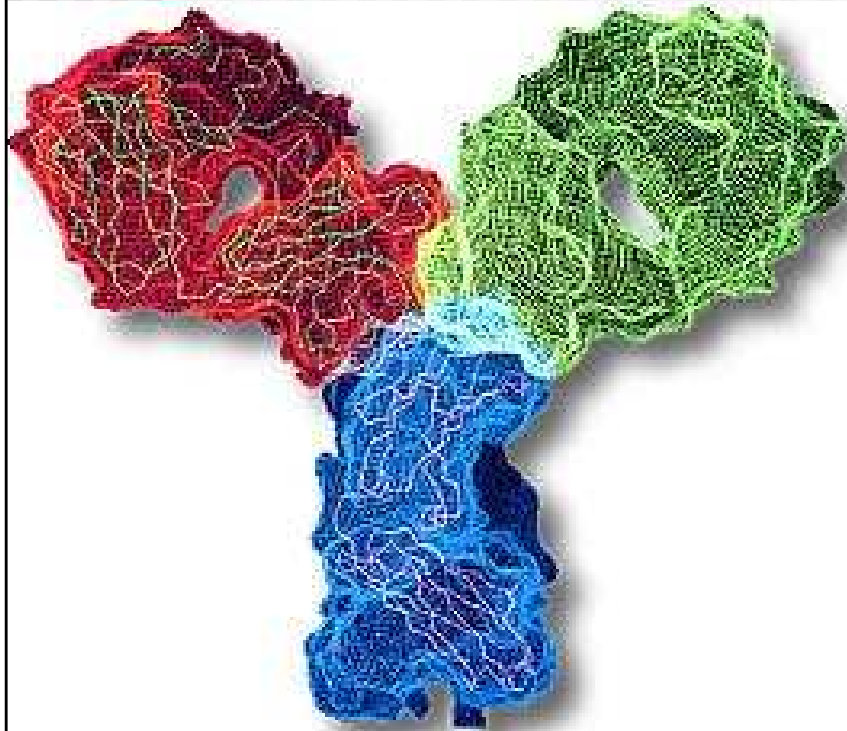


# Mykotické a parazitární infekce

pro studenty PŘF

hlavně pro obor

Obecná biologie



Ondřej Zahradníček

# Dnes máme na programu

---

- Přehled mykotických onemocnění člověka a jejich diagnostiky
- Přehled parazitárních onemocnění člověka a jejich diagnostiky
- V praxi:
  - Nepřímý průkaz virů
  - Mykologická diagnostika – nasazení testů

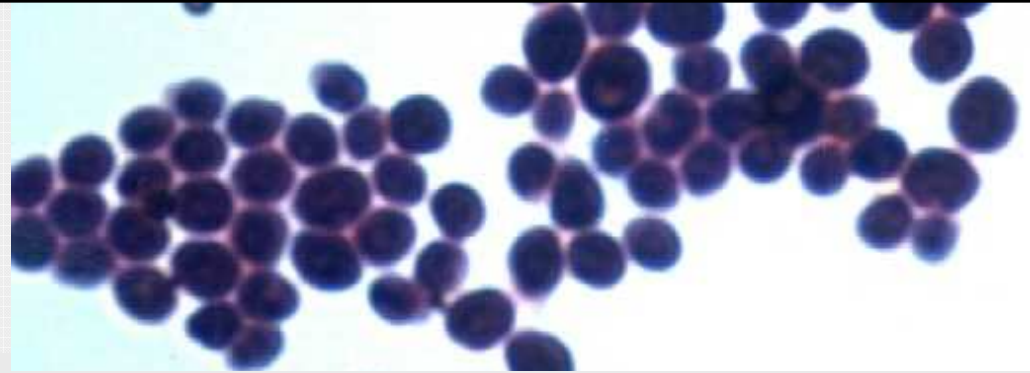


# I. Mykologie

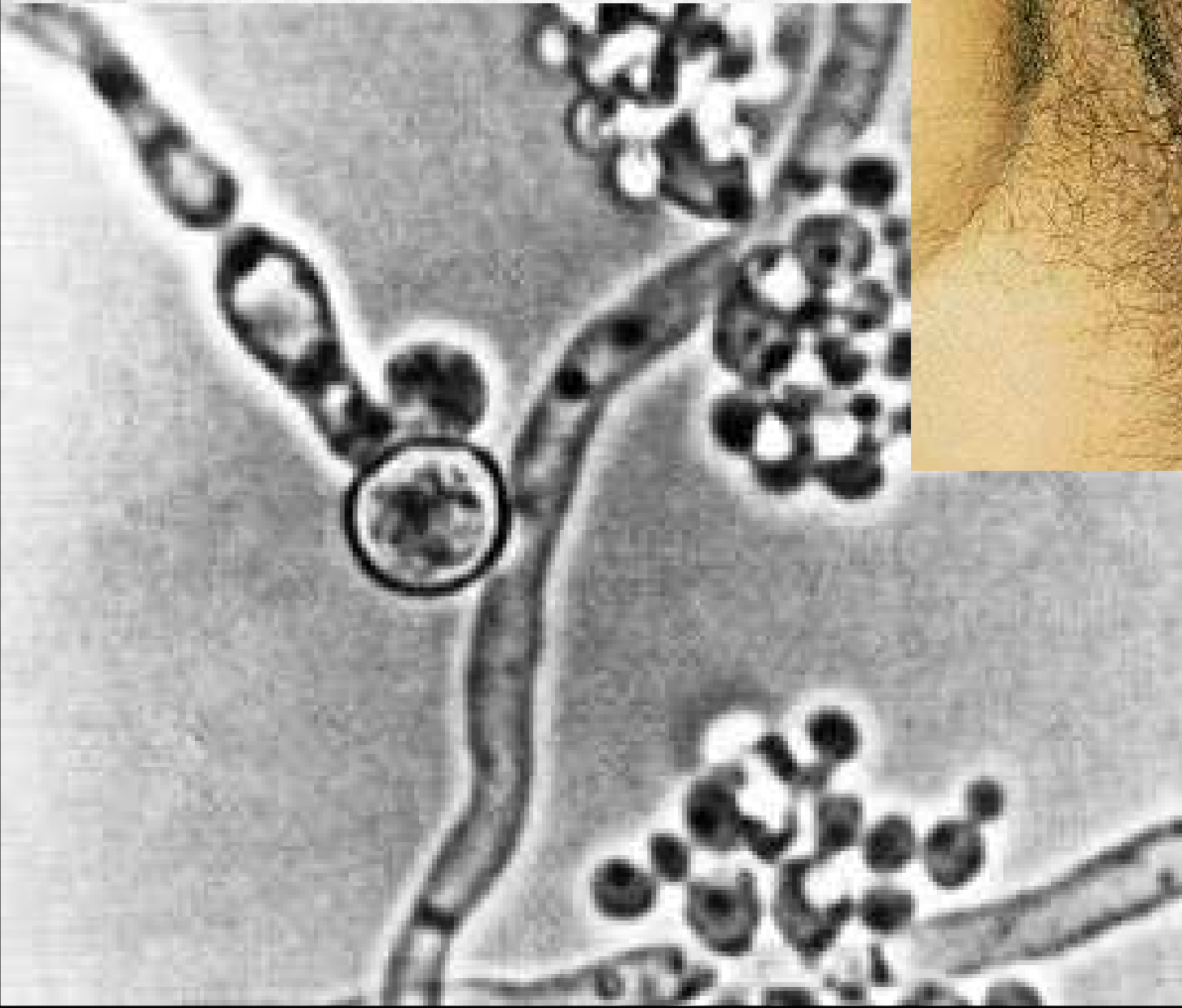
# Příběh první

- Ellen se trápila. Její přítel jí vyčítal, že s ním nechce spát. Ve skutečnosti ji přítel přitahoval, jenže pokaždé, když se milovali, začalo ji to „tam dole“ nepříjemně svědit.
- Což o to, už byla za svou gynekoložkou, a ta jí předepsala **vaginální čípky**. Čípky však pomohly jen na chvíli.
- Ellen se už doopravdy naštvála. Změnila gynekologa. Nový gynekolog, vyslechnuv její příběh, pochopil, že lokální terapie nebude stačit. **Až celková terapie vyhnala původce jejích potíží nejen z pochvy, ale i ze střevního rezervoáru.** Tím její potíže pominuly.

# Viníkem byla



- *Candida albicans*, nejběžnější z kvasinek. Vaginální mykózy jsou často úporné a velice nepříjemné. Jsou dobře adaptované na přítomnost v organismu. Často nečiní žádné obtíže, Jindy naopak dělá problémy velice úporné.
- Na poševních kandidózách se podílí mnoho faktorů. Významné jsou dietní vlivy (kvasinky jsou mlsné, a je-li mlsná i jejich hostitelka, s povděkem to uvítají), ale také hormonální vlivy, těhotenství, cukrovka a mnoho dalších vlivů.



# Příběh druhý

---

- Pan Leopold byl archivář. Celé dny trávil ve **vlhkém a zaprášeném** archivu. Postupně začal čím dál více **pokašlávat**. Chvíli se už obával, jestli snad nemá tuberkulózu, ale tuberkulóza to nebyla. Po zjištění pravé příčiny jeho potíží začaly Leopoldovy potíže ustupovat – pomalu, ale jistě.

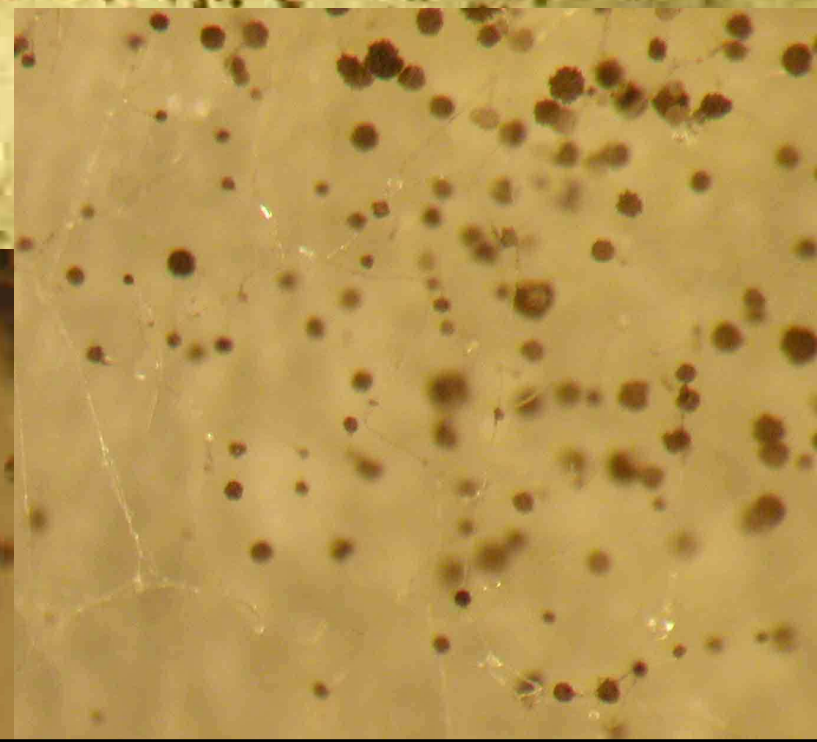
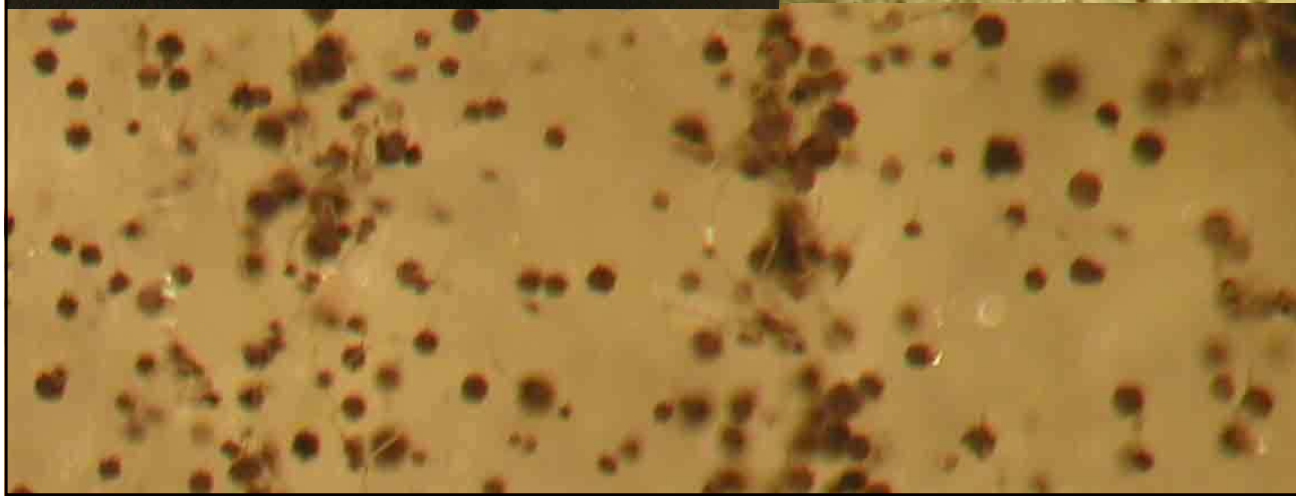
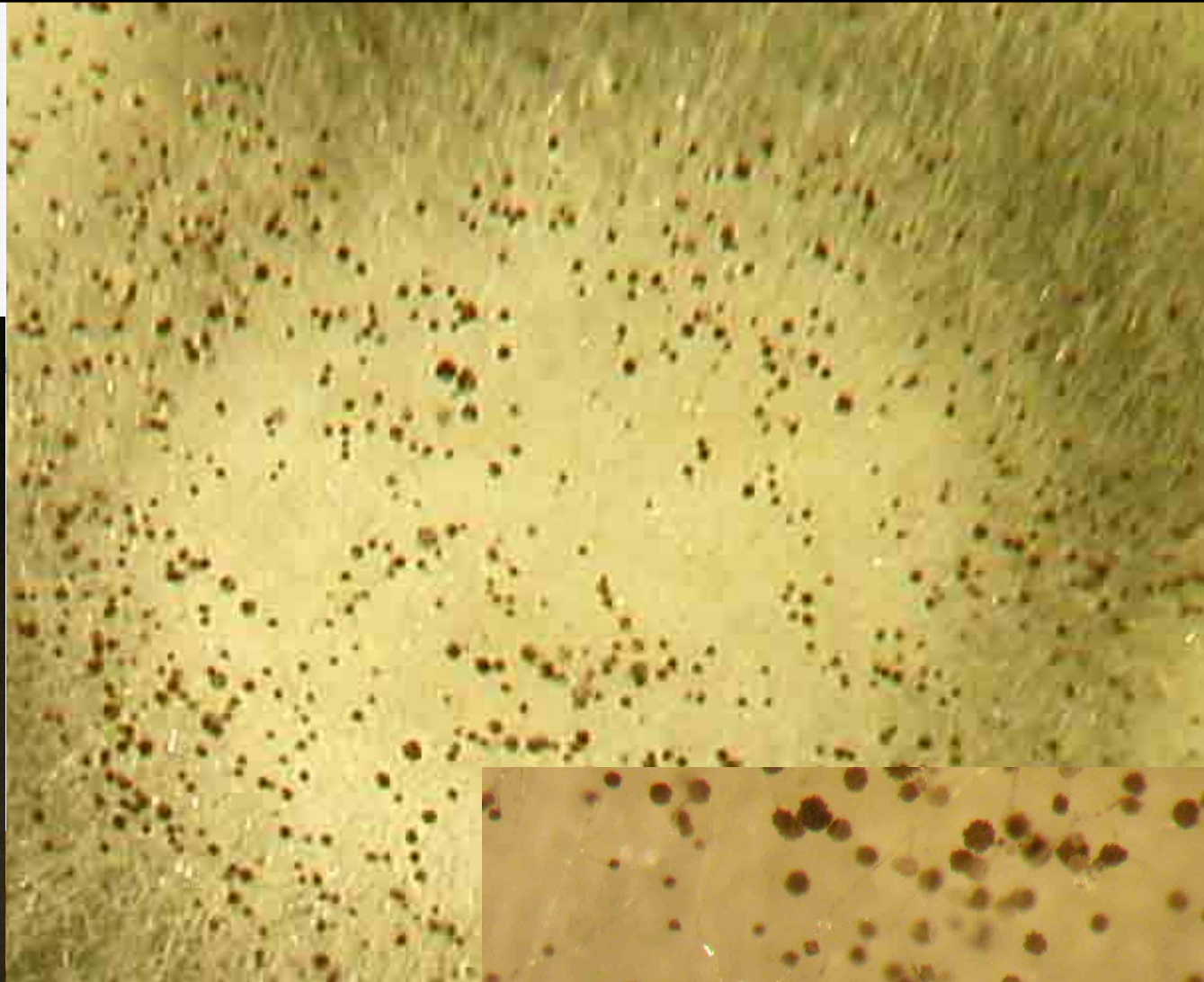
# Viníkem zde byl



- *Aspergillus niger*, neboli kropidlák černý
- Kropidláky napadají častěji lidi oslabené, mohou však napadnout i člověka zdravého. Často se aspergilóza vyskytuje jako profesní onemocnění lidí, pracujících ve vlhkých, zaprášených provozech, kde neustále poletují různé plísňové spóry.



# Kropidlák černý



# Obecná charakteristika hub

- Houby jsou **eukaryotní organismy**, na rozdíl od prokaryotních bakterií
- Jejich **buněčná stěna je tvořena polysacharidy**, má jinou stavbu a složení než buněčná stěna bakterií. Barví se ale fialově („grampozitivně“)
- Většinou mají **pomalejší buněčný cyklus** než bakterie → infekce bývají zdlouhavější
- Nepůsobí na ně většina antibakteriálních látek a musíme používat zvláštní skupinu látek – **antimykotika**, která zase nejsou účinná při léčbě bakteriálních infekcí

# Houby a zdraví

---

- Kromě mikroskopických hub, o kterých je řeč v tomto praktiku, nesmíme zapomenout ani na **houby, které mají makroskopické plodnice**
- **Otravy plodnicemi velkých hub** (muchomůrka zelená, vláknice Patouillardova, závojenka olovová, muchomůrka panterová, lysohlávky) každoročně znamenají zdravotní obtíže desítek lidí. V případě muchomůrky zelené jde často o smrtelné případy.

# Některé jedovaté velké houby

Poznáte  
je?



1 Muchomůrka  
zelená



2 Vláknice  
Patouillardova



3 Muchomůrka  
panterová  
(tygrovaná)



4 Závojenka  
olovová

# Klinicky významné houby

---

- Mikroskopické houby v těle působí
  - Mykózy – houbové záněty
  - Mykotoxikózy – toxické působení
  - Mykoalergózy – alergie na houby
  - Mycetismy – houba přítomna v těle, působí jen útlakem okolních tkání
- Nejdůležitější jsou mykózy, které dělíme na povrchové (kožní a slizniční ) a systémové

# Povrchové mykózy 1

---

- Kromě rodu *Candida* (viz dále) se na nich podílejí **specializovaní zástupci** rodů *Trichophyton*, *Epidermophyton* a *Microsporum*
- Některé druhy se přenášejí **mezi lidmi**, jiné ze zvířat či z prostředí
- **Rostou velmi pomalu** in vivo i in vitro. Kultivace trvá několik týdnů. Také průběh a léčba je zdlouhavá

# Povrchové mykózy 2

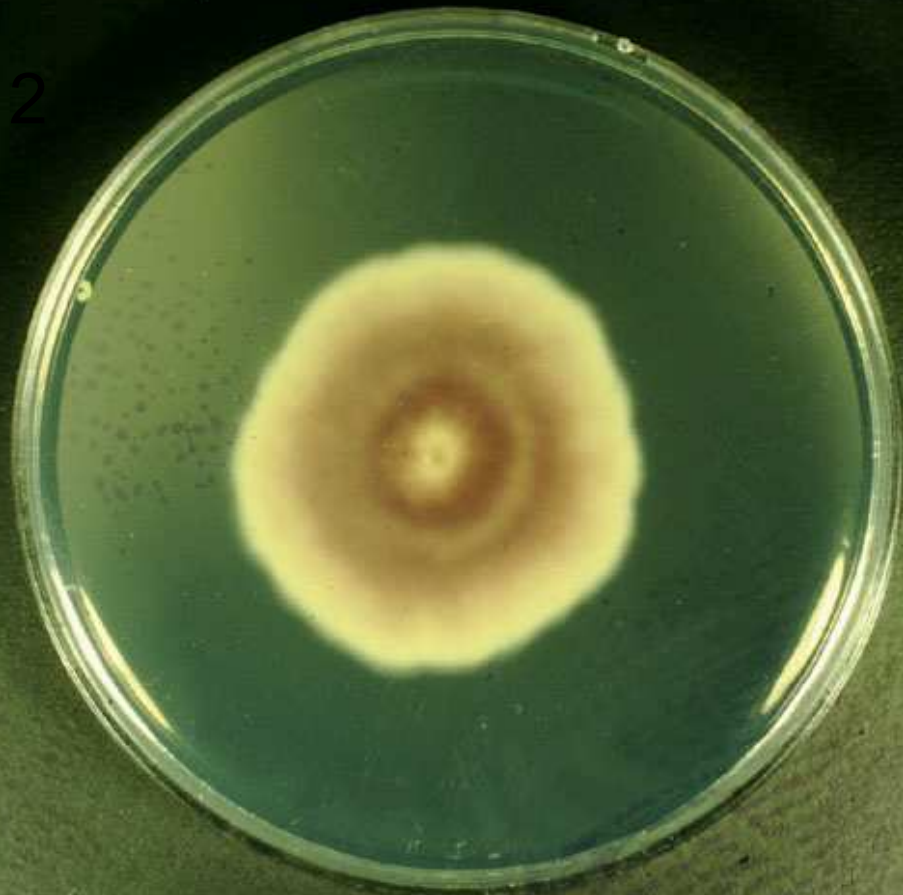
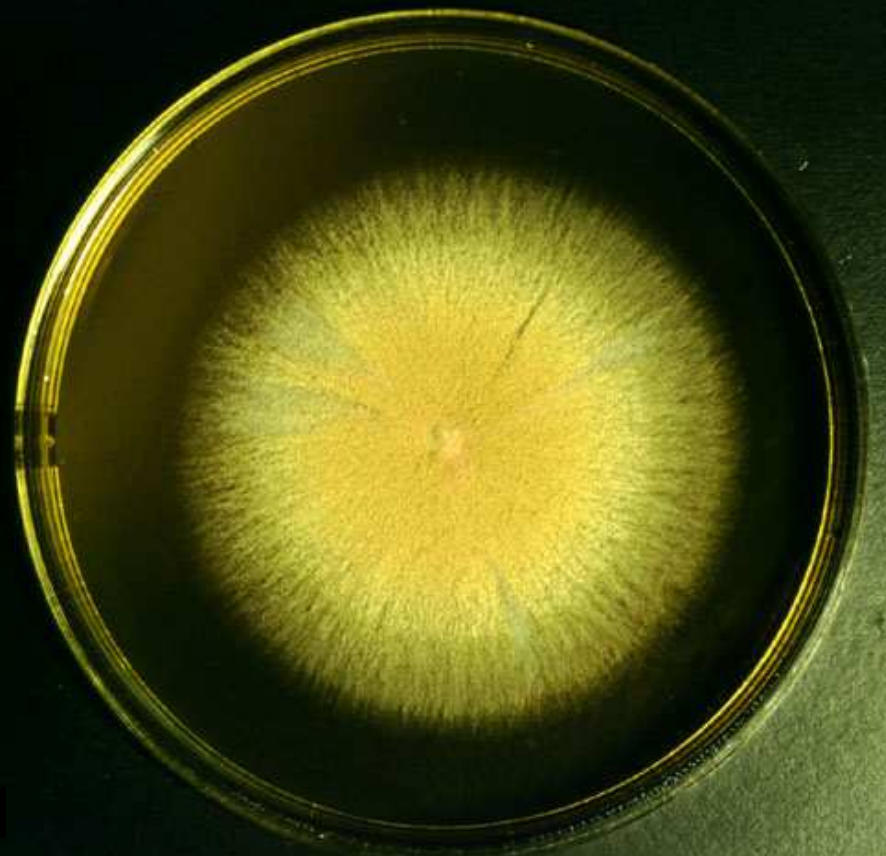
- **Odběry:** šupiny z kůže, ústřížky nehtů, vlasů apod.; vždy je potřeba odebrat vzorek tak, aby bylo zachyceno místo, kde je zánět aktivní, a zároveň nezachytit kontaminace; doporučuje se i povrchová desinfekce (likvidace kontaminant z povrchu kůže)
- **Vlastní diagnostika:** mikroskopická (nález vláken ve tkáni) a kultivační. Mikroskopická je důležitější – vykultivovat lze kontaminaci.
- **Léčba** je zpravidla lokální (masti, šampony)

# Některí původci

1 *Epidermophyton floccosum*

2 *Trichophyton rubrum*

3 *Trichophyton mentagrophytes*





# Systemové mykózy 1

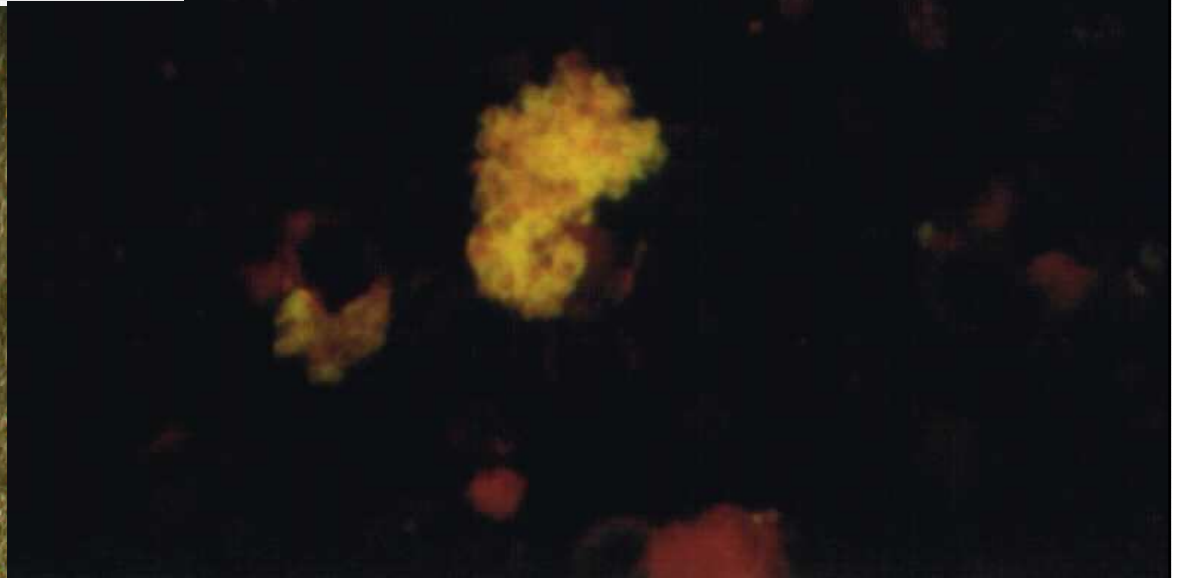
---

- Zasahují více orgánů, často celé tělo
- Jsou téměř vždy důsledkem nějakého **základního onemocnění**:
  - Diabetes mellitus
  - Poruchy imunity, nádory bílých krvinek aj.
  - Transplantovaní pacienti
- **Původci:** *Candida*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Pneumocystis* a další

# Systemové mykózy 2

- Kromě vlastní diagnostiky mykózy je třeba vždy vypátrat (pokud to není známo), co je primární příčinou (imunodeficit, diabetes, nádor apod.)
- **Diagnostika:**
  - pro **přímý průkaz** jakýkoli relevantní materiál: krev na hemokultivaci, punktáty, excize apod.
  - moderní metody umožňují např. přímý průkaz antigenů (manany, glukany) v krvi
  - **nepřímý průkaz** – protilátky v séru (aspergily)
- **Léčba:** používají se silná, širokospektrá a vysoce účinná antimykotika (amfotericin B, vorikonazol, itrakonazol, flucytosin)

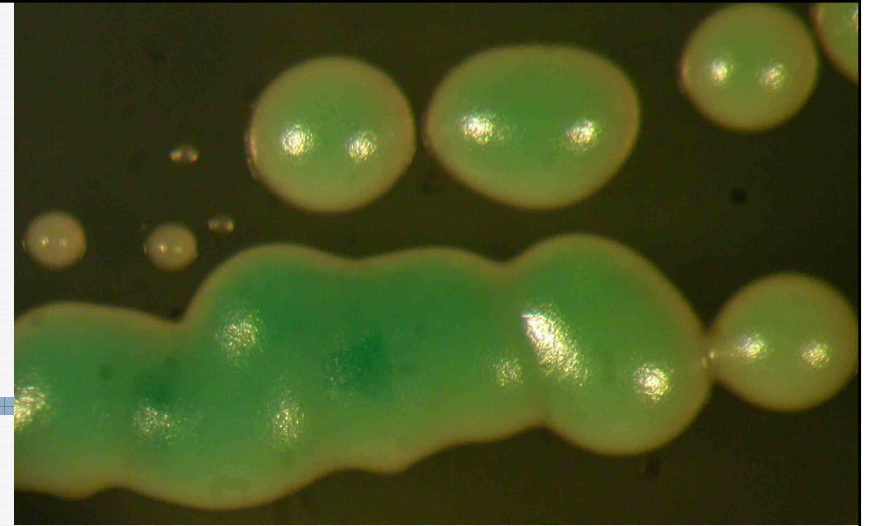
# Někteří původci



*Pneumocystis  
jirovecii*

*Mucor* sp.

# Rod *Candida* 1



- Nejběžnější houbový patogen
- Způsobuje **lokální** (kožní i slizniční) mykózy
- U oslabených způsobuje i **systemové** mykózy
- Častý výskyt ve střevě, většinou bez příznaků
- Akutní i chronické záněty pochvy a vulvy
- Nejběžnější je *Candida albicans*
- Dále *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* a další
- U některých typické **přirozené rezistence** (např. *C. krusei* na flukonazol)

# Rod *Candida* 2

- U kožní a slizniční formy se používají výtěry nejlépe v transportní půdě FungiQuick nebo (pouze u výtěrů z genitálií) C. A. T.
- U systémové formy také výtěry, anebo se zasílá krev, punktát apod.



C. A. T.

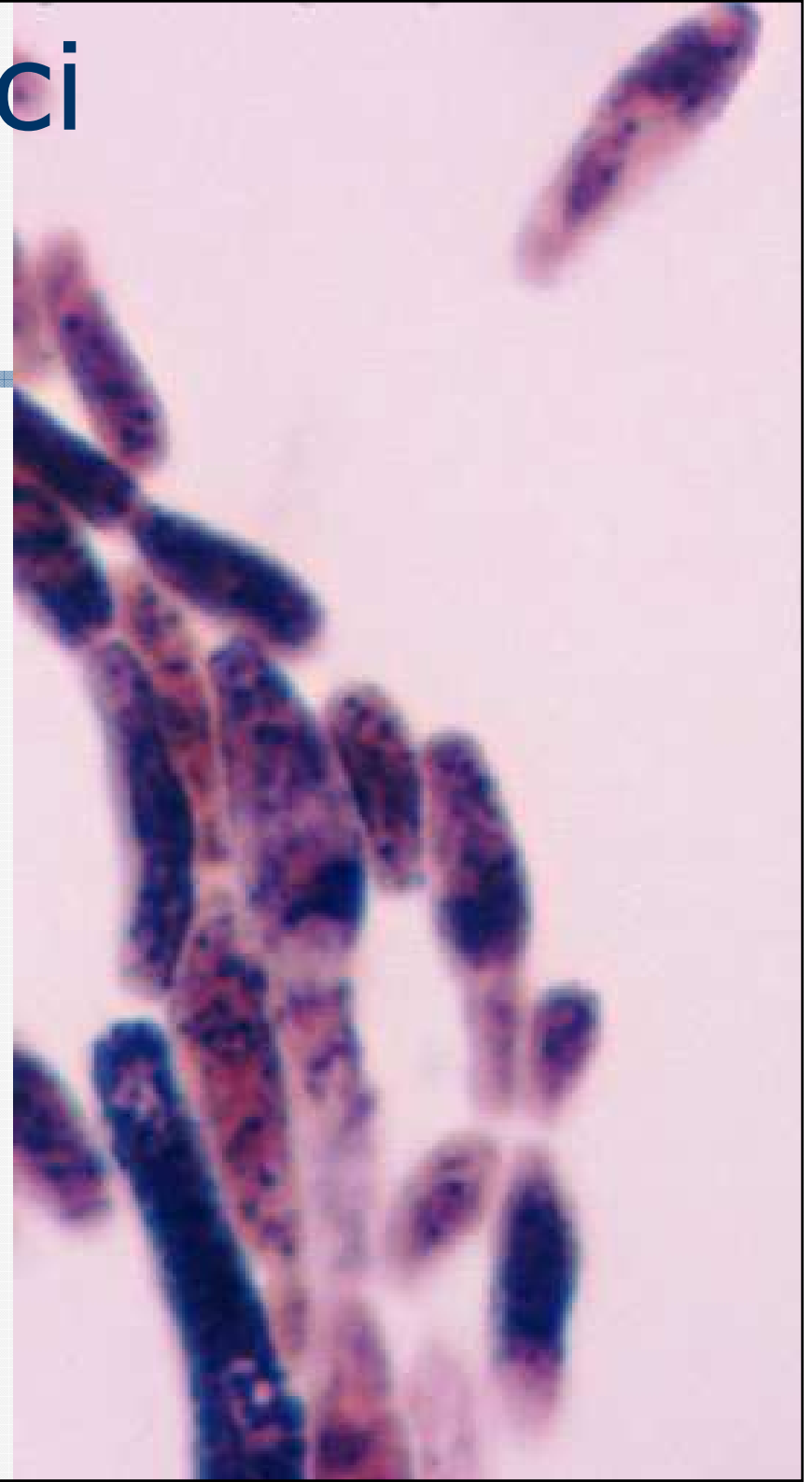
# Rod *Candida* 3

- Základem diagnostiky je **kultivace**. K identifikaci kandidy používáme chromogenní půdy a biochemické metody (využívají se vzájemné rozdíly v metabolismu mezi kandidami)
- **Mikroskopicky** v nativním preparátu (C. A. T.), v Gramově či Giemsově či jiném barvení vidíme oválné buňky, často pučící, někdy tzv. pseudomycélia
- Lze i testovat **in vitro citlivost**, ale testy jsou méně spolehlivé než u bakterií
- **Léčba**: antimykotika (lokálně, celkově)

# Některí další zločinci

Vpravo: *Geotrichum candidum*

Dole: *Rhodotorula rubra*



# Kolonie na krevním agaru: obtížné rozeznání

- Přestože používáme pro houby speciální půdy, mnohé houby rostou i na bakteriologických půdách. A nejen to: některé, hlavně kandidy, volí rafinovaně podobu téměř nerozeznatelnou od kolonií bakteriálních
- Rozeznat kolonie kandid od kolonií stafylokoků je někdy obtížné. Pomoci může vůně (po chlebu či burčáku); když nepomůže nic jiného, volíme zpravidla nátěr (mikroskopii)



# Gramovo barvení

- Gramovým barvením jasně odhalíme, co je kvasinka, a co (jaká) bakterie. Mimochodem, pokud by šlo jen o odlišení kvasinek, stačil by **nativní preparát** či jednoduché barvení.
- Pokud však mikrobiolog v praxi váhá např. mezi stafylokokem, kvasinkou a ještě gramnegativní nefermentující tyčinkou, je Gramovo barvení na místě k vyjasnění celé situace.
- Pro ty, kteří si ani v desátém týdnu podzimního semestru nepamatují **postup** (což je ostuda):  
Violet 30 s, lugol 30 s, alkohol 15 (až 20) s, oplach vodou, safranin 60 s, oplach

# Selektivní půda

---

- Typická půda pro kvasinky, **Sabouraudův agar**, není sama o sobě selektivní a mohly by na ní růst i mnohé bakterie
- Pro kultivaci na mykoorganismy ovšem používáme **Sabouraudův agar s antibiotiky**, který růst bakterií téměř vylučuje. (*V praxi ovšem narážíme na velmi drzé kmeny pseudomonád, které na veškerá antibiotika kašlou a rostou si kde chtějí 😊*)

# Difúzní diskový test citlivosti na antimikrobiální látky

---

- Až na výjimky platí, že antibakteriální látky jsou u mykotických onemocnění... ehm... zkrátka na houby 😊
- Obdobně, antimykotika nepůsobí na naprostou většinu bakteriálních agens
- Tento fakt si můžeme demonstrovat ve čtvrtém úkolu
- Všimněte si, že houby nekultivujeme na MH, ale na Sabouraudově agaru

# K odečtu testů na antimykotika

---

- U amfotericinu B se za citlivý považuje i kmen, který má malou zónu, pokud uvnitř této zóny nejsou viditelné kolonie
- U ostatních antimykotik (těch, co končí na „-konazol“) naopak musí být zóna dost velká, ale připouští se i přítomnost „čehosi“ uvnitř zóny, pokud to „cosi“ svou intenzitou nepřesahuje 20 % intenzity růstu kolem zóny

# Než přejdeme dál: Co jsou to vlastně chromogenní půdy?

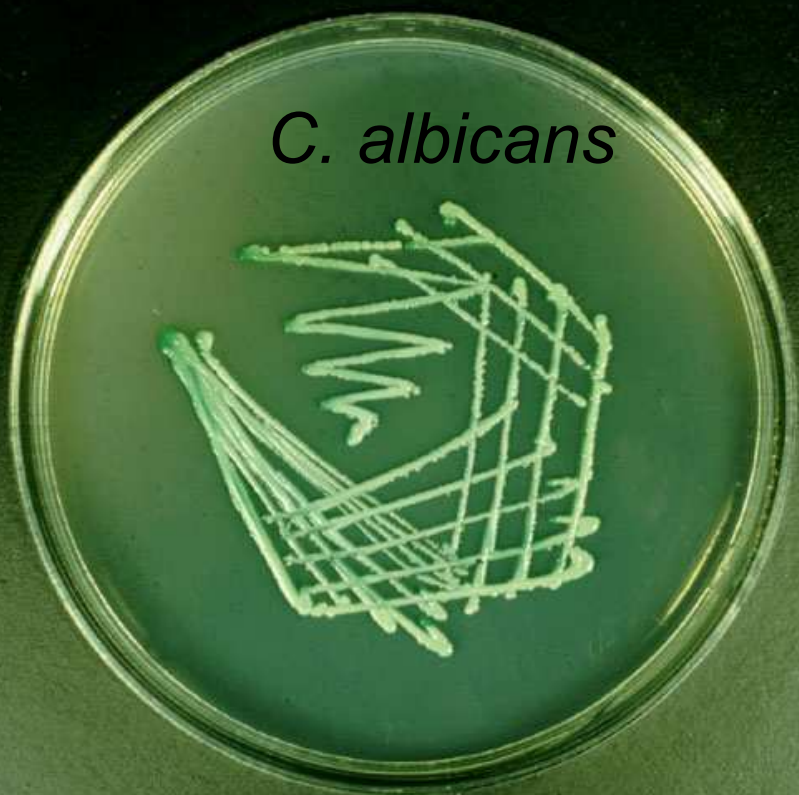
---

- **CHROMOGENNÍ** půdy obsahují látku, která je původně nebarevná (chromogen)
- Barevnost se objeví jen při specifické reakci (odštěpení substrátu)
- Půda může obsahovat více chromogenů s navázanými substráty specifickými pro různé bakterie nebo houby
- **FLUOROGENNÍ** půdy jsou principiálně podobné, ale s fluorescenčním barvivem

# Chromogenní půda při diagnostice kandid

- Používají se různé chromogenní půdy. Některé odliší pouze *Candida albicans* od ostatních, jiné rozliší vzájemně několik druhů kandid.
- Budeme provádět pouze úkol 5 b, neboť Candiselect nemáme k dispozici. Na CHROMagaru je *C. albicans* zelenavá, *C. tropicalis* modrá, *C. glabrata* hladká růžová a *C. krusei* drsná růžová.

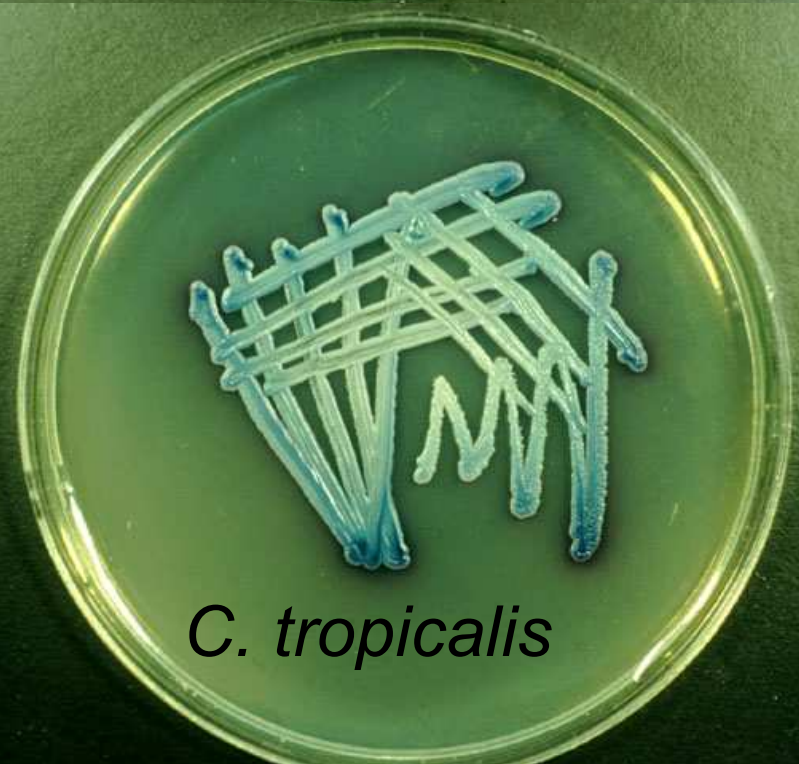
*C. albicans*



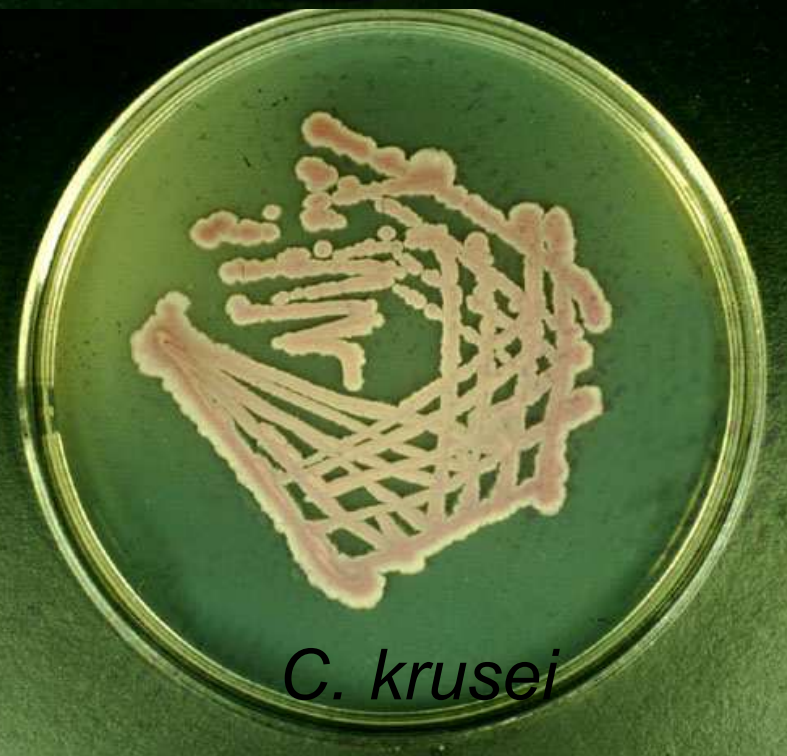
*C. glabrata*



*C. tropicalis*



*C. krusei*



# Biochemická identifikace kvasinek

- Tak jako bakterie, i kvasinky (ne však vláknité houby) se dají **identifikovat biochemicky**. (Však ostatně i použití chromogenní půdy je založeno na selektivním štěpení různých substrátů.)
- Pokuste se **určit předložené kmeny** pomocí přiloženého návodu a porovnáním s tabulkou.
- **Kromě testu POX** je žlutá pozitivní, modrá negativní
- **U testu POX** je hnědá pozitivní, bezbarvá negativní
- **„V“ = variabilní** – může vyjít „+“ i „-“

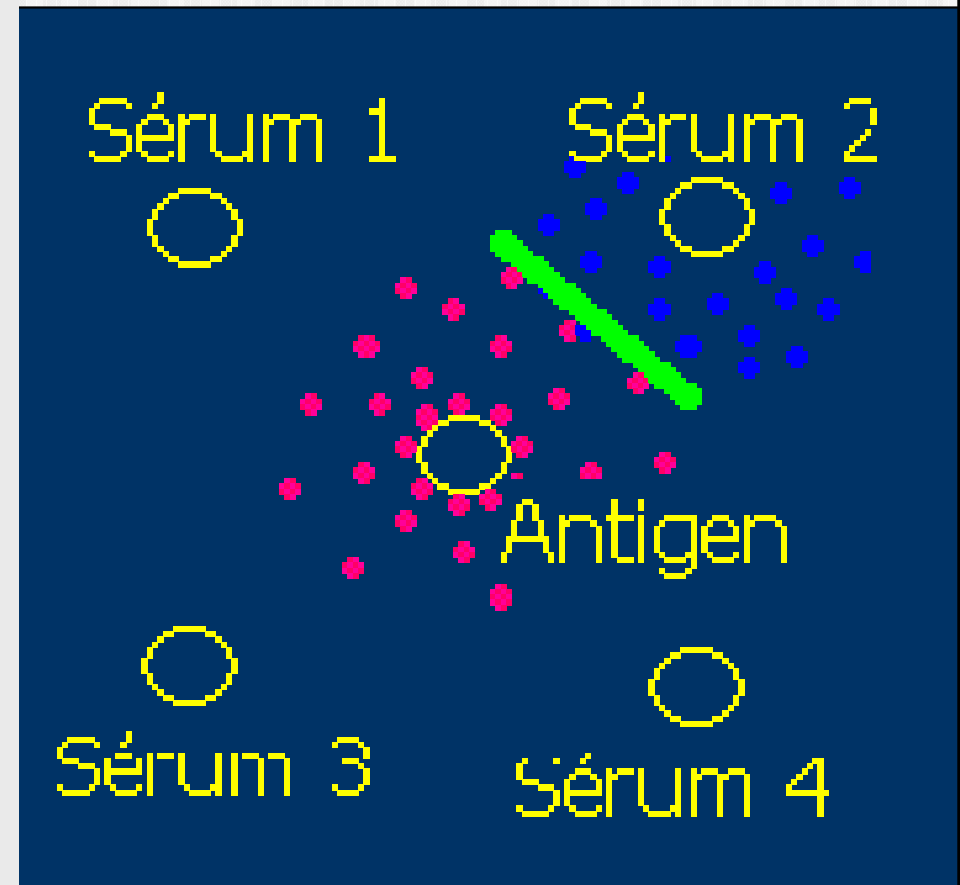


# Mikroskopie a kultivace vláknitých hub

- Diagnostika vláknitých hub se poněkud liší od diagnostiky kvasinek. Povšimněme si rozdílů:
  - **Mikroskopie** tu má větší význam. Lze pozorovat různé typy spor a konidií. Prohlížejte bez imerze, objektivem zvětš. 4× či 10×, 20×, popřípadě 40 ×
  - **Vzhled výsledků kultivace** je značně odlišný, jak na Sabouraudově agaru, tak případně i na agaru krevním. Některé z nich, zejména dermatofyty, rostou velmi pomalu. To kvůli nim se Sabouraudův agar nalévá do zkumavek. **Vyberte si libovolné tři kmeny a pokuste se je popsat.**
  - **Biochemické rozlišení** se u nich, na rozdíl od kvasinek, zpravidla neuplatňuje.

# Mikroprecipitace v agaru

- Z prostředního důlku difunduje antigen (na obrázku červeně)
- Z pozitivního důlku se sérem číslo 2 (jen v našem příkladu – u vás to může být jiné číslo!!!) difunduje protilátka (na obrázku modře)
- Z negativních důlků (séra číslo 1, 3, 4) samozřejmě žádná protilátka nedifunduje
- V místě střetu antigenu s. protilátkou vzniká



# Nepřímý průkaz mykóz

## Barva důlku není rozhodující!

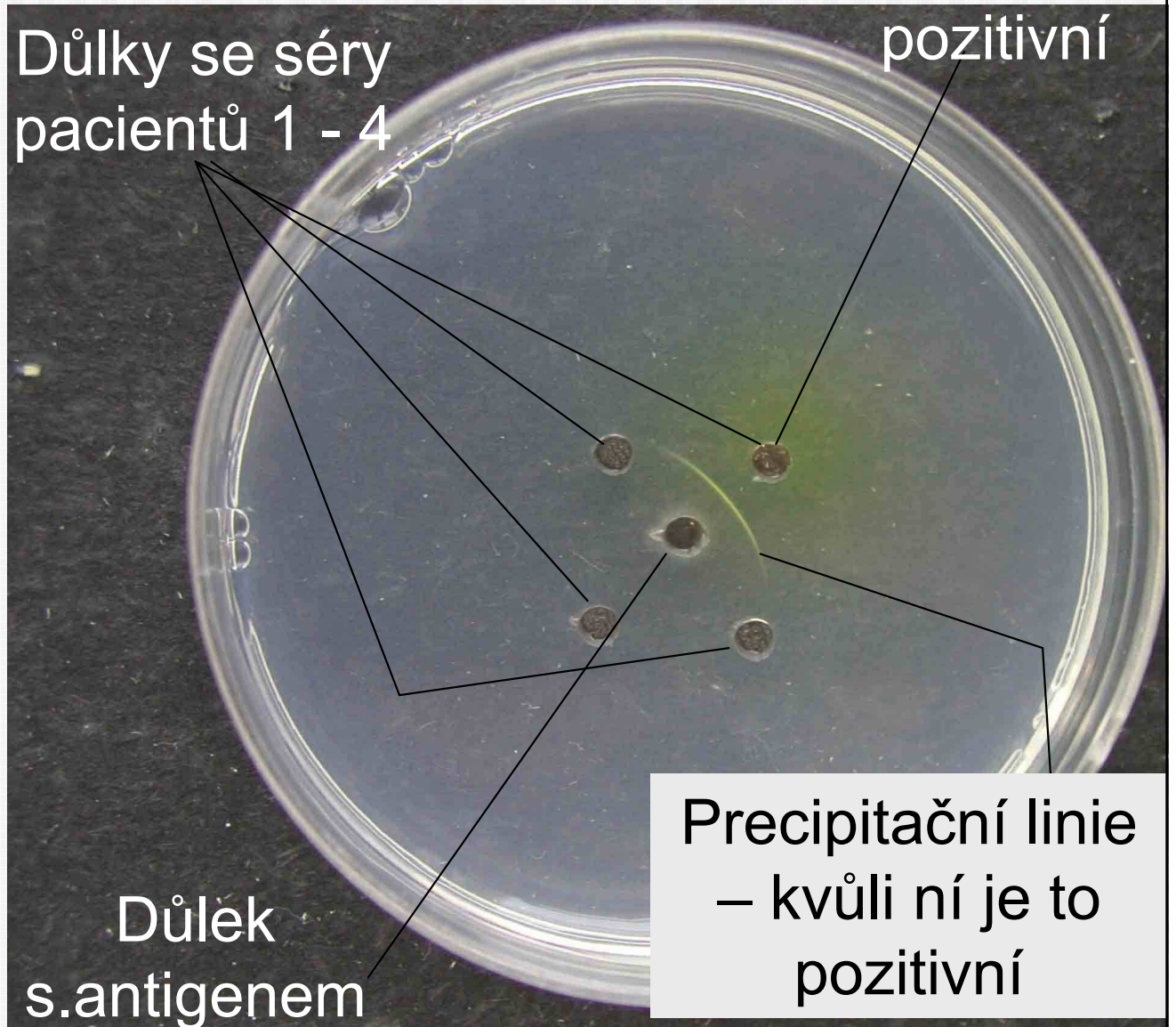
Jednou z mnoha možností, jak jej provádět, je **mikroprecipitace v agaru**. Probírali jsme ji už v tématu J 07. Precipitační linie se tvoří mezi důlkem s antigenem a důlkem s protilátkou.

Důlky se séry pacientů 1 - 4

pozitivní

Důlek s antigenem

Precipitační linie – kvůli ní je to pozitivní



# II. Parazitologie

obrázek Petra Ondrovčíka



„Ty si opravdu myslíš, že tvůj nový kelon obří štěnice naplňuje moje představy o skvělém dárku k životnímu jubileu?!“

A ještě jeden  
slovní:

---

Víte, jaký je rozdíl mezi  
českým vědcem a  
tasemnicí?

No přece – žádný! Oba  
jsou v... , a občas jim  
vyjde článek!

# Příběh první

---

- Nikolka se pořád škrabala v zadečku, že už to bylo nápadné rodičům i učitelkám ve školce. Zároveň byla neklidná a roztěkaná. A tak jí nalepili na zadek průhlednou lepicí pásku a poslali do laboratoře. A výsledek nikoho nepřekvapil. Nikolka tedy začala užívat léky, a zanedlouho byla zase úplně v pořádku...

# Viníkem byl



- *Enterobius vermicularis* neboli roup dětský. Je to drobná hlístice, která se zdržuje ve střevě. Vajíčka klade v perianálních řasách. Vyskytuje se zejména v dětských kolektivech. U malých dětí často dochází k autoinfekci.
- Příbuznou hlísticí je také škrkavka dětská – *Ascaris lumbricoides*. Je trochu podobná žížale (*Lumbricus terrestris*), ale přece jen se trochu liší. Škrkavky mohou působit různé obtíže, od alergického dráždění až po mechanické ucpání vývodů žlučovodu a pankreatu.

# Příběh druhý

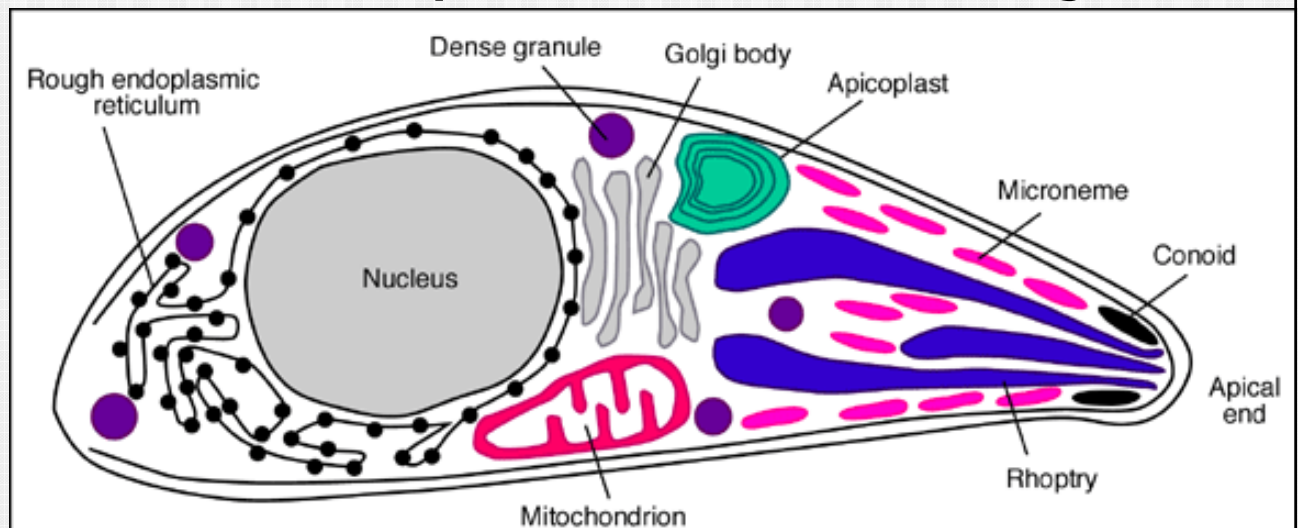
---

- Blanka měla delší dobu zvětšené uzliny, a pořád se nemohlo přijít na to, co jí je. Výtěry z krku nic neukázaly, ani výsledky dalších vyšetření nebyly průkazné
- Blanka se chystala otěhotnět, a tak měla obavy. Jak se ukázalo, byly oprávněné: viník, zodpovědný za její uzlinový syndrom, totiž opravdu bývá těhotným nebezpečný...



# Viníkem totiž byla

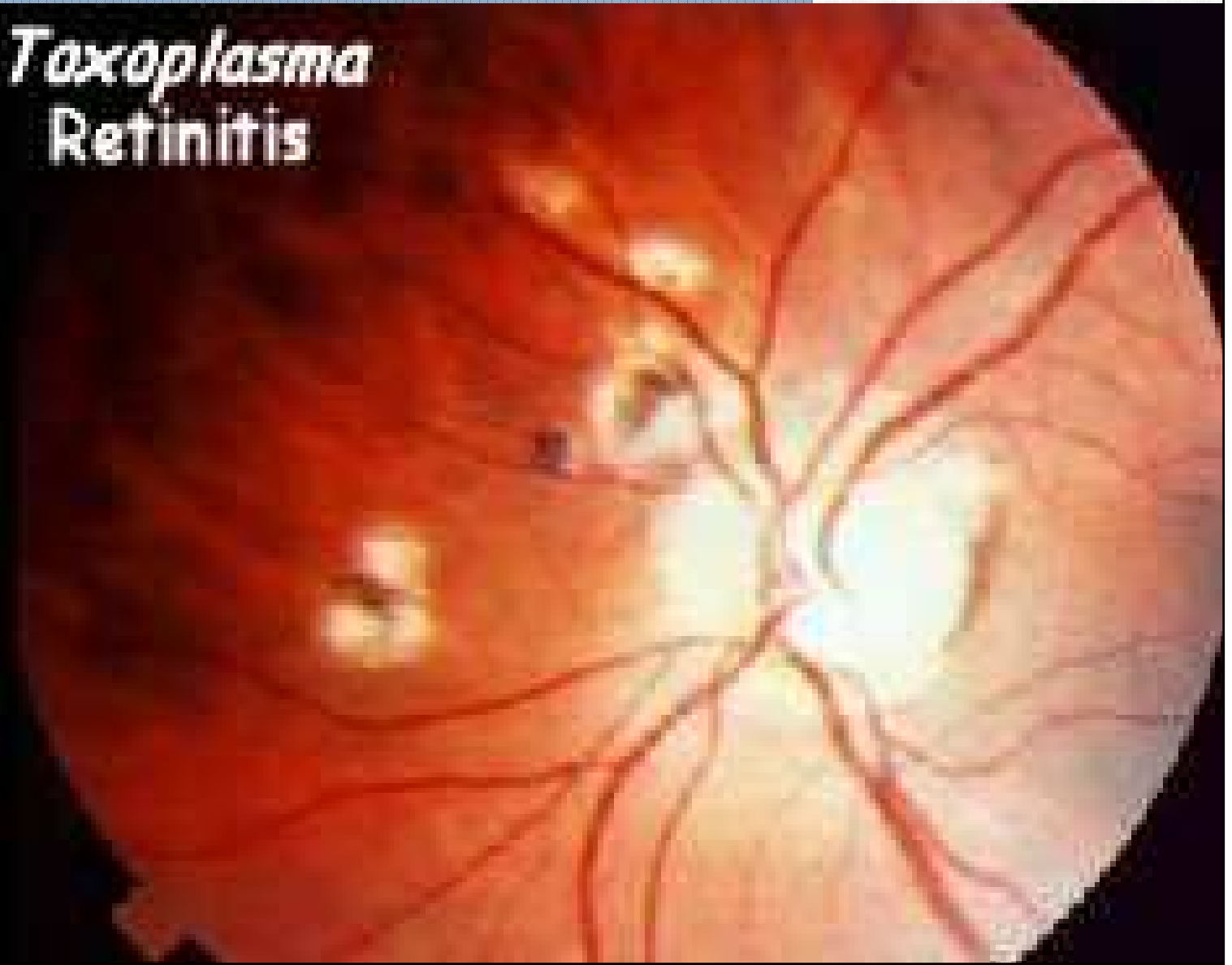
- *Toxoplasma gondii*, prvok, který je přenášen kočkami, i když se tvrdí, že chovatelé psů jsou ve větším riziku (protože na srsti donesou domů částičky kočičího trusu)
- Většina infekcí u imunokompetentích osob je bez příznaků



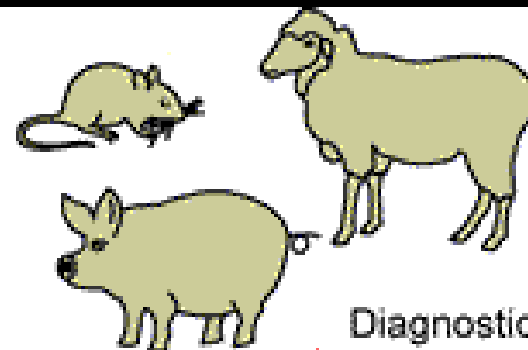
Ultrastructure of a *Toxoplasma gondii* tachyzoite

U některých  
osob ovšem  
může  
vzniknout  
například  
toxoplasmo  
vá  
retinitida...

*Toxoplasma*  
Retinitis



**Definitive Host**



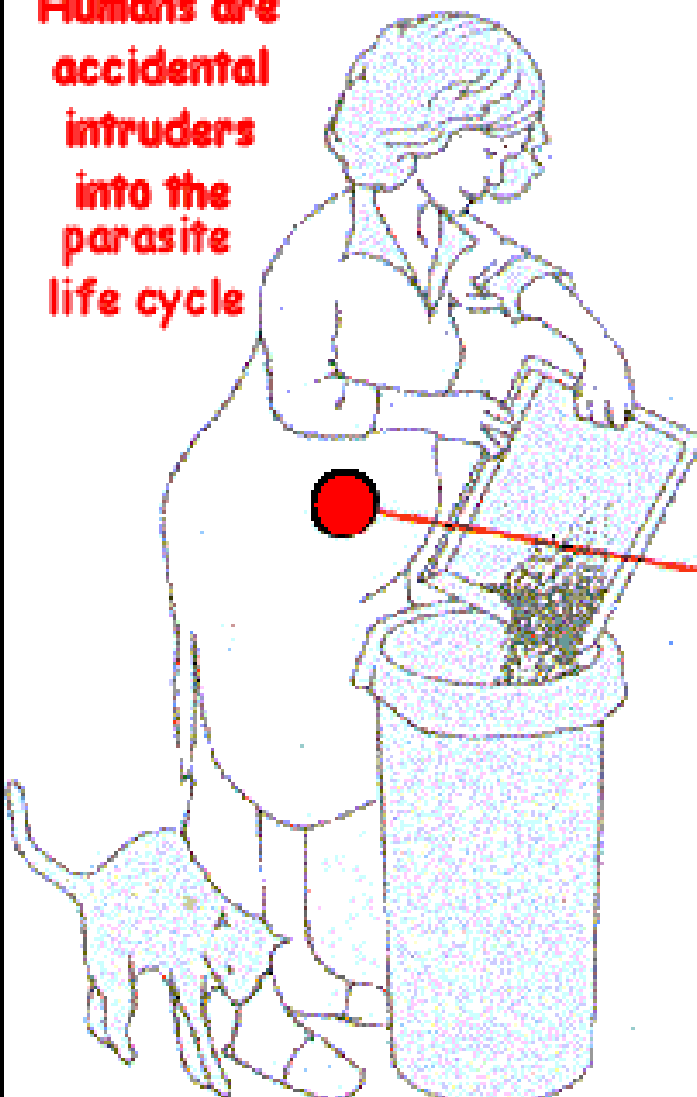
**Diagnostic Stage**



**Tissue Cysts**

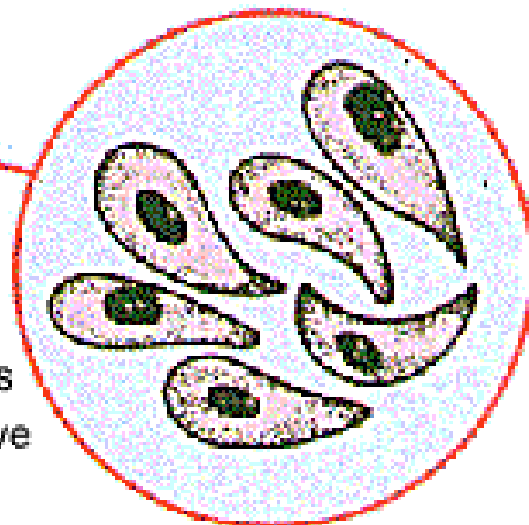


**Humans are accidental intruders into the parasite life cycle**



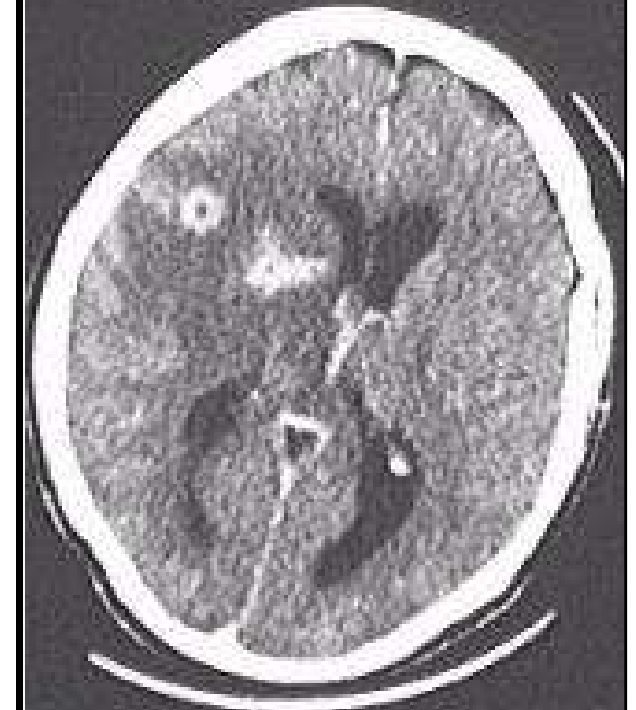
Both oocysts and tissue cysts transform into tachyzoites shortly after ingestion. Tachyzoites localize in neural and muscle tissue and develop into tissue cyst bradyzoites. If a pregnant woman becomes infected, tachyzoites can infect the fetus via the bloodstream.

**Fecal Oocysts = Infective Stage**



**Životní cyklus toxoplasem**

**Dole:  
toxoplasmová cista v mozku**

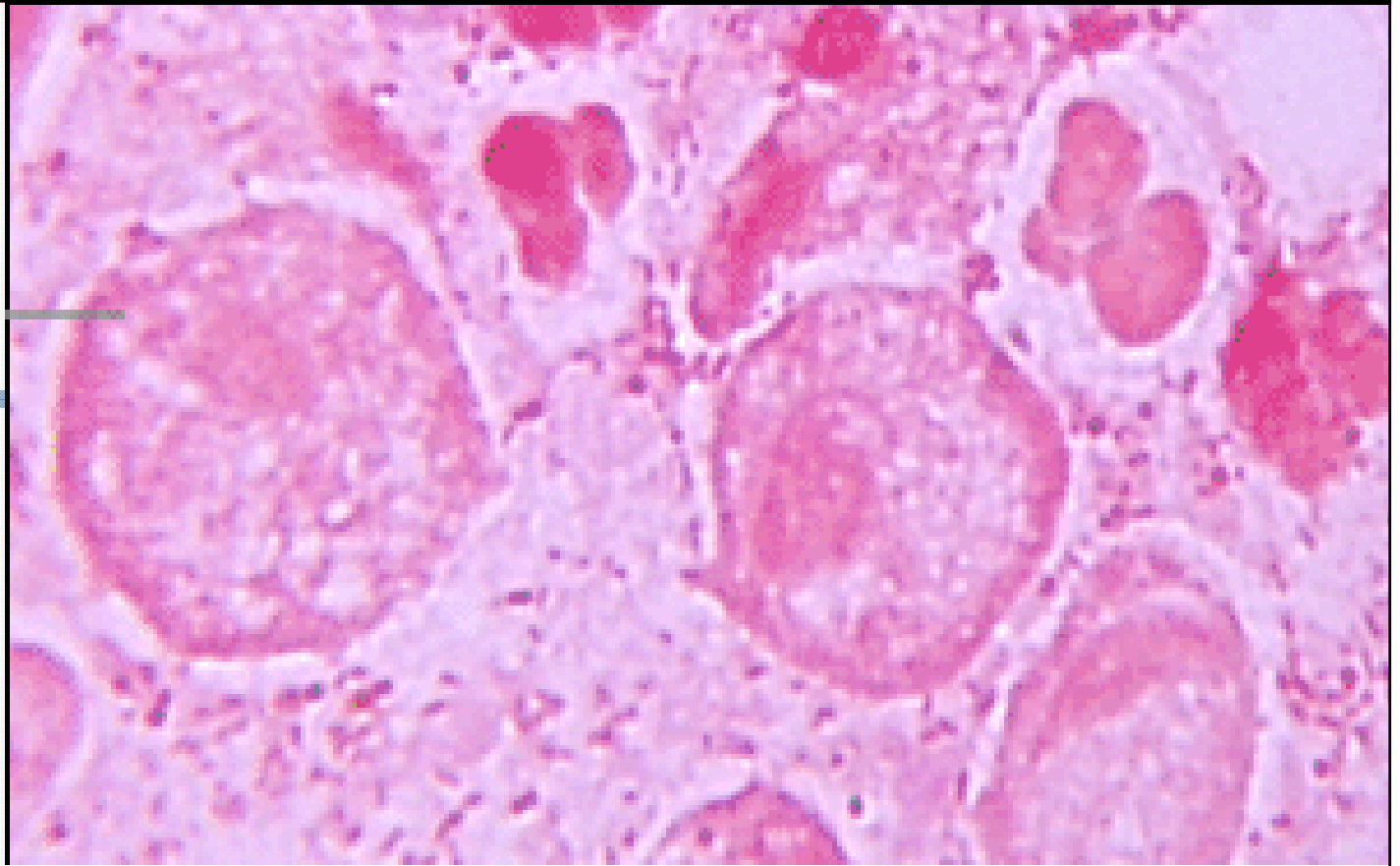


# Příběh třetí

- **Jolana** už zase měla jakési potíže „tam dole“. Nebylo divu, když spala každou chvíli s někým jiným. Tentokrát však bakteriologické vyšetření nepomohlo. Lékařka tedy zaslala k vyšetření soupravu C. A. T., a konečně byl na světě výsledek.



# Viníkem zde byla

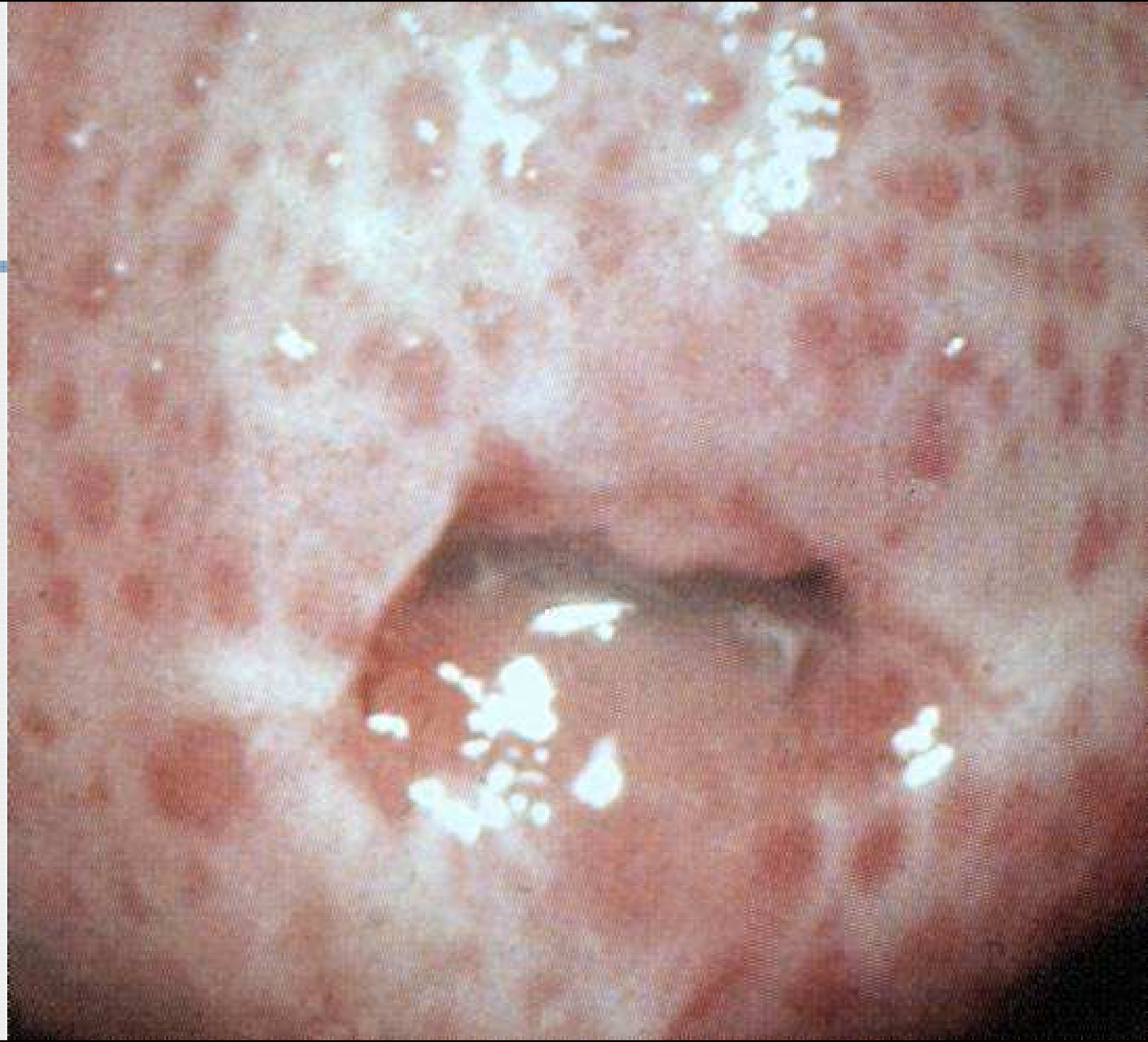


- *Trichomonas vaginalis*, česky bičenka poševní, bičíkovec, který se přenáší téměř výhradně sexuálně, i když výjimečně je možný i jiný způsob přenosu

# Trichomonádový výtok



# Tzv. jahodový cervix



# Příběh čtvrtý

- Cestomil rád jezdil křížem krážem po celém světě. Po návratu z poslední cesty mu začalo být nějak divně, měl horečku, pak ho to přešlo, ale **za tři dny** se mu to celé zase vrátilo. Obvodní lékař ho poslal na **infekční oddělení**. Tam mu vzali krev a natřeli ji na dvě sklíčka – na každé jinak. Všichni tušili, kdo by mohl být pachatelem. A opravdu...



# Viníkem zde bylo

---

- *Plasmodium vivax*, jeden ze čtyř druhů malarických plasmodií.
- **Malárie** je celosvětově jednou z těch úplně nejzávažnějších chorob. Onemocní na ni denně mnoho lidí, včetně cestovatelů z Evropy.
- Nejhorší průběh má „tropika“ neboli „maligní terciána“, působená *P. falciparum*. Mírnější jsou obě „benigní terciány“, působené *P. vivax* a *P. ovale*. Kvartána, působená *P. malariae*, je vzácná

# Klasifikace parazitů

\*zařazení prvoků mezi živočichy není jednoznačné, ale to teď prosím neřešme

- Parazité jsou mikroskopičtí, klinicky významní živočiši\*. Lze je členit dle umístění v organismu, zoologických kritérií a dalších vlastností.
- Mezi **endoparazity (vnitřní parazity)** patří:
  - Prvoci (améby, bičíkovci a další)
  - Hlístice (roup, škrkavka dětská, tenkohlavec, škrkavka psí a kočičí)
  - Motolice (motolice jaterní, schistosoma)
  - Tasemnice (tasemnice bezbranná a dlouhočlenná, škulovec, tasemnice dětská a rybí)
- Mezi **ektoparazity** patří různí členovci

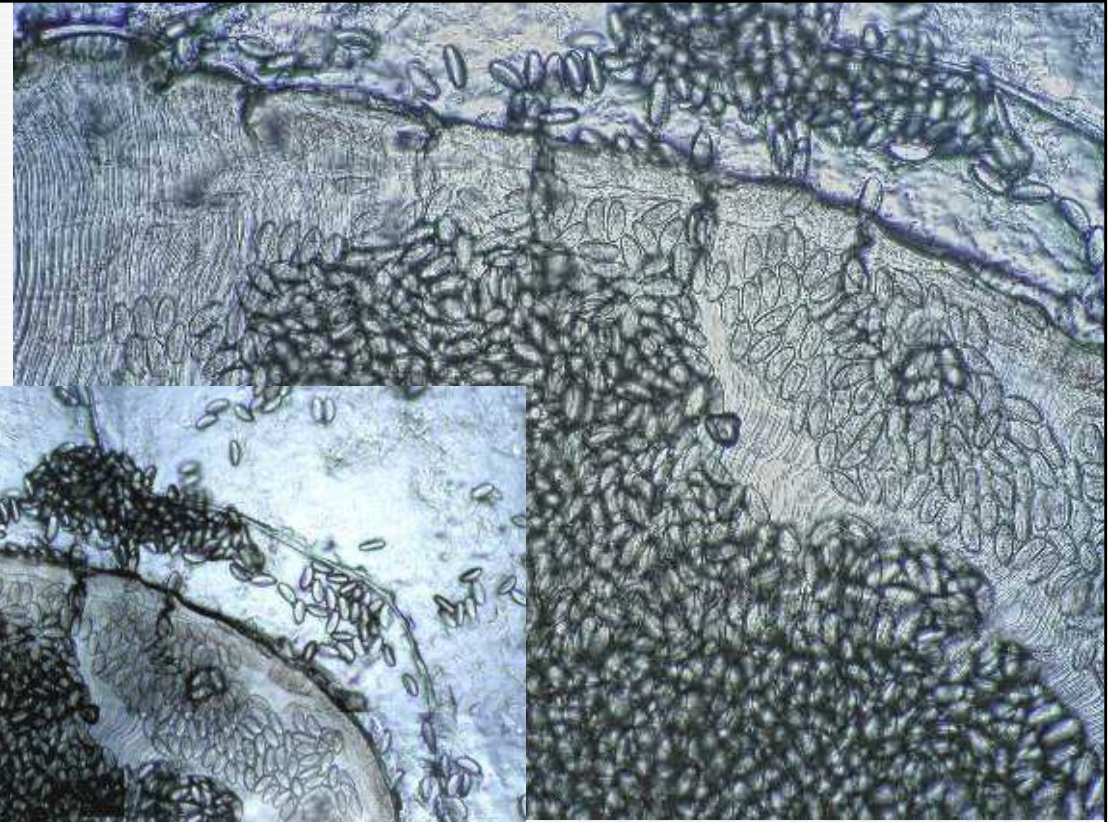
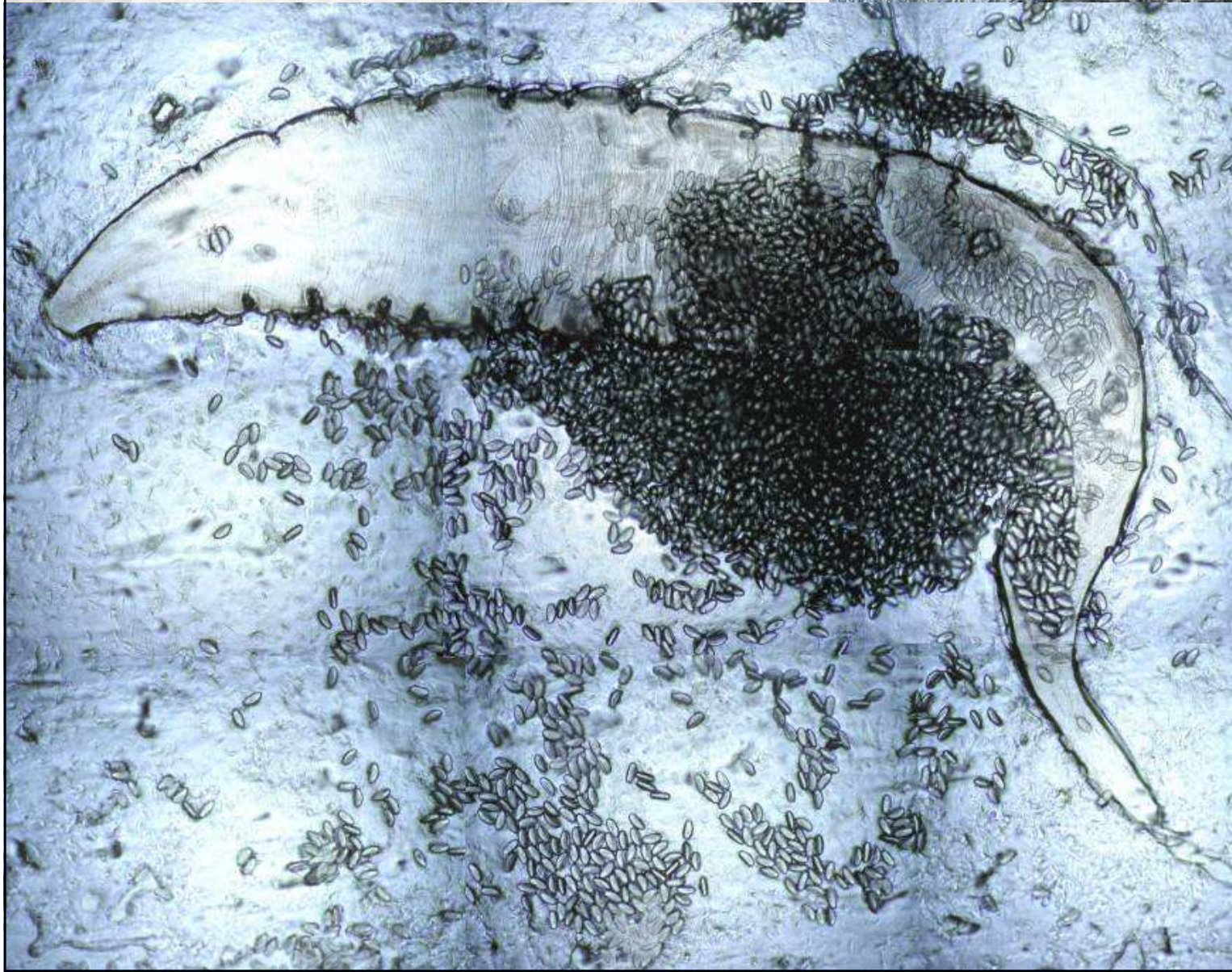
# Jiná klasifikace parazitů

- Také bývá zvykem členit parazity podle orgánových soustav:
  - Paraziti **střevní** (od lamblíí po tasemnice)
  - Paraziti **krevní** (intra- a extraerytrocytární)
  - Paraziti **urogenitální** (například bičenky)
  - Paraziti **tkáňoví** (například toxoplasma)

Toto členění má **význam i pro diagnostiku**.  
U **tkáňových parazitů** má například logicky mnohem větší význam **nepřímý průkaz** – pro přímý průkaz nelze nalézt vhodný vzorek, který by měl být odebrán

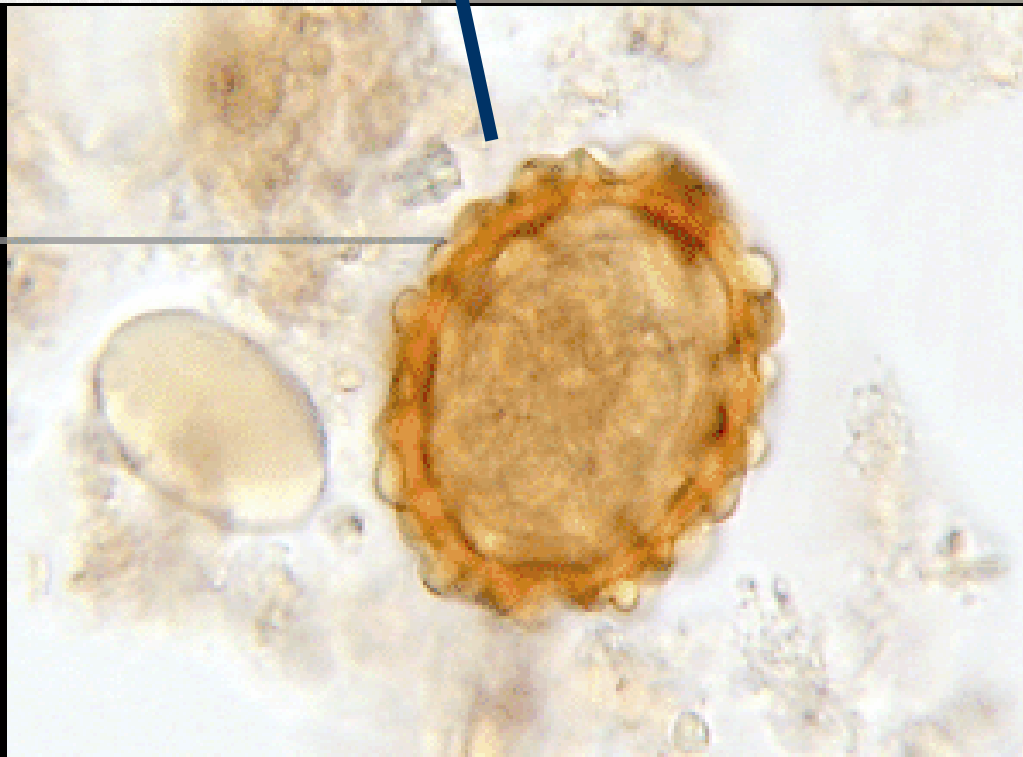
# Střevní paraziti

## Roup



# Střevní paraziti II

## Vajíčko škrkavky



Egg

Fertile egg (wet mount 400X)



# Střevní paraziti III

*Ancylostoma duodenale*

méně běžná střevní hlístice

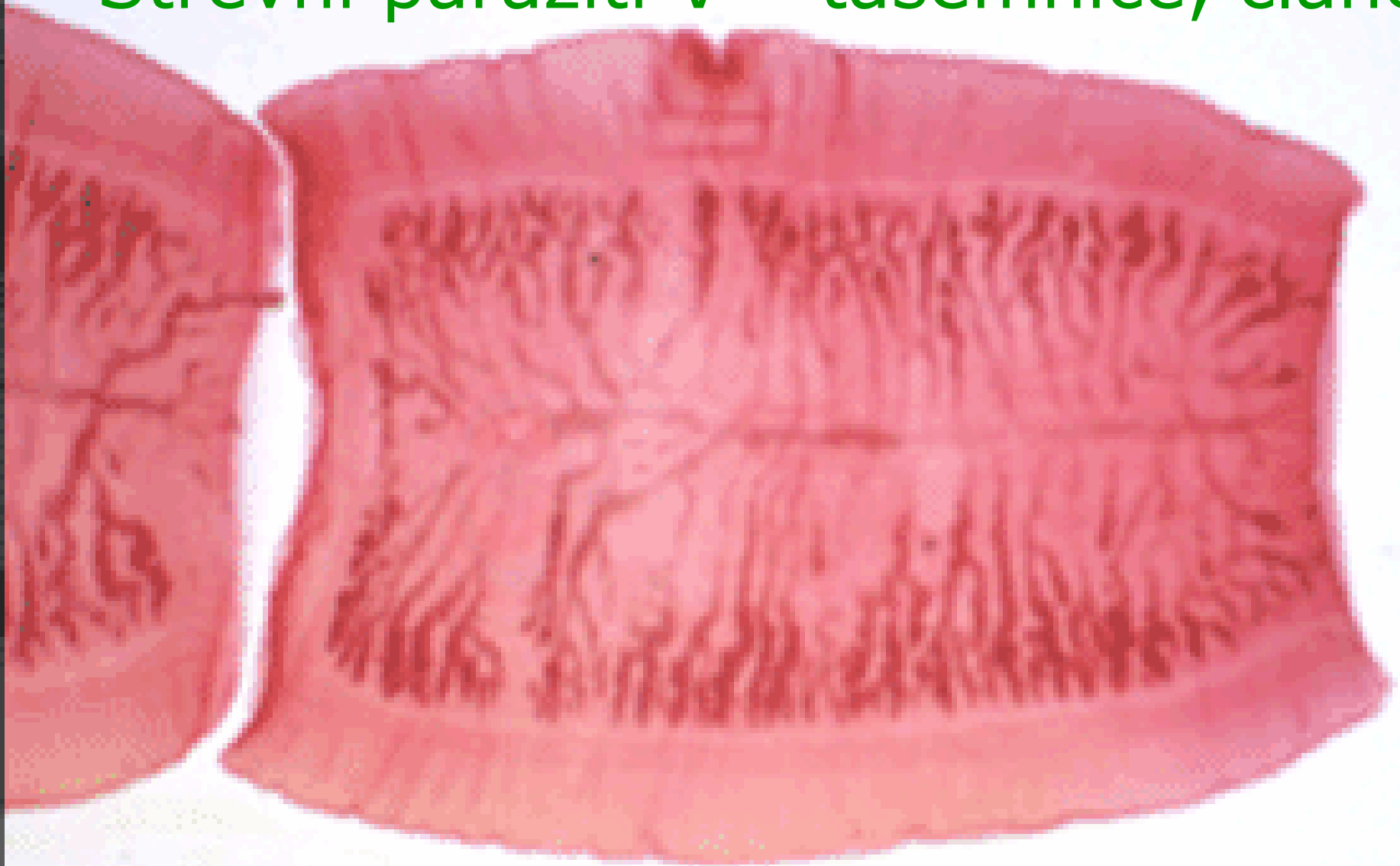


# Střevní paraziti IV – tasemnice (vajíčka)

Pozor, na základě vajíček nelze rozlišit *T. solium* od *T. saginata*, k tomu jsou nutné články!



# Střevní paraziti V – tasemnice, článek



*Taenia saginata* gravid proglottid (stained)



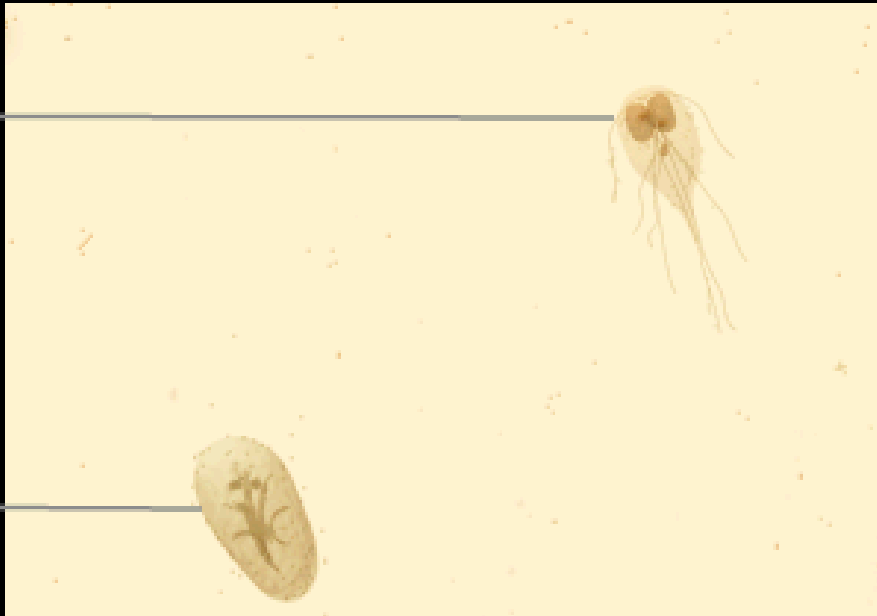
Střevní paraziti VI – *Diphylobotrium latum* (škulovec široký) – méně běžná střevní tasemnice



# Střevní paraziti VII – lamblie

Trophozoite

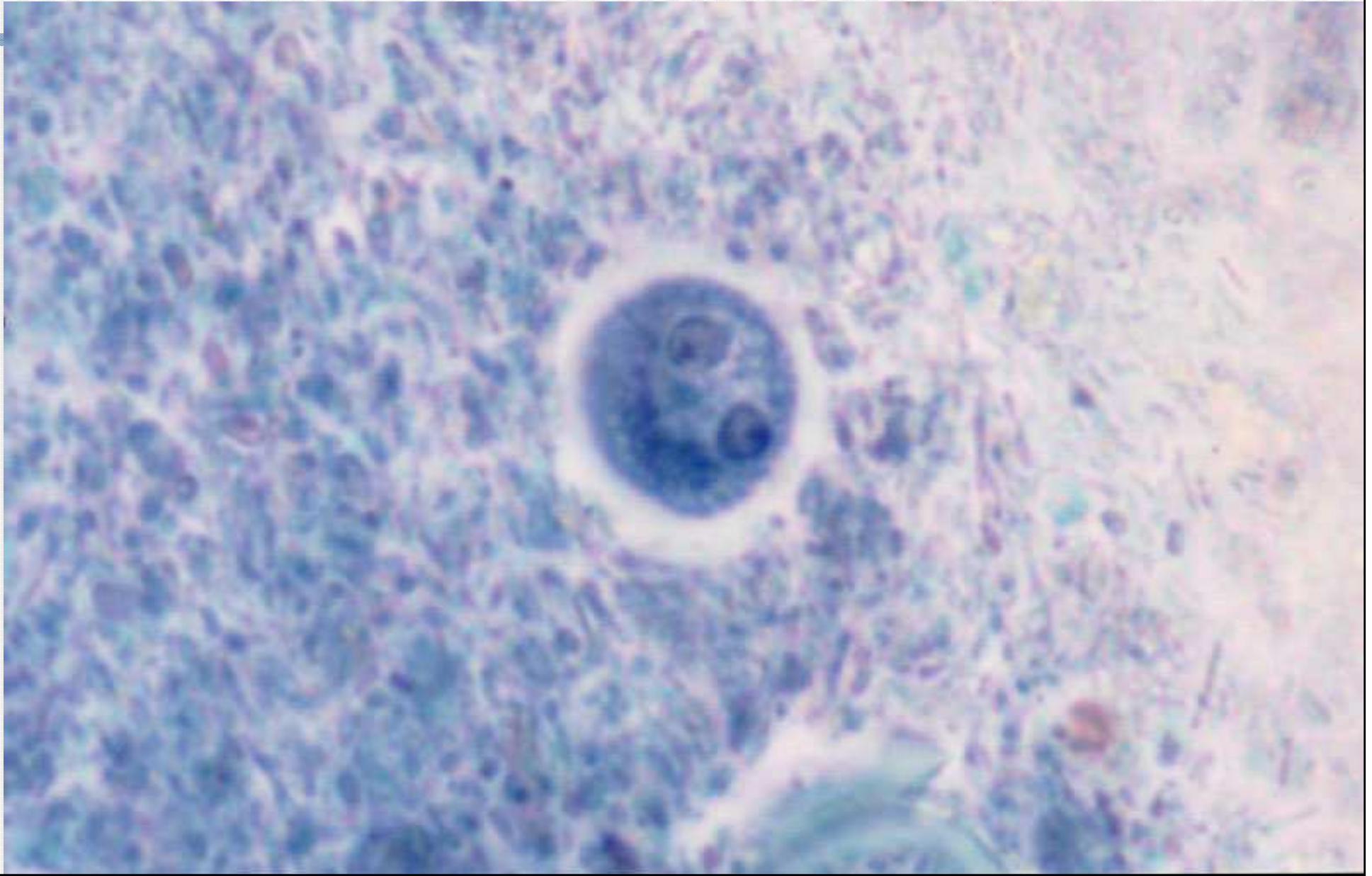
Cyst



Giardia  
lamblia –  
střevní  
parazit,  
prvok



# Střevní paraziti VIII – měňavky (zde *Entamoeba histolytica*, trichrom)



O. Zahradníček: V menze

---

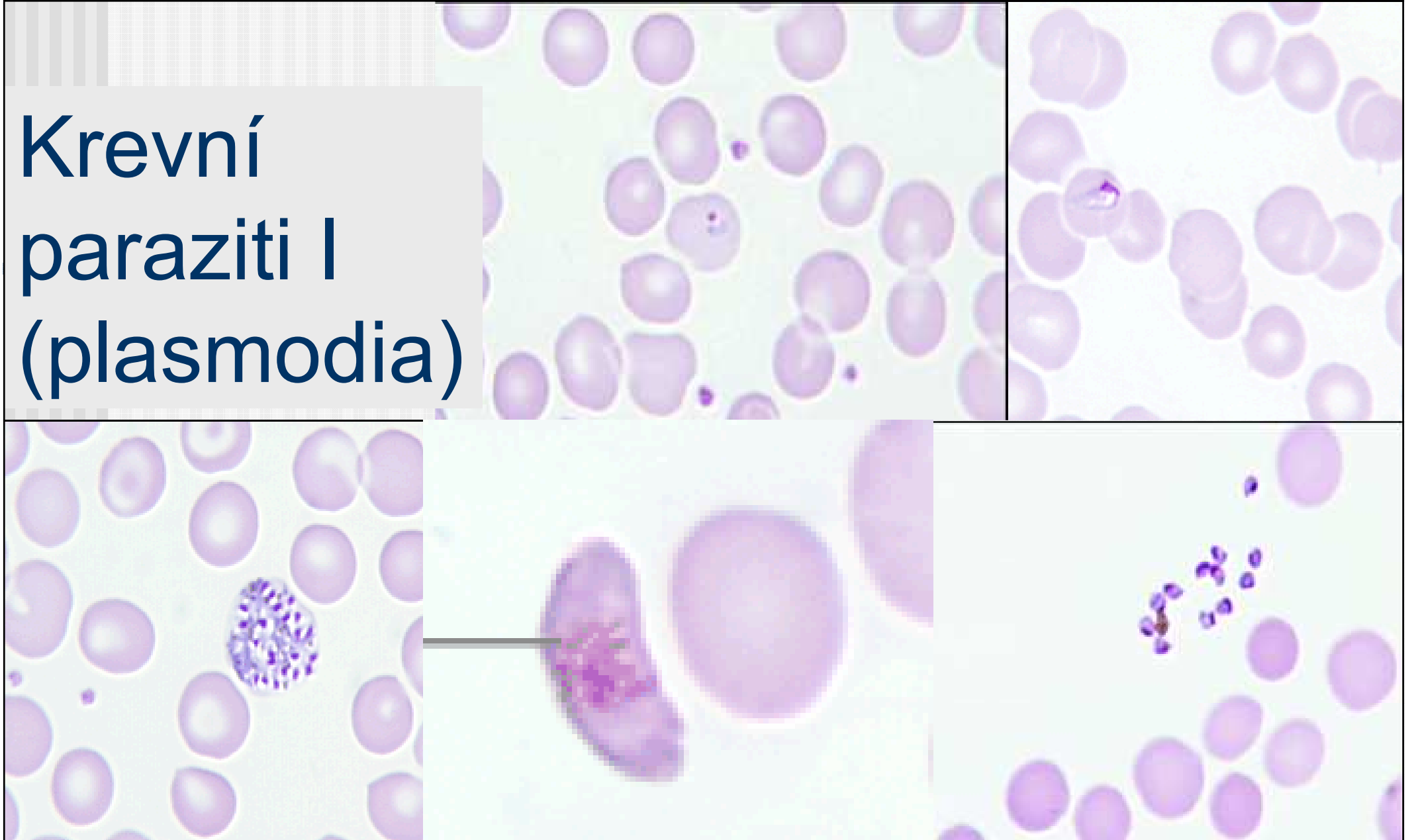
Šel jsem oběd naraziti

V menze byli paraziti

Škrkavky a lamblie

Spolužáčka tam...

# Krevní paraziti I (plasmodia)



Různá vývojová stádia plasmodií



*Anopheles mosquito (female)*

# Krevní paraziti II a III (přenašeč malárie, různá stádia, na další straně vývojový cyklus plasmodií)

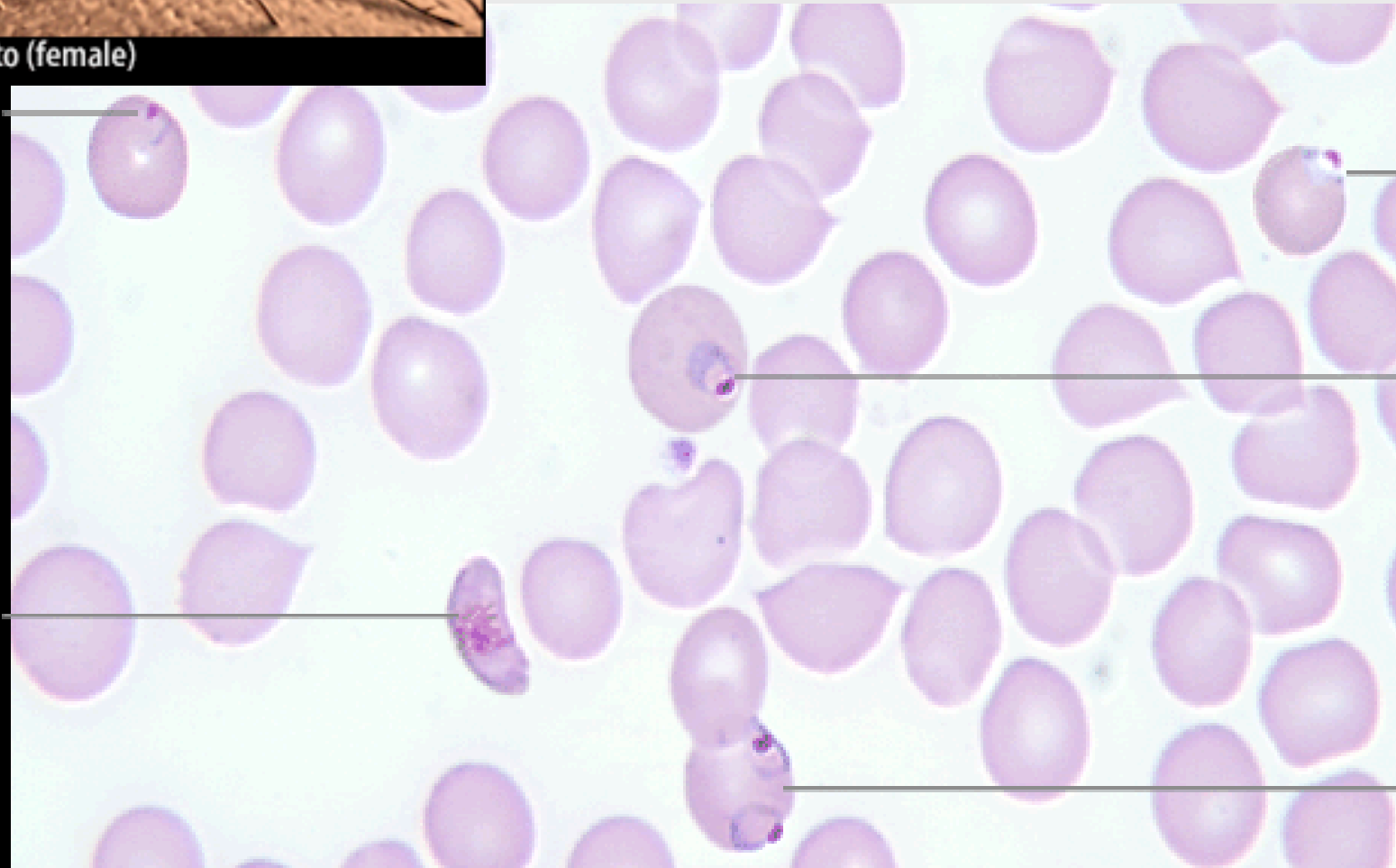
Early  
trophozoite

Appliqué form

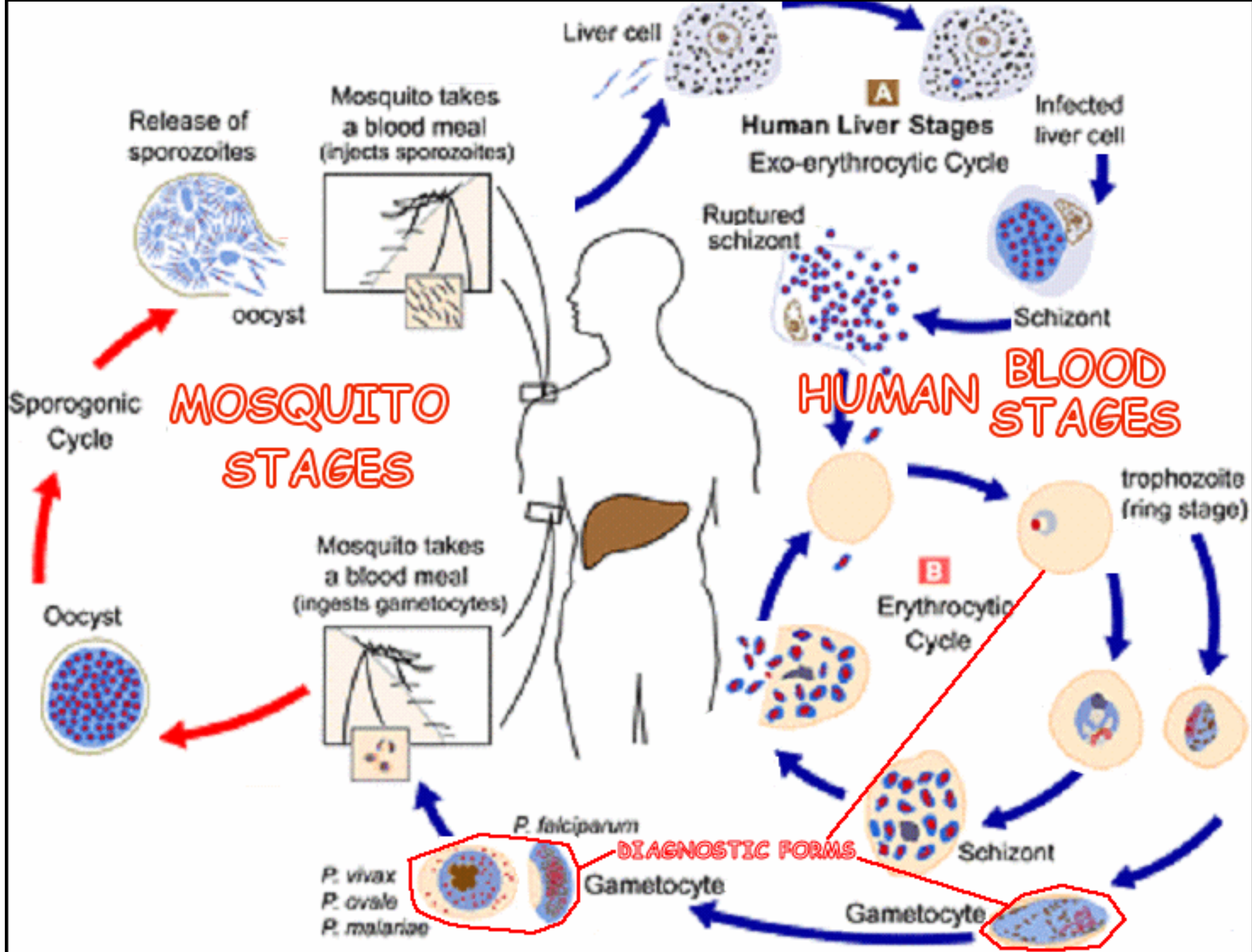
Late  
trophozoite

Gametocyte

Double  
infection



Wright's stain (1000X)



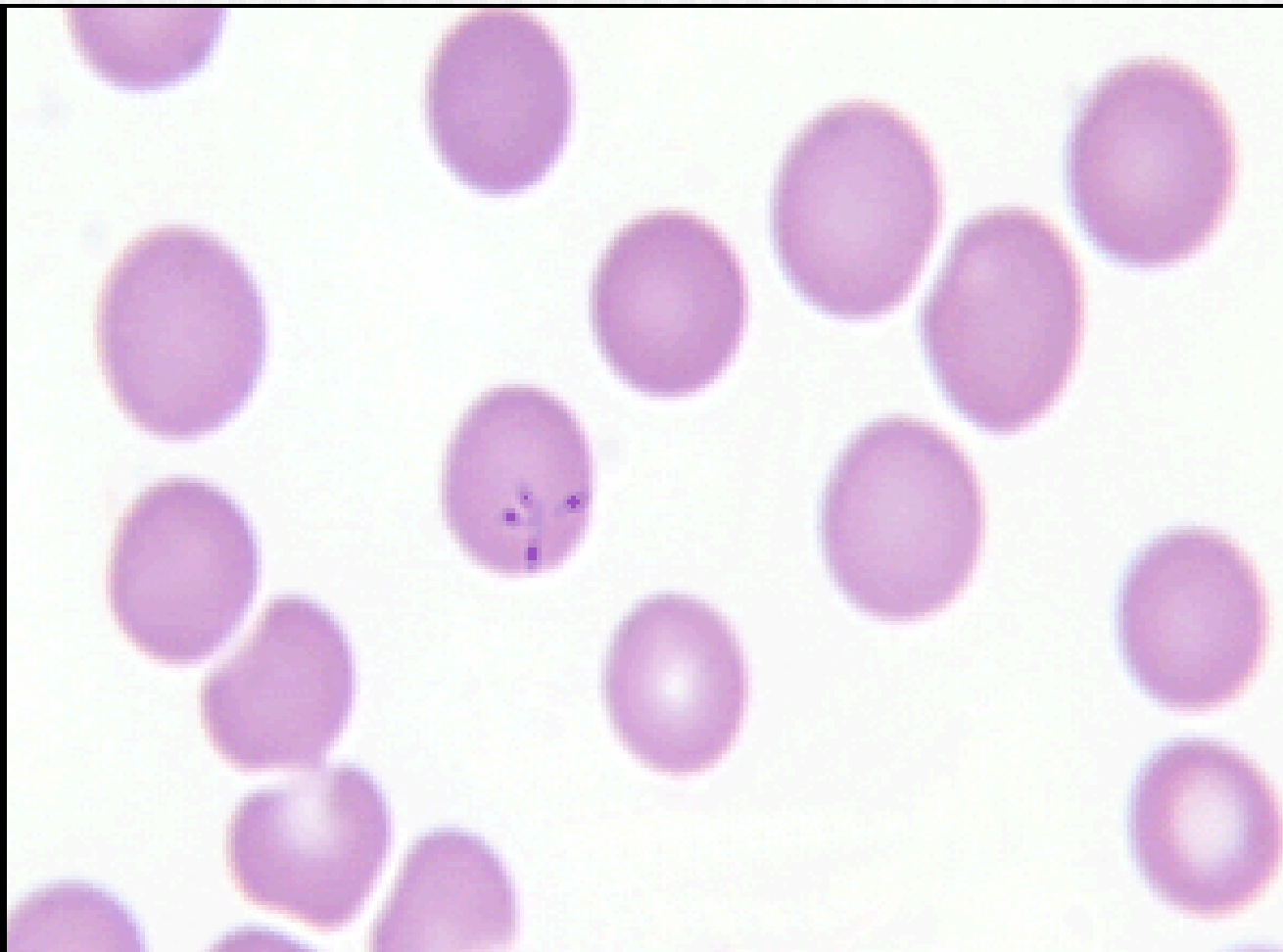
**MOSQUITO STAGES**

**HUMAN BLOOD STAGES**

**DIAGNOSTIC FORMS**

# Krevní paraziti IV – Babesie

(příbuzní malárií, vyskytují se i v Evropě)

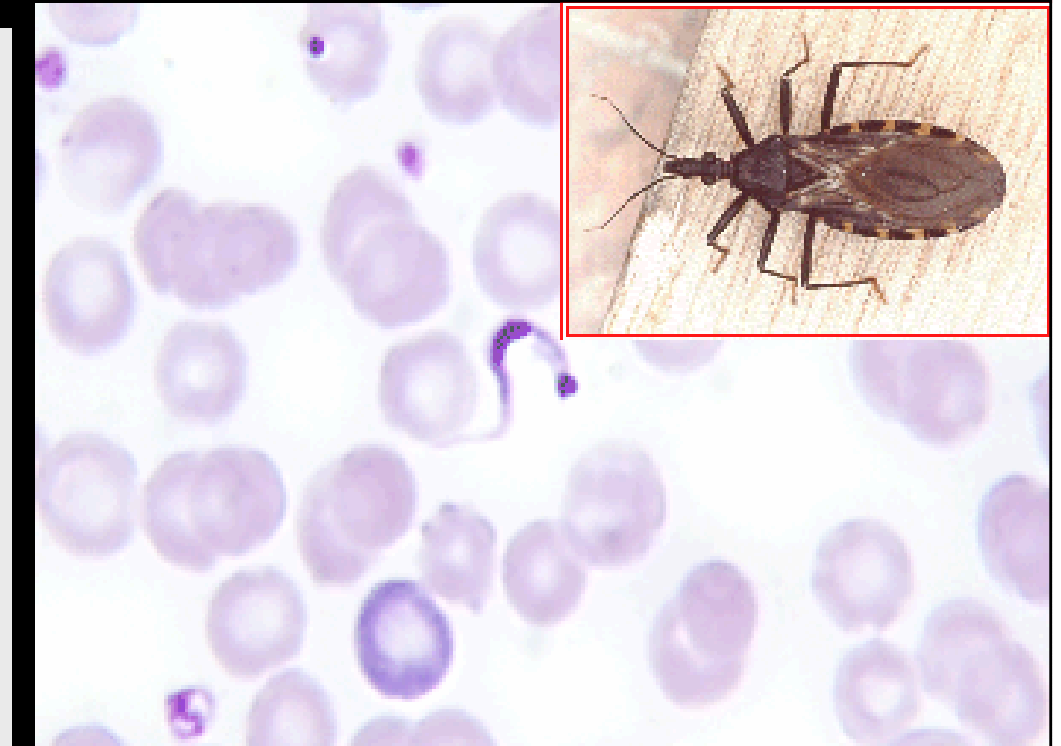
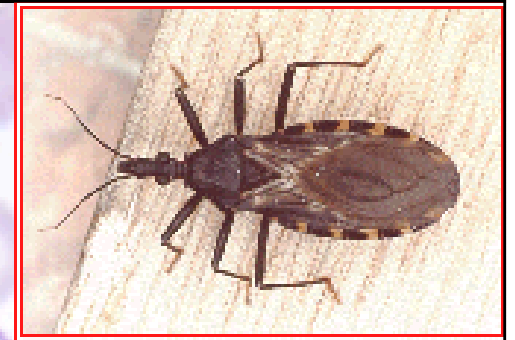


Wright's stain (1000X)

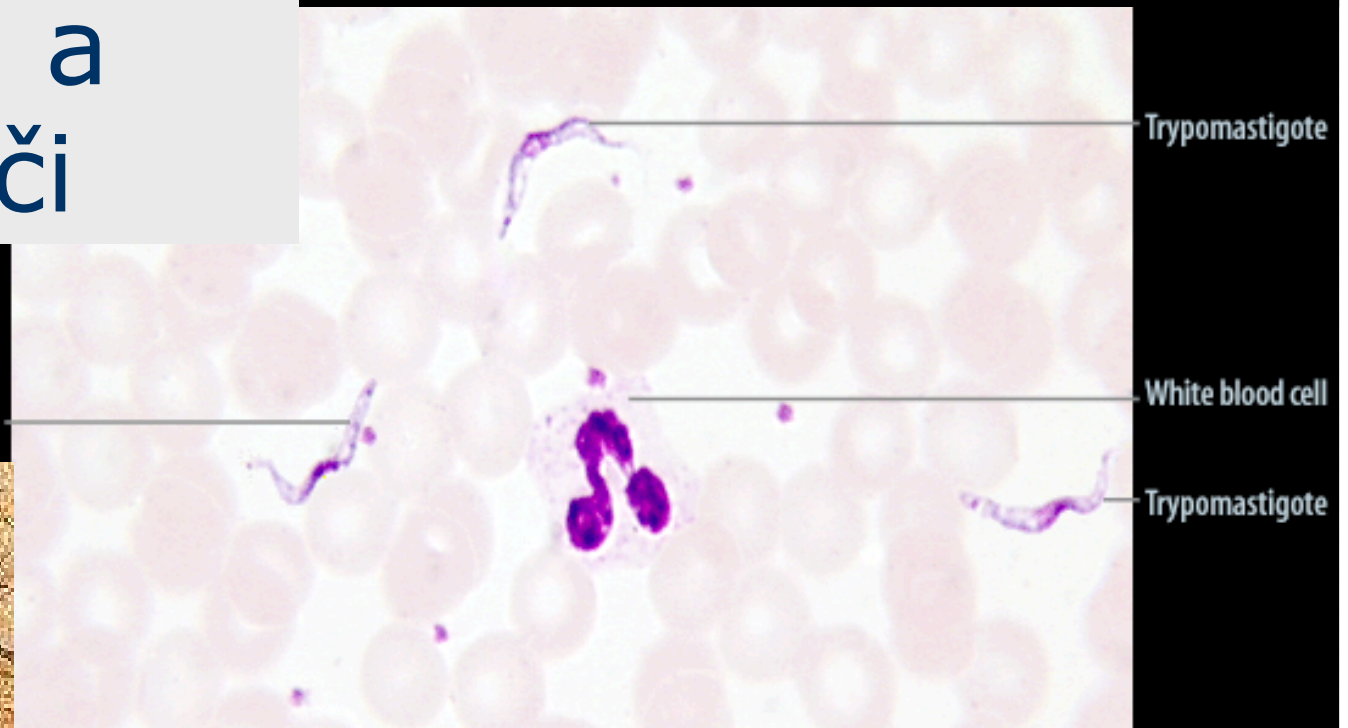
Typické jsou tetrády ve tvaru maltézského kříže



Krevní paraziti  
V *Trypanosoma*  
sp. – prvok  
(bičíkovec),  
Nahoře *T. cruzi*,  
dole *T. brucei*, a  
jejich přenašeči



Giemsa stain (1000X)



Trypomastigote

White blood cell

Trypomastigote



Trypomastigote



Giemsa stain (1000X)

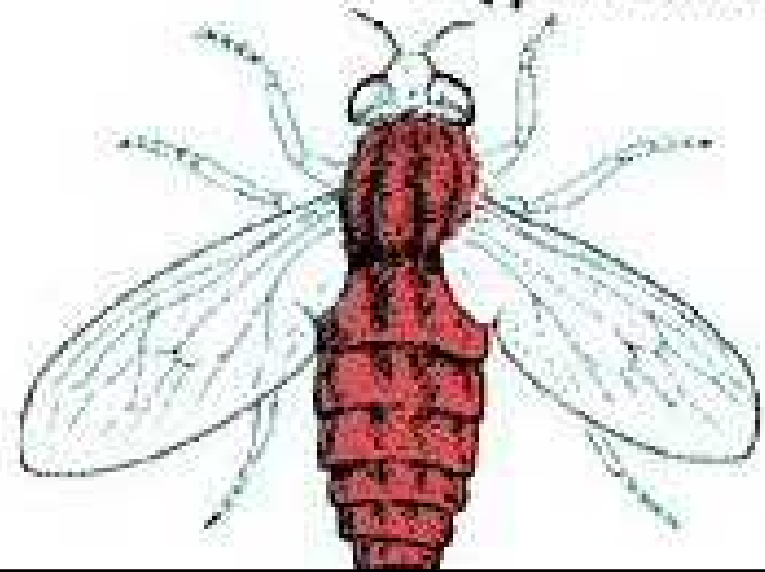
# O. Zahradníček: Vánoce v Africe

Veselé Vánocece  
Přeje mi ráho tse-



***Glossinia***  
**Tsetse Fly**

Insect  
Vector  
for African  
Trypanosomiasis



# Krevní paraziti VI

## Filárie – extraerytrocytární krevní paraziti

A – *Wuchereria bancrofti*

B – *Brugia malayi*

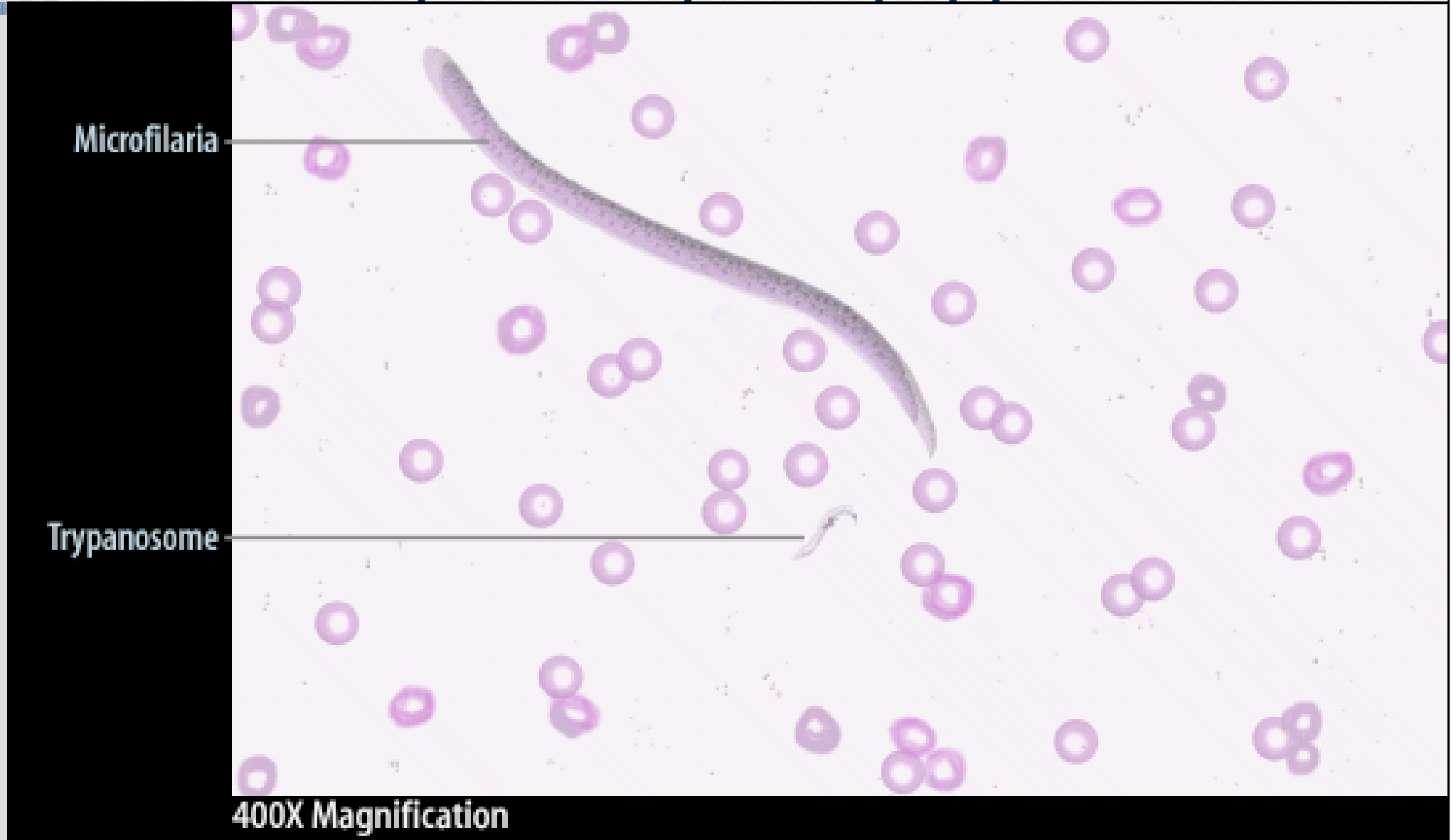
C – *Loa loa*

D – *Mansonella perstans*

E – *Mansonella ozardi*



# Krevní paraziti VII Filárie a trypanosoma – velikostní porovnání (ta kolečka jsou erythrocyty)



# Tkáňoví paraziti I

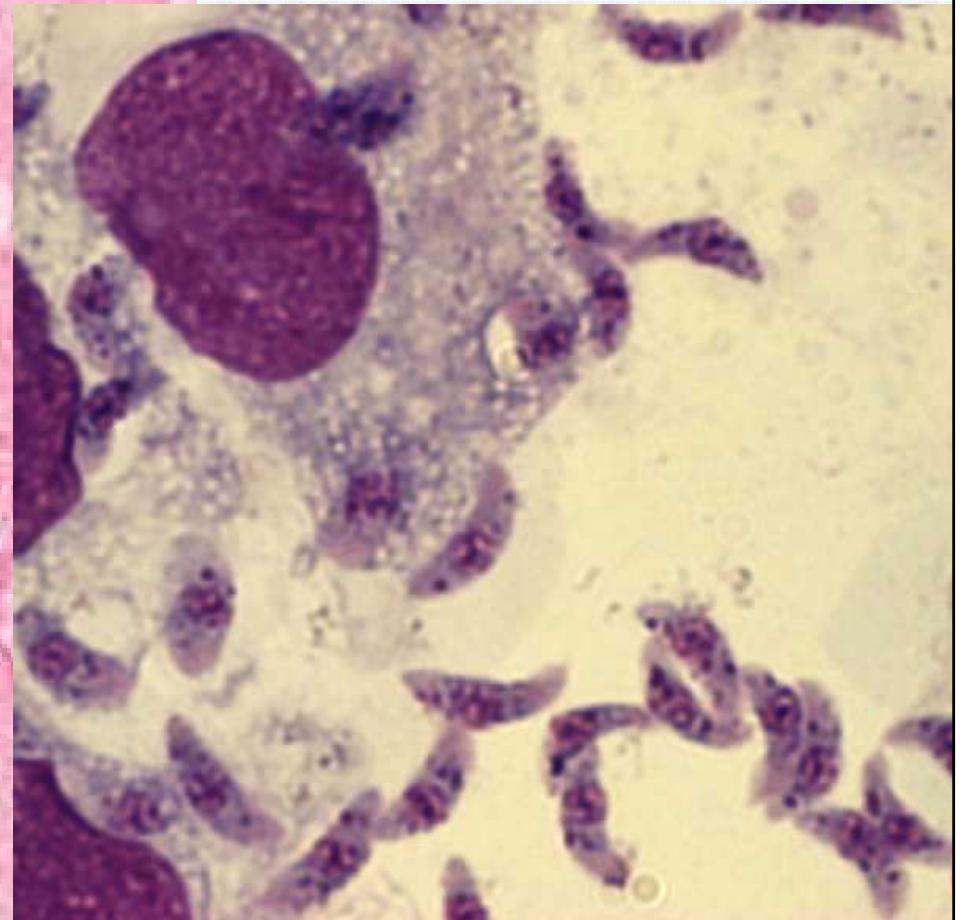
## *Toxoplasma gondii*

Vánoce jsou, padá vločka

toxoplasmu nese kočka  
(z básně O. Z.)

*Toxoplasma gondii*

Tissue cyst



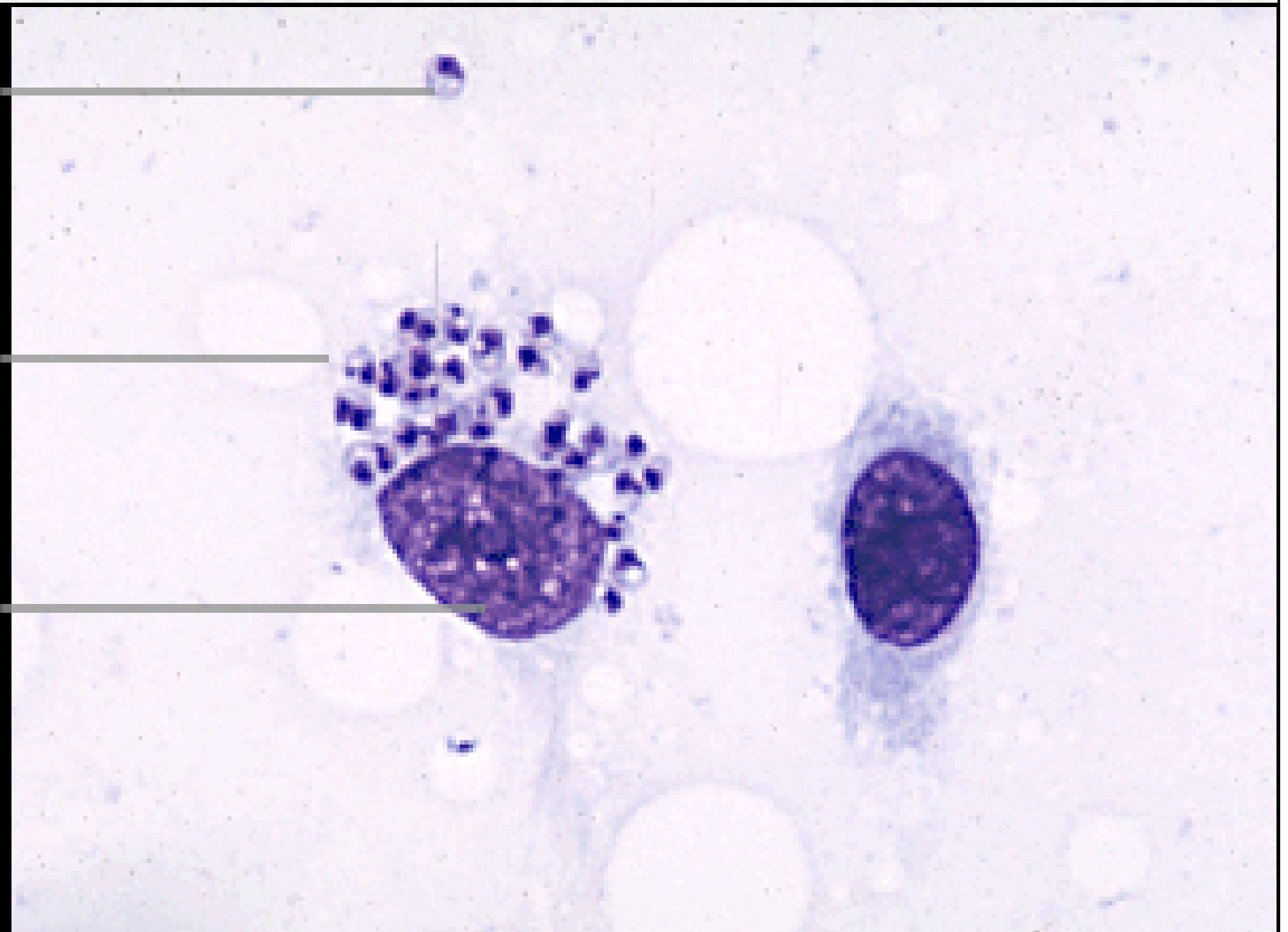
# Tkáňoví paraziti II a III

*Leishmania sp.* (na další stránce životní cyklus parazita a různé kožní i viscerální formy nemoci)

Free amastigote

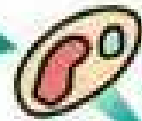
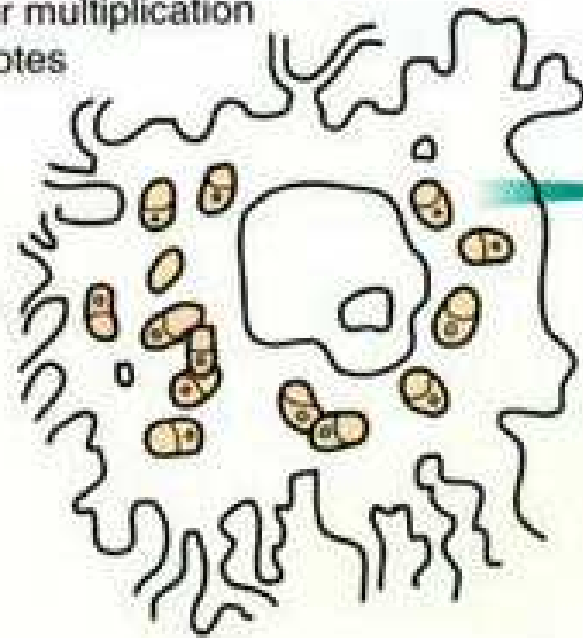
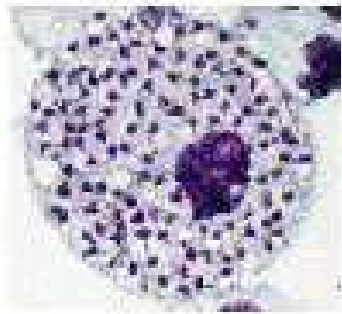
Amastigotes

Histiocyte  
nucleus

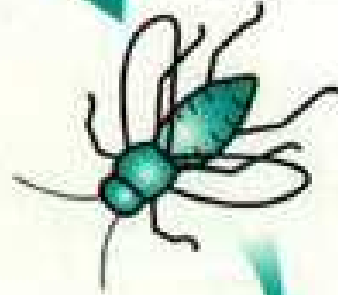


Imprint smear (Giemsa stain 1000X)

Intracellular multiplication of amastigotes

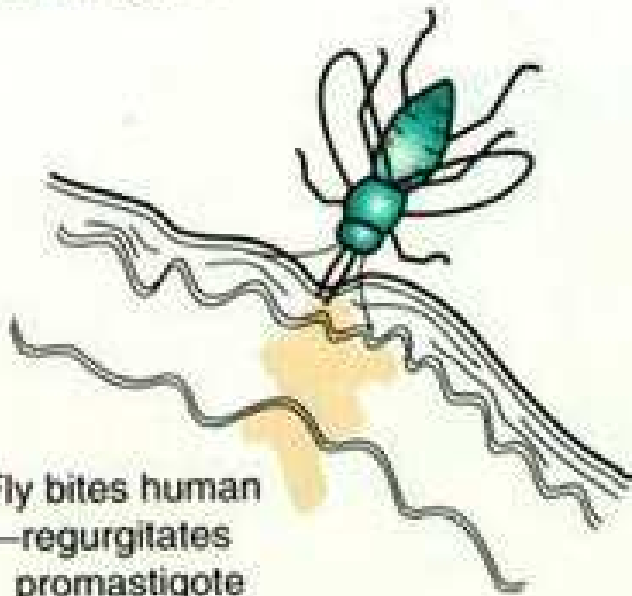


Sand fly ingests amastigote

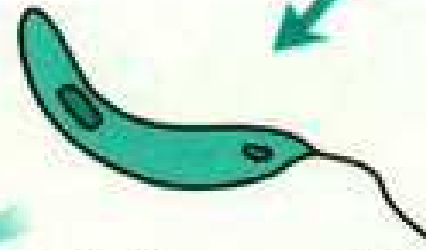


Phagocytosed by macrophage, transformed into amastigote

Transforms into promastigote in midgut of fly



Fly bites human — regurgitates promastigote



*Leishmania*  
Species  
Life Cycle



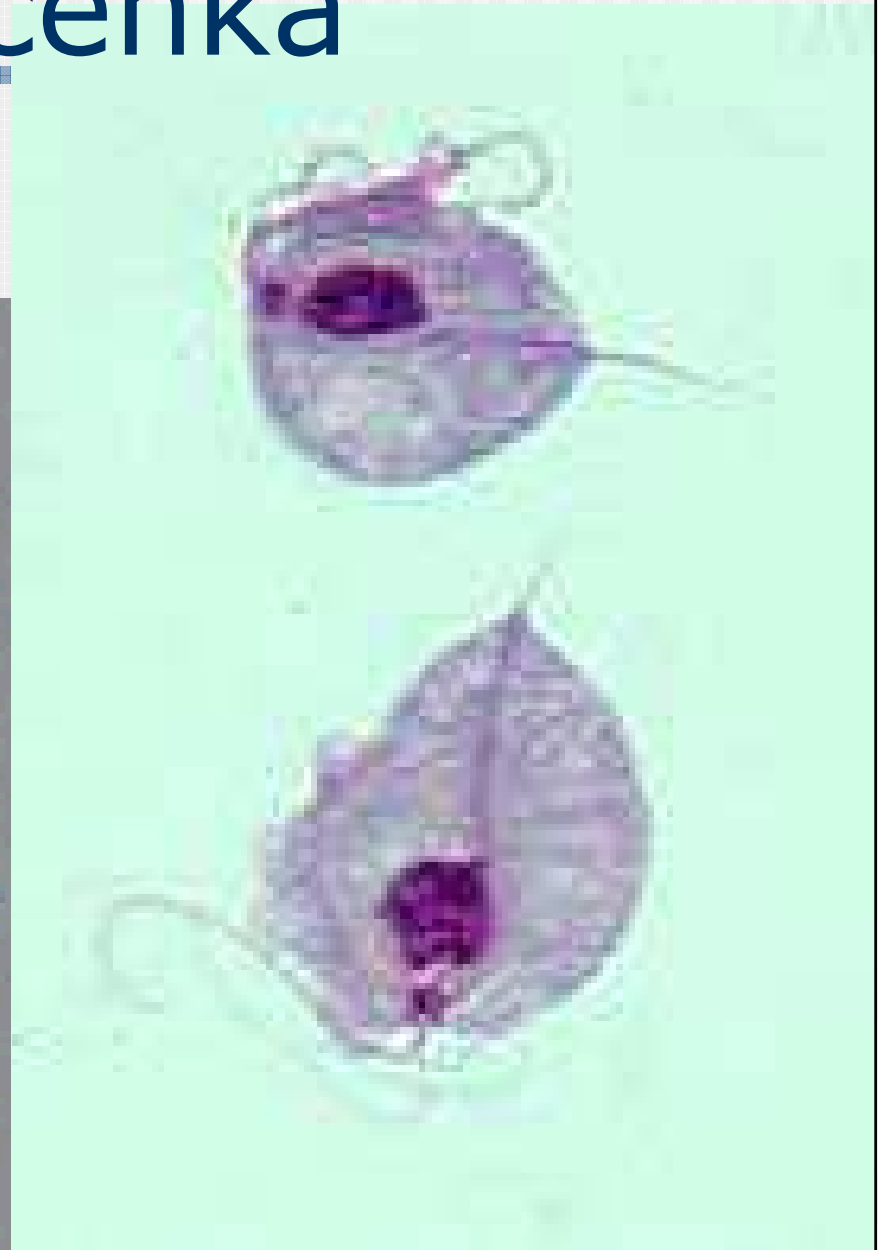
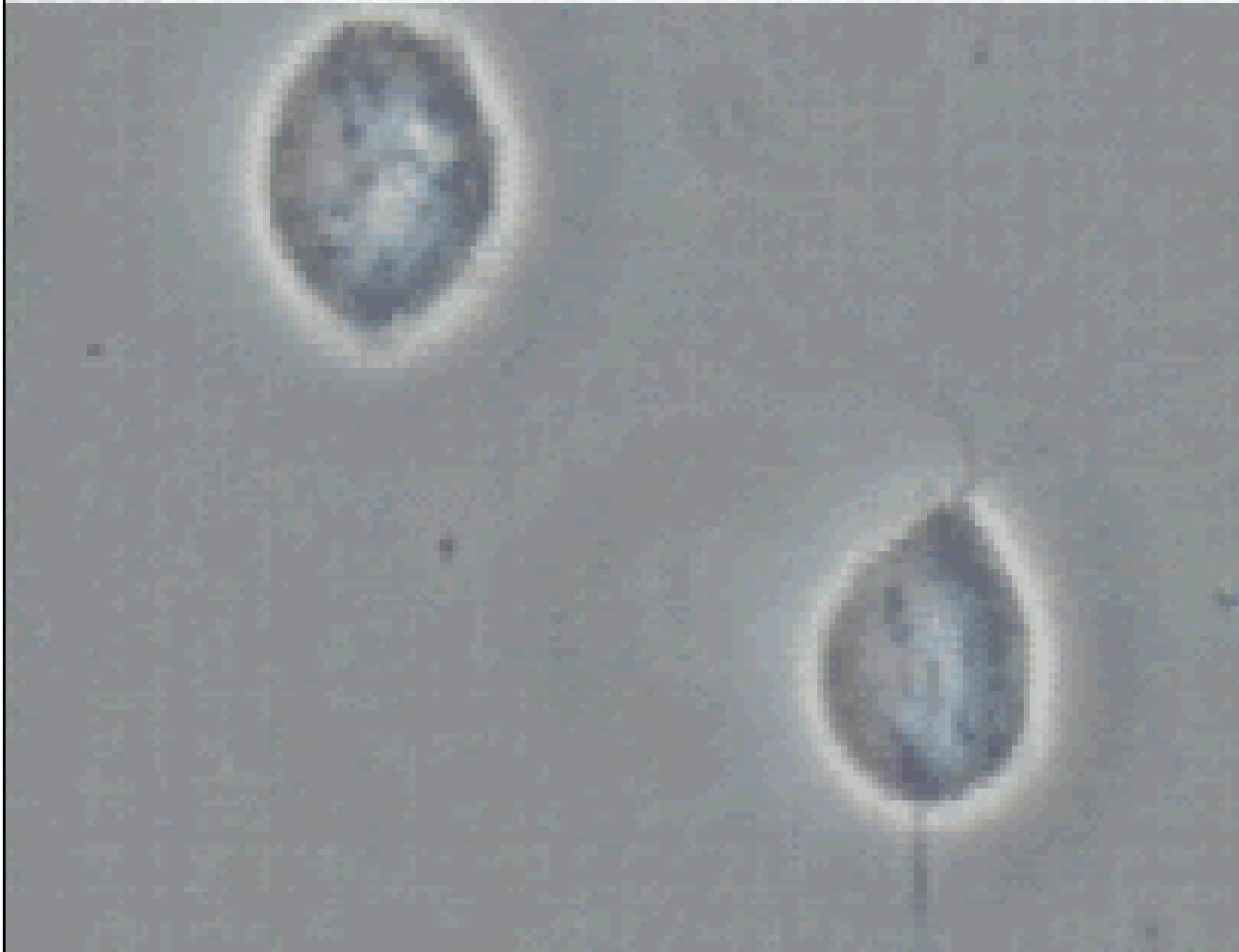
# Tkáňoví paraziti IV – Tenkohlavec bičíkový – *Trichuris trichiura* (vajíčko), tkáňová škrkavka



Wet Mount (400X)

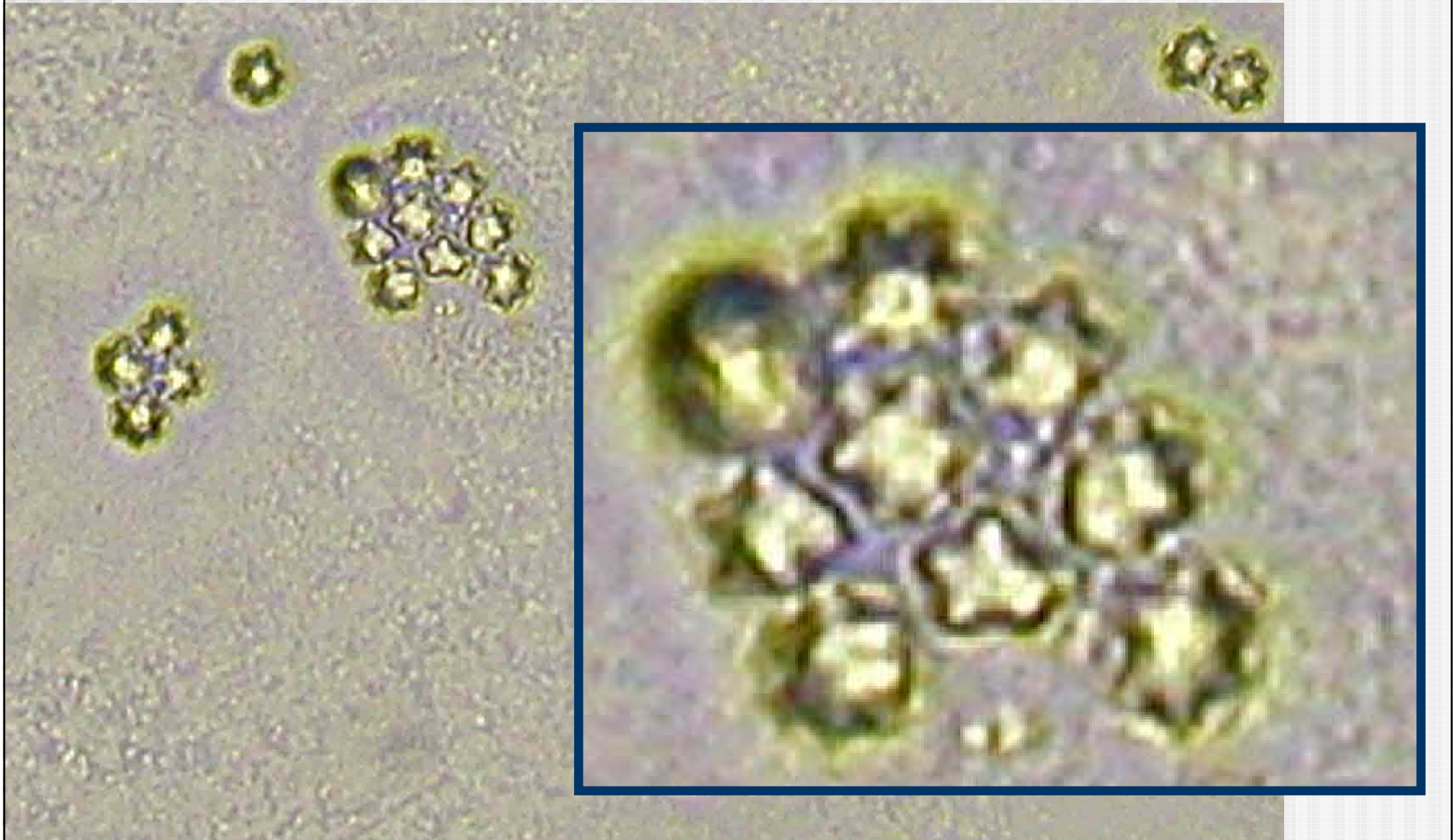


# Ostatní paraziti I *Trichomonas vaginalis*, česky bičenka poševní



# Ostatní paraziti II

*Acantamoeba* sp. – prvok, oční



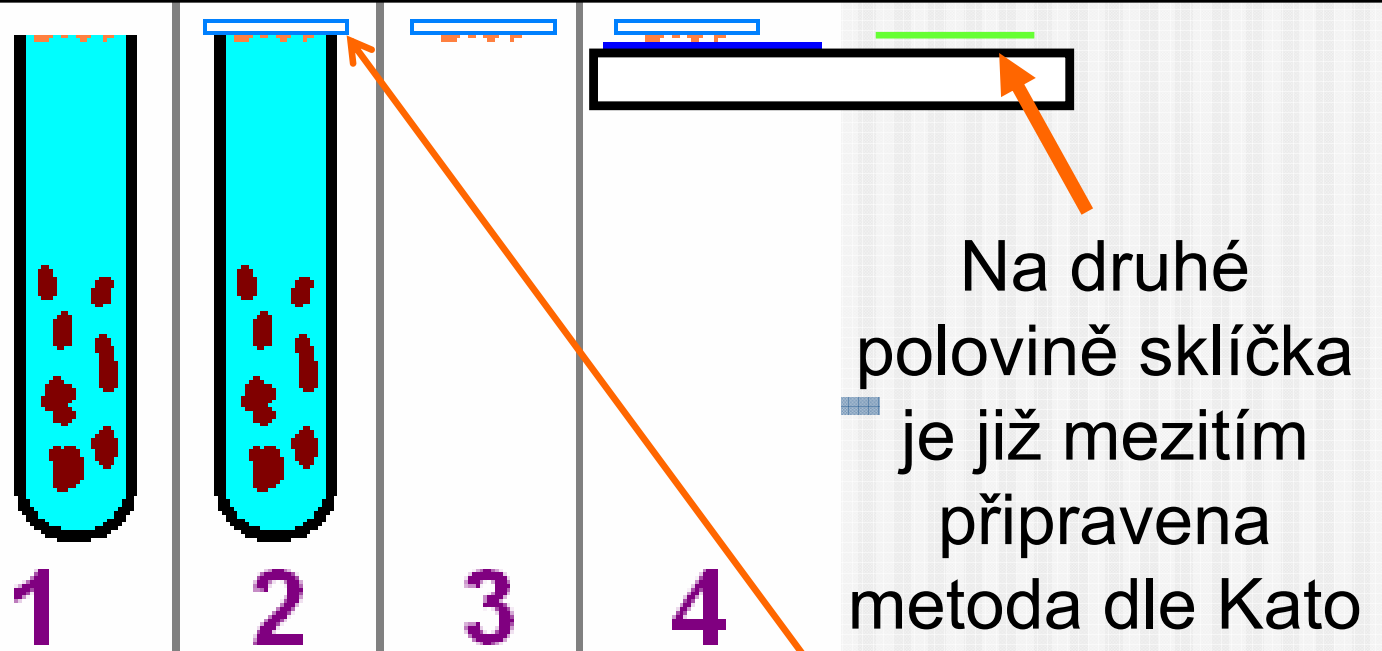
# Paraziti: diagnostické metody obecně

- Důležitá je mikroskopie, buď nativní preparát. nebo barvení ( trichrom, Giemsovo barvení)
- Kultivace se používá zřídka, prakticky jen u trichomonád a akantaméb.
- Z jiných metod přímého průkazu se prosazuje v poslední době PCR
- Nepřímý průkaz se používá u tkáňových parazitóz, zejména toxoplasmózy, larvální toxokarózy a dalších

# Diagnostika střevních parazitů

- Mikroskopie je v každém případě základem
- Diagnostika vajíček červů, popř. článků tasemnic:
  - Používá se nativní preparát v různých modifikacích
    - U metody dle Kato se používá dobarvení pozadí malachitovou zelení, aby se paraziti zvýraznili
    - Faustova metoda je koncentrační (viz dále)
    - Grahamova metoda se používá jen u roupů (viz dále)
- Diagnostika střevních prvoků (améb, lamblíí)
  - Nativní preparát nestačí, používá se barvení, nejčastěji tzv. Gomoriho trichrom

# Faustova metoda



- Princip spočívá v tom, že se stolice opakovaně smíchá s roztokem síranu zinečnatého a centrifuguje. Nakonec se roztokem doplní až po vršek zkumavky, překryje krycím sklíčkem, a to se pak opatrně přenese na podložní sklíčko, kde je již na druhé polovině nachystán preparát připravený dle Kato. Paraziti ulpívají na krycím sklíčku zespodu (viz obrázek)

# Poznámka k odběru stolice při vyšetření na střevní parazity

- Posílá-li se stolice na parazitologické vyšetření (obvykle realizované kombinací metod Kato a Faust), je nutno – na rozdíl od bakteriologie – zaslat **vzorek stolice velikosti lískového ořechu**. Nádobka, ve které je zasílán, nemusí být výjimečně sterilní. Na rozdíl od virologického vyšetření není nutno chladit.
- *Vzorek velikosti kokosového ořechu (jak občas tvrdí někteří studenti) se nedoporučuje 😊*

# Grahamova metoda v diagnostice roupu

- Spočívá v tom, že pacient se předkloní, roztáhne „půlky“, načež je mu na anální otvor (a hlavně perianální řasy) nalepena **speciální průhledná lepicí páska**. Ta je pak odlepena a nalepena na podložní sklíčko
- Průhlednost pásky je zásadní, jinak dost dobře nelze mikroskopovat (Jsou i experti, kteří zasílají pásku neprůhlednou, anebo ji celou přelepí štítkem)
- Je **jednodušší než vyšetření stolice**. Používá se však častěji u dětí – dospělí totiž mívají příliš chlupatou řiť, takže provedení metody by bylo obtížné a bolestivé

# Diagnostika krevních parazitů: Tlustá a tenká kapka

- V diagnostice krevních parazitů je důležité provedení nátěru metodami tzv. tenkého nátěru a tlusté kapky.
- Pro obě metody se používá čerstvá, nebo (provádí-li se nátěr až v laboratoři) nesrážlivá krev. Tenký roztěr se fixuje, tlustá kapka ne. Oboje se pak barví Giemsovým barvením.
- Prohlédněte si obrázky na následující obrazovce a krátké videoklipy, z CD-ROMu „Parazite Tutor“.





SPECIMEN

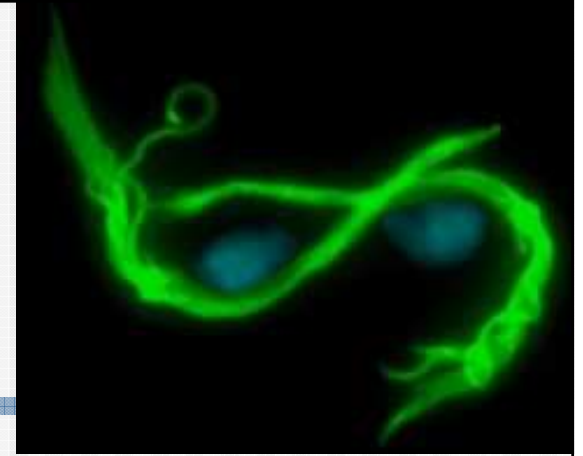
Tenký nátěr



SPECIMEN

Tlustá kapka

# Diagnostika trichomonád



- Trichomonády se v poslední době diagnostikují zejména **kultivačně-mikroskopickým vyšetřením**:
  - odebere se **výtěr** na tamponu zanořeném do média C. A. T.
  - médium se nechá **kultivovat** do druhého dne
  - kapka média se **mikroskopuje** jako **nativní preparát**.
- Tyto preparáty však **nelze uchovat**
- Proto v praxi máme druhý možný způsob – **nátěr na sklíčku barvený dle Giemsy**. Je-li součástí MOP, označuje se jako MOP V.
- Jiné možnosti (např. **fluorescenční barvení** jako

# Diagnostika ostatních parazitárních nákaz

---

- U ektoparazitů leží diagnostika z větší části mimo rámec mikrobiologie – vši spatří i laik, zákožky případně dermatolog
- U tkáňových parazitů se zasílá zpravidla sérum
- V některých případech, zejména tropických parazitóz, je lépe konzultovat odběr a jeho provedení s laboratoří

*U některých filarióz se doporučuje provádět odběr pouze v noci, popř. pouze ve dne*

# Nashledanou při dalším dílu!

Obrázek na této stránce – toxoplasmóza v uměleckém ztvárnění

Dnes použity obrázky z  
CD-ROM „Parasite-Tutor“ – Department of Laboratory Medicine, University of Washington,  
Seattle, WA

[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)

- 01 [http://depts.washington.edu/nnptc/online\\_training/std\\_handbook/gallery/images/trichomonas\\_Dschg.JPG](http://depts.washington.edu/nnptc/online_training/std_handbook/gallery/images/trichomonas_Dschg.JPG)
- 02 [holebi.info/gids.php](http://holebi.info/gids.php)
- 03 <http://webmedia.unmc.edu/intmed/general/demo/wh/vsdx4001.htm>
- 04 <http://medschool.sums.ac.ir/users/parasto/Intestinal%20and%20luminal%20protozoa/Trichomonas%20vaginalis1.JPG>
- 05 [http://en.microdigitalworld.ru/imgs/en\\_gard+tr\\_1\\_b\\_ink.jpg](http://en.microdigitalworld.ru/imgs/en_gard+tr_1_b_ink.jpg)
- 06 [http://www.microdigitalworld.ru/imgs/4tr\\_b.jpg](http://www.microdigitalworld.ru/imgs/4tr_b.jpg)
- 07 [http://www.bu.edu/cme/std/images/slide7-vwp\\_g420.jpg](http://www.bu.edu/cme/std/images/slide7-vwp_g420.jpg)
- 08 [http://www.ncl.ac.uk/microbial\\_eukaryotes/christophej\\_no\\_euml\\_l.html](http://www.ncl.ac.uk/microbial_eukaryotes/christophej_no_euml_l.html)
- 09 <http://www.smittskyddsinstitutet.se/upload/Analyser/ToxoplasmaSB-a.jpg>
- 10 [http://fullmal.hgc.jp/tg/icons/Toxo\\_ultrastructure.gif](http://fullmal.hgc.jp/tg/icons/Toxo_ultrastructure.gif)
- 11 [http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/images/Parasitelimages/S-Z/Toxoplasmosis/Toxoplasma\\_LifeCycle.gif](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/images/Parasitelimages/S-Z/Toxoplasmosis/Toxoplasma_LifeCycle.gif)
- 12 [http://tn3-2.deviantart.com/300W/fs7.deviantart.com/i/2005/189/1/9/toxoplasma\\_by\\_chocko.jpg](http://tn3-2.deviantart.com/300W/fs7.deviantart.com/i/2005/189/1/9/toxoplasma_by_chocko.jpg)
- 13 [http://webdb.dmhc.moph.go.th/ifc\\_nih/applications/pics/Toxoplasma.jpg](http://webdb.dmhc.moph.go.th/ifc_nih/applications/pics/Toxoplasma.jpg)
- 14 - 24 [http://web.indstate.edu/thcme/micro/parasitology/toxoplasma\\_lifecycle.gif](http://web.indstate.edu/thcme/micro/parasitology/toxoplasma_lifecycle.gif)
- 25 [http://www.antoranz.net/CURIOSA/ZBIOR3/C0311/03-QZC08043-3\\_Toxoplasma.jpg](http://www.antoranz.net/CURIOSA/ZBIOR3/C0311/03-QZC08043-3_Toxoplasma.jpg)

