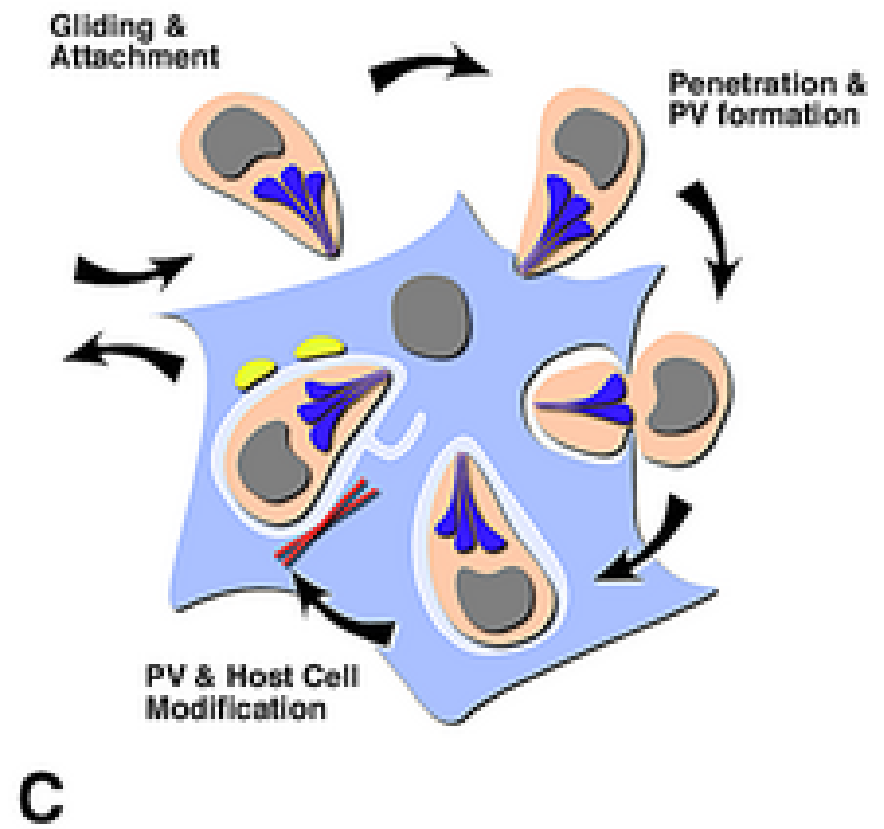
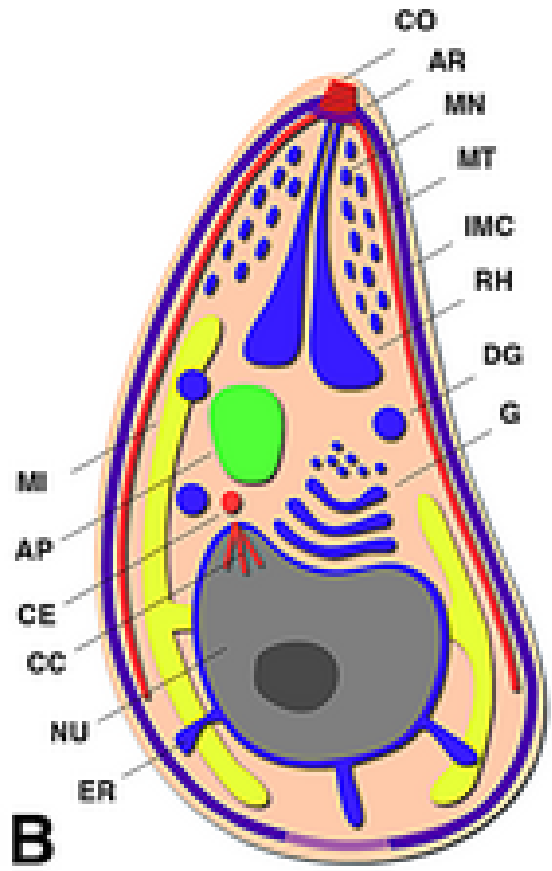
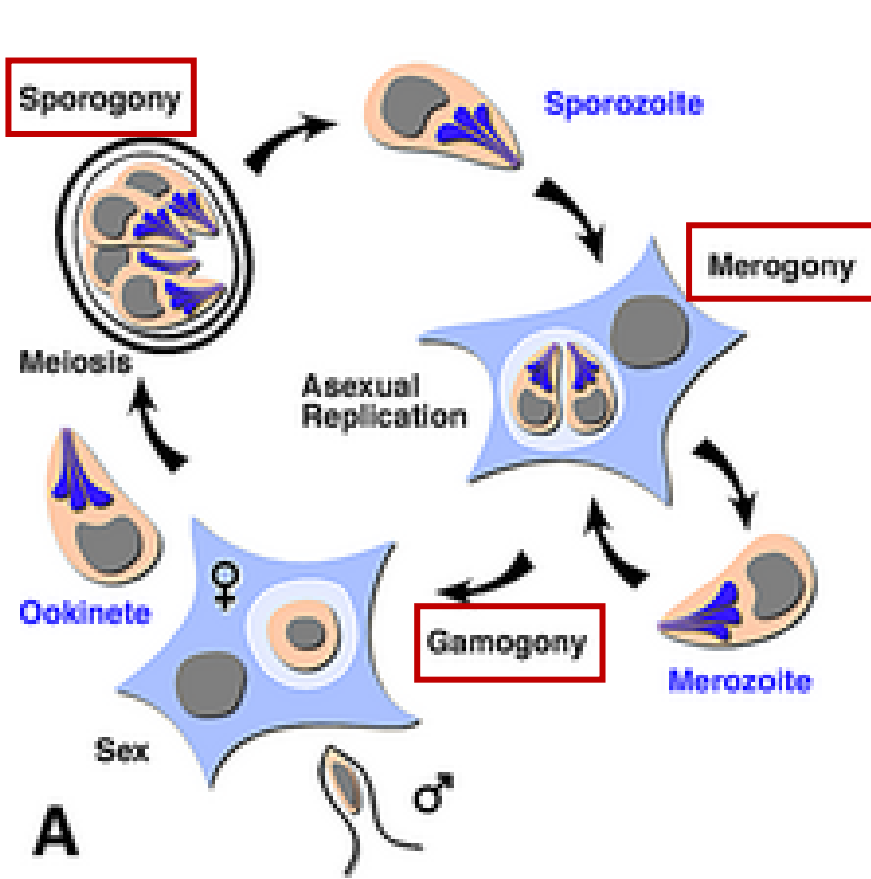


# Apicomplexa – Výtrusovci

# Apicomplexa





# Apicomplexa - Výtrusovci

- Všichni výtrusovci mají **složité životní cykly**, pro které je typické dvou- či **třífázové střídání generací** se stadiem spory. Kokcidie nejsou výjimkou.
- Infekce začíná **pozřením oocysty**, která obsahuje infekční stadia kokcidie, jednojaderné **sporozoity**. Ty se ve střevě hostitele uvolní - dojde k **excystaci**, sporozoity proniknou do **epiteliálních buněk** střevní sliznice (většinou) a začnou růst.
- **Sporozoity** se uvnitř hostitelské buňky přemění v růstové stadium, velké, **mnohoaderné meronty**, kteří dále rostou a mohou se **nepohlavně** rozmnožovat v procesu zvaném **merogonie** - vznikají tak **merozoity**, které napadají další buňky. V poslední generaci nepohlavního rozmnožování se vyvíjejí **gamonty**, které jsou pohlavně rozlišené.

# Apicomplexa – rody napadající člověka

**Table 11.1 Apicomplexan genera infecting humans**

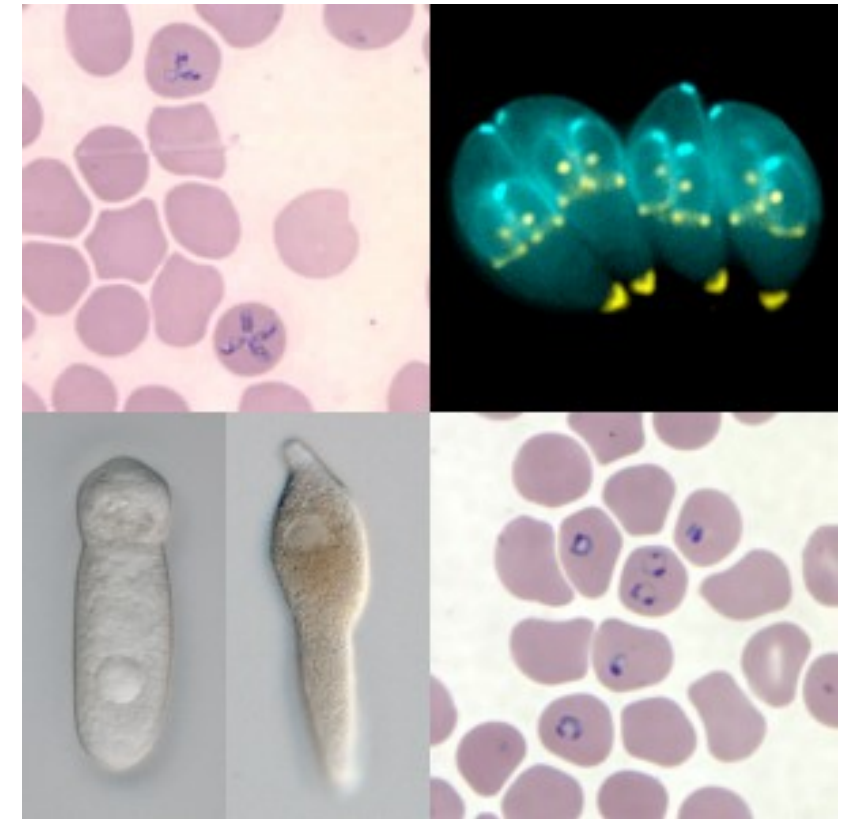
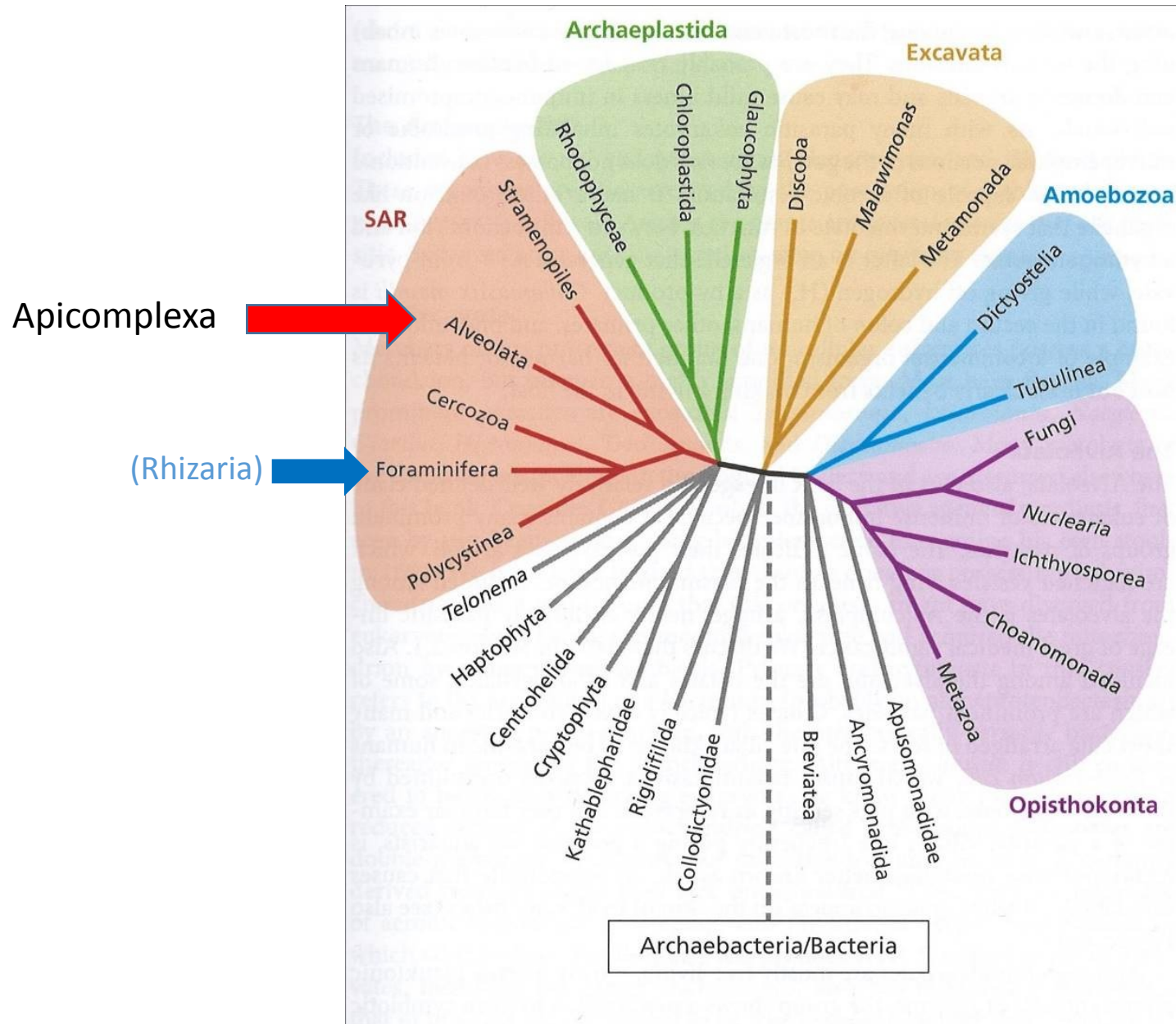
Genera	Transmission	Disease or comment
<i>Plasmodium</i>	Mosquito	Malaria
<i>Cryptosporidium</i>	Fecal–oral	Watery diarrhea
<i>Isospora</i>	Soil	Watery diarrhea
<i>Cyclospora</i>	Soil	Watery diarrhea
<i>Toxoplasma</i>	Felines are definitive host	Neurological manifestations
<i>Sarcocystis</i>	Predator–prey	Extremely rare infection
<i>Babesia</i>	Tick	Rare zoonotic disease

# Apicomplexa – obecná charakteristika

- Extrémně **velká a rozmanitá skupina** (více než 5000 druhů)
- Některé rody **napadají člověka** (viz tabulka)
- **Monofyletická skupina** – především paraziti
- Společně s Ciliata a Dinoflagellata tvoří vyšší skupinu **Alveolata**
- **Intracelulární paraziti** (parazitoformní vakuola)
- **Apikální komplex** – rhoptrie, polar ring, mikromeny, conoid
- Životní cyklus – **sporogonie, merogonie, gametogonie**

# Strom života:

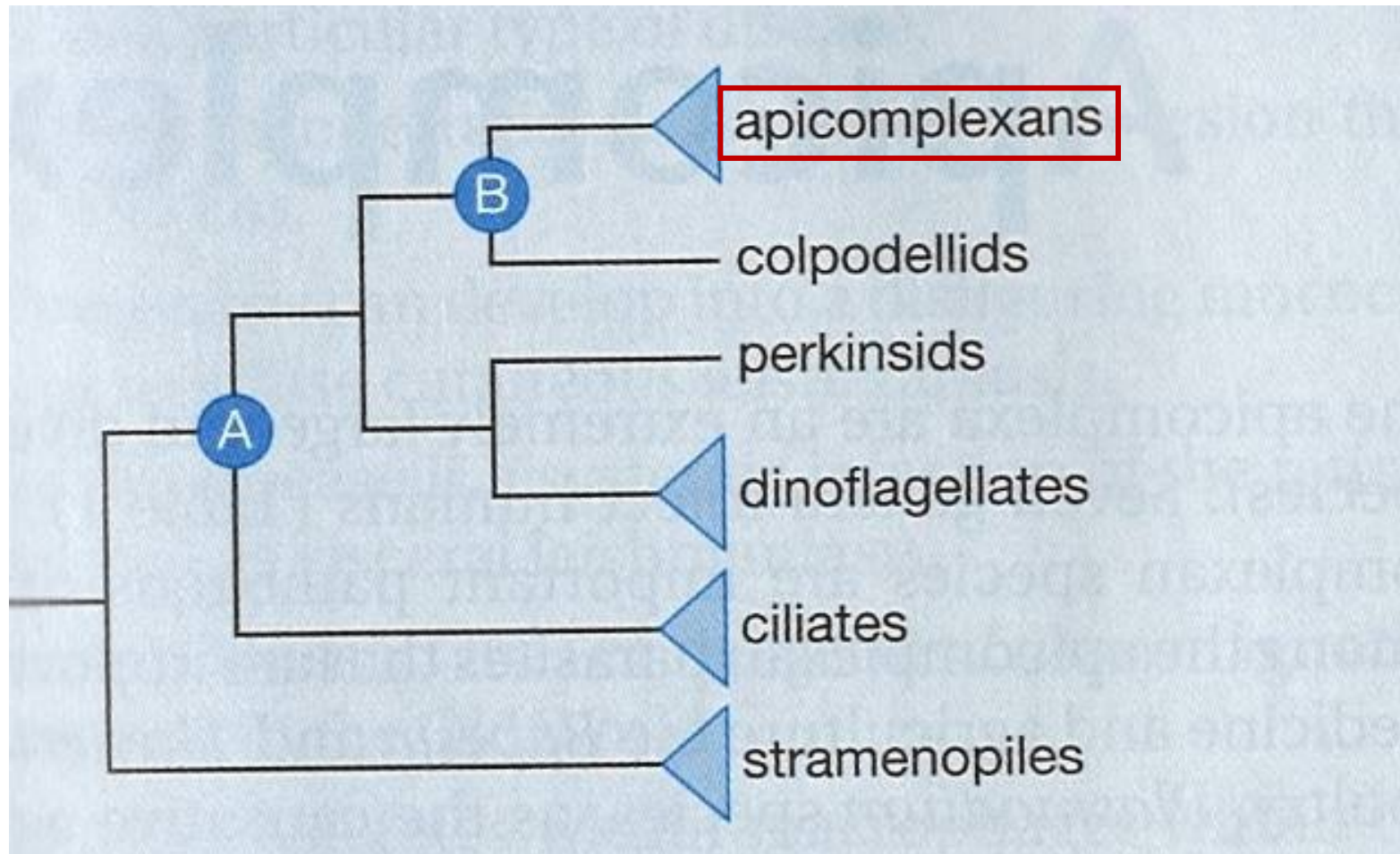
## Vztahy mezi hlavními skupinami Eukaryota



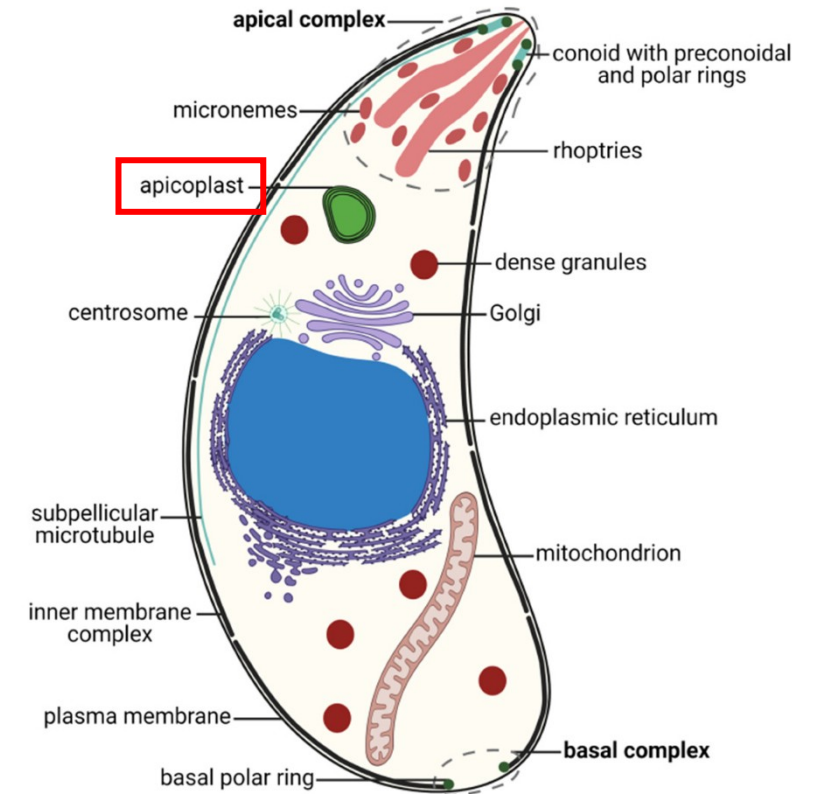
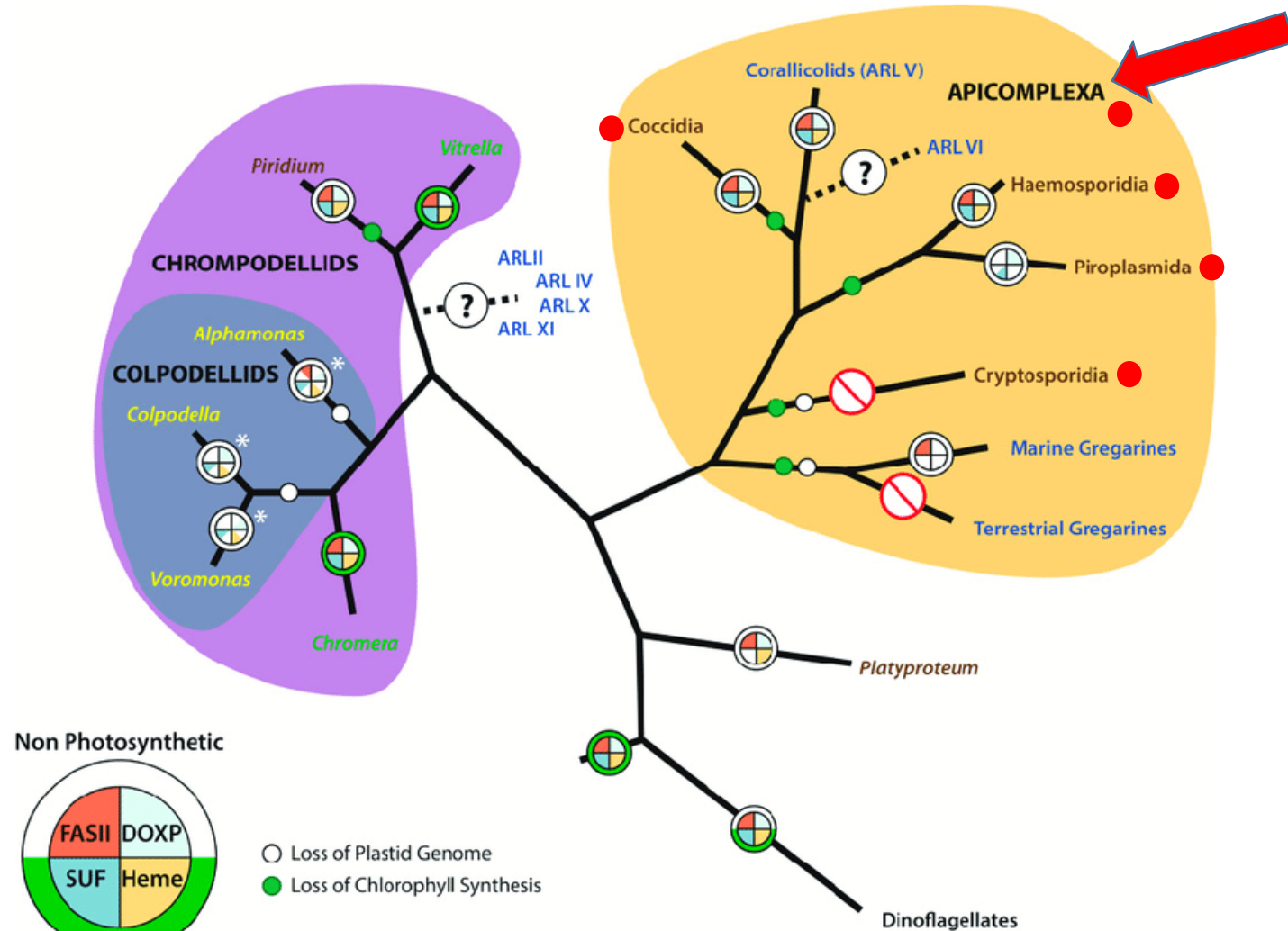
**SAR** nebo **Harosa** je velmi rozmanitý klad eukaryot, často považovaný za nadskupinu, která zahrnuje **Stramenopily** (heterokonty), **Alveoláty** a **Rhizariány**.



# Kladogram - vztahy mezi Apicomplexa a Alveolata

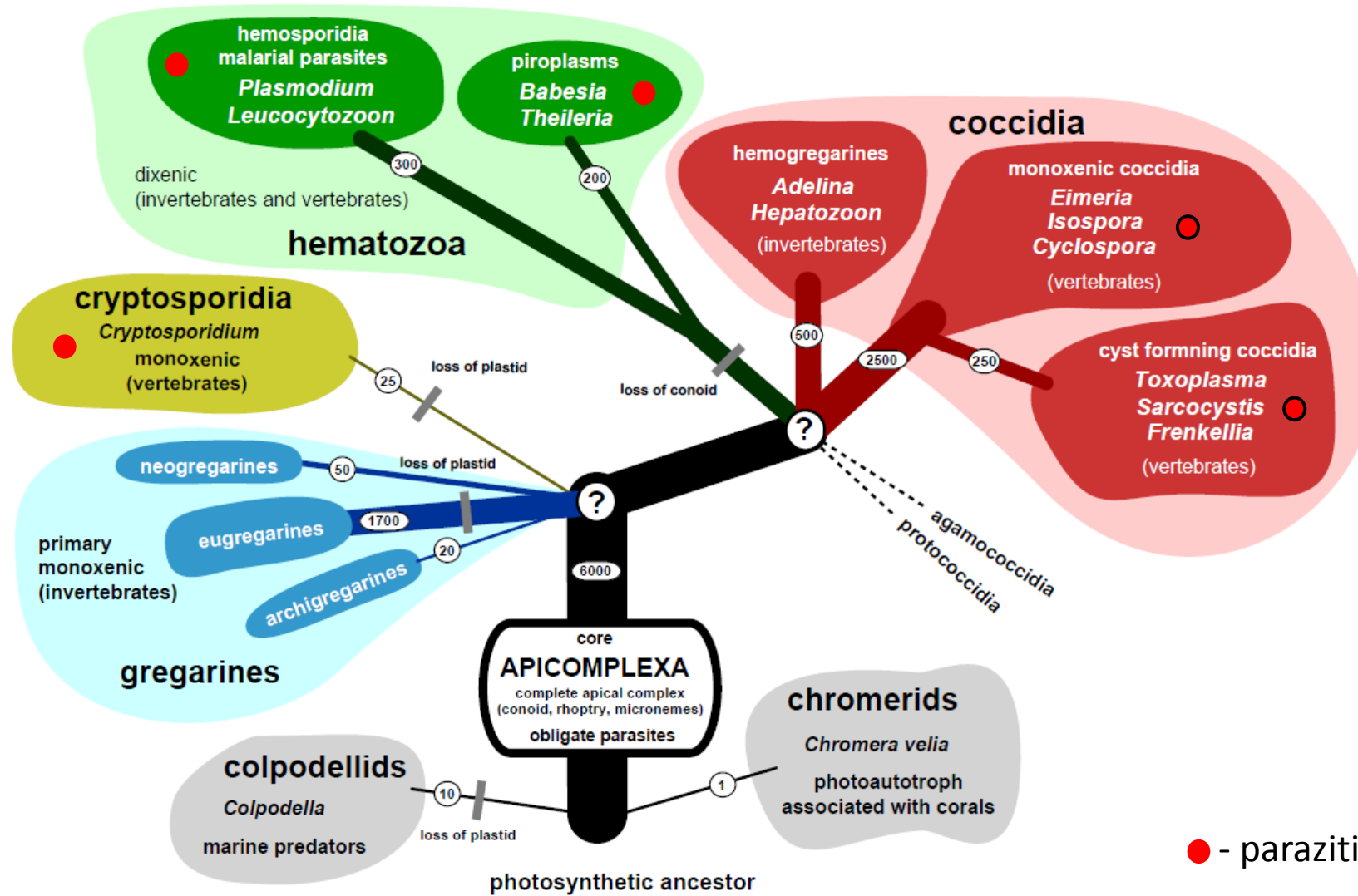


# Evoluce Apicomplexa



● - Paraziti člověka

# Fylogeneze Apicomplexa



● - paraziti člověka

# Alveolata

Kmen: **Sporozoa (Apicomplexa)**

Jednobuněční vyznačující se **apikálním komplexem**:  
**polární kruh, rhoptrie, mikronemy a conoid**, v životním  
cyklu se vyskytují **sexuální procesy**, všichni parazitují  
řády:

Eimeriida:

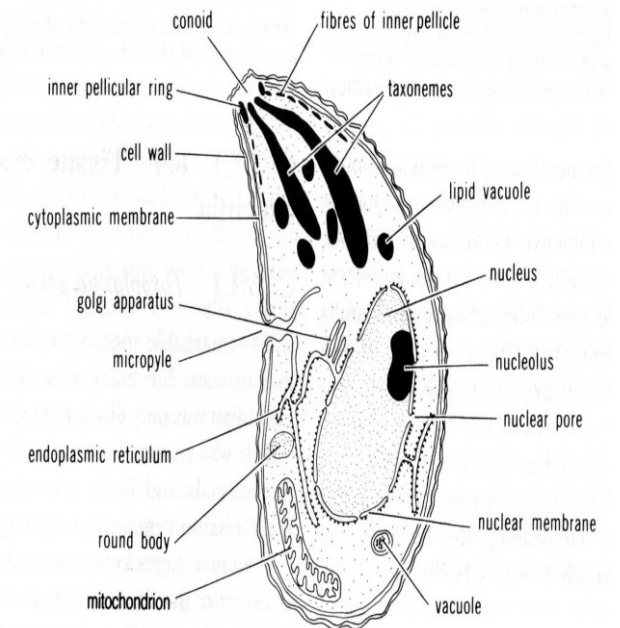
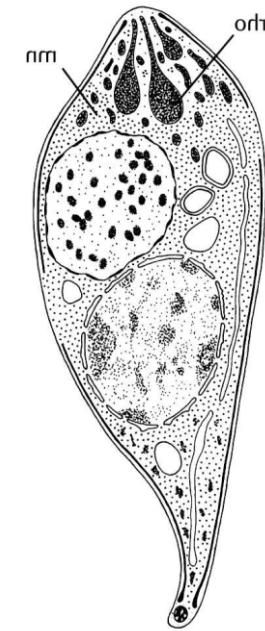
***Cryptosporidium parvum*, *Toxoplasma gondii*, *Cyclospora cayetanensis*,  
*Isospora belli*, *Sarcocystis hominis*,  
*S. suis*.**

Piroplasmida:

***Babesia microti*,  
*B. divergens*, *B. gibsoni***

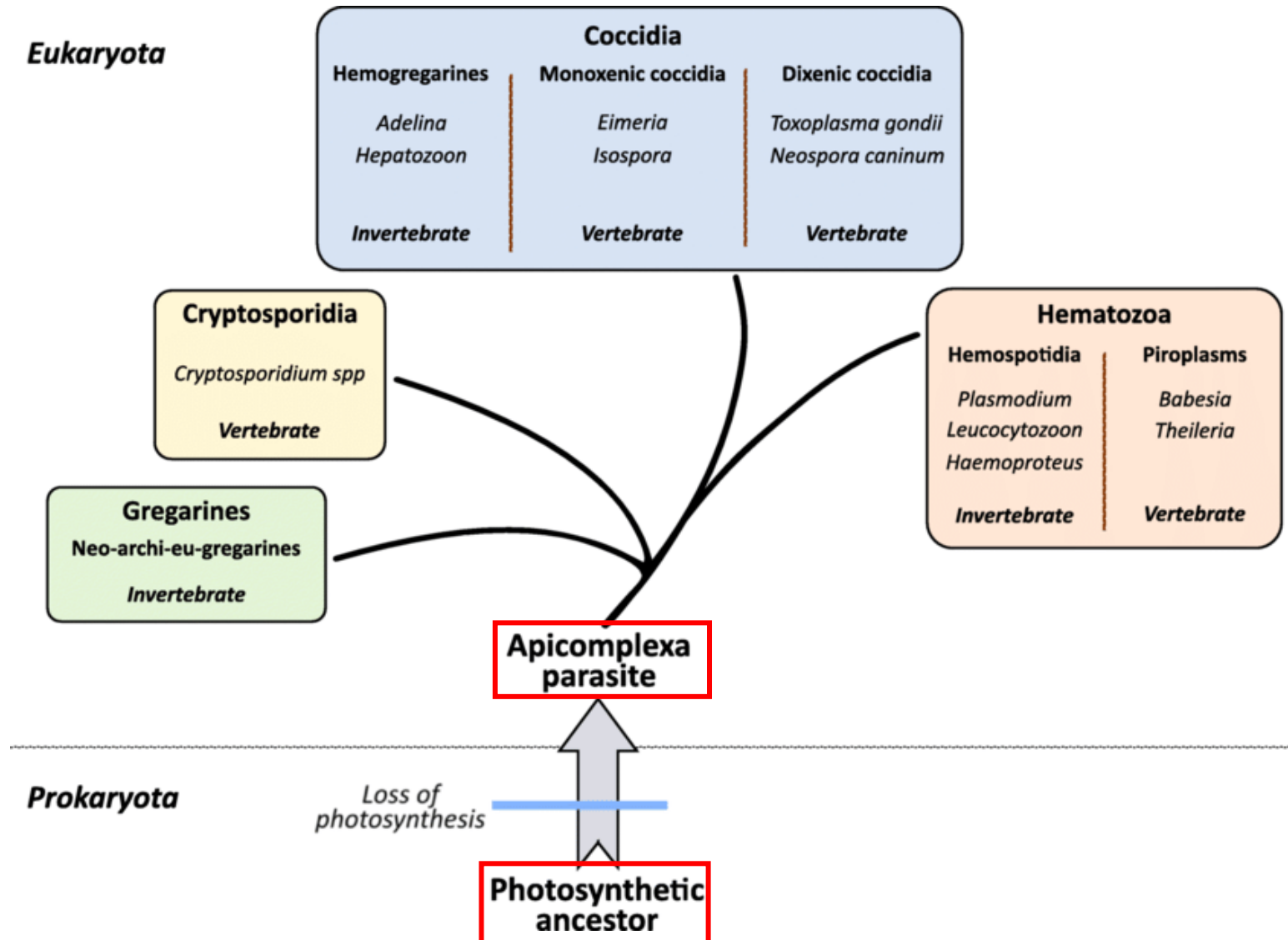
Haemosporida:

***Plasmodium falciparum*,  
*P. malariae*, *P. ovale*,  
*P. vivax***

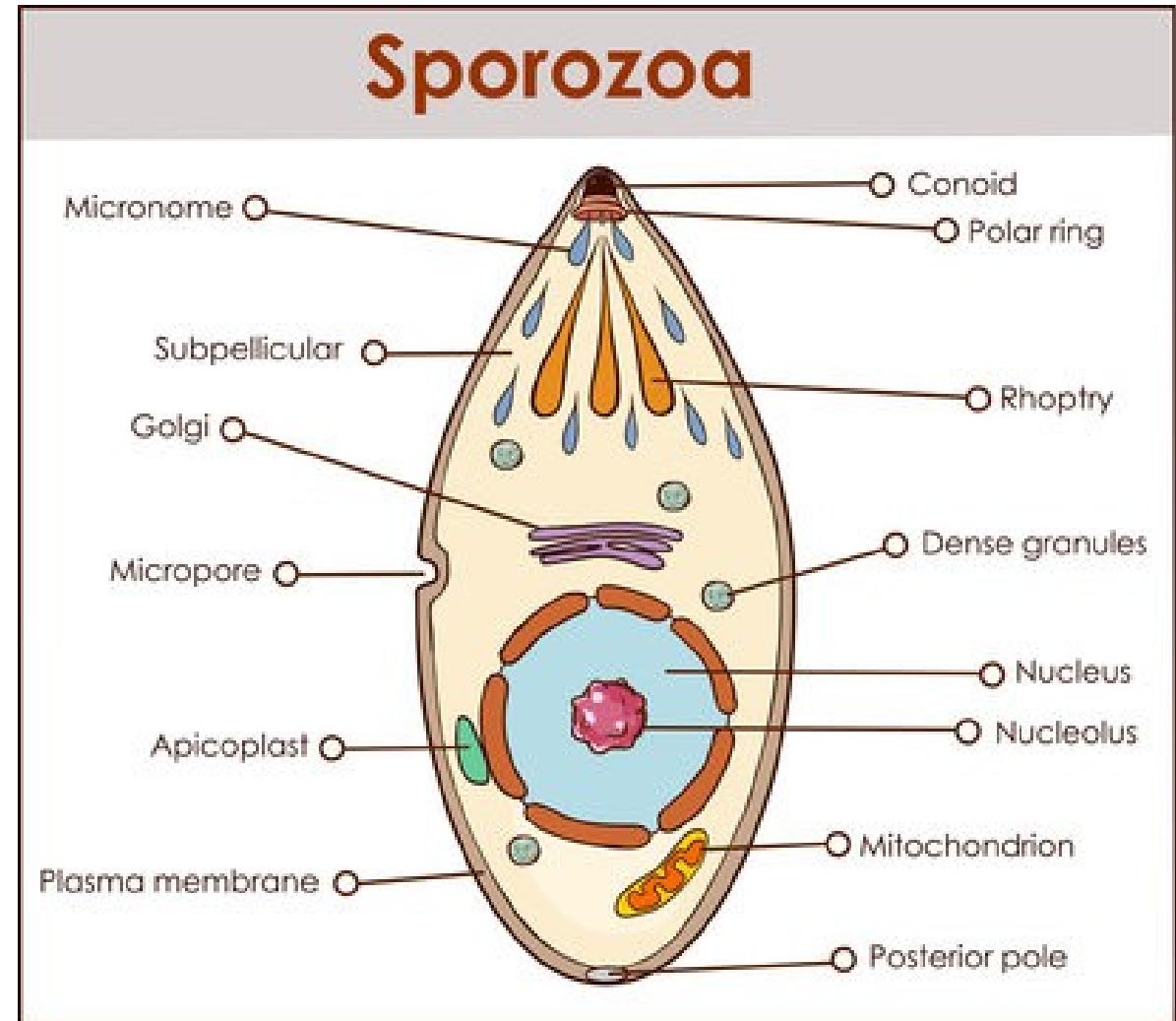
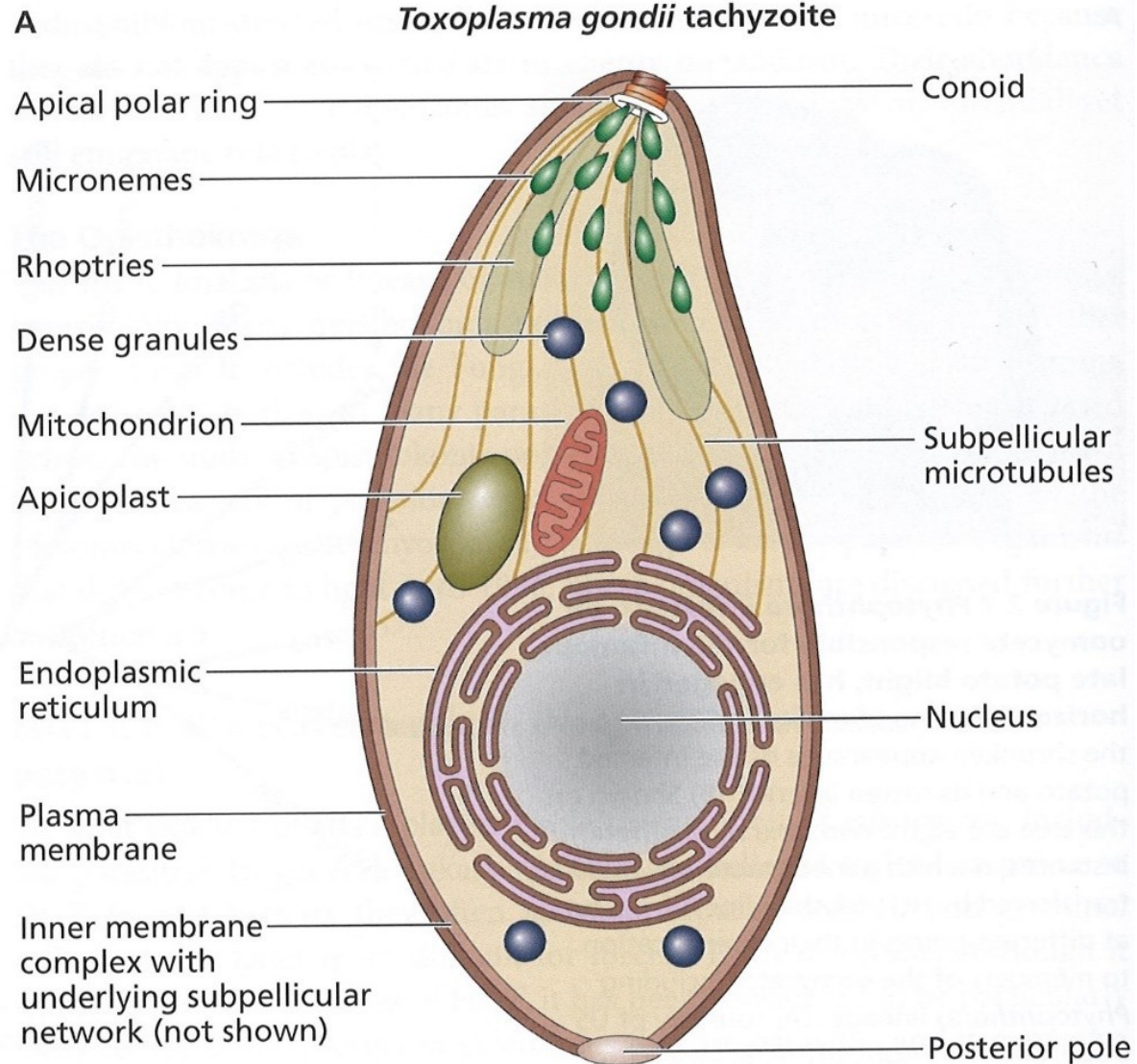




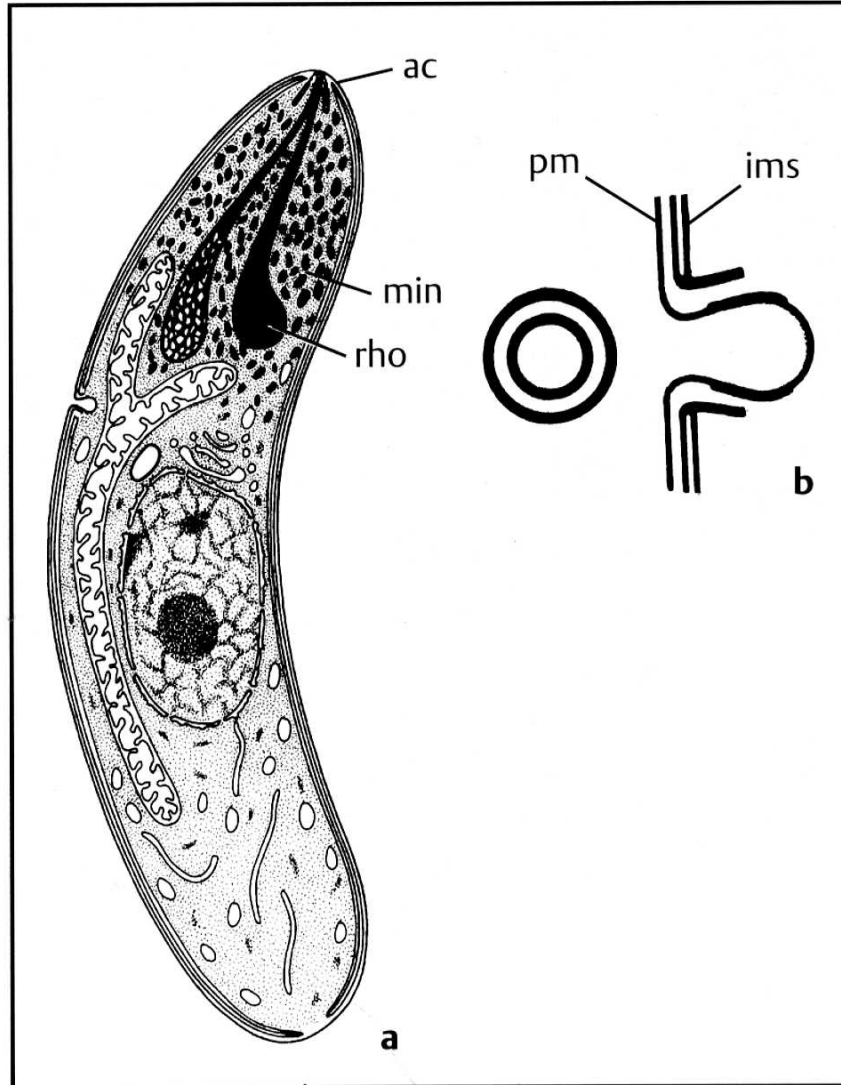
# Apicomplexa – veliká rozmanitost zástupců



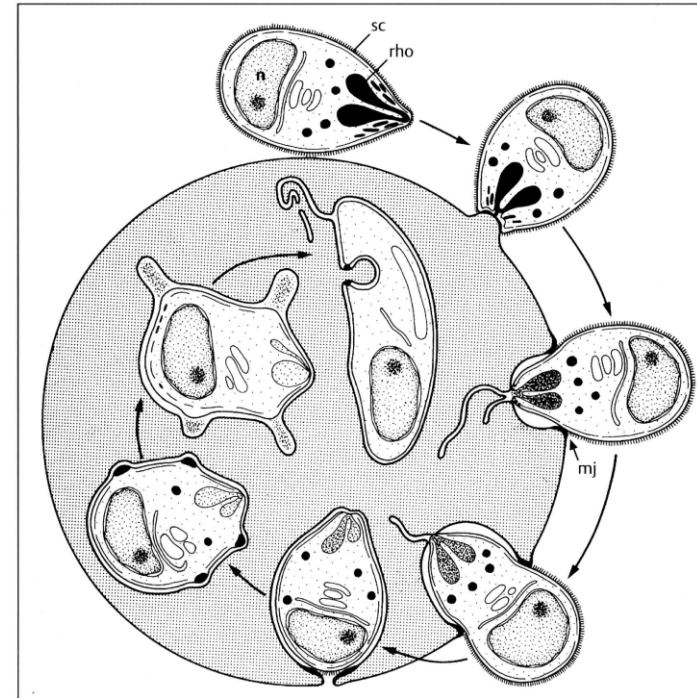
# Apicomplexa - morfologie



# Sporozoit – průnik do buňky



Obr. 84 Apicomplexa: **a** sporozoit. ac = apikální komplex, min = mikronemy, rho = roptrie. **b** mikropór v příčném (vlevo) a podélném průřezu (vpravo). pm = plazmatická membrána, ims = systém vnitřních membrán (alveoly) (převzato z Scholtysecka a Mehlhorna).



Obr. 94 Haematozoa: Haemosporida, schematické znázornění změn v merozoitu *Plasmodium knowlesi* při průniku do hostitelské buňky. mj = pohyblivý buněčný spoj posouvající se zpět po invadujícím sporozoitu; n = jádro, rho = roptrie v různých stadiích vyprazdňování, sc = buněčný povlak (převzato z Bannistera).

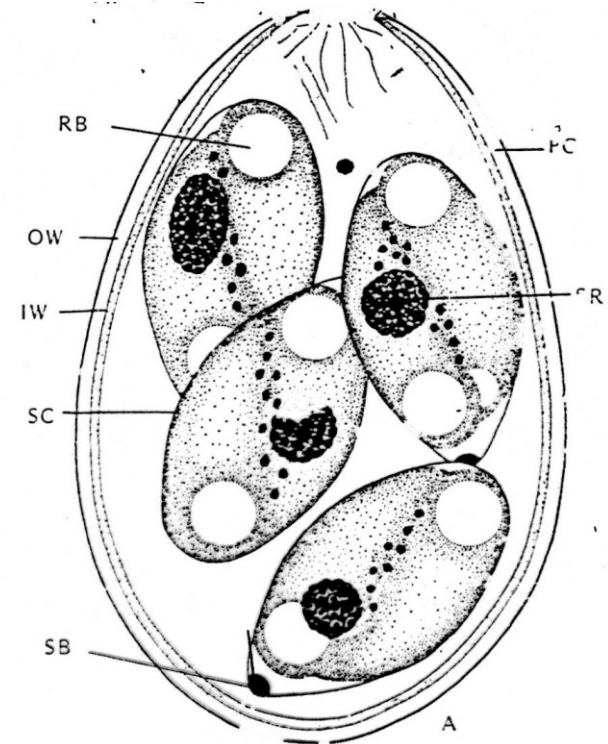
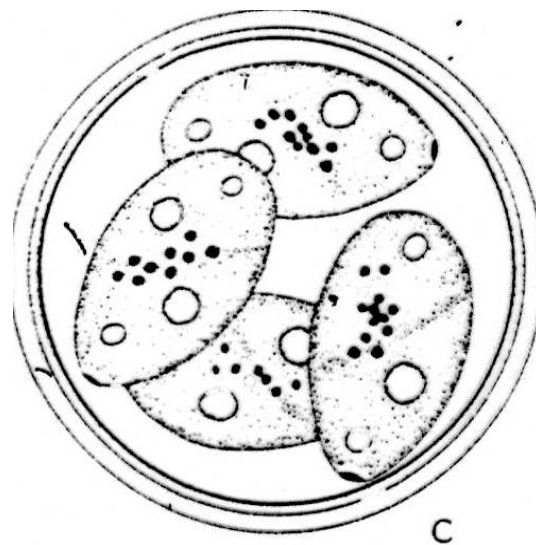
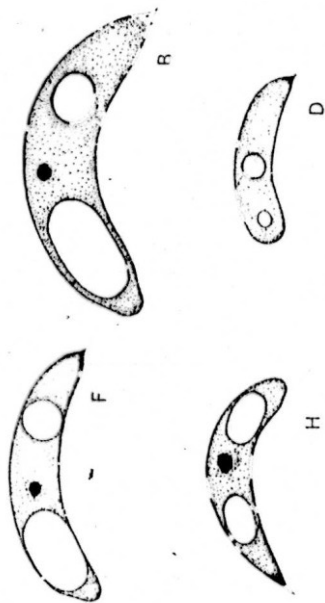
# Infekční stádia – cysty - oocysty

Infekční stádia většiny prvoků jsou chráněna cystou.

**Sporozoiti** = infekční stádia v cystě = **excystace** = trofont (trofozoit)

**Oocysta** = mnohonásobné dělení = **sporogonie**

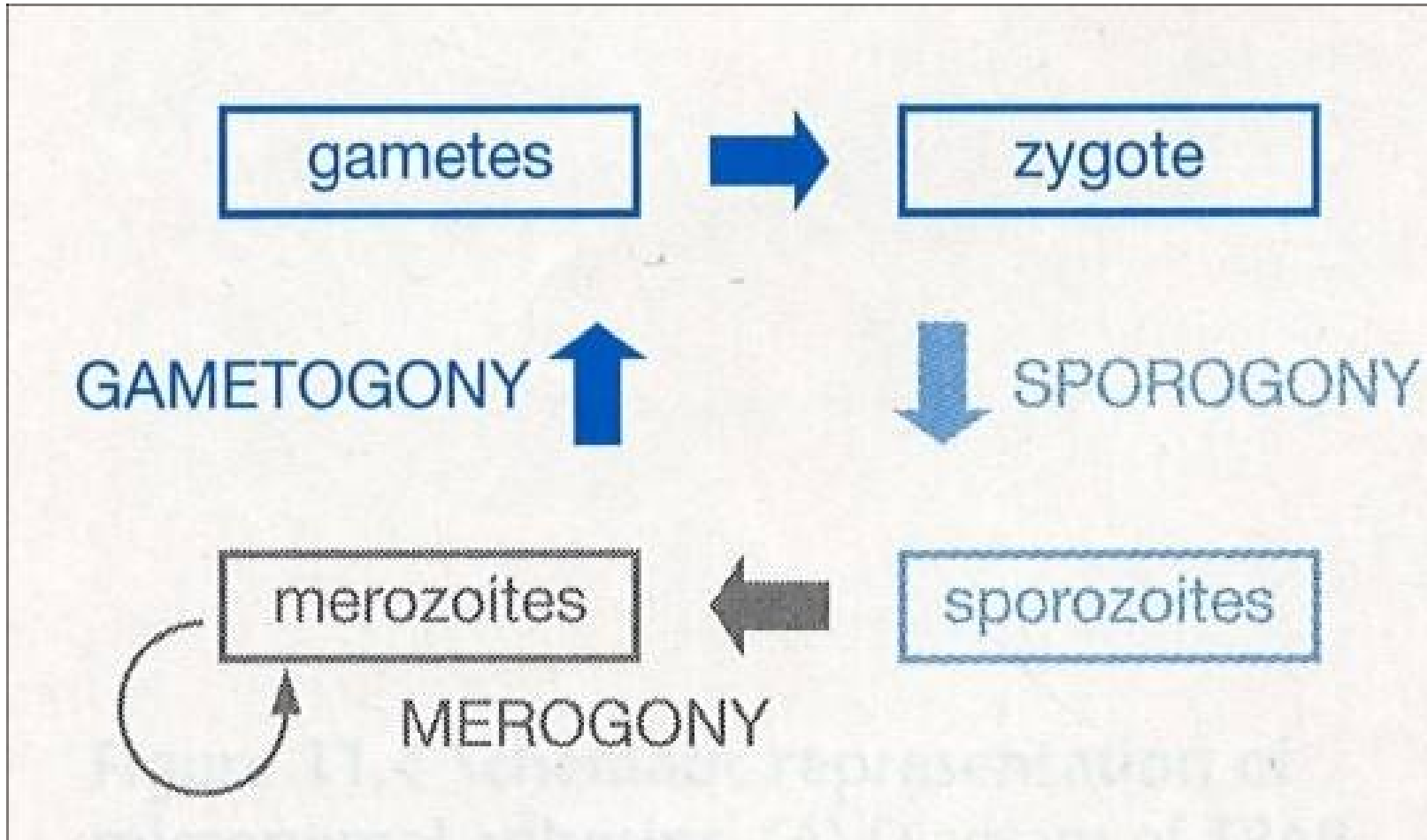
**Oocysta** = **sporocysta** = **sporozoiti**; (sporulace)



# Apicomplexa – typický životní cyklus

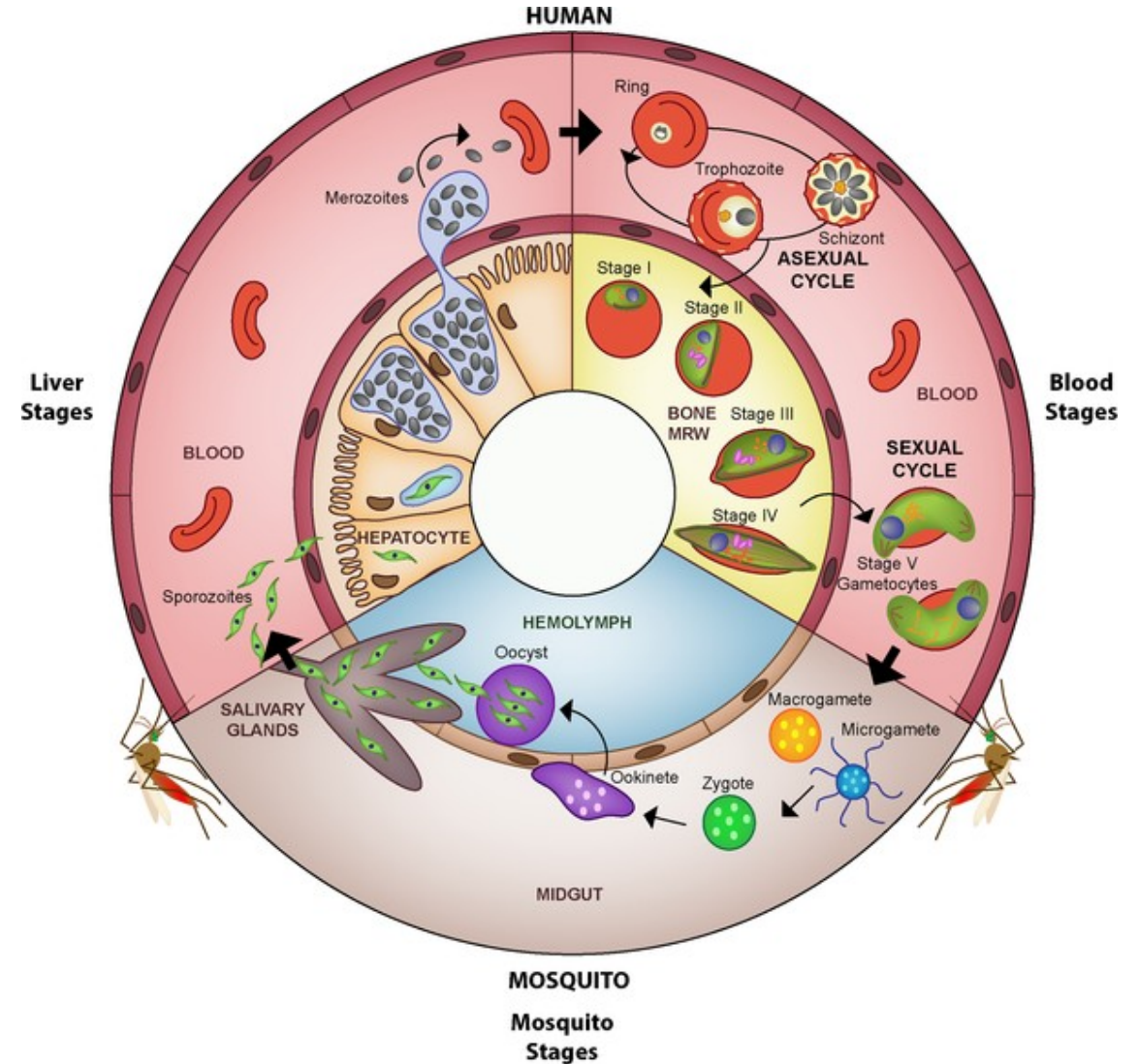
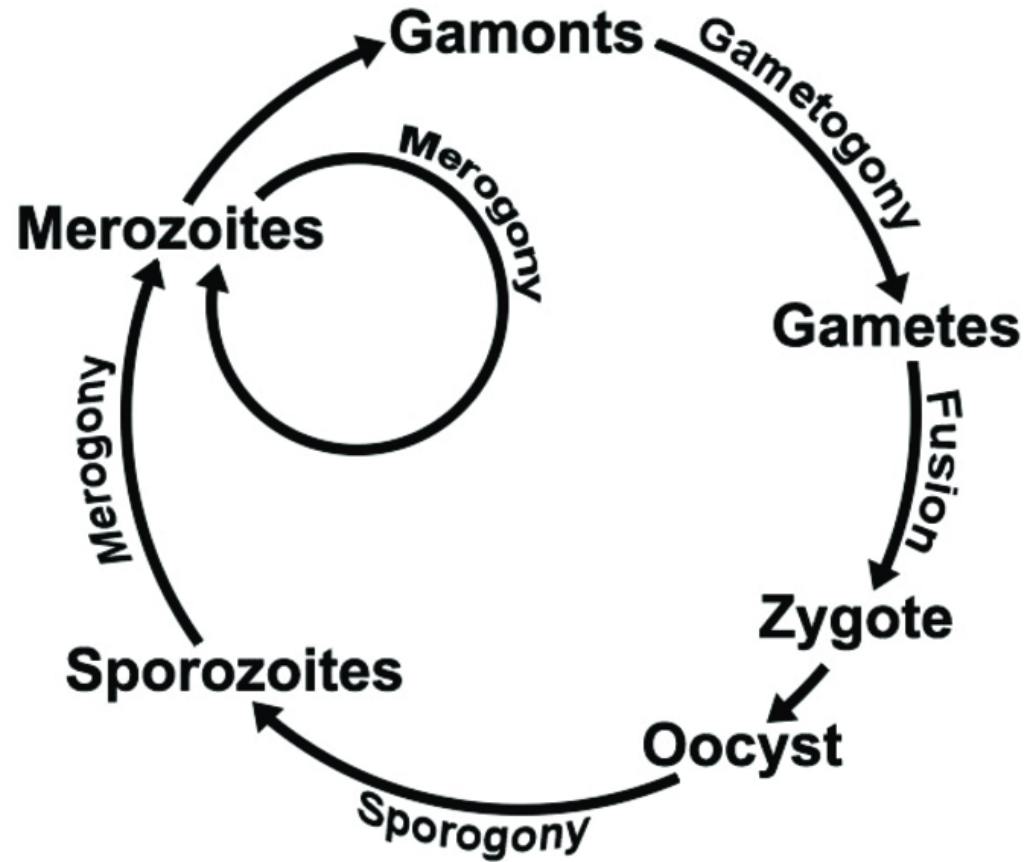
- **Sporogonie** – nepohlavní rozmnožování
- **Gametogonie** – pohlavní rozmnožování
- **Merogonie** – nepohlavní rozmnožování (schizogonie)
  
- **Endodygonie**
- **Endopolygonie**

# Apicomplexa - typický životní cyklus





# Schéma životního cyklu Apicomplexa

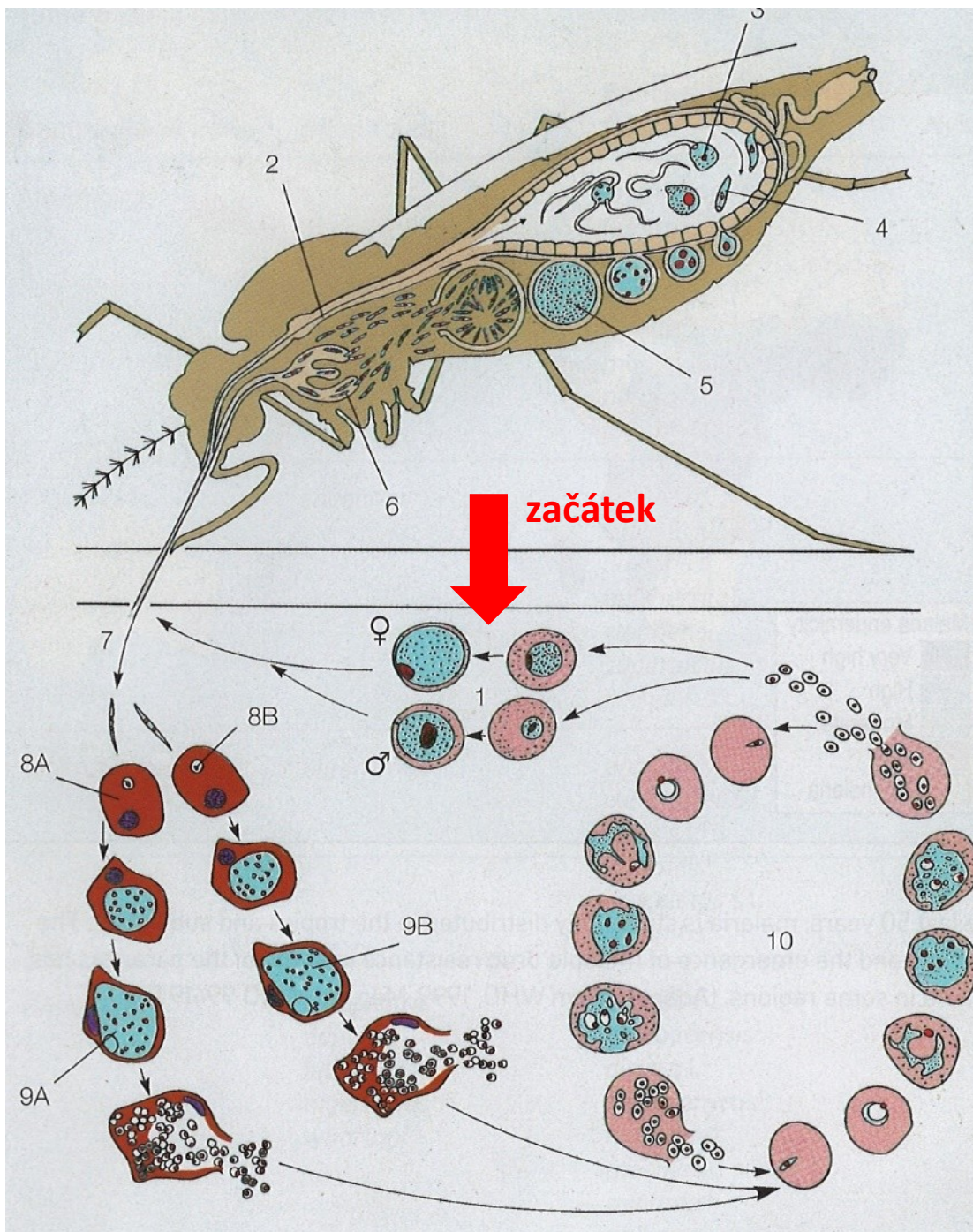




# Apicomplexa:

## Přenos vektorem

- Sporogonie
- Gametogonie
- Merogonie

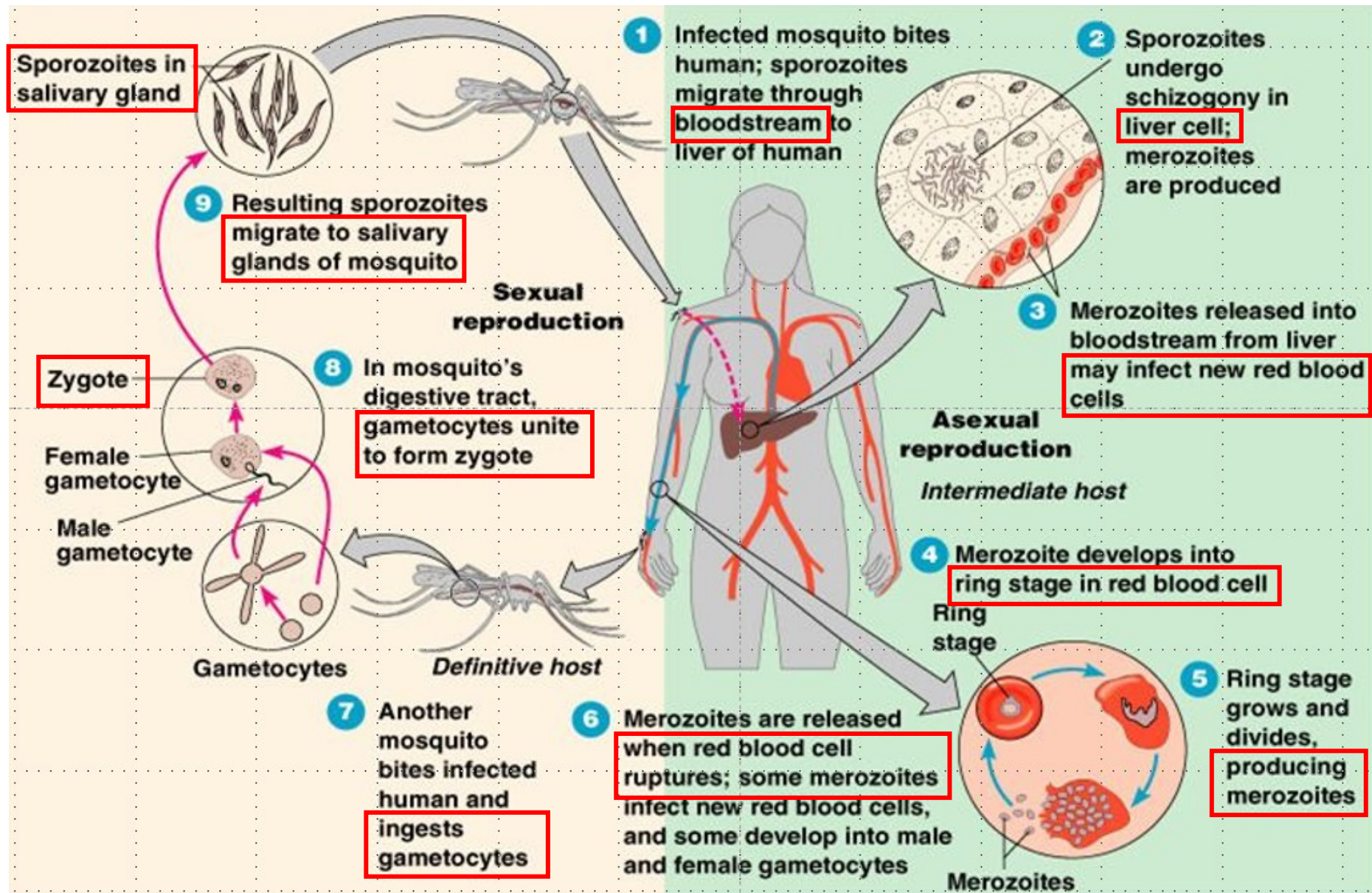


### 104 Generalised life cycle of a malaria parasite

The diagram is based on the life cycle of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium ovale*. The invertebrate cycles of all malaria species of humans and other mammals are similar and take place in female anopheline mosquitoes only. The sexual stages (1), male (micro-) gametocytes and female (macro-) gametocytes are taken (2) into the stomach of a female *Anopheles* when it feeds. Within the blood meal (which is surrounded by a peritrophic membrane secreted by the mosquito gut cells), the gametocytes mature to the micro- and macrogametes, which fuse (3); the resulting zygote forms a motile ookinete (also known as a 'travelling vermicle') (4). This ookinete penetrates the peritrophic membrane and then the midgut wall, and comes to rest between the outer membrane of the midgut and the midgut epithelial cells. There it develops into an oocyst (5) within which develop several thousand sporozoites. When mature (after about 7-20 days - depending upon the host and parasite species, and the environmental temperature), the sporozoites escape into the body cavity by rupturing the oocyst wall; they then migrate through the body cavity and penetrate into the acini of the salivary glands (6). After a further, brief period of maturation there, they enter the salivary ducts, from where they are passed into a new vertebrate host (7) when the mosquito next feeds. In humans, the sporozoites pass via the blood stream into parenchymal cells of the liver (8A), where they form large, pre-erythrocytic (PE) schizonts (9A) in which form several thousands of daughter cells, called merozoites. After about 7-21 days (depending on parasite species), these merozoites enter red blood cells within the hepatic sinusoids to start the asexual intraerythrocytic cycle (10) and to form new gametocytes (1). The asexual red cell stages are responsible for the pathological changes that occur in malaria. In the true relapsing species of *Plasmodium* (i.e. *P. vivax* and *P. ovale* in humans), some sporozoites remain latent as rounded, unicellular hypnozoites (8B) that only start the process of pre-erythrocytic schizogony (9B) several months after they first arrive in the hepatocytes. This stage does not exist in *Plasmodium falciparum* or *Plasmodium malariae*. (See 109-115, 145, 153-157 and 162.)



# Příklad - Životní cyklus malárie



# Cykličnost - životní cyklus

příklad - Apicomplexa:

- 1) **Nepohlavní fáze** – Schizogonie (Merogonie)
- 2) **Pohlavní fáze** – Gamogonie
- 3) **Nepohlavní fáze** - Sporogonie

# Životní cyklus Apicomplexa - definice pojmů

**Schizogonie** vede ke vzniku schizontů – periferální uspořádání dceřinných buněk  $\Rightarrow$  merozoitů. Je to nepohlavní mnohonásobná mitosa následovaná simultánní cytokinésí. Z mateřské buňky zůstane reziduální masa protoplazmy.

**Schizont** je buňka prodávající schizogonii, ještě před proběhnutím cytokinése.

**Merozoit** je dceřinná buňka vzniklá schizogonií. Merozoiti dávají znik další fázi merogonie nebo gametogonie.

**Merogonie** je mnohonásobné dělení na merozoity.

Schizogonie vedoucí tedy ke vzniku merozoitů je merogonie.

# Nepohlavní rozmnožování

**Binární dělení:** nepravidelné (Sarcodina)

podélné=longitudinální (Mastigophora)

příčné = transversální (Ciliophora)

šíkmé = (Opalinata)

sekvence dělení je: (1) kinetosom, (2) kinetoplast, (3) nucleus, (4) cytokinesis

dělení má povahu mitózy s výjimkou macronucleus nálevníků - dělí se amitoticky



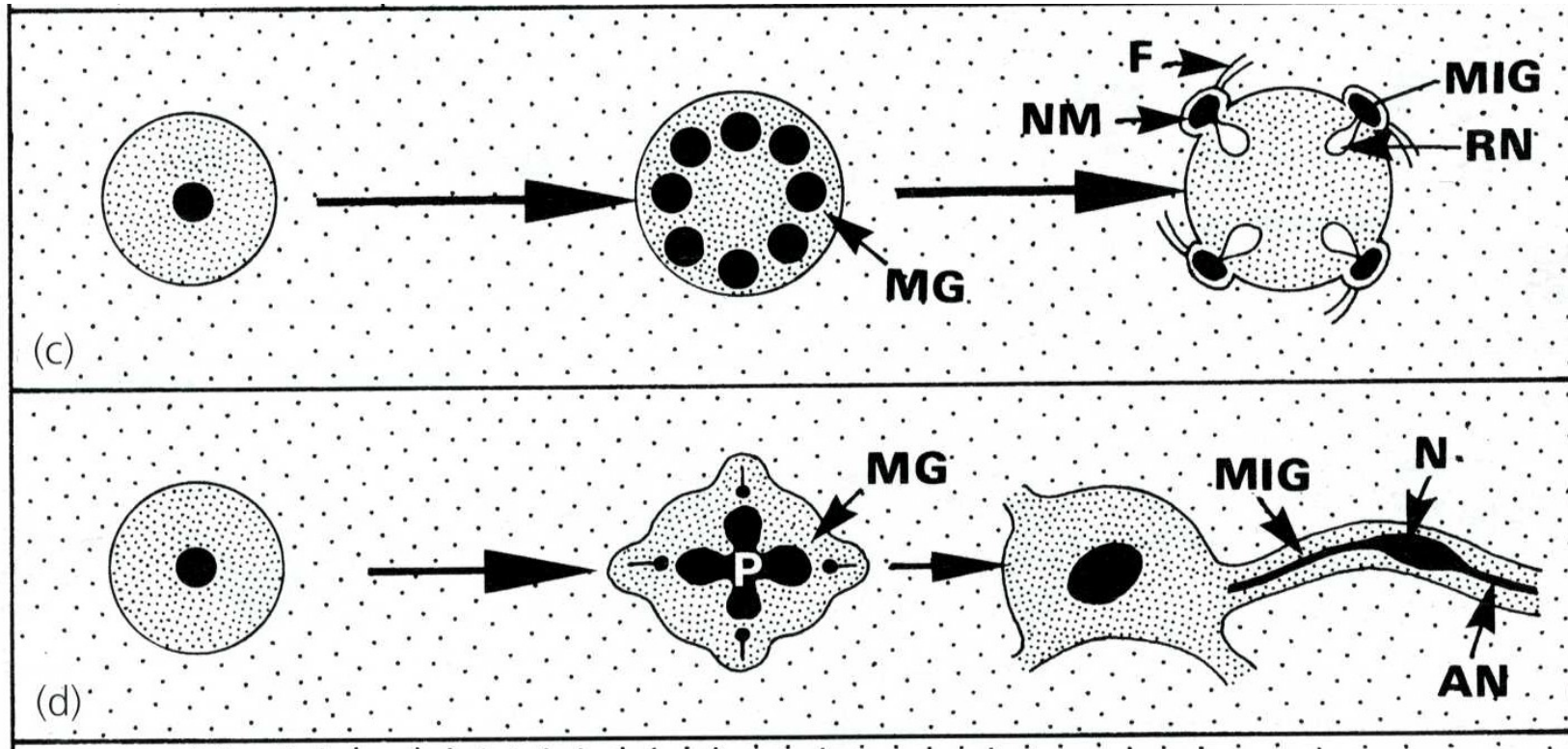
**Mnohonásobné dělení** (merogonie, schizogonie) – některá Sarcodina, Sporozoa)

Je to opakované dělení jádra a základních organel před cytokinezí. Teoreticky probíhá ve stejných fyziologických podmínkách.



# Typy mnohonásobného dělení

(c) Eimeria - formování mikrogamet




 (d) Plasmodium – formování mikrogamet - exflagelace

# Základní typy merogonie u Apicomplexa

Dva typy merogonie:

- endomerogonie

 **endodygonie** = dva noví jedinci uvnitř buňky mateřské  
(Toxoplasma, Sarcocystis)

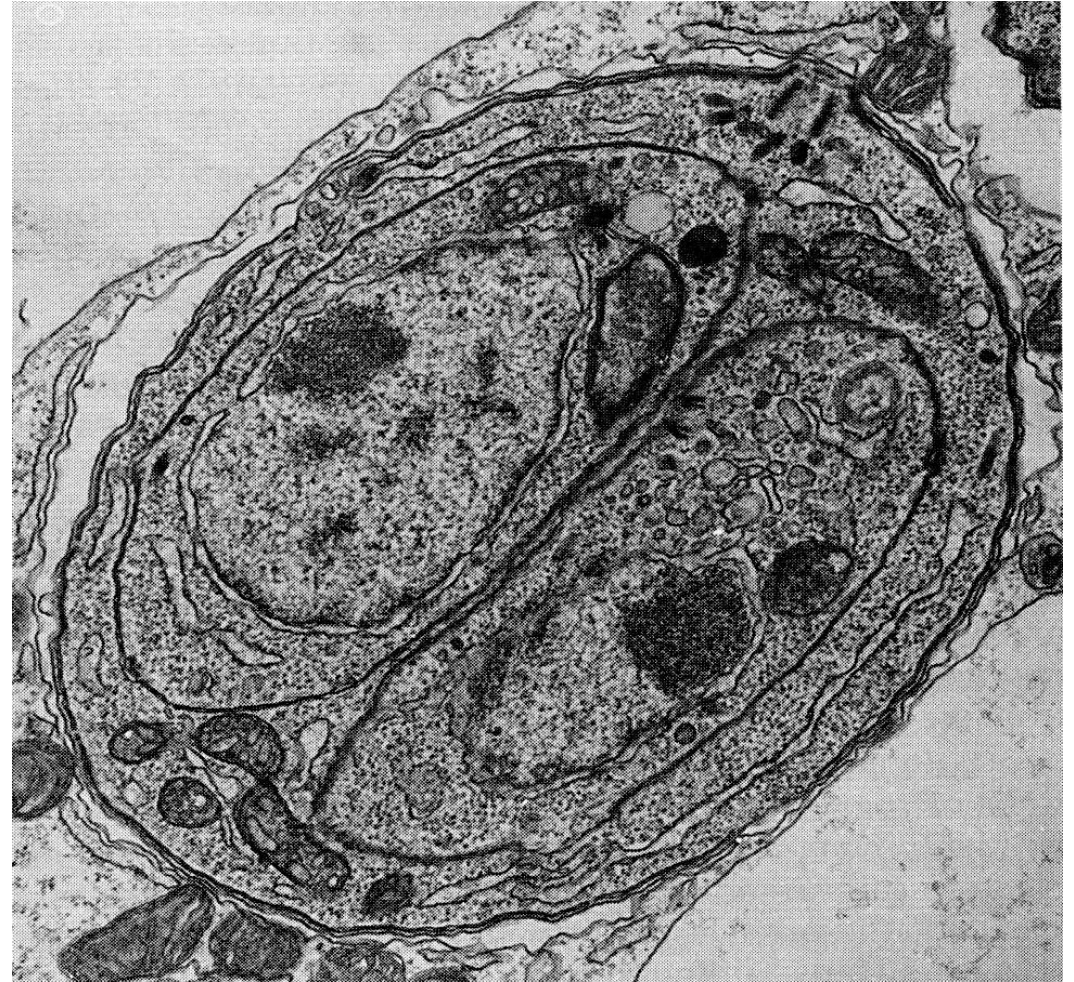
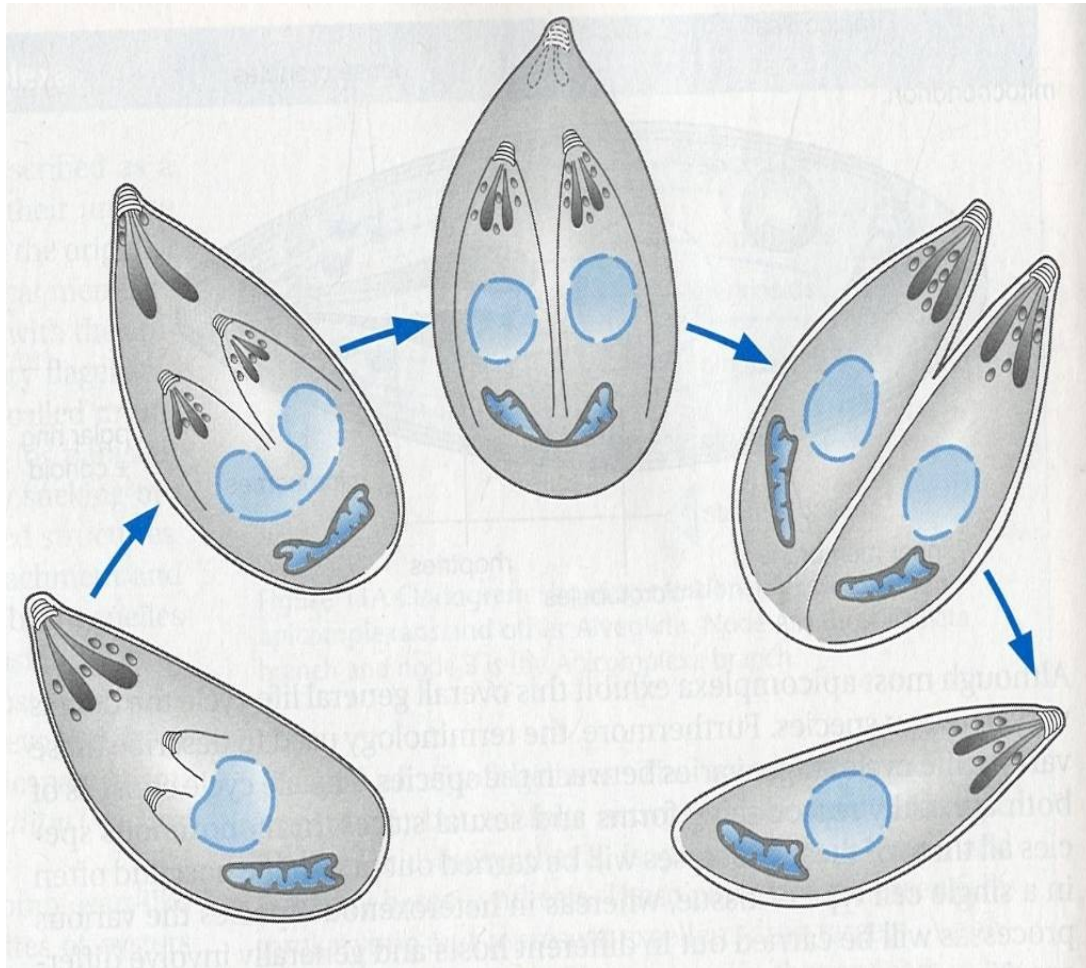
**endopolygonie** = dělení jádra, pak ostatních organel  
(Entamoeba, Eimeria)

**mnohonásobná synchronní endopolygonie** = dělení organel před  
dělením jádra (Sarcocystis, Plasmodium)

- ektomerogonie = vnější merogonie = merozoiti vysunování do  
parazitofórní vakuoly (Eimeria, Theileria, Babesia)



# Binární dělení – endodygonie (Toxoplasma)





# Základní typy merogonie u Apicomplexa

Dva typy merogonie:

- endomerogonie

**endodygonie** = dva nové jedinci uvnitř buňky mateřské  
(Toxoplasma, Sarcocystis)



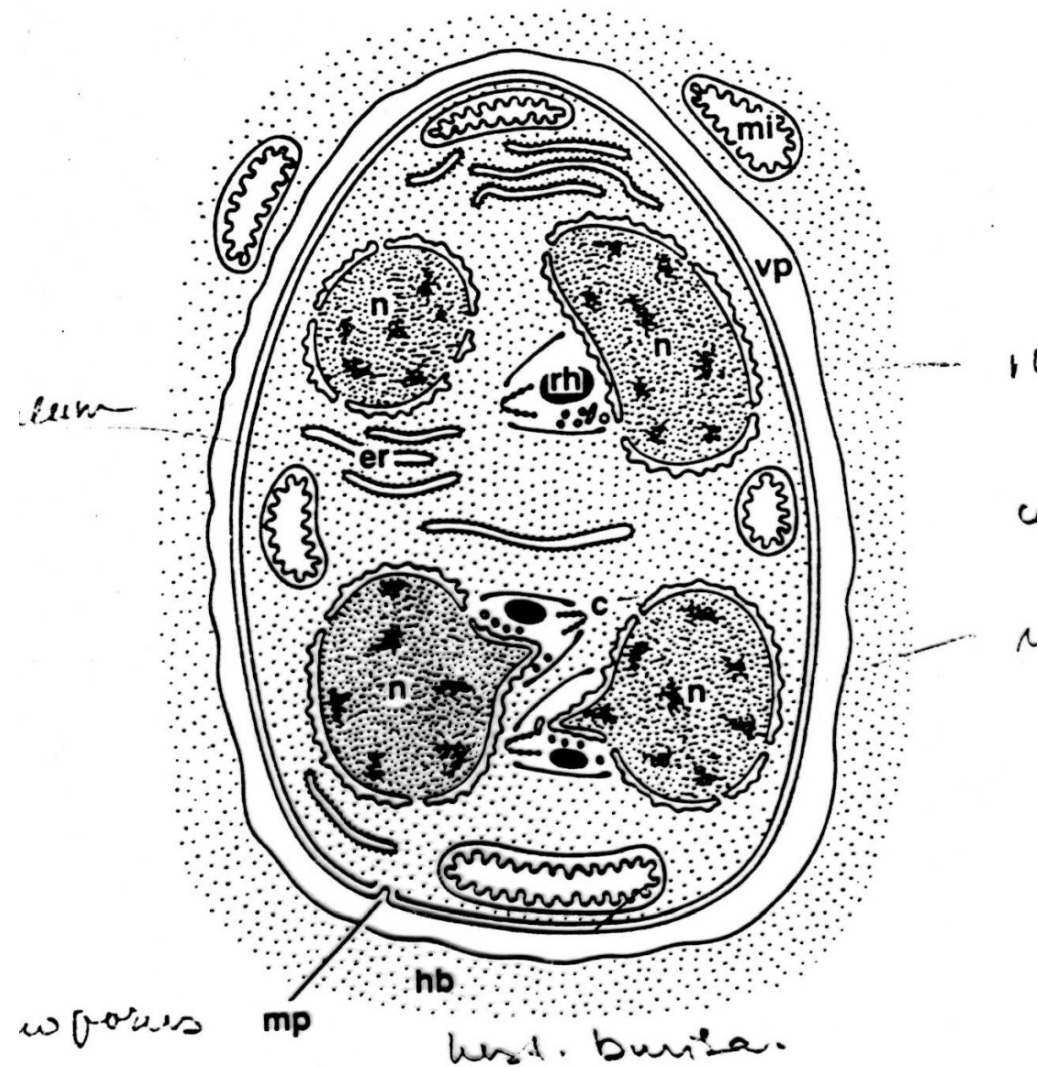
**endopolygonie** = dělení jádra, pak ostatních organel  
(Entamoeba, Eimeria)

**mnohonásobná synchronní endopolygonie** = dělení organel před  
dělením jádra (Sarcocystis, Plasmodium)

- ektomerogonie = vnější merogonie = merozoiti vysunování do  
parazitoforní vakuoly (Eimeria, Theileria, Babesia)



# Endopolygonie - Toxoplasma




# Základní typy merogonie u Apicomplexa

Dva typy merogonie:

- endomerogonie

**endodygonie** = dva nové jedinci uvnitř buňky mateřské  
(Toxoplasma, Sarcocystis)

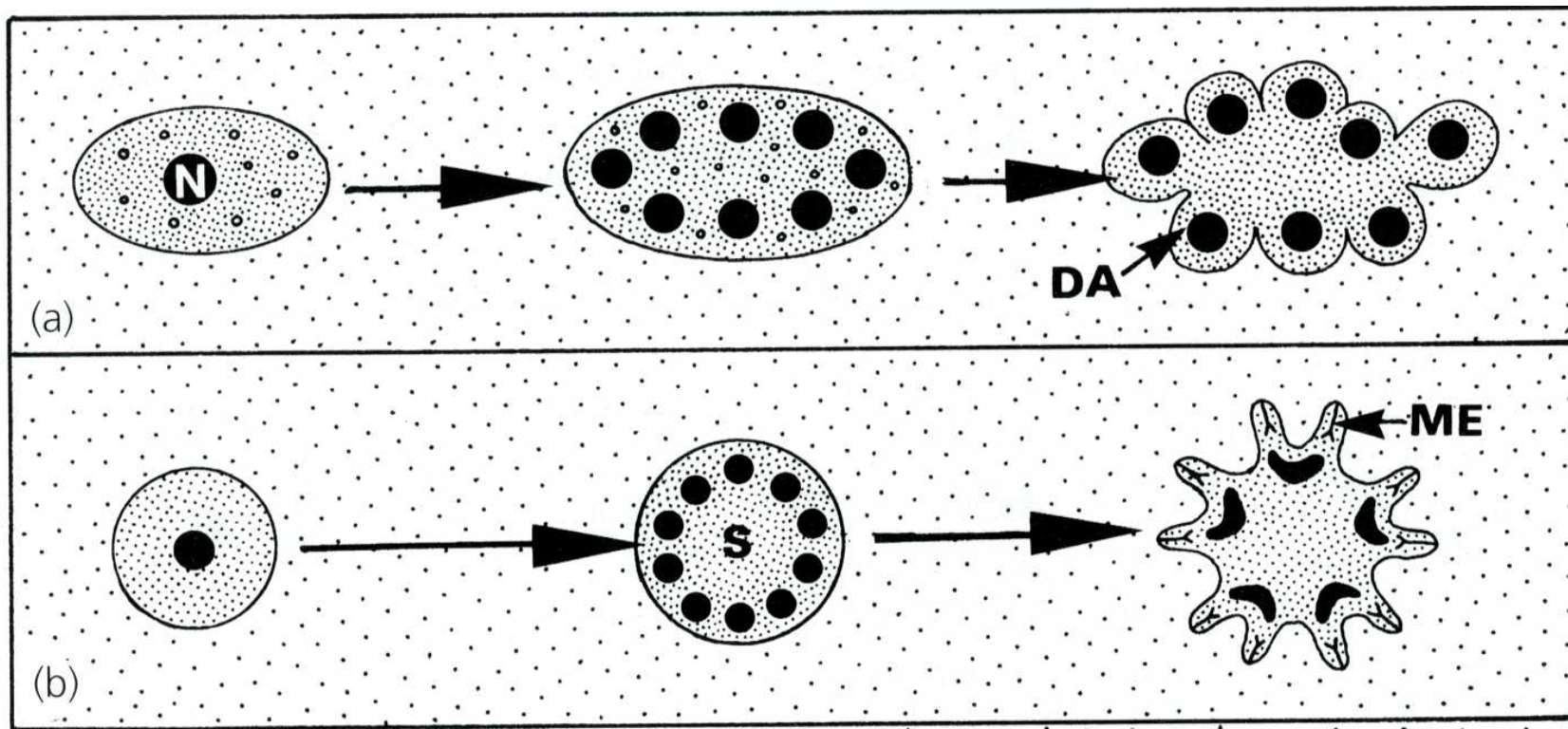
**endopolygonie** = dělení jadra, pak ostatních organel  
(Entamoeba, Eimeria)

 **mnohonásobná synchronní endopolygonie** = dělení organel před dělením jadra (Sarcocystis, Plasmodium)

- ektomerogonie = vnější merogonie = merozoiti vysunování do parazitoforní vakuoly (Eimeria, Theileria, Babesia)

# Typy mnohonásobného dělení

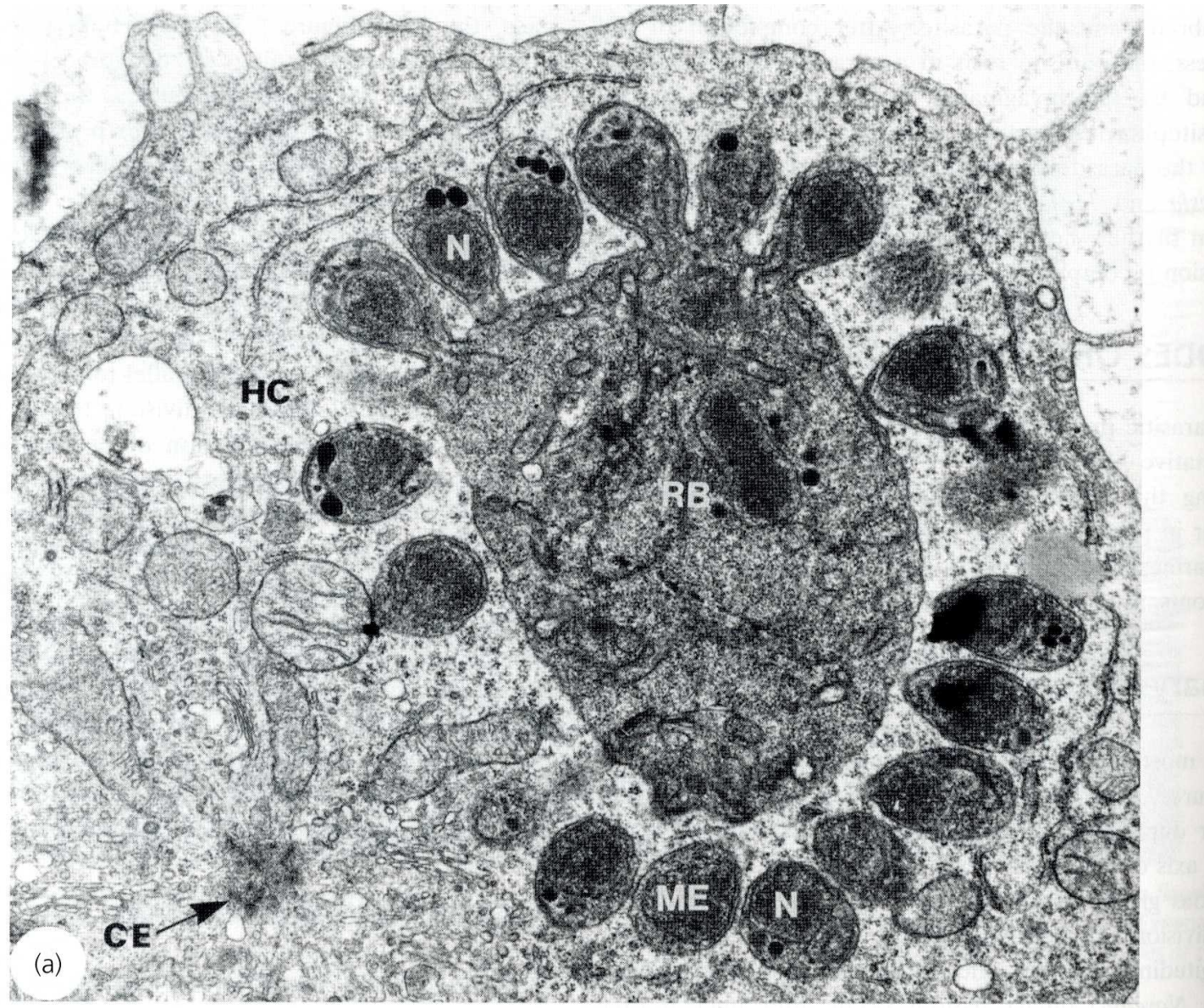
(a) Entamoeba – formování vegetativních stádií po excystaci



(b) Plasmodium – formování merozoitů v merontech (Eimeria, Theileria)



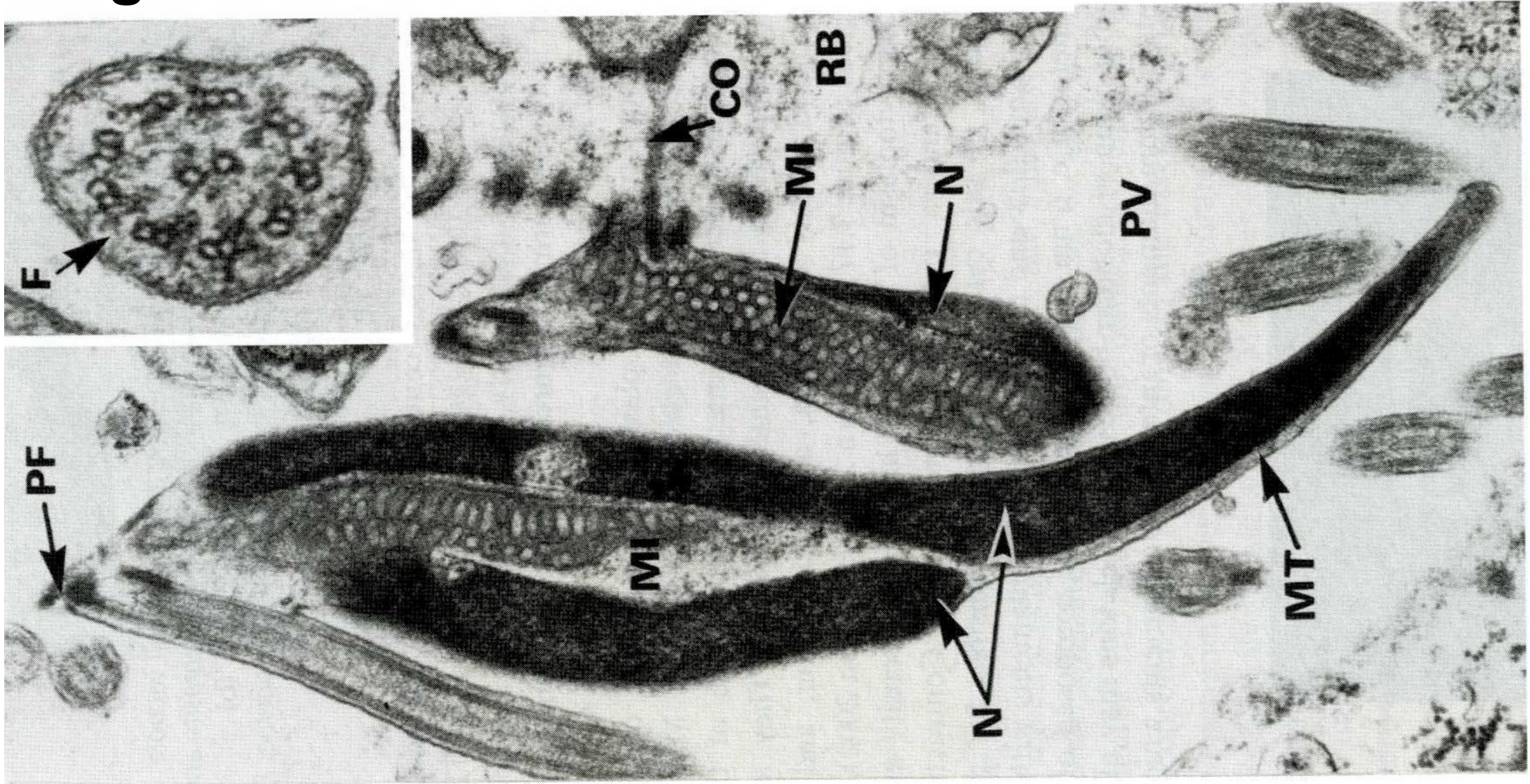
# Merogonie uvnitř HC - Theilerie





# Formování

## mikrogamet

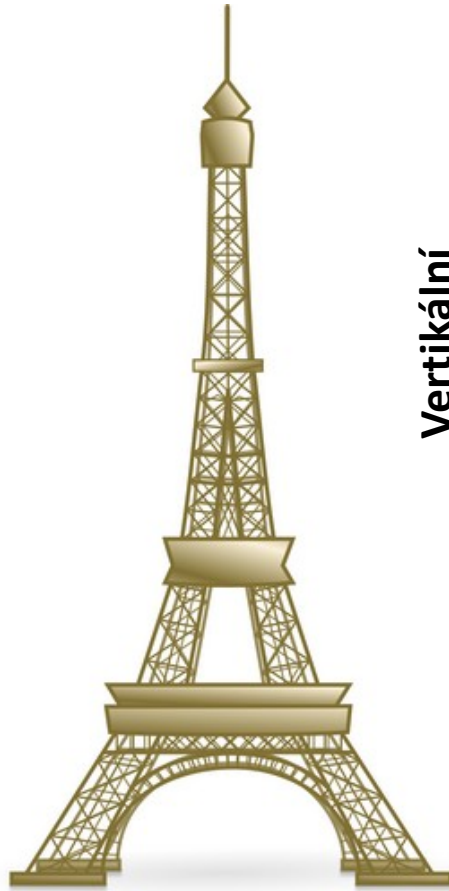




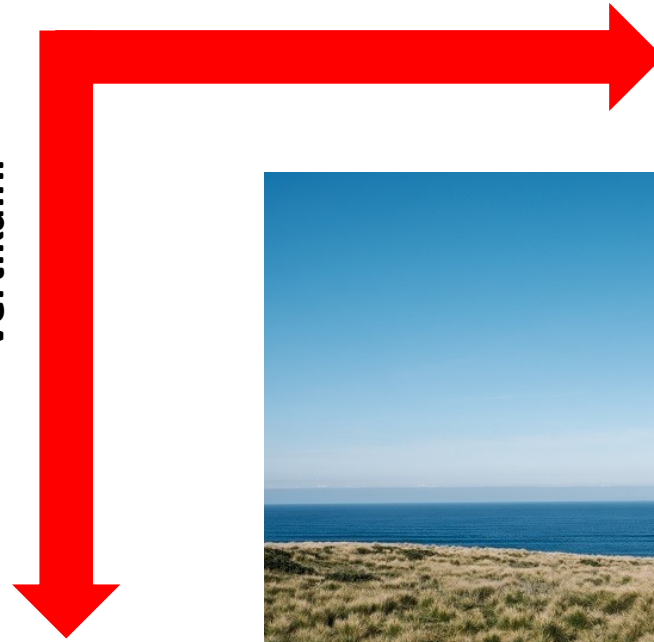
# Apicomplexa - přenos

- **Paraziti střevní - Ingesce (fecal-oral)**  
(např. pozření oocysty, tkáňové cysty, kongenitálně, kontaminace)
  - Cryptosporidium
  - Isospora
  - Cyclospora
  - Toxoplasma
  - Sarcocystis
- **Paraziti krevní – vektor (komár, klíště)**
  - Plasmodium
  - Babesia

# „Směry“ přenosu azitů



Vertikální

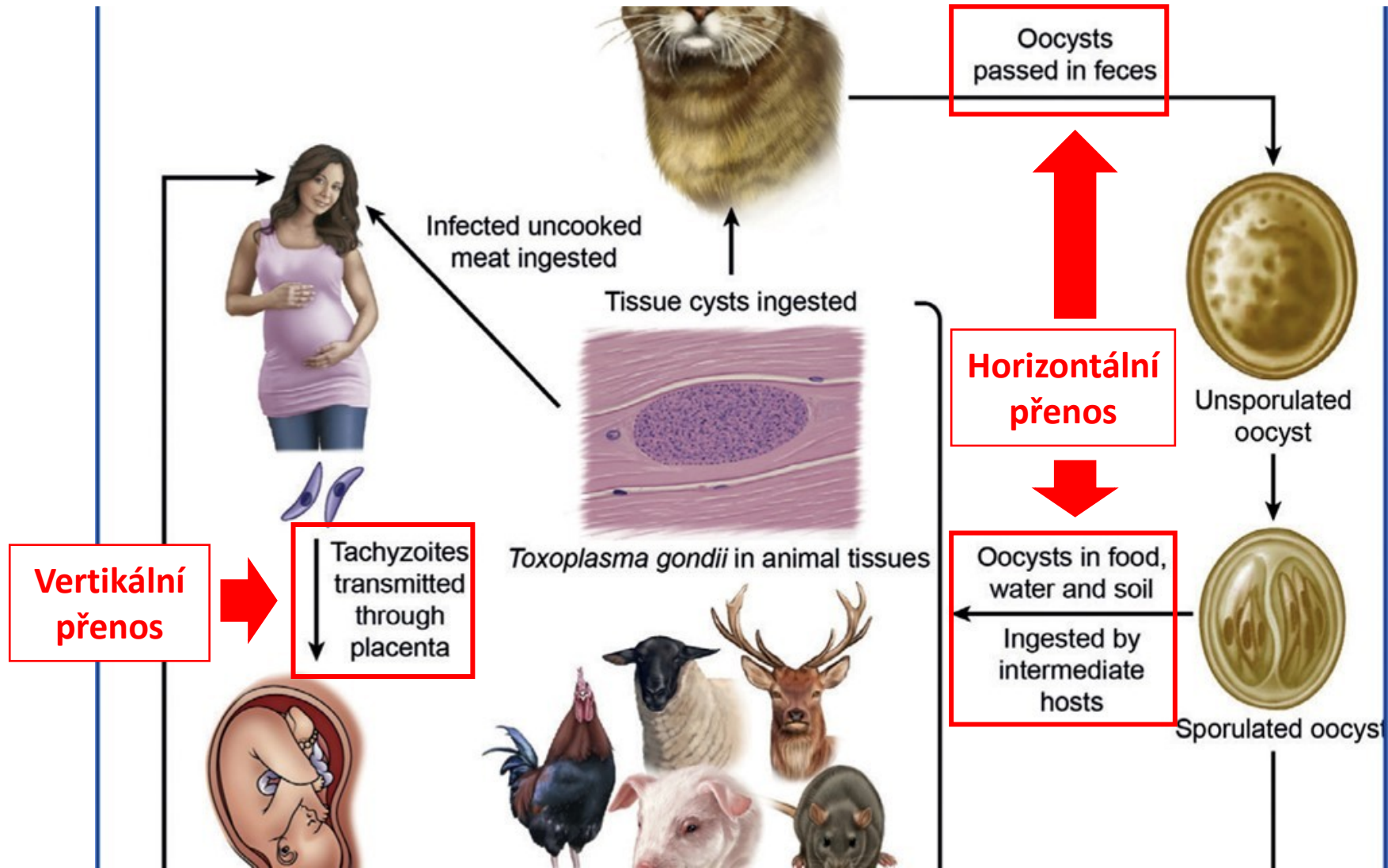


Horizontální



**Horizontální a vertikální osa** jsou dvě základní geometrické koncepce, které se využívají k popisu polohy, orientace a pohybu objektů v prostoru. **Horizontální** osa je směr, který probíhá vodorovně nebo odleva doprava (**mezi jedinci téže populace**), zatímco vertikální osa je směr, který probíhá svisle, směrem nahoru a dolů (**mezi různými generacemi**).

# Toxoplasma gondii – cesty přenosu

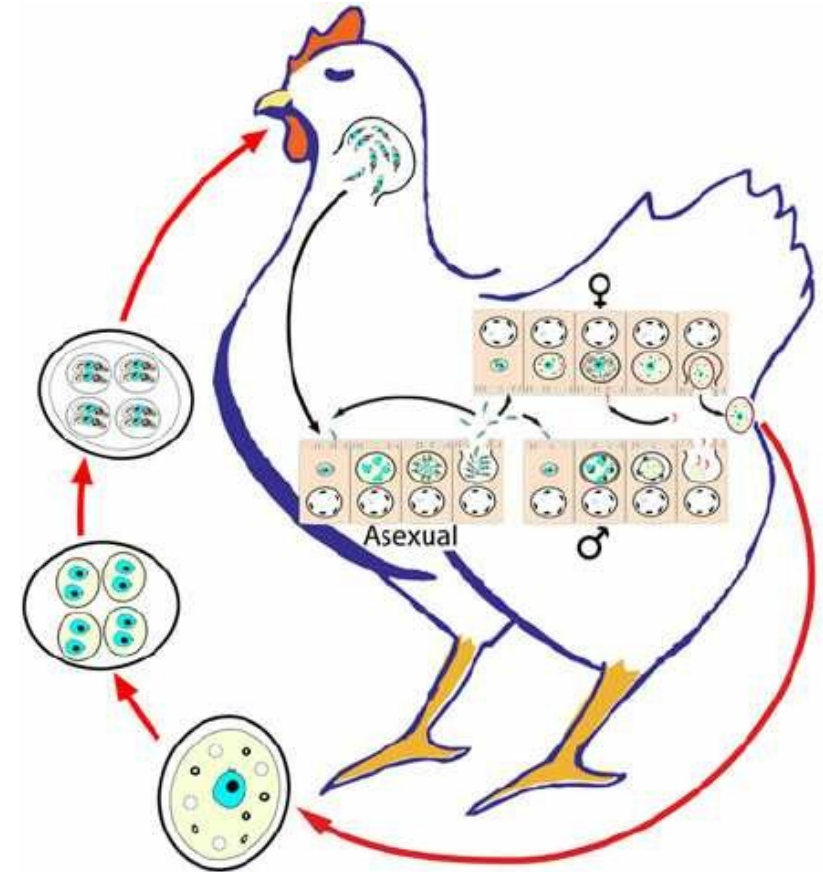
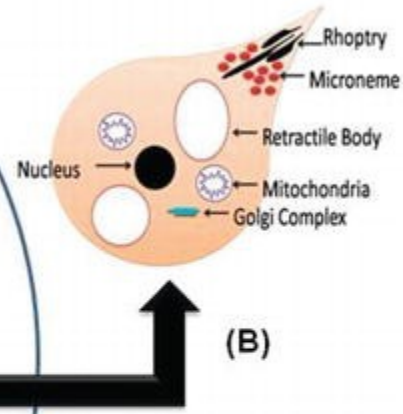
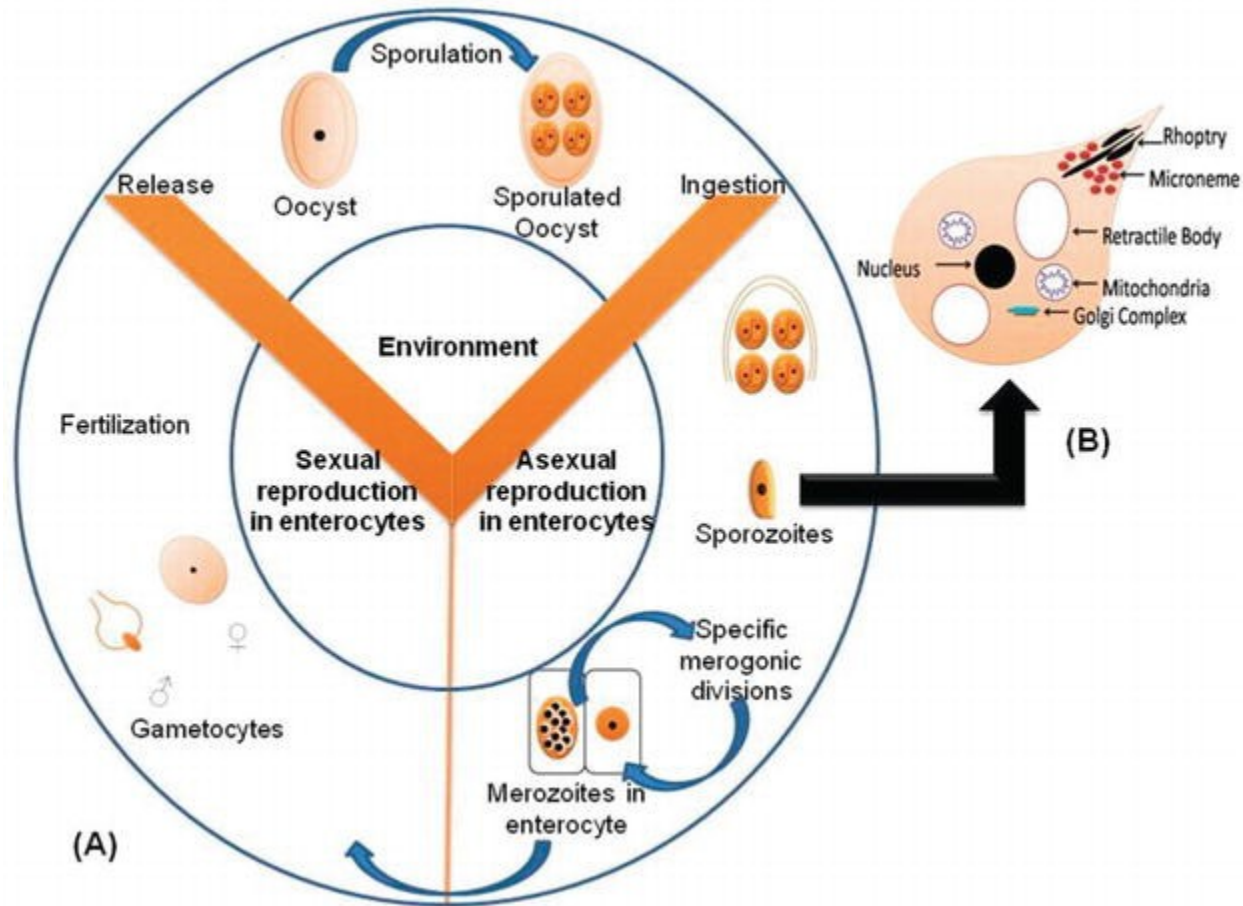




# Apicomplexa – zástupci (Kokcidie)

- **Kokcidie** (Coccidiasina) jsou obligátně parazitičtí prvoci, původci závažných parazitárních onemocnění hospodářských zvířat, jako je drůbež, králíci, malí přežvýkavci, selata nebo telata, u kterých má onemocnění často závažný průběh.
- Kokcidie jsou hostitelsky specifické, ale mohou být i vícehostitelské (heteroxenní), v závislosti na konkrétním druhu a jeho životním cyklu.

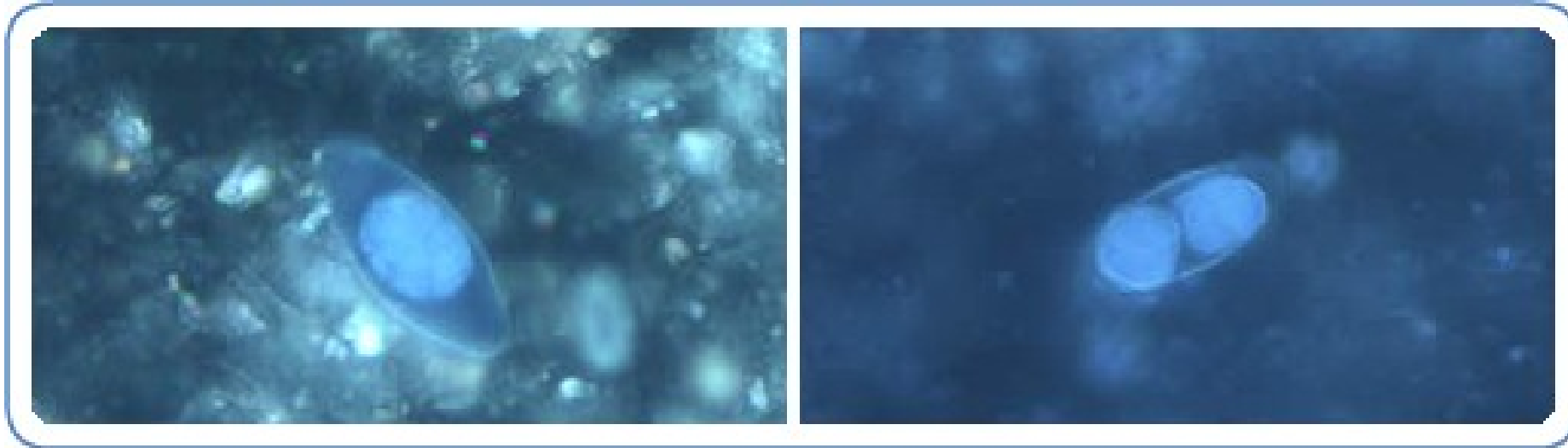
# Životní cyklus kokcidií rodu Eimeria



**Zastupci parazitující u člověka**  
***Cystoisospora belli***



# Cystoisospora belli



**nevysporulovaná oocysta**

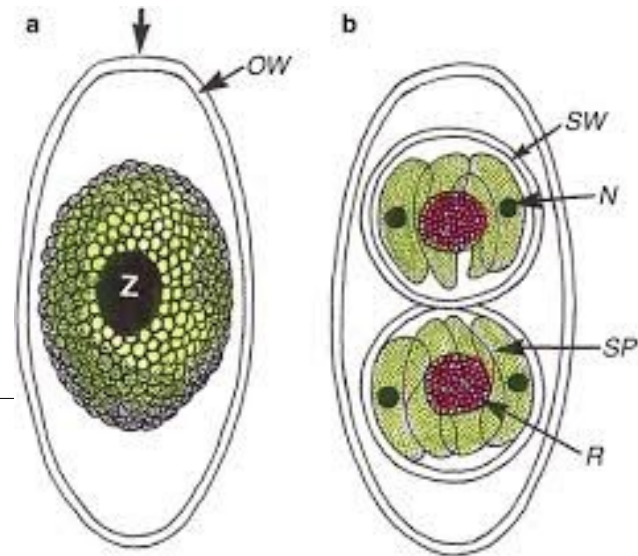
**vysporulovaná oocysta**

Cystoisosporiasis dříve označovaná jako isosporiasis je střevní parazitární onemocnění postihující člověka. Běžně se vyskytuje v **tropických a subtropických oblastech** a v typickém případě se přenáší pozřením kontaminované potravy a vody. Charakteristickým příznakem je **průjem**, **nemoc lze léčit** a existují také účinná preventivní opatření.

# Cystoisospora belli – Isospora belli

- Cystoisospora belli, dříve známá jako *Isospora belli*, je parazit, který způsobuje střevní onemocnění známé jako *cystoisosporiasis*. Tento prvok je oportunistní u lidských hostitelů s potlačenou imunitou. Existuje především **v epiteliálních buňkách** tenkého střeva a vyvíjí se v buněčné cytoplazmě. Rozšíření tohoto kokcidního parazita je **kosmopolitní**, ale nachází se hlavně v tropických a subtropických oblastech světa, jako je **Karibik, Střední a Jižní Amerika, Indie, Afrika a jihovýchodní Asie**. V USA je obvykle **spojena s infekcí HIV** a institucionálním životem.

# Cystoisospora belli





# Cystoisospora belli

## Co je to cystoisosporiasis?

- Cystoisosporiasis je **onemocnění střeva** způsobené mikroskopickým cizopasníkem druhu *Cystoisospora belli*. Tento cizopasník byl dříve označován jako *Isospora belli*.
- Parazit se **přenáší ingescí potravy nebo vody**, které jsou kontaminovány výkaly infikovaného člověka.

# **Cystoisospora belli**

**Rezervoárový organismus** – dobytek,  
prasata

**Způsob šíření:** potrava (maso), voda

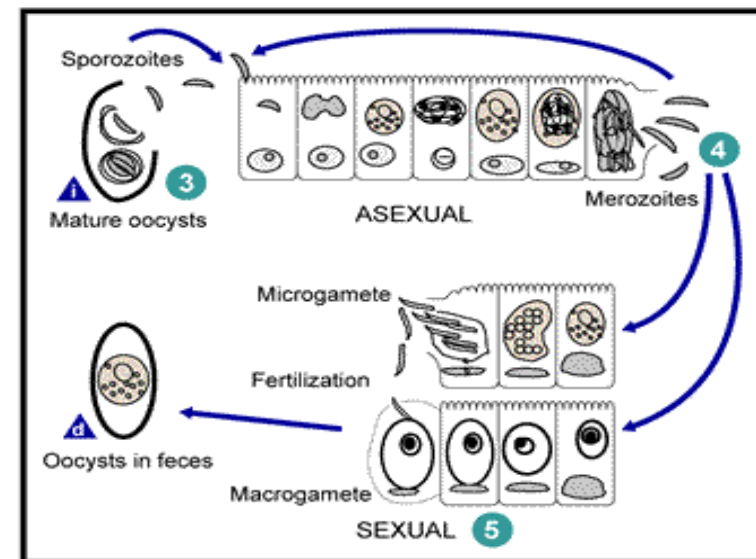
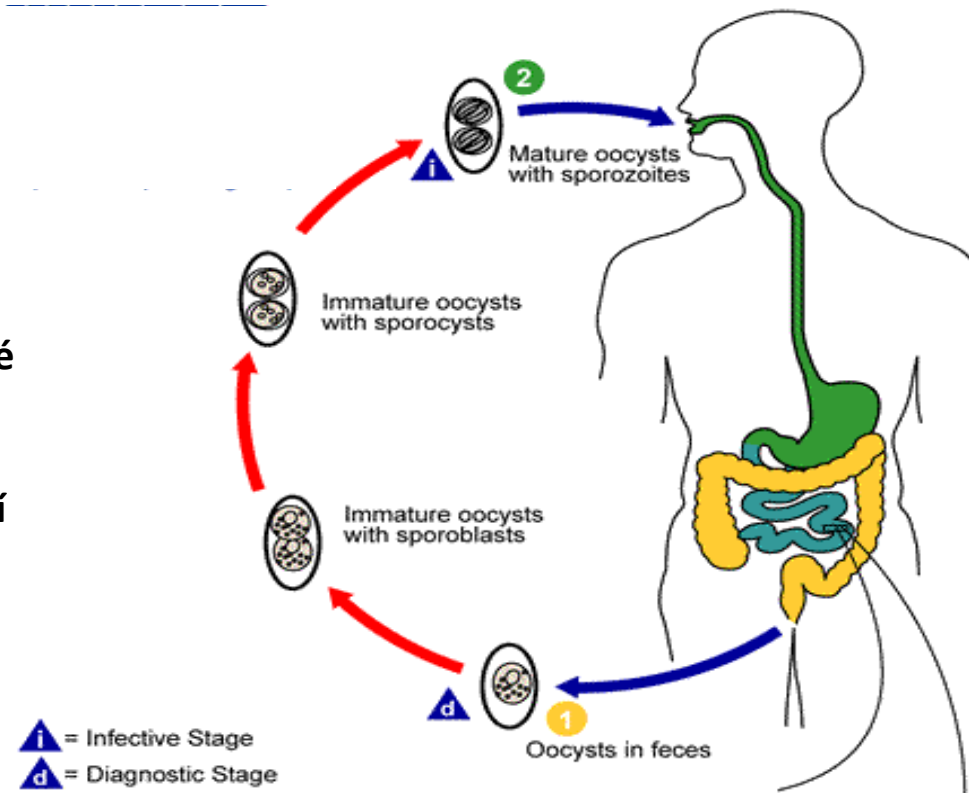
**Geografické rozšíření:** celosvětově ?

**Inkubační perioda:** 3 – 39 dní

**Diagnostika:** oocysty ve stolici

# Cystoisospora belli

- 1) Nevysporulované oocysty jsou vylučovány s výkaly.
  - 2) Člověk se nakazí **ingescí kontaminované** potravy nebo vody obsahující **vysporulované oocysty obsahující sporozoity**.
  - 3) Zralé sporocysty ve střevě praskají a **uvolňují vždy 8 sporozoitů**, které napadají epitelální buňky.
  - 4) V **epitelu se sporozoiti transformují v trofozoity**, kteří se **asexuálně množí (schizogonie)** a vznikají merozoiti. **Merozoiti** napadají další buňky epitelu a množí se v nich.
  - 5) Část **trofozoitů prodělává sexuální cyklus**, Gamogonií vznikají **makro a mikro gametocyty**, jejichž **fúzí vzniká zygota** a ta vede ke vzniku **nezralé oocysty**, která je vylučována z těla ven. V půdě oocysty dozrává a stává se infekční.
- C. belli tak **vyžaduje jen jednoho hostitele**.





# Cystoisospora belli

**Může být *Cystoisospora* přenášena z osoby na osobu přímo ?**

- *Cystoisospora* je **obvykle šířena nepřímo**, prostřednictvím **kontaminované potravy a vody**. To proto, že parazit potřebuje určitý čas, aby ve vnějším prostředí dozrál. **Oral-anal kontakt** s infikovaným člověkem však riziko přenosu zvyšuje.

**Jaké jsou symptomy infekce vyvolané *Cystoisosporou* ?**

- Nejtypičtější projev onemocnění je **řídký průjem**. Dalšími symptomy jsou **bolesti břicha, křeče, ztráta chuti, nevolnost, zvracení a horečka**.
- Pokud není onemocnění léčeno, tak u lidí s **AIDS** a s oslabeným imunitním systémem vede ke zdlouhavému a **těžkému onemocnění**.

# Cystoisospora belli

## Patogenní agens:

- Parazitická coccidie ***Cystoisospora belli***, napadá **epiteliální buňky tenkého střeva** a je jednou ze tří coccidií napadajících zažívací trakt člověka.

## Ve kterých částech světa se vyskytuje ?

- *Cystoisospora* je celosvětově rozšířena. Běžně se vyskytuje v tropických a subtropických oblastech.

# Cystoisospora belli

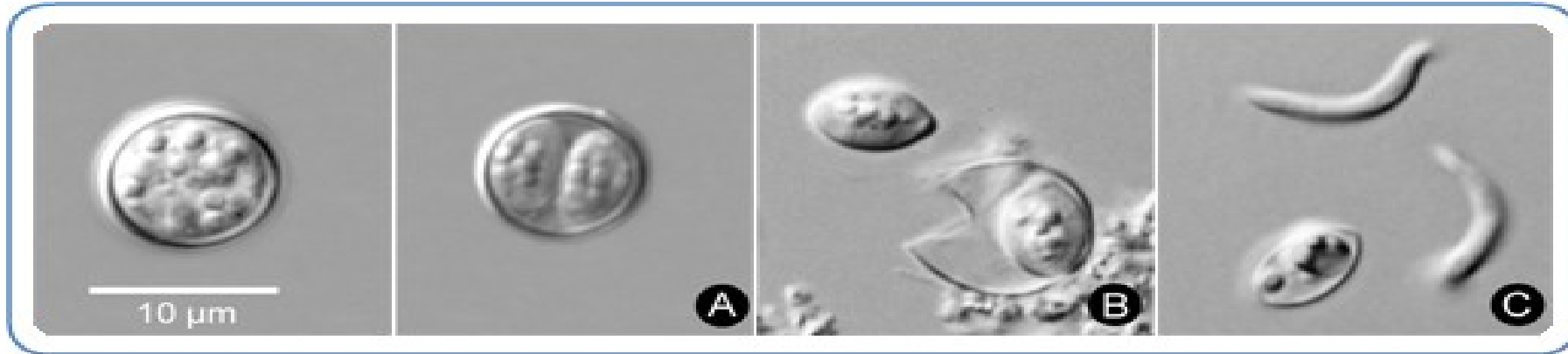
## Jak se člověk může *Cystoisosporou* nakazit ?

- Lidé se nakazí po **polknutí zralé oocysty** cizopasníka například z kontaminované potravy nebo vody.
- Napadení lidé **vylučují s výkaly nezralé oocysty** cizopasníka, které potřebují obvykle **1 až 2 dny sporulace** ve vnějším prostředí.
- Za určitých okolností může parazit dozrát i za dobu kratší než jeden den.



**Cyclospora cayetanensis**

# *Cyclospora cayetanensis*



- Cyclosporiasis je střevní onemocnění působené mikroskopickým cizopasníkem druhu ***Cyclospora cayetanensis***.
- Druh ***Cyclospora cayetanensis*** byl poprvé jako cizopasník člověka popsán v roce 1994 v Peru.
- Lidé se nakazí *Cyclosporou* po pozření potravy nebo vody kontaminované výkaly.
- Lidé často cestující do endemických oblastí jsou vystaveni mnohem většímu riziku onemocnění

# Cyclospora cayetanensis

- ***Cyclospora cayetanensis*** je kokcidní parazit, který způsobuje průjmové onemocnění zvané **cyklosporiáza u lidí** a případně u jiných primátů.
- Původně hlášen jako nový patogen pravděpodobné kokcidiální povahy v roce 1980 a **popsán na počátku roku 1990**, byl prakticky neznámý ve vyspělých zemích, dokud se povědomí nezvýšilo kvůli několika ohniskům spojeným s fekálně kontaminovanými dováženými produkty.
- *C. cayetanensis* se od té doby objevila **jako endemická příčina průjmových onemocnění v tropických zemích** a příčina cestovatelských průjmů a infekcí přenášených potravinami ve vyspělých zemích.
- Tento druh byl zařazen do *rodu Cyclospora* kvůli kulovému tvaru jeho sporocyst. Specifický název odkazuje na univerzitu Cayetano Heredia v Limě v Peru, kde byla provedena raná epidemiologická a taxonomická práce.



# Cyclospora cayetanensis

Životní cyklus začíná **pozřením oocysty**.

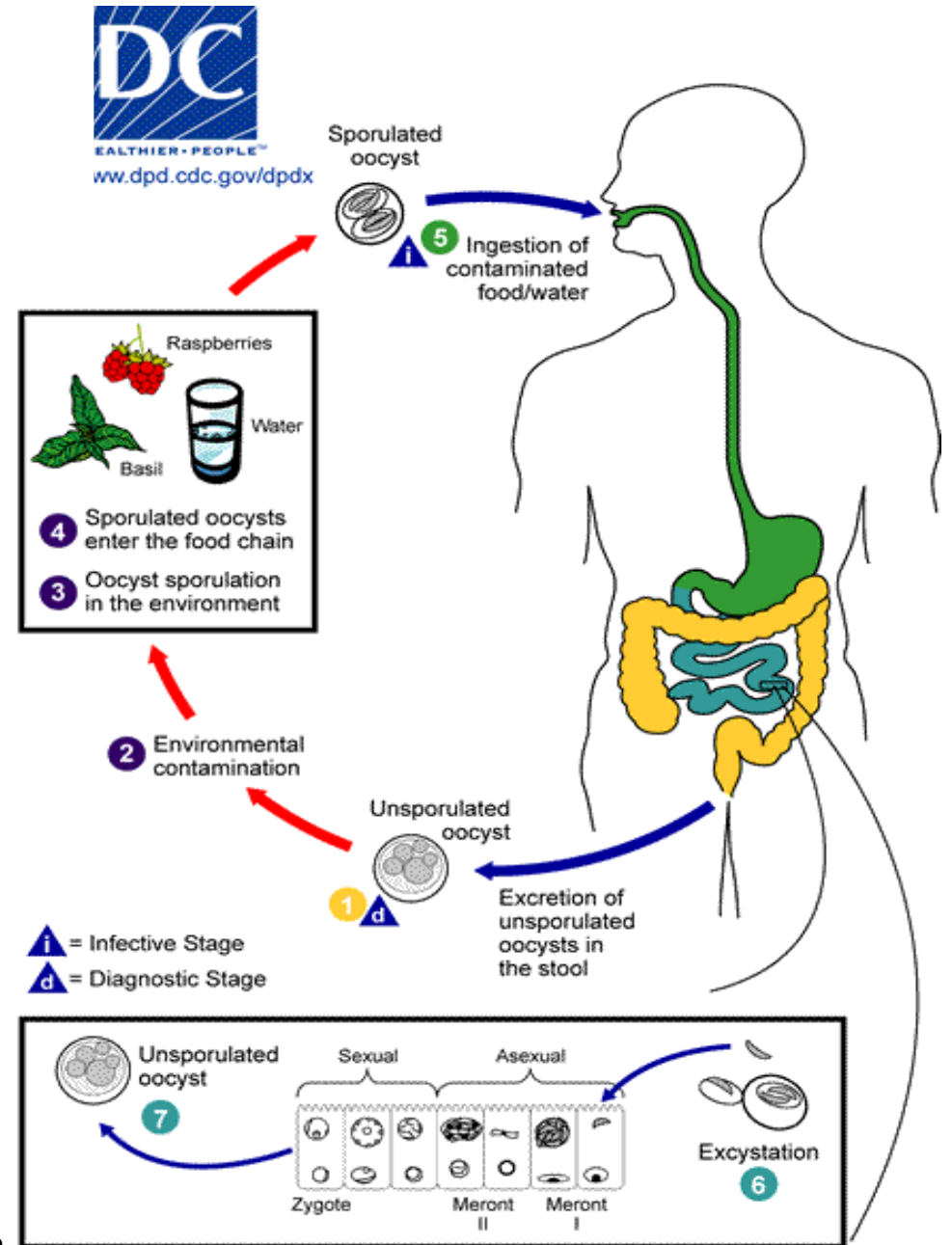
Oocysta obsahuje **dvě sporocysty a každá pak dva sporozoity**.

Po vniknutí do člověka dochází v tenkém střevě k **emergenci sporozoitů**

Sporozoiti prodělávají **asexuální rozmnožování**, čímž vzniká mnoho **merozoitů**, stejně pak jako prodělávají i **rozmnožování sexuální**, které vede ke vzniku **makro a mikrogametocytů**.

Gamety spolu fúzí a vzniká **zygota**, ze které vzniká **oocysta**.

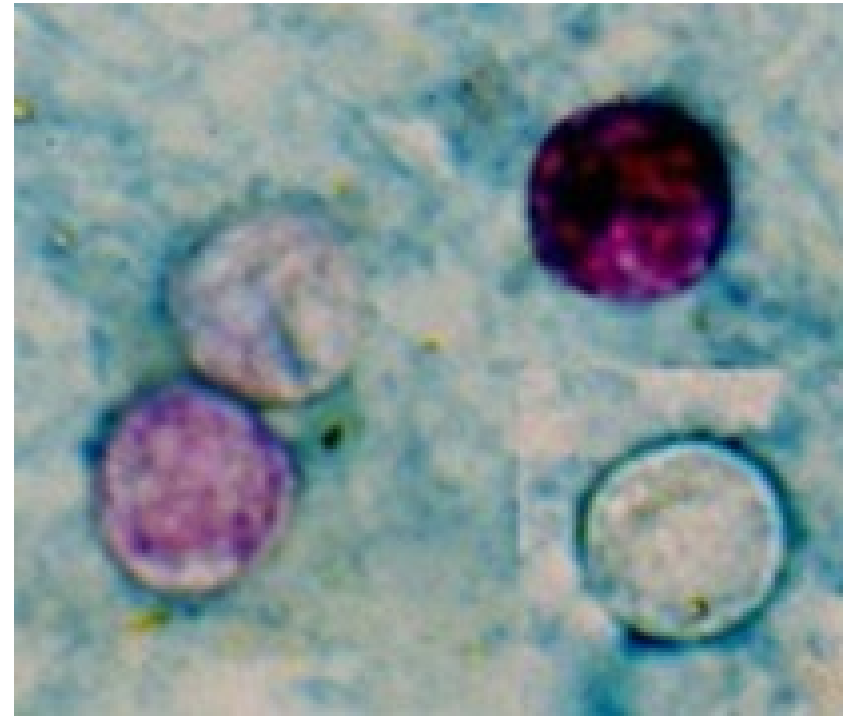
Člověk vylučuje ve stolici **nevysporulované oocysty**. Za optimálních podmínek tyto oocysty dozrávají a **stávají se infekční pro člověka**.



# Cyclospora cayetanensis – epidemiologie

- Lidé se cizopasníkem nakazí polknutím vysporulovaných oocyst Cyclospory, které představují infekční stádium cizopasníka.
- Infikovaný člověk vylučuje nevysporulované (nezralé, neinfekční) oocysty ve výkalech. Tyto oocysty ve vnějším prostředí sporulují a až po několika dnech až týdnech se stávají vysporulované a tedy infekční.
- Z tohoto důvodu je přímý přenos z člověka na člověka a přenos z čerstvě kontaminované potravy nebo vody nepravděpodobný.
- Čtyři oocysty Cyclospory pocházející z čerstvé stolice- barveno technikou acid-fast stain from fresh stool stained.  
Image: CDC (DPDx)

(Průměr oocyst 8 až 10  $\mu\text{m}$ )



# Cyclospora cayetanensis – životní cyklus

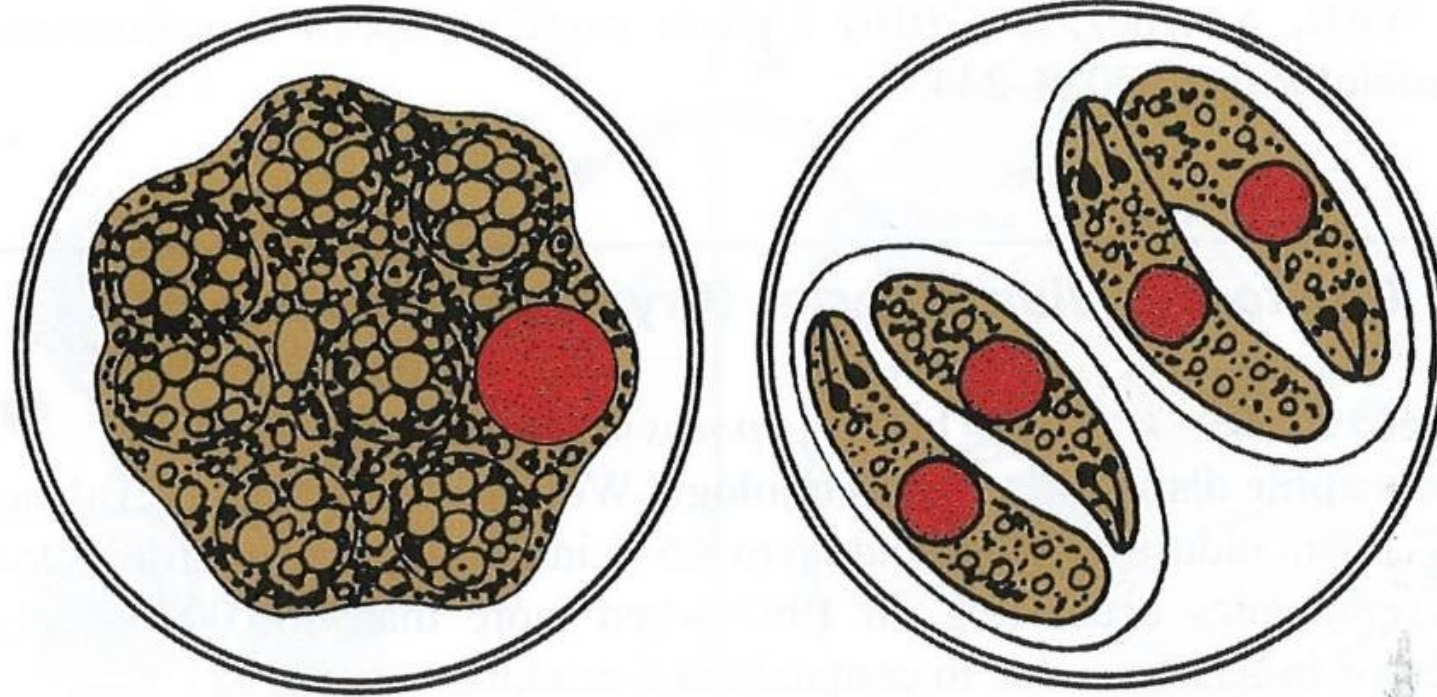
- Oocysty vylučované ve stolici nejsou infekční. Přímý tzv **oral-fecal přenos** je tak nepravděpodobný a odlišuje tohoto cizopasníka od zástupců rodu Cryptosporidium.
- Sporulace probíhá ve vnějším prostředí a **při teplotě 22°C to 32°C** trvá několik dnů až týdnů.
- Vysporulovaná oocysta obsahuje **dvě sporocysty** a v každé z nich jsou vždy **dva podlouhlí sporozoiti**.
- V zažívacím traktu dochází k **excystaci** a k uvolnění sporozoitů, kteří napadají **epiteliální buňky** hostitele.
- Uvnitř těchto buněk dochází k **asexuálnímu namnožení** a později také sexuální fázi cyklu a **vývoji namnožení oocyst, které jsou vylučovány se stolicí**.
- **Čerstvá zelenina a voda může sloužit jako prostředek přenosu** a vysporulované oocysty jsou polknuty s kontaminovanou potravou nebo vodou.
- Potenciální **mechanismy kontaminace potravy a vody jsou stále předmětem intenzivního výzkumu**.



# Cyclospora cayetanensis

Nevysporulovaná oocysta

Oocysta se dvěmi sporocystami



**Fig. 3.26** *Cyclospora cayetanensis*. Diagrammatic representation of an unsporulated oocyst (*left*) and an oocyst with two sporocysts – each with two slender sporozoites containing a spherical, central nucleus

# Cyclospora cayetanense - prevention

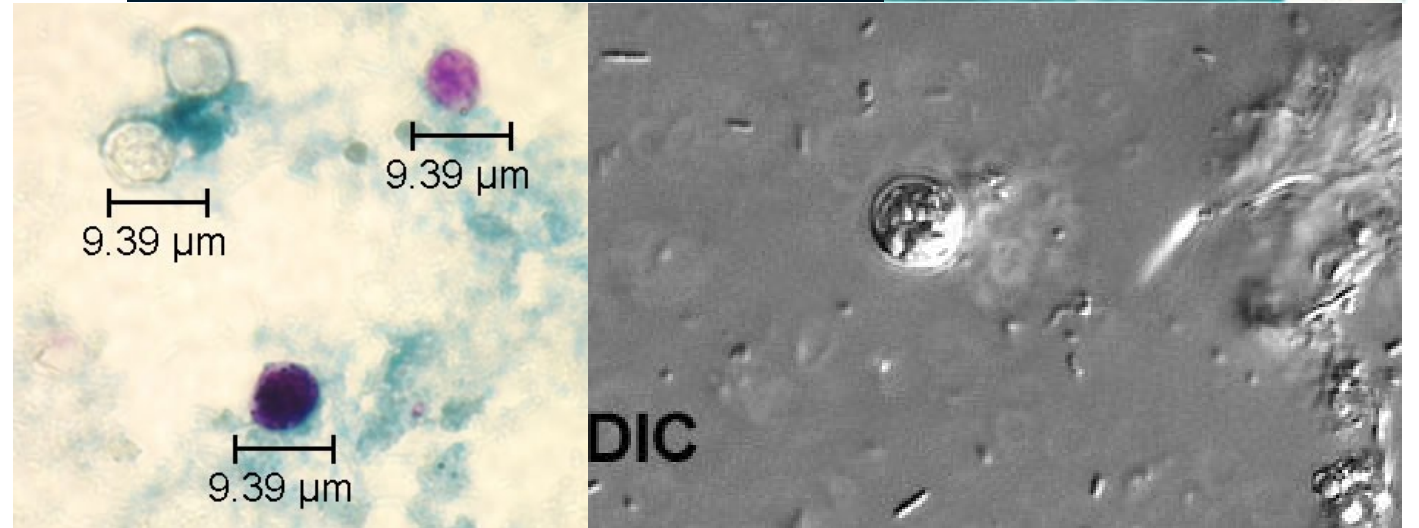
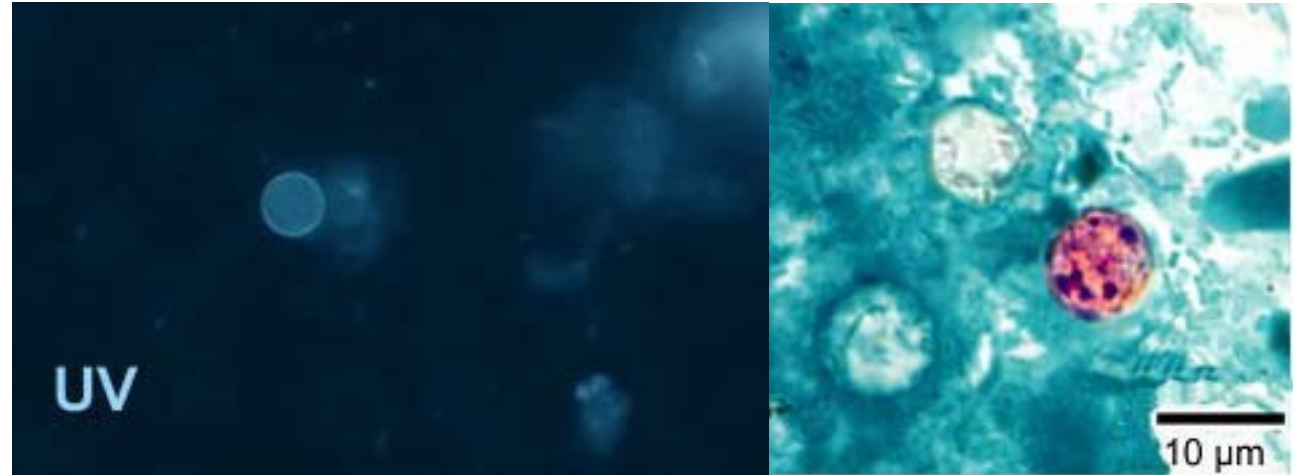
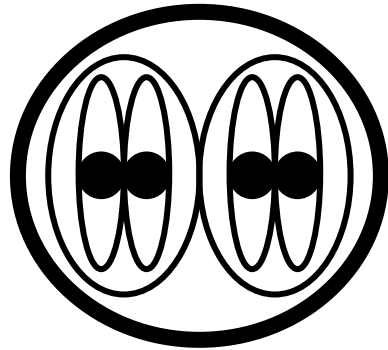


# Cyclospora cayetanensis – onemocnění

Symptomy cyclosporiasy začínají v průměru 7 dní po infekci (od 2 dní do 2 týdnů) vysporulovanou oocystou.

Mezi tyto symptomy lze zahrnout:

- Vodnatý průjem (diarrhea) – nejčastější příznak
- Ztráta chuti k jídlu
- Ztráta váhy
- Křeče
- Nafouknutost
- Plynnatost
- Nevolnost
- Únava



Další méně časté příznaky:

- Zvracení
- Horečka

# **Cyclospora cayetanensis - diagnostika**

## **Mikroskopický průkaz cizopasníka**

- 1. Vlhká komůrka – procházející světlo – DIC nebo UV**
- 2 Fast acid-stain**
- 3. Barvení Safraninem nebo Trichromem**



# Cyclospora cayetanensis – terapie

- Nejčastěji se doporučují **preparáty Trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX)**, prodávané pod komerčními názvy *Bactrim*, *Septra*, a *Cotrim*
- Žádná alternativní antibiotická léčba Cyclosporosy nebyla doposud k terapii navržena a doporučována.
- Řada rutinně pracujících zdravotnických zařízení zatím rovněž nemá vypracované postupy na spolehlivou identifikaci tohoto cizopasníka.

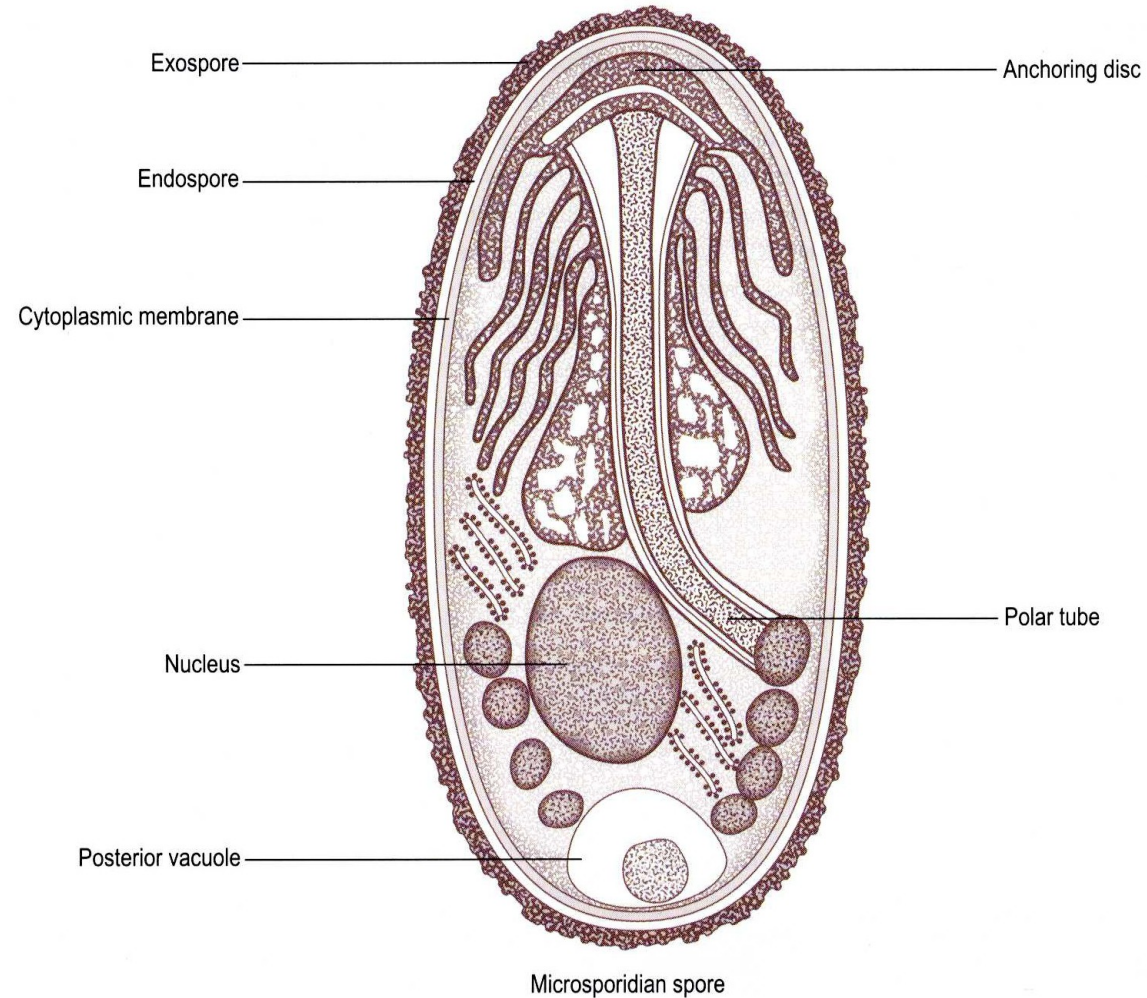
# **Microsporidia**

# Mikrosporidie

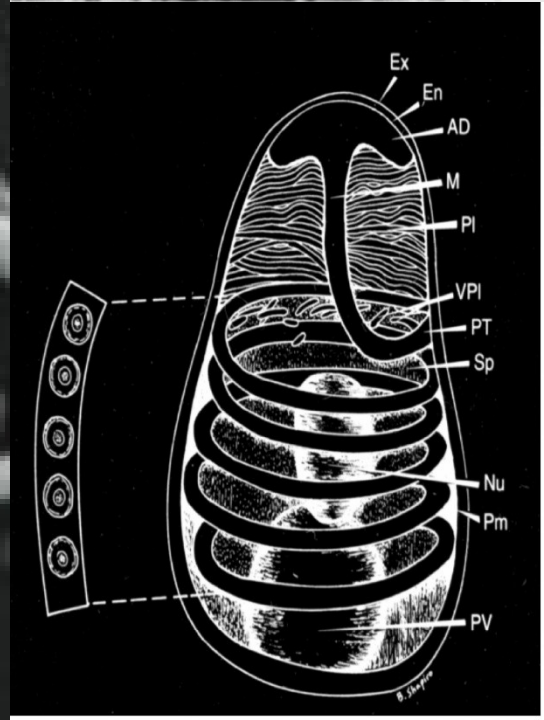
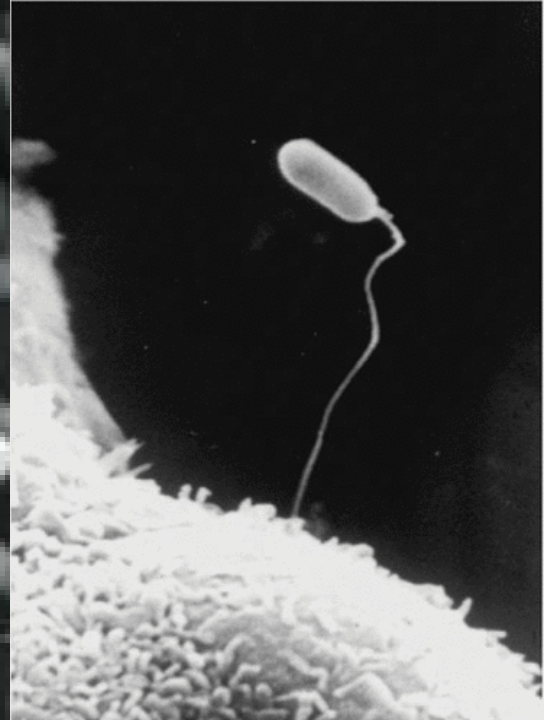
- **Mikrosporidie** (Microsporidia, *Microspora*, česky též **hmyzomorky**) je skupina jaderných organismů, aktuálně považovaná za součást kladu Opisthosporidia sesterského k houbám (Fungi). Její zástupci jsou vnitrobuněční paraziti, většinou vegetující v cytoplasmě hostitelů.
- Známe více než 1200 druhů v 144 rodech

# Microsporidia

## Microsporidia (continued)

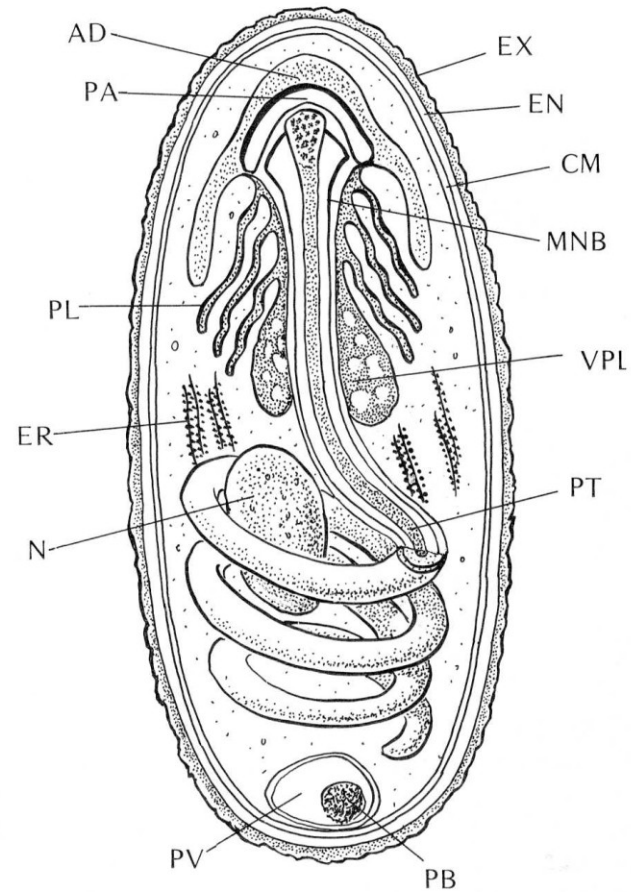
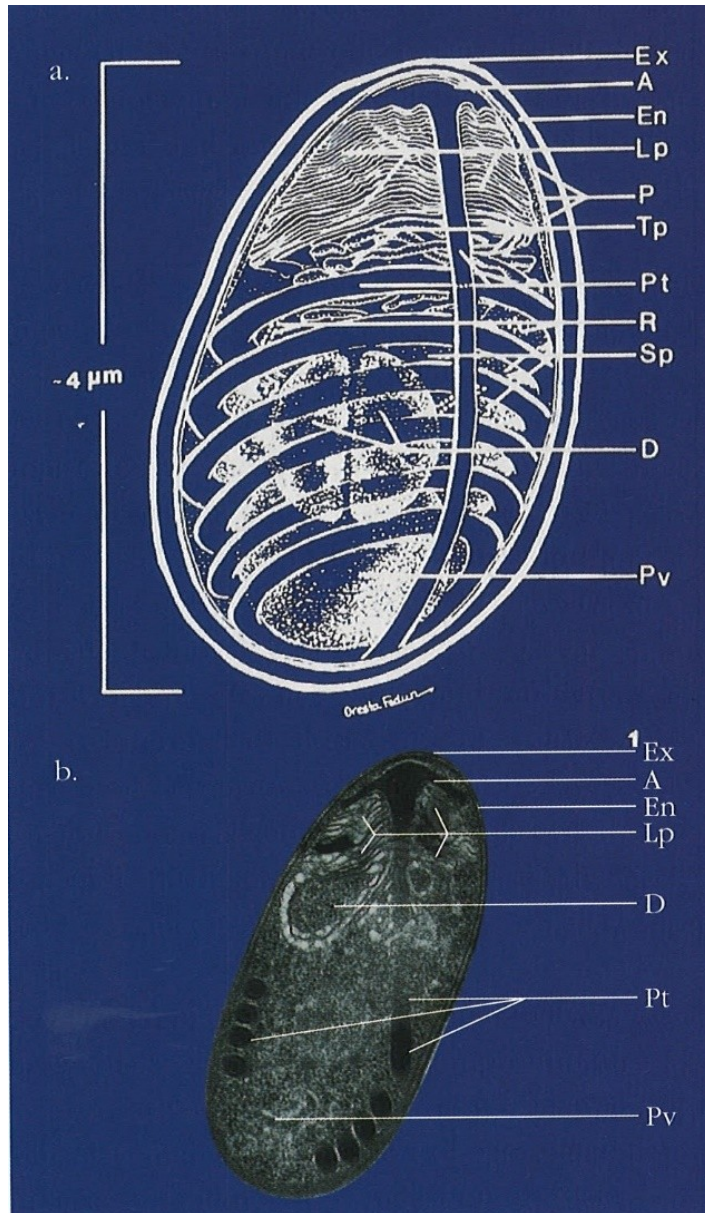




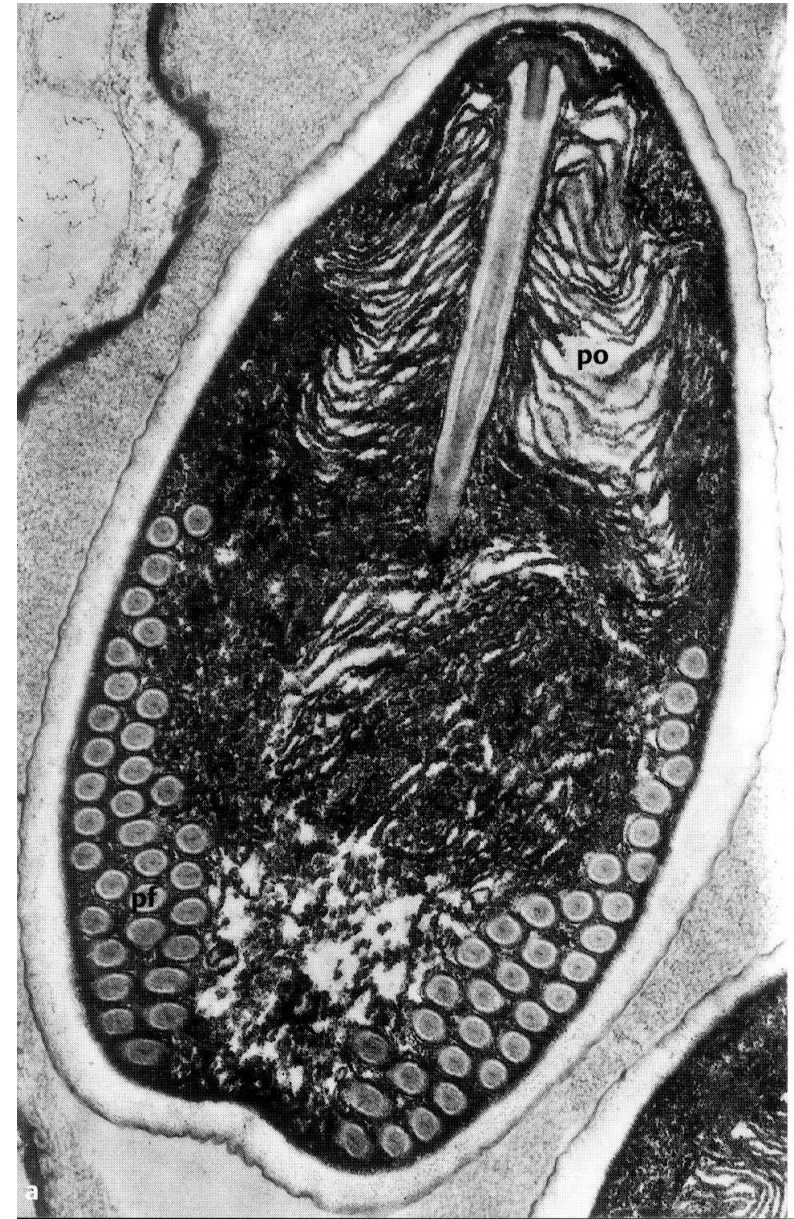




# Diagram spory



**FIGURE 16.5** A diagram of a microsporan spore as revealed by electron microscopy. AD, anchoring disk of the polar tubule; EN, endospore; EX, exospore; MNB, manubrioid part of the filament; N, nucleus; PA, polar aperture; PB, posterior body; PT, polar tube; PL, lamellae of the lamellar polaroplast; PV, posterior vacuole; ER, endoplasmic reticulum densely populated with ribosomes; VPL, vesicular part of the polaroplast.



Obr. 35 Microspora: spora druhu *Pleistophora hypheobryconis* se svinutou pólovou trubicí (pf)

Obr. 36 Spora, x =



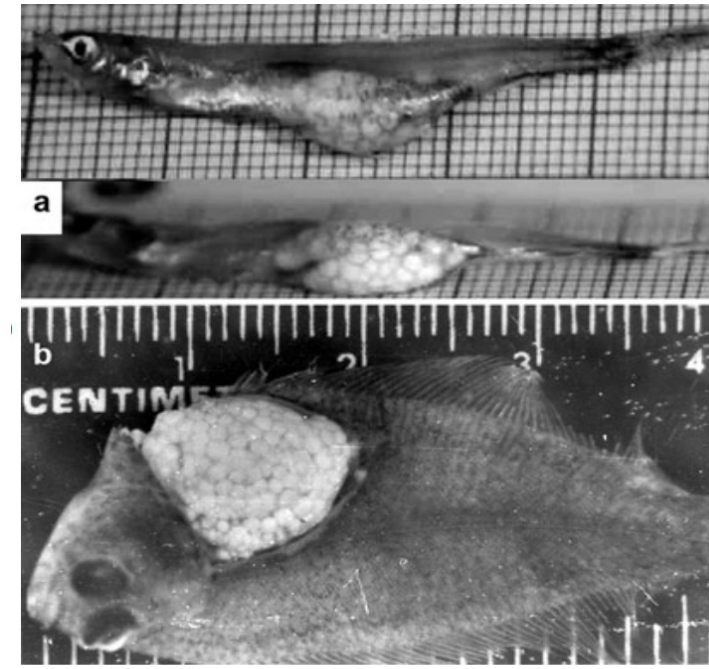
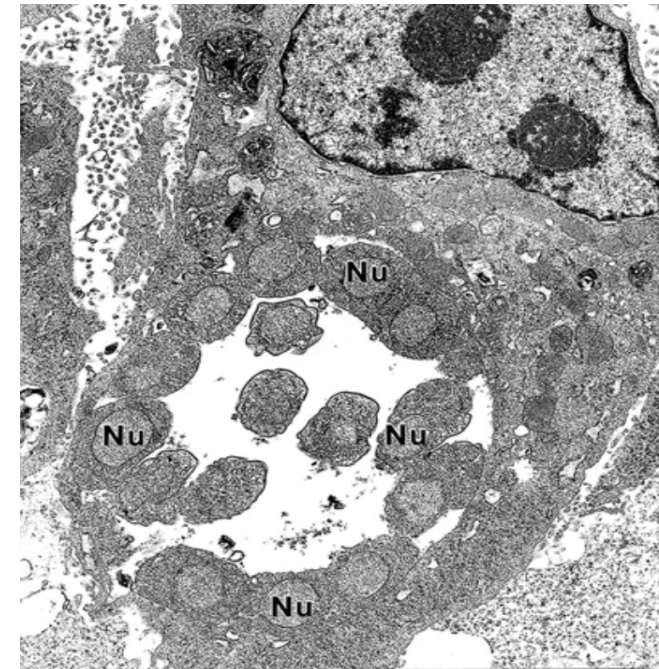
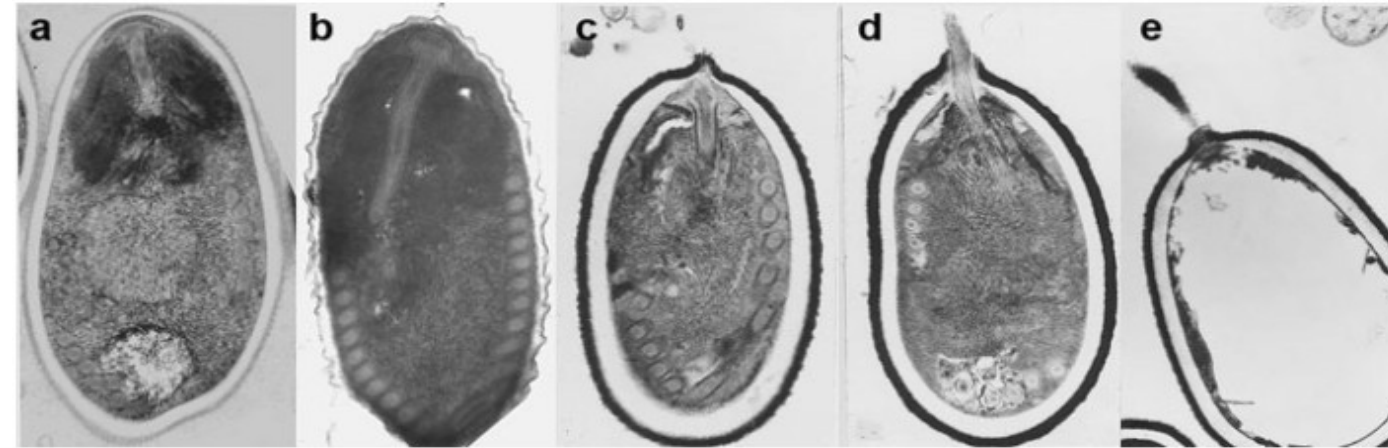
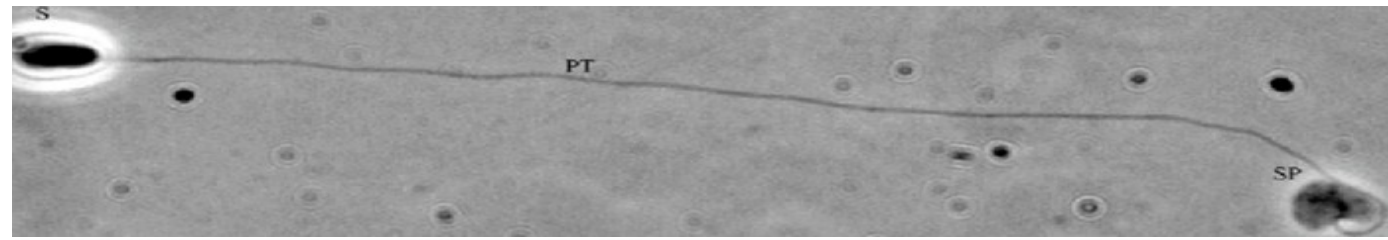
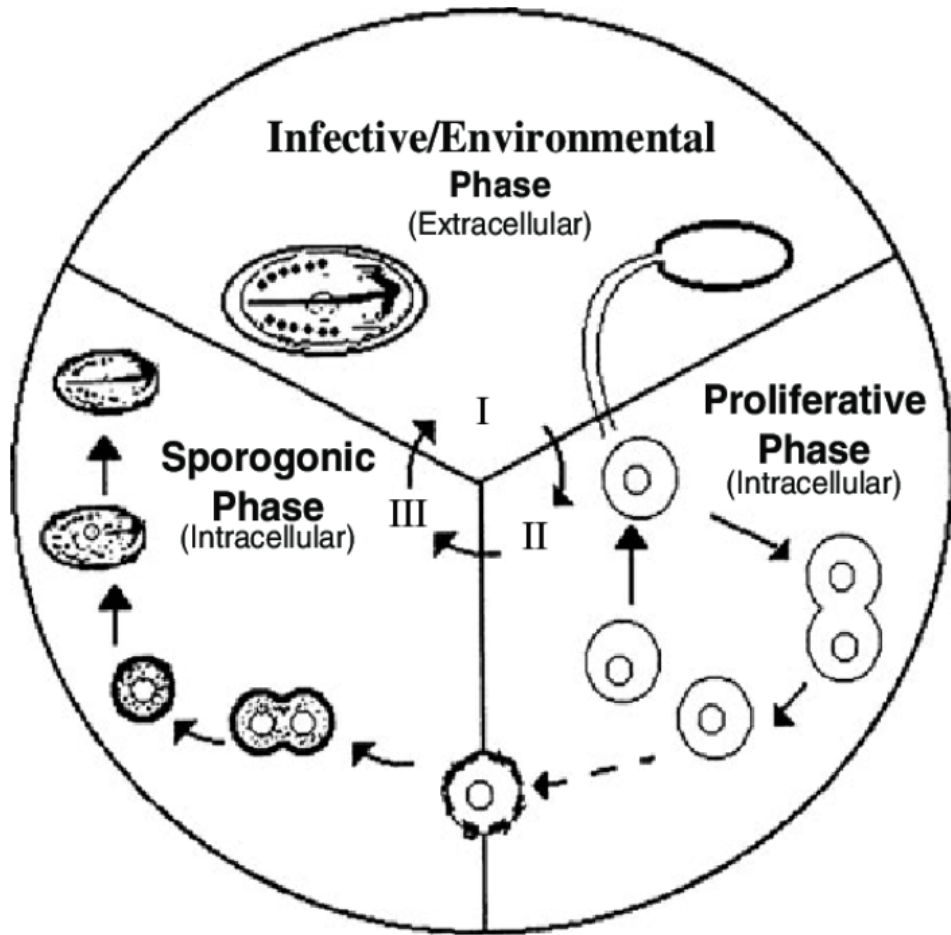
# Microsporidia - charakteristika

Pojem microsporidia je obvykle používán jako označení pro obligátní intracelulární cizopasníky náležející do kmene Microsporidia.

V současnosti je známo přes 1200 druhů náležejících do 143 rodů, které byly popsány jako paraziti velkého spektra hostitelů a to jak obratlovců tak bezobratlých.

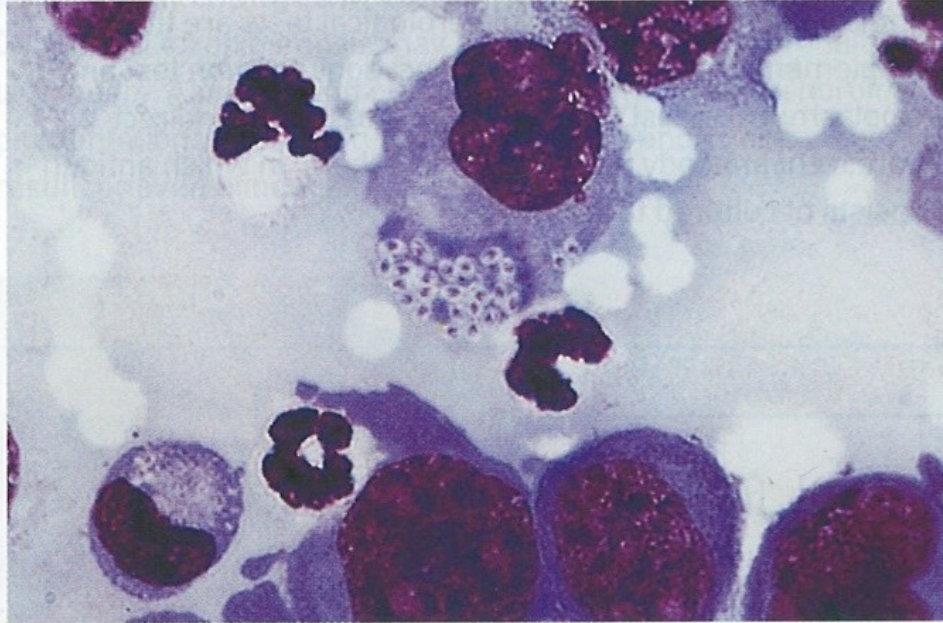
Mikrosporidia jsou charakteristická produkcí odolných spor, které jsou v závislosti na hostiteli co do velikosti velmi variabilní. Vyznačují se unikátními organelami, polárním vláknem nebo polární trubičkou, která je spirálovitě stočená uvnitř spory. Velikost spor mikrosporidií parazitujících u člověka se pohybuje od 1 do 4  $\mu\text{m}$  a tato velikost je důležitým diagnostickým znakem.

# Typický životní cyklus Microsporidií



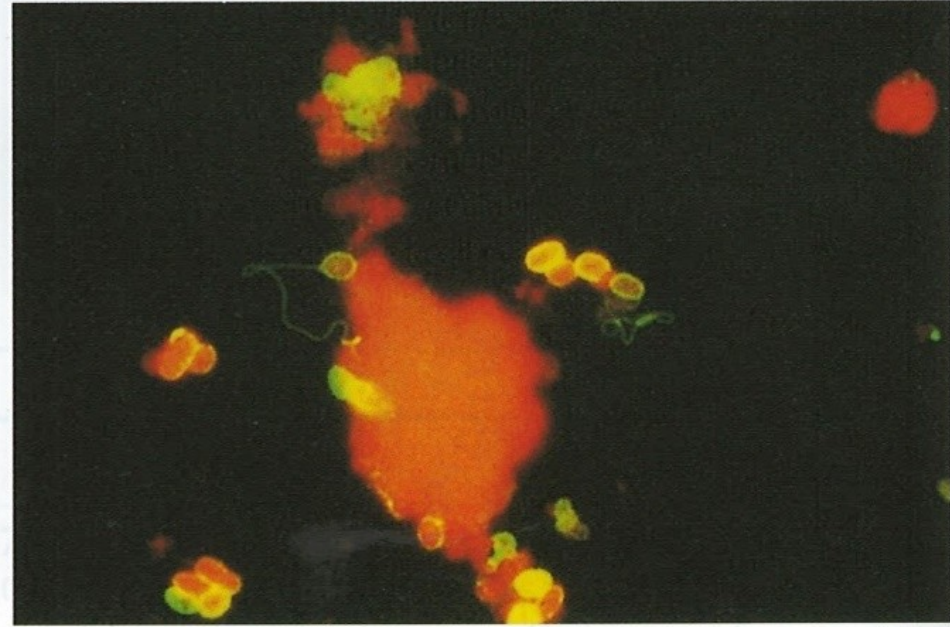


# Microsporidie v hostitelských buňkách



## 705 Microsporidia in a plasmacytoma cell

A clump of spores, probably of a species of *Encephalitozoon*, is seen in the cytoplasm of a macrophage in this bone marrow smear from a patient with a plasmacytoma. This is a rare case of microsporidiosis being detected in an immunocompromised but HIV-negative patient. (Giemsa  $\times 1800$ )

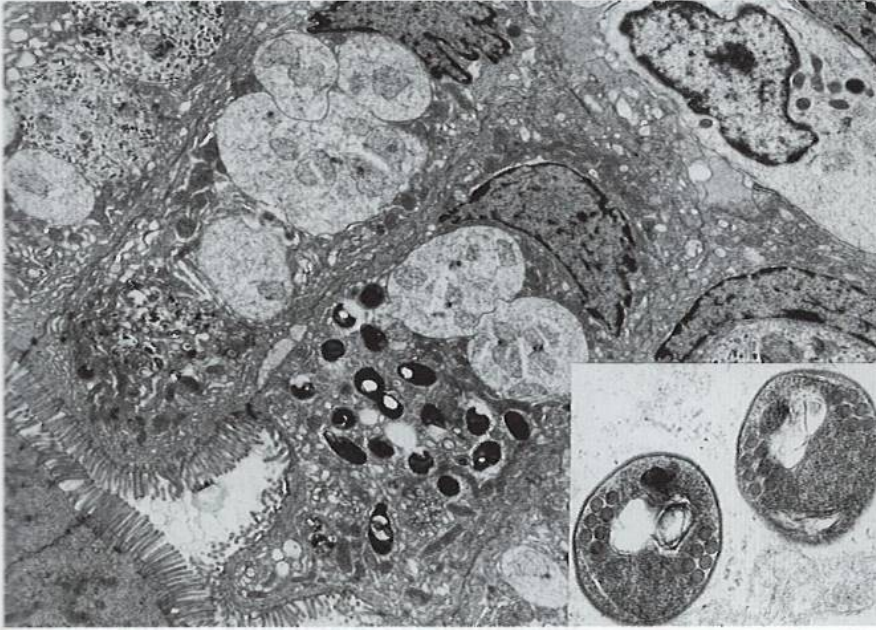


## 706 *Encephalitozoon hellem* in cell culture

This parasite produces a disseminated infection in immunocompromised patients. *E. hellem* causes severe keratoconjunctivitis and has also been found in the urine in patients with signs of urinary tract disease. Spores have been identified, moreover, in sputum, nasal swabs and faeces. Some of the spores seen here in tissue culture and stained with a specific antibody have extruded their polar filaments. (IFAT  $\times 2000$ ) (See also 900.)

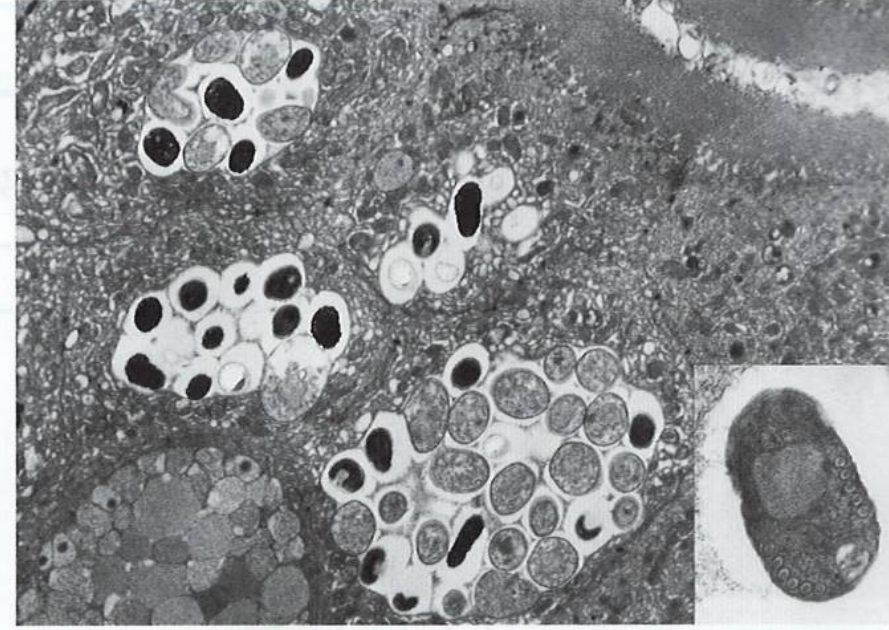


# Zralé spory microsporidií



## 707 Mature spores of *Enterocytozoon bieneusi* in human jejunal enterocyte

Previously considered to be nonpathogenic in humans, infections are now being detected (particularly by biopsy) in individuals with chronic enteritis, cholangitis and cholecystitis who are immunocompromised, especially by AIDS (see also 901). Their possible pathogenic role has, however, not yet been determined. Microsporidia are also suspected as a cause of ill-defined neurological manifestations. Note that the coils of the spiral filament of the spores seen in this biopsy lie in two rows in cross-section. The parasite develops in direct contact with the host cell cytoplasm. (Main section  $\times 2800$ ; inset  $\times 14\ 000$ )



## 708 Mature spores of *Septata intestinalis*

This microsporidian is associated with nephritis and can also produce a similar clinical picture to that seen with *E. bieneusi*. Like that parasite, *S. intestinalis* develops in small-intestinal enterocytes but within a type of parasitophorous vacuole. The cross-section of a spore shows the coils of spiral filament lying in a single row. (Main section  $\times 2800$ ; inset  $\times 14\ 000$ )

# Microsporidia - charakteristika

Existuje nejméně 15 druhů mikroskoporií, které jsou popsány jako patogeni napadající

člověka: *Ancaliia* (formerly *Brachiola*) *algerae*, *A. connori*, *A. vesicularum*, *Encephalitozoon cuniculi*, *E. hellem*, *E. intestinalis*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Microsporidium ceylonensis*, *M.africanum*, *Nosema ocularum*, *Pleistophora* sp., *Trachipleistophora hominis*, *T. anthropophthera*, *Vittaforma corneae*, a *Tubulinosema acridophagus*.

*Encephalitozoon intestinalis* byl dříve nazýván *Septata intestinalis*, ale na základě podobnosti morfologie, antigenní struktury a molekulárních dat, byl pak přeargán do tohoto rodu.

# Microsporidia - charakteristika

Díky současným údajům je známo, že některá domácí a divoká zvířata mohou být přirozeně

napadena některými druhy mikrosporidií: *E. cuniculi*, *E. intestinalis*, *E. bienersi*. Ptáci,

především papušci a rajky, jsou přirozeně napadáni *E. hellem*. *E. bienersi*.  
Druh *V. corneae*

byl identifikován v povrchových vodách a spory *Nosema* sp. byly zjištěny ve vodních příkopech,

*Tubulosema acridophagus*, je parazit hmyzu a současně době (2012) byly popsány dva

případy diseminované mikrosporidiosis vyvolané tímto cizopasníkem.



# Medicínský význam microsporidií

## Microsporidiosis

The medical importance of microsporidial infections in humans has only recently been highlighted by the frequent recognition of these parasites in

material from patients with HIV infection and AIDS (see **Table 19**).

**Table 19** Microsporidiosis in humans

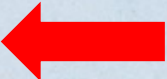





Genus and species	Sites	Geographical distribution	Notes
<i>Pleistophora</i> spp.	Striated muscle	USA	Two cases, immunocompromised ♂♂, one HIV <sup>+</sup> , one HIV <sup>-</sup>
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	Brain, kidney, liver,	? Global	Very rare, four cases HIV <sup>-</sup> or HIV <sup>+</sup>
<i>Encephalitozoon hellem</i>	Systemic spread to nose, eye, lung, kidney, etc.	? Global	May be transmitted via sputum, urine, nasal aerosol; known only from HIV <sup>+</sup> patients
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	Small and large intestine, gall bladder, bile duct, lung, nasal epithelium	Global	Found in 6–30% of all AIDS patients with chronic diarrhoea; one case HIV <sup>-</sup>

*continued*



# Medicínský význam microsporidií

**Table 19** Microsporidiosis in humans—*cont'd*

<i>Nosema corneum</i>	Eye		Single case, HIV <sup>-</sup>	
<i>Nosema ocularum</i>	Eye		Single case, HIV <sup>-</sup>	
<i>Nosema connori</i>	Striated and smooth muscle, generalised	USA	Single, immunodeficient (athymic) infant	
<i>Septata intestinalis</i>	Small and large intestine, kidney, liver, gall bladder, bronchial epithelium, systemic spread	Global	Found in about 2% of all AIDS patients with chronic diarrhoea	
' <i>Microsporidium africanum</i> '	Eye	Botswana	Single case, adult ♀	
' <i>Microsporidium ceylonensis</i> '	Eye	Sri Lanka	Single case, 11-year-old ♂	

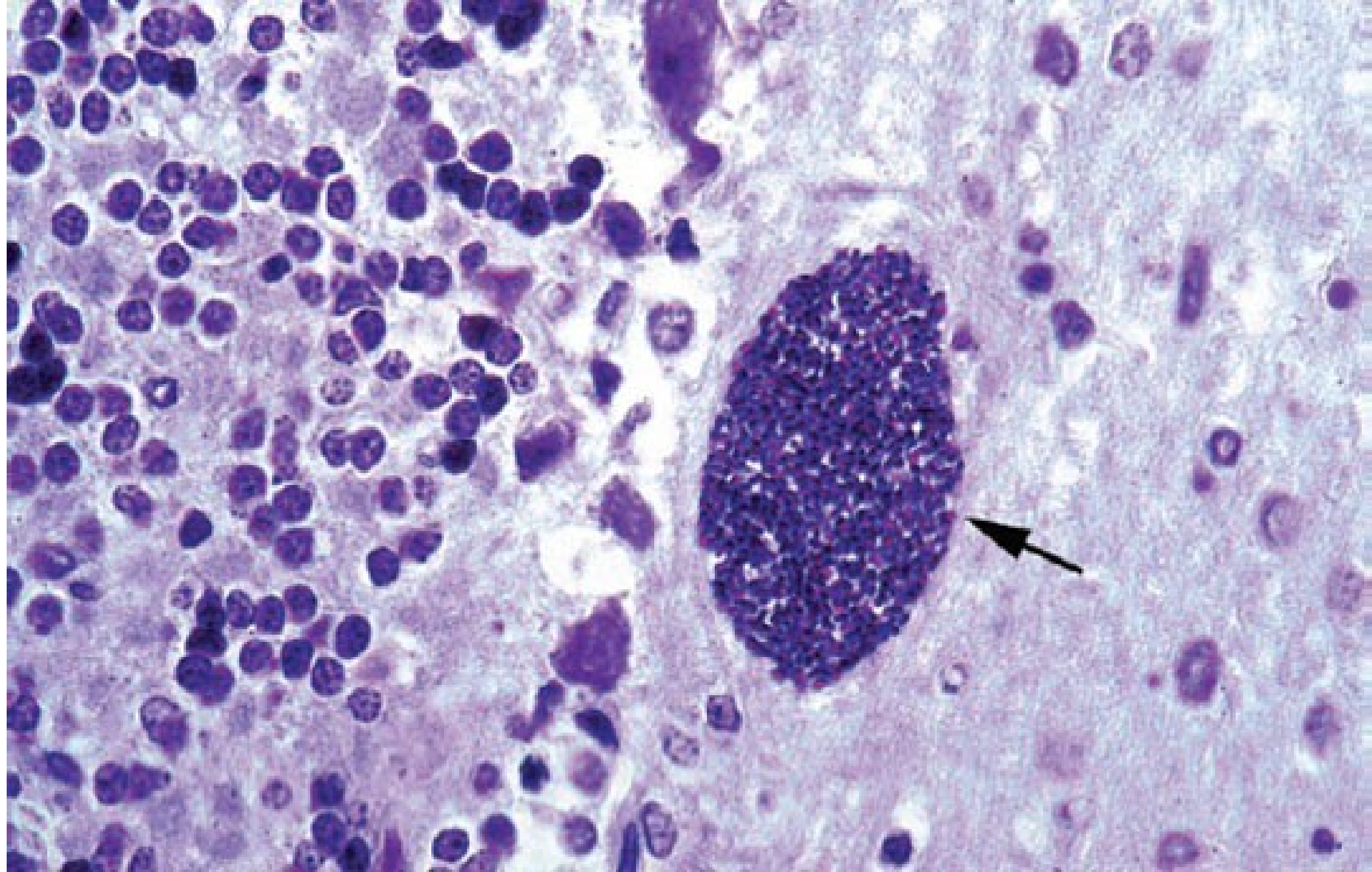
The classification of some species is still disputed. Infections with other species in immunocompromised individuals have been reported recently.

# **Encephalitozoon cuniculi**

# Encephalitozoon cuniculi

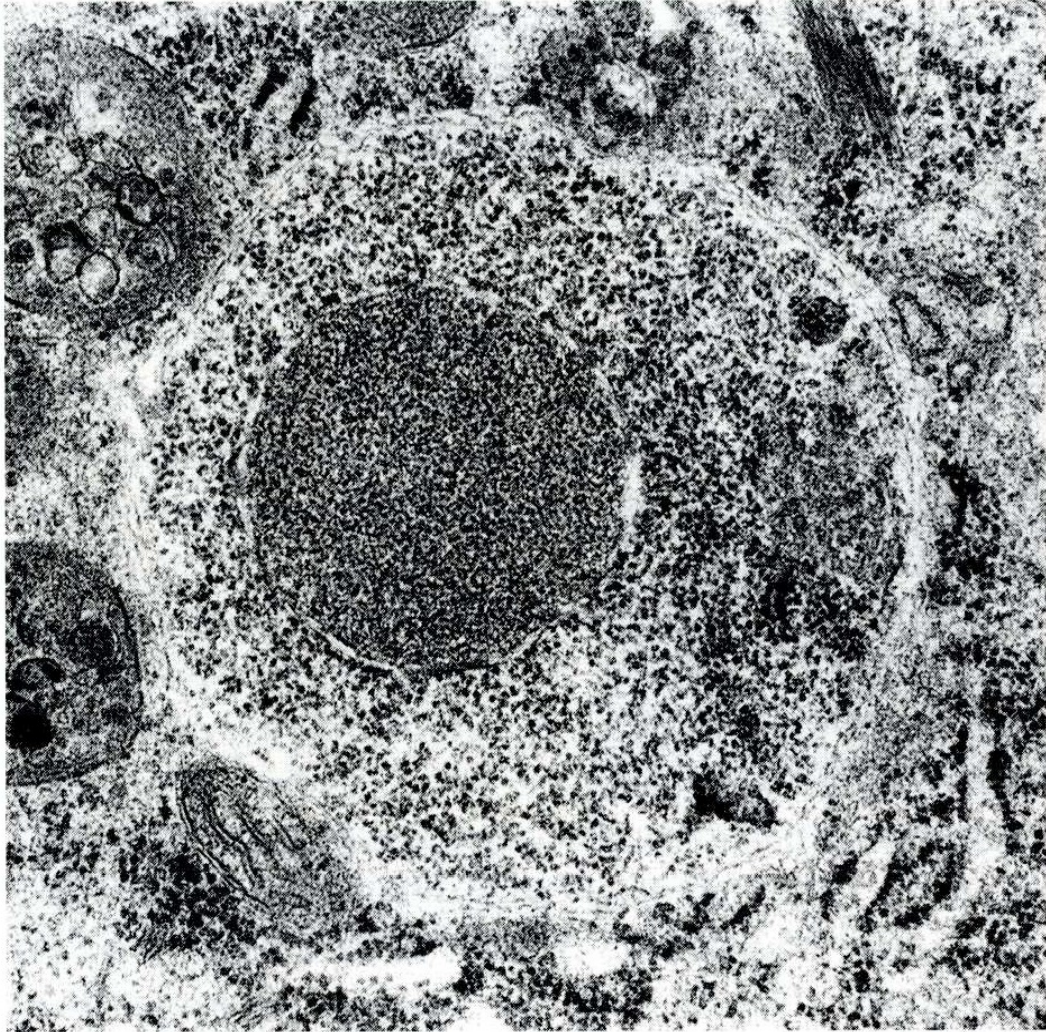
- ***Encephalitozoon cuniculi*** je parazitická mikrosporidie (tedy spáživá houba). Jako ostatní mikrosporidie, i tato je obligátní intracelulární parazit postrádající mitochondrie a peroxizomy.
- Dlouho byl sekvenovaným eukaryotickým organismem s nejmenším genomem - pouze 2,9 milionů párů bází, než byl v roce 2010 na této pozici vystřídán druhem *Encephalitozoon intestinalis* s genomem o pouhých 2,3 milionů párů bází.



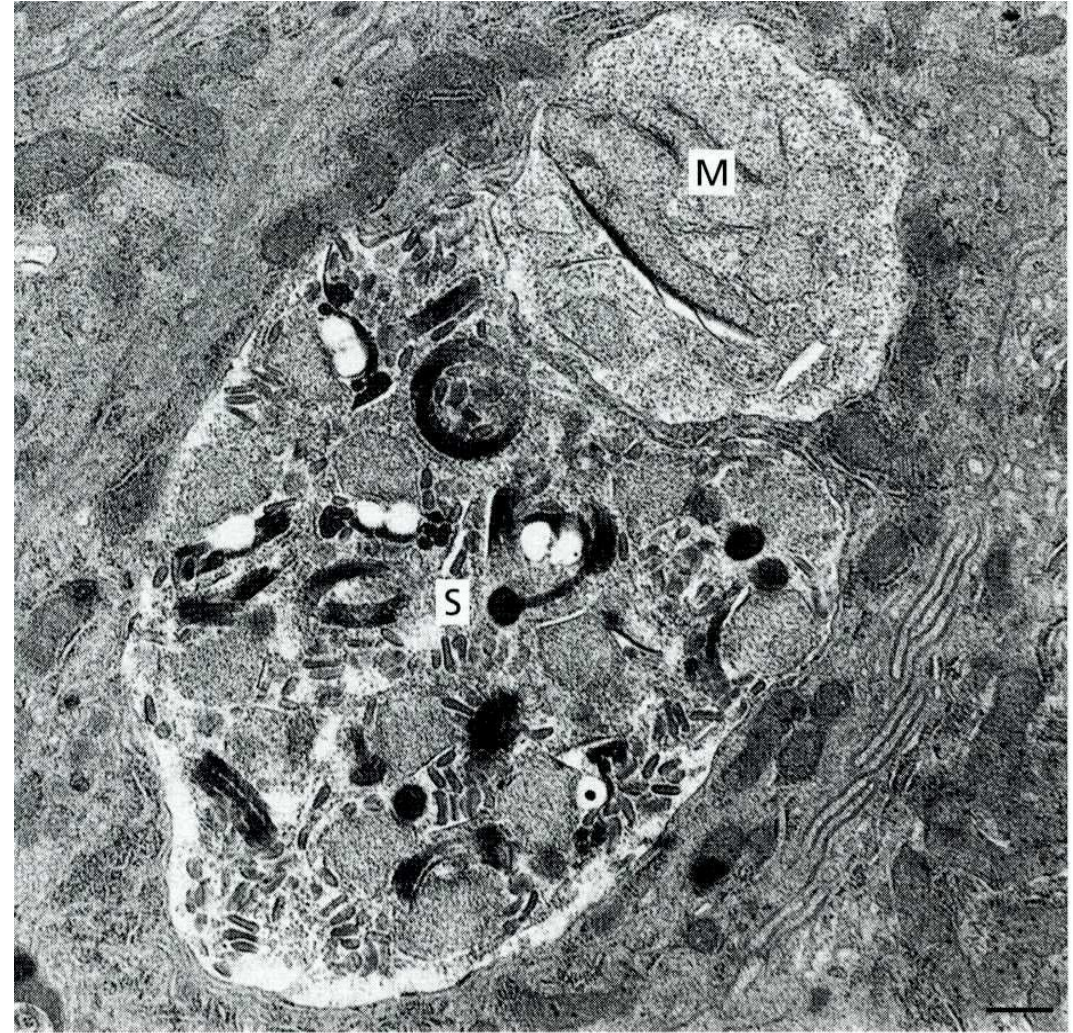




# Encephalitozoon cuniculi



**Figure 25.6** Possible sporoplasm of *Encephalitozoon hellem* in a



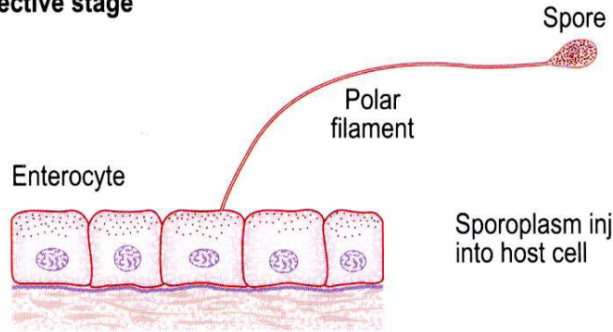
**Figure 25.7** Duodenal enterocyte infected with *Enterocytozoon bieneusi*. Here, a merogonic (M) and a sporogonic (S) stage lie



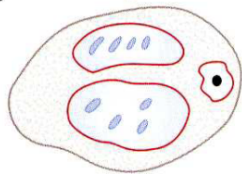
# Microsporidia – životní cyklus

## Life cycle

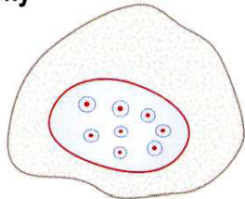
### Infective stage



### Merogony



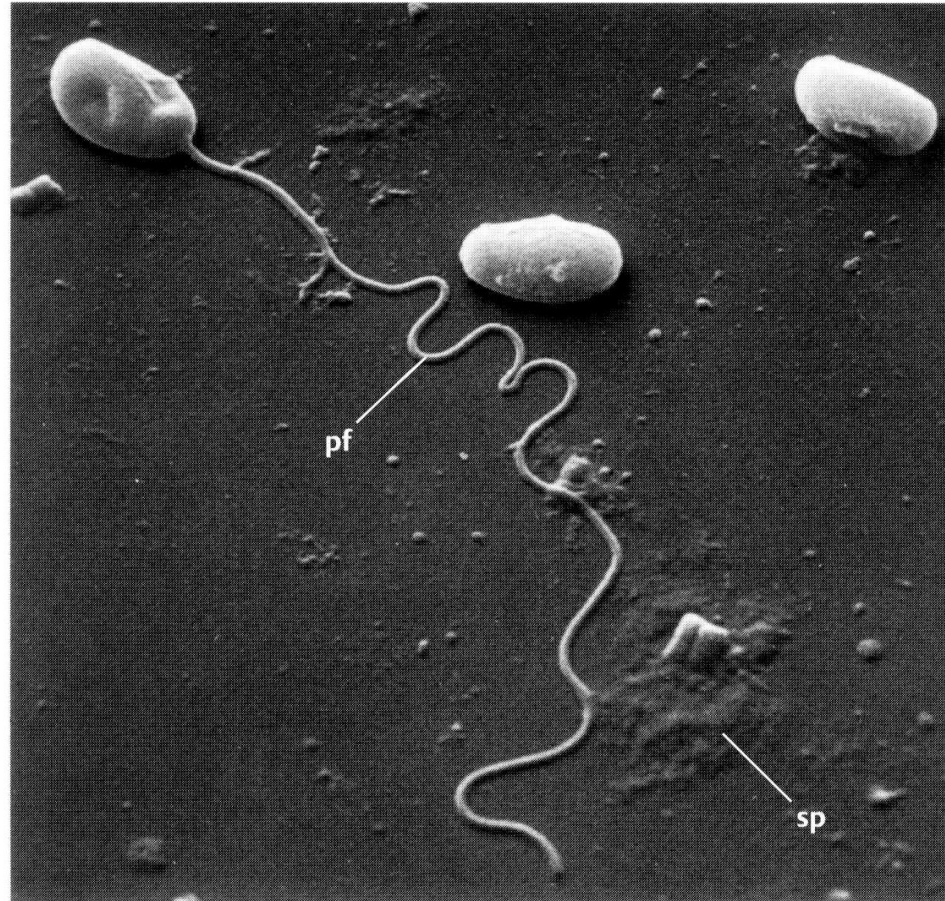
### Sporogony



Infective spores released into the gut lumen

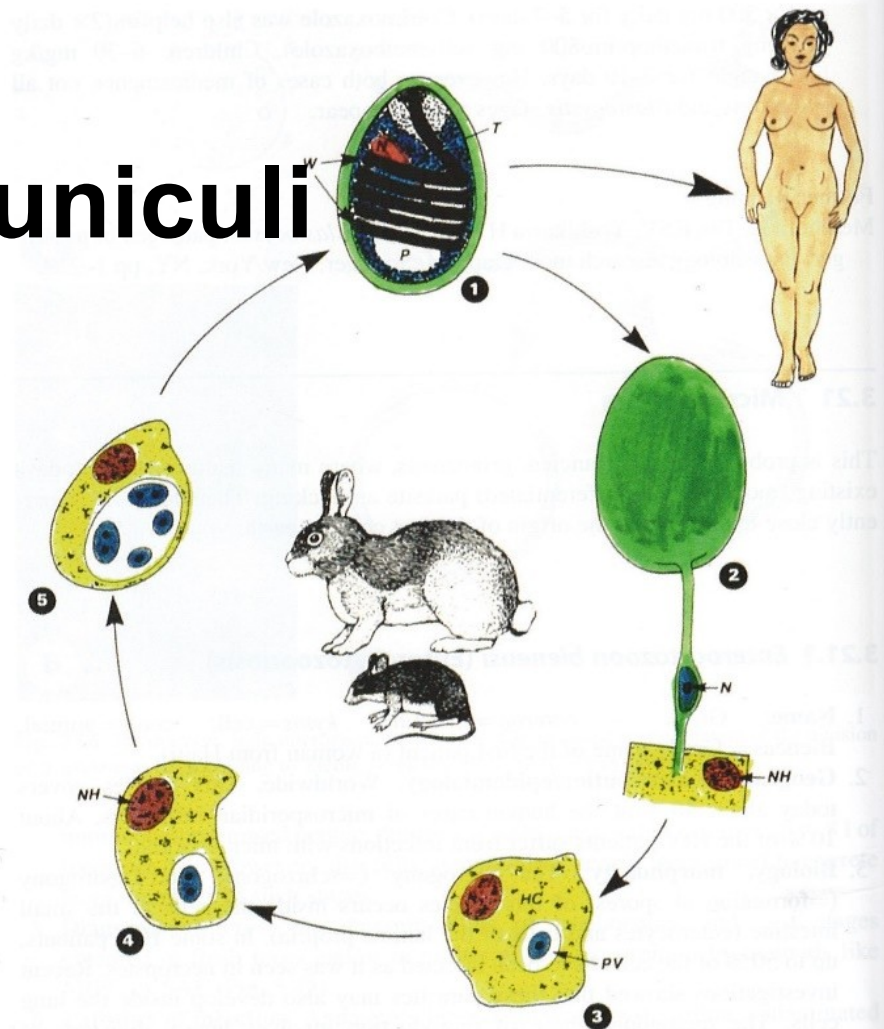
## Laboratory diagnosis

Alternative staining methods for microsporidial spores in stool samples are modified trichrome stain and uvitex 2B or calcofluor fluorescence.



# Životní cyklus: *Encephalitozoon cuniculi*

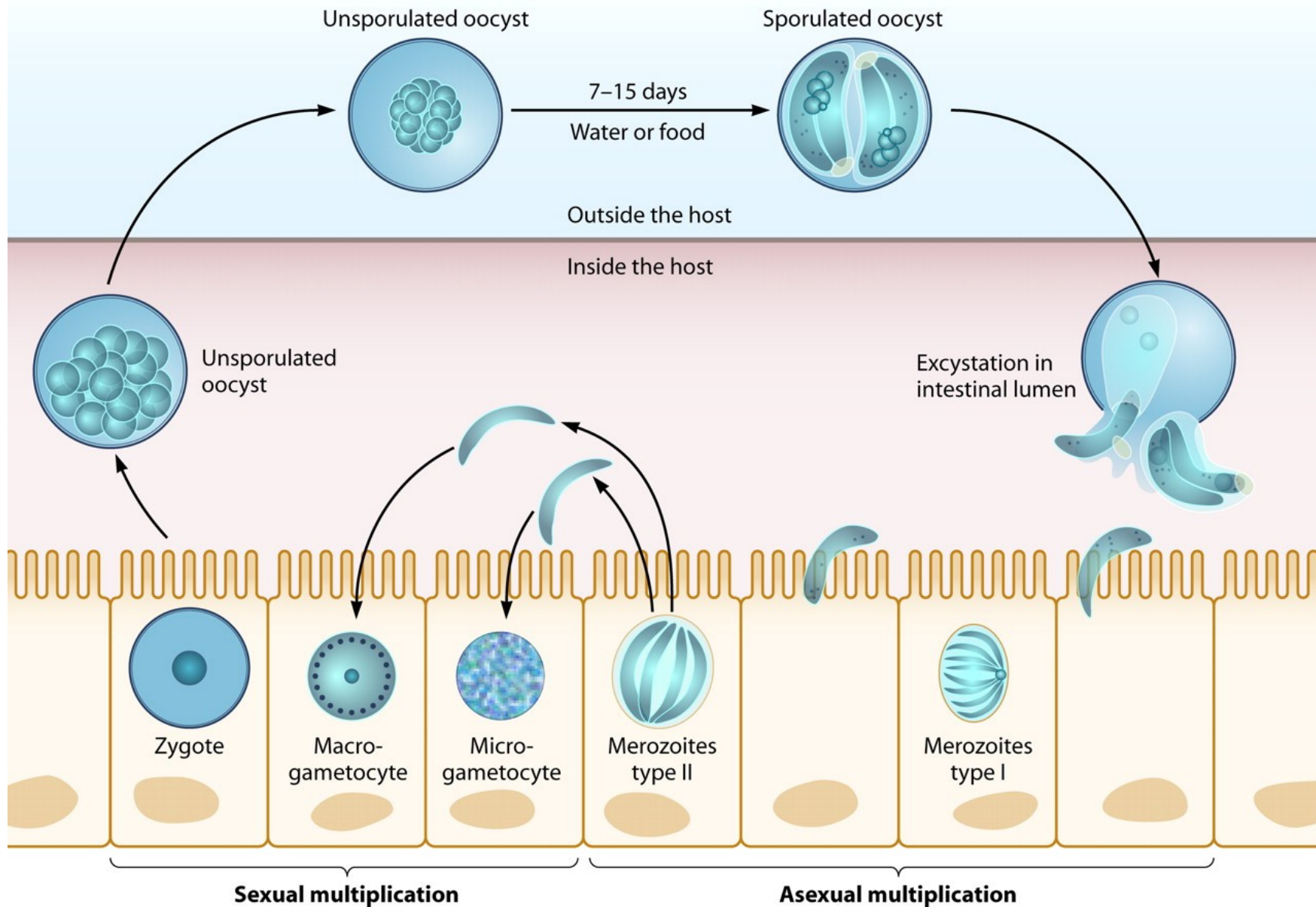
- 1) Imunodeficientní pacient (AIDS) je orálně nakažen kontaminovanou potravou (např. z moči zvířete)
- 2) Ve střevě člověka dojde injikování parazita do epiteliální buňky střeva.
- 3) V ní se tvoří parazitoforní vakuola, ve které se parazit binárním dělením opakovaně množí.
- 4) Poslední binární dělení vede ke vzniku dvou jednojaderných sporoblastů, které se dále diferencují v infekční spory.
- 5) Spory jsou vylučovány z těla stolicí.



**Fig. 3.57** Life cycle of *Encephalitozoon cuniculi*, which may parasitize within a variety of hosts including immune-depressive humans. (1) The infection of AIDS patients occurs via oral uptake of spores that derive from urine of animals (via contaminated food or via touching of furs). The mature uninuclear spore is characterized by five windings of the polar tube (1) and the occurrence of a posterior vacuole (P). (2, 3) In human intestine the spore extrudes the polar tube which is injected into a host cell. The uninuclear sporoplasm creeps through the tube in the cytoplasm of the host cell, where it is included within a parasitophorous vacuole. (4, 5) Reproduction by repeated binary fissions. The last binary fission (5) leads to two uninuclear sporoblasts, which each growing up and differentiating into an infectious cyst. The latter are set free when the host cell is used up and bursts. Thus these spores may become distributed in the whole body or set free in human stool. HC host cell; N nucleus; NH nucleus of host cell; P posterior vacuole; W windings of the polar tube; T polar tube



# Encephalitozoon cuniculi



# Klinické příznaky mikrosporidiózy

## Druh mikrosporidie

## Klinický příznak

*Anncaliia algerae*

Keratoconjunctivitis, skin and deep muscle infection

*Enterocytozoon bieneusi*

Diarrhea, acalculous cholecystitis

*Encephalitozoon cuniculi* and

Keratoconjunctivitis, infection of respiratory and genitourinary tract, disseminated infection

*Encephalitozoon intestinalis*

Infection of the GI tract causing diarrhea, and dissemination to ocular, genitourinary and respiratory tracts

*Microsporidium ceylonensis* and *M. africanum*

Infection of the cornea

*Nosema* sp. (*N. ocularum*), *Anncaliia connori*

Ocular infection

*Pleistophora* sp.

Muscular infection

*Trachipleistophora anthropophthera*

Disseminated infection

*Trachipleistophora hominis*

Muscular infection, stromal keratitis, (probably disseminated infection)

*Tubulinosema acridophagus*

Disseminated infection

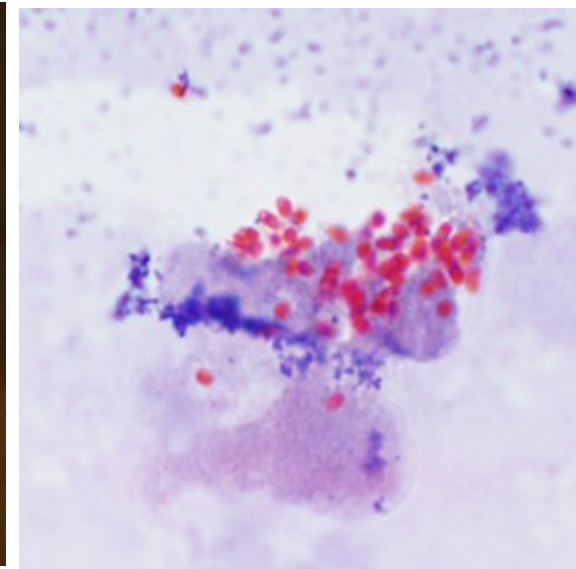
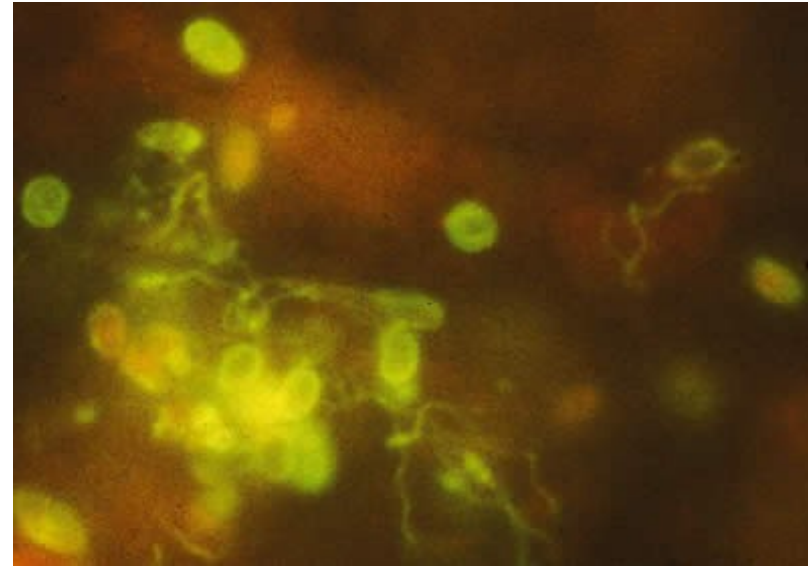
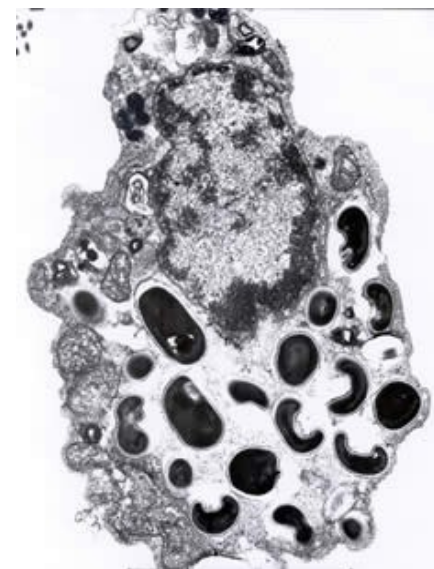
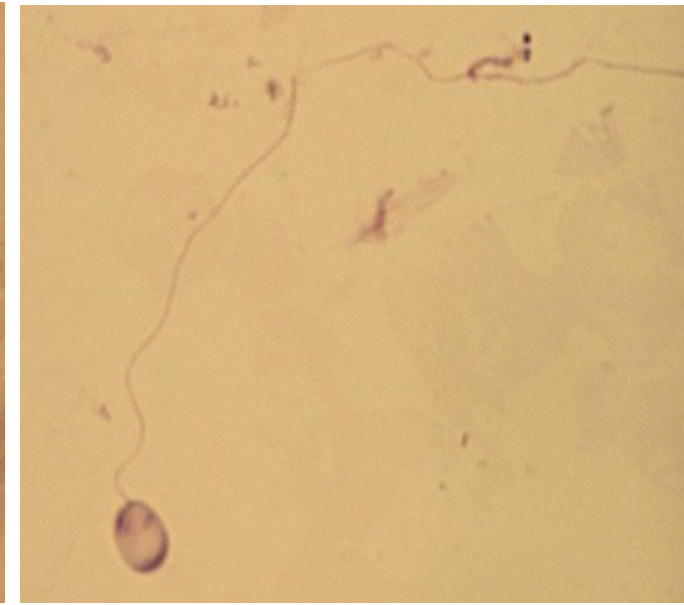
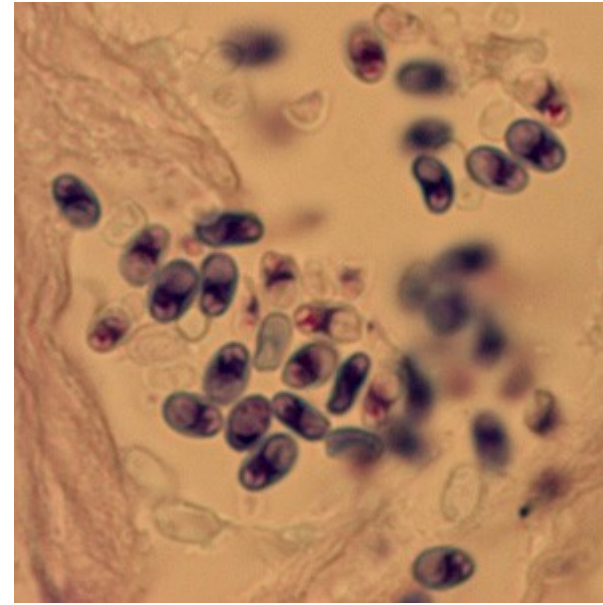
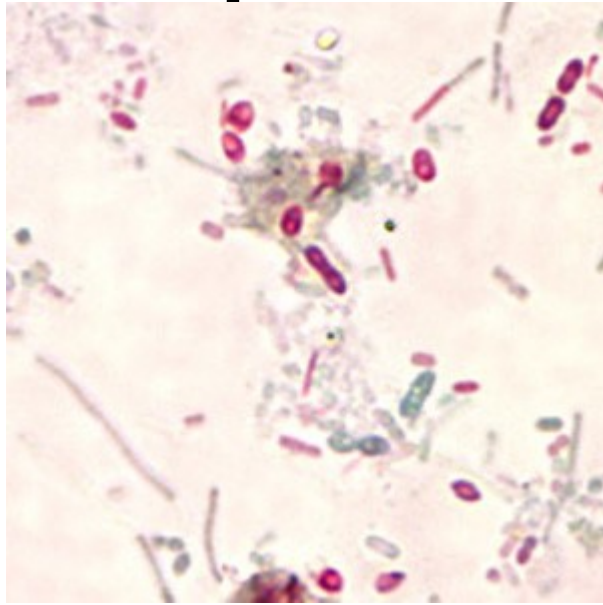
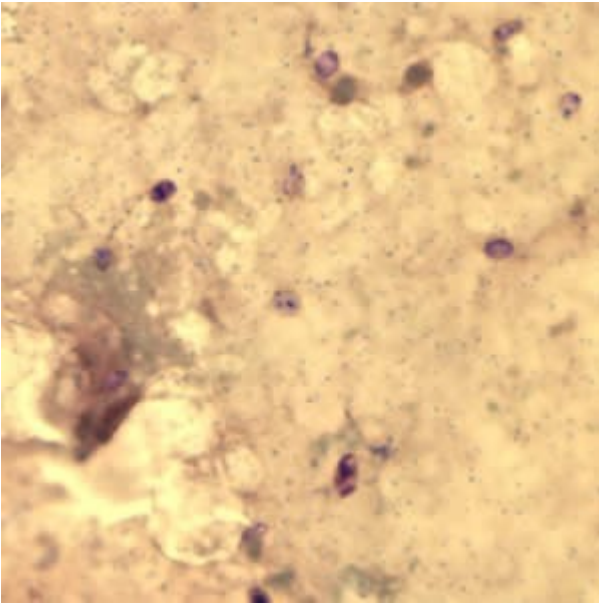
*Vittaforma corneae* (syn. *Nosema corneum*)

Ocular infection, urinary tract infection

# Laboratorní diagnostika

- Mikroskopické vyšetření
- Transmisní elektronová mikroskopie TEM
- Imunofluorescence IFA
- Molekulární metody – především PCR

# Mikroskopické vyšetření stolice spory *Encephalitozoon cuniculi*



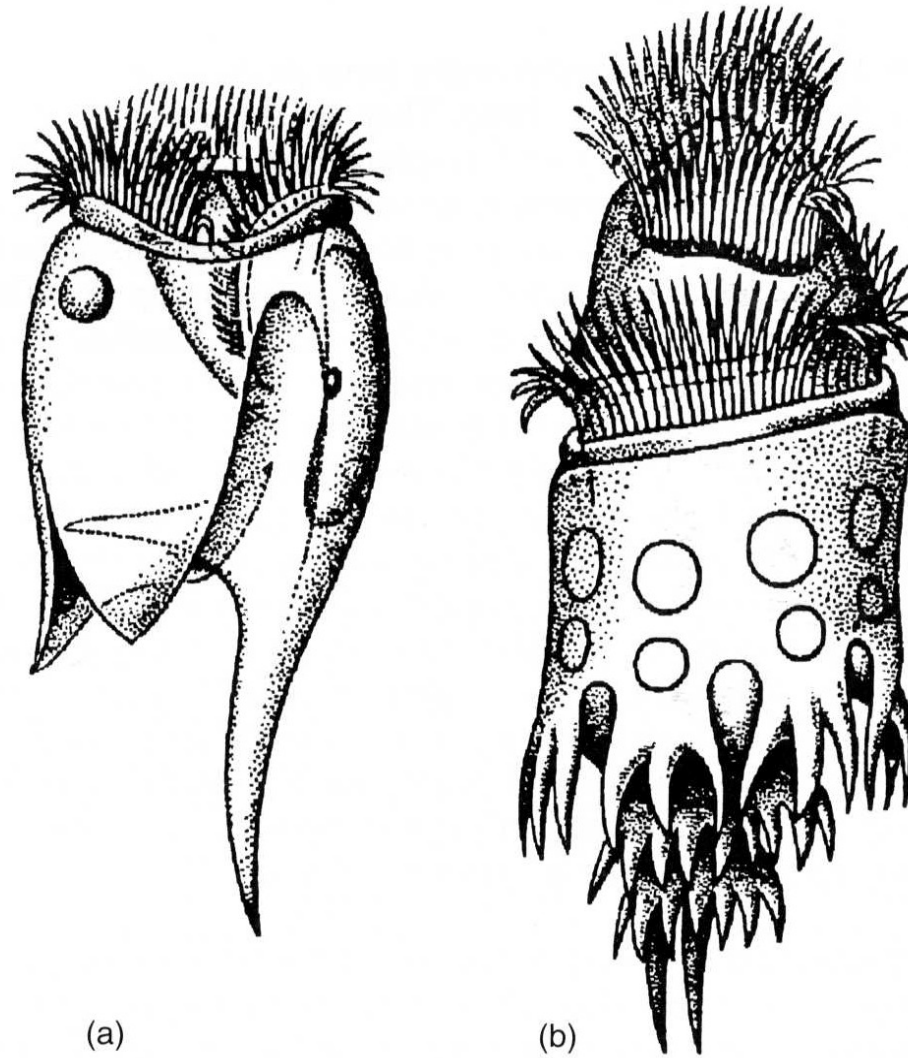


Ciliata: *Balantidium coli*



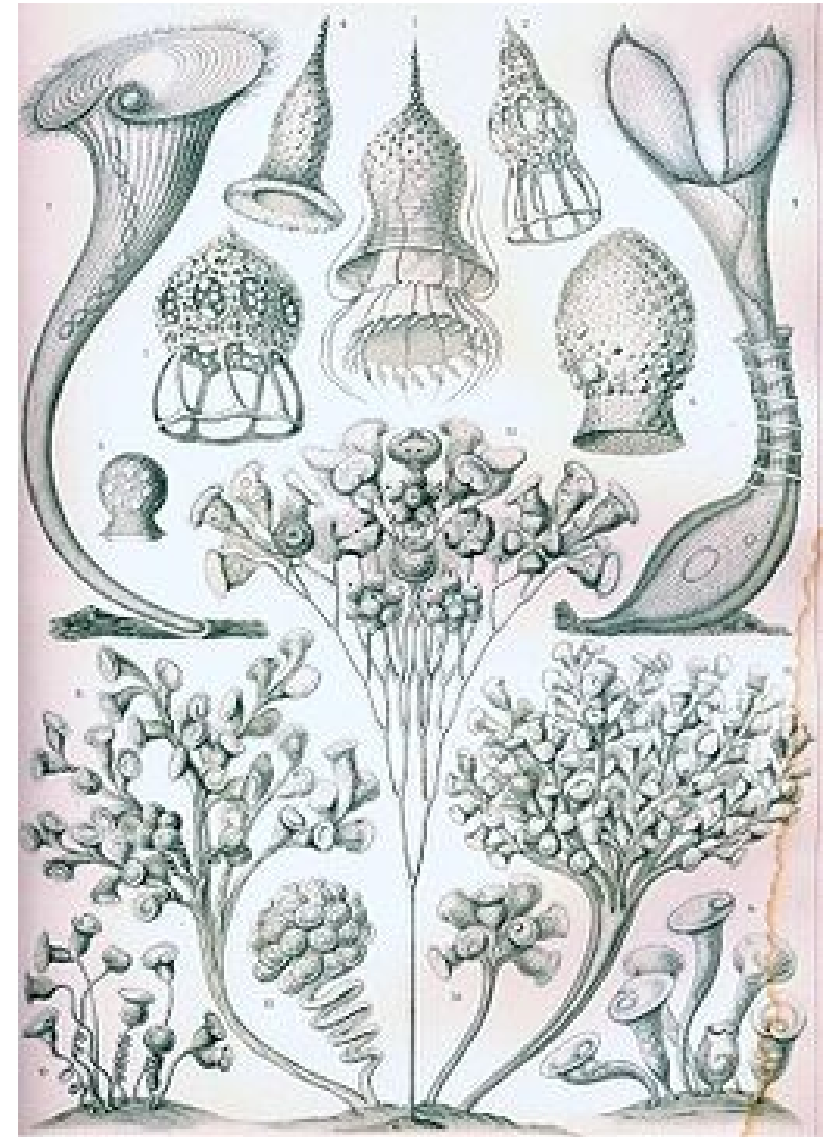
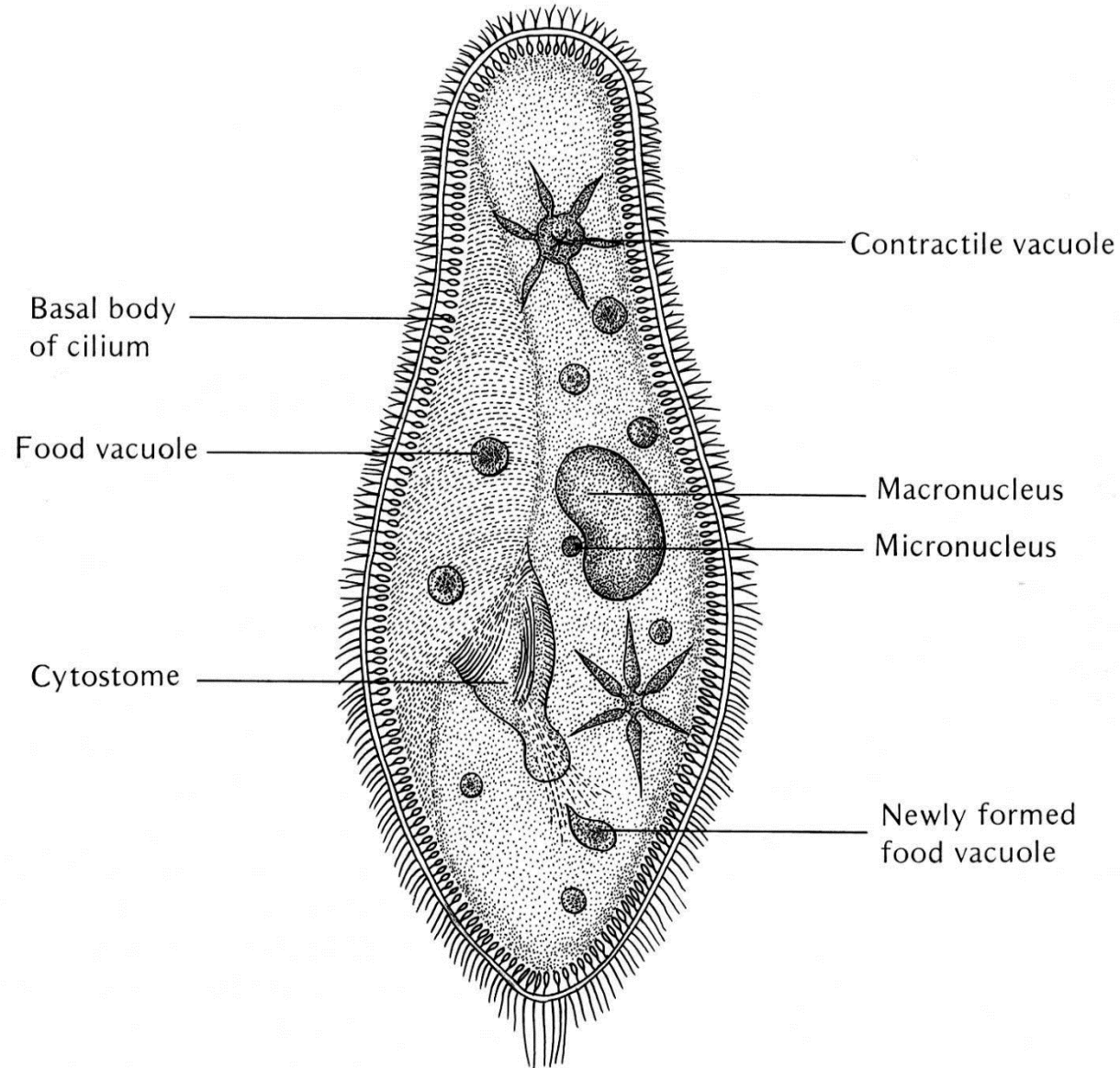
fineart  
america

# Ciliophora - nálevníci



**Figure 10.5** Examples of rumen ciliates.  
(a) *Entoldinium caudatum*; (b) *Ophryoscolex purkinjei*.

# Nálevníci - morfologie



# Nálevníci – Ciliophora, Ciliata

**Nálevníci** (Ciliophora, Ciliata) jsou jednobuněčné eukaryotické organismy (protisté) klasifikovaní v současné době v rámci **kladu Alveolata** jako zástupci **superskupiny Sar**.

Mají **složitou stavbu buňky**, na povrchu vybavené množstvím brv (bičíků), které slouží **k pohybu** nebo **přísunu potravy** (odtud starší název této skupiny - obrvení).

Většina žije volně, další jsou mutualisti či komenzálové přežvýkavců, jiní jsou parazité. Je známo asi 2500 druhů parazitických a 4700 druhů volně žijících nálevníků. Podle fosilního záznamu existují již více než 700 milionů let.



# Morfologie

Společné znaky :

(A) **Mají 2 jádra.** Jedno z nich je větší, nazývá se **makronukleus** neboli **jádro vegetativní a řídí všechno mimo rozmnožování.** Druhé jádro je menší, nazývá se **mikronukleus** neboli **jádro generativní a řídí rozmnožování.**

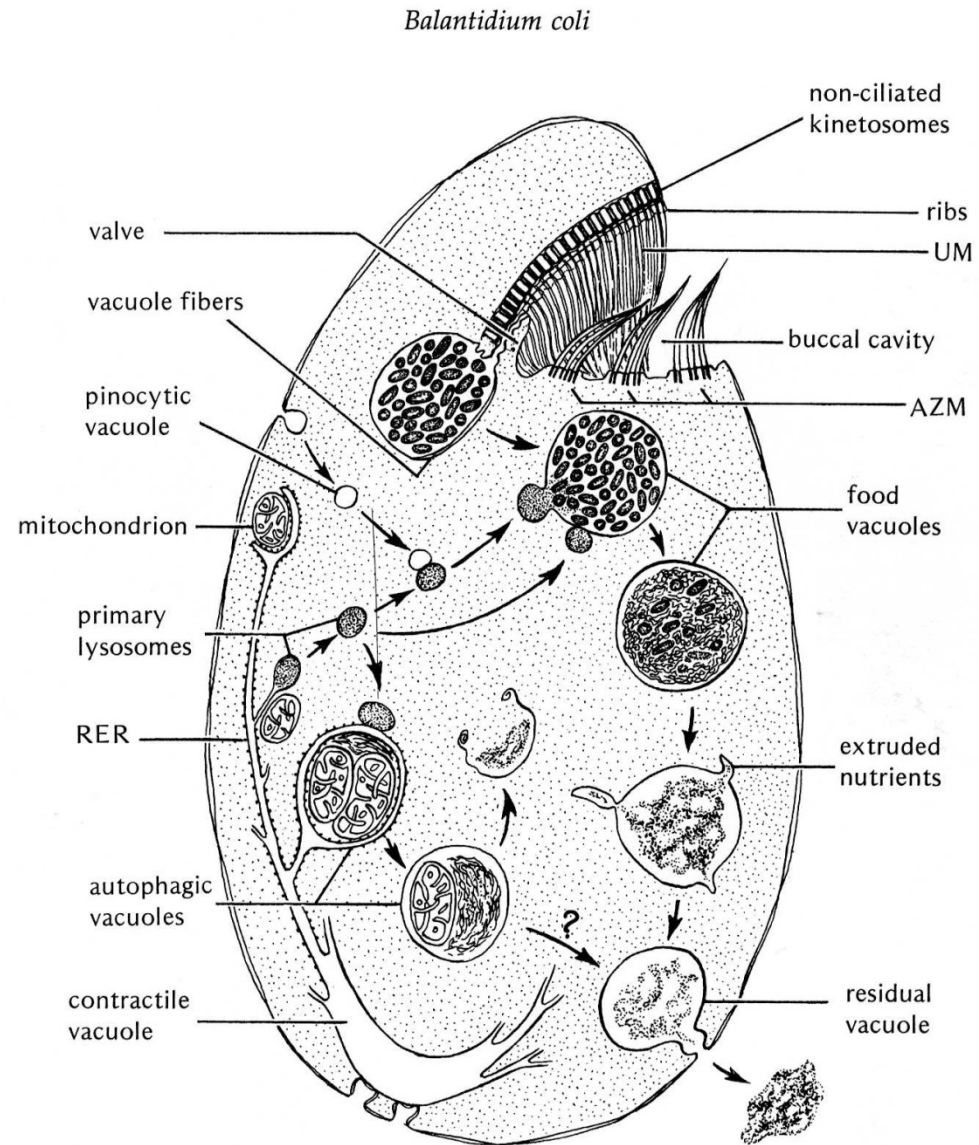
(B) Ohraničení buňky tvoří **pelikula.** Je tvořena dvojitou cytoplazmatickou membránou. Buňka ostatních prvoků je ohraničena jednoduchou cytoplazmatickou membránou.

(C) Na pelikule vyrůstá **velký počet brv** (= řasinek ). Brvy jsou podobné bičíkům, ale na rozdíl od bičíků jsou kratší a je jich větší počet.

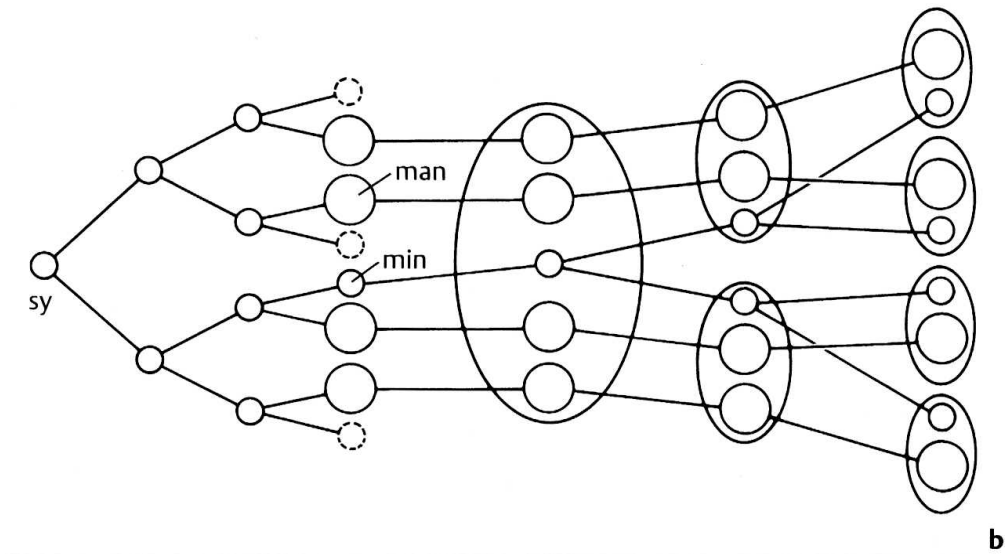
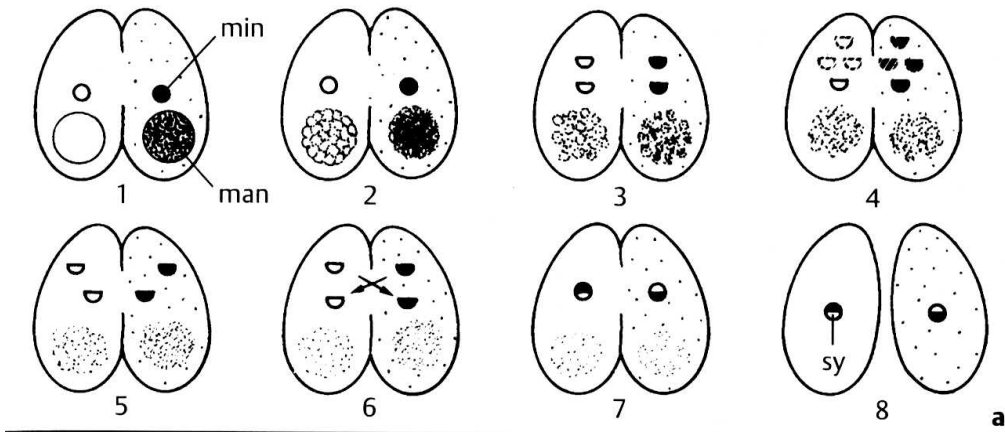
(D) Rozmnožují se **bud' příčným dělením** nebo **spájením** neboli **konjugací.**

**Příčné dělení** je obvyklé i u jiných organismů. Je to druh nepohlavního rozmnožování. Jméno má od toho, že se **mateřská buňka rozdělí na dvě buňky dceřiné v příčné rovině.** Trvá asi 0,5 dne.

# Balantidium coli – vznik potravní vakuoly



# Nálevníci rozmnožování - konjugace



**Spájení neboli konjugace je rozmnožování typické právě jen pro nálevníky.**

Na rozdíl od příčného dělení je konjugace:

- a) typická jen pro nálevníky
- b) druh pohlavního rozmnožování
- c) děj, kde jsou potřeba 2 nálevníci
- d) daleko složitější
- e) časově delší – trvá asi 2,5 dne
- f) dělení, kdy z každé buňky vzniknou 4 buňky nové

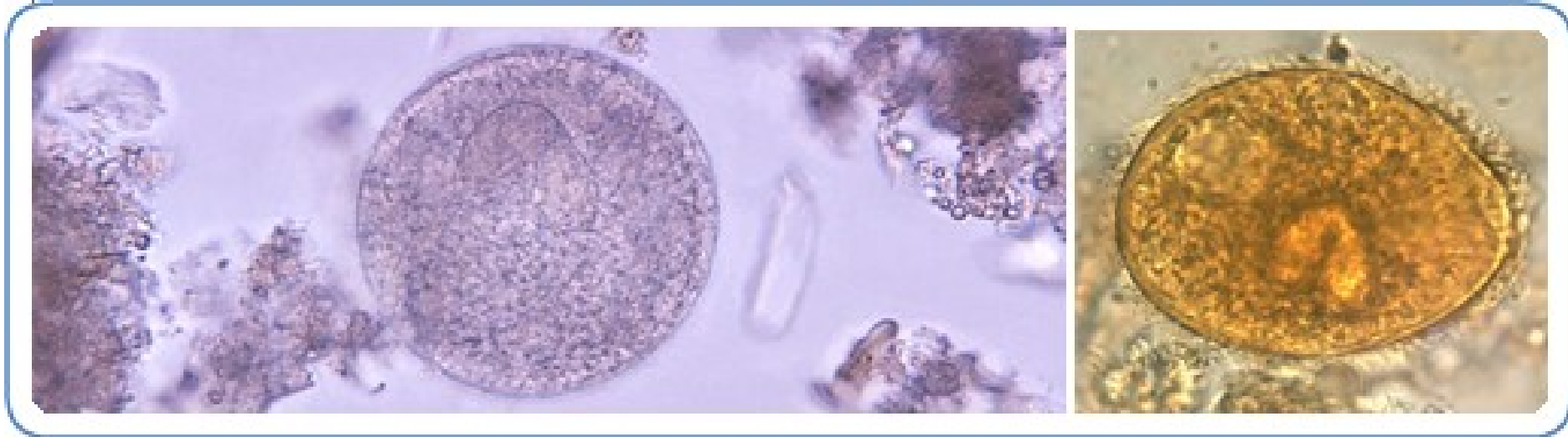
**Zjednodušený popis konjugace:**

2 nálevníci se k sobě přiloží v místě obrvených nálevek, mikronukleus se rozdělí na stacionární a migratorní jádro. Migratorní jádro si nálevníci vymění ( proto migratorní, neboť latinsky migro znamená stěhovat se ) a to splyne se stacionárním jádrem ( l. sto znamená stát ). Nálevníci se pak rozpojí a po složitých dělech vzniknou z každé trepky 4 další buňky

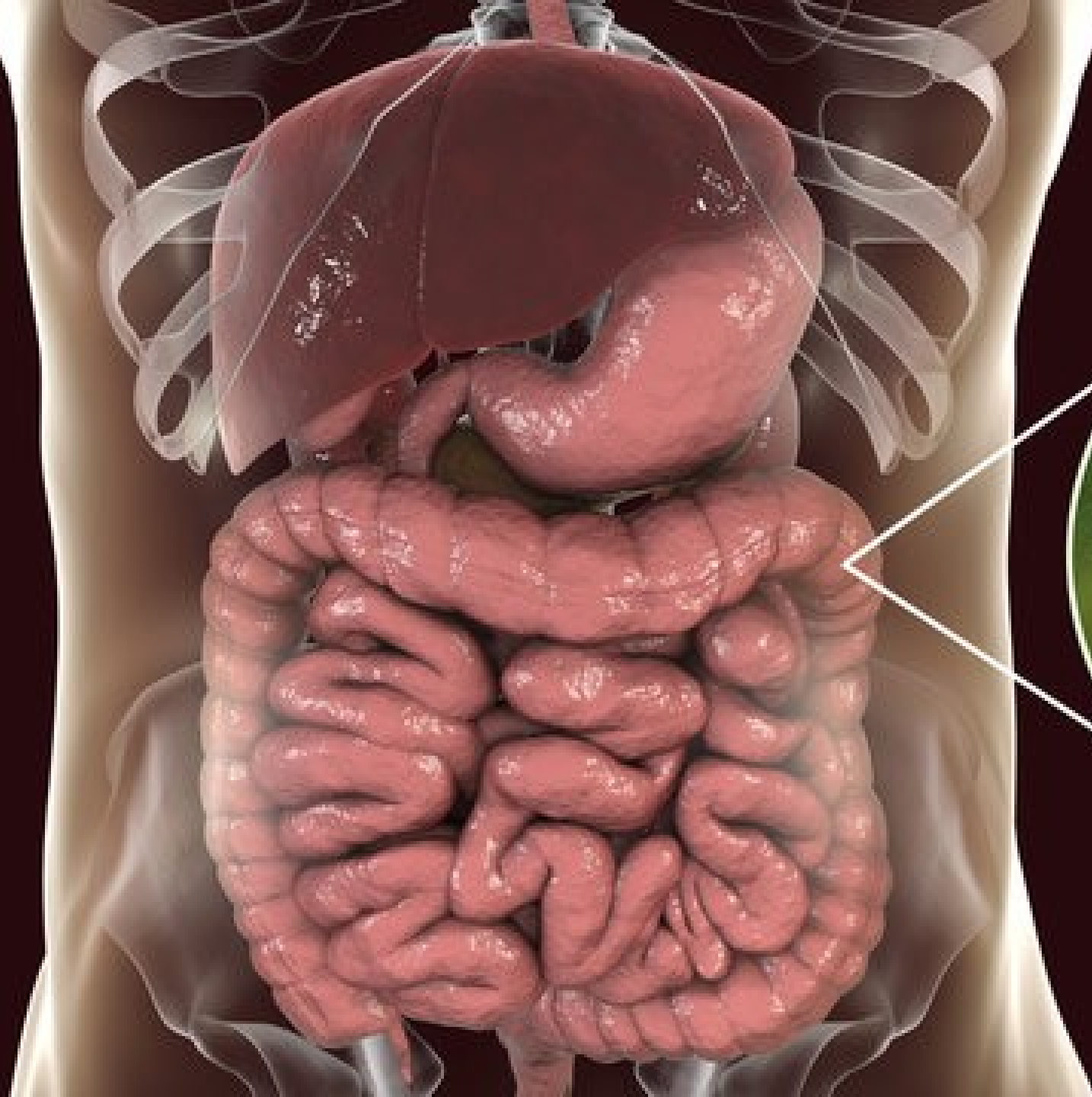
**Balantidium coli**



# Balantidium coli



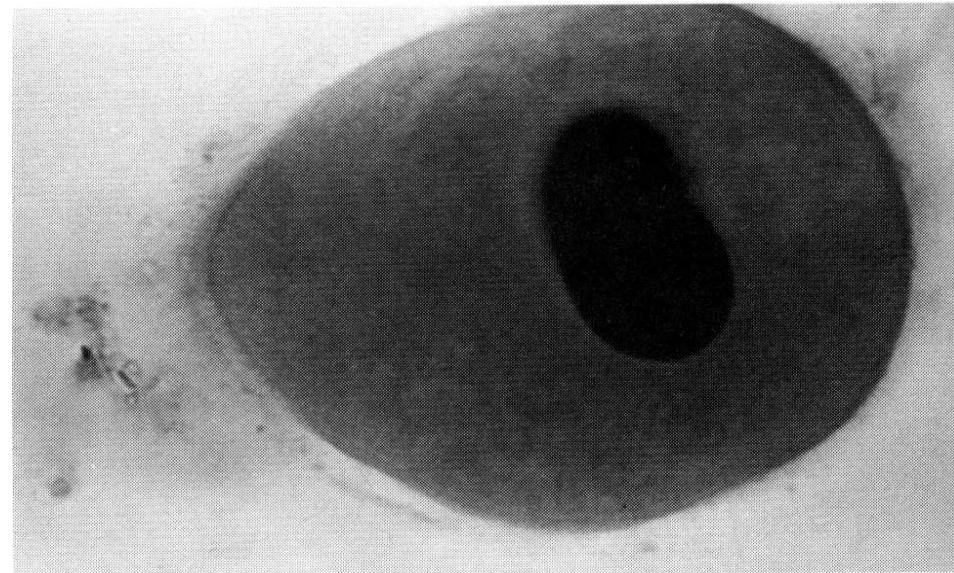
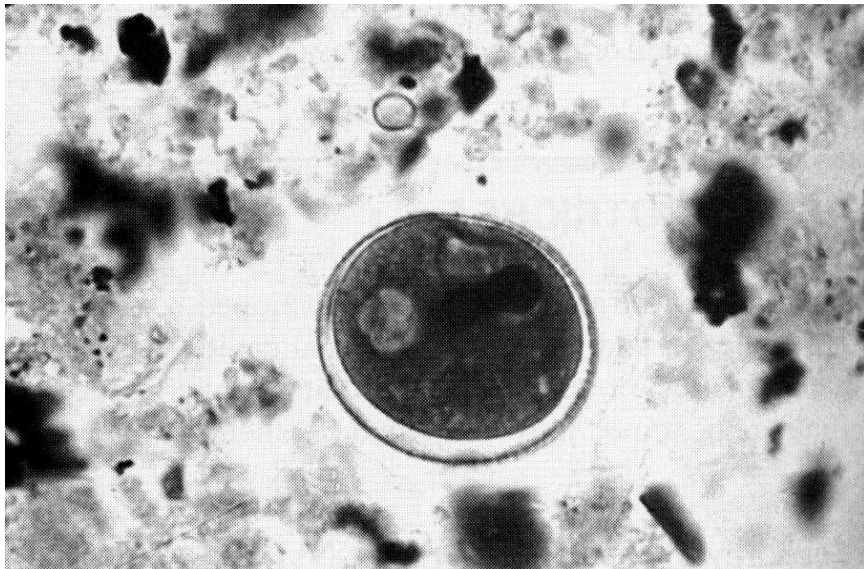
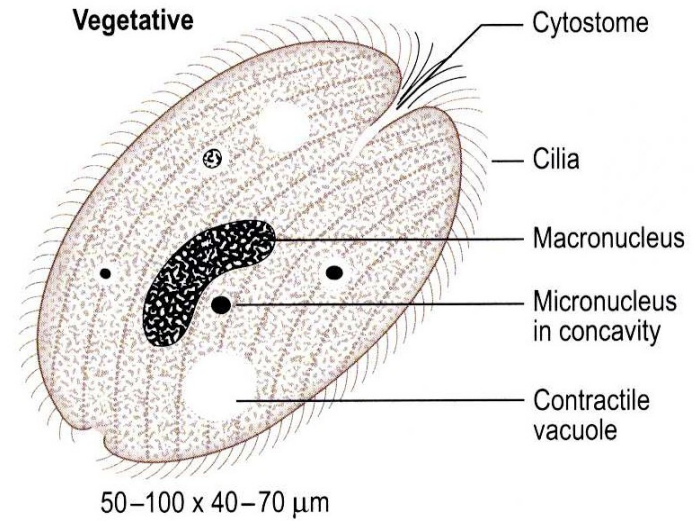
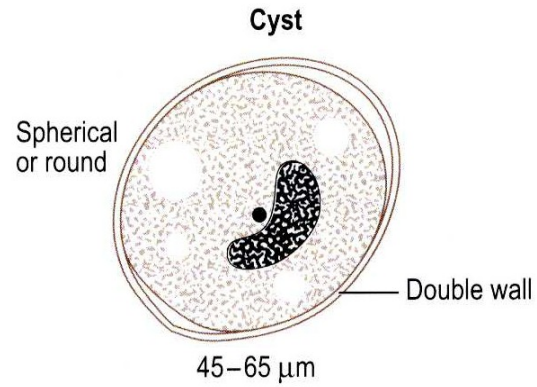
- *Balantidium coli*, je **málo se vyskytujícím** střevním cizopasníkem člověka. Přenáší se **fecal-oral přenosem** pozřením kontaminované potravy a vody.
- Infekce *Balantidium coli* probíhá **většinou bez příznaků**, ale lidé silněji napadeni trpí průjmy a bolestmi břicha a **může dojít až k perforaci tlustého střeva**.
- Šíření infekce lze omezit **preventivní dobrou hygienou** a umýváním ovoce a zeleniny na cestách.



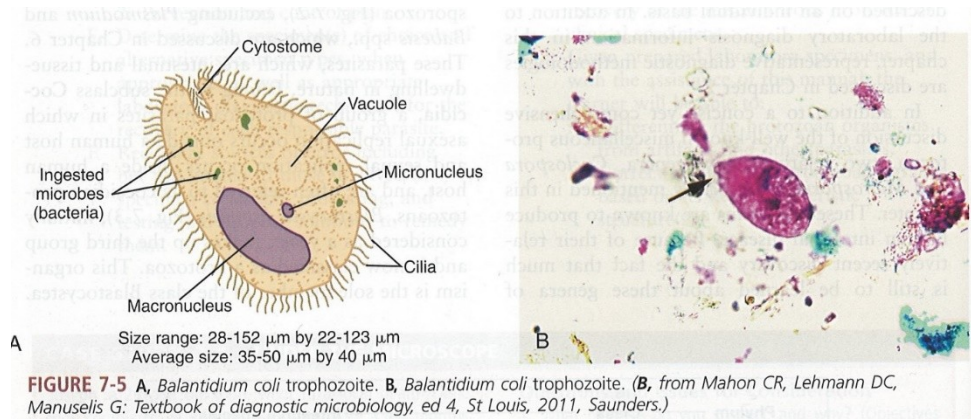
# *Balantidium coli*

Found in South and Central America, parts of Asia and some Pacific islands.

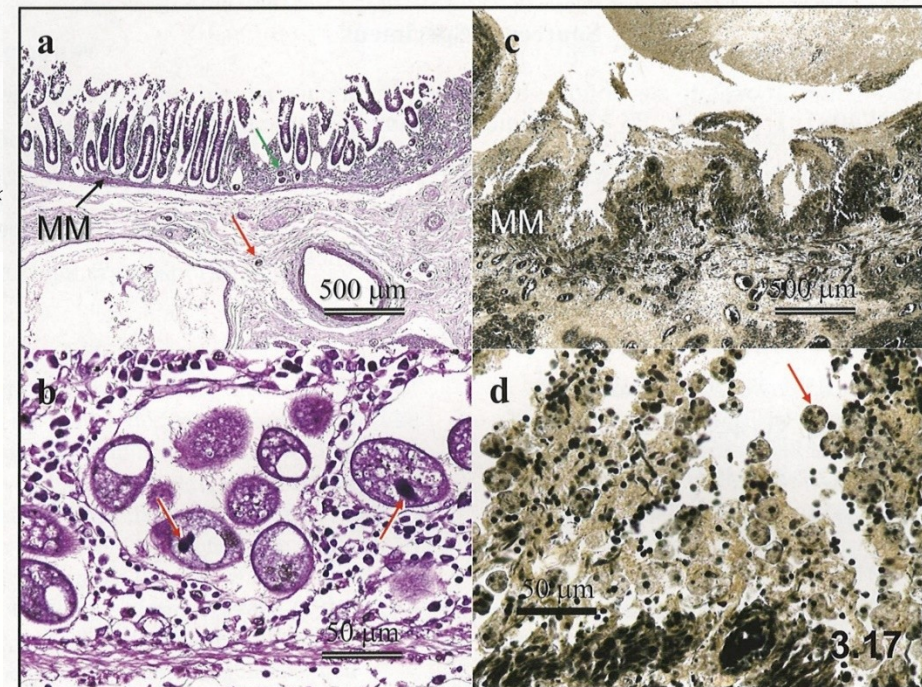
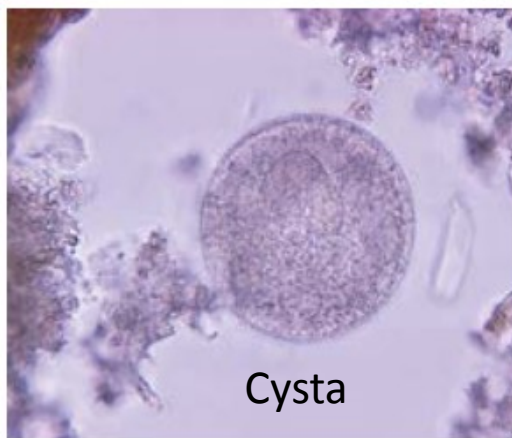
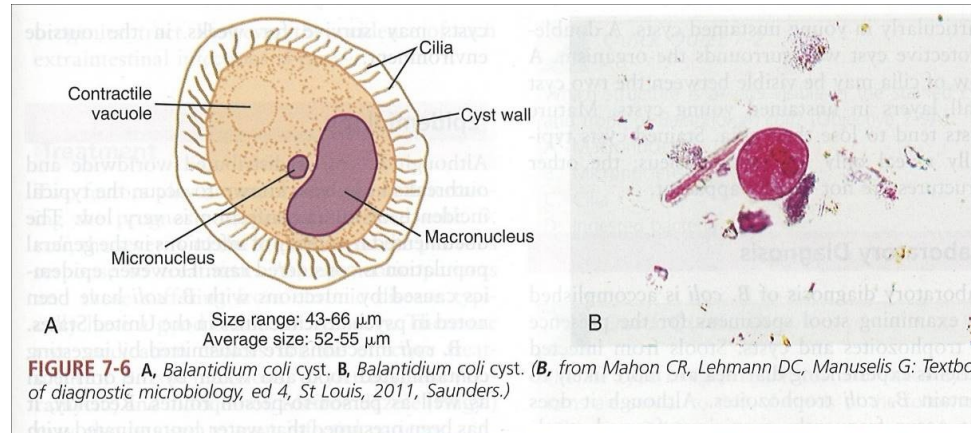
In its vegetative state, recognizable by the oval shape, coarse cilia, contractile vacuoles and the horseshoe- or kidney-shaped macronucleus. Reproduction is by binary fission.







Intestinální balantidiosa a amebiosa:  
 léze stěny tlustého střeva (a,b) léze působené E. histolytika (c) Fagocytoza červených krvinek (d)

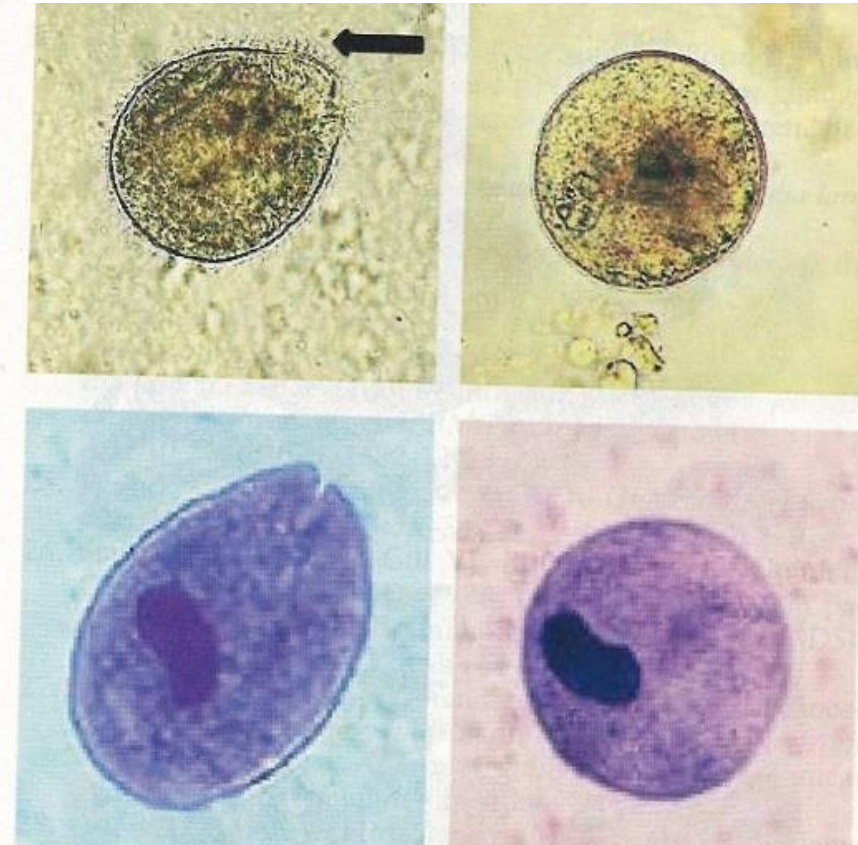
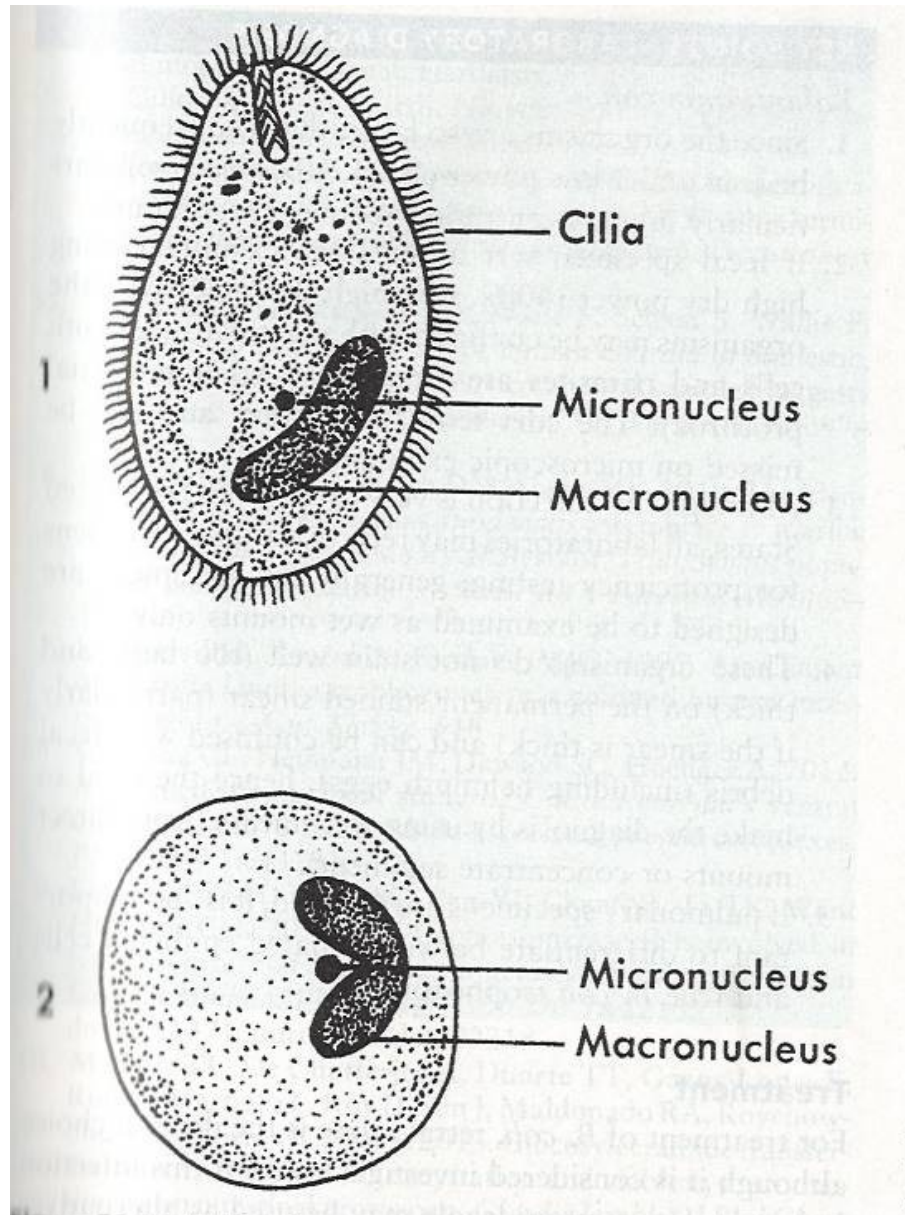




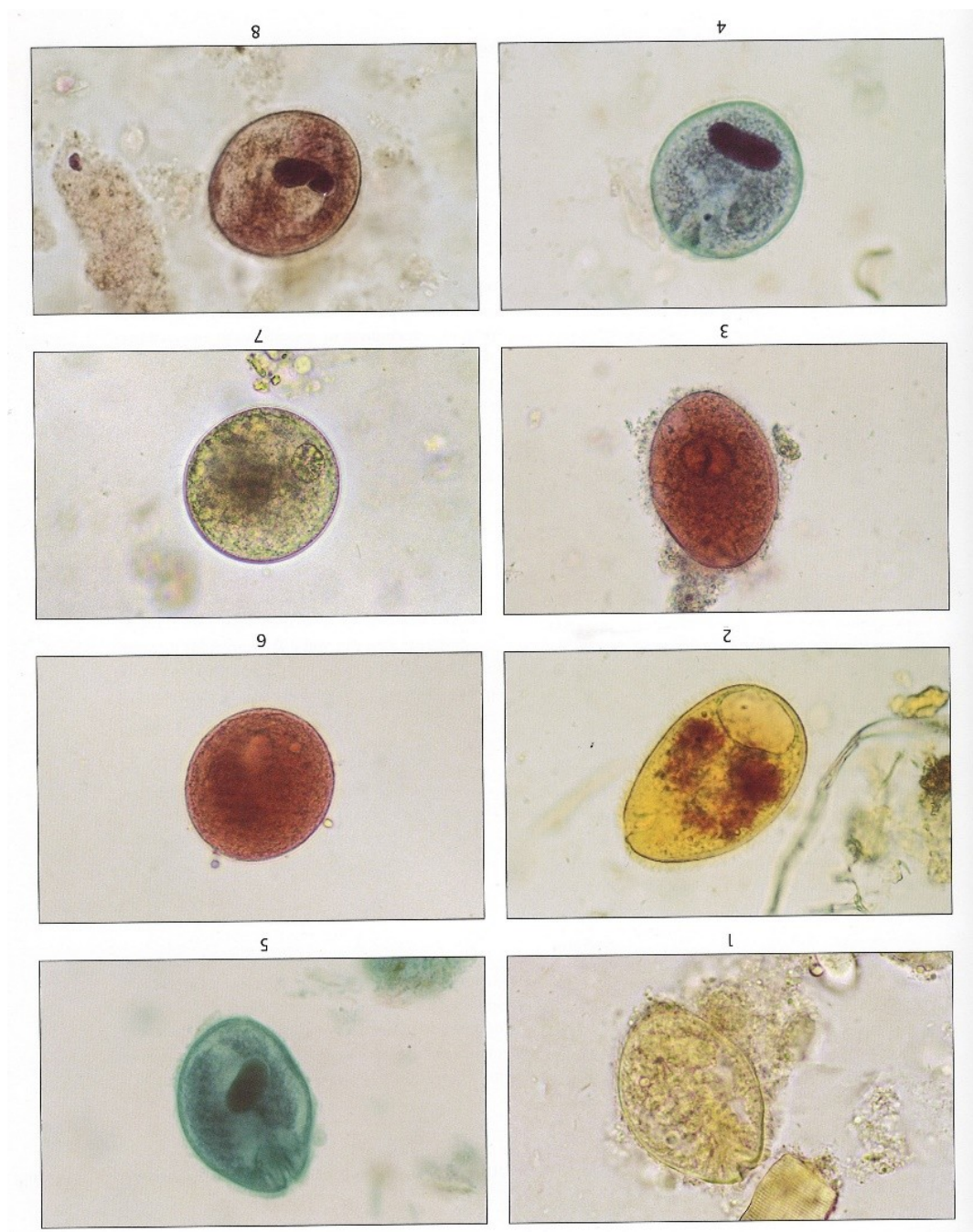
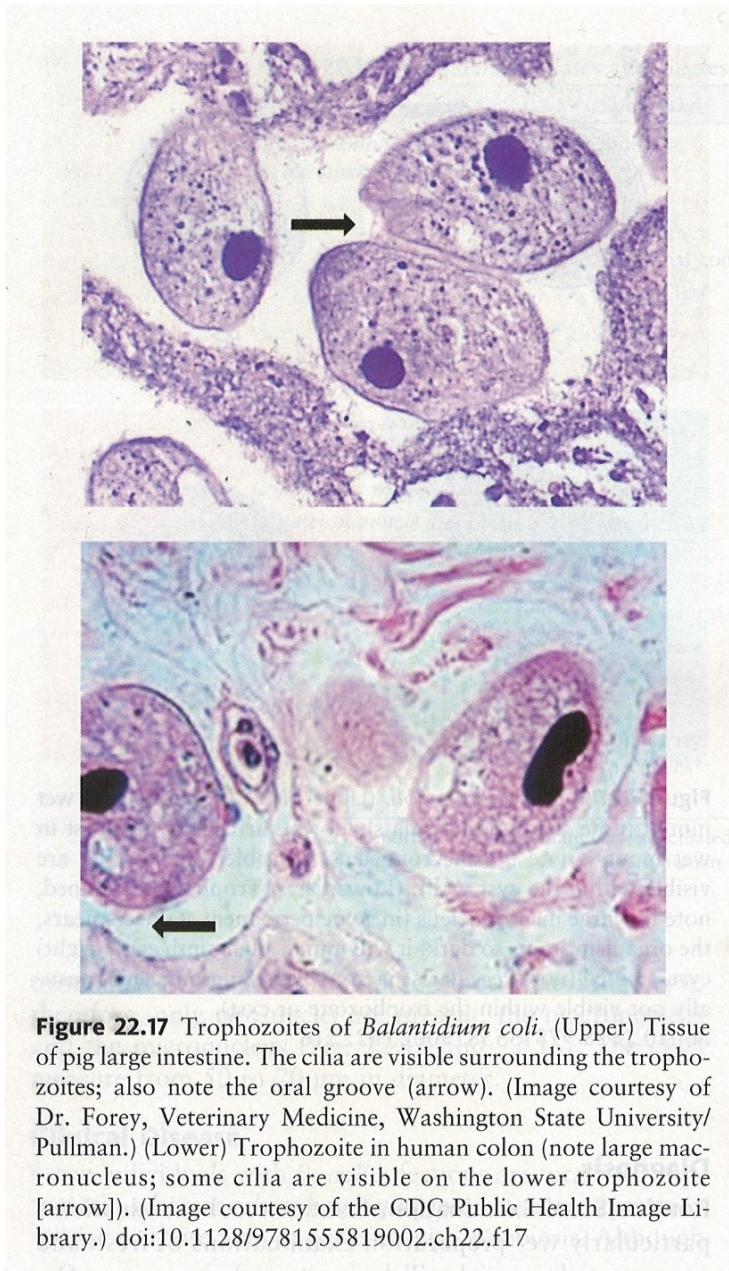
# Výskyt

- *Balantidium coli* se vyskytuje **převážně v tlustém střevě prasat** domácích, kde působí jako **komenzál**, živící se střevním obsahem. Výjimečně může dojít k **přenosu na krysy, opice, divoká prasata, klokany a člověka**. Přenos je **fekálně – orální**, nejčastěji **kontaminací vody** nebo **potravin** v oblasti s nízkou úrovní hygieny. Může dojít k vniknutí **do střevní sliznice**, kde **vznikají vředy** nebo k rozsevu do ostatních orgánů (např. jater). **U člověka se většinou projevuje asymptoticky**, ale ve vzácných případech může způsobovat **balantidiózu**.

# Balantidium coli – trofozoiti a cysty







# Endemický výskyt *B. coli*

- *Balantidium* je vzácně se vyskytujícím parazitem člověka v mírném pásmu. Mnohem častěji se vyskytuje u prasat v teplejším klimatu a u opic v tropech.
- Napadení člověka nastává především tam, kde se lidé neřídí správnými hygienickými návyky.
- *Balantidium coli* je rozšířeno celosvětově, ale největší prevalence dosahuje v tropech a v subtropích a v rozvojových zemích.



**Vakovka lidská** (*Balantidium coli*) je paraziticky žijící nálevník, nejčastěji se vyskytující ve **střevech prasat domácích**. V některých případech dochází k **přenosu na člověka**, kde může způsobovat **zoonické onemocnění balantidiózu**.

### **Nepohlavní rozmnožování**

- Dochází k podvojnému dělení, kdy se buňka prodlužuje a následně příčně zaškrtní, poté dochází k dělení jádra (karyokinezi) a vzniku dvou nových jedinců.

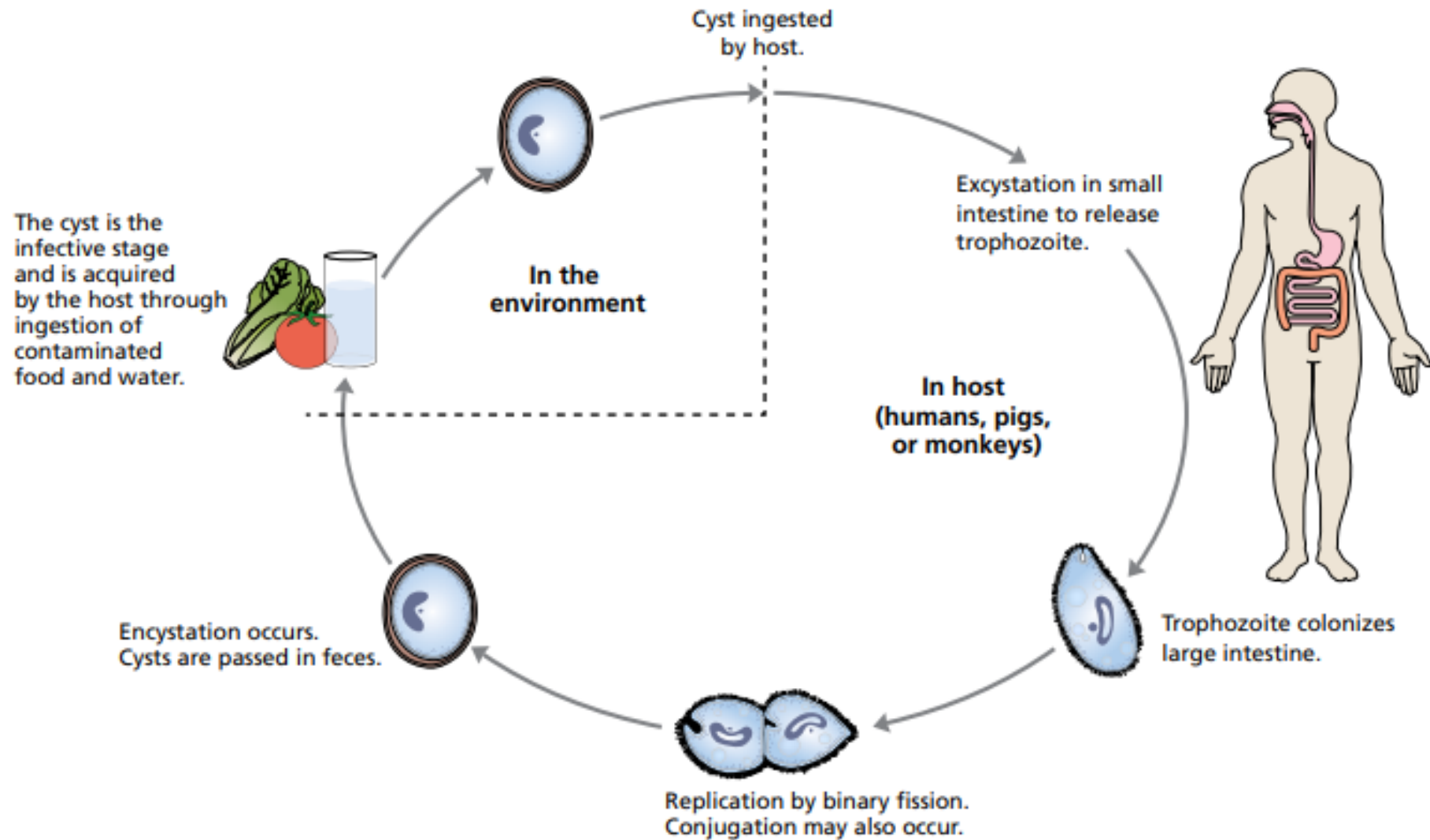
### **Pohlavní rozmnožování**

- K pohlavnímu rozmnožování využívá *Balantidium* **konjugace**, při které dojde k výměně jaderné hmoty (genetického materiálu). Pohlavní rozmnožování pomáhá *Balantidiu* k udržení **homogeneity** populace.<sup>1</sup>

# Balantidium coli – životní cyklus

- **Balantidium coli se přenáší cystami. Hostitel se obvykle nakazí pozřením kontaminované potravy a vody.**
- **Po polknutí cysty dochází v tenkém střevě k její excystaci a trofozoiti pak kolonizují tlusté střevo.**
- **Trofozoiti zůstávají ve lumenu tlustého střeva člověka a zvířat a množí se zde binárním dělením s konjugací.**
- **Trofozoiti prodělávají encystaci a vznikají infekční cysty. Někteří trofozoiti invadují stěnu tlustého střeva a množí se.**
- **Zralé cysty opouštějí hostitele s výkaly.**

# Balantidium coli – životní cyklus

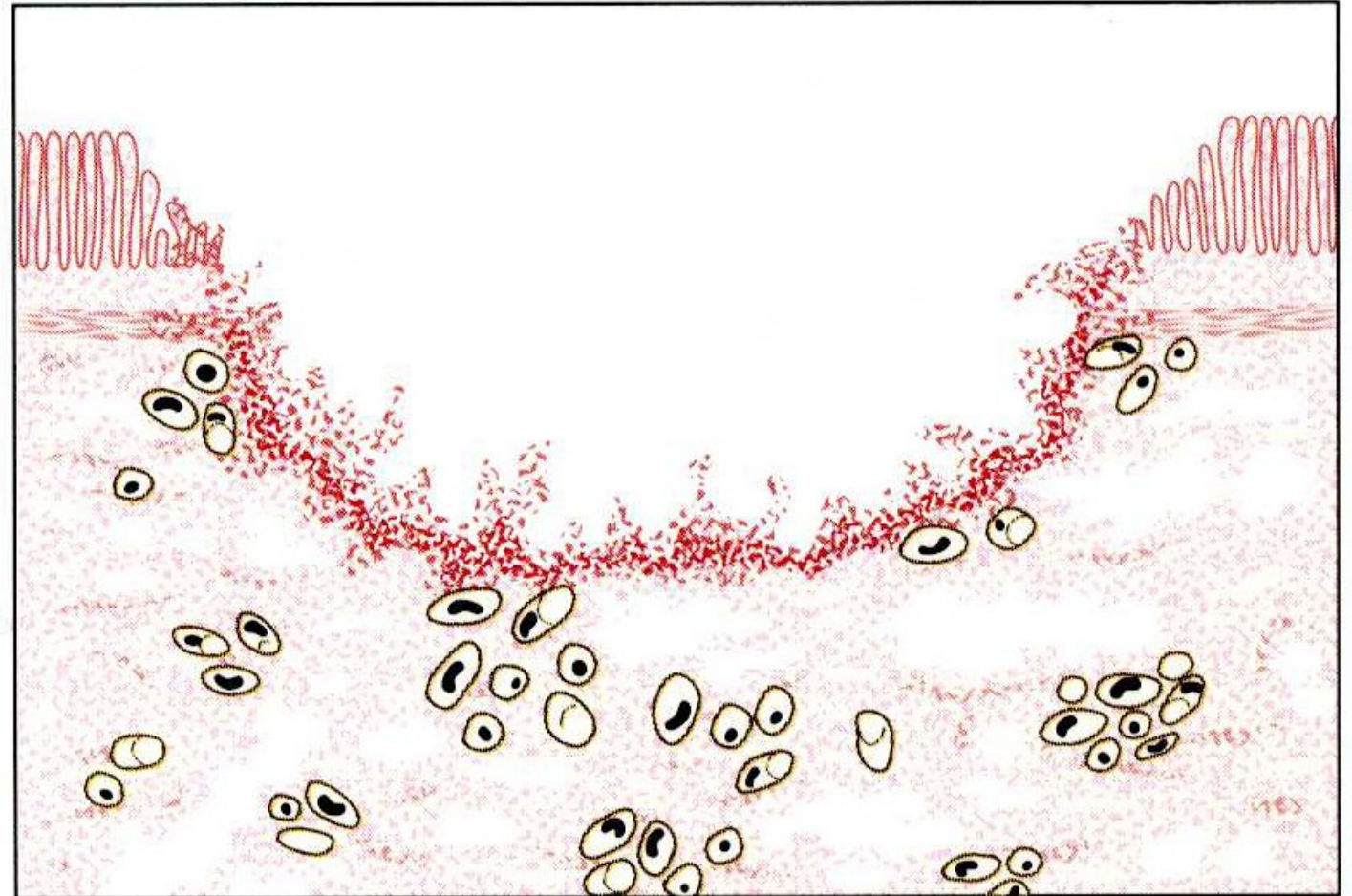
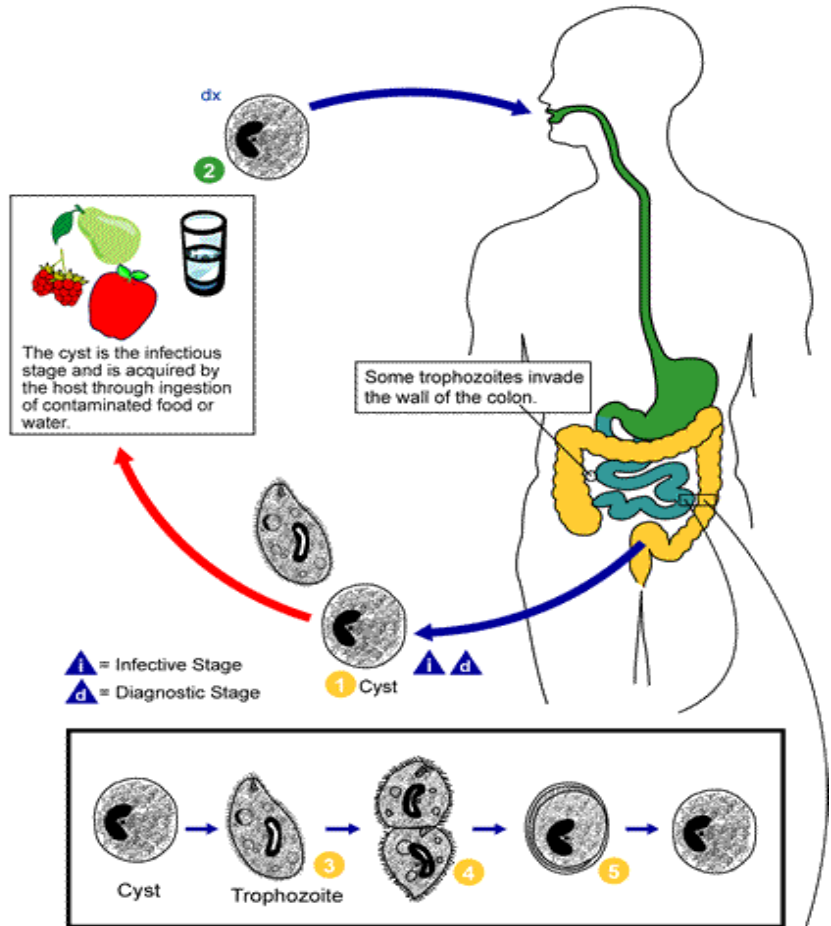




# Životní cyklus

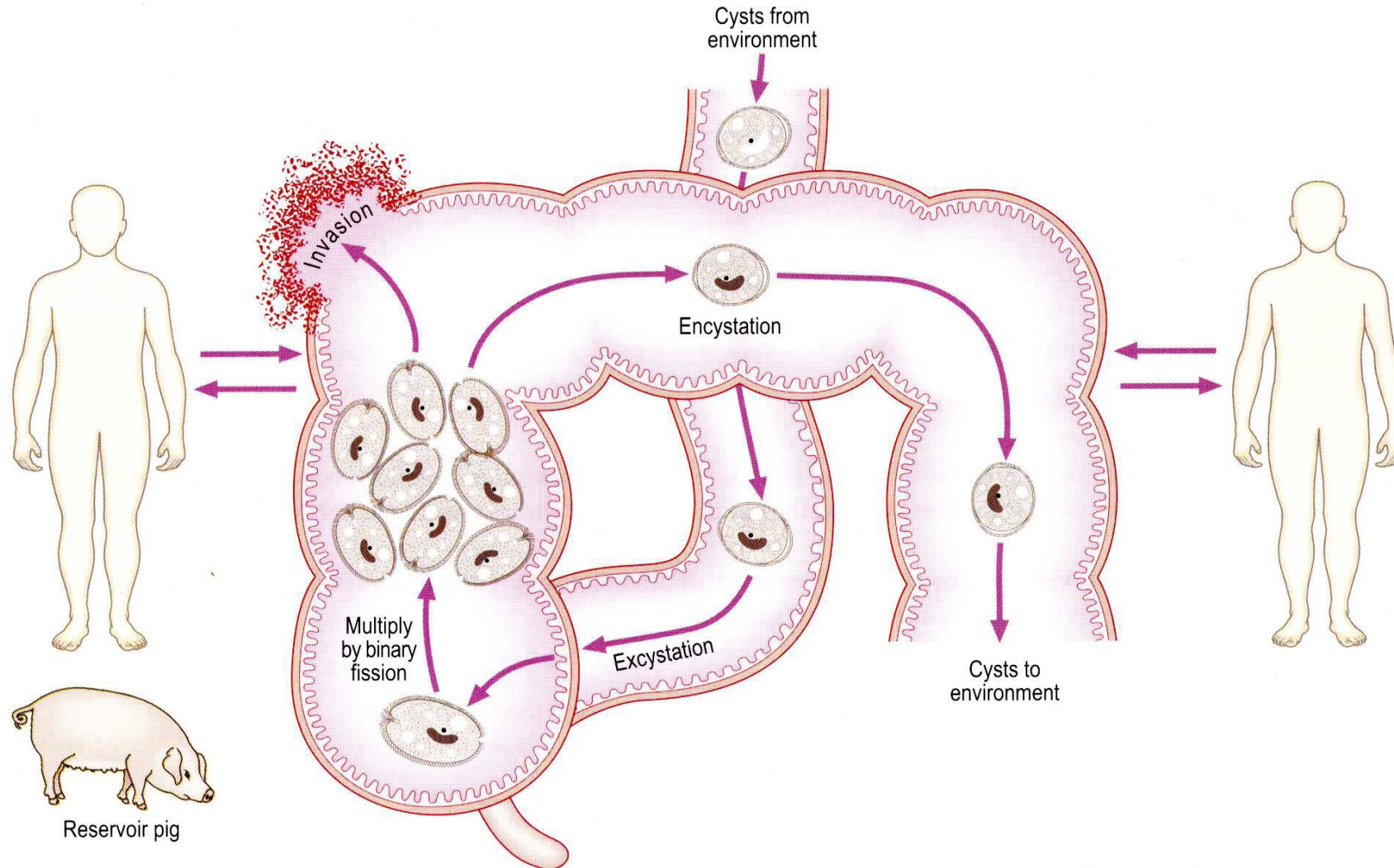
- Hostitel je **infikován cystou**, která se do těla nejčastěji dostává s **kontaminovanou vodou** nebo **potravou**. Cysta po pozření prochází trávicí soustavou hostitele. **V tenkém střevě** dojde ke **vzniku trofozoitů**, kteří **osídlují tlusté střevo**, kde žijí v jeho vnitřní části a živí se střevním obsahem. Někteří **napadají stěnu tlustého střeva a množí se**, poté se vrací do vnitřní části střev. Tam dochází k **encystaci** při dehydrataci střevního obsahu. Zacystovaní jedinci **opouští tělo s výkaly**, tím se dostávají do prostředí, kde mohou infikovat nového hostitele.

# Balantidium coli – přenos, šíření a patogenita



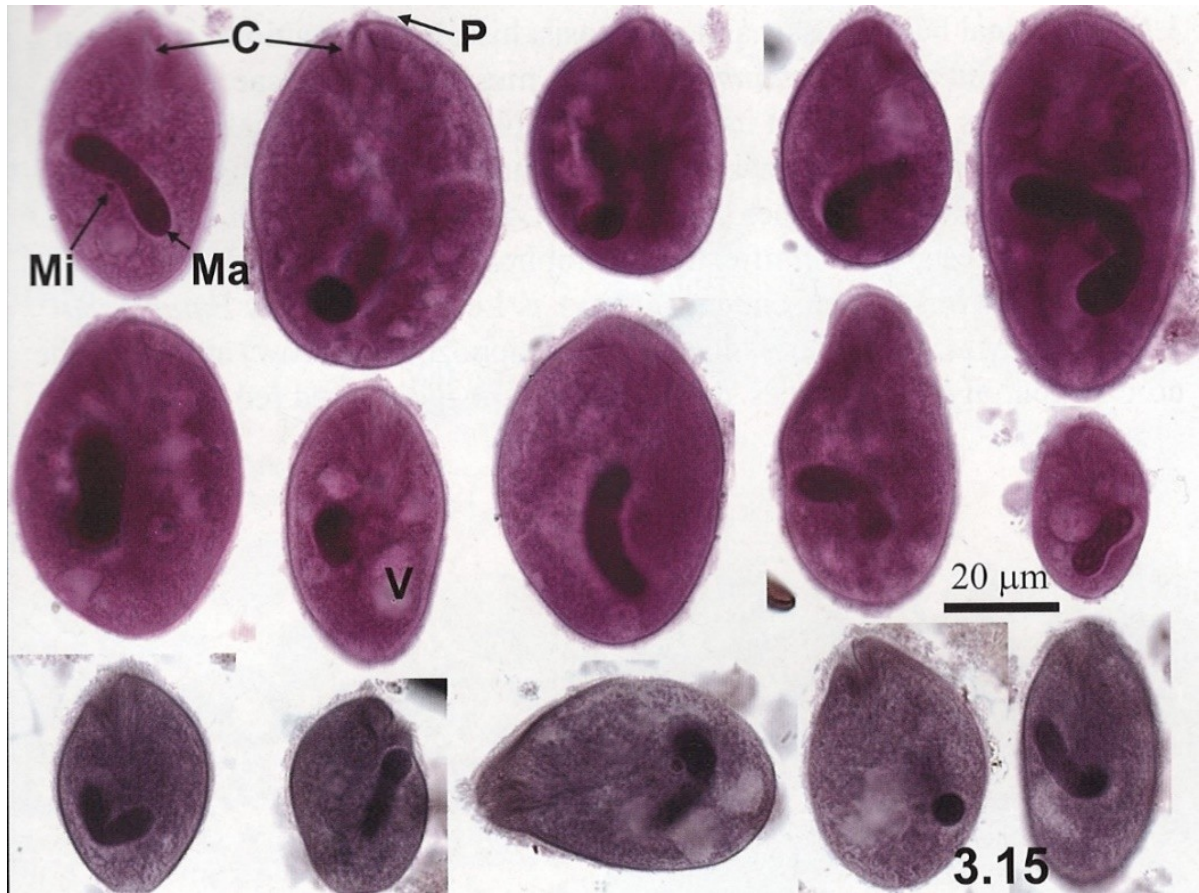
# Balantidium coli – životní cyklus a patogenita

## Life cycle

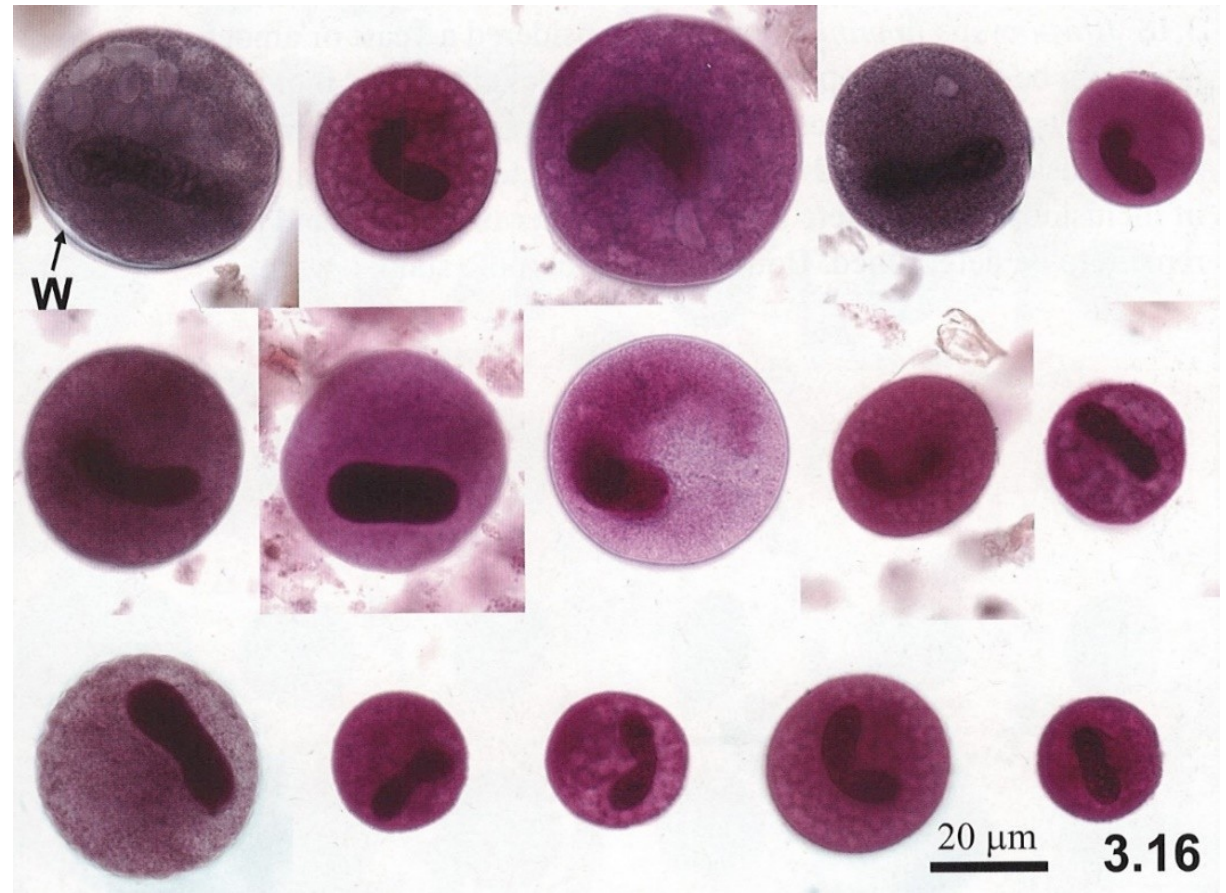




# Balantidium coli – trofozoiti, roztěr stolice (3.15) cysty – roztěr stolice (3.16)



Trofozoiti



Cysty

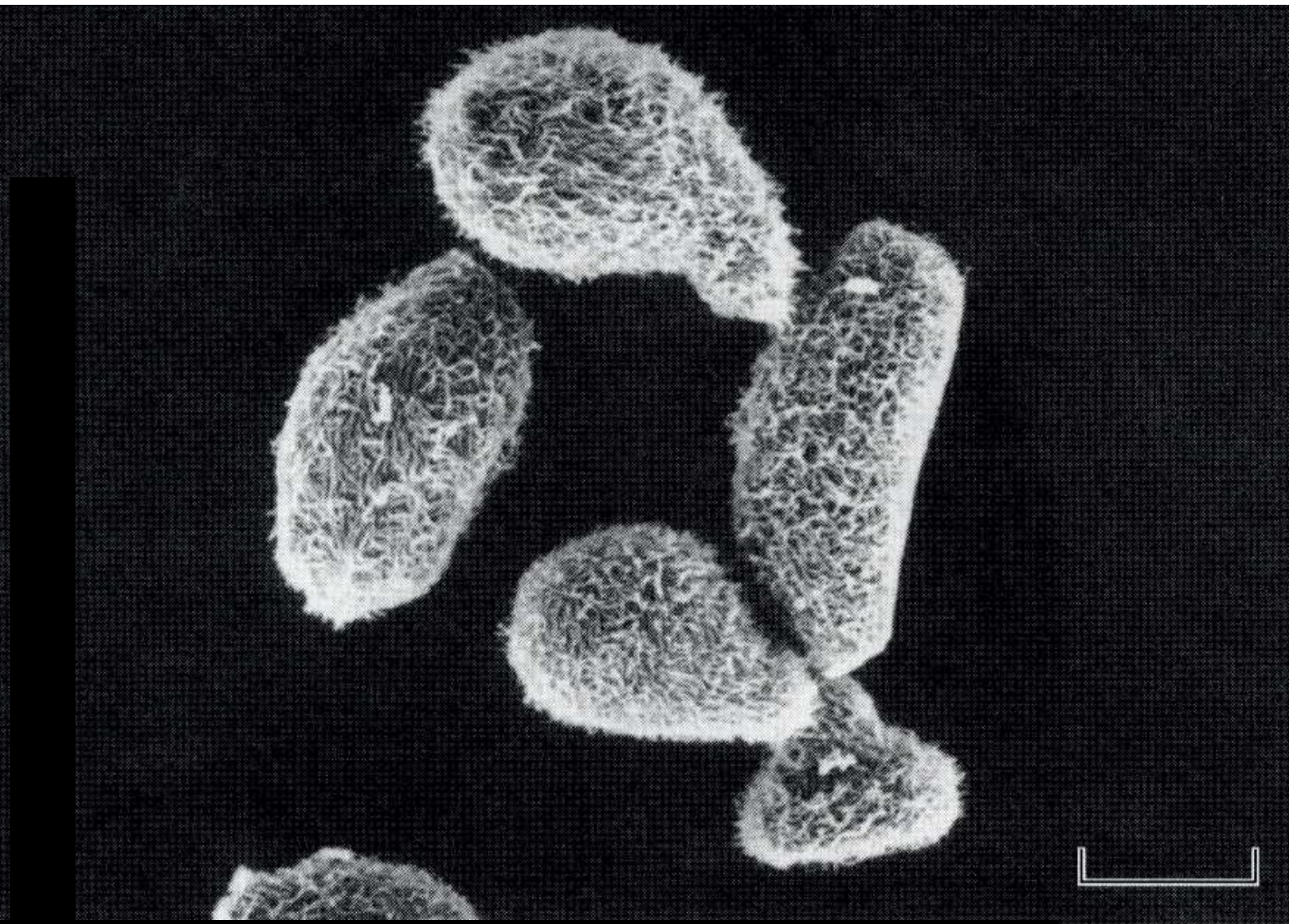
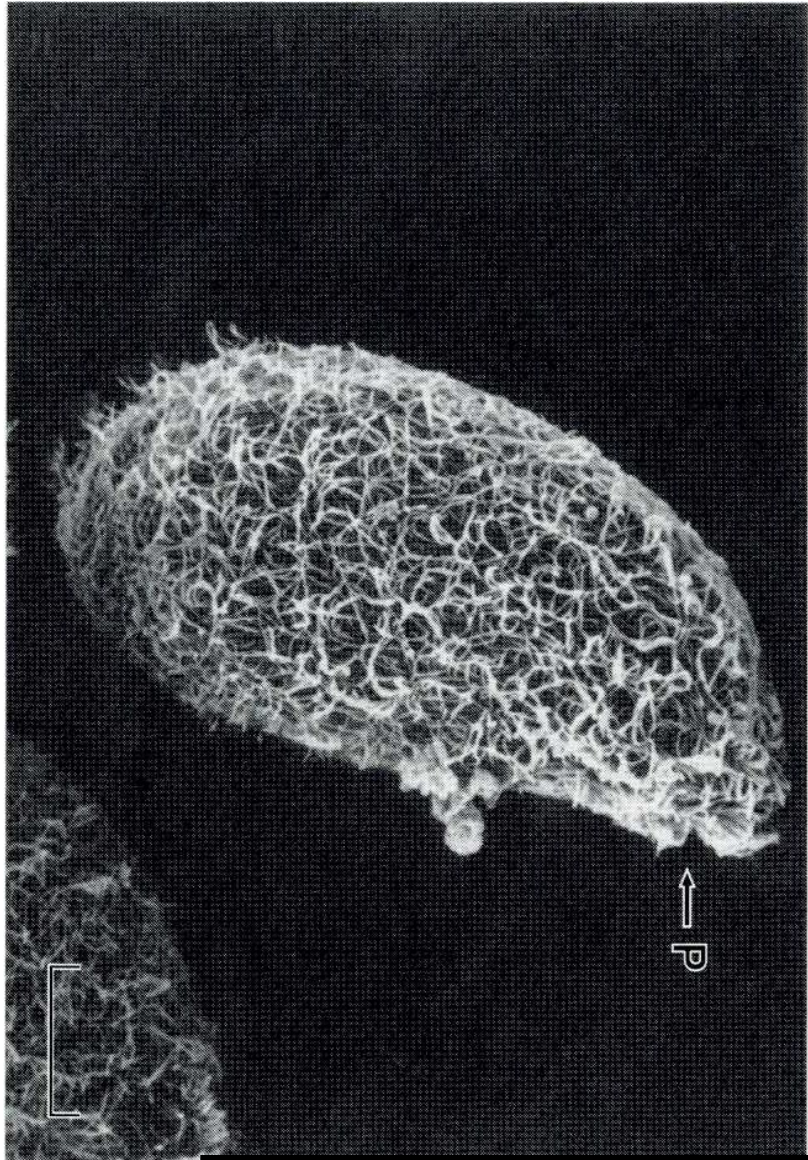


# Balantidium coli – dělicí se trofozoit ve stěně střeva



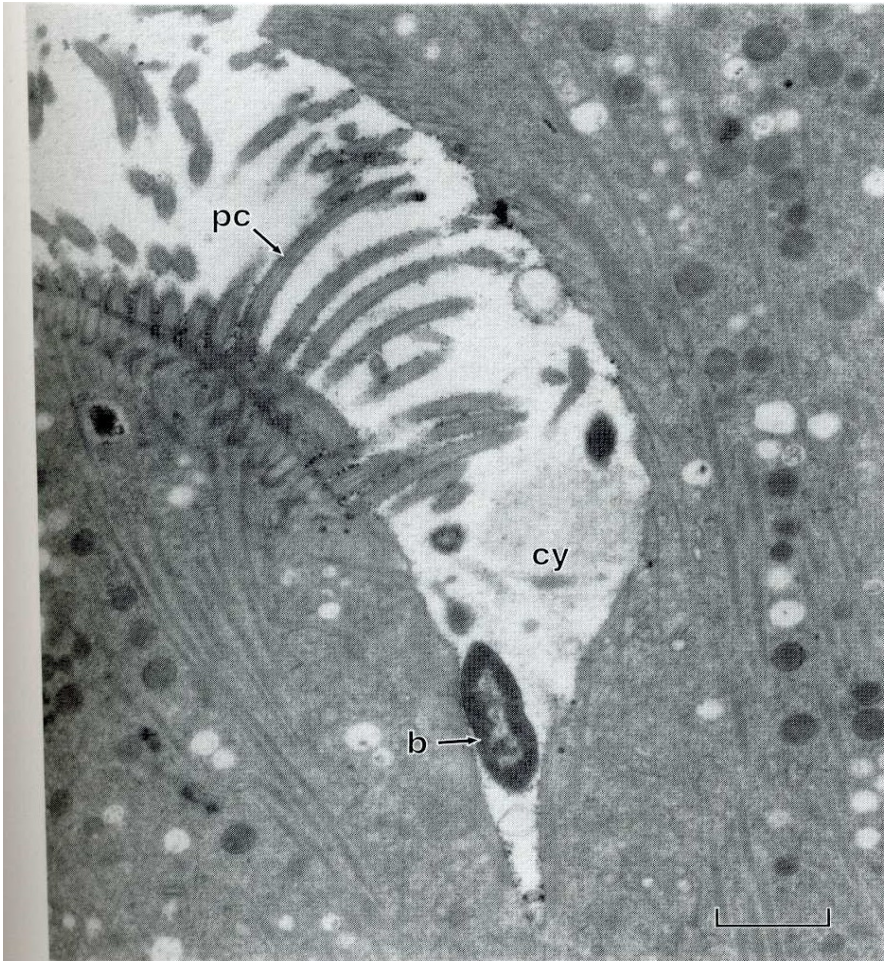


# Balantidium coli – trofozoiti SEM

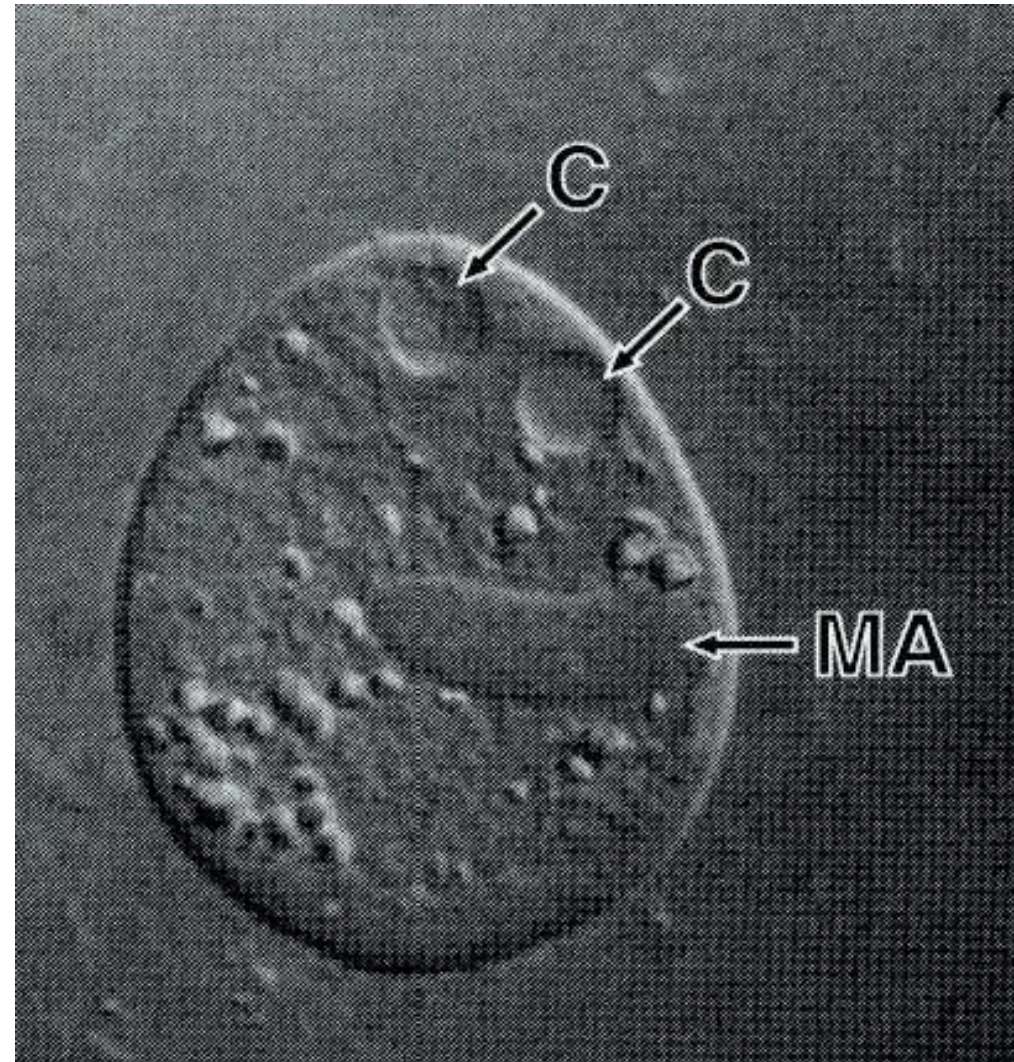




# Balantidium coli – peristomální cilie a vakuoly



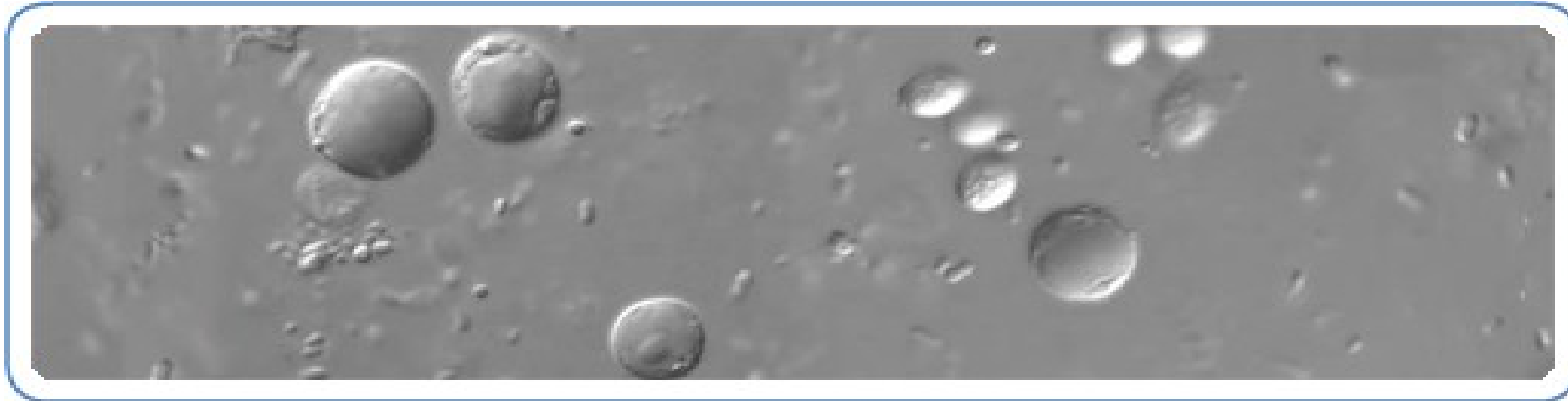
**Figure 15.5** *B. coli* trophozoite, showing peristomal cilia (pc) and cytopharynx (cy). A bacterium (b) is lying inside the cytopharynx.





# **Blastocystis hominis**

# Blastocystis hominis



- **Blastocystis je běžně se vyskytující mikroskopický organismus s celosvětovým rozšířením.**
- **Plné poznání biologie Blastocystis a jejího vztahu k dalším organismům zůstává zatím nejasné a je předmětem intenzivního výzkumu.**





# Blastocystis hominis

**Blastocystis** (*Blastocystis* sp.) je rod jednobuněčných parazitárních organismů, aktuálně zařazený do kmene Stramenopila (Heterokonta). Jedná se o organismus s nízkou hostitelskou specificitou. Mezi jeho hostitele patří hmyz, plazi, ptáci a savci včetně člověka.

**Infekce probíhá orálně**; parazit se dostává trávicím traktem do **tlustého střeva**, kde se rozmnožuje.

Taxonomická klasifikace *Blastocystis hominis* je stále velmi kontroverzní. V minulosti byl tento organismus považován za kvasinky, houby, améby, bičíkovce a sporozoa.

V současné době díky studiím na molekulární úrovni genů SSUrRNA byla *B. hominis* umístěna do neformální skupiny nazvané Stramenopila (Silberman et al. 1996).

Tato skupina Stramenopila je definována na základě molekulární fylogeneze jako heterogenní evoluční seskupení jednobuněčných a mnohobuněčných protistů včetně hnědých řas, rozsivek, chrysophyta, vodní plísně atd. (Patterson, 1994).

Cavalier-Smith (1998) považuje Stramenopila za identické s jeho infraříší Heterokonta součástí říše Chromista. Z tohoto důvodu je podle Cavalier-Smitha, *B. hominis* označována jako heterokontní chromista.

# Morfologie

- Blastocystis se může vyskytovat v **několika morfofotech**. Mezi hlavní morfofotypy patří **vakuolární, granulární a amoební** tvar. Současné studie ukazují, že buňka může nabývat i dalších tvarů. Vědci se domnívají, že ke změně morfofotypu vedou stresové faktory a biochemické ovlivnění buněčných metabolických drah.

- **Cysta**

Tento morfologický typ je menší než vakuolární a granulární forma. Cysta je **kulovitého** nebo **vejčitého tvaru**. Je pro něj typická stěna, skládající se z několika vrstev a absence centrální vakuoly. V životním cyklu *Blastocystis* se objevují dva typy cyst:

**tenkostěnné cysty** – součást auto-infekčního cyklu

**tlustostěnné cysty** – součást vnějšího přenosu z hostitele na hostitele

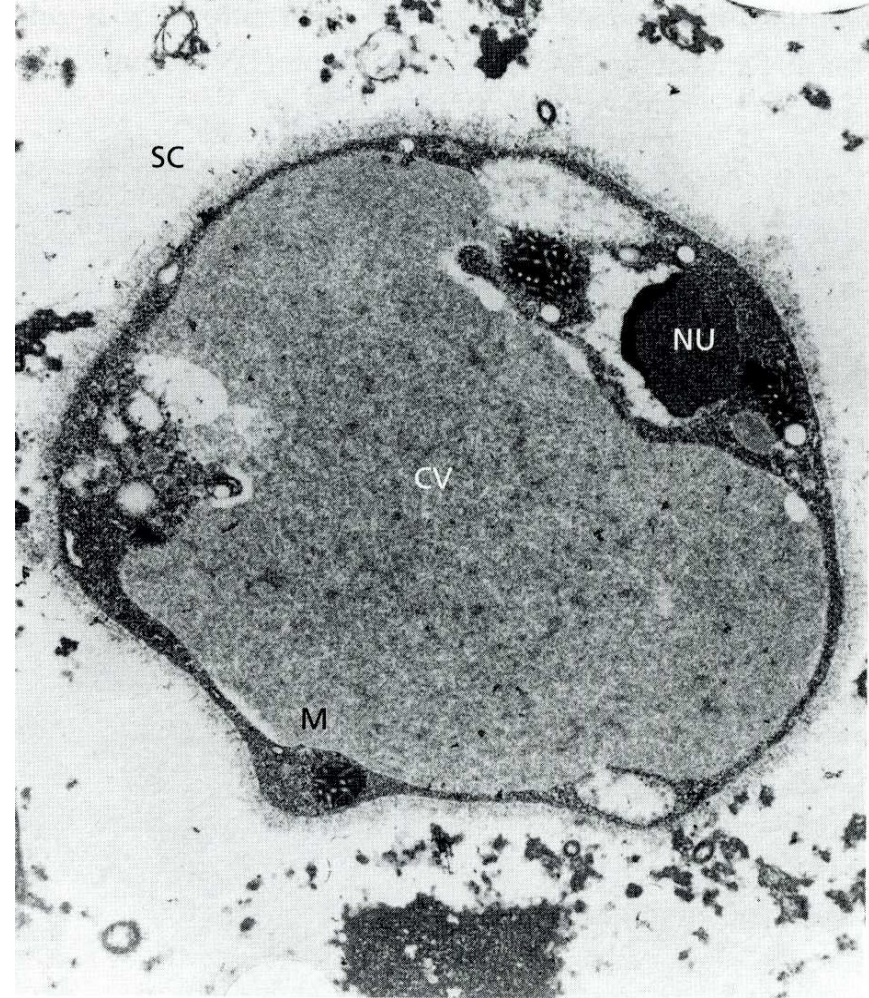
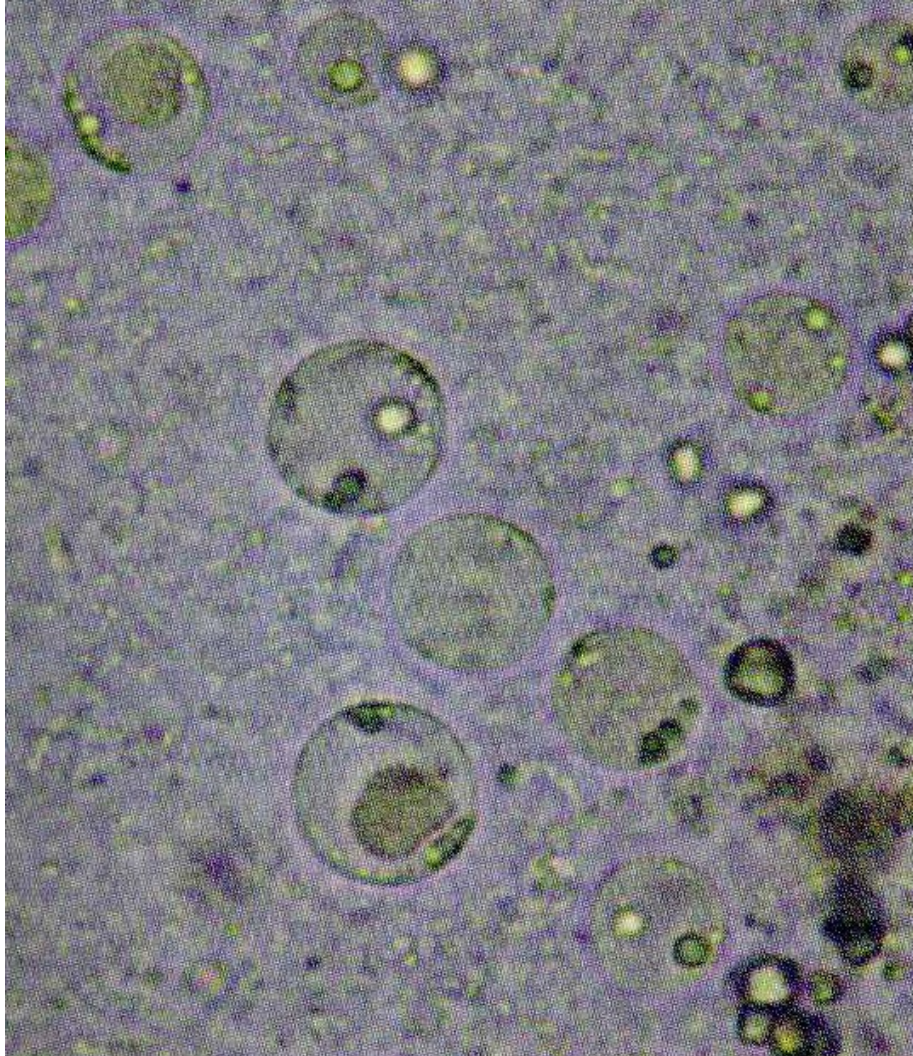
Další morfofotypy *Blastocystis*, které byly nedávno objeveny:

**avakuolární**

**multivakuolární**



# Blastocystis hominis



*Transmission electron micrograph of Blastocystis hominis from culture. Vacuolated form showing nucleus (NU), central vacuole (CV) surrounded by a thin cytoplasm, mitochondrion-like organelles (M), and a surface coat (SC)*



# Morfologické typy *Blastocystis* sp.

## Vakuolární

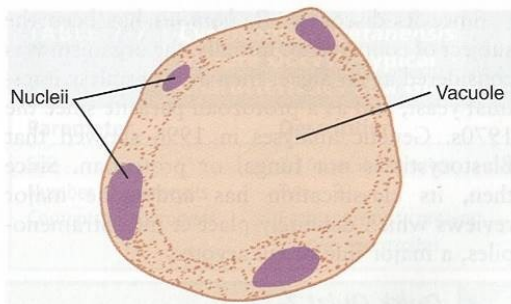
Nejběžnější forma, která dokáže podstoupit následnou přeměnu v cystu v lumen tlustého střeva. Ve střevech je vakuolární forma schopna asexuálního binárního dělení a na základě specifických faktorů může přecházet do dalších forem (granulární, amoební, ...). Tento morfologický typ je dobře rozeznatelný, díky velké centrální vakuole, která zabírá skoro všechny buněčný prostor a vytlačuje orgány do tzv. periferní rýhy, která je ohraničena tenkou plazmatickou membránou buňky.

## Granulární

Granulární morfotyp je velice podobný vakuolárnímu, avšak v buňce nalezneme tři typy granul. Jedná se o metabolická reprodukční a lipidická granula. Metabolická granula, nalézáme výhradně v cytoplasmě buňky, obsahují látky důležité pro správnou funkci buněčných drah a metabolismu buňky. U reprodukčních granul se předpokládá, že obsahují látky řídící nepohlavní rozmnožování. Lipidická granula mají na starost uchování zásobních látek.

## Amoební

Pro amoební morfotyp je typický nepravidelný tvar buňky. Buňka má nejčastěji jedno až dvě pseudopodia, avšak je nepohyblivá, a v cytoplasmě jednu centrální anebo více menších vakuol. Amoební stadium vzniká z vakuolární formy a je zde podezření, že jde o patogenní formu vyvolávající imunitní reakci hostitelského organismu. Přemnožení tohoto typu v tlustém střevě hostitele způsobuje vznik symptomů jako například akutním průjem. V trávicím ústrojí člověka se v amoební tvar vyvíjí například *Blastocystis* podtyp 3 (*B. sp. ST3*), který může u člověka být zodpovědný za propuknutí symptomů.



Size range: 5-32  $\mu\text{m}$   
Average size: 7-10  $\mu\text{m}$

FIGURE 7-11 *Blastocystis hominis* vacuolated form.

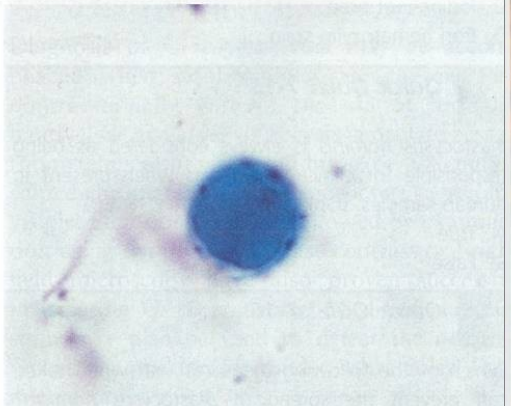


FIGURE 7-12 Trichrome stain, 1000x. Typical *Blastocystis hominis* vacuolated form.

TABLE 7-6 <i>Blastocystis hominis</i> Vacuolated Form: Typical Characteristics at a Glance	
Parameter	Description
Size	5-32 $\mu\text{m}$
Vacuole	Centrally located Fluid-filled structure Consumes almost 90% of organism
Cytoplasm	Appears as ring around periphery of organism
Nuclei	Two to four located in cytoplasm

# Blastocystis hominis:

vakuolizovaná forma

binární dělení

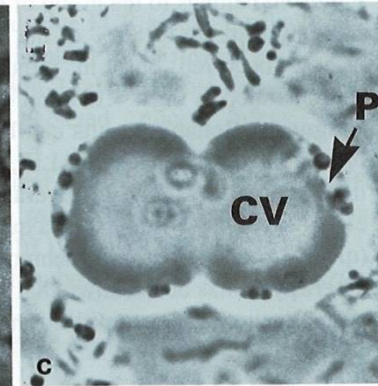
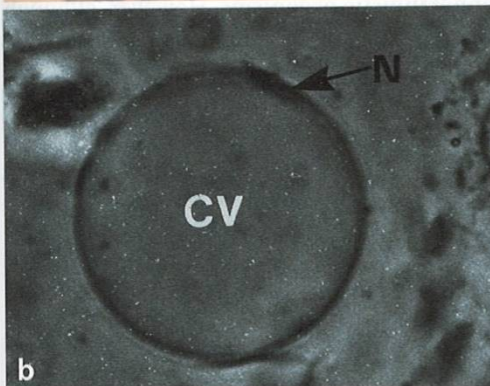
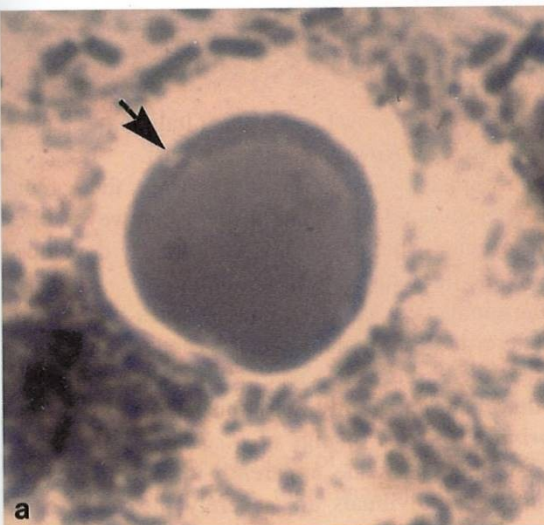
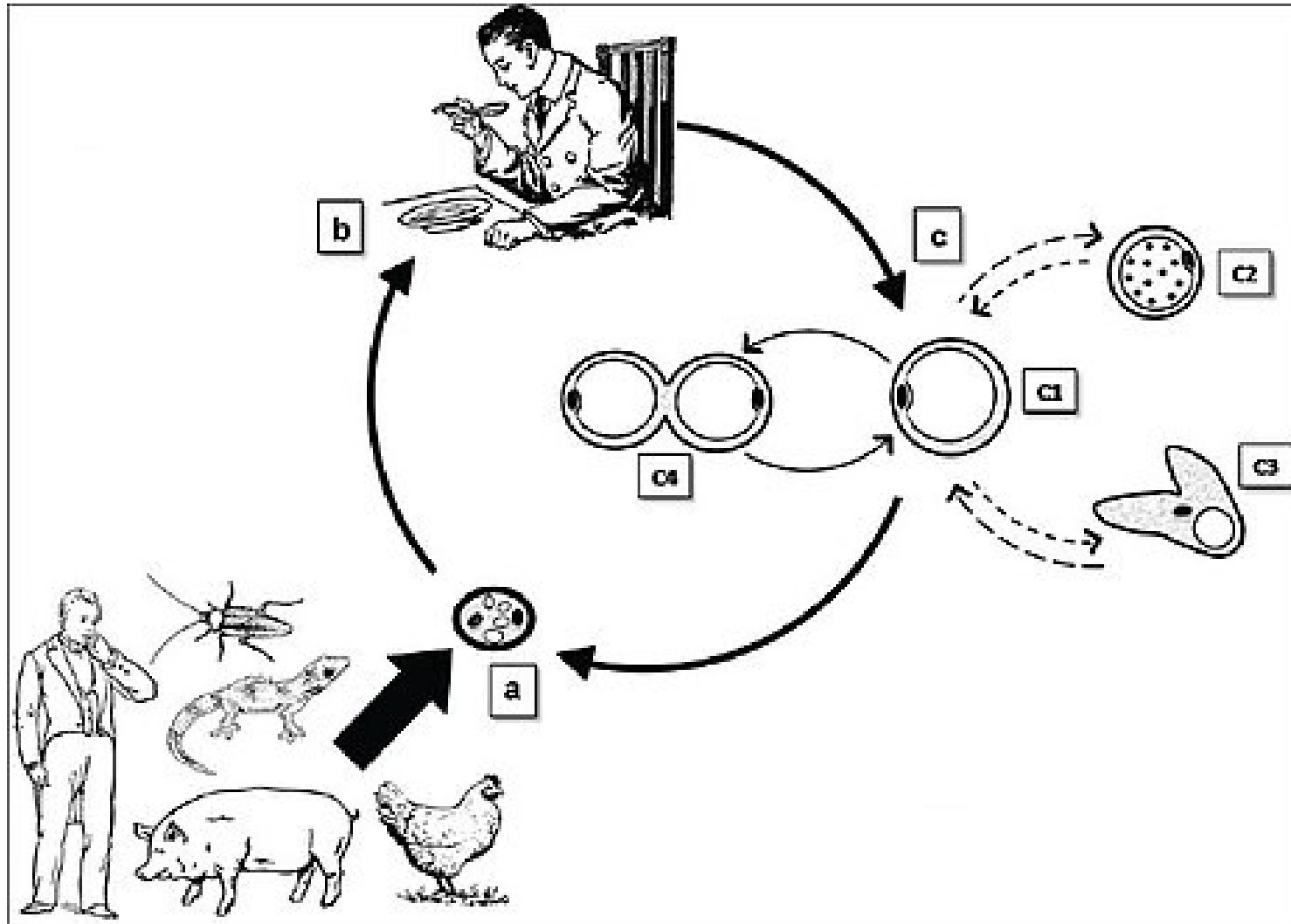


Fig. 4.128 (a-c) *Blastocystis* species: light micrographs of single cyst stages (a, b) and in binary division (c). CV central vacuole; N nucleus; P peripheral cytoplasm

# Životní cyklus



Základní, zjednodušené schéma životního cyklu *Blastocystis* (podle Jermiah et al, 2013). **a** - **tlustostěnná cysta** byla vyloučena ve stolici svého hostitele; kvůli své nízké hostitelské specificitě, nalézáme **cysty** u nejrůznějších živočichů (savci, ptáci, plazi, ...). **b** - hostitel se infikoval pozřením **kontaminované potravy** nebo vypitím **kontaminované vody**, infekce orální cestou. **c** - *Blastocystis* sp. putuje trávicím ústrojím až **do střev** a za přítomnosti žaludečních kyselin a střevních - **vakuolární morfortyp**. **c2** - v těle hostitele může vznikat **granulární morfortyp**. **c3** -enzymů se **excystuje**. **c1** - *Blastocystis* se vyvine do své nejběžnější podoby v těle hostitele může vznikat nejspíše patogenní a vysoce adhesivní amoební morfortyp. **c4** - v těle hostitele probíhá asexuální binární dělení **vakuolárního** typu



# Životní cyklus I

- Infekce *Blastocystis* probíhá požitím kontaminované potravy či vody s tlustostěnnými cystami.
- Cysty se dostávají do trávicího traktu, kde se excystují za přítomnosti žaludečních kyselin a střevních enzymů
- Buňky se vyvinou ve vakuolární formu, která je schopná asexuálního binárního dělení.
- Vakuolární forma se ve střevech dále vyvíjí buď v ameobní anebo multi-vakuolární formu.

# Blastocystis: mikrofoto (a) diagram dělení trofozoita

(c)

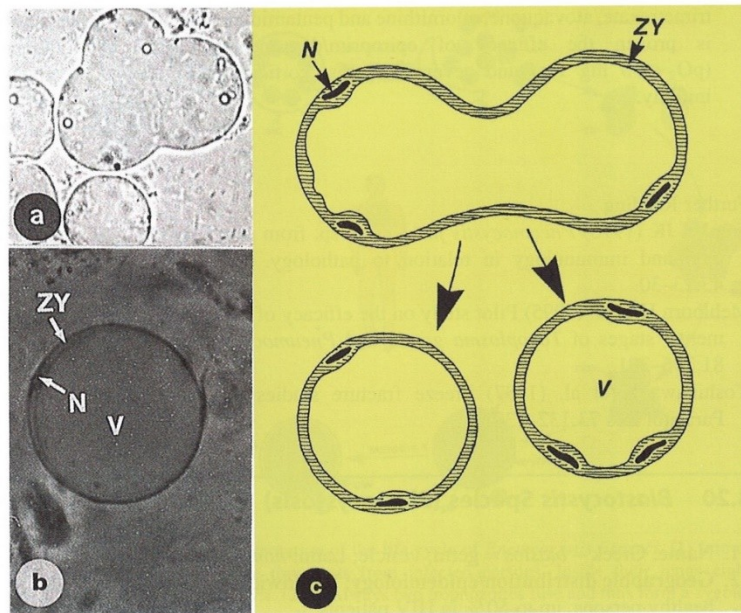
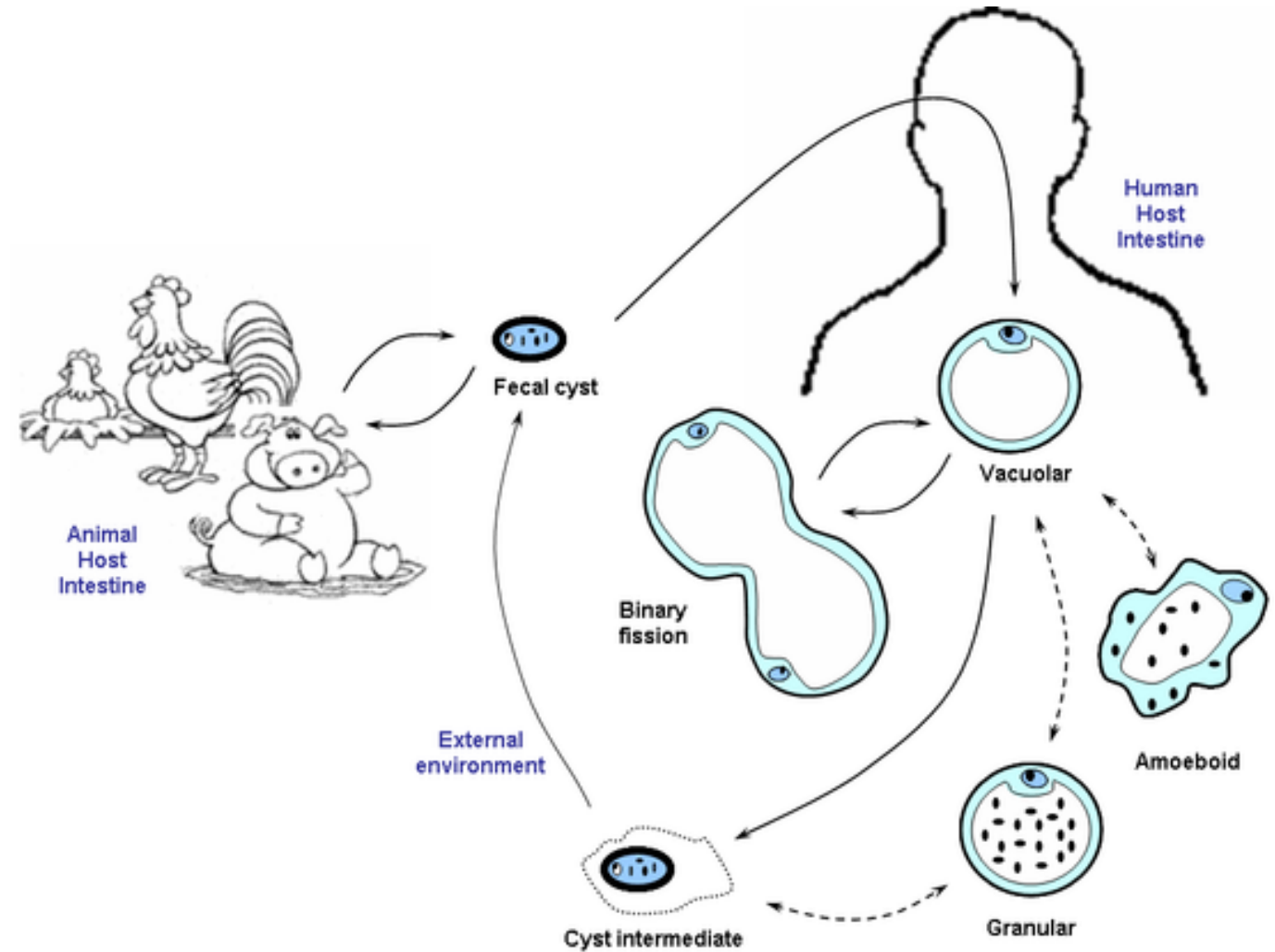


Fig. 3.56 *Blastocystis*: light micrograph (a, b) and a diagrammatic representation of the division of trophozoites (c) according to Zierdt. N nucleus; V vacuole; ZY cytoplasm



# Životní cyklus II

## Autoinfekční cyklus

- Multi-vakuolární forma přejde ve stádium pre-cysty, která podstoupí schizogonii (typ nepohlavního rozmnožování), neboli rozpad mateřského jádra na několik jader dceřiných. Pre-cysta se naplní novými buňkami a vyvine se v autoinfekční tenkostěnnou cystu. Tenkostěnná cysta poté praská a uvolní do střev hostitele několik nových buněk *Blastocystis* ve vakuolární formě.

## Cyklus spějící k vnějšímu přenosu

- Amoební forma je také schopná asexuálního binárního dělení. Dále se může vyvíjet do stádia precysty, ve které probíhá schizogonie. Cysta se plní buňkami a tvoří kolem sebe tlustou stěnu. Infekční tlustostěnná cysta opouští ve stolici tělo hostitele.
- Jsou popsány případy, kdy dochází k infekci z člověka na člověka i ze zvířete na člověka.



# Blastocystis hominis

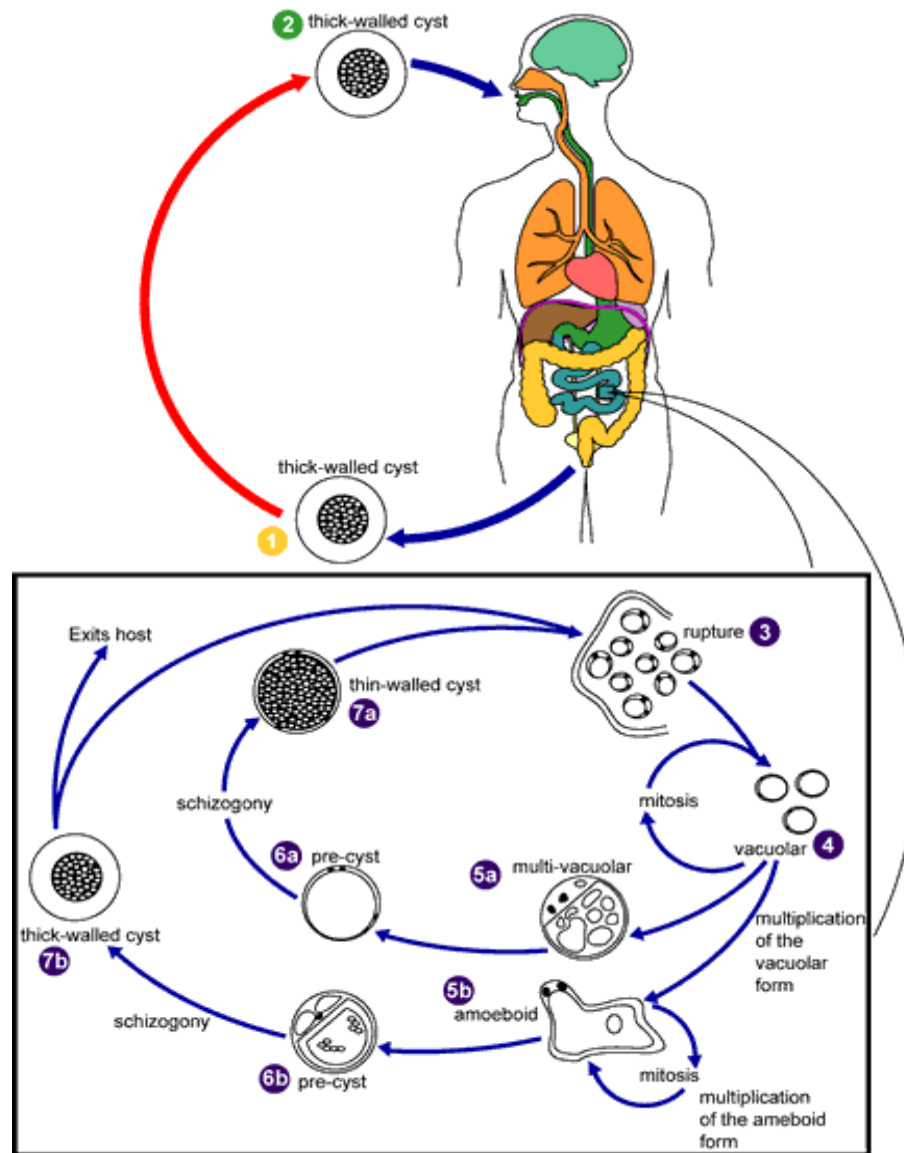
B. hominis se množí sporulací a nebo binárním dělením.

Organismus prodělává několik morfologických forem

B. hominis se vyznačuje sexuálním i asexuálním rozmnožováním.

B. se může pomocí pseudopodií protahovat.

Životní cyklus není ještě úplně popsán.



# Symptomy

- Infekce postihuje častěji dospělé, než děti. Pacienti si nejčastěji stěžují na silnou bolest břicha, jako další projevy infekce lékařská literatura uvádí **křeče, nadýmání, nevolnost, zvracení, průjem, zácpu** nebo **střídající se průjem se zácpou**. Pokud symptomy přetrvávají, pacientovi hrozí dehydratace a podvýživa. Podle zprávy WHO u některých pacientů byla zjištěna přítomnost *Blastocystis* ve stolici i po odeznění symptomů.

# Výskyt a prevalence

- *Blastocystis sp.* je nejběžnější jednobuněčný parazit nalézající se ve vzorcích lidské stolice. Jeho rozšíření je celosvětové.
- V **Evropě** se prevalence pohybuje v rozmezí **22-56 %**, v některých **afrických a asijských rozvojových zemích** je prevalence **30 až 50 %**.
- U populace lidí některých afrických lokalit dosahuje výskyt *Blastocystis* ve vzorcích až 100 %.<sup>1</sup>
- Zvýšené hodnoty korelují s **nízkou úrovní hygieny**, blízkým kontaktem s **hospodářskými zvířaty** a požívání **kontaminované vody z řek a studní**. Výzkum ve třech vesnicích v oblasti povodí řeky Senegal zjišťoval výskyt *Blastocystis* u 93 dětí s projevy sledovaných symptomů i bez nich. Na základě molekulární analýzy bylo zjištěno, že všech 93 vzorků obsahuje *Blastocystis*. U osmi vzorků byla dokonce zjištěna infekce dvěma nebo třemi podtypy *Blastocystis*. Nejvíce byl zastoupen podtyp 3 (*B. sp. ST3*), který se vždy vyskytoval u symptomatických osob.
- Naopak v rozvinutých zemích je prevalence nižší. Například ve Španělsku se udává v rozmezí **1–35 %** a je ovlivněna geografickou polohou a sledovanou komunitou. Výzkum uskutečněný v Madridu sledoval výskyt *Blastocystis* u 1359 vzorků, kde 187 vzorků (tj. **14 %**) bylo infikováno *Blastocystis*.



# Blastocystis hominis

- Průběh životního cyklu a šíření *B. hominis* je stále předmětem výzkumu. Z tohoto důvodu je zde uvedený cyklus spíše hypotetický.
- Typickou formou nacházenou v lidské stolici jsou cysty, které dosahují velikosti od 6 do 40 $\mu$ m.
- Tlusto-stěnné cysty, které jsou přítomny ve stolici jsou považovány za prostředek přenosu cizopasnika uskutečňovaného zřejmě v cestou fecal-oral pozřením kontaminované vody nebo potravy.
- Cysty napadají epitelální buňky zažívacího traktu a asexuálně se množí. Vznikají vakuolární formy parazita, ze kterých vznikají multivakuolární a amoeboidní formy.
- Multivakuolární forma se vyvíjí v pre-cystu, která dává vznik tenko-stěnné cystě, která je zřejmě zdrojem autoinfekce.
- Amoeboidní forma dává vznik pre-cystě, která se vyvíjí schizogonií v tlustostěnnou cystu.
- Tlusto-stěnná cysta je vylučována s výkaly.

# Patogenita

- Ačkoliv je *Blastocystis* podle Světové zdravotnické organizace (World health organization, WHO) jednobuněčný organismus, který se nejčastěji nachází ve vzorcích lidské stolice, jeho **patogenita není dosud zcela objasněna**. *Blastocystis* je přítomen jak ve vzorcích stolice **u lidí nevykazujících žádné symptomy, tak u symptomatických pacientů**.
- Není tedy jasné, zda by se na *Blastocystis* mělo pohlížet jako na **komezální organismus**, nebo jako na **potenciální patogen**. Bylo zjištěno, že symptomy se objevují u pacientů se zvýšeným počtem amoebních stádií *Blastocystis*, přesněji podtypu 3 (*B. sp. ST3*), které ulpívají na stěně tlustého střeva.
- Existují spekulace, že **amoební stadium dráždí imunitní homeostázi trávicího systému**. To znamená, že imunitní systém reaguje na karbohydrátové antigeny, které jsou přítomny na povrchu amoebních buněk.

# Jak se člověk nakazí ?

Jak je přesně *Blastocystis* přenášena není dosud s určitostí známo, ale počet infikovaných lidí stoupá v oblastech s nízkou úrovní hygieny.

Současné studie naznačují především tyto cesty přenosu:

- Polknutí kontaminované potravy nebo vody
- Pobyt v denních stacionářích poskytujících péči např. bezdomovcům
- Kontakt se zvířaty



# Jaké jsou způsoby prevence ?

- **Umývat si ruce mýdlem a horkou vodou po použití záchodu, výměně plen a před manipulací s potravinami.**
- **Učit děti důležitosti umývání rukou jako prevence vůči infekci.**
- **Vyhnout se konzumaci kontaminované potravy a vody.**
- **Umývat a loupat syrovou zeleninu a ovoce před jídlem.**
- **Při cestách do exotických zemí se vyhnout pití vody z rizikových zdrojů jako je nepřevařená vodovodní voda a vyhnout se konzumaci neuvařeného jídla umývaného v nepřevařené vodovodní vodě.**
- **Pít jen originál balené a pasterizované nápoje a nápoje připravované z převařené vody jako je káva a čaj, které jsou k pití bezpečné.**

# Sarcocystis

# **Sarcocystosis, Isospora hominis, Sarcocystiasis, Sarcosporidiosis**

Původce: Protozoa – Sporozoa – Apicomplexa

Nejčastěji se u člověka vyskytující druhy:

**Sarcocystis bovihominis nebo S. suihominis**



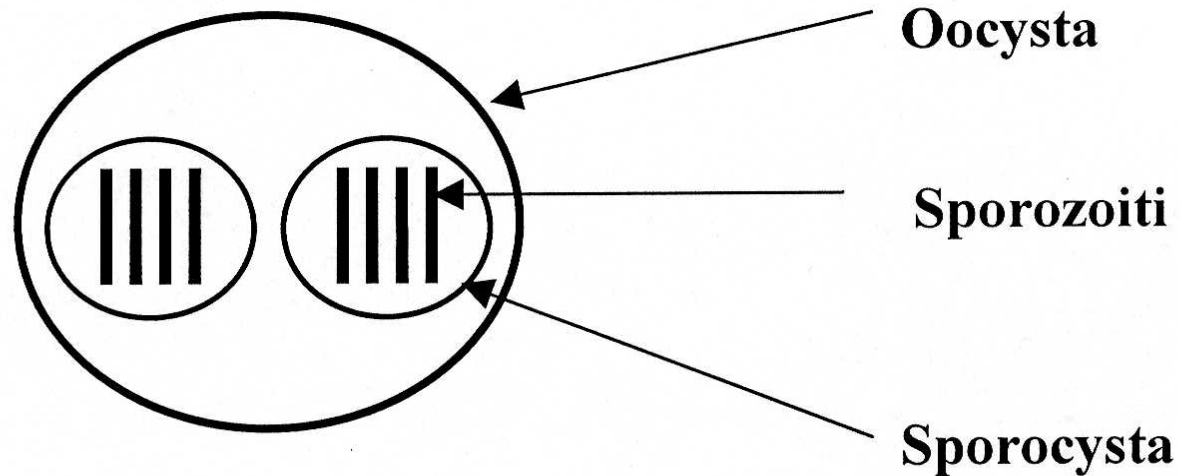
# Sarcocystis - sarcocystosa

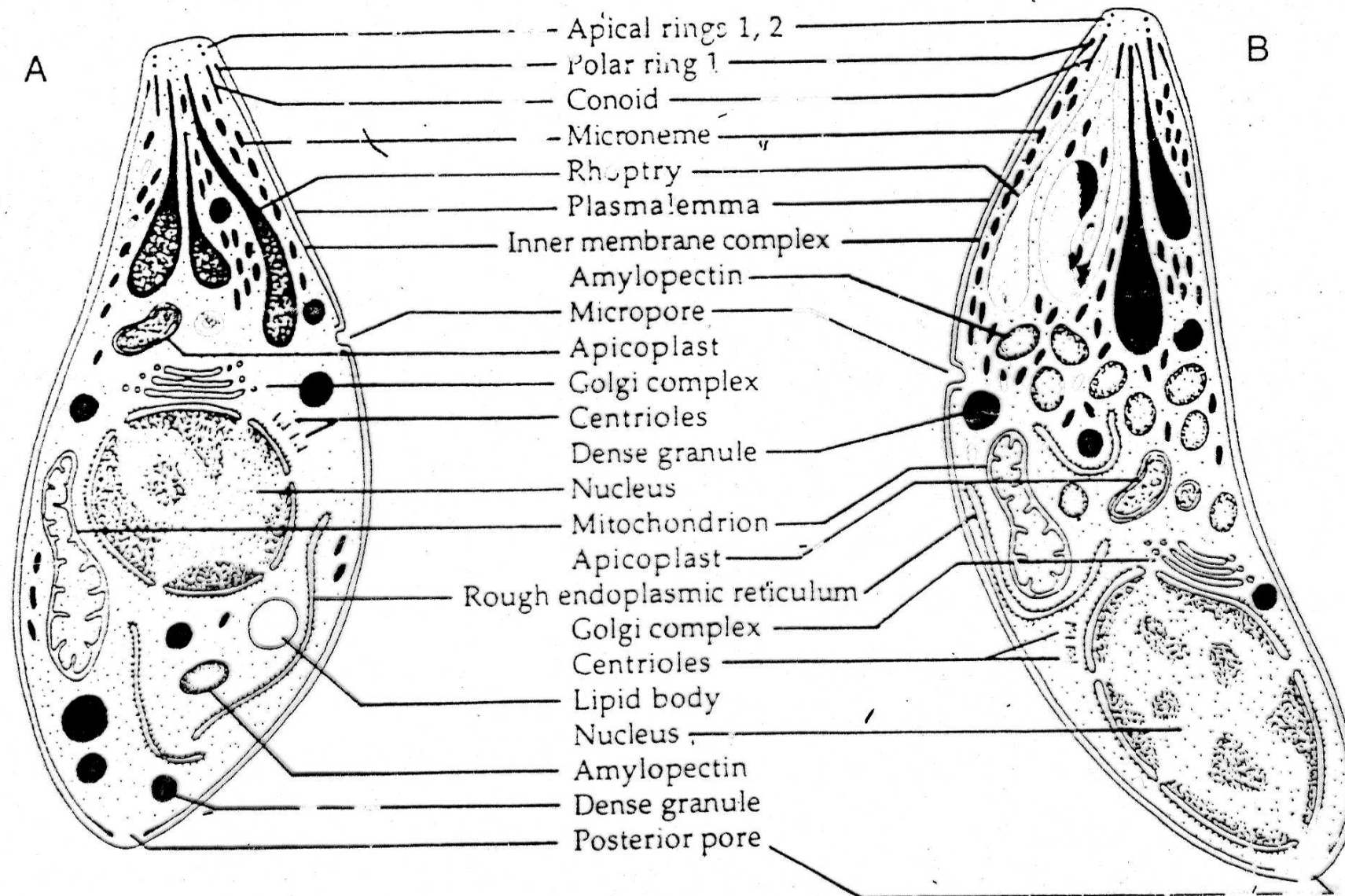
Typické heteroxenní kokcidie - známé již přes 100 let

Cystické útvary ve svalovině mezihostitelů - makroskopicky viditelné

DH se nakazí pozřením infikované potravy → gamogonie → oocysty

## Schéma oocysty



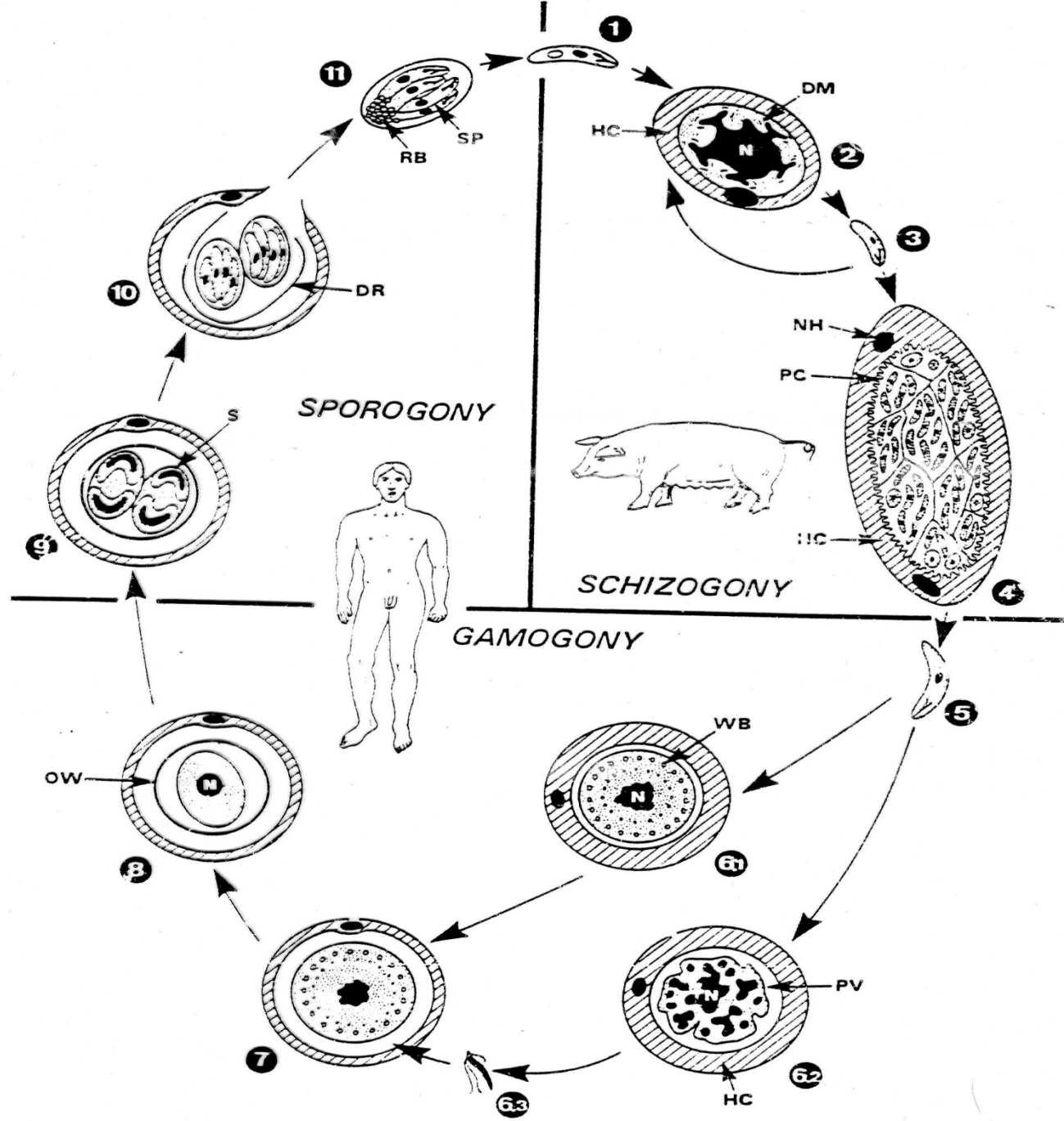


**FIGURE 13.3** Comparison of a metrocyte (A) and a bradyzoite (B) of a tissue coccidium such as *Toxoplasma* or *Sarcocystis*. [From Dubey, J. P., et al, 1998.]

## Životní cyklus

1. Ze sporocysty pozřené mezihostitelem se uvolňují volní sporozoiti
2. Dvě generace schizontů vznikají 5-6 a 12-17 den po začátku invaze endotelových buněk krevního řečiště - z nich endopolygonií vzniká 60 až 100 merozitů
3. Volní merozoiti 1. generace vnikají do buněk endotelu a vytvářejí nové schizonty; merozoiti 2. Generace dávají vzniknout tkáňovým cystám. Cysty vznikají uvnitř buněk svalových i v buňkách mozku.
4. Uvnitř těchto buněk probíhá opět množení opakovanou endodyogenií - vznik tisíců merozoitů v cystách.
5. Pozřením nakaženého masa přenos do DH - uvolnění merozoitů - napadání buněk střevní stěny (lamina propria)
6. Formování gamet (makrogamety a mikrogamety - cca 14 hodin po infekci)
7. Fúze gamet
8. Formování oocysty
9. Proces sporogonie probíhá uvnitř parazitoformní vakuoly hostitelské buňky
10. Uvolnění sporocyst z oocysty v DH
11. Vysporulovaná sporocysta je vylučována s výkaly DH

# Sarcocystis suihominis





# Sarcocystis – životní cyklus

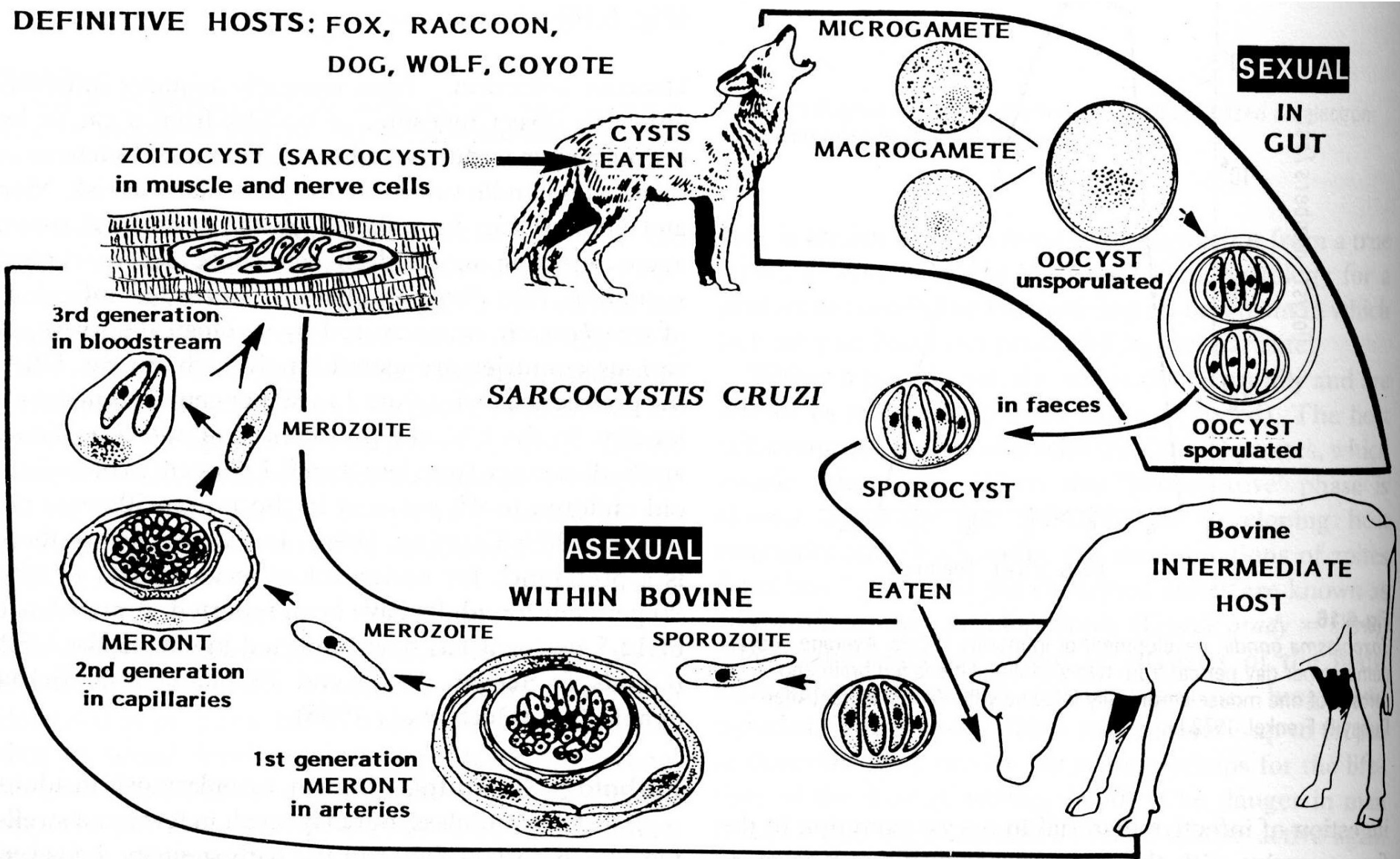
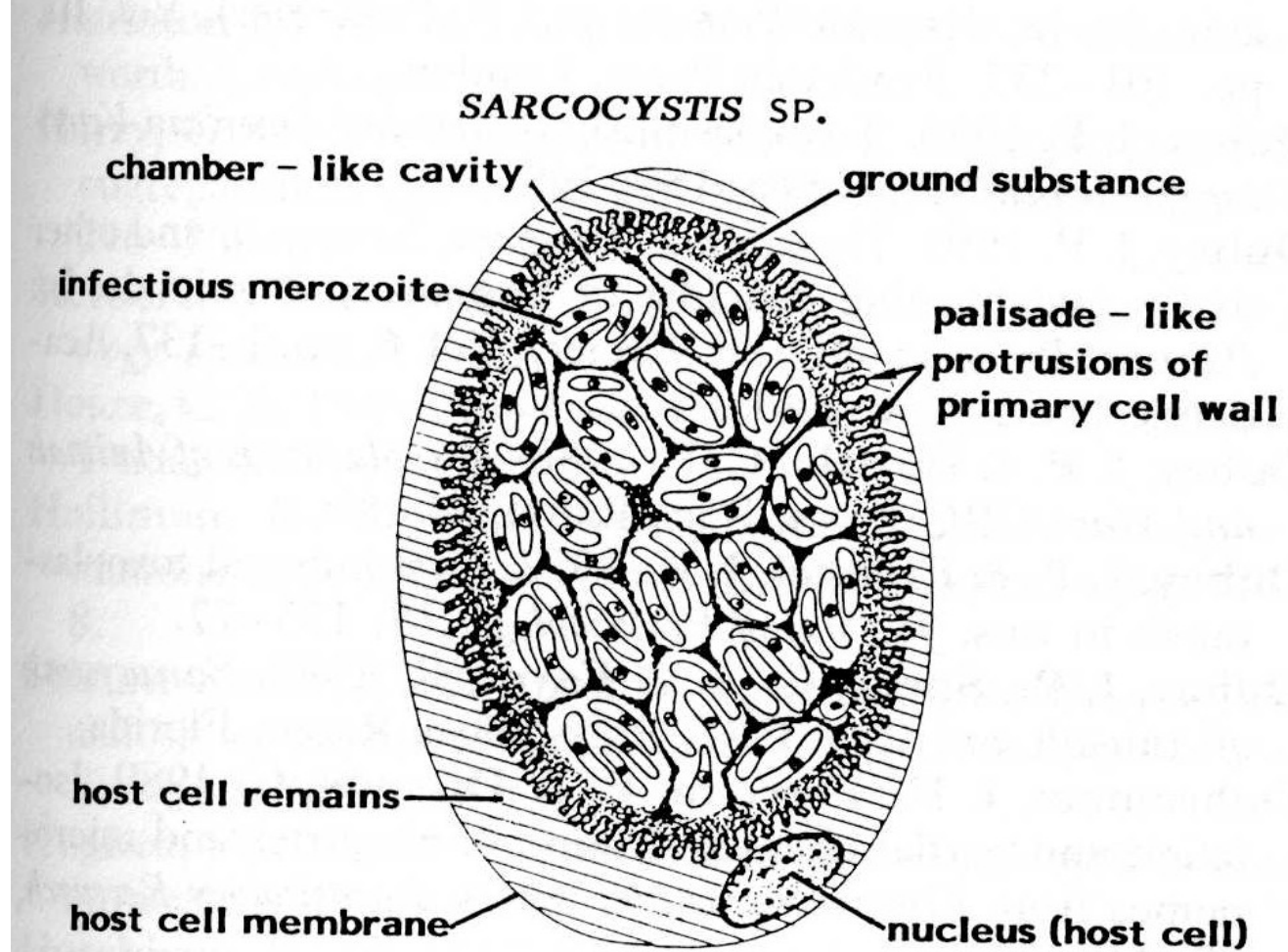


Fig. 6.17  
Life cycle of *Sarcocystis cruzi*. (Modified and reproduced with

# Infekční cystické stádium - sarcocysta



**Fig. 6.18**

Infective zoitocyst ('sarcocyst') of *Sarcocystis* sp. within a muscle fibre; 2 months development. (After Mehlhorn & Heydorn, 1973.)

## Sarcocystis - sarkocystosa

### Diagnostika

1. nález sporocyst ve výkalech definitivního hostitele (flotace)
2. průkaz infekce v meziphostiteli:
  1. Nález sarkocyst ve svalovině (somatické svaly, srdce, jícn)
  2. Serologický průkaz protilátek
  3. Klinické příznaky onemocnění
  4. Experimentální zkrmení napadení tkáně definitivnímu hostiteli

## Parazito-hostitelské interakce

- Patogenita:**
1. Destrukce buněk
  2. Zánět
  3. Imunopatologie
  4. Edémy
  5. Horečka
  6. Anémie
  7. Potraty
  8. Eosinofilní myositis
  9. Produkce toxinů



# Sarcocystis - sarkocystosa

## Epidemiologie

U některých domácích zvířat prevalence až 100% (dobytek, prasata, ovce).



Oocysty přežívají ve vhodných podmínkách až několik měsíců (vlhkost 75% a více, teplota 5 až 12 °C), nezbytná je přítomnost kyslíku.

Člověk se nakazí nedostatečně tepelně (pod 60 °C) upraveným masem (*S. suis*, *S. bovis*). Infekce není nebezpečná pro život, vede však k průjmu.

Není žádná terapie, ani vakcinace.

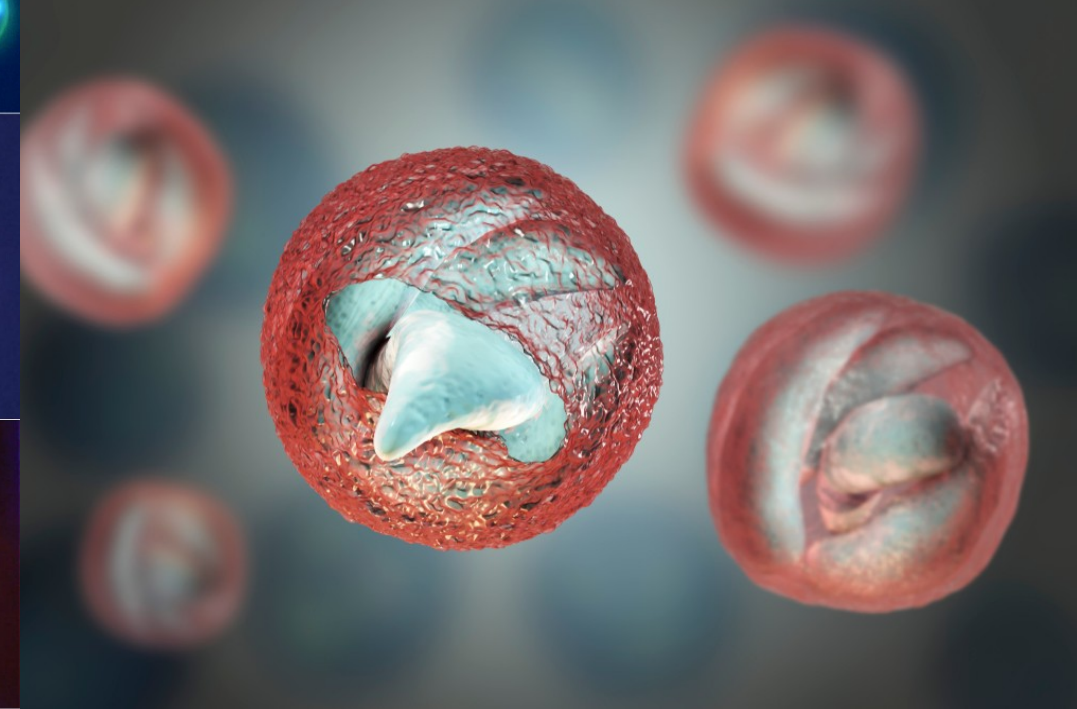
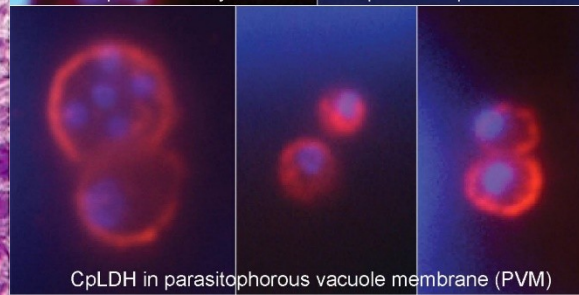
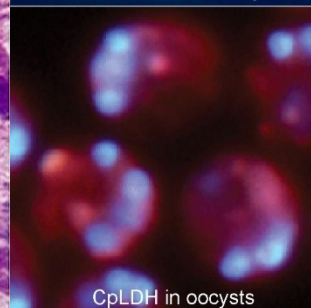
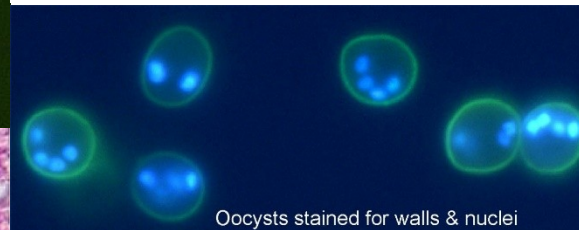
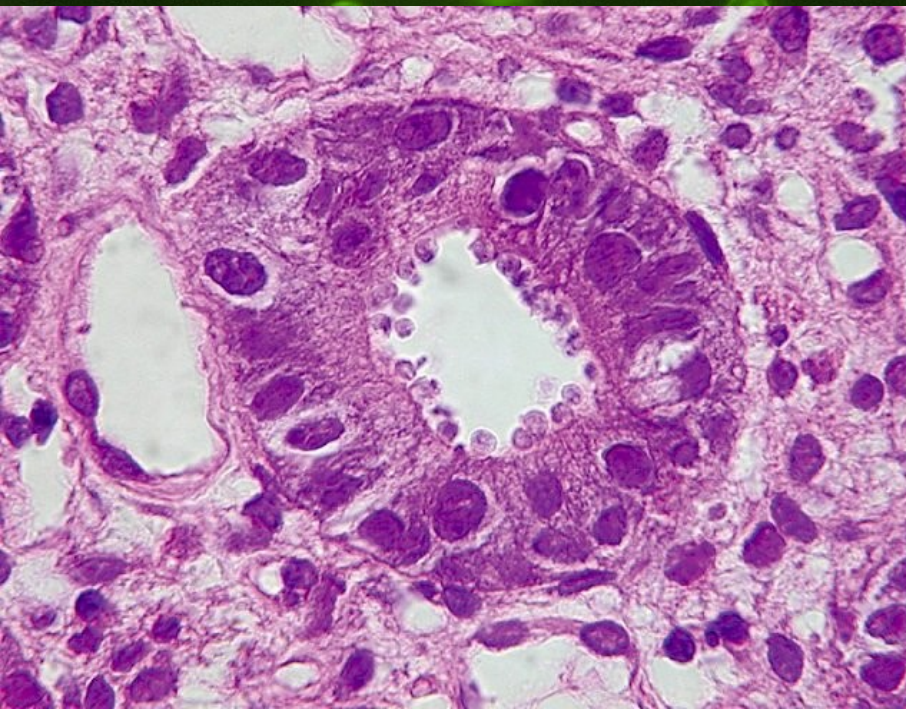
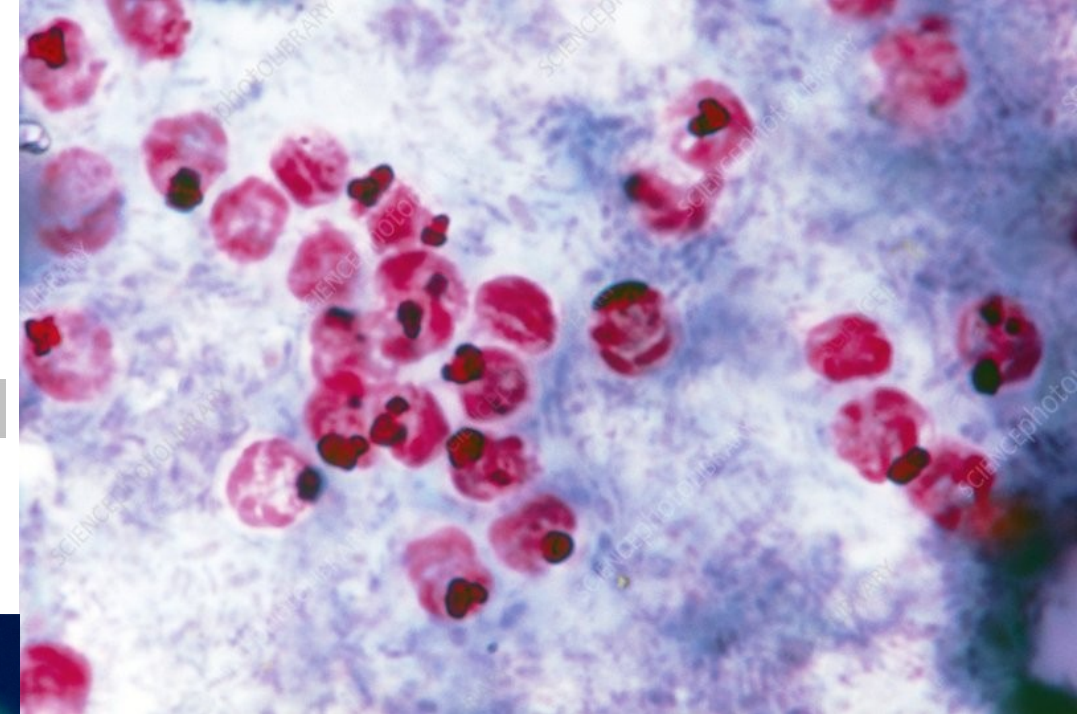
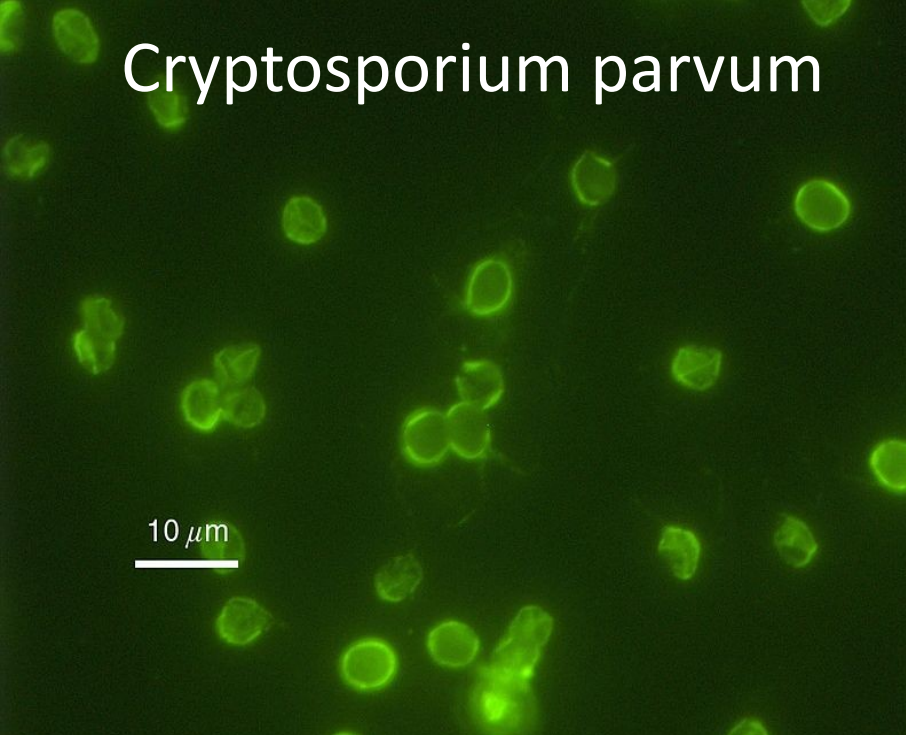
Význam preventivních opatření.

# Významní zástupci rodu *Sarcocystis*

Druhové jméno	Mezihostitel	Definitivní hostitel	Původní jméno (DH)	Patogenita
 <i>S. bovihominis</i>	dobytek	člověk	Isospora hominis	-
<i>S. bovicanis</i>	dobytek	pes	I. bigemina	+
<i>S. bovifelis</i>	dobytek	kočka	I. bigemina	-
<i>S. cruzi</i>	dobytek, bizon	pes, kojot, liška	-	+
 <i>S. sui hominis</i>	prase	člověk	I. hominis	+
<i>S. suicanis</i>	prase	pes	I. bigemina	+
<i>S. ovicanis</i>	ovce	pes	I. bigemina	+
<i>S. ovifelis</i>	ovce	kočka	I. bigemina	-
<i>S. arieticanis</i>	ovce	pes	I. bigemina	+
<i>S. capracanis</i>	koza	pes	I. bigemina	+
<i>S. hircicanis</i>	koza	pes	I. bigemina	-
<i>S. gracilis</i>	jelen	pes	I. bigemina	-
<i>S. equicanis</i>	kůň	pes	I. bigemina	-
<i>S. bertrami</i>	kůň	pes	I. bigemina	-
<i>S. cameli</i>	velbloud	pes	I. bigemina	-
<i>S. muris</i>	myš	kočka	I. bigemina	+
<i>S. dispersa</i>	myš	sovy	I. sp.	-
<i>S. cernea</i>	Microtus	Falco	I. sp.	+
<i>S. cuniculi</i>	králík	kočka	I. bigemina	-
<i>S. rileyi</i>	kachna	pes	I. sp.	-
<i>S. horwathi</i>	kuře	pes	I. bigemina	-
<i>S. podarcicolubris</i>	ještěrky	hadi	I. sp.	-
<i>S. murivipera</i>	myš	hadi	I. sp.	-
<i>S. singaporensis</i>	potkan	hadi	I. sp.	-

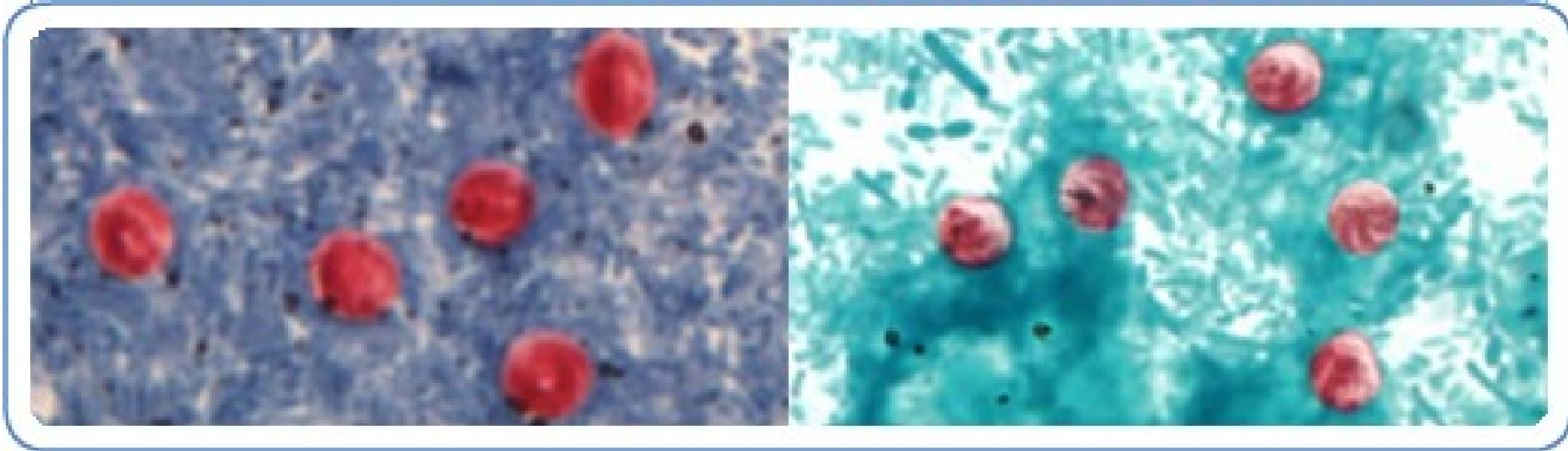


# Cryptosporidium parvum





# Cryptosporidium - cryptosporidiosa



- Existuje mnoho druhů parazitů rodu *Cryptosporidium* napadající člověka a řadu dalších živočichů.
- *Cryptosporidium parvum* a *Cryptosporidium hominis* (dříve známo jako *C. parvum* s antropickým genotypem nebo genotypem 1) představují druhy s největší prevalencí vyvolávající onemocnění člověka.
- Uváděny jsou též infekce druhy *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. canis* a *C. muris*.



# Co je to cryptosporidiosa ?

Cryptosporidiosa je průjmovitě onemocnění působené mikroskopickým prvky rodu *Cryptosporidium*, kteří žijí ve střevě člověka a zvířat a jsou vylučováni ve stolici infikovaných osob a živočichů. Jak onemocnění tak parazit jsou často označováni jen jako "Crypto.,"

Parazit vytváří odolnou oocystu, která odolává působení běžných chlorovaných desinfekčních prostředků. Během uplynulých dvou dekád, se *Cryptosporidium* stalo jednou z nejvýznamnějších příčin tzv. waterborne disease (rekreační a pitná voda). Rozšíření cizopasníka je celosvětové.

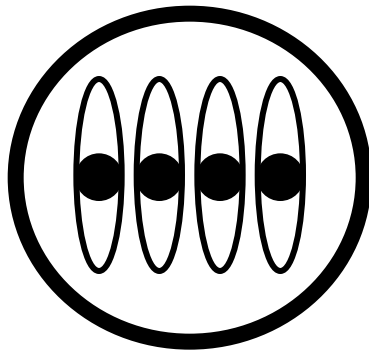
## Jak je cryptosporidiosa rozšiřována ?

*Cryptosporidium* je rozšiřováno oocystami vylučovanými ve stolici napadených lidí a zvířat. Vylučování oocyst začíná s nástupem diarrhea a přetrvává i několik týdnů po jeho ukončení. Člověk se nakazí polknutím oocysty, která se může nacházet v kontaminované půdě, potravě, vodě a na površích věcí kontaminovaných výkaly infikovaných lidí a zvířat. Crypto se nepřenáší krví.

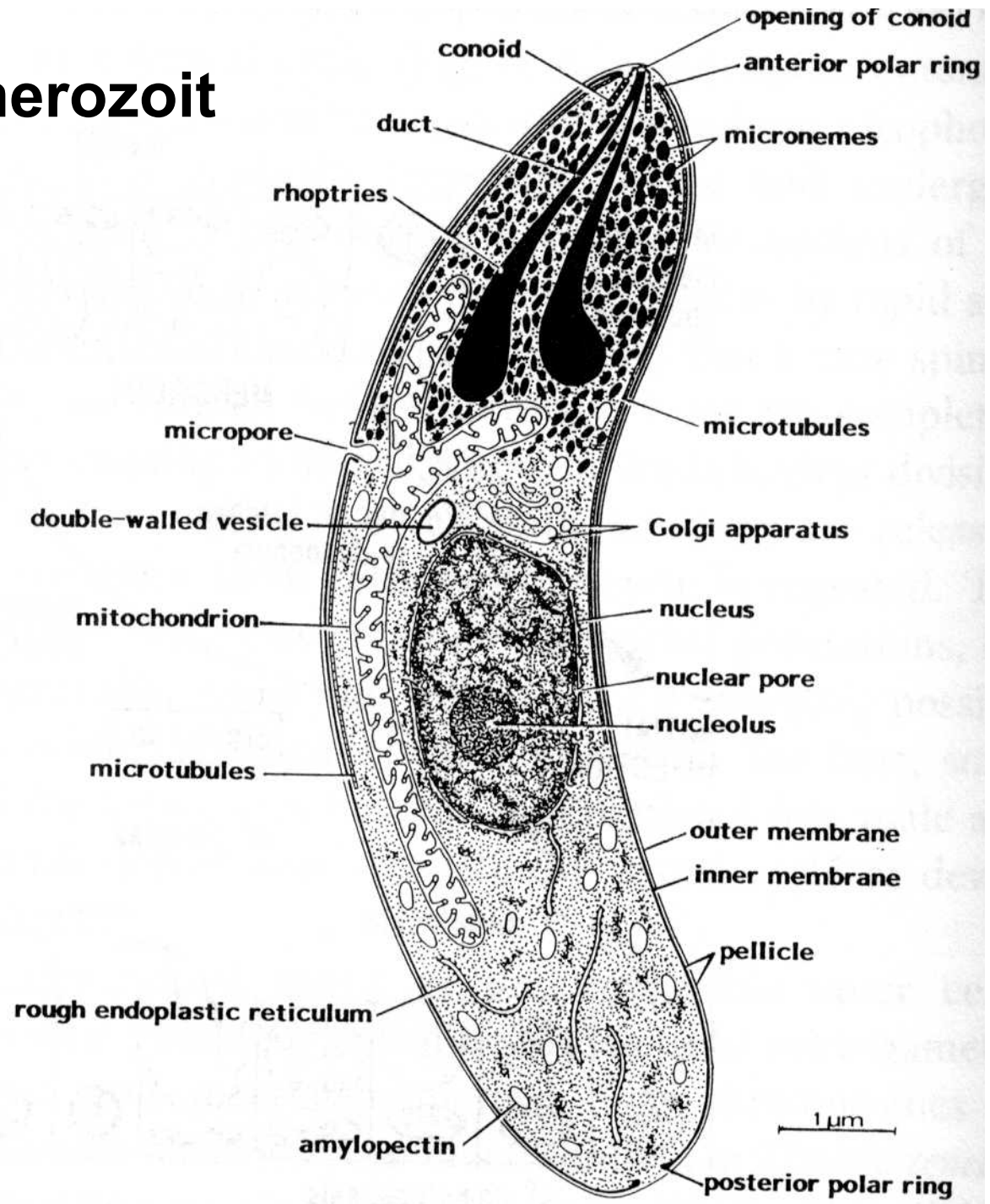
# Cryptosporidium - životní cyklus

- Vysporulovaná oocysta obsahující 4 sporozoity je vylučována s výkaly infikovaného hostitele.
- Přenos *Cryptosporidium parvum* a *C. hominis* se uskutečňuje především díky kontaktu s kontaminovanou vodou. Příležitostně mohou být zdrojem infekce i např. různé saláty.
- Následuje polknutí (vyloučit nelze také inhalaci) oocysty vhodným hostitelem a její excystaci.
- Uvolnění sporozoiti parazitují epiteliální buňky gastrointestinálního traktu hostitele nebo jiných tkání např. respirační soustava.
- V těchto buňkách paraziti prodělávají asexuální rozmnožování (schizogonie nebo merogonie) a pak sexuální rozmnožování (gametogonie) produkující mikrogamonty (samčí) a makrogamonty (samičí).
- Po fertilizaci makrogamety mikrogametou vzniká oocysta, která sporuluje v těle infikovaného hostitele.
- Vyvíjí se dva různé typy oocyst. První je tlusto-stěnná a je vylučována s výkaly a druhá je tenko-stěnná a slouží k autoinfekci.
- Oocysty jsou po vyloučení z hostitele infekční a dovolují tak přímý přenos z výkalů jednoho (fecal-oral) na dalšího hostitele..

# merozoite



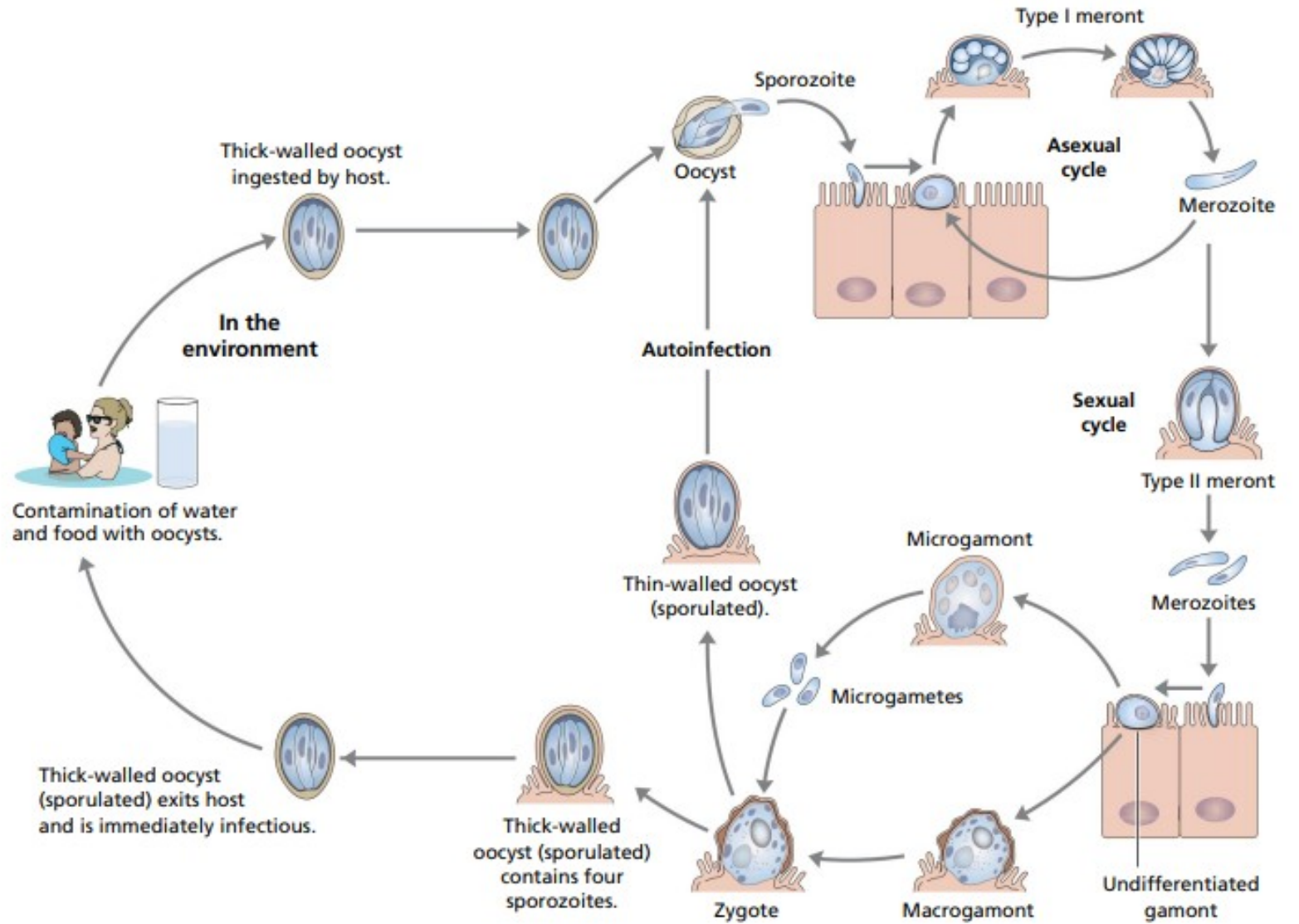
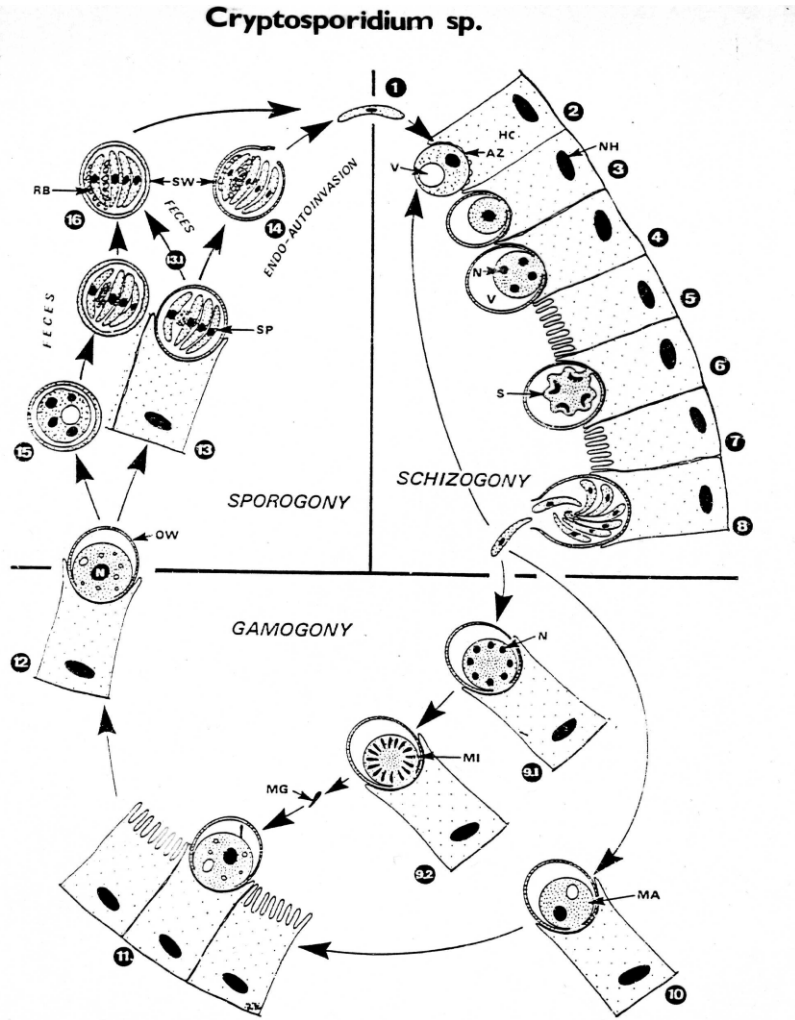
oocysta



conoid  
opening of conoid  
anterior polar ring  
duct  
micronemes  
rhoptries  
microtubules  
micropore  
double-walled vesicle  
Golgi apparatus  
mitochondrion  
nucleus  
nuclear pore  
nucleolus  
microtubules  
outer membrane  
inner membrane  
pellicle  
rough endoplasmic reticulum  
amylopectin  
posterior polar ring

1 μm

# Životní cyklus *Cryptosporidium* sp.





# Způsoby přenosu cryptosporidiosis

- Při strkání různých věcí do úst nebo náhodným polknutím něčeho co bylo v kontaktu se stolicí infikovaných lidí a zvířat.
- Polknutím vody (při rekreaci) kontaminované Crypto - rekreační vodou je voda v bazénech, lázních, fontánách, jezírkách, jezerech, řekách, potocích, rybnících, přehradách atd. Tato rekreační voda může být kontaminována výkaly lidí a zvířat prosakujícími např. z kanalizace.
- Polknutím vody a nápojů kontaminovaných stolicí infikovaných lidí a zvířat.
- Pozřením neuvařeného jídla kontaminovaného Crypto. Doporučuje se umývat všechnu zeleninu a ovoce čistou nekontaminovanou vodou. Dodržovat zásady přípravy bezpečné vody.
- Přenos dotekem úst a kontaminovaných rukou. Ruce mohou být kontaminovány velkou škálou činností: hračky, koupelnové potřeby, věci osobní potřeby, hygienické pomůcky atd. Rovněž péče o nemocné lidi, ošetřování infikovaných krav a telat je velice rizikové
- Kontakt s lidskými výkaly při určitých sexuálních praktikách

# Klinické příznaky onemocnění

**Symptomy cryptosporidiosis obvykle začínají 2 až 10 dnů (v průměru 7) po infekci hostitele cizopasníkem. Nejtypičtější příznak tohoto onemocnění je diarrhea**

**Další příznaky jsou tyto:**

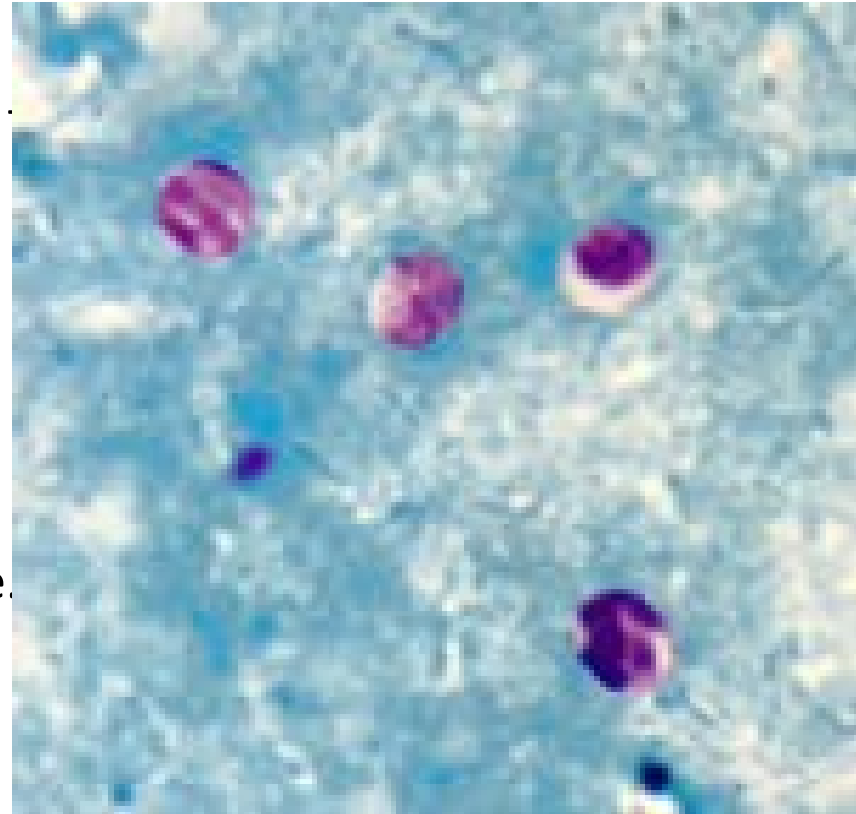
- **Žaludeční křeče a bolest**
- **Dehydratace**
- **Nevolnost**
- **Zvracení**
- **Horečka**
- **Ztráta hmotnosti**
- **Někteří lidé mající Crypto jsou zcela bez příznaků.**

# Různé typy onemocnění

- U lidí se zdravým imunitním systémem příznaky nemoci přetrvávají obvykle 1 až 2 týdny (délka trvání se pohybuje od několika dní po 4 i více týdnů). V některých případech se může onemocnění po krátké periodě zlepšení před koncem onemocnění zhoršit. Příznaky tak mohou trvat až 30 dní.
- Přesto, že nejvíce postiženým orgánem je tenké střevo, může se infekce *Cryptosporidium* vyskytnout i v jiných částech zažívacího případně respiračního systému.
- U lidí s oslabeným imunitním systémem se obvykle nemoc projevuje jako velmi vážná, chronická a může mít i fatální průběh.
- **Mezi tyto pacienty patří:**
  - Lidé s AIDS
  - Lidé mající onemocnění ovlivňující funkci imunitního systému
  - Pacienti s rakovinou a po transplantacích, kteří jsou vystaveni imunosupresivní léčbě.
  - Riziko vzniku vážného onemocnění se může lišit v závislosti na individuálním stupni imunosuprese jednotlivých pacientů.

# Diagnostika

- Diagnóza cryptosporidiosis se provádí vyšetřením stolice. Protože detekce cizopasníků rodu *Cryptosporidium* je velmi obtížná, musí pacienti poskytnout obvykle více vzorků z několika dnů.
- Nejčastěji se cizopasníci prokazují použitím různých direct fluorescent antibody [DFA] enzyme immunoassays *Cryptosporidium* sp.
- Použití molekulárních metod polymerase chain reaction vzestupu ale jejich laboratoří omezené rutinní test na *Cryptosporidium* spp.





# Léčení

**Obecně je doporučován preparát Nitazoxanid**

- **Terapie dospělí:** 500 mg PO b.i.d. x 3 dny
- **Terapie děti:** 1- 3 roky: 100 mg PO b.i.d.x 3 dny  
4 -11 let: 200 mg PO b.i.d. x 3 dny

**Nitazoxanid je aplikován v podobě orální suspenze (100 mg/5ml; pacienti  $\geq$  1 rok) a Nitazoxanid v podobě tablet (500 mg; pacienti  $\geq$  12 let) u dětí s průjmem vyvolaným parazity rodu *Cryptosporidium*.**

# Které jsou nejvíce rizikové profese/činnosti ?

- Děti, které navštěvují různá denní pečovatelská centra včetně jeslí.
- Pracovnice mateřských škol a jeslí.
- Rodiče infikovaných dětí
- Lidé pečující o pacienty s cryptosporidiosou
- Lidé cestující na velké vzdálenosti - mezinárodní cestovatelé
- Baťůžkáři, stopaři a táborníci, kteří v přírodě pijí nefiltrovanou a neupravenou vodu.
- Lidé, kteří pijí vodu z mělkých a zdrojů.
- Lidé, včetně plavců, kteří polykají mělčinách a vodu v nádržích.
- Lidé pečující o infikovaný dobytek
- Lidé vystaveni kontaktu s lidskými určitých sexuálních



# Zásady správné hygieny rukou

Umývat ruce vždy mýdlem a vodou po dobu nejméně 20 vteřin, ruce se musí pořádně vydrhnout včetně všech záhybů kůže a na celém povrchu:

- Před přípravou jídla a před jídlem
- Po použití záchodu
- Po výměně plenek a umytí dětí po toaletě
- Před a po návštěvě někoho kdo má diarrhea
- Po kontaktu se zvířaty a zvířecími stelivem

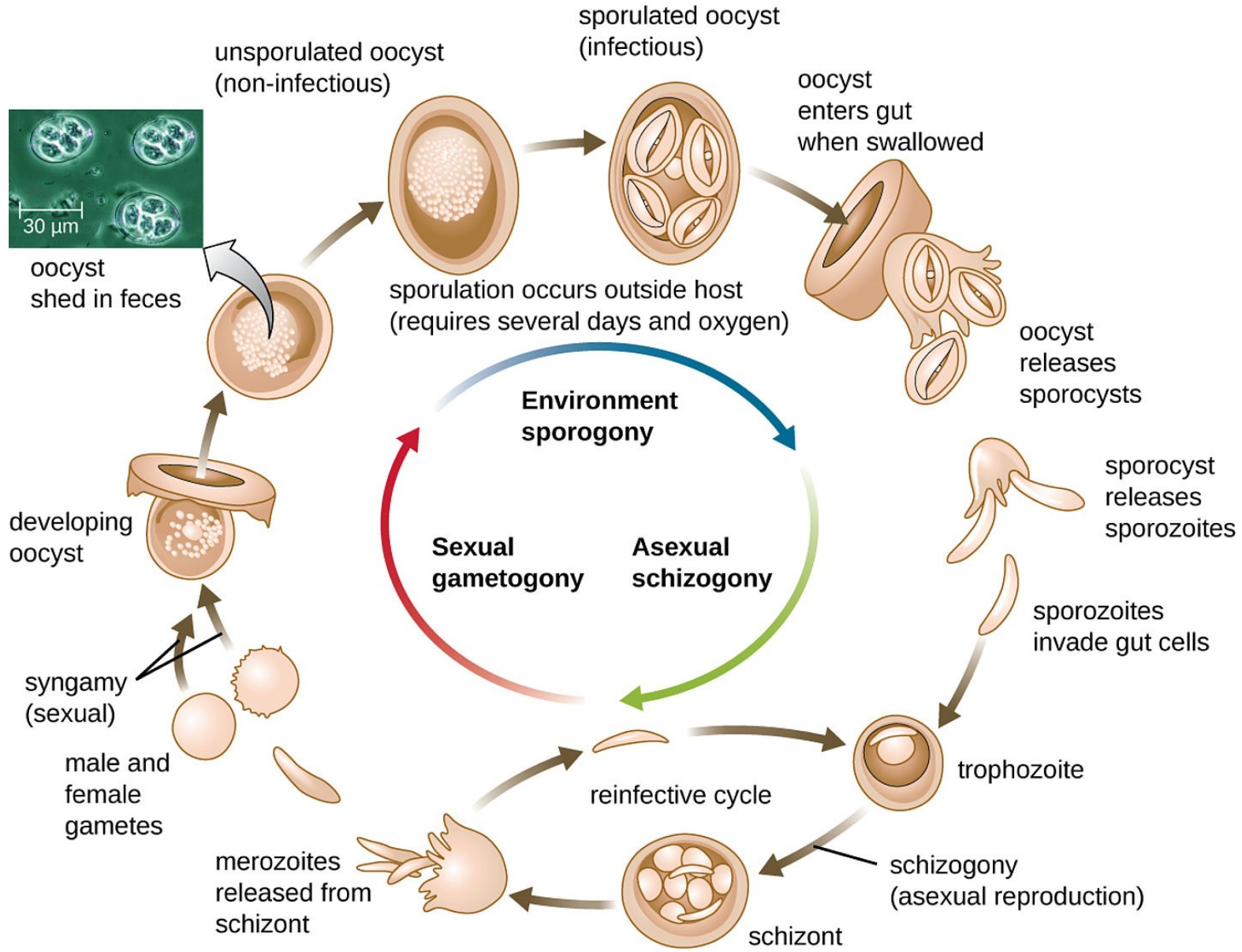
Děkuji za pozornost !



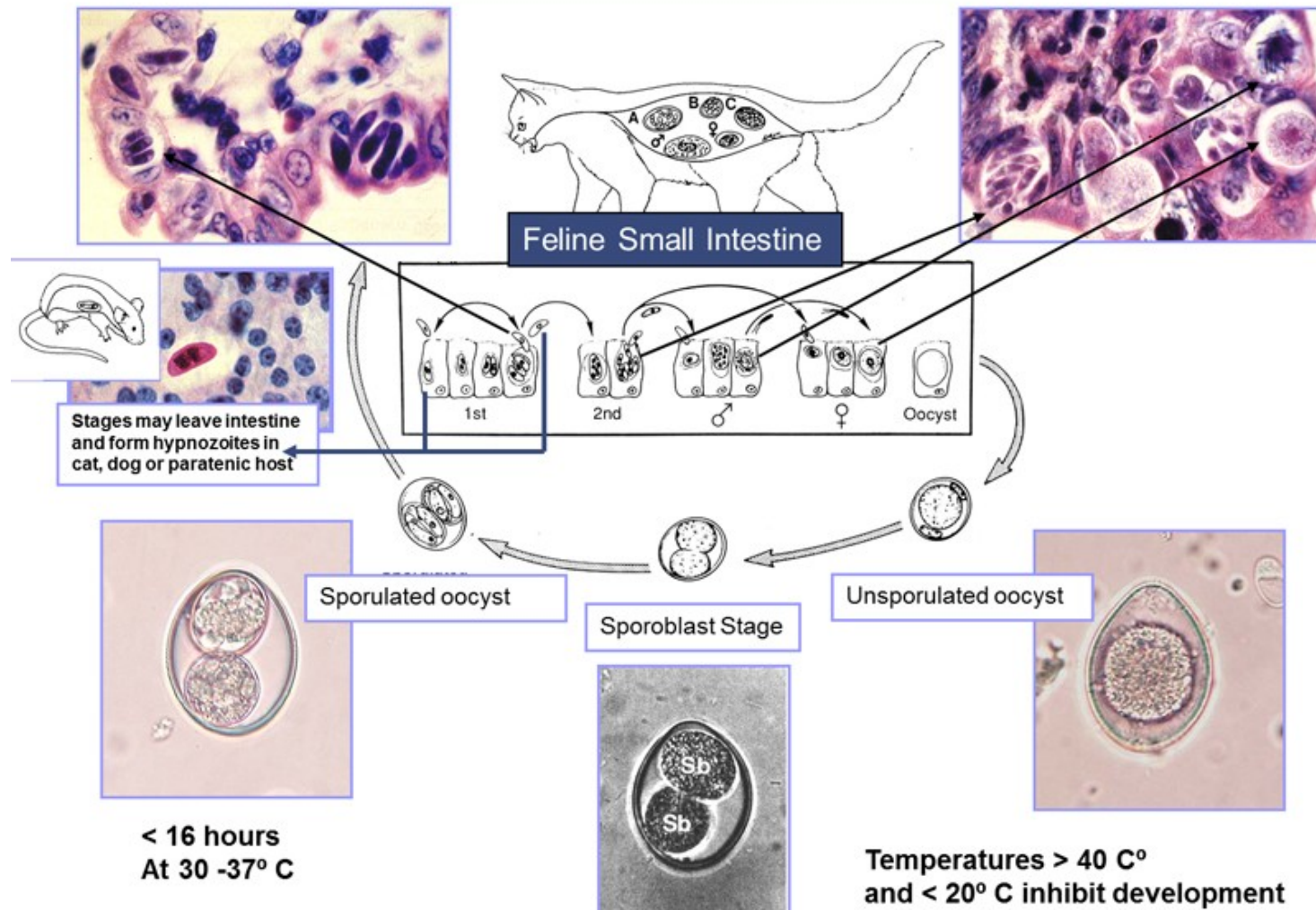




# Eimeria Life Cycle

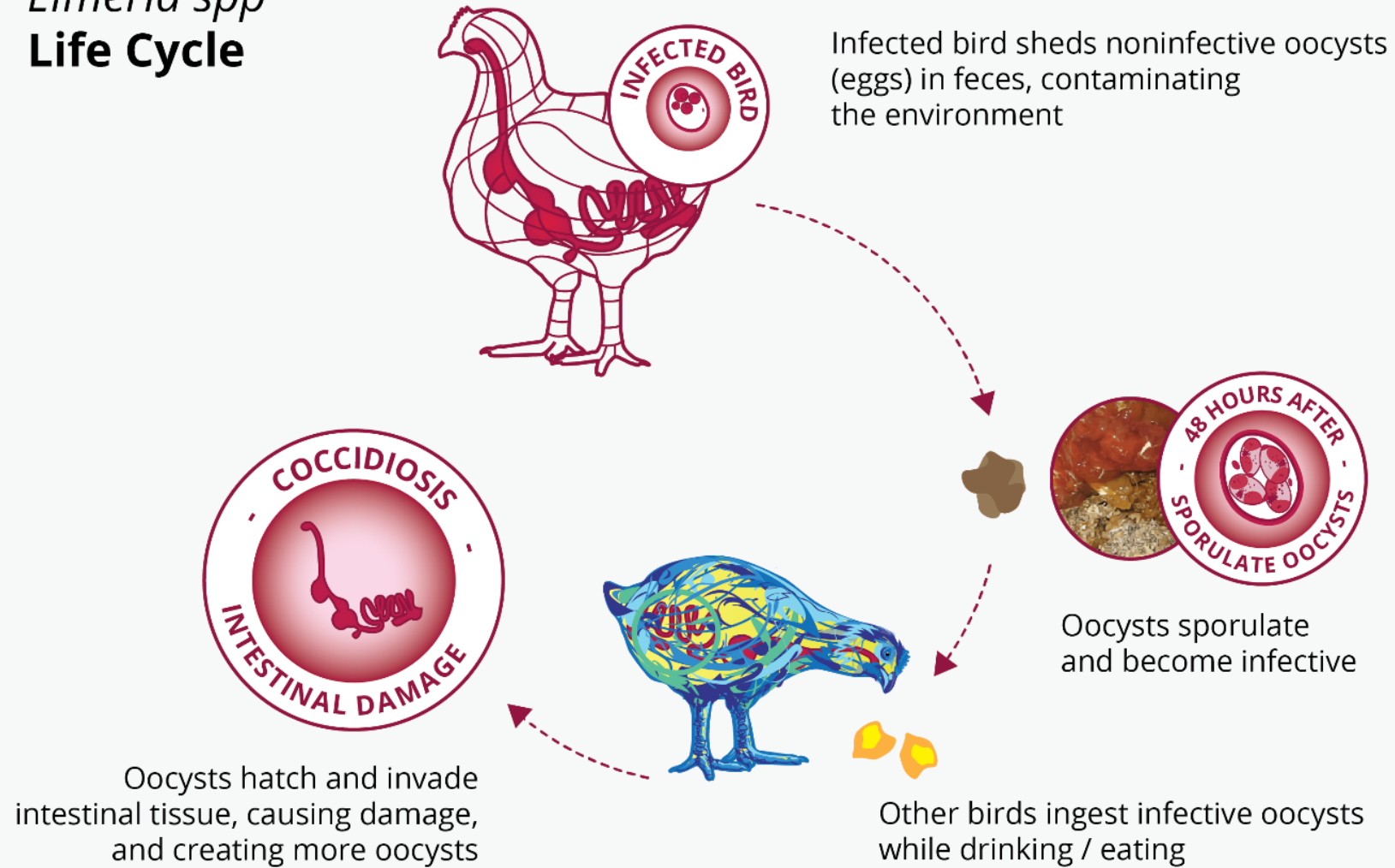


# Life Cycle of *Isospora felis*





## *Eimeria* spp Life Cycle



# Cryptosporidium parvum: přenos, životní cyklus, stádia

