. longicuspis*, *P. perfiliewi*, *P. perniciosus*, *P. ariasi*, *P. chadlii*) a rodu *Sergentomyia*, podrodu *Sergentomyia* (*S. fallax*, *S. minuta*, *S. antennata*), *Grassomyia* (*S. dreyfussi*), *Sintonus* (*S. christophersi*) (Croset *et al.*, 1978, Depaquit *et al.*, 1998, Boudabous *et al.*, 2009).

Ako jeden z hlavných vektorov *L. infantum*, *P. perniciosus*, expanduje do aridnej centrálnej a južnej časti krajiny. V minulosti bol nachádzaný hojný v semiaridných a menej hojný v polovlhkých a aridných oblastiach. Novšie entomologické štúdie ukazujú, že jeho výskyt nie je spojený s vývodmi zavlažovania, pretože bol nachádzaný rovnako často v zavlažovaných, ako aj nezavlažovaných územiach. Na východnom pobreží je jeden z najdôležitejších prenášačov VL. Dominujúci druh v saharskej zóne je *P. longicuspis*, takže jeho hojnosť a hustota by mohla byť príčinou rozšírenia sa VL na juh Tuniska (Barhoumi *et al.*, 2015).

P. perniciosus sa vyskytuje prevažne synantropne, keď sa ich hostitelia, psi, vyskytujú v blízkosti ľudí. Organická produkcia domácich zvierat im vytvára priaznivé podmienky na vývoj. Ich výskyt je prevažne endofilný. *P. perniciosus* je dominantný druh semiaridných bioklimatických prostredí. Prvé jedince sa objavujú na začiatku mája, keď sa liahnu kukly, ktoré prezimovali. Ďalší pík sa objavuje od konca júla do konca septembra. Pomocou real time PCR bol aj molekulárne potvrdený jeho štatút hlavného prenášača. Počas obdobia v júni a v auguste až septembri sa objavuje najväčšie množstvo prenášačov a na konci tejto sezóny je najväčší podiel samičiek nakazený, čo zvyšuje riziko infekcie (Banabid *et al.*, 2017).

P. chadlii bol po prvýkrát popísaný na severovýchode Tuniska a bol odlišený od *P. ariasi* na základe morfológických odlišností na spermatéke. Okrem týchto odlišností štatút druhu podporujú aj ďalšie skutočnosti, ako napríklad že sa samčekovia vyskytovali tri roky po sebe v rovnakej oblasti, *P. ariasi* v nej úplne chýbal a spoločný výskyt samičiek a samčekov *P. chadlii* v jednej pasti (Chamkhi *et al.*, 2006).

Napriek tomu, že ich vektorová rola v prenose ešte nebola potvrdená, vyskytujú sa *P. chabaudi* a *P. riouxi* spoločne v niekoľkých ohniskách leishmaniózy a sú príbuzní *P. sergenti*. *P. chabaudi* bol po prvýkrát popísaný práve v Tunisku a v rovnaký rok bol nájdený aj v Alžírsku. Zatiaľ čo *P. chabaudi* sa vyskytuje hlavne na severe, *P. riouxi* sa nachádza na juhu krajiny. Napriek tomu, že tieto dva druhy majú určitú genetickú podobnosť, autori sa prikláňajú k názoru, že sú to dva odlišné druhy a tieto podobnosti sú zapríčinené ešte len nedávnou speciáciou, za ktorou nasledovalo niekoľko migrácií (Lehrter *et al.*, 2017). Tieto dva druhy boli nájdené aj spoločne v ohnisku CL, kde sa zároveň vyskytuje ako *L. major*, tak aj *L. tropica*, a kde je hlavným prenášačom *L. tropica* *P. sergenti*. Považujú sa za potencionálnych lokálnych prenášačov *L. tropica* na juhu krajiny. Oba druhy boli dominantné v skalnatých habitatoch, ktoré obľubujú potencionálni rezervoároví hlodavci druhu *C. gundi*. Mohli by mať teda významnú úlohu v zoonotickom prenose na tento druh hlodavcov (Tabbabi *et al.*, 2011).

Druhy *Sergentomyia* sajú prevažne na plazoch, avšak niekoľko z nich (*S. clydei*, *S. darlingi*, *S. minuta*, *S. schwetzi*) už bolo nájdených infikovaných leishmániami potencionálne patologickými aj pre človeka. U niektorých z týchto druhov flebotomov bolo zaznamenané, že sali na cicavcoch, vrátane človeka (Maia & Depaquit, 2016). V laboratórnych podmienkach bol zaznamenaný pokus, keď *S. garnhami* preniesla *L. major* na myš, u ktorej sa objavili typické kutánne lézie s množstvom amastigotov (Mutinga *et*

al., 1994). Ďalšie štúdie musia určiť, ktoré konkrétne sergentomyie vyhovujú všetkým podmienkam na ich uznanie za potvrdených vektorov leishmání patologických pre cicavcov v Starom svete (Maia & Depaquit, 2016). V jednej samičke *S. minuta* bola v nasatej krvi nájdená DNA Myši domovej (*Mus musculus*), čo naznačuje, že by tento druh nemusel sať výhradne sa studenokrvných cicavcoch (Jaouadi *et al.*, 2013). Prvý zaznamenaný prípad, keď bola nájdená DNA leishmání v sergentomyi, bol objavený na juhu Tuniska, v endemických oblastiach CL. Dve nenasaté samičky druhu *S. minuta* boli pozitívne na DNA *L. major*, čo naznačuje, že by to mohol byť následok množenia parazita v tráviacej sústave. Tieto nájdené samičky otvárajú otázku ohľadom role *S. minuta* v zoonotickom cykle CL. Na potvrdenie tejto role je však potrebné získať viac vzoriek ako prenášača, tak aj nasatej krvi (Jaouadi *et al.*, 2015).

S. clydei je kryptický druh vyskytujúci sa na juhovýchode krajiny. Zdá sa, že druh, ktorý bol chytený v tejto oblasti je blízko príbuzný druhu *S. christophersi*. V súčasnosti sa vyskytuje v centrálnej časti Tuniska. V tomto druhu bola nájdená DNA leishmání, ktorá sa tam nachádzala aj po strávení krvi. Donedávna sa verilo, že je to vektor rodu *Sauroleishmania*, no novšie dáta naznačujú, že by mohol byť vektorom pre *L. major*, resp. pre ďalšie druhy rodu *Leishmania*. Aj keď *S. clydei* spĺňa niektoré kritéria, ktoré sú nutné na potvrdenie jeho vektorovej role, je potrebné urobiť viac štúdií v ďalších oblastiach krajiny (Ayari *et al.*, 2016).

3.4 Líbya

Líbya je prímorská krajina, ktorá na západe susedí s Tuniskom a Alžírskom a na východe s Egyptom. Typická je pre ňu na severe vlhká subtropická klíma s horúcimi letami a miernou zimou a na juhu púštna suchá oblasť s veľkými teplotnými rozdielmi medzi dňom a nocou. Časté sú tu veľké suché územia bez vegetácie (Samy *et al.*, 2016).

Hlavná forma leishmaniózy v Líbyi je ZCL, ktorej najväčšie ohniská sú na severozápade krajiny (El Buni *et al.*, 2000) a v poslednom období bolo zaznamenané jej ohnisko aj v centrálnej časti krajiny v provincii Sirte (Fathy *et al.*, 2009).

V krajine sa vyskytujú tri druhy, ktoré spôsobujú CL: *L. major*, *L. infantum* a *L. tropica* a jeden z nich, *L. infantum*, spôsobuje aj VL (Samy *et al.*, 2016). CL je rozšírená po severozápadnom regióne krajiny a po prvýkrát boli zaznamenané jej prípady v roku 1930 (Onorato, 1931, citované podľa El Buni *et al.*, 2000). Za rizikový faktor na zisk ochorenia sa považuje práca na farmách, keď sú títo ľudia najviac vystavení možnosti vypuknutia ochorenia. Ďalej sú možnými budúcimi pacientmi študenti a ženy v domácnosti, ktorí tiež pracujú na farmách alebo osoby, ktorých práca vyžaduje pobyt vonku v noci, napríklad policajti. Najohrozenejšia veková skupina je medzi 11 – 35 rokom života u oboch pohlaví, avšak častejšie chorí bývajú muži. V oblasti na severozápade krajiny, Al-jabal Al-gharbi, sa vyskytuje ako *L. major*, tak aj *L.*

tropica, ktoré obe spôsobujú CL (Abdellatif *et al.*, 2013). Častokrát sa stáva, že prípady CL spôsobené *L. tropica* sa liečia ťažšie a trvajú dlhšie ako tie, ktoré spôsobí *L. major* (Amro *et al.*, 2012).

L. major spôsobuje ZCL a je najrozšírenejšia v krajine. Jej potencionálnym rezervoárom sú hlodavce: *M. libycus*, *Ps. obesus* a *M. shawi*, pričom *L. major* bola identifikovaná a opakovane prirodzene infikovaná v druhoch *M. libycus* a *M. shawi* z endemických severozápadných oblastí a *Ps. obesus* bol určený v predchádzajúcich štúdiách ako potencionálny rezervoár, keď tento hlodavec bol najčastejší na celom území od Sahary až po Stredný Východ. Jej hlavným prenášačom je *P. papatasi*. Distribúcia tohto prenášača je ohraničená vysokou teplotou a vlhkosťou, keďže tento druh netoleruje nízke extrémne týchto podmienok. Táto skutočnosť by mohla naznačovať, prečo je *L. major* taká úspešná na severe krajiny, kde sú podmienky prijateľné pre prenášača. Okrem teploty je dôležitá aj nadmorská výška. Územie Líbye na severe s nízkou nadmorskou výškou a bohatými zrážkami je najviac osídlené druhmi *L. major* a *P. papatasi* (Samy *et al.*, 2016). *L. major* spôsobuje až 90 % všetkých prípadov. Bola nájdená prevažne vo vidieckych oblastiach (Amro *et al.*, 2017). Jej presný zymodém ešte nebol identifikovaný (Chaara *et al.*, 2014).

L. tropica spôsobuje ACL (Samy *et al.*, 2016). Prenášačmi sú tu druhy podrodu *Larrousius* *P. perfiliewi*, *P. perniciosus* a *P. longicuspis* (Amro *et al.*, 2012). Najjužnejší výskyt tohto druhu bol zaznamenaný v provincii Wadi Al Hayaa, ktorá sa nachádza na juhozápade krajiny. *L. tropica* sa častejšie vyskytuje v mestských oblastiach. Je asociovaná s antroponotickým cyklom, jej potencionálne zvieracie rezervoáre sú predmetom diskusie (Amro *et al.*, 2017). Prvý prípad bol zaznamenaný v roku 2006 a následne bolo odhalené väčšie ohnisko *L. tropica* v oblasti Nalut (Belal *et al.*, 2012). Vyskytuje sa tu MON-8 (*L. killicki*) (Chaara *et al.*, 2014).

L. infantum spôsobuje VL. Jej ohniská boli identifikované na severozápade krajiny, v subsaharskej oblasti a pri južnej Sahare (Samy *et al.*, 2016). Prenášačom je tu *P. sergenti* (Amro *et al.*, 2012). Sporadická CL, ktorú takisto spôsobuje aj v Líbyi, sa vyskytuje zriedka a prevažne v centrálnej oblasti krajiny (Amro *et al.*, 2017). Podobne ako u *L. major*, ani u *L. infantum* hlavný zymodém ešte nebol objasnený (Chaara *et al.*, 2014).

Celkovo môžeme nájsť v Líbyi tieto druhy flebotomov, rodu *Phlebotomus*, podrodu *Phlebotomus* (*P. papatasi*, *P. bergeroti*), *Larrousius* (*P. perniciosus*, *P. longicuspis*, *P. langeroni*, *P. orientalis*, *P. tobbi*), *Paraphlebotomus* (*P. sergenti*, *P. chabaudi*, *P. alexandri*) a rodu *Sergentomyia*, podrodu *Sergentomyia* (*S. minuta*, *S. fallax*, *S. antennata*, *S. clydei*, *S. schwetzi*, *S. christophersi*), *Grassomyia* (*S. dreyfussi*) (Annajar, 1999, Depaquit, 2014). *P. papatasi* je najhojnejší druh v Líbyi nasledovaný *P. sergenti*. Toto môže naznačovať, prečo je v krajine *L. major* taká hojná v porovnaní s *L. tropica* (Amro *et al.*, 2012). Flebotomovia sú najaktívnejší počas teplých a jasných nocí (Dokhan *et al.*, 2017).

Flebotomovia sú veľmi vnímaví na použitie insekticídov, avšak záleží na použitej technike,

časového obdobia aplikácie a cieľového druhu. Bolo zaznamenaných len niekoľko prípadov rezistencie na DDT (na druhu *P. papatasi*). Ultra-Low Volume aplikácie insekticídov sa používajú v praxi bežne na boj proti nežiaducim druhom. Na severozápade Líbye sa pokúsili bojovať s flebotomami pomocou tejto techniky a tým aj znížiť prevalenciu leishmaniózy v oblasti. Sprejový cypermetrín aplikovali počas troch aplikačných cyklov v apríli, júni a septembri a počas tejto doby sa dvakrát mesačne po dobu troch nasledujúcich nocí chytali flebotomovia do CDC svetelných pascí. Zistilo sa, že denzita týchto prenášačov sa značne znížila počas chytaní v post-aplikačnej fáze, oproti tej počas nej. Hlavné zníženie bolo zistené u druhu *P. papatasi*, ktorý je v oblasti najhojnejší a ďalej u druhov *P. longicuspis*, *P. sergenti*, *S. minuta*, *S. fallax*. Pre druhy *P. alexandri*, *P. chabaudi*, *P. langeroni* a *S. antennata* boli taktiež zistené nižšie hodnoty denzity po aplikácii insekticídu, avšak tento rozdiel nebol až taký významný ako u predchádzajúcich druhov. Redukcia sa pohybovala v závislosti od druhu medzi 21 – 78 %, dokopy pre všetky druhy priemerne 47 %. Tieto výsledky naznačujú značný úspech použitej metódy (Dokhan *et al.*, 2017).

Od zmeny režimu počas Arabskej jari v roku 2011, občianskej vojne, ktorá začala v roku 2014 a trvá dodnes (2018) a vypuknutí migračnej krízy je aktuálny stav poznania o leishmaniózach v krajine veľmi limitovaný. Napriek tomu, že sa tu vyskytujú ako ACL, tak aj ZCL, väčšina publikácií sa zameriava na *L. major* (ZCL), ktorá je zodpovedná za najväčší podiel prípadov CL v krajine. Šíreniu ochorenia napomáhajú aj utečenci, ktorí hromadne utekajú z krajiny a môžeme očakávať zvýšenie počtu prípadov najmä v utečeneckých táboroch na hraniciach. V súčasnosti teda hlavne kvôli nejasnej politickej situácii v krajine nemáme recentné dáta a aktuálny epidemiologický status (Du *et al.*, 2016).

3.5 Egypt

V minulosti mala leishmanióza v Egypte klesajúcu tendenciu, ale environmentálne zmeny a priveľké využívanie pôdy človekom začali toto riziko zvyšovať. Leishmanióza začína byť v niektorých oblastiach vážny zdravotnícky problém. Vyskytuje sa hlavne v púštnych oblastiach s nízkym podielom vegetácie (Samy *et al.*, 2014).

CL sa vyskytuje v severovýchodných častiach Egypta. Za túto formu sú zodpovedné *L. major* a *L. tropica* (Samy *et al.*, 2014). Hlavné ohniská sú v púšti na Sinaji, kde sa vyskytujú oba druhy (Aoun & Bouratbine, 2014)

L. major sa vyskytuje prevažne na severe polostrova Sinaj, v nízko položených aridných a semiaridných územiach. S jej potvrdeným prenášačom, *P. papatasi*, sa vyskytujú spoločne takmer na všetkých územiach, okrem južného Sinaja a púšťach na západe Egypta (Samy *et al.*, 2014). V južnom Sinaji sú prípady ZCL sporadické a zdá sa, že v tejto oblasti má odlišné ekologické faktory, napríklad sčasti iná skladba flebotomov v týchto oblastiach (Kassem *et al.*, 2012). Za rezervoár sú považované hlodavce *M.*

crassus, *Gerbillus pyramidum floweri* a *G. andersoni* (Shehata *et al.*, 2009).

L. tropica má svoje ohniská hlavne na hranici s Palestínou (Samy *et al.*, 2014) a nejaké ohniská boli detekované aj v okolí Alexandrie (Mohareb *et al.*, 1996). Spôsobuje ACL v oblastiach s hustým osídlením, kde je častý antroponotický prenos. V Egypte bola zaznamenaná aj VL spôsobená týmto druhom. Prenášačom je *P. sergenti* (Hanafi *et al.*, 2001). Presun tohto druhu na ďalšie územia môže byť umožnený aj tým, že je jeho prenášač v krajine veľmi rozšírený a rovnako narastá aj turizmus (Mohareb *et al.*, 1996). Jediný súčasný prípad CL, ktorého pôvodca bol určite *L. tropica*, bol do Egypta privezený robotníkom zo Saudskej Arábie. Rezervoár by mohol byť voľne žijúci hlodavec *G. pyramidum floweri*, čo by naznačovalo možný zoonotický cyklus. *L. tropica* bola nájdená už aj v ohniskách *L. major* a teda geografický výskyt *L. tropica* by mohol byť väčší, ako sa pôvodne zdalo (Shehata *et al.*, 2009).

V dovolenkovom stredisku blízko Alexandrie, v El Agamy, sa v roku 1982 rozvinulo nové ohnisko *L. infantum* MON-98 spôsobujúce VL. Za jeho vektora bol považovaný *P. langeroni*, ktorý sa tu ako jediný z podrodu *Larroussius* vyskytoval a ktorý bol aj následne potvrdený experimentálnymi infekciami na škrečkoch (Kassem *et al.*, 2012). To už ale toto ohnisko postupne zanikalo, čo bolo následkom zmien environmentálnych podmienok na severozápadnom pobreží, ku ktorým patrí hlavne urbanizácia. Vďaka nej zmizlo pôvodné osídlenie v prospech modernej urbanizácie a El Agamy bolo pričlenené k Alexandrii ako jedno z jej predmestí, rovnako vymizli aj vektori, čo bolo kľúčovým momentom na zastavenie prenosu leishmaniózy tohto zymodému. V súčasnosti sa tu tento vektor nenachádza. Posledné ľudské prípady boli zaznamenané v roku 2005. Stále však ostáva otázka, či sa neobjaví znova a to najmä pri hraniciach s Líbyou, kde sa vyskytujú potencionálni prenášači podrodu *Larroussius* a kde je VL aj v súčasnosti stále endemická (Kassem *et al.*, 2017).

V južnej časti polostrova Sinaj je flebotofauna diverzifikovaná, pravdepodobne následkom rôznych terénnych a environmentálnych podmienok. Klimatické faktory sú dôležitým limitujúcim činiteľom vo výskyte flebotomov na juhu. Týmito faktormi v distribúcii môžu byť napríklad nadmorská výška, klíma či typ pôdy. Časté a najrozšírenejšie druhy sú *P. alexandri*, *P. kazeruni* a *P. sergenti*, menej časté *P. papatasi* a *P. bergeroti* a druhy *P. arabicus*, *P. major* a *P. orientalis* sa vyskytujú iba na určitých územiach. Na základe predikcie budúceho výskytu *P. papatasi* ako vektora *L. major* autori odhadujú, že až jedna štvrtina južnej časti polostrova Sinaj môže byť ohrozená ZCL (Kassem *et al.*, 2012). *P. papatasi* dosahuje najvyššie hustoty v sezóne od mája do septembra (Hassan *et al.*, 1999). Okrem rodu *Phlebotomus* sa na južnej časti Sinaja vyskytujú druhy rodu *Sergentomyia*: *S. clydei*, *S. schwetzi*, *S. fallax* a *S. christophersi* (El Sawaf *et al.*, 1987).

4 Diskusia a záver

V mojej bakalárskej práci som sa pokúsila zhrnúť súčasný výskyt leishmaniózy a ich prenášačov v severnej Afrike. V týchto krajinách má ochorenie rastúcu prevalenciu aj napriek tomu, že väčšina z nich patrí medzi vyspelé krajiny s dobrým zdravotníctvom a životným štandardom (Hotez *et al.*, 2012).

Komplikovaná politická situácia po Arabskej jari, ktorá v niektorých krajinách ešte stále nie je vyriešená, prispieva k nárastu ochorení. Tieto krajiny sú buď zmietané občianskou vojnou, alebo nemajú stabilnú vládu, kvôli čomu kolabuje zdravotníctvo a zvyšujú sa migračné vlny. Ľudia z týchto krajín utekajú a distribuujú ochorenie do ďalších, predtým neendemických, oblastí (Du *et al.*, 2017). Najmä občianska vojna v Líbyi spôsobuje, že na hraniciach s Tuniskom a Egyptom je v utečeneckých táboroch viac než milión migrantov, ktorí utekajú zo zemí, ktoré sú považované za endemické regióny leishmaniózy (Dourgon & Kassir, 2014). Ochorenie sa teda môže vyskytnúť nie len v nových oblastiach týchto krajín, ale potenciálne aj v neendemických krajinách, ktoré majú vyhovujúce podmienky, ako vhodných prenášačov a rezervoárov (Barón *et al.*, 2008).

Podľa aktuálnych dát je leishmanióza po malárii druhé ochorenie na svete v morbidite a mortalite. Na rozdiel od malárie má však leishmanióza stúpajúcu prevalenciu (Murray *et al.*, 2015). Spôsobená patológia CL je závislá na viacerých aspektoch, ako napríklad genetickej diverzite vektora a parazita, stave imunitného systému hostiteľa, type cicavca ako rezervoára alebo environmentálnych podmienkach (Bahrami *et al.*, 2017). Momentálne nie je dostupná žiadna vakcína a aj súčasná liečba, ktorá spočíva najmä v pichaní injekcií do lézií, je veľmi drahá a obťažná na aplikáciu, hlavne u detí a ľudí s väčším počtom lézií (Harrabi *et al.*, 2015).

V krajinách severnej Afriky sa vyskytuje VL, psia leishmanióza a tri formy CL – sporadická, chronická a zoonotická. V dostupnej literatúre som nezaregistrovala, že by v niektorej krajine bol zaznamenaný výskyt, alebo sa tam aj dlhodobo vyskytovala, muko-kutánná forma leishmaniózy. Väčšina krajín sa delí na viscerotrofický sever a kutánnu juh, avšak kvôli nižšie popísaným aspektom už toto delenie neplatí úplne spoľahlivo (Aoun & Bouratbine, 2014, Chaara *et al.*, 2014).

Leishmania má veľkú genetickú plasticitu a je schopná vysporiadať sa a adaptovať na environmentálne zmeny, pričom toto správanie je špecifické od druhu, izolátu a populácie. Genetické rozdiely *L. major* medzi vzorkami izolovanými z pacientov so ZCL spôsobujú rozdielne klinické príznaky. Tieto rozdiely ukazujú na potenciálne súvislosti s patogénitou parazita (Ghouila *et al.*, 2017).

Viaceré štúdie naznačili hypotézy, že za zvyšujúci sa počet prípadov leishmaniózy, ako CL, tak aj VL, môže zmena prírodných podmienok. Práve zmena environmentálnych podmienok, zvýšená urbanizácia a využívanie pôdy, zmena klímy či prirodzeného habitátu malo za následok zvýšenie hustoty kľúčových organizmov v prenose leishmaniózy – vektorov a rezervoárov (Samy *et al.*, 2014). Bola naznačená aj

korelácia medzi zvýšením teploty povrchovej klímy a stavom vegetácie a expanzie ZCL smerom na sever. Tieto dve možné príčiny zmien prostredia môžu mať podstatnú rolu vo výskyte nových ohnísk v severných regiónoch (Bounoua *et al.*, 2013). Za hlavných prenášačov v týchto oblastiach boli určené druhy rodu *Phlebotomus*, napr. *P. papatasi*, či *P. sergenti*, ktorých počty sa zvyšujú najmä v oblastiach, kde boli uskutočnené environmentálne zmeny, ktoré v mnohých prípadoch zapríčinil človek (Guernaoui *et al.*, 2010). Takisto aj množstvo hlodavcov, ktorých počet v týchto endemických oblastiach v posledných rokoch prudko rastie, má za príčinu obrovské množstvo prípadov tohto ochorenia (Garni *et al.*, 2014).

Príčinou nárastu ochorení môže byť aj rastúci turizmus, keď do týchto krajín cestuje čoraz viac turistov, a preto sa znižuje využívanie tiav ako prostriedku dopravy, ktoré boli nahradené motorovými vozidlami. To malo za následok rozbuženie vegetácie, keďže ju nemal kto spásať, a rovnako aj väčšie množstvo hlodavcov ako rezervoárov leishmaniózy (Ashford, 2000).

Keďže niektoré druhy leishmáníí sú zoonotické, boj proti nim spočíva v eliminácii rezervoárov. Najmä ten s divokými rezervoármi je náročný, keďže často tieto hlodavce majú nočnú a migračnú aktivitu (Chemkhi *et al.*, 2015). Boj proti prenášačom nie je zďaleka ľahší, keďže flebotomia, na rozdiel napríklad od komárov, nepotrebuje na svoj vývoj stojatú vodu a bežne sa môžu vyvíjať v hline alebo substráte (Maroli *et al.*, 2013). Boli naznačené nové možné postupy v tomto boji, ako napríklad postrek vegetácie toxickými cukrami (Qualls *et al.*, 2015) alebo nízkymi dávkami insekticídov (Dokhan *et al.*, 2017). Záleží však od predstaviteľov štátov, či budú boju voči týmto dôležitým článkom v prenosovom cykle venovať dostatočnú pozornosť.

Výhľadové modely predpovedajú, že prevalencia najmä CL v budúcnosti bude stúpať a to napríklad v Líbyi v severozápadnej oblasti, naprieč pobrežím a naznačuje vznik nových endemických ohnísk na severovýchode. Tieto modely zohľadnili klimatické podmienky a tým predpokladajú, že pobrežné regióny budú mať pre vektorov priaznivejšie podmienky a tým tu bude riziko nákazy vyššie. Klesajúca tendencia by mohla nastať v centrálnych oblastiach, keď klimatické zmeny spôsobia zvýšenie teploty, tým pádom zníženie vlhkosti, čo sa stane pre prenášačov neakceptovateľné. Napríklad aj stavanie priehrad môže vyvolať zmenu teploty a vlhka, čo ovplyvní vegetáciu, populáciu hlodavcov a tým aj vektorov (Amro *et al.*, 2017).

Mnohé skutočnosti o leishmaniózach ešte nie sú úplne jasné či potvrdené. V severnej Afrike je množstvo potencionálnych rezervoárových organizmov, ktoré ešte čakajú na svoje potvrdenie (Garni *et al.*, 2014). Rovnako sú tu otázky ohľadom ďalších druhov flebotomov ako možných prenášačov leishmáníí, podobne tomu je aj u druhov *Sergentomyia* (Maia & Depaquit, 2016). Niektoré druhy flebotomov, napr. *P. riouxi* a *P. chabaudi*, by mohli mať svoju doposiaľ ešte nepotvrdenú úlohu v zoonotickom prenose leishmáníí na rezervoárové hlodavce (Tabbabi *et al.*, 2011). V krajinách severnej Afriky je preto potrebné

vytvoriť špecializované vedecké centrum pre „neglected diseases“, najmä pre leishmaniózu, ktorá je v oblasti najdôležitejšia protozoálna infekcia (Rafati *et al.*, 2015). Je teda dôležité zamerať výskum vektorov a boj proti nim aj na tieto potencionálne druhy a určiť ich možnú pozíciu v prenose leishmanií. V budúcnosti je možnosť objavenia nového patogénneho kmeňa či zymodému leishmánie, ktorý môže mať za následok ďalšie ľudské obete.

Použitá literatura

- Abdellatif, M, Z. M., K. El-Mabrouk, A. A. Ewis. (2013) An Epidemiological Study of Cutaneous Leishmaniasis in Al-Jabal Al-Gharbi, Libya. *The Korean Journal of Parasitology* 51 (1): 75–84.
- Adel, A., A. Boughoufalah, C. Saegerman, R. De Deken, Z. Bouchene, A. Soukehal, D. Berkvens, et al. (2014) Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in Algeria: An Update. *PLoS ONE* 9 (6).
- Ait Kbaich, M., I. Mhaidi, A. Ezzahidi, N. Dersi, A. El Hamouchi, M. Riyad, K. Akarid, M. Lemrani. (2017) New epidemiological pattern of cutaneous leishmaniasis in two pre-Saharan arid provinces, southern Morocco. *Acta Tropica* 173: 11–16.
- Aït-Oudhia, K., Z. Harrat, R. Benikhlef, J. P. Dedet, F. Pratlong. (2011) Canine Leishmania Infantum Enzymatic Polymorphism: A Review Including 1023 Strains of the Mediterranean Area, with Special Reference to Algeria. *Acta Tropica* 118 (2): 80–86.
- Ajaoud, M., N. Es-Sette, R. N. Charrel, A. Laamrani-Idrissi, H. Nhammi, M. Riyad, M. Lemrani. (2015) Phlebotomus Sergenti in a Cutaneous Leishmaniasis Focus in Azilal Province (High Atlas, Morocco): Molecular Detection and Genotyping of Leishmania Tropica, and Feeding Behavior. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9 (3): e0003687.
- Akhoundi, M., K. Kuhls, A. Cannet, J. Votýpka, P. Marty, P. Delaunay, D. Sereno. (2016) A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (3).
- Akhoundi, M., T. Downing, J. Votýpka, K. Kuhls, J. Lukeš, A. Cannet, C. Ravel, et al. (2017) Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. *Molecular Aspects of Medicine, Leishmania Infections: Molecular Targets and Diagnosis*, 57: 1–29.
- Albuquerque, A., L. Campino, L. Cardoso, S. Cortes. (2017) Evaluation of four molecular methods to detect Leishmania infection in dogs. *Parasites & Vectors* 10.
- Alten, B., Y. Ozbel, K. Ergunay, O. E. Kasap, B. Cull, M. Antoniou, E. Velo, et al. (2015) Sampling strategies for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Europe. *Bulletin of Entomological Research* 105 (6): 664–78.
- Amro, A., A. Gashout, H. Al-Dwibe, M. Z. Alam, B. B. Annajar, O. Hamarsheh, H. Shubar, et al. (2012) First Molecular Epidemiological Study of Cutaneous Leishmaniasis in Libya. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (6).
- Amro, A., H. Al-Dwibe, A. Gashout, O. Moskalenko, M. Galafin, O. Hamarsheh, M. Frohme, et al. (2017) Spatiotemporal and molecular epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Libya. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11 (9): e0005873.
- Annajar, B. B. (1999) Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Libya. PhD Thesis. Keele University, UK, 189pp.
- Aoun, K., A. Bouratbine. (2014) Cutaneous Leishmaniasis in North Africa: a review. *Parasite* 21.
- Arango Duque, G., A. Descoteaux. (2015) Leishmania survival in the macrophage: where the ends justify the means. *Current Opinion in Microbiology, Host–microbe interactions: fungi/parasites/viruses*, 26 (C): 32–40.
- Arroub, H., S. Hamdi, M. Ajaoud, K. Habbari, M. Lemrani. (2013) Epidemiologic study and molecular detection of Leishmania and sand fly species responsible of cutaneous leishmaniasis in Foug Jamâa (Azilal, Atlas of Morocco). *Acta Tropica* 127 (1): 1–5.
- Ashford, R. W. (2000) The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal for Parasitology, Thematic Issue: Emerging Parasite Zoonoses* 30 (12): 1269–81.
- Asmae, H., A. Fatima, F. Hajiba, K. Mbarek, B. Khadija, R. Mohamed, S. Faiza. (2014) Coexistence of Leishmania tropica and Leishmania infantum in Sefrou province, Morocco. *Acta Tropica* 130: 94–99.
- Ayari, C., S. B. Othman, J. Chemkhi, A. Tabbabi, R. Fisa, A. B. Salah, S. BenAbderrazak. (2016) First Detection of Leishmania Major DNA in Sergentomyia (Sintonius) Clydei (Sinton, 1928, Psychodidae: Phlebotominae), from an Outbreak Area of Cutaneous Leishmaniasis in Tunisia. *Infection, Genetics*

- and Evolution: *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 39: 241–48.
- Bahrami, F., G. F. Späth, S. Rafati. (2017) Old World cutaneous leishmaniasis challenges in Morocco, Algeria, Tunisia and Iran (MATI): a collaborative attempt to combat the disease. *Expert Review of Vaccines* 16 (5): 415–17.
- Bailey, M. S., D. N. J. Lockwood. (2007) Cutaneous leishmaniasis. *Clinics in Dermatology* 25 (2): 203–11.
- Barhoumi, W., W. A. Qualls, R. S. Archer, D. O. Fuller, I. Chelbi, S. Cherni, M. Derbali, et al. (2015) Irrigation in the arid regions of Tunisia impacts the abundance and apparent density of sand fly vectors of *Leishmania infantum*. *Acta Tropica* 141: 73–78.
- Barón, S. D., J. Martín-Sánchez, M. Gállego, M. Morales-Yuste, S. Boussaa, F. Morillas-Márquez. (2008) Intraspecific Variability (rDNA ITS and MtDNA Cyt b) of *Phlebotomus Sergenti* in Spain and Morocco. *Acta Tropica* 107 (3): 259–67.
- Bates, P. A. (2008) *Leishmania* sand fly interaction: progress and challenges. *Current Opinion in Microbiology*, Host–microbe interactions: fungi/parasites/viruses 11 (4): 340–44.
- Belal, U. S., E. H. Abdel-Hafeez, K. Naoi, K. Norose. (2012) Cutaneous Leishmaniasis in the Nalut District, Libyan Arab Jamahiriya: A Clinico-epidemiologic Study and *Leishmania* Species Identification. *Journal of Parasitology* 98 (6): 1251–56.
- Belazzoug, S. (1991) The Sandflies of Algeria. *Parassitologia* 33: 85–87.
- Ben Othman, S., W. Ghawar, M. Chaouch, C. Ayari, J. Chemkhi, B. Cancino-Faure, M. Tomás-Pérez, et al. (2018) First Detection of *Leishmania* DNA in *Psammomys Obesus* and *Psammomys Vexillaris*: Their Potential Involvement in the Epidemiology of Leishmaniasis in Tunisia. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 59: 7–15.
- Benabid, M., J. Ghrab, A. Rhim, R. Ben-Romdhane, K. Aoun, A. Bouratbine. (2017) Temporal dynamics and *Leishmania infantum* infection prevalence of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera, Phlebotominae) in highly endemic areas of visceral leishmaniasis in Tunisia. *PLoS ONE* 12 (9).
- Benallal, K. E., R. Benikhlef, R. Garni, B. Gassen, J. P. Dedet, Z. Harrat. (2017) Presence of *Phlebotomus Perniciosus* Atypical Form in Algeria. *Journal of Arthropod-Borne Diseases* 11 (1): 139–46.
- Berdjane-Brouk, Z., R. N. Charrel, I. Bitam, B. Hamrioui, A. Izri. (2011) Record of *Phlebotomus* (*Transphlebotomus*) *Mascittii* Grassi, 1908 and *Phlebotomus* (*Larrousius*) *Chadlii* Rioux, Juminer & Gibily, 1966 Female in Algeria. *Parasite (Paris, France)* 18 (4): 337–39.
- Berdjane-Brouk, Z., R. N. Charrel, B. Hamrioui, A. Izri. (2012) First Detection of *Leishmania Infantum* DNA in *Phlebotomus Longicuspis* Nitzulescu, 1930 from Visceral Leishmaniasis Endemic Focus in Algeria. *Parasitology Research* 111 (1): 419–22.
- Boité, M. C., I. L. Mauricio, M. A. Miles, E. Cupolillo. (2012) New Insights on Taxonomy, Phylogeny and Population Genetics of *Leishmania* (*Viannia*) Parasites Based on Multilocus Sequence Analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (11).
- Boubidi, S. C., K. Benallal, A. Boudrissa, L. Bouiba, B. Bouchareb, R. Garni, A. Bouratbine, et al. (2011) *Phlebotomus sergenti* (Parrot, 1917) identified as *Leishmania killicki* host in Ghardaïa, south Algeria. *Microbes and Infection* 13 (7): 691–96.
- Boudabous, R., S. Amor, F. Khayech, M. Marzouk, S. Bdira, H. Mezhoud, R. Azaiez, et al. (2009) The Phlebotomine Fauna (Diptera: Psychodidae) of the Eastern Coast of Tunisia. *Journal of Medical Entomology* 46 (1): 1–8.
- Bounamous, A., V. Lehrter, L. Hadj-Henni, J.-C. Delecolle, J. Depaquit. (2014) Limits of a Rapid Identification of Common Mediterranean Sandflies Using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 109 (4): 466–72.
- Bounoua, L., K. Kahime, L. Houti, T. Blakey, K. L. Ebi, P. Zhang, M. L. Imhoff, et al. (2013) Linking Climate to Incidence of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis (*L. Major*) in Pre-Saharan North Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 10 (8): 3172–91.

- Boussaa, S., B. Pesson, A. Boumezzough. (2009) Faunistic Study of the Sandflies (Diptera: Psychodidae) in an Emerging Focus of Cutaneous Leishmaniasis in Al Haouz Province, Morocco. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 103 (1): 73–83.
- Boussaa, S., B. Pesson, A. Boumezzough. (2007) Phlebotomine Sandflies (Diptera: Psychodidae) of Marrakech City, Morocco. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 101 (8): 715–24.
- Boussaa, S., K. Kahime, A. M. Samy, A. B. Salem, A. Boumezzough. (2016) Species composition of sand flies and bionomics of *Phlebotomus papatasi* and *P. sergenti* (Diptera: Psychodidae) in cutaneous leishmaniasis endemic foci, Morocco. *Parasites & Vectors* 9.
- Boussaa, S., M. Kasbari, A. El Mzabi, A. Boumezzough. (2014) Epidemiological Investigation of Canine Leishmaniasis in Southern Morocco. Research article. *Advances in Epidemiology*.
- Bousslimi, N., S. Ben-Ayed, I. Ben-Abda, K. Aoun, A. Bouratbine. (2012) Natural Infection of North African Gundi (*Ctenodactylus gundi*) by *Leishmania tropica* in the Focus of Cutaneous Leishmaniasis, Southeast Tunisia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 86 (6): 962–65.
- Bouratbine, A., K. Aoun, J. Ghrab, Z. Harrat, M. S. Ezzedini, S. Etljani. (2005) Spread of *Leishmania* Killicki to Central and South-West Tunisia. *Parasite* 12 (1): 59–63.
- Croset, H., J.-A. Rioux, M. Maistre, N. Bayar. (1978) Les Phlébotomes de Tunisie (Diptera, Phlebotomidae). Mise au point systématique, chorologique et éthologique. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 53 (6): 711–49.
- Depaquit, J., M. Grandadam, F. Fouque, P. E. Andry, C. Peyrefitte. (2010) Arthropod-Borne Viruses Transmitted by Phlebotomine Sandflies in Europe: A Review. *Eurosurveillance* 15 (10): 19507.
- Depaquit, J., N. Leger, R. Killick-Kendrick. (1998) Description de *Phlebotomus* (Paraphlebotomus) Riouxi n. sp. (Diptera-Psychodidae) d’Afrique du Nord. *Parasite* 5 (2): 151–58.
- Depaquit, J. (2014) Molecular systematics applied to Phlebotomine sandflies: Review and perspectives. *Infection, Genetics and Evolution* 28: 744–56.
- *Déperet, C., E. Boinet. (1884) Du bouton de Gafsa au champ de Sathomay. *Arch Méd Pharm Mil* (3): 296–302.
- Di Muccio, T., A. Scalone, A. Bruno, M. Marangi, R. Grande, O. Armignacco, L. Gradoni, et al. (2015) Epidemiology of Imported Leishmaniasis in Italy: Implications for a European Endemic Country. *PLoS ONE* 10 (6).
- Doganis, D., M. Mavrikou, M. Tsofia. (2015) Post Kala Azar dermal leishmaniasis in a 15-month-old Greek boy. *Hippokratia* 19 (1): 93.
- Dokhan, M. R., M. A. Kenawy, T. Shaibi, B. B. Annajar. (2017) Field Evaluation of Outdoor Ultra-Low Volume (ULV) Applications against Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in Al Rabta, North-West of Libya. *Journal of Arthropod-Borne Diseases* 11 (3): 393–402.
- Dostálová, A., P. Volf. (2012) *Leishmania* development in sand flies: parasite-vector interactions overview. *Parasites & Vectors* 5: 276.
- Dougall, A. M., B. Alexander, D. C. Holt, T. Harris, A. H. Sultan, P. A. Bates, K. Rose, et al. (2011) Evidence incriminating midges (Diptera: Ceratopogonidae) as potential vectors of *Leishmania* in Australia. *International Journal for Parasitology* 41 (5): 571–79.
- Dourgnon, P., H. Kassar. (2014) Refugees in and out North Africa: A Study of the Choucha Refugee Camp in Tunisia”. *European Journal of Public Health* 24 (1): 6–10.
- Du, R., P. J. Hotez, W. S. Al-Salem, A. Acosta-Serrano. (2016) Old World Cutaneous Leishmaniasis and Refugee Crises in the Middle East and North Africa. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (5).
- El Alem, M. M. M., M. Hakkour, A. Hmamouch, M. Halhali, B. Delouane, K. Habbari, H. Fellah, et al. (2018) Risk Factors and Prediction Analysis of Cutaneous Leishmaniasis Due to *Leishmania Tropica* in Southwestern Morocco. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 61: 84–91.
- El Buni, A. A., I. Jabeal, A. T. Ben Darif. (2000) Cutaneous Leishmaniasis in the Libyan Arab Jamahiriya: A Study of the Yafran Area. *Eastern Mediterranean health journal* 6: 884–7.

- El Sawaf, B. M., A. Shoukry, S. El Said, R. P. Lane, M. A. Kenawy, J. C. Beier, S. Abdel Sattar. (1987) Sandfly Species Composition along an Altitudinal Transect in Southern Sinai, Egypt. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 62 (5): 467–73.
- Espinosa, O. A., M. G. Serrano, E. P. Camargo, M. M. G. Teixeira, J. J. Shaw. (2016) An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. *Parasitology*: 1–13.
- Fathy, F. M., F. El-Kasah, A. M. El-Ahwal. (2009) Emerging Cutaneous Leishmaniasis in Sirte-Libya: Epidemiology, Recognition and Management. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 39 (3): 881–905.
- Feliciangeli, M. D. (2004) Natural Breeding Places of Phlebotomine Sandflies. *Medical and Veterinary Entomology* 18 (1): 71–80.
- Fernandes, W. S., L. M. Borges, A. E. Casaril, E. F. de Oliveira, J. O. M. Infran, E. M. Piranda, E. T. Oshiro, et al. (2017) Sandfly fauna (Diptera: Psychodidae) in an urban area, Central-West of Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 59.
- Galati, E. A. B., F. Galvis-Ovallos, P. Lawyer, N. Léger, J. Depaquit. (2017) An Illustrated Guide for Characters and Terminology Used in Descriptions of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). *Parasite* 24: 26.
- Garni, R., A. Tran, H. Guis, T. Baldet, K. Benallal, S. Boubidi, Z. Harrat. (2014) Remote Sensing, Land Cover Changes, and Vector-Borne Diseases: Use of High Spatial Resolution Satellite Imagery to Map the Risk of Occurrence of Cutaneous Leishmaniasis in Ghardaïa, Algeria. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 28: 725–34.
- Ghawar, W., J. Bettaieb, S. Salem, M.-A. Snoussi, K. Jaouadi, R. Yazidi, A. Ben-Salah. (2018) Natural infection of *Ctenodactylus gundi* by *Leishmania major* in Tunisia. *Acta Tropica* 177: 89–93.
- Ghouila, A., F. Z Guerfali, C. Atri, A. Bali, H. Attia, R. M. Sghaier, G. Mkannez, et al. (2017) Comparative genomics of Tunisian *Leishmania major* isolates causing human cutaneous leishmaniasis with contrasting clinical severity. *Infection, Genetics and Evolution* 50: 110–20.
- Gluezn, E., M. L. Ginger, P. G. McKean. (2010) Flagellum assembly and function during the *Leishmania* life cycle. *Current Opinion in Microbiology, Host–Microbe Interactions: Fungi/Parasites/Viruses* 13 (4): 473–79.
- Goto, H., J. A. Lauletta Lindoso. (2012) Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. *Infectious Disease Clinics of North America, Tropical Diseases*, 26 (2): 293–307.
- Guernaoui, S., B. Pesson, A. Boumezzough, G. Pichon. (2005) Distribution of Phlebotomine Sandflies, of the Subgenus *Larroussius*, in Morocco. *Medical and Veterinary Entomology* 19 (1): 111–15.
- Guernaoui, S., K. Ramaoui, N. Rahola, C. Barnabe, D. Sereno, A. Boumezzough. (2010) Malformations of the Genitalia in Male *Phlebotomus Papatasi* (Scopoli) (Diptera: Psychodidae). *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology* 35 (1): 13–19.
- Hamarsheh, O., W. Presber, M.-R. Yaghoobi-Ershadi, A. Amro, A. Al-Jawabreh, S. Sawalha, A. Al-Lahem, et al. (2009) Population Structure and Geographical Subdivision of the *Leishmania Major* Vector *Phlebotomus Papatasi* as Revealed by Microsatellite Variation. *Medical and Veterinary Entomology* 23 (1): 69–77.
- Hanafi, H. A., G. M. Beavers, E. A. Dykstra. (2001) New Record of *Phlebotomus Sergenti*, the Vector of *Leishmania Tropica*, in the Southern Nile Valley of Egypt. *Journal of the American Mosquito Control Association* 17 (4): 272–74.
- Handler, M. Z., P. A. Patel, R. Kapila, Y. Al-Qubati, R. A. Schwartz. (2015) Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: Clinical perspectives. *Journal of the American Academy of Dermatology* 73 (6): 897–908.
- Handman, E., D. V. R Bullen. (2002) Interaction of *Leishmania* with the host macrophage. *Trends in Parasitology* 18 (8): 332–34.

- Haouas, N., E. Chaker, N. Chargui, M. Gorcii, S. Belhadj, K. Kallel, K. Aoun, et al. (2012) Geographical distribution updating of Tunisian leishmaniasis foci: About the isoenzymatic analysis of 694 strains. *Acta Tropica* 124 (3): 221–28.
- Harrabi, M., J. Bettaieb, W. Ghawar, A. Toumi, A. Zaâtour, R. Yazidi, S. Chaâbane, et al. (2015) Spatio-temporal Genetic Structuring of *Leishmania major* in Tunisia by Microsatellite Analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9 (8).
- Harrat, Z., F. Pratlong, S. Belazzoug, J. Dereure, M. Deniau, J. A. Rioux, M. Belkaid, et al. (1996) *Leishmania infantum* and *L. Major* in Algeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 90 (6): 625–29.
- Harrat, Z., S. C. Boubidi, F. Pratlong, R. Benikhlef, B. Selt, J. P. Dedet, C. Ravel, et al. (2009) Description of a Dermatropic *Leishmania* Close to *L. Killicki* (Rioux, Lanotte & Pratlong 1986) in Algeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 103 (7): 716–20.
- Hassan Ali N., H. A. Kassem, S. I. El Hosary, Adel Yehia, B. M. El Sawaf. (1999) The Use of GIS To Identify Environmental Factors Associated With Cutaneous Leishmaniasis Transmission Risk In Northeast Sinai, Egypt. *Towards Digital Earth – Proceedings of the International Symposium on Digital Earth, Science Press*.
- Hepburn, N. C. (2003) Cutaneous Leishmaniasis: An Overview. *Journal of Postgraduate Medicine* 49 (1): 50.
- Hotez, P. J., L. Savioli, A. Fenwick. (2012) Neglected Tropical Diseases of the Middle East and North Africa: Review of Their Prevalence, Distribution, and Opportunities for Control. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (2).
- Chaara, D., A. L. Bañuls, N. Haouas, L. Talignani, P. Lami, H. Mezhoud, Z. Harrat, et al. (2015) Comparison of *Leishmania killicki* (Syn. *L. Tropica*) and *Leishmania Tropica* Population Structure in Maghreb by Microsatellite Typing. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9 (12): e0004204.
- Chaara, D., C. Ravel, A. L. Bañuls, N. Haouas, P. Lami, L. Talignani, F. El Baidouri, et al. (2015) Evolutionary History of *Leishmania killicki* (Synonymous *Leishmania Tropica*) and Taxonomic Implications. *Parasites & Vectors* 8: 198.
- Chaara, D., N. Haouas, J. P. Dedet, H. Babba, F. Pratlong. (2014) Leishmaniasis in Maghreb: An endemic neglected disease. *Acta Tropica* 132: 80–93.
- Chamkhi, J., S. Guerbouj, R. Ben Ismail, I. Guizani. (2006) Description de la femelle de *Phlebotomus* (Larrousius) *chadlii* Rioux, Juminer et Gibily, 1966 (Diptera : Psychodidae). D'après un exemplaire capturé aux environs du Kef (Tunisie). *Parasite* 13 (4): 299–303.
- Chargui, N., A. Amro, N. Haouas, G. Schönian, H. Babba, S. Schmidt, C. Ravel, et al. (2009) Population structure of Tunisian *Leishmania infantum* and evidence for the existence of hybrids and gene flow between genetically different populations. *International Journal for Parasitology* 39 (7): 801–11.
- Chemkhi, J., H. Souguir, I. B. H. Ali, M. Driss, I. Guizani, S. Guerbouj. (2015) Natural infection of Algerian hedgehog, *Atelerix algirus* (Lereboullet 1842) with *Leishmania* parasites in Tunisia. *Acta Tropica* 150: 42–51.
- Izri, A., A. Bendjaballah, V. Andriantsoanirina, R. Durand. (2014) Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania killicki*, Algeria. *Emerging Infectious Diseases* 20 (3): 502–4.
- Jaouadi, K., N. Haouas, D. Chaara, R. Boudabous, M. Gorcii, A. Kidar, J. Depaquit, et al. (2013) Phlebotomine (Diptera, Psychodidae) Bloodmeal Sources in Tunisian Cutaneous Leishmaniasis Foci: Could *Sergentomyia minuta*, which is not an Exclusive Herpetophilic Species, be Implicated in the Transmission of Pathogens?. *Annals of the Entomological Society of America* 106 (1): 79–85.
- Jaouadi, K., N. Haouas, D. Chaara, M. Gorcii, N. Chargui, D. Augot, F. Pratlong, et al. (2011) First detection of *Leishmania killicki* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in *Ctenodactylus gundi* (Rodentia, Ctenodactylidae), a possible reservoir of human cutaneous leishmaniasis in Tunisia. *Parasites & Vectors* 4: 159.
- Jaouadi, K., W. Ghawar, S. Salem, M. Gharbi, J. Bettaieb, R. Yazidi, M. Harrabi, et al. (2015) First report of naturally infected *Sergentomyia minuta* with *Leishmania major* in Tunisia. *Parasites & Vectors* 8.

- Kaabi, B., E. Zhioua. (2018) Modeling and comparative study of the spread of zoonotic visceral leishmaniasis from Northern to Central Tunisia. *Acta Tropica* 178: 19–26.
- Kahime, K., S. Boussaa, A. L.-E. Idrissi, H. Nhammi, A. Boumezzough. (2016) Epidemiological study on acute cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Journal of Acute Disease* 5 (1): 41–45.
- Kahime, K., S. Boussaa, F. Ouanaimi, A. Boumezzough. (2015) Species composition of phlebotomine sand fly fauna in an area with sporadic cases of *Leishmania infantum* human visceral leishmaniasis, Morocco. *Acta Tropica* 148: 58–65.
- Kamhawi, S. (2006) Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes?. *Trends in Parasitology* 22 (9): 439–45.
- Kassem, H. A., J. C. Beier, B. M. El Sawaf. (2017) Historical overview of infantile visceral leishmaniasis in El Agamy, Alexandria, Egypt. *Acta Tropica* 176: 335–39.
- Kassem, H. A., J. Siri, H. A. Kamal, M. L. Wilson. (2012) Environmental Factors Underlying Spatial Patterns of Sand Flies (Diptera: Psychodidae) Associated with Leishmaniasis in Southern Sinai, Egypt. *Acta Tropica* 123 (1): 8–15.
- Kaszak, I., M. Planellas, B. Dworecka-Kaszak. (2015) Canine Leishmaniosis - an Emerging Disease. *Annals of Parasitology* 61 (2): 69–76.
- Killick-Kendrick, R. (1999) The biology and control of Phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology* 17, (3): 279–89.
- Lafri, I., L. Almeras, I. Bitam, A. Caputo, A. Yssouf, C.-L. Forestier, A. Izri, et al. (2016) Identification of Algerian Field-Caught Phlebotomine Sand Fly Vectors by MALDI-TOF MS. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (1): e0004351.
- *Laveran, A., M. Cathoire. (1904) Présentation du parasite *Piroplasma donovani*. *Bulletin of the Academy of Medicine* 51: 247–248.
- Lehrter, V., A. L. Bañuls, N. Léger, J. A. Rioux, J. Depaquit. (2017) *Phlebotomus* (Paraphlebotomus) Chabaudi and *Phlebotomus* Riouxi: Closely Related Species or Synonyms? *Parasite (Paris, France)* 24: 47.
- Lukeš, J., I. L. Mauricio, G. Schönan, J.-C. Dujardin, K. Soteriadou, J.-P. Dedet, K. Kuhls, et al. (2007) Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (22): 9375–80.
- Maia, C., J. Depaquit. (2016) Can *Sergentomyia* (Diptera, Psychodidae) Play a Role in the Transmission of Mammal-Infecting *Leishmania*?. *Parasite* 23: 55.
- Maroli, M., M. D. Feliciangeli, L. Bichaud, R. N. Charrel, L. Gradoni. (2013) Phlebotomine Sandflies and the Spreading of Leishmaniasis and Other Diseases of Public Health Concern. *Medical and Veterinary Entomology* 27 (2): 123–47.
- Masmoudi, A., W. Hariz, S. Marrekchi, M. Amouri, H. Turki. (2013) Old World cutaneous leishmaniasis: diagnosis and treatment. *Journal of Dermatological Case Reports* 7 (2): 31–41.
- Mhaidi, I., S. El Kacem, M. Ait Kbaich, A. El Hamouchi, M. Sarih, K. Akarid, M. Lemrani. (2018) Molecular Identification of *Leishmania* Infection in the Most Relevant Sand Fly Species and in Patient Skin Samples from a Cutaneous Leishmaniasis Focus, in Morocco. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 12 (3): e0006315.
- Mihoubi, I., S. Picot, N. Hafirassou, F. de Monbrison. (2008) Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania Tropica* in Algeria. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102 (11): 1157–59.
- Millán, J., E. Ferroglio, L. Solano-Gallego. (2014) Role of Wildlife in the Epidemiology of *Leishmania infantum* Infection in Europe. *Parasitology Research* 113 (6): 2005–14.
- Mniouil, M., H. Fellah, F. Amarir, A. Et-Touys, K. Bekhti, E. B. Adlaoui, Y. Bakri, et al. (2017) Epidemiological Characteristics of Visceral Leishmaniasis in Morocco (1990-2014): An Update. *Acta Tropica* 170: 169–77.

- Mohareb, E. W., E. M. Mikhail, F. G. Youssef. (1996) Leishmania Tropica in Egypt: An Undesirable Import. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH* 1 (2): 251–54.
- Monge-Maillo, B., F. F. Norman, I. Cruz, J. Alvar, R. López-Vélez. (2014) Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection in the Mediterranean Region. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (8).
- Murray, C. J. L., R. M. Barber, K. J. Foreman, A. A. Ozgoren, F. Abd-Allah, S. F. Abera, V. Aboyans, et al. (2015) Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 306 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 188 countries, 1990–2013: quantifying the epidemiological transition. *The Lancet* 386 (10009): 2145–91.
- Mutinga, M. J., N. N. Massamba, M. Basimike, C. C. Kamau, F. A. Amimo, A. E. Onyido, D. M. Omogo, et al. (1994) Cutaneous Leishmaniasis in Kenya: *Sergentomyia Garnhami* (Diptera Psychodidae), a Possible Vector of *Leishmania Major* in Kitui District: A New Focus of the Disease. *East African Medical Journal* 71 (7): 424–28.
- Neave, S. (1904) *Leishmania Donovanii* in the Soudan. *British Medical Journal* 1: 1252.
- Nozais, J.-P. (2003) The Origin and Dispersion of Human Parasitic Diseases in the Old World (Africa, Europe and Madagascar). *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 98 (1): 13–19.
- *Onorato, R. (1931) Lo stato attuale delle nostre conoscenze sulla nosografia Tripolitana. *Archivio Italiano di scienze mediche Tripoli e coloniale* 12: 137-86.
- Oumeish, O. Y. (1999) Cutaneous leishmaniasis: a historical perspective. *Clinics in Dermatology* 17 (3): 249–54.
- Pace, D. (2014) Leishmaniasis. *Journal of Infection, Hot Topics in Infection and Immunity in Children - Papers from the 11th annual IIC meeting, Oxford, UK, 2013*, 69 (1): 10–18.
- Paz, C., S. Doumbia, S. Keita, A. Sethi. (2011) Cutaneous Leishmaniasis in Mali. *Dermatologic Clinics, Special Topics in Tropical Dermatology*, 29 (1): 75–78.
- Pesson, B., J. S. Ready, I. Benabdennbi, J. Martín-Sánchez, S. Esseghir, M. Cadi-Soussi, F. Morillas-Marquez, et al. (2004) Sandflies of the *Phlebotomus Perniciosus* Complex: Mitochondrial Introgression and a New Sibling Species of *P. Longicuspis* in the Moroccan Rif. *Medical and Veterinary Entomology* 18 (1): 25–37.
- Prudhomme, J., F. Gunay, N. Rahola, F. Ouanaïmi, S. Guernaoui, A. Boumezzough, A. L. Bañuls, et al. (2012) Wing Size and Shape Variation of *Phlebotomus Papatasi* (Diptera: Psychodidae) Populations from the South and North Slopes of the Atlas Mountains in Morocco. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology* 37 (1): 137–47.
- Qualls, W. A., G. C. Müller, K. Khallaayoune, E. E. Revay, E. Zhioua, V. D. Kravchenko, K. L. Arheart, et al. (2015) Control of Sand Flies with Attractive Toxic Sugar Baits (ATSB) and Potential Impact on Non-Target Organisms in Morocco. *Parasites & Vectors* 8: 87.
- Rafati, S., S. Kamhawi, J. G. Valenzuela, M. Ghanei. (2015) Building Research and Development Capacity for Neglected Tropical Diseases Impacting Leishmaniasis in the Middle East and North Africa: A Case Study. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 9 (8): e0003695.
- Ready, P. D. (2014) Epidemiology of visceral leishmaniasis. *Clinical Epidemiology* 6: 147–54.
- Reithinger, R., J.-C. Dujardin, H. Louzir, C. Pirmez, B. Alexander, S. Brooker. (2007) Cutaneous leishmaniasis. *The Lancet Infectious Diseases* 7 (9): 581–96.
- *Remlinger P. (1921) Un cas de Kala-azar infantile observé au Maroc. *Arch Inst Pasteur Afr Noi* 1: 240–1.
- Rhajaoui, M. (2011) Les leishmanioses humaines au Maroc : une diversité nosogéographique. *Pathologie Biologie*, Numero Mediterranee, 59 (4): 226–29.
- *Rioux, J. A., G. Lanotte, F. Pratlong. (1986) *Leishmania killicki* n. sp. (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), in: *Leishmania, taxonomie et phylogenèse, applications éco-épidémiologiques. IMEEE, Montpellier.*: 139-142.
- Samy, A. M., B. B. Annajar, M. R. Dokhan, S. Boussaa, A. T. Peterson. (2016) Coarse-resolution Ecology of Etiological Agent, Vector, and Reservoirs of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis in Libya". *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (2).

- Samy, A. M., L. P. Campbell, A. T. Peterson. (2014) Leishmaniasis Transmission: Distribution and Coarse-Resolution Ecology of Two Vectors and Two Parasites in Egypt. *Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical* 47 (1): 57–62.
- Selmane, S. (2015) Dynamic Relationship between Climate Factors and the Incidence of Cutaneous Leishmaniasis in Biskra Province in Algeria. *Annals of Saudi Medicine* 35 (6): 445–49.
- Senghor, M. W., A. A. Niang, J. Depaquit, H. Ferté, M. N. Faye, E. Elguero, O. Gaye, et al. (2016) Transmission of *Leishmania infantum* in the Canine Leishmaniasis Focus of Mont-Rolland, Senegal: Ecological, Parasitological and Molecular Evidence for a Possible Role of *Sergentomyia* Sand Flies. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (11).
- Sergent, E., E. Sergent. (1910) KALA-AZAR. Existence de la leishmaniose chez les chiens d'Alger. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 3: 510–511.
- Seridi, N., A. Amro, K. Kuhls, M. Belkaid, C. Zidane, A. Al-Jawabreh, G. Schöniar. (2008) Genetic Polymorphism of Algerian *Leishmania infantum* Strains Revealed by Multilocus Microsatellite Analysis. *Microbes and Infection* 10 (12–13): 1309–15.
- Service, M. (2008) Medical Entomology for Students. Fourth Edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- Shehata, M. G., A. M. Samy, S. A. Doha, A. R. Fahmy, R. M. Kaldas, B. D. Furman, J. T. Villinski. (2009) First Report of *Leishmania tropica* from a Classical Focus of *L. major* in North-Sinai, Egypt. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 81 (2): 213–18.
- Shimabukuro, P. H. F., A. J. de Andrade, E. A. B. Galati. (2017) Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. *ZooKeys* (660): 67–106.
- Souza, N. A., R. P. Brazil, A. S. Araki. (2017) The current status of the *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) species complex. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 112 (3): 161–74.
- Sundar, S., A. Singh. (2016) Recent developments and future prospects in the treatment of visceral leishmaniasis. *Therapeutic Advances in Infectious Disease* 3 (3–4): 98–109.
- Tabbabi, A., A. Rhim, J. Ghrab, O. Martin, K. Aoun, A. Bouratbine, P. D. Ready. (2014) *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) *Riouxii*: A Synonym of *Phlebotomus Chabaudi* without Any Proven Vectorial Role in Tunisia and Algeria. *Medical and Veterinary Entomology* 28 (1): 51–59.
- Tabbabi, A., J. Ghrab, K. Aoun, P. D. Ready, A. Bouratbine. (2011) Habitats of the sandfly vectors of *Leishmania tropica* and *L. major* in a mixed focus of cutaneous leishmaniasis in southeast Tunisia. *Acta Tropica* 119 (2): 131–37.
- Talmoudi, K., H. Bellali, N. Ben-Alaya, M. Saez, D. Malouche, M. K. Chahed. (2017) Modeling zoonotic cutaneous leishmaniasis incidence in central Tunisia from 2009-2015: Forecasting models using climate variables as predictors. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 11 (8).
- Torres-Guerrero, E., M. R. Quintanilla-Cedillo, J. Ruiz-Esmenjaud, R. Arenas. (2017) Leishmaniasis: a review. *F1000Research* 6.
- Trindade, M. A. B., L. L. C. Silva, L. M. A. Braz, V. S. Amato, B. Naafs, M. N. Sotto. (2015) Post-kala-azar dermal leishmaniasis and leprosy: case report and literature review. *BMC Infectious Diseases* 15.
- Tuon, F. F., V. A. Neto, V. S. Amato. (2008) *Leishmania*: Origin, Evolution and Future since the Precambrian. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 54 (2): 158–66.
- United Nations. (1999) Statistical Commission. Methodology. Standard country or area codes for statistical use. [https://unstats.un.org/unsd/publication/SeriesM/Series_M49_Rev4\(1999\)_en.pdf](https://unstats.un.org/unsd/publication/SeriesM/Series_M49_Rev4(1999)_en.pdf) Cit 15. marec 2018.
- Volf, P., V. Volfová. (2011) Establishment and Maintenance of Sand Fly Colonies. *Journal of Vector Ecology* 36 (1) : 1–9.
- Volf, P., J. Pecková. (2007) Sand flies and *Leishmania*: specific versus permissive vectors. *Trends in parasitology* 23 (3): 91–92.

- World Health Organization. (2014) Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. WHO. <http://www.who.int/wer/2016/wer9122.pdf?ua=1> Cit 04. november 2017.
- World Health Organization. (2018) Leishmaniasis. World Health Org Fact Sheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/> Cit 15. marec 2018.
- Yaghoobi-Ershadi, M. R. (2016) Control of Phlebotomine Sand Flies in Iran: A Review Article. *Journal of Arthropod-Borne Diseases* 10 (4): 429–44.
- Yahia, H., P. D. Ready, A. Hamdani, J. M. Testa, N. Guessous-Idrissi. (2004) Regional Genetic Differentiation of *Phlebotomus Sergenti* in Three Moroccan Foci of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania Tropica*. *Parasite (Paris, France)* 11 (2): 189–99.
- Zarrouk, A., K. Kahime, S. Boussaa, B. Belqat. (2016) Ecological and Epidemiological Status of Species of the *Phlebotomus Perniciosus* Complex (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in Morocco. *Parasitology Research* 115 (3): 1045–51.
- Zeroual, S., R. Gaouaoui, H. Boudjelida. (2016) Diversity and occurrence of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the area of Biskra (Middle Eastern of Algeria). *Journals of Entomology and Zoology Studies*; 4(5): 890-895.

* sekundárna citácia