

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze  
Katedra parazitologie

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



Jitka Peštová

## *Leishmania tropica* ve Středomoří

Školitel: RNDr. Jan Votýpka, Ph. D.

Praha 2010

Děkuji svému školiteli, RNDr. Janu Votýpkovi, Ph. D., za vedení mé bakalářské práce a dále děkuji svému příteli, rodině a přátelům za podporu.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně a výhradně za použití uvedené literatury.

V Praze dne 1. 8. 2010

Jitka Peštová

## Abstrakt

Ve středomořských státech severní Afriky se v posledních letech objevila nová ohniska leishmaniózu způsobených druhem *Leishmania tropica*. V Maroku byla *L. tropica* izolována z lidí, psů a flebotomů druhu *Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti*, v Egyptě z lidí a pískomilů (*Gerbilus pyramidum floweri*) a v Tunisku, Alžírsku a v Libyi pouze z lidí. V posledních třech zmíněných státech se vyskytuje pouze *L. tropica* označovaná jako *L. killicki*. Pro většinu ohnisek *L. tropica* ve středomořských státech severní Afriky není známo, zda se jedná o antropotický či zoonotický cyklus a případně, kdo je zvířecím rezervoárem a přenašečem. V Maroku a Egyptě je přenašečem s největší pravděpodobností pouze *P. sergenti*, zatímco v Tunisku, Alžírsku a Libyi by jím mohl být i *P. (Paraphlebotomus) riouxi*, *P. (Paraphlebotomus) chabaudi*, *P. (Paraphlebotomus) alexandri* nebo *P. (Larroussius) perniciosus*. Vzhledem k venkovské distribuci a sporadickému výskytu *L. killicki* by se u tohoto parazita mohlo jednat o zoonotický cyklus, přičemž rezervoárovým hostitelem by mohl být například hlodavec *Ctenodactylus gundi*, jenž se v ohniscích *L. killicki* hojně vyskytuje.

**Klíčová slova:** *Leishmania tropica*, *Leishmania killicki*, zoonóza, antroponóza, rezervoárový hostitel, přenašeč, Maroko, Egypt, Tunisko, Alžírsko, Libye, Phlebotominae.

## Abstract

In recent years new foci of *Leishmania tropica* appeared in the Mediterranean states of Northern Africa. While *L. tropica* was isolated from humans, dogs and sand fly species *Phlebotomus sergenti* in Morocco and from humans and gerbils (*Gerbilus pyramidum floweri*) in Egypt; in Tunisia, Algeria and Lybia the parasite was isolated from humans only. In the last three mentioned states, only *L. tropica* referred as *Leishmania killicki* is present. In most of the *L. tropica* foci in the Mediterranean countries of Northern Africa transmission mode was not determined. It is unknown whether the cycle of *L. tropica* is anthroponotic or zoonotic and what is reservoir and vector. In Morocco and Egypt, the most probable vector is *P. sergenti* only, while in Tunisia, Algeria and Lybia the vectors could be also *P. (Paraphlebotomus) riouxi*, *P. (Paraphlebotomus) chabaudi*, *P. (Paraphlebotomus) alexandri* or *P. (Larroussius) perniciosus*. Considering the rural distribution and sporadic occurrence of *L. killicki* cases, the parasite is presumed to have a zoonotic cycle and its reservoir host could possibly be *Ctenodactylus gundi*, which is relatively abundant in *L. killicki* foci.

**Key words:** *Leishmania tropica*, *Leishmania killicki*, zoonotic cycle, anthroponotic cycle, reservoir, vector, Morocco, Egypt, Tunisia, Algeria, Lybia, Phlebotominae.

# Obsah

Úvod	1
1 Leishmanióza	2
2 Taxonomie leishmanií	4
3 Životní cyklus leishmanií	8
4 Rezervoároví hostitelé leishmanií	9
5 Přenašeči leishmanií	10
6 <i>Leishmania tropica</i> ve středomořských státech severní Afriky	12
6.1 Areál a vnitrodruhová diverzita komplexu <i>Leishmania tropica</i>	12
6.2 Epidemiologická situace	16
6.3 Klinické příznaky vyvolané leishmaniemi komplexu <i>Leishmania tropica</i>	17
6.4 Hostitelé komplexu <i>Leishmania. tropica</i>	18
6.5 Přenašeči komplexu <i>Leishmania tropica</i>	20
Závěr	23
Seznam literatury	24

## Úvod

Leishmaniózy se vyskytují v 88 zemích světa, počet nakažených je odhadován na dvanáct miliónů lidí a ročně se objeví přibližně dva milióny nových případů, z toho 500 000 případů jsou viscerální leishmaniózy a 1 500 000 případů jsou leishmaniózy kožní. Z těchto 1 500 000 případů se 90% vyskytuje v Afghánistánu, Alžírsku, Íránu, Peru, Saudské Arábii a Sudánu (WHO, 2007).

Ve středomořských státech severní Afriky (v Maroku, Egyptě, Tunisku, Alžírsku a v Libyi) byly donedávna hlášeny pouze kožní leishmaniózy, jejichž původcem je *L. major*. V posledních letech však byla zaznamenána nově vznikající ohniska působená druhem *L. tropica*. V těchto ohniscích často není zcela zřejmé, zda se jedná o antroponotický nebo zoonotický způsob přenosu, a případně, kteří živočichové slouží jako rezervoár a který flebotomus je vektorem. Ve své práci jsem se proto zaměřila na zpracování známých informací o těchto ohniscích, přičemž jsem se soustředila na výskyt, vnitrodruhovou variabilitu, epidemiologickou situaci, klinické příznaky, rezervoáry a přenašeče.

## 1 Leishmanióza

Leishmanióza je onemocnění působené leishmáními, parazitickými prvky rodu *Leishmania*, které infikují řadu druhů savců včetně člověka, a projevující se širokým spektrem klinických příznaků<sup>1</sup>, které se liší podle druhu leishmánie, imunitní odpovědi hostitele a přenašeče (Grevelink a Lerner, 1996; Gramiccia a Gradoni, 2005; Rohoušová a Volf, 2006). Onemocnění se vyskytuje v tropech a subtropích (Hertwald, 1999) na všech kontinentech kromě Austrálie<sup>2</sup> a Antarktidy (Grevelink a Lerner, 1996). Podle klinických příznaků se leishmaniózy dělí na kutanní, muko-kutanní a viscerální, nebo-li na kožní, kožně-slizniční a útrobní (Gramiccia a Gradoni, 2005).

**Kožní leishmanióza** se projevuje vznikem kožní léze, objevující se v místě infekčního bodnutí flebotomem. Po uplynutí inkubační doby, trvající týden až tři měsíce, se objeví červené pupínky, které se zvětšují a mohou se vyvinout až ve vředy, často může docházet až k nekrotizaci zasažené tkáně (Grevelink a Lerner, 1996; Ashford, 2000; Reithinger a kol., 2007). Rychlým procesem mohou vznikat velké, otevřené, hnisající léze nebo mohou pomalou nekrotizací vznikat léze suché. Velikost lézí se může pohybovat od milimetrů až po centimetry. Pravidlem je spontánní vyhojení těchto lézí, které trvá 2-15 měsíců (Reithinger a

---

<sup>1</sup> Příznaky se však nemusí vůbec projevit nebo se mohou projevit jen některé (Ashford, 2000; Reithinger, 2007).

<sup>2</sup> V Austrálii však již byly hlášeny případy kožní leishmaniózy vyskytující se u klokanů, *Macropus rufus* (Rose a kol., 2004).

kol., 2007). Po vyhojení zůstávají hypopigmentované nebo hyperpigmentované jizvy (Gravelinke a Lerner, 1996). Původci kožní leishmaniózy jsou *L. aethiopica*, *L. tropica*, *L. killicki*, *L. major*, *L. infantum* a *L. donovani* ve Starém Světě a *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. peruviana*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. colombiensis*, *L. amazonensis*, *L. mexicana*, *L. pifanoi*, *L. venezuelensis* a *L. garnhami* v Novém Světě (Reithinger a kol., 2007). *L. infantum* a *L. donovani* jsou sice původci viscerální leishmaniózy, ale časté jsou i případy, kdy působí kožní leishmaniózu (Pratlong a kol., 1995; Belhadj a kol., 2003; Svobodová a kol., 2009). Může se objevit i kožní leishmanióza difusní nebo recidivující (Hertwald, 1999).

**Difusní kožní leishmanióza** byla zaznamenána například ve Venezuele, Dominikánské Republice, Etiopii a v Keni. Způsobují ji stejní původci jako lokalizovanou kožní leishmaniózu (Ashford, 2000), mezi něž patří *L. aethiopica*, *L. amazonensis*, *L. mexicana* a *L. pifanoi* (Grevelink a Lerner, 1996). Onemocnění se projevuje nehnisajícími lézemi, které se šíří z místa infekce a mohou pokrýt celé pacientovo tělo. Narozdíl od lokalizované kožní leishmaniózy se však pacient sám neuzdraví (Reithinger a kol., 2007).

**Recidivující leishmanióza** se projevuje vznikem nových lézí v centru nebo na okrajích hojící se léze. Původci jsou *L. tropica* na Středním Východě a v Africe a *L. braziliensis* v Jižní Americe. Léze mají tendenci odolávat léčbě a stávat se chronickými (Sang a kol., 1994; Grevelink a Lerner, 1996).

**Mukokutanní leishmanióza** je charakterizována schopností leishmanií metastázovat do sliznic. Zpočátku se projevuje zánětem nosu, pak následuje hnisání nosní sliznice a perforace septa. V mnoha případech jsou poškozeny rty, tváře, měkké patro, hltan a hrtan. U tohoto typu onemocnění nedochází ke spontánnímu vyhojení a navíc hrozí sekundární bakteriální infekce (Reithinger a kol., 2007). Vlivem podvýživy a akutních dýchacích potíží mohou pacienti na toto onemocnění i zemřít (Grevelink a Lerner, 1996). Původci mukokutanní leishmaniózy mohou být *L. panamensis*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis*, *L. major*. Nejčastěji však toto onemocnění způsobuje *L. braziliensis*. V nejvíce endemických oblastech se mukokutanní leishmanióza objeví v 1 až 10 % po vyléčení kožní leishmaniózy (Reithinger a kol., 2007), přibližně třetina pacientů však předtím nikdy kožní lézi neměla (Grevelink a Lerner, 1996).

**Viscerální leishmanióza**, známá v Indii a východní Africe také jako kala-azar, se projevuje horečkou, kašlem, bolestí břicha, průjmem, krvácením z nosu, zvětšením sleziny a jater, anémií a úbytkem tělesné hmotnosti a bez léčení většinou končí smrtí pacienta. Viscerální leishmaniózu může předcházet také vznik suché nebo hnisající léze v místě bodnutí

přenašečem (Ashford, 2000). Běžnými původci tohoto onemocnění jsou *L. donovani*, *L. infantum* a *L. chagasi*<sup>3</sup> (Guerin a kol., 2002). V Íránu a Maroku však byla identifikována jako původce viscerální leishmaniózy i *L. tropica* (Lemrani a kol., 2002; Mohebalí a kol., 2005; Hajjaran a kol., 2007). Přibližně do dvou let po vyléčení se může objevit **post-kalazarová dermální leishmanióza** (Ashford, 2000). Toto onemocnění je způsobováno *L. donovani* a vyskytuje se ve východní Africe a v Indii. V Africe se tato forma leishmaniózy projevuje červenými pupínky, které se hojí několik měsíců. V Indii jsou pro toto onemocnění typické hypopigmentované a červené skvrny, které jsou později nahrazeny nehnisajícími lézemi (Grevelink a Lerner, 1996).

## 2 Taxonomie leishmanií

Rod *Leishmania* je řazen do třídy Kinetoplastida (řád Trypanosomatidae) (Lainson a Shaw, 1987). Různé druhy leishmanií jsou morfologicky vzájemně prakticky nerozeznatelné, a při jejich identifikaci se proto přihlíží k dalším vlastnostem. Je možné je rozlišit podle vnějších vlastností, jako jsou klinické příznaky, geografická distribuce a chování v laboratorních obratlovčích hostitelích a vektorech, a nebo podle vnitřních vlastností, mezi něž patří imunologické, biochemické a molekulární vlastnosti (Dedet a kol., 1999). Například Lainson a Shaw (1987) rozdělili leishmánie podle vývoje v hmyzím přenašeči do tří skupin nazvaných Hypopylaria, Peripylaria a Suprapylaria. Leishmanie, které jsou řazeny do skupiny **Hypopylaria**, se vyvíjejí v zadním střevě vektora a jsou pravděpodobně přenášeny pozřením hmyzích přenašečů obratlovčími hostiteli, kterými jsou plazi Starého Světa. Vývoj leishmanií skupiny **Peripylaria** probíhá nejdříve v zadním střevě přenašeče a později leishmánie migrují do středního a předního střeva. Peripylaria jsou na plazy Starého Světa a savce Nového Světa přenášeny při sání infikovaného vektora. **Suprapylaria** zahrnují leishmánie, které vynechaly primitivní vývoj v zadním střevě a vyskytují se pouze ve středním a předním střevě vektora. Tyto druhy jsou přenášeny také při sání. Jejich hostiteli jsou hlavně savci.

Později Lainson a Shaw (1987) rozdělili leishmánie podle obratlovčího hostitele a vývoje ve střevě přenašeče na podrody *Sauroleishmania*, *Leishmania* a *Viannia*. Podrod *Sauroleishmania* se vyskytuje u plazů, zatímco podrody *Leishmania* a *Viannia* u savců. Podrod *Leishmania* zahrnuje leishmánie skupiny Suprapylaria a podrod *Viannia* leishmánie patřící do skupiny Peripylaria. Do podrodu *Sauroleishmania* jsou řazeny Hypopylaria (např. *L. agamae* a *L. ceramodactyli*), Peripylaria (např. *L. adleri* a *L. tarentolae*) a Suprapylaria

---

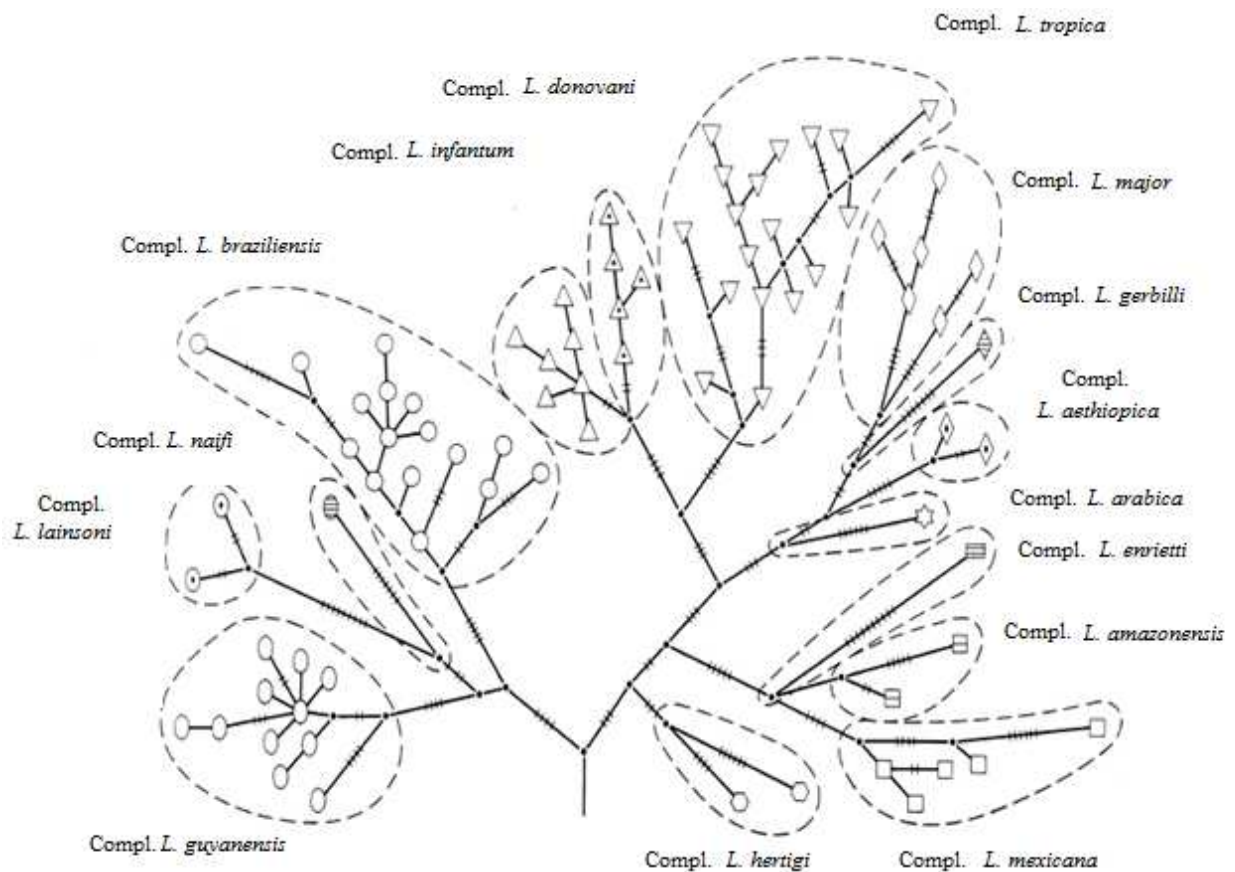
<sup>3</sup> *L. chagasi* je označení pro *L. infantum*, která byla zavlečena do Nového Světa (Torres, 2006).



(např. *L. gymnodactyli*, *L. hemidactyli* a *L. hoogstraali*) vyvíjející se v plazích hostitelích (Lainson a Shaw, 1987; Sádlová, 1999). Thomaz-Soccol a kol. (1993) pomocí izoenzymové analýzy potvrdili toto rozdělení do podrodů *Leishmania* a *Viannia* stejně jako předpoklad, že mají společného předka [viz obr. 1], monofyletický původ všech tří podrodů později potvrdili i Yurchenko a kol. (2000).

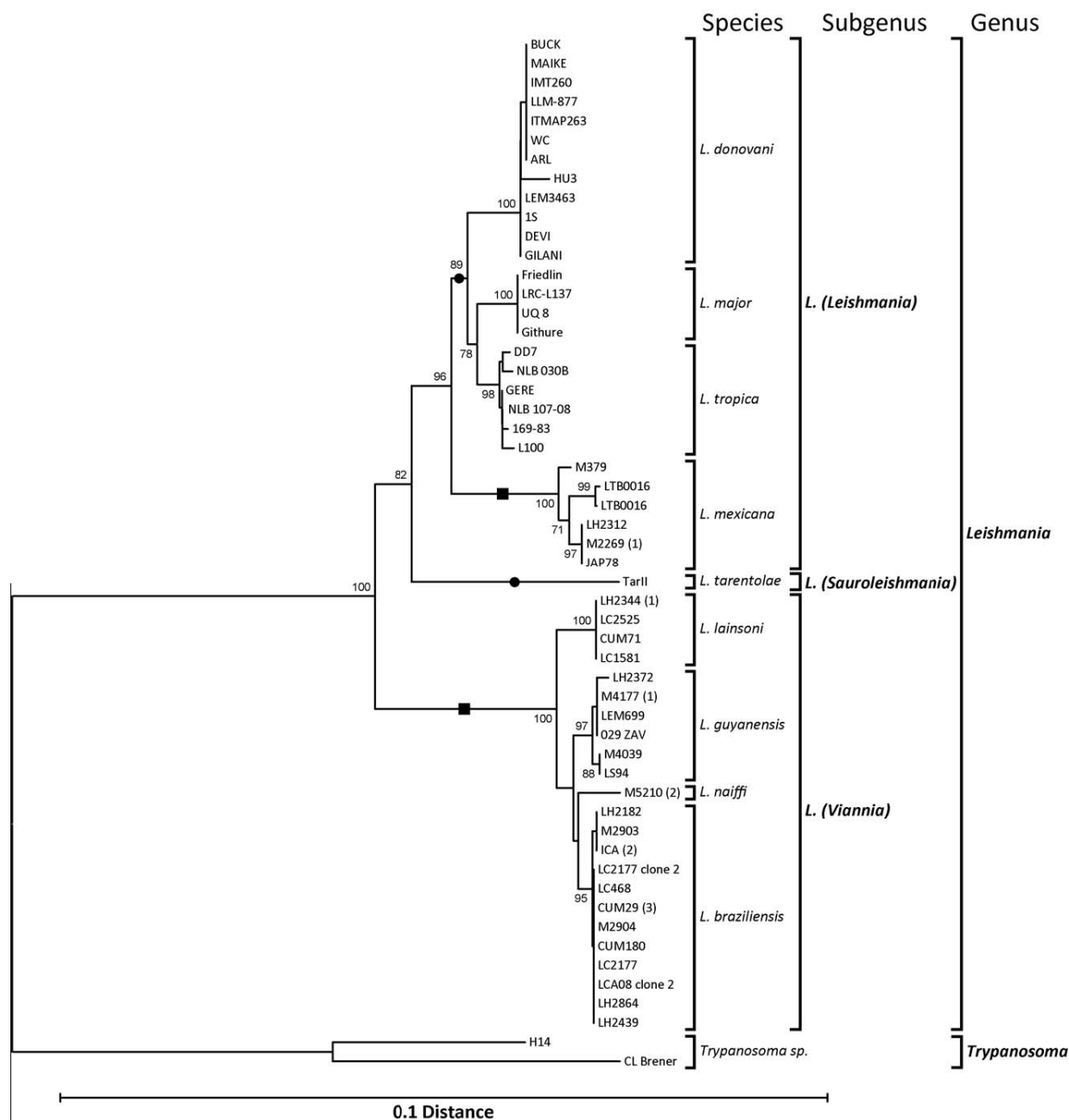
Rioux a kol. (1990) vypracovali pomocí analýzy izoenzymů návrh nové klasifikace rodu *Leishmania*. Podrod *Leishmania* rozdělili do komplexů: *L. donovani*, *L. infantum*, *L. tropica*, *L. major*, *L. gerbilli*, *L. arabica*, *L. aethiopica*, *L. mexicana*, *L. hertigi* a *L. enriettii* a podrod *Viannia* rozdělili do komplexů *L. braziliensis*, *L. guyaensis* a *L. panamensis*. Na základě izoenzymových analýz se leishmánie dělí na tzv. zymodemy označované jako MONy. Jednotlivé zymodemy jsou dále řazeny do již zmíněných komplexů. Například *L. tropica*, na kterou je tato práce zaměřena, zahrnuje podle Rioux a kol. (1990) tyto zymodemy: MON-5, MON-6, MON-7, MON-8, MON-13, MON-19, MON-20, MON-39, MON-53, MON-54, MON-55, MON-56, MON 57, MON-58, MON-59, MON-60, MON-61, MON-62, MON-63, MON-71, MON-75, MON-76, MON-102, MON-104, MON-107, MON-109, MON-112 a MON-113, přičemž zymodemy MON-8 z Tuniska, MON-71 z Jemenu a Etiopie a MON-19 a MON-20 z Namíbie jsou označovány také jako druh *L. killicki*. Tato klasifikace je narozdíl od předchozího rozdělení založená na vnitřních vlastnostech leishmání, konkrétně na biochemických. Vlastnosti, podle kterých byly leishmánie rozděleny, vycházejí z elektroforetického rozdělení izoenzymů (s využitím patnácti enzymatických systémů) a vzorky, které mají stejný enzymatický profil, patří do stejného zymodemu (Rioux a kol., 1990).

Později byly izolovány zymodemy MON-114, MON-122, MON-123, MON-137, MON-263, MON-264, MON-265, MON-266 a MON-279 patřící taktéž do komplexu *L. tropica* (Pratlong a kol., 2009) a za blízce příbuzné *L. killicki* byly označeny zymodemy MON-119 z Keni (Sang a kol., 1992a) a MON-301 z Alžíru (Harrat a kol., 2009). Postavení druhu *L. killicki* (včetně zymodemů MON-19 a MON-20 z Namíbie) dosud není zcela vyjasněné.



1. Kladogram podrodů *Leishmania* a *Viannia*. (Upraveno dle Thomaz-Soccol, 1993).

V roce 1993 byla *L. killicki* označena jako samostatný druh (Rioux a Lanotte, 1993 citováno dle Aoun a kol., 2006). Jiní autoři využívající k zařazení *L. killicki* metody založené na analýze DNA včetně mikrosatelitů však tvrdí, že genetické rozdíly nekorelují s rozdíly enzymatickými, a že studované vzorky *L. killicki* nebyly těmito metodami skoro rozeznatelné od ostatních vzorků komplexu *L. tropica* a zpochybňují proto vymezení *L. killicki* jako samostatného druhu (Shönian a kol., 2001; Schwenkenbecher a kol., 2006). Zymodemy MON-19 a MON-20 z Namibie sice tvoří samostatnou skupinu uvnitř komplexu *L. tropica*, ale nikoli spolu s *L. killicki* (MON-8) (Shönian a kol., 2001; Schwenkenbecher a kol., 2006). Pro přehlednost budu však zymodemy MON-8, MON-71, MON-119 a MON-301 dále v této práci označovat jako druh *L. killicki* (v rámci komplexu *L. tropica*), který je vymezen izoenzymaticky a částečně i geograficky.



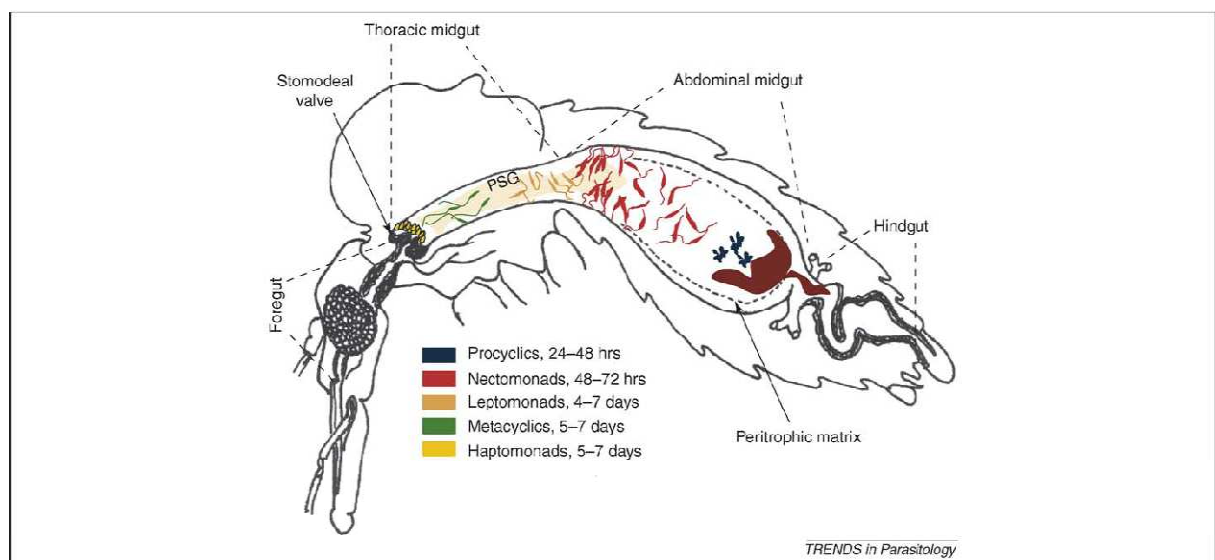
2. Fenogram rodu *Leishmania* založený na sekvenování genu pro *Hsp70* (Převzato z Fraga a kol., 2010).

Na základě sekvencí DNA vyšlo najevo, že *L. hertigi* je spíše blízké příbuzná rodu *Endotrypanum* než rodu *Leishmania* (Noyes, 1996) a podle analýzy založené na sekvenování genu pro *hsp70* (heat-shock protein 70; protein teplotního šoku 70) je *L. infantum* pouze poddruh *L. donovani* (*L. donovani infantum*), *L. aethiopica* je nerozeznatelná od komplexu *L. tropica* a do podrodu *Viannia* patří ještě komplexy *L. naiffi* a *L. lainsoni*, přičemž *L. panamensis* je pouze poddruhem *L. guyanensis* (*L. guyanensis panamensis*) a komplex *L. braziliensis* zahrnuje ještě poddruh *L. braziliensis peruviana* [viz obr. 2] (Fraga a kol., 2010).

### 3 Životní cyklus leishmanií

Leishmanie se vyskytují buď ve formě intracelulárních amastigotů v obratlovčím hostiteli nebo ve formě extracelulárních promastigotů ve flebotomech, kteří slouží jako přenašeči leishmanií (Kamhawi, 2006). Vzhledem k tomu, že *Leishmania tropica*, na kterou je zaměřena tato práce, patří do skupiny Suprapylaria, budu se v této části věnovat pouze životnímu cyklu této skupiny.

Nejprve se flebotomové infikují nasátím krve s makrofágy infikovanými amastigoty (Kamhawi, 2006), která je v trávicím traktu flebotoma oddělena od zbytku střeva peritrofickou matrix sekretovanou epiteliálními buňkami střeva (Volf a kol., 2008). Amastigoti se diferencují na procyklické promastigoty, kteří se dělí a přeměňují na nektomonády. Nektomonády poté uniknou z peritrofické matrix a uchytí se na epiteliálních buňkách ve středním střevě a migrují z abdominální částí střeva do thorakální (Kamhawi, 2006). Toto uchycení nektomonád ve střevě flebotomů je důležitá část životního cyklu zabraňující vyloučení leishmanií spolu se zbytky ztrávené krve (Volf a kol, 2008). Nektomonády se dále mění na leptomonády, jež se znovu dělí. Leishmanie migrují z thorakální části ke stomodeální valvě, kde se vyskytují dvě stádia leishmanií: haptomonády a metacykličtí promastigoti. Metacykličtí promastigoti jsou infekční stádia nacházející se za stomodeální valvou a jsou adaptováni k přenosu na savčí hostitele [viz obr. 3] (Kamhawi, 2006).



3. Hlavní formy promastigotů ve střevě flebotoma během infekce (Převzato z Kamhawi, 2006).

Leishmánie na stomodeální valvě produkují chitinázy, které narušují chitinovou vrstvu a apikální konce cylindrických buněk, kde jsou filamentární struktury spojující buněčnou membránu s chitinovou vrstvou. Destrukce stomodeální valvy nebo poškození její funkce vede k regurgitaci leishmáníí, a tedy k usnadnění přenosu parazita na obratlovčího hostitele (Volf a kol., 2004). Také sliny flebotomů zvyšují pravděpodobnost úspěšného přenosu leishmáníí na obratlovce, neboť ovlivňují produkci cytokinů a inhibují některé funkce makrofágů, včetně produkce oxidu dusnatého a peroxidu vodíku (Rohoušová a Volf, 2006). Přibližný čas potřebný k vývoji parazita ve flebotomovi je šest až devět dní (Kamhawi, 2006).

#### 4 Rezervoároví hostitelé leishmáníí

Rezervoárovými hostiteli jsou savci, v nichž jsou původci infekce schopní dlouhodobě přežívat (Ashford a kol., 1996). Tito hostitelé se v daném ohnisku vyskytují ve velkém počtu, často žijí společensky a žijí dostatečně dlouho, aby přežili období, kdy onemocnění není přenášeno na další hostitele<sup>4</sup>. Protože podmínky nutné pro dlouhodobé kolování různých druhů leishmáníí jsou velmi podobné, některé druhy savců slouží jako rezervoár pro více druhů. Kromě těchto rezervoárových hostitelů existují také náhodní hostitelé, kteří však jsou z hlediska dlouhodobého zachování parazita bezvýznamní. Náhodným hostitelem může být u některých druhů (např. *L. major*) i člověk (Ashford a kol., 1996). Leishmánie většinou cirkulují mezi zvířecími hostiteli a člověk se nakazí, pokud se dostane do zoonotického ohniska, což může být například během osidlování nových území nebo během vojenských výprav (Saliba a Oumeish, 1999).

Leishmaniózy můžeme podle rezervoárového hostitele rozdělit na antroponózy a zoonózy. Onemocnění způsobené leishmáníemi, jejichž hlavním hostitelem je člověk, je označováno jako antroponóza a onemocnění, kdy je pro přenašeče hlavním zdrojem infekce jiný savec, se nazývá zoonóza (Ashford, 1996; Guerin a kol., 2002).

Mezi **antroponózy** jsou řazeny leishmaniózy způsobené druhy *L. tropica* a *L. donovani* (Gramiccia a Gradoni, 2005). Oba tyto druhy jsou pravděpodobně závislé na pohybu infikovaných lidí ze starých ohnisek, kde je již obyvatelstvo imunní, do nových ohnisek, kde žijí populace lidí náchylných k tomuto druhu leishmánie (Ashford, 1996). Dnes jsou však již známa i ohniska, kde rezervoárovými hostiteli *L. tropica* jsou například damani (*Procapra capensis*, *Pracavia johnstoni*) v Izraeli (Jacobson a kol., 2003), v Keni (Sang a kol., 1992b) a v Saudské Arábii (Morsy a kol., 1997) nebo ohniska, kde hostiteli tohoto druhu byli psi,

---

<sup>4</sup> Palearktické druhy flebotomů přečkávají zimu jako čtvrté larvální stádium, zatímco v teplejších a vlhčích lokalitách přezimují ve formě vajíček (Killick-Kendrick, 1999).

například v Maroku (Dereure a kol., 1991; Lemrani a kol., 2002) a v Íránu (Mohebalí a kol., 2005), krysy v Keni (Massamba a kol. 1998) a pískomilové v Egyptě (Shehata a kol., 2009). Je velmi pravděpodobné, že by krysa (*Rattus rattus*) mohla být hostitelem druhu *L. tropica* i v Turecku (Svobodová a kol., 2003). Známa jsou též ohniska, ve kterých byla *L. donovani* izolována ze psů, například v Sudánu (Dereure a kol., 2003) a na Srí Lance (Nawaratna a kol., 2009).

Mezi leishmánie způsobující **zoonózy** patří *L. infantum* (včetně *L. chagasi*), *L. major*, *L. aethiopica*, *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. venezuelensis*, *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. naiffi*, *L. panamensis*, *L. peruviana* a *L. shawi* (Gramiccia a Gradoni, 2005). Jako rezervoáry těmto leishmániím slouží chudozubí (Edentata), šelmy (Carnivora), damani (Hyracoidea) a hlodavci (Rodentia). Z toho běžnými rezervoárovými hostiteli jsou z řádu chudozubých lenochodi (*Choloepus* spp., *Bradypus* spp.), z řádu šelem hlavně domácí psi, řád damanů (*Procavia* spp. a *Heterohyrax capensis*) a z řádu hlodavců křeček ušatý (*Ototylomys phyllotis*), křeček bledý (*Neotoma micropus*), pískomil tlustý (*Psammomys obesus*), pískomil velký (*Rhombomys opimus*), koro (*Proechimys* spp.) a paka nížinná (*Cuniculus paca*). Tyto leishmánie však mohou infikovat i jiné savce, tzv. náhodné hostitele, kterými mohou být například člověk, kočkodan zelený (*Cercopithecus aethiops*), malpa hnědá (*Cebus apella*), pes, liška (*Vulpes* spp.), šakal obecný (*Canis aureus*), kočka domácí (*Felis catus*), jezevec lesní (*Meles meles*), vačice opossum (*Didelphis marsupialis*), kůň (*Equus caballus*) a mnoho dalších (Ashford a kol., 1996).

## 5 Přenašeči leishmáníí

Kromě několika vyjímek<sup>5</sup> jsou leishmánie na obratlovce přenášeny flebotomy z podčeledi Phlebotominae (řád Diptera, podřád Nematocera, čeled' Psychodidae). Tato podčeleď je dále rozdělena do šesti rodů, z nichž pouze tři mají význam v přenosu leishmáníí, a to rod *Phlebotomus* a rod *Sergentomyia* v oblasti Starého Světa, a rod *Lutzomyia* v Novém Světe (Killick-Kendrick, 1999; Sádlová, 1999), přičemž zástupci rodu *Sergentomyia* sají hlavně na plazech. Některé druhy sice sají i na lidech, ale nepřenašejí leishmánie (Sádlová, 1999).

Flebotomové se vyskytují v teplých oblastech Evropy, Asie, Afriky, Austrálie, centrální a Severní Ameriky do 50° severní šířky a do 40° jižní šířky, od úrovně moře do 3300 m nad mořem. Flebotomové jsou aktivní za soumraku a v noci, existuje ale i několik druhů aktivních během dne. Mezi místa, kde se flebotomové přes den skrývají, patří například

---

<sup>5</sup> Leishmánie mohou být vzácně také přenášeny pohlavně, kongenitálně, krevní transfuzí nebo jehlou (Killick-Kendrick, 1999).

záchody, sklepy, stáje, jeskyně, pukliny ve zdech, skály, půda, díry ve stromech, nory hlodavců a dalších savců, hnízda ptáků a termiště (Killick-Kendrick, 1999).

Samci i samice flebotomů se živí přírodními zdroji cukru jako jsou šťávy rostlin a medovice mšic. Samice sají krev, která jim poskytuje živiny pro produkci vajíček. Druhy flebotomů se liší počtem sání krve během jednoho gonotrofického cyklu. Někteří sají krev vícekrát během několika dnů, jiní pouze jednou na každou snůšku vajec. Časté sání krve zvyšuje kontakt mezi přenašečem a obratlovcem, a tedy i pravděpodobnost přenosu leishmáníí.

Kontakt flebotoma se savčím hostitelem a člověkem a jeho role jako vektora závisí na aktivitách jak rezervoárů tak flebotomů. Například lišky mohou přenést infekci do cyklu mezi psy a flebotomy žijící v okolí lidských obydlí, a následně tak umožnit přenos na člověka (Lewis a Ward, 1987). Přenašeč bývá identifikován pomocí několika obecně uznávaných kritérií, a to a) flebotomus saje na člověku a jde-li o zoonózu, tak i na rezervoárovém hostiteli, b) vývoj parazitů ve střevě flebotoma pokračuje i po ztrávení infikované krve, c) paraziti izolovaní z flebotomů odchycených v přírodě jsou identičtí s parazity izolovanými z pacientů, d) flebotomové jsou schopni přenosu leishmáníí při sání (Killick-Kendrick, 1999). Často je velmi obtížné přenašeče identifikovat a v některých ohniscích přenašeč zatím není znám. Někdy je však možné odhadnout pravděpodobného vektora, který by mohl být zapojen do přenosu, buď na základě podobnosti s jiným ohniskem, nebo z taxonomické pozice druhů flebotomů vyskytujících se v daném ohnisku. Ve Starém Světě je zřejmý vztah mezi vektory a parazity související pravděpodobně s jejich vzájemnou koevolucí. Například tři blízce příbuzní přenašeči *L. major*, *P. duboscqui*, *P. papatasi* a *P. salehi*, patří do podrodu *Phlebotomus*. V Novém Světě však tento vztah není již tak zřetelný (Killick-Kendrick, 1999).

Pravděpodobnost přenosu leishmáníí se však mění v průběhu roku. V mírném pásu jsou flebotomové přítomni pouze v létě a přenos leishmáníí je zřejmě nejintenzivnější koncem tohoto období, kdy populace flebotomů stárnou a pravděpodobně je mezi nimi nejvyšší počet infikovaných jedinců. Sezónní změny v počtu flebotomů se však vyskytují i v tropech, kde deště a reliéf krajiny ovlivňují populace flebotomů (Lewis a Ward, 1987).

V souvislosti s přenašeči leishmáníí bych měla také zmínit specifické a permisivní vektory. **Specifičtí vektor** podporují vývoj pouze jednoho druhu leishmáníí a jsou rezistentní vůči všem ostatním druhům leishmáníí. Například *P. papatasi* je specifickým vektorem *L. major* a *P. sergenti* je specifický pro *L. tropica*. Ve specifických přenašečích je přichycení leishmáníí ve střevě zajištěno LPG (lipofosfoglykan) receptory přenašečů, které vážou LPG parazitů (Volf a Myšková, 2007).

Většina flebotomů je však schopna přenášet více druhů leishmáníí, a jsou proto označováni jako **permisivní vektorůi**. Takovýmto permisivním vektorem je například *P. arabicus*, ve kterém jsou schopni se vyvíjet druhy *L. tropica* (Jacobson a kol., 2003), *L. major* a *L. infantum* (Volf a Myšková, 2007). Mechanismus přichycení leishmáníí ve střevě permisivního přenašeče se však liší a v permisivních přenašečích se uplatňuje mechanismus nezávislý na LPG. Jedná se o korelaci mezi permisivitou vektora a glykosylací střevních proteinů: O-glykosylované proteiny s N-acetylgalaktosaminovými epitopy jsou přítomny u permisivních vektorů, ale u specifických vektorů chybějí (Volf a Myšková, 2007).

## **6 *Leishmania tropica* ve středomořských státech severní Afriky**

### **6.1 Areál a vnitrodruhová diverzita komplexu *Leishmania tropica***

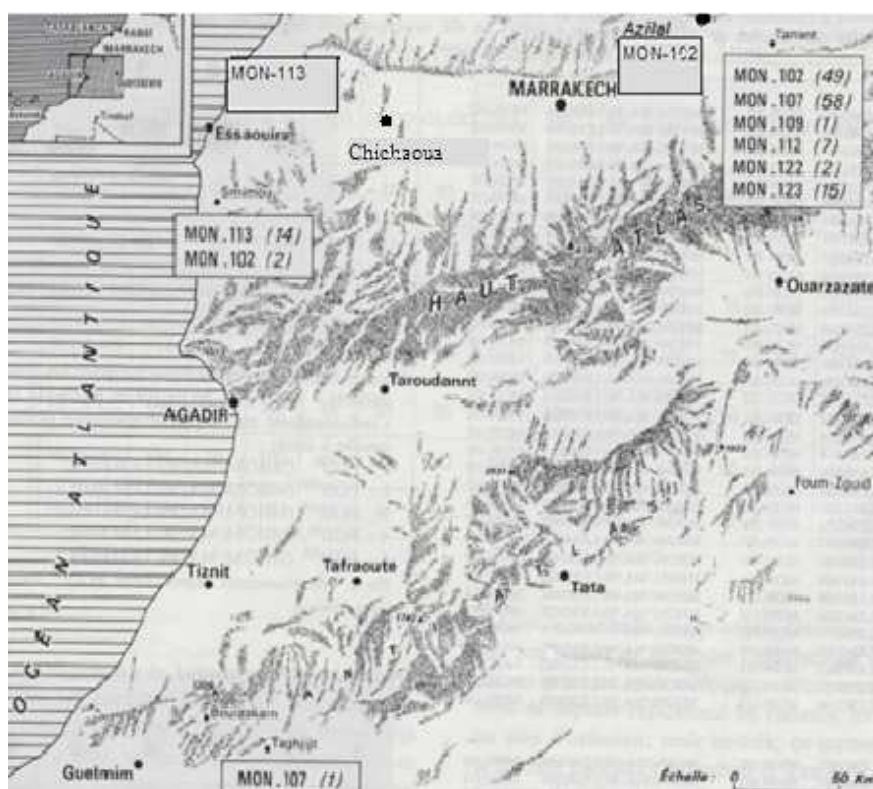
Leishmaniózy, jejímiž původci jsou leishmáníe z komplexu *L. tropica*, se v **Maroku** vyskytují od Taghijtu na jihu země až k Taze na severu, v peraridních, aridních, semiaridních, subhumidních i humidních oblastech, přičemž se zde v současné době vyskytuje devět různých zymodemů v několika ohniscích (Pratlong a kol., 1991; Guessous-Idrissi a kol., 1997a; Bichichi a kol., 1999; Lemrani a kol., 2002).

První zprávy o výskytu *Leishmania tropica* v oblasti Maroka pocházejí z roku 1987 na území Tanantu, který se nachází ve Vysokém Atlasu na západě země. Izolát byl na základě izoenzymatické analýzy zařazen do nového zymodemu MON-102, který má blízko ke třem zymodemům z Řecka a Izraele, ale má naopak daleko k *L. killicki* popsané v Tunisku (Marty a kol., 1989). Později byly v ohnisku Tanant (provincie Azilal) identifikovány i zymodemy MON-107, MON-109, MON-112, MON-122 a MON-123 (Pratlong a kol., 1991; Dereure a kol., 1991), přičemž zymodem MON-107 byl izolován i v Taghijtu (provincie Guelmim) pod Anti-Atlasem (Pratlong a kol. 1991) a zymodem MON-102 byl dále nalezen v Smimou (provincie Agadir) v západní části Vysokého Atlasu, kde se vyskytuje spolu se zymodemem MON-113 (Pratlong a kol. 1991) [viz obr. 4], v Taze na severu země (Guessous-Idrissi a kol., 1997b) a v provincii Zouagha My Yacoub ve Fès nedaleko Tazy (Rhajaoui a kol., 2004). V Taze byl kromě zymodemu MON-102 izolován i zatím neznámý zymodem MON-X, avšak zymodem MON-102 je v tomto ohnisku dominantní (Bichichi a kol., 1999). Zymodem MON-113 byl kromě Smimou izolován i v Essaouiře na západě Maroka (Dereure a kol., 1991). Dále byl v Maroku objeven nový zymodem MON-279 v Guermelloul (provincie Al Hoceima) na severu země (Lemrani a kol., 2002). Další popsaná ohniska *L. tropica*



v Maroku jsou v Ouled Heein (provincie Taounate) na úpatí Rif Mountains na severu země (Guessous-Idrissi a kol., 1997a), Beni Mellal a Boulemane v centrální části země severně od Tanantu, v Taroudant na jihovýchodě (Rhahajoui a kol., 2007), v provincii Chichaoua na východě země (Guearnaoui a kol., 2005) a v provincii Al-Haouz ve Vysokém Atlasu jihovýchodně od Marrakechu (Ramaoui a kol., 2008). Izoláty z těchto ohnisek však zatím nebyly zařazeny do žádných zymodemů v komplexu *L. tropica*.

Ve většině případů k přenosu *L. tropica* v Maroku dochází ve venkovských oblastech, ale například v Taze se *L. tropica* vyskytuje i v městských oblastech (Bichichi a kol., 1999).



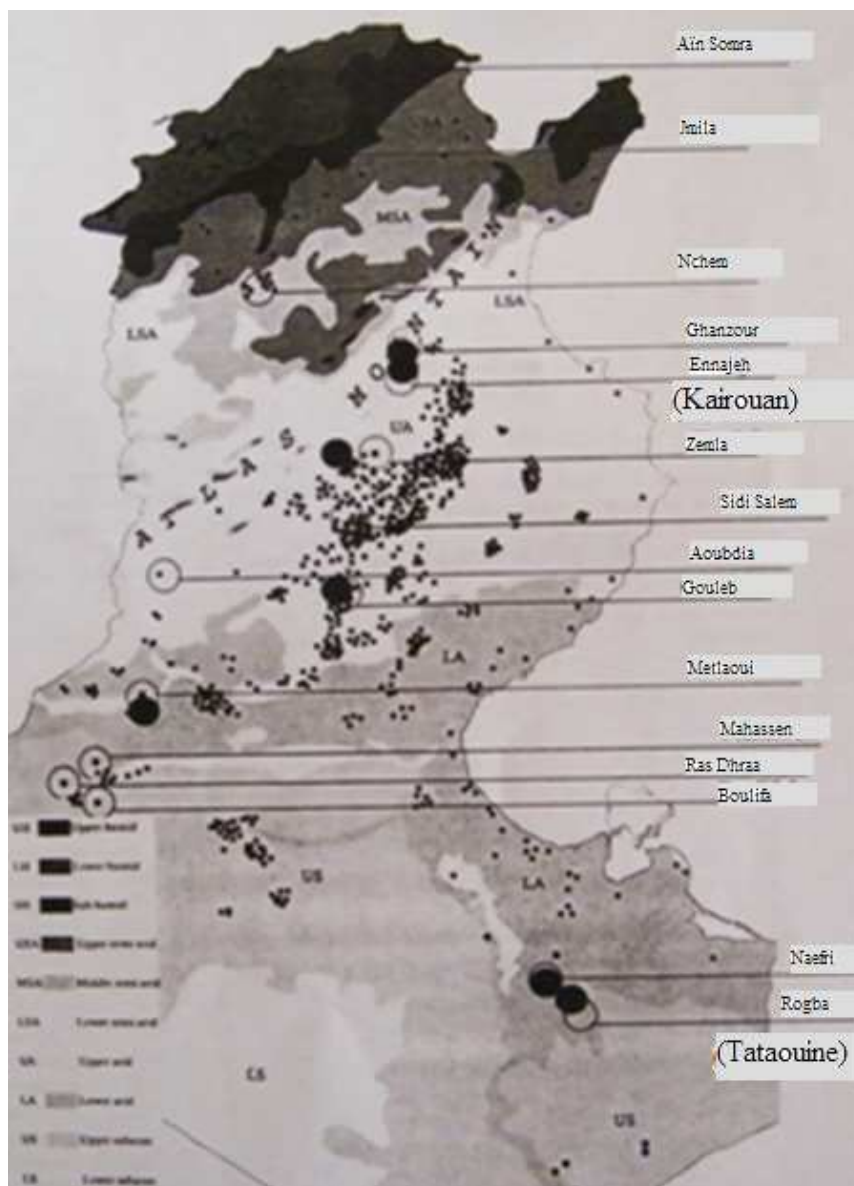
4. Výskyt *L. tropica* v Maroku (Upraveno dle Pratlong a kol., 1991)

Mikrosatelitní analýzy ukazují, že se v Maroku vyskytují dvě geneticky velmi odlišné populace *L. tropica* koexistující ve stejném ohnisku (Schwenkenbecher a kol., 2006), což koresponduje i s diverzitou prokázanou rozdělením zymodemů do podskupin skládajících se z „malých variant“ (Pratlong a kol., 1991; Schwenkenbecher a kol., 2006). Zymodemy MON-102, MON-107, MON-109, MON-112, MON-113, MON-122 a MON-123 byly na základě izoenzymatické analýzy rozděleny do tří podskupin. MON-113 byl zařazen do skupiny IIb; MON-102, MON-109 a MON-112 do skupiny IIc a MON-107, MON-122 a MON-123 do skupiny IId (Pratlong a kol., 1991). Podle Pratlonga a kol. (1991) by tato

diverzita mohla souviset s tím, že ohniska byla kolonizována z několika různých geografických oblastí. Diverzifikace do „malých variant“ by pak mohla být výsledkem pozdějších mutací. Podle Schwenkenbechera a kol. (2006) je jedna populace (populace Maroko A) příbuzná asijské populaci, zatímco druhá populace (populace Maroko B) má geneticky blíže spíše k africkým populacím. Populace Maroko A mohla být zavlečena z dalekých oblastí v Asii do Maroka, kde založila nové ohnisko a dále se šířila. Toto potvrzuje i izolát z Izraele, který je podle analýz založených na mikrosatelitech na stejné vývojové větvi jako šest izolátů populace Maroko A (Schwenkenbecher a kol., 2006).

V **Egyptě** byly v roce 1964 hlášeny dva případy nákazy *L. tropica*, v Káhiře a Alexandrii, přičemž pacient z Káhiry se dva měsíce před objevením léze vrátil z Mekky. Druhý pacient žil na okraji Alexandrie hraničícím s pouští a deset let nevycestoval mimo Egypt (Cahill a kol., 1966). Další případy se objevily v severním Sinaji v komunitě El Barth u palestinských hranic (Shehata a kol., 2009), v areálu výskytu *L. major* (Mansour a kol., 1991). Podle Shahaty a kol. (2009) nejspíše nebyla *L. tropica* v tomto ohnisku dříve objevena kvůli potížím s rozlišením *L. major* a *L. tropica*, spojené s nízkým výskytem nemoci. Přítomnost leishmáníí z komplexu *L. tropica* tak mohla být přehlédnuta, nebo mohla *L. tropica* invadovat z blízkého regionu. Stejně je tomu například v Izraeli, kde se v oblastech výskytu *L. major* později objevily i onemocnění způsobené leishmáníemi z komplexu *L. tropica* (Jacobson a kol., 2003; Al-Jawabreh a kol., 2004). Tuto druhou teorii však molekulární data nepotvrzují. Fylogenetické analýzy ukazují, že ITS1 sekvence *L. tropica* v Sinaji jsou podobné sekvencím leishmáníí v Íránu a významně se liší od sekvencí Izraelských leishmáníí (Shehata a kol., 2009).

V **Tunisku** byla *L. tropica* (zymodem MON-8) poprvé izolována v roce 1981 v Tatouine na jihovýchodě země a byla označena jako *L. killicki* (Rioux a kol., 1986 citováno dle Aoun a kol., 2006). Dále byla *L. killicki* MON-8 nalezena v Aïn Jloula v oblasti Kairouan v centru Tuniska (Bouratbine a kol., 2005), v Metlaoui v oblasti Gafsy (Bouratbine a kol., 2005), v Gafse na jihu země (Haouas a kol., 2005), v Mekkassy v oblasti Sidi Bouzid v centru Tuniska a v Rouhia v oblasti Seliana na severu [viz obr. 5] (Haouas a kol., 2005). *L. killicki* (zymodem MON-8) byla již hlášena i v **Libyi** v Beni Walid na severu země (Aoun a kol., 2006).



5. Geografické rozšíření *L. killicki* v Tunisu. Ohniska *L. killicki* jsou označena černými kruhovými výsečemi. (Upraveno dle Ghrab a kol., 2006)

Případy onemocnění člověka způsobené *L. killicki* (MON-8) jsou geograficky velmi roztroušeny a byly hlášeny pouze na venkově v údolích obklopených skalami v semiaridních a aridních oblastech v Tunisku a Libyi (Ben Ismail a Ben Rachid, 1989; Bouratbine a kol., 2005; Haouas a kol., 2005; Aoun a kol., 2006; Ghrab a kol., 2006), kde se *L. killicki* většinou vyskytuje sympatricky s *L. major*, přičemž *L. major* je v těchto ohniscích dominantní (Bouratbine a kol., 2005; Aoun a kol., 2006; Nadia Bouslimi, ústní sdělení). Sympatrický výskyt *L. tropica* a *L. major* byl zaznamenán i v jiných státech, například v Egyptě (Shehata a kol., 2009), Izraeli (Klaus a kol., 1994; Jacobson a kol., 2003; Al-Jawabreh a kol., 2004), Jordánsku (Nimri a kol., 2002), Íránu (Sharifi a kol., 1998) a v Alžírsku (Harrat a kol., 2009).

V **Alžírsku** byly hlášeny případy nákazy *L. tropica* v Konstantinu a jeho okolí (Mihoubi a kol., 2008) a v provincii Ghardaïa na severu země (Harrat a kol., 2009). Izoláty z Ghardaïi byly zařazeny do nového zymodemu MON-301, který je příbuzný zymodemu MON-8 v Tunisku a Libyi. Na základě izoenzymatické analýzy založené na srovnání patnácti enzymů společných oběma zymodemům se zymodem MON-301 lišil od zymodemu MON-8 ve čtyřech enzýmech. Avšak pomocí molekulární typizace se ukázalo, že tyto zymodemy jsou zcela totožné. Oblast Ghardaïa v Alžírsku leží přibližně ve stejné geografické šířce jako ohnisko Tataouine a dokonce i ekologický profil je velmi podobný, včetně aridního klimatu, přítomnosti skalnatých srázů a sympatrického výskytu s *L. major* (Harrat a kol., 2009). Zásadní rozdíl mezi těmito ohnisky je v tom, že tuniský zymodem se vyskytuje spíše na venkově (Ben Ismail a Ben Rachid, 1989), zatímco alžírský zymodem byl pozorován hlavně v přelidněných městech (Harrat a kol., 2009). V Konstantinu se *L. tropica* vyskytuje sympatricky s *L. major* a dermatotropní *L. infantum* (de Monbrison a kol., 2007) a stejně jako v provincii Ghardaïa se vyskytuje spíše v obydlených oblastech (Mihoubi a kol., 2008).

Další zymodemy příbuzné zymodemům MON-8 a MON-301, označované jako *L. killicki*, se vyskytují v některých zemích Afriky a v Jemenu (Rioux a kol., 1990), a to MON-71 v Jemenu (Khatri a kol., 2006) a Etiopii (Hailu a kol., 2005) a MON-119 v Keni (Sang a kol., 1992a).

## 6.2 Epidemiologická situace

Kromě dlouhodobých ohnisek kožní leishmaniózy stabilně se vyskytujících v některých regionech středomořských států severní Afriky se v posledním desetiletí objevují nová ohniska a v některých případech je možné uvažovat o regionálním šíření kutaní leishmaniózy.

V **Maroku** byl v posledních letech hlášen nárůst počtu kožních leishmanióz vyvolaných leishmáními z komplexu *L. tropica*, z toho v provincii Chichaoua bylo zaznamenáno 1025 případů v letech 2000 až 2002 (Guernaoui a kol., 2005) a v provincii Al-Haouz 354 případů v letech 2000 až 2006 (Ramaoui a kol., 2008).

V **Tunisku** je ročně hlášeno kolem deseti případů kožních leishmanióz, jejichž původcem je *L. killicki* (Kallel a kol., 2005) a v **Alžírsku** v oblasti Ghardaïa bylo v roce 2004 zaznamenáno 1034 případů kožních leishmanióz<sup>6</sup> a v roce 2005 dokonce 2040 případů (Harrat a kol., 2009).

---

<sup>6</sup> Neuvádí se, které leishmáníe byly původci.

### 6.3 Klinické příznaky vyvolané leishmániemi komplexu *Leishmania tropica*

Onemocnění, jejichž původcem je *L. tropica*, se projevují širokým spektrem klinických příznaků, od nejčastější kožní leishmaniózy (Garifallou a kol., 1984; Gramiccia a kol., 1984; Marty a kol., 1989; Ashford a kol., 1993; Klaus a kol., 1994; Sang a kol., 1994; Kamhawi a kol., 1995; Sharifi a kol., 1996; Haouas a kol., 2005; Hailu a kol., 2006; Shehata a kol., 2009), přes recidivující leishmaniózu (Garifallou a kol., 1984; Sang a kol., 1994; Sharifi a kol., 1996), lymphadenopatii bez dalších příznaků leishmaniózy (Ardehali a kol., 1995) až po viscerální leishmaniózu (Magill a kol., 1993; Lemrani a kol., 2002; Mohebalí a kol., 2005; Hajjaran a kol., 2007). Při porovnání kožních lézí *L. tropica* se sympatricky se vyskytující *L. major* (Klaus a kol., 1994; Sharifi a kol., 1998; Nimri a kol., 2002; Jacobson a kol., 2003; Al-Jawabreh a kol., 2004; Shehata a kol., 2009) jsou léze, jejichž původcem je *L. major*, několikanásobné a destruktivní, zatímco *L. tropica* způsobuje většinou samostatné nehnisající léze, které se vyvíjejí déle a jsou odolnější vůči léčbě (Klaus a Frankenberg, 1999; Mahmoudzadeh-Niknam a kol., 2006).

V **Maroku** *L. tropica* způsobuje dvě formy leishmaniózy: kožní a viscerální (Marty a kol., 1989; Dereure a kol., 1991; Guessous-Idrissi a kol., 1997a; Guessous-Idrissi a kol., 1997b; Bichichi a kol., 1999; Lemrani a kol., 2002; Rhajaoui a kol., 2004; Rhajajoui a kol., 2007). Kožní leishmanióza se zde projevuje vznikem samostatných malých, hnisajících i nehnisajících lézí u psů i u lidí (Marty a kol., 1989; Dereure a kol., 1991; Guessous-Idrissi a kol., 1997b; Rhajaoui a kol., 2007). Byly však hlášeny i případy, kdy se objevily několikanásobné léze. Například u psů byly nalezeny seskupené léze kolem čumáku (Dereure a kol., 1991), u některých lidí ve městě Taza se objevily velké několikanásobné léze, které by mohly souviset s virulencí parazita posílenou nedostatečnou imunitou obyvatel v nově vznikajícím ohnisku (Guessous-Idrissi a kol., 1997b). Naproti tomu viscerální leishmanióza, jejímž původcem je *L. tropica*<sup>7</sup>, se v Maroku (v Guermelloul a v Ouled Heein) vyskytuje pouze u psů (Guessous-Idrissi a kol., 1997a; Lemrani a kol., 2002), narozdíl od Saudské Arábie, kde byla *L. tropica* zaznamenána v osmi případech jako původce viscerální leishmaniózy u amerických vojáků (Magill a kol., 1993). V Ouled Heein v Maroku se toto onemocnění objevilo pouze u jednoho psa a vedlo k jeho smrti, neobjevily se však žádné kožní léze (Guessous-Idrissi a kol., 1997a). V Guermelloul se objevil také u psa pouze jeden případ a onemocnění vykazovalo viscerální i kožní projevy (Lemrani a kol., 2002).

---

<sup>7</sup> Dalším původcem viscerální leishmaniózy v Maroku je *Leishmania infantum* (Lemrani a kol., 2002).

V **Egyptě, Tunisku, Alžírsku a Libyi** je *L. tropica* původcem pouze kožní leishmaniózy (Ben-Ismaïl a Ben Rachid, 1989; Aoun a kol., 2006; Harrat a kol., 2009; Shehata a kol., 2009).

V **Egyptě** byla *L. tropica* zaznamenána v Alexandrii, v severním Sinaji a v Káhiře u pacienta, u kterého se léze objevila dva měsíce po jeho návratu z Mekky (Cahill a kol., 1966; Shehata a kol., 2009). U pacientů z Káhiry i z Alexandrie se vytvořila hnisající léze, přičemž u pacienta z Alexandrie byla léze několikanásobná (Cahill a kol., 1966). V severním Sinaji byly u leishmanióz, způsobených *L. tropica*, zaznamenány suché léze, samostatné i mnohonásobné (Shehata a kol., 2009).

V **Tunisku** a v **Libyi** se vyskytuje pouze *Leishmania tropica* (MON-8), označovaná jako *L.killicki*. Léze, které tento zymodem způsobuje, bývají většinou samostatné suché hnisající léze, se strupem nebo bez strupu, a mohou se vyvíjet až 6 let (Ben Ismaïl a Ben Rachid, 1989; Bouratbine a kol., 2005; Haouas a kol., 2005; Bouslimi a kol., 2009). Oproti tomu *L. killicki* MON-119 v Keni se projevuje vznikem velkých nehnisajících a dlouhotrvajících lézí. Některé se samy vyhojí a u některých se na okrajích jizev objevují léze nové (Sang a kol., 1994).

V **Alžírsku** se vyskytuje *L. tropica* zymodem MON-301, který také patří do podskupiny *L. killicki*. Léze způsobené touto leishmáníí mají široké klinické spektrum, ale dominantní jsou chronické suché léze (Harrat a kol., 2005).

#### **6.4 Hostitelé komplexu *Leishmania tropica***

*L. tropica* je běžným původcem antroponotické leishmaniózy (Gramiccia a Gradoni, 2005). V poslední době však byla popsána ohniska, kde byla *L. tropica* izolována ze zvířat, a kde by, vzhledem ke sporadickému výskytu a venkovské distribuci parazita, mohl probíhat spíše zoonotický cyklus (Dereure a kol., 1991; Sang a kol., 1992b; Morsy a kol., 1997; Massamba a kol. 1998; Lemrani a kol., 2002; Jacobson a kol., 2003; Mohebalı a kol., 2005).

V **Maroku** byla *L. tropica* izolována z lidí a ze psů (Pratlong a kol., 1991), přičemž zymodemy MON-102, MON-107, MON-109, MON-112, MON-113 a MON-X byly nalezeny u člověka (Marty a kol., 1989; Pratlong a kol., 1991; Guessous-Idrissi a kol., 1997b; Bichichi a kol., 1999; Rhajaoui a kol., 2004; Fellah a kol., 2007; Rhajaoui a kol., 2007), zymodemy MON-102, MON-113 a MON-279 u psů (Pratlong a kol., 1991; Dereure a kol., 1991; Lemrani a kol., 2002) a zymodemy MON-122 a MON-123 zatím byly izolovány pouze z flebotomů (*P. sergenti*) (Pratlong a kol., 1991). To, že u flebotomů dominantní zymodem MON-107 byl jen vzácně nalezen u člověka, naznačuje, že by u tohoto zymodemu mohl probíhat zoonotický cyklus (Guilvard a kol., 1991). *L. tropica* je původcem leishmaniózy

u lidí také v marockých ohniscích Beni Mellal, Boulemane, Taroudant (Rhahajoui a kol., 2007) a v provincii Chichaoua (Guearnaoui a kol., 2005) a byla zjištěna též u jednoho psa v ohnisku Ouled Heein (Guessous-Idrissi a kol., 1997a). Otázkou však i nadále zůstává, jestli jsou psi v Maroku rezervoáry nebo pouze náhodnými hostiteli.

Kromě typicky antropotických cyklů by v Maroku mohly existovat i zoonotické cykly, dokonce se zdá, že v některých oblastech by se mohly oba způsoby přenosu vyskytovat společně (Guessous-Idrissi a kol., 1997b; Bichichi a kol., 1999).

Například v Taze, kde se leishmanióza vyskytuje v urbanizovaných oblastech i na venkově, se *L. tropica* (zymodem MON-102) mohla původně vyskytovat na venkově a do města byla zavlečena teprve při vzniku vhodných podmínek pro její přenos, včetně enviromentálních změn spojených se vzrůstající hustotou obyvatel a flebotomů a klesající imunitou populace (Guessous-Idrissi a kol., 1997b). Bichouchi a kol. (1999) přišli s hypotézou, že se vzhledem k významnému poklesu výskytu nemoci zejména v příměstských oblastech, se jedná o antropotický přenos parazita, přinejmenším ve městě Taza. Antropotické leishmaniózy jsou totiž pravděpodobně závislé na pohybu infikovaných lidí ze starých ohnisek, kde je již obyvatelstvo imunní, do nových ohnisek, kde žijí populace lidí náchylných k tomuto druhu leishmánie (Ashford, 1996). Na venkově však byl naopak zaznamenán nárůst počtu případů kožní leishmaniózy, což naznačuje možnou přítomnost zoonotického cyklu, zejména na venkově (Bichouchi a kol., 1999).

V oblasti Tazy nebyla *L. tropica* zatím ze žádného zvířete izolována (Guessous-Idrissi a kol., 1997b). Byla již však nalezena u hlodavců například v Keni u krysy a v Egyptě u pískomilů (Massamba a kol. 1998; Shehata a kol., 2009), a u psů v Íránu (Mohebbali a kol., 2005) a v některých oblastech Maroka (Pratlong a kol., 1991; Dereure a kol., 1991; Lemrani a kol., 2002). V Izraeli, kde se vyskytuje *L. tropica* příbuzná zymodemu MON-102, byl tento parazit izolován z damanů (*Procapra capensis*) (Jacobson a kol., 2003).

Podobná situace jako v Taze byla zaznamenána i v provincii Zouagha My Yacoub (Rhajaoui a kol., 2004). Fellah a kol. (2007) však tvrdí, že vzhledem k absenci infikovaných zvířat v provincii Zouagha My Yacoub se bude jednat spíše o antropotický přenos.

V **Egyptě** byla *L. tropica* izolována z lidí (Cahill a kol., 1966; Shehata a kol., 2009) a v severním Sinaji i z pískomilů (*Gerbilus pyramidum floweri*) (Shehata a kol., 2009), čímž vyvstává otázka, zda *L. tropica* v tomto ohnisku vyžaduje zvířecí rezervoár nebo jestli je zde pískomil pouze náhodným hostitelem.

V **Tunisku** a **Libyi** byla *L. killicki* (MON-8) nalezena pouze u lidí (jiné zymodemy *L. tropica* zde nebyly zaznamenány) (Bouratbine a kol., 2005; Haouas a kol., 2005; Aoun a

kol., 2006) Vzhledem ke sporadickému výskytu a venkovské distribuci by však u ní mohl probíhat spíše zoonotický cyklus (Ben Ismail a Ben Rachid, 1989), stejně jako je tomu v Keni, kde byla *L. killicki* (MON-119) izolována z damanů (*Procavia johnstoni*)<sup>8</sup> (Sang a kol., 1992b). Rezervoárovým hostitelem *L. killicki* v Tunisku a Libyi by s velkou pravděpodobností mohl být *Ctenodactylus gundi* (Bouratbine a kol., 2005), který se hojně vyskytuje v ohniscích (Bouratbine a kol., 2005; Aoun a kol., 2006) a u něhož byla na základě předběžných studií zjištěna *L. killicki* pomocí PCR ve tkáních odchycených gundi (Aida Bouratbine, ústní sdělení).

V **Alžírsku** byla *L. killicki* (MON-301) zatím izolována také pouze z lidských kožních lézí, avšak zde se tento parazit vyskytuje v přelidněných městech, kde se často několik případů objevuje v rámci jedné rodiny, což naznačuje spíše antroponotický cyklus (Harrat a kol., 2009). V Alžírsku byla *L. tropica* hlášena také v Konstantinu, kde byla nalezena u lidí a kde se vyskytovala v peri-urbanizovaných oblastech (Mihoubi a kol., 2008). Není o ní však mnoho záznamů.

### 6.5 Přenašeči komplexu *Leishmania tropica*

*P. (Paraphlebotomus) sergenti* byl do roku 1991 považován za jediného potvrzeného vektora druhu *L. tropica* (Al-Zahrani a kol., 1988; Guilvard a kol., 1991; Kamhawi, 2000; Jacobson a kol., 2003; Geber-Michael a kol., 2004; Oshaghi a kol., 2010). Dnes jsou však již známi další přenašeči *L. tropica*, a to *P. (Larroussius) guggisbergi* v Keni (Lawyer a kol., 1991), *P. (Adlerius) arabicus* v Izraeli (Jacobson a kol., 2003; Svobodová a kol., 2006) a *P. (Paraphlebotomus) saevus* v Etiopii (Gebre-Michael a kol., 2004). Dále byla v Íránu *L. tropica* izolována z *P. (Larroussius) perfiliewi transcaucasicus*, *P. (Adlerius) sp.* a *S. dentata* (Parvizi a kol., 2008). Avšak i flebotomové, kteří daného parazita nepřenašejí, mohou sát na infikovaném hostiteli a dočasně ve svém zažívacím traktu hostit leishmánie, ale ve flebotomech nemusí dojít k metacyklogenezi (Parvizi a kol., 2008). *L. tropica* je schopna se v laboratoři vyvíjet i v *P. (Adlerius) halapensis*, ale zapojení tohoto druhu do přenosu *L. tropica* v přírodě nebylo prokázáno (Sádlová a kol., 2003).

V **Maroku** existuje zatím jediný potvrzený přenašeč *L. tropica*, a to *P. sergenti*. Z tohoto flebotoma byly v provincii Azilal a v ohnisku Taghjjit izolovány zymodemy MON-102, MON-107, MON-122 a MON-123 zahrnované do komplexu *L. tropica* (Pratlong a kol., 1991; Guilvard a kol., 1991), přičemž pravděpodobnost přenosu leishmání na člověka je v červnu

---

<sup>8</sup> Damani se v Tunisku nevyskytují (Bouratbine a kol., 2005).



nulová, pak postupně narůstá a nejvyšší je v říjnu (Guilvard a kol., 1991). Zymodem MON-102, který se často vyskytuje u člověka, byl z flebotomů *P. sergenti* izolován vzácně (Guilvard a kol., 1991), což by mohlo naznačovat, že přenašečem tohoto zymodemu je i jiný flebotomus než *P. sergenti*.

Další entomologické průzkumy za účelem zmapování výskytu flebotomů v ohniscích *L. tropica* byly provedeny ve Smimou, v Taze, v provincii Chichaoua a provincii Al-Haouz.

Ve Smimou, kde se vyskytují zymodemy MON-107 a MON-113, který zatím z flebotoma nebyl izolován (Pratlong a kol., 1991), byl nejhojnější *P. (Paraphlebotomus) sergenti*, následovaný *P. (Larroussius) longicuspis*, *P. (Phlebotomus) papatasi*, *P. (Paraphlebotomus) chabaudi*, *P. (Larroussius) langeroni*, *P. (Paraphlebotomus) alexandri* a *P. (Larroussius) ariasi*, přičemž poslední tři se vyskytovali vzácněji (Rioux a kol., 1997).

V Taze byl hlášen výskyt *P. sergenti*, *P. longicuspis*, *P. perniciosus* a *P. alexandri*, přičemž 43% z odchycených flebotomů bylo identifikováno jako *P. sergenti*. Dále bylo zaznamenáno, že většina případů leishmaniózy se objevila během dvou period (srpen-listopad; leden-duben), což koreluje se sezónním výskytem *P. sergenti*, a tedy také naznačuje, že by tento flebotomus mohl být vektorem *L. tropica* v Taze (Guessous-Idrissi a kol., 1991b).

V provincii Chichaoua je nejhojnějším phlebotomem *P. (Larroussius) perniciosus*, druhým nejčastěji se vyskytujícím je *P. sergenti* a dále následují *P. longicuspis*, *P. ariasi*, *P. papatasi*, *P. alexandri* a *P. (Larroussius) mariae* (Guernaoui a kol., 2005). Vzhledem k tomu, že *P. sergenti* je prokázaným přenašečem *L. tropica* v Maroku a dalších státech, například v Saudské Arábii, Íránu, Etiopii a v Izraeli (Al-Zahrani a kol., 1988; Guilvard a kol., 1991; Kamhawi, 2000; Jacobson a kol., 2003; Geber-Michael a kol., 2004; Oshaghi a kol., 2010), a v provincii Chichaoua se hojně vyskytuje v aridních i semiaridních oblastech v lidských obydlích a jejich okolí, je tento flebotomus považován za nejpravděpodobnějšího vektora *L. tropica* v této oblasti (Guernaoui a kol., 2005).

V provincii Al-Haouz se nejčastěji vyskytují *P. papatasi* a *P. sergenti*. Dále se zde vyskytují *P. perniciosus* a *P. longicuspis* a méně často *P. alexandri*, a zdá se, že i zde by mohl být *P. sergenti* přenašečem *L. tropica* (Ramaoui a kol., 2008).

Co se týče přenašečů, nebyla ohniska *L. tropica* v **Egyptě** prozatím důkladně zmapována. V severním Sinaji v Egyptě byla opakovaně zaznamenána přítomnost *P. sergenti*, ale byli odchyceni pouze neinfikovaní jedinci. Častý byl též výskyt *P. papatasi* (Shehata a kol., 2009).

Přenašeč *L. killicki* MON-8 v **Tunisku** a **Libyi** a MON-301 v **Alžírsku** také není prozatím znám. Mohl by jím však být již zmiňovaný *P. sergenti* nebo *P. (Paraphlebotomus) chabaudi*, který tvoří 30,2% odchycených flebotomů v původním ohnisku *L. killicki* Tataouine (Rioux a

kol., 1986 citováno dle Bounamous a kol., 2008) a který se vyskytuje i v Alžírsku (Lewis a kol., 1982). V nedávné době však byl popsán nový druh flebotoma *P. (Paraphlebotomus) riouxi*, jehož samice jsou od *P. chabaudi* morfologicky téměř nerozlišitelné (Depaquit a kol., 1998). S jistotou lze tyto dva druhy rozlišit pomocí sekvenování a štěpení mitochondriální DNA cytochrom C oxidázy (COI) a cytochromu B pomocí restričních endonukleáz (Bounamos a kol., 2008; Boudabous a kol., 2009). V ohniscích *L. killicki* (Tataouine a Ghardaïa) byl podle nejnovějších průzkumů nalezen *P. riouxi*, zatímco *P. chabaudi* se vyskytoval spíše v jiných oblastech (Bounamous a kol., 2008).

Ghrab a kol. (2006) udělali entomologický výzkum v tuniských ohniscích *L. killicki*, přičemž bylo zjištěno, že v ohniscích v provincii Kairouan, Sidi Bouzid a Tataouine je hojný *P. (Larroussius) perniciosus* (Ghrab a kol., 2006), který patří do stejného podrodu jako *P. guggisbergi*, potvrzený přenašeč *L. killicki* (MON-119) v Keni (Lawyer a kol., 1991). V ohniscích v provincii Kairouan a Sidi Bouzid je *P. perniciosus* dominantní, ale v provincii Tataouine je zas vzácnější než jiné druhy (Ghrab a kol., 2006). *P. perniciosus* se též hojně vyskytuje i v ohnisku *L. tropica* v Konstantinu (Moulahem a kol., 1998). Druhy náležící do podrodu *Paraphlebotomus* se vyskytují ve všech ohniscích *L. killicki*, ale v ohniscích v provincii Kairouan a Sidi Bouzid bylo chyceno jen malé množství *P. (Paraphlebotomus) sergenti*, zatímco v Tataouine byl tento druh poměrně hojný. *P. (Paraphlebotomus) alexandri* se vyskytoval ve větším množství v ohnisku Kairouan, ale v Tataouine pouze zřídka, avšak samice byly uvnitř obydlí nalezeny v nezanedbatelném poměru, což znamená, že by i tento flebotomus mohl být přenašečem *L. killicki*. *P. chabaudi* byl zaznamenán pouze v ohnisku Tataouine, a to ve velmi malém počtu<sup>9</sup>. V provincii Gafsa byly odchyceny druhy *P. papatasi*, *P. alexandri*, *P. sergenti* a *P. perniciosus*, ale jejich množství nelze příliš porovnávat, neboť bylo dohromady odchyceno pouze 24 flebotomů rodu *Phlebotomus*, z čehož 18 bylo určeno jako *P. papatasi* (Ghrab a kol., 2006).

Entomologické průzkumy v oblasti Ghardaïi (Alžírsko) odhalili dominanci druhů *P. sergenti* a *P. papatasi* (Harrat a kol., 2009) a podle dosud nepublikovaných výsledků bylo odchyceno několik samic *P. sergenti* infikovaných *L. killicki* (Said Chawki Boubidi, ústní sdělení).

---

<sup>9</sup> Na základě recentních výzkumů se ukazuje, že v tomto ohnisku je mnohem častější druh *P. riouxi*, a to zejména v neosídlených údolích v okolí měst a vesnic (Vít Dvořák, ústní sdělení).

## Závěr

Ve své práci jsem se zaměřila na podrobné zmapování ohnisek *L. tropica* ve středomořských státech severní Afriky, konkrétně na výskyt, vnitrodruhovou variabilitu, epidemiologii, klinické příznaky, hostitele a na potvrzené a pravděpodobné přenašeče, přičemž jsem se tato ohniska pokoušela srovnávat s některými ohnisky *L. tropica* v okolních státech, kde se vyskytují blízce příbuzné zymodemy. Vzhledem k tomu, že byla *L. tropica* v těchto oblastech zaznamenána teprve nedávno, nejsou prozatím ohniska jejího výskytu v severní Africe zcela prozkoumána.

*L. tropica* byla v Maroku kromě lidí a flebotomů izolována také ze psů, není však prozatím zcela vyjasněné, zda se jedná o rezervoárového nebo náhodného hostitele. Ze zvířat byla *L. tropica* izolována i v Egyptě, a to z pískomilů (*Gerbilus pyramidum floweri*). U většiny ohnisek však zůstává řada nezodpovězených otázek. Například, zda se jedná o antroponotický či zoonotický cyklus a případně, kdo je rezervoárem. V řadě ohnisek také nebyl dosud nalezen přenašeč.

Například v Maroku a Egyptě je s největší pravděpodobností přenašečem *L. tropica* pouze *P. (Paraphlebotomus) sergenti*, zatímco v Tunisku, Alžírsku a Libyi by jím mohl být *P. sergenti*, *P. (Paraphlebotomus) riouxi*, *P. (Paraphlebotomus) chabaudi*, *P. (Paraphlebotomus) alexandri* nebo *P. (Larroussius) perniciosus*. Vzhledem k venkovské distribuci a sporadickému výskytu *L. tropica* (označované jako *L. killicki*) v Tunisku, Alžírsku a Libyi by se mohlo jednat o zoonotický cyklus, kde by rezervoárovým hostitelem pravděpodobně mohl být *Ctenodactylus gundi*.

Ohniska *L. tropica* ve středomořských státech severní Afriky by měla být v budoucnu důkladně zmapována, neboť pokud pochopíme životní cykly tohoto parazita, mohli bychom pak zastavit jeho šíření do dalších oblastí a možná bychom mohli leshmaniózu lokálně i zcela eradikovat.

Má budoucí diplomová práce se bude týkat určení přenašečů a případných rezervoárových hostitelů *L. killicki* (MON-8 a MON-301) v Tunisku a Alžírsku.

## **Použitá literatura:**

**Al-Jawabreh A., Schnur L. F., Nasereddin A., Abdeen Z., Barguthy F., Khanfar H., Presber W., Schönian G. (2004).** The recent emergence of *Leishmania tropica* in Jericho (A`riha) and its environs, a classical focus of *L. major*. *Tropical Medicine and International Health*, 9: 812-816

**Al-Zahrani M. A., Peters W., Evans D. A., Ching Chin I., Smith V., Lane R. P. (1988).** *Phlebotomus sergenti*, a vector of *Leishmania tropica* in Saudi Arabia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 82: 416

**Aoun K., Bousslimi N., Haouas N., Babba H., El-Buni A., Bouratbine A. (2006).** First report of *Leishmania killicki* Rioux, Lanotte and Pratlong, 1986 in Libya. *Parasite*, 13: 87-88

**Ardehali S., Sadeghi-Hassanabadi A., Moaddeb A., Abdollahi B., Malek-Hosseini Z., Evans D. A. (1995).** The characterization of *Leishmania* from patients with lymphadenopathy in Shiraz, Iran. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 89: 370-371

**Asford R. W., Rioux J. A., Jalouk L., Khiami A., Dye C. (1993).** Evidence for long-term increase in the incidence of *Leishmania tropica* in Aleppo, Syria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87: 247-249

**Ashford R. W. (1996).** Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. *Clinics in Dermatology*, 14: 523-532

**Asford R. W. (2000).** The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 30: 1269-1281

**Belhadj S., Pratlong F., Hammami M., Kallel K., Dedet J. P., Chaker E. (2003).** Human cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in the Sidi Bourouis focus (Northern Tunisia): epidemiological study and isoenzymatic characterization of the parasites. *Acta Tropica*, 85: 83-86

**Ben Ismail R., Ben Rachid M. S. (1989).** Epidémiologie des leishmanioses en Tunisie. Maladies tropicales transmissibles. Ed. AUPELP-UREE John Libbey Eurotext. Paris. p. 73-80

**Bichichi M., Riyad M., Guessous-Idrissi N. (1999).** Isoenzyme characterization of *Leishmania tropica* in the emerging epidemic focus of Taza (north Morocco). Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 93: 21-22

**Boudabous R., Bounamous A., Jouet S., Depaquit J., Augot D., Ferté H., Berchi S., Couloux A., Veuille M., Babba H. (2009).** Mitochondrial DNA differentiation between two closely related species, *Phlebotomus (Paraphlebotomus) chabaudi* and *Phlebotomus (Paraphlebotomus) riouxi* (Diptera: Psychodidae), based on direct sequencing and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. Annals of the Entomological Society of America, 102: 347-353

**Bounamous A., Boudabous R., Jouet D., Augot D., Ferté H., Babba H., Berchi S., Depaquit J. (2008).** Caractérisation moléculaire et morphologique de deux espèces affines de *Paraphlebotomus*: *Phlebotomus chabaudi* Croset, Abonnenc and Rioux, 1970 et *P. riouxi* Depaquit, Killick-Kendrick and Léger, 1998 (Diptera: Psychodidae). Parasite, 15: 565-571

**Bouratbine A., Aoun K., Ghrab J., Harrat Z., Ezzedini M. S., Etljani S. (2005).** Spread of *Leishmania killicki* to central and south-west Tunisia. Parasite, 12: 59-63

**Cahill K. M., Kordy M. I., Girgis N., Atalla W., Mofty A. (1966).** Leishmaniasis in Egypt, U.A.R. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 60: 79-82

**Dedet J. P., Pratlong F., Lanotte G., Ravel C. (1999).** The Parasite. Clinics in Dermatology, 17: 261-268

**Depaquit J., Leger N., Killick-Kendrick R. (1998).** Description de *Phlebotomus (Paraphlebotomus) riouxi* n. sp. (Diptera-Psychodidae) d'Afrique du nord. Parasite, 5: 151-158

**Dereure J., Rioux J. A., Gallego M., Perières J., Pratloug F., Mahjour J., Saddiki H. (1991).** *Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 85: 595-596

**Dereure J., El-Safi S. H., Bucheton B., Boni M., Kheir M. M., Davoust B., Pratloug F., Feugier E., Lambert M., Dessein A., Deset J. P. (2003).** Visceral leishmaniasis in eastern Sudan: parasite identification in humans and dogs; host-parasite relationships. Microbes and Infections, 5: 1103-1108

**de Monbrison F., Mihoubi I., Picot S. (2007).** Real time PCR assay for the identification of cutaneous *Leishmania* parasite species in Constantine region of Algeria. Acta Tropica, 102: 79-83

**Fraga J., Montalvo A. M., De Doncker S., Dujardin J. C., Van der Auwera G. (2010).** Phylogeny of *Leishmania* species based on the heat-shock protein 70 gene. Infection, Genetic and Evolution, 10: 238-245

**Fellah H., Rhajaoui M., Ouahabi S., Belghiti D., Lyagoubi M. (2007).** Occurrence of human cutaneous leishmaniasis in Zouagha My Yacoub province (Morocco). International Journal of Agriculture & Biology, 9: 197-198

**Gabre-Michael T., Balkew M., Ali A., Ludovisi A., Gramiccia M. (2004).** The isolation of *Leishmania tropica* and *L. aethiopica* from *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) species (Diptera: Psychodidae) in the Awash Valley, northeastern Ethiopia. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 98: 64-70

**Garifallou A., Schnur L. F., Stratigos J. D., Hadziandoniou M., Savigos M., Stavrianeas N., Série C. (1984).** Leishmaniasis in Greece II: Isolation and identification of the parasite causing cutaneous leishmaniasis in man. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 78: 369-375

**Ghrab J., Rhim A., Bach-Hamba D., Chahed M. K., Aoun K., Nouira S., Bouratbine A. (2006).** Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) of human leishmaniasis sites in Tunisia. *Parasite*, 13: 23-33

**Gramiccia M., Bettini S., Yasarol S. (1984).** Isoenzyme characterization of *Leishmania* isolates from human cases of cutaneous leishmaniasis in Urfa, south-east Turkey. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 78: 568

**Gramiccia M., Gradoni L. (2005).** The current status of zoonotic leishmaniasis and approach to disease control. *International Journal for Parasitology*, 35: 1169-1180

**Grevelink S. A., Lerner E. A. (1996).** Leishmaniasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 34: 257-272

**Guerin P. J., Olliaro P., Sundar S., Boelaert M., Croft S. L., Desjeux P., Wasunna M. K., Bryceson A. D. M. (2002).** Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and proposed research and development agenda. *Lancet Infectious Disease*, 2: 494-501

**Guernaoui S., Boumezzough A., Pesson B., Pichon G. (2005).** Entomological investigations in Chichaoua: An emerging epidemic focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Journal of Medical Entomology*, 42: 697-701

**Guessous-Idrissi N., Berrag B., Riyad M., Sahibi H., Bichichi M., Rhalem A. (1997a).** *Leishmania tropica*: Etiologic agent of a case of canine visceral leishmaniasis in northern Morocco. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 57: 172-173

**Guessous-Idrissi N., Chibeb S., Hamdani A., Riyad M., Bichichi M., Hamadani S., Krimech A. (1997b).** Cutaneous leishmaniasis: an emerging epidemic focus of *Leishmania tropica* in northern Morocco. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91: 660-663

**Guilvard E., Rioux J. A., Gallego M., Pratlong F., Mahjour J., Martinez-Ortega E., Dereure J., Saddiki A., Martini A. (1991).** *Leishmania tropica* au Maroc III – rôle vecteur de *Phlebotomus sergenti*. Annales Parasitologie Humaine et Comparée., 66: 96-99

**Hailu A., Di Muccio T., Abebe T., Hunegnaw M., Kager P. A., Gramiccia M. (2005).** Isolation of *Leishmania tropica* from an Ethiopian cutaneous leishmaniasis patient. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100: 53-58

**Hajjaran H., Mohebbi M., Zarei Z., Edrissian GhH (2007).** *Leishmania tropica*: Another etiological agent of canine visceral leishmaniasis in Iran. Iranian Journal Public Health, 36: 85-88

**Haouas N., Chargui N., Chaker E., Said M. B., Babba H., Belhadj S., Kallel K., Pratlong F., Dedet J. P., Mezhoud H., Azaiez R. (2005).** Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Tunisia: Presence of *Leishmania killicki* outside its original focus of Tataouine. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 99: 499-501

**Harrat Z., Boubidi S. C., Pratlong F., Benikhlef R., Selt B., Dedet J. P., Ravel C., Belkaid M. (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: 716-720

**Hertwald B. L. (1999).** Leishmaniasis. Lancet Infectious Disease, 354: 1191-1199

**Jacobson R. L., Eisenberger C. L., Svobodová M., Beneth G., Sztern J., Carvalho J., Nasereddin A., El Fari M., Shalom U., Volf P., Votýpka J., Dedet J. P., Pratlong F., Schonian G., Schnur R. F., Jaffe C. L., Warburg A. (2003).** Outbreak of cutaneous leishmaniasis in northern Israel. The Journal of Infectious Disease, 188: 1065-1073

**Kallel K., Pratlong F., Belhadj S., Cherif F., Hammami M., Dedet J. P., Chaker E. (2005).** Cutaneous leishmaniasis in Tunisia: result of the iso-enzymatic characterization of 71 strains. Annals of Tropical Medicine and Parasitology, 99: 11-19



**Kamhawi S., Abdel-Hafez S. K., Arbaji A. (1995).** A new focus of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* in northern Jordan. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 89: 255-257

**Kamhawi S., Modi G. B., Pimenta P. F. P., Rowton E., Sacks D. L. (2000).** The vectorial competence of *Phlebotomus sergenti* is specific for *Leishmania tropica* and is controlled by species-specific, lipophosphoglycan-mediated midgut attachment. Parasitology, 121: 25-33

**Kamhawi S. (2006).** Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? Trends in Parasitology, 22: 439-445

**Khatri M. L., Haider N., Di Muccio T., Gramiccia M. (2006).** Cutaneous leishmaniasis in Yemen: clinicoepidemiologic features and preliminary report on species identification. International Journal of Dermatology, 45: 40-45

**Killick-Kendrick R. (1999).** The biology and control of Phlebotomine sand flies. Clinics in Dermatology, 17: 279-289

**Klaus S., Axelrod O., Jonas F., Frankenburg S. (1994).** Changing patterns of cutaneous leishmaniasis in Israel and neighbouring territories. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 88: 649-650

**Klaus S., Frankenburg S. (1999).** Cutaneous leishmaniasis in the Middle East. Clinics in Dermatology, 17: 137-141

**Lainson, R. and Shaw, J. J. (1987).** Evolution, classification and geographical distribution. In: The Leishmaniasis in Biology and Medicine, ed: Peters W. and Killick-Kendrick R., Academic Press, London, p. 1-120

**Lawyer P. G., Mebrahtu Y. B., Ngumbi P. N., Mwanyumba P., Mbugua J., Kiilu G., Kipkoech D., Nzovu J., Anjili C. O. (1991).** *Phlebotomus guggisbergi* (Diptera: Psychodidae), a vector of *Leishmania tropica* in Kenya. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 44: 290-298

**Lemrani M., Nejjar R., Pratlong F. (2002).** A new *Leishmania tropica* zymodeme – causative agent of canine visceral leishmaniasis in northern Morocco. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 96: 637-638

**Lewis D. J. (1982).** A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). *Bulletin of the British Museum (Natural History)*, 45: 121-209

**Lewis D. J., Ward R. D. (1987).** Transmission and vectors. In: *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*, ed: Peters W. and Killick-Kendrick R., Academic Press, London, p. 235-261

**Magill A. J., Grogl M., Gasser R. A., Sun W., Oster C. N. (1993).** Visceral infection caused by *Leishmania tropica* in veterans of Operation desert storm. *The New England Journal of Medicine*, 328: 1383-1387

**Mahmoudzadeh-Niknam H., Kiaei S. S., Irvani D. (2006).** *Leishmania tropica* infection, in comparison to *Leishmania major*, induces lower delayed type hypersensitivity in BALB/c mice. *Korean Journal of Parasitology*, 45: 103-109

**Mansour N. S., Fryauff D. J., Modi G. B., Mikhail E. M. Youssef F. G. (1991).** Isolation and characterization of *Leishmania major* from *Phlebotomus papatasi* and military personnel in North Sinai, Egypt. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85: 590-591

**Marty P., Le Fichoux Y., Pratlong F., Rioux J. A., Rostain G., Lacour J. P. (1989).** Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a young Moroccan child observed in Nice, France. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83: 510

**Massamba N. N., Mutinga M. J., Kamau C. C. (1998).** Characterization of *Leishmania* isolates from Laikipia District, Kenya. *Acta Tropica*, 71: 293-303

**Mihoubi I., Picot S., Hafirassou N., de Monbrison F. (2008).** Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* in Algeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102: 1157-1159

**Mohebbali M., Hajjarian H., Hamzavi Y., Mobedi I., Arshi S., Zarei Z., Akhoundi B., Naeini K. M., Avizeh R., Fakhar M. (2005).** Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Veterinary Parasitology*, 129: 243-251

**Morsy T. A., al Dakhil M. A., el Bahrawy A. F. (1997).** Natural *Leishmania* infection in rock hyrax, *Procavia capensis* (Pallas, 1766) order: *Hyracoidea*, trapped in Najran, Saudi Arabia. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 27: 75-81

**Mouhalem T., Fendri A. H., Harrat Z., Benmezad A., Aissaoui K., Ahraou S., Addadi K. (1998).** Contribution à l'étude des phlébotomes de Constantine: espèces capturées dans un appartement urbain. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 91: 344-345

**Nawaratna S. S. K., Weilgama D. J., Rajapaksha K. (2009).** Cutaneous leishmaniasis in Sri Lanka: a study of possible animal reservoirs. *International Journal of Infectious Diseases*, 13: 513-515

**Nimri L., Soubani R., Gramiccia M. (2002).** *Leishmania* species and zymodemes isolated from endemic areas of cutaneous leishmaniasis in Jordan. *Kinetoplastid Biology and Disease*, 1: 1-9

**Noyes H. A., Camps A. P., Chance M. L. (1996).** *Leishmania herreri* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae) is more closely related to *Endotrypanum* (Kinetoplastida; Trypanosomatidae) than to *Leishmania*. *Molecular and Biochemical Biology*, 80: 119-123

**Oshagi M. A., Rasolian M., Shirzadi M. R., Mohtarami F., Doosti S. (2010).** First report on isolation of *Leishmania tropica* from sandflies of a classical urban cutaneous leishmaniasis focus in southern Iran. *Experimental Parasitology*, Article in press.

**Parvizi P., Mazloumi-Gavani A. S., Davies C. R., Courtenay O., Ready P. D. (2008).** Two *Leishmania* species circulating in the Kaleybar focus of infantile visceral leishmaniasis, northwest Iran: implication for deltamethrin dog collar intervention. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102: 891-897

**Pratlong F., Rioux J. A., Dereure J., Mahjour J., Gallego M., Guilvard E., Lanotte G., Perieres J., Martini A., Saddiki A. (1991).** *Leishmania tropica* au Maroc IV – diversité isozymique intrafocale. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 66: 100-104

**Pratlong F., Bastien P., Perrelo R., Lami P. (1995).** Human cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania donovani sensu stricto* in Yemen. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 89: 398-399

**Pratlong F., Dereure J., Ravel C., Lami P., Balard Y., Serres G., Lanotte G., Rioux J. A., Dedet J. P. (2009).** Geographical distribution and epidemiological features of Old World cutaneous leishmaniasis foci, based on the isoenzyme analysis of 1048 strains. *Tropical Medicine and International Health*, 14: 1071-1085

**Ramaoui K., Guernaoui S., Boumezzough A. (2008).** Entomological and epidemiological study of new focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Parasitology Research*, 103: 859-863

**Reithinger R., Dujardin J. C., Louriz H., Primez C., Alexander B., Brooker S. (2007).** Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infectious Disease*, 7: 581-596

**Rhajaoui M., Fellah H., Pratlong F., Dedet J. P., Lyagoubi M. (2004).** Leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a new Moroccan focus. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98: 299-301

**Rhajaoui M., Nasereddin A., Fellah H., Azmi K., Amarir F., Al-Jawabreh A., Ereqat S., Planer J., Abdeen Z. (2007).** New clinico-epidemiologic profile of cutaneous leishmaniasis, Morocco. *Emerging Infectious Disease*, 13: 1358-1360

**Rioux J. A., Lanotte G., Petter F., Dereure J., Akalay O., Pratlong F., Velez I. D., Fikri N. B., Maazoun R., Denial M., Jarry M. D., Zahaf A., Ashford R. W., Cadi-Soussi M., Killick-Kendrick R., Ben Mansour N., Moreno G., Perieres J., Guilvard E., Zribi M., Kennou M. F., Rispaill P., Knechtli R., Serres E. (1986).** Les leishmanioses cutanée du bassin Méditerranéen occidental. De l'identification enzymatique à l'analyse éco-épidémiologique. Exemple de trois „foyers“ tunisien, marocain et français, in: *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. Applications éco-épidémiologique. Ed.: Rioux J. A.. IMEE, Montpellier, 365-395 citováno dle **Bounamous a kol., 2008**

**Rioux J. A., Lanotte G., Pratlong F. (1986).** *Leishmania killicki* n. sp. (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), in: *Leishmania*, taxonomie et phylogénèse. Applications éco-épidémiologique. Ed.: Rioux J. A.. IMEE, Montpellier, 139-142 citováno dle **Aoun a kol., 2006**

**Rioux J. A., Lannote G., Serres E., Pratlong F., Bastien P., Perieres J. (1990).** Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestion for new classification. Annales Parasitologie Humaine et Comparée., 65: 111-125

**Rioux J. A., Lanotte G. (1993).** Apport de la cladistique á l'analyse du genre *Leishmania* Ross, 1903 (Kinetoplastida-Trypanosomatidae). Corollaires éco-épidémiologiques, 8: 79-90 citováno dle **Aoun a kol., 2006**

**Rioux J. A., Akalay O., Périères J., Dereure J., Mahjour J., Le Houérou H. N., Léger N., Desjeux P., Gallego M., Saddiki A., Barkia A., Nachi H. (1997).** L'évaluation écoépidémiologique du risque leishmanien au Sahara atlantique marocain. Intérêt heuristique de la relation Phlébotomes – bioclimats. In: Ecologia Mediterranea, ed: Medail F., Roche P., Tatoni T., Magnin F., Tome, Marseille, p. 73-92

**Rohoušová I., Volf P. (2006).** Sand fly saliva: effects on host immune response and *Leishmania* transmission. Folia Parasitologica, 53: 161-171

**Rose K., Curtis J., Baldwin T., Mathis A., Kumar B., Sakthianandeswaren A., Spurck T., Low Choy J., Handman E. (2004).** Cutaneous leishmaniasis in red kangaroos: isolation and characterisation of the causative organisms. *International Journal for Parasitology*, 34: 655-664

**Sádlová J. (1999).** The life history of *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). *Acta Societas Zoologicae Bohemicae*, 63: 331-366

**Sádlová J., Hajmová M., Volf P. (2003).** *Phlebotomus (Adlerius) halapensis* vector competence for *Leishmania major* and *Le. tropica*. *Medical and Veterinary Entomology*, 17: 1-7

**Saliba E. K., Oumeish O. Y. (1999).** Reservoir hosts of cutaneous leishmaniasis. *Clinics in Dermatology*, 17: 275-277

**Sang D. K., Pratlong F., Ashford R. W. (1992a).** The identity of *Leishmania tropica* in Kenya. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86: 621-622

**Sang D. K., Njeru W. K., Ashford R. W. (1992b).** A possible animal reservoir for *Leishmania tropica s. l.* in Kenya. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 86: 311-312

**Sang D. K., Njeru W. K., Ashford R. W. (1994).** A zoonotic focus of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* at Utut, Rift Valley Province, Kenya. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 35-37

**Schönian G., Schnur L., El Fari M., Oscam L., Kolesnikov A. A., Sokolowska-Köhler W., Presber W. (2001).** Genetic heterogeneity in the species *Leishmania tropica* revealed by different PCR-based methods. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95: 217-224

**Schwenkenbecher J. M., Wirth T., Schnur L. F., Jaffe C. L., Schallig H., Al-Jawabreh A., Hamarshah O., Azmi K., Pratlong F., Shönian G. (2006).** Microsatellite analysis reveals genetic structure of *Leishmania tropica*. *International Journal for Parasitology*, 36: 237-246

**Sharifi I., Fekri A. R., Aflatonian M. R., Nadim A., Nikian Y., Kamesipour A. (1998).** Cutaneous leishmaniasis in primary school children in the south-eastern Iranian city of Bam, 1994-95. *Bulletin of the World Health Organization*, 76: 289-293

**Shehata M. G., Samy A. M., Doha S. A., Fahmy A. R., Kaldas R. M., Furman B. D., Villinski J. T. (2009).** First report of *Leishmania tropica* from a classical focus of *L. major* in North-Sinai, Egypt. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 213-218

**Svobodová M., Sádlová J., Chang K. P., Volf P. (2003).** Distribution and feeding preference of the sand flies *Phlebotomus sergenti* a *P. papatasi* in a cutaneous leishmaniasis focus in Sanliurfa, Turkey. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 68: 6-9

**Svobodová M., Votýpka J., Pecková J., Dvořák V., Nasereddin A., Baneth G., Sztern J., Kravchenko V., Orr A., Meir D., Schnur L. F., Volf P., Warburg A. (2006).** Distinct transmission cycles of *Leishmania tropica* in 2 adjacent foci, northern Israel. *Emerging Infectious Diseases*, 12: 1860-1868

**Svobodová M., Alten B., Zídková L., Dvořák V., Hlavačková J., Myšková J., Šeblová V., Kasap O. P., Belen A., Votýpka J., Volf P. (2009).** Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* transmitted by *Phlebotomus tobbi*. *International Journal for Parasitology*, 39: 251-256

**Thomaz-Soccol V., Lanotte G., Rioux J. A., Pratlong F., Matini-Dumas A., Serres E., (1993).** Monophyletic origin of the genus *Leishmania* Ross, 1903. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 68: 107-108

**Torres F. D. (2006).** *Leishmania infantum* versus *Leishmania chagasi*: do not forget the law of priority. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 101: 117-118

**Volf P., Hajmová M., Sádlová J., Votýpka J. (2004).** Blocked stomodeal valve of the insect vector: similar mechanism of transmission in two trypanosomatid models. *International Journal for Parasitology*, 34: 1221-1227

**Volf P., Myšková J. (2007).** Sand flies and *Leishmania*: specific versus permissive vectors. *Trends in Parasitology*, 23: 91-92

**Volf P., Hostomská J., Rohoušová I. (2008).** Molecular crosstalks in leishmania-sandfly-host relationships. *Parasite*, 15: 1-7

**WHO - Innovative and Intensified Disease Management Leishmaniasis Control Programme. World Health Organization, Geneva (2007).** Report of the consultative meeting on cutaneous leishmaniasis. 1-29

**Yurchenko V., Kolesnikov A. A., Lukeš J. (2000).** Phylogenetic analysis of Trypanosomatina (Protozoa: Kinetoplastida) based on minicircle conserved regions. *Folia Parasitologica*, 47: 1-5