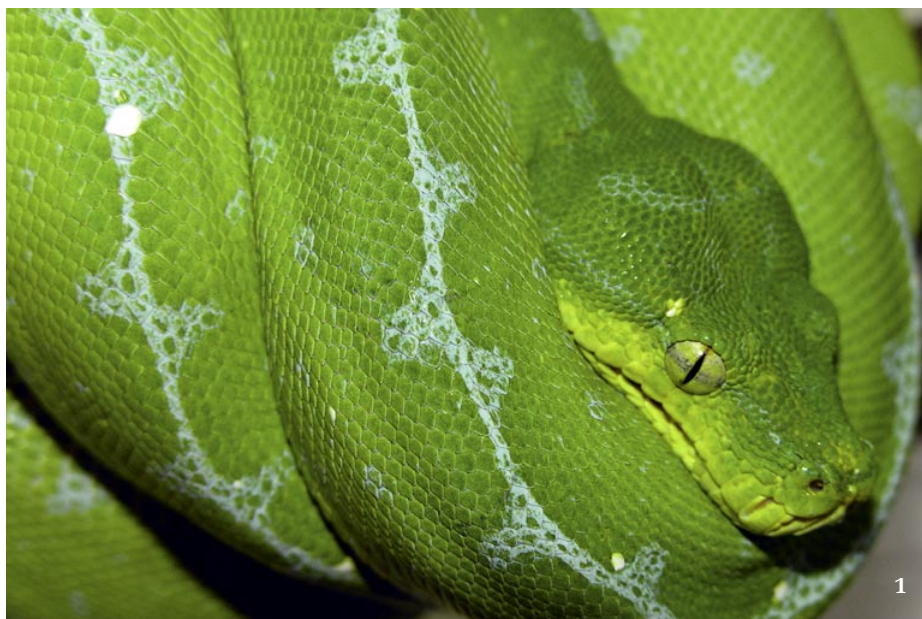


Globalizace biosféry ve forenzní praxi: využití parazitů při odhalování původu zvířat

Nezákonný obchod se zvířaty patří mezi zásadní formy environmentální kriminality s dopadem na ohrožené druhy. V případě ilegálních a diskutabilních importů zvířat řeší celníci, a případně kriminalisté, často otázku původu zadržených exemplářů. Může jít o zvířata živá, preparovaná nebo i o jejich tkáně. Odpověď na otázku, zda daný živočich pochází z volné přírody, či nikoli, je překvapivě komplikovaná, nicméně pro posouzení podstaty případu obvykle mohou pomoci. Mezi ty významné patří především izotopové analýzy, které více či méně přesně určí geografickou oblast, z níž jedinec (nebo biologický materiál) pochází, tedy kde trávil část života. Tato analýza ovšem neodpoví na otázku, zdali jde o tvora narozeného v zajetí, nebo odchyceného v přírodě. Na rozdíl od izotopových a genetických metod mohou paraziti poskytovat informaci o ekologickém kontextu života zvířete.



Zajímavým, byť doposud omezeně používaným nástrojem je využití parazitů jako forenzních indikátorů. Princip vychází z faktu, že výskyt velké většiny organismů na planetě má geografické, resp. biologické zákonitosti. U parazitů přichází navíc do hry jejich hostitelská specifita a často složité vývojové cykly. Tyto vztahy jsou obvykle výsledkem koevoluce parazitů s jejich hostitelem, přesněji evoluce interakce v rámci konkrétního trofického vztahu. Týká se to především parazitů s komplikovaným vývojovým cyklem, který vyžaduje pro úspěšný přenos více hostitelů a jejich kombinaci. Typickým příkladem může být krevní prvek přenášený mezi hostiteli konkrétním druhem přena-

šeče, např. klíštětem. Takový parazit se logicky vyskytuje pouze u jedinců, kteří byli v dosavadním životě parazitováni daným přenašečem. Případů podobné úzce vymezených vztahů existuje ve světě parazitů a jejich hostitelů tisíce, indikátorové využití s sebou však nese určité limity.

Prvním předpokladem je, aby se daný parazit nemohl šířit mezi jedinci žijícími nebo narozenými v péči člověka. Tento požadavek omezuje volbu potenciálně vhodných organismů na heteroxenní, tedy vícehostitelské parazity, kteří v umělých podmínkách zpravidla postrádají vhodné přenašeče nebo meziphostitele. Typicky jde o zástupce heteroxenních prvků ze skupin kokciidií nebo piroplazem, o tasemnice,

1 Krajská zelená (*Morelia viridis*) patří stále k nejčastěji obchodovaným plazům s ilegálním původem (mezinárodní obchod je u ní regulovaný konvencí CITES). V podstatě všechna zvířata z volné přírody hostí širokou škálu parazitů, kteří se v zajetí nemohou vyskytovat.

2 Tropická pijavka z povrchu těla želvy rodu *Malayemys* zachycená těsně po ilegálním importu

3 Vývojové stadium (gametocyt) prvoka *Hemolivia mauritanica* v červené krvince želvy vroubené (*Testudo marginata*) je v podstatě doživotním indikátorem, že dotyčná želva pochází z volné přírody.

4 Plerocerkoid tasemnice v podkoží asijské bičovky stromové (*Ahaetulla prasina*) je neklamnou známkou, že had byl odchycen v tropickém ekosystému.

5 Hadovitě zatočená nenápadná zdurenina na boku chameleona pardálího (*Furcifer pardalis*) svědčí o přítomnosti filárií. Jejich přenašečem jsou tropičtí komáři. Foto P. Nečas

6 Želvy hostí v erytrocytech výše uvedené prvoky rodu *Hemolivia*, kteří u nich zůstávají i po mnoha letech chovu. Jejich nález spolehlivě indikuje přírodní původ vyšetřovaného jedince, protože jsou přenášeni klíšťaty *Hyalomma aegyptium*, a mláďata z odchovu tak nakažena nejsou. Želva zelenavá (*T. hermanni*) ve volné přírodě Bulharska u Melniku. Foto V. Vrabec

motolice a vrtejše; z parazitických hlístic pak např. filárie. Mezi zevními parazity využitelnými ve forenzní parazitologii mají významnou pozici klíšata a pijavice (obr. 2).

Limity forenzního využití

Jakkoli široké by se spektrum potenciálně zajímavých organismů mohlo zdát, forenzní využití pro sledování původu zvířat má řadu principiálních i praktických limitů.

- Parazit by neměl být přenosný běžným kontaktem, globálně rozšířenými vektory nebo meziphostiteli, a neměl by být přenosný ani z matky na potomstvo.

- Parazit musí být dlouhodobě přítomný, nejlépe po zásadní část života hostitele.

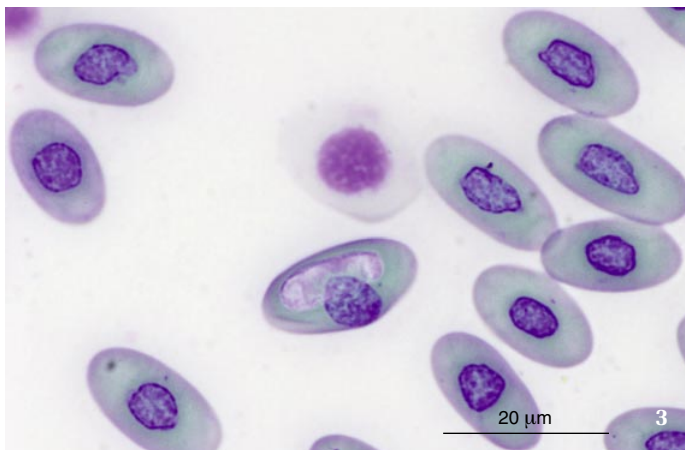
- Při sledování původu živých zvířat ve forenzní praxi musí být parazit detekovatelný v materiálech, které lze z hostitele získat s minimální invazivitou – typicky na povrchu těla, v podkoží, v trávicím traktu nebo trusu a v krvi. I tak samotný odběr vzorků představuje závažný technický limit a vyžaduje dodržení řady metodologických kroků.

- V ideálním případě by přítomnost parazita neměla být ovlivnitelná jednoduchými zásahy ze strany člověka, jako je např. odstranění klíšťat nebo podání anthelmintik.

Příklady parazitů využitelných ve forenzní praxi

● Krevní prvoci

Celá řada skupin krevních parazitů splňuje de facto všechny výše uvedené požadavky. Modelovým příkladem může být prvek *Hemolivia mauritanica*, vyskytující se v přírodě v erytrocytech suchozemských želv rodu *Testudo* na Balkáně a v severní Africe (obr. 3 a 6). Tento zajímavý prvek ze skupiny tzv. hemogregarin se vyznačuje



pouze minimální patogenitou pro hostitele a v krvi želv se nachází i mnoho let po jejich odchytu v přírodě. Navíc je snadno detekovatelný při vyšetření krevních vzorků, a to jak mikroskopicky, tak pomocí molekulárních metod. Jediným známým přenašečem je klíště *Hyalomma aegyptium*, typicky žijící právě na želvách. V přírodě se tento prvok vyskytuje v desítkách procent jedinců volně žijící populace želv a nález u jedinců chovaných (nebo zadržovaných celními orgány – želvy rodu *Testudo* jsou chráněny Úmluvou o mezinárodním obchodu ohroženými druhy volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin, CITES) ve střední Evropě je jednoznačnou indikací, že zvířata pocházejí z volné přírody. Analogicky je možné využít např. parazity rodu *Hepatozoon* v krvi hadů, což představuje i případ z naší vlastní praxe – u krajty královské (*Python regius*) a zmije písečné (*Cerastes vipera*).

● Dvouhostitelské kokcidie

Další velkou skupinou jednobuněčných parazitů jsou heteroxenní kokcidie rodu *Sarcocystis*. V tomto případě jde o typické parazity masožravců, kterými se daný hostitel nakazí v důsledku požití infikovaného hostitele ve volné přírodě. Vývojová stadia, sporocysty, lze detekovat mikroskopicky po několik let v trusu infikovaného plaza. Právě přítomnost těchto prvoků byla ve studii prováděné v Německu využita mimo jiné při analýze konfiskovaných krajt zelených (*Morelia viridis*, obr. 1), jejichž původ byl více než podezřelý, nicméně obchodník udával, že šlo o zvířata vylíhlá z vajec v zajetí. Přítomnost těchto



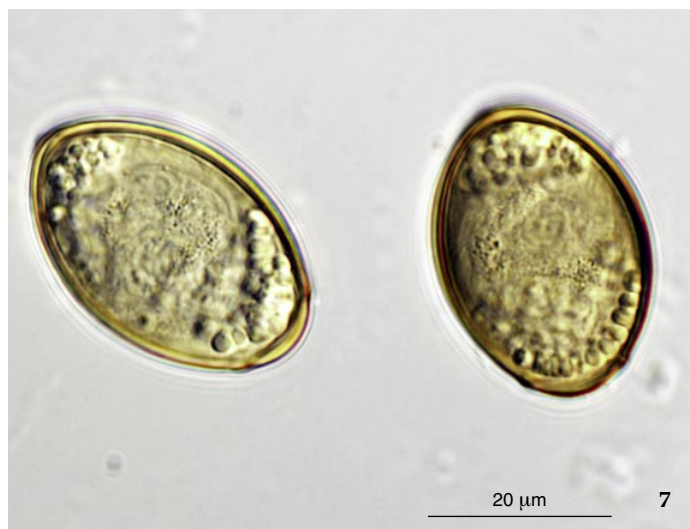
prvoků a sekvenční analýza jejich DNA jednoznačně situovaly původ hadů do širší oblasti tropické Nové Guineje.

● Podkožní a tkáňová stadia helmintů

Drobné druhy obratlovců hrají významnou roli kořisti v potravních řetězcích. Často tak slouží jako mezipřenašeči parazitů predátorů stojících výše v potravní pyramidě. Tento fakt ke svému přenosu využívá široká škála parazitů, kteří v organismu mezihostitelů vytvářejí stadia v tkáních nebo orgánech a čekají, až jejich dočasný hostitelé pozře predátor. Podobně jako výše zmíněné případy specifických přenašečů jsou i tyto vztahy evolučně vázány na konkrétní typy ekosystémů a nemohou být replikovány v umělých podmínkách. Většina takových parazitů žije skrytě v tkáních a orgánech, nedostupná pro diagnostiku.

Řada z nich ovšem přežívá v podkoží, kde vytvářejí typické změny ve formě zduření povrchu těla. Příměřeným „mikrochirurgickým“ zásahem je možné parazity vyjmout a poté dále identifikovat. Nejčastěji jde o larvální stadia vrtejšů nebo plerocerkoidy tasemnic (obr. 4). I zde platí, že nález těchto stadií má vysokou průkaznou hodnotu při posuzování původu zvířete. Do stejné skupiny pak můžeme zařadit hlístice filárie, které se vyskytují buď v podkoží, nebo v krevních cévách a jsou typické pro importované užovkovité hady. V prvním případě se dají chirurgicky vyjmout, případně detekovat jejich larvální stadia (mikrofilárie) v krvi zvířete. I tady platí, že obratlovec (např. chameleon, viz obr. 5) napadený filáriemi (např. rodu *Foleyella*) nepochází z odchovu v podmínkách





střední Evropy. Samotný nález potom podpoří analýza sekvencí vybraných DNA markerů, které pomohou k ještě přesnějšímu určení helminta.

● **Vícehostitelští helminti trávicího traktu**
Kromě výše uvedené situace, kdy obratlovec slouží jako mezipřenositel ve vývojovém cyklu vícehostitelských helmintů, je ve světě parazitů běžná situace, že daný obratlovec figuruje v roli definitivního hostitele. V takovém případě helminti často osídlují trávicí trakt a související orgány. Hostitel se nakazí požitím specifického mezipřenositele, který se většinou vyskytuje pouze v kontextu daného přírodního ekosystému. Vývojová stadia (typicky vajíčka nebo larvy) můžeme při rutinním parazitologickém vyšetření najít v trusu vyšetřovaného zvířete. Zejména v situaci, kdy je nález kombinovaný např. s výskytem krevních parazitů, je výpovědní hodnota velmi vysoká, skoro absolutní. Klasickým příkladem může být nález vajíček motolic, běžných u madagaskarských chameleonů pocházejících z volné přírody (obr. 7), spiruridní hlístice plazů (obr. 8), savců a ptáků, tasemnice u varanů a hadů nebo analogický výskyt motolic u ptáků.

● Jazyčnatky

Z vyšších endoparazitů nacházíme v importovaných plazech např. jazyčnatky, druhově pozměněné koryše blízce příbuzné kapřivcům, což lze doložit nejen srovnáním sekvencí nukleotidů, ale též morfologicky na základě obdobné a poměrně unikátní úpravy spermií. Jazyčnatky žijí v plicích větších plazů, ve vzdušných vácích ptáků a v dutinách čelních a čelistních kostí šelem, např. psovitých. K nákaze dochází obdobně jako u kokciidiózy, u mezipřenositelů kontaktem s trusem a tělesnými sekrety, u predátorů, definitivních hostitelů, pozřením infikovaného mezipřenositele (obr. 8). Poměrně snadno se dá dovodit, že v zajetí je možnost nákazy omezená a zjištěný druh parazita tak prozradí místo původu. Ve vlastní praxi jsme se setkali např. s napadením zmije gabunské (*Bitis gabonica*, obr. 9) jazyčnatkami, které vedlo až k úhynu hada. Proti jazyčnatkám neexistuje antiparazitikum, a proto dost dobře nelze importované živočichy zaléčit, je nutné chirurgické řešení. Jazyčnatky však mohou být ve výsledku rizikové i pro člověka – chovatele či konzumenta hadího masa, který do jejich cyklu vstoupí jako mezipřenositel.

7 Mikroskopická vajíčka motolice z trusu chameleona pardálího z volné přírody Madagaskaru

8 Kombinovaný nález vajíčka spiruridní hlístice (nalevo) a jazyčnatky v trusu varana smaragdového (*Varanus prasinus*). Oba tyto parazity může plaz získat jen ve volné přírodě požitím přirozené potravy. Snímky D. Modrého, pokud není uvedeno jinak

9 V importu zmijí gabunských (*Bitis gabonica*) byly zachyceny jazyčnatky patrně rodu *Armillifer*, které jsou jinak známy např. z afrických krajů. Mezipřenositelem jsou hlodavci, ale ohrožen může být i člověk konzumující maso ze zvířat ulovených v přírodě (bushmeat). Vyšetření v terénu nasvědčují, že třeba v Kongu je jazyčnatkami napadena většina hadů prodáváných k lidské spotřebě. Foto V. Vrabec

Závěrem

Výše uvedené příklady dokládají využití parazitů detekovatelných u živých zvířat. V případě uhynulých jedinců (těch bývá v hromadných zásilkách často celá řada) je spektrum detekovatelných parazitů ještě širší a zahrnuje i tkáňová stadia prvoků nebo helmintů, která u živých hostitelů

zjistit nelze. Stejně tak výskyt klíšťat nebo dalších ektoparazitů může napomoci určit původ obchodovaných kůží nebo jiných částí povrchu těla zvířat.

Využití parazitů jako indikátorů původu jejich hostitelů (někdy se používá termín bio-tag) však není dosud rozšířené a zaslouhuje ve forenzních vědách větší pozornost. Na druhou stranu je ale třeba počítat s limity. Kromě již zmíněných v tomto článku situaci ještě komplikuje fakt, že řada plazů je dnes odchovávána na farmách v původní domovině ohrožených druhů. V těchto ne zcela definovaných podmínkách je mnohem obtížnější vyloučit kontakt s mezipřenositelem nebo přenašeči. Ať tak, nebo tak, pečlivé odběry parazitologického materiálu pro další vyšetření by měly být součástí prvních opatření při zajištění podezřelých zvířat, a to nejen s ohledem na forenzní hodnotu, ale také s přihlédnutím k možným rizikům zavlečení exotických patogenů.

Projekt studia forenzního využití patogenů na České zemědělské univerzitě v Praze je podpořen grantem Ministerstva vnitra ČR (VK01010103).

