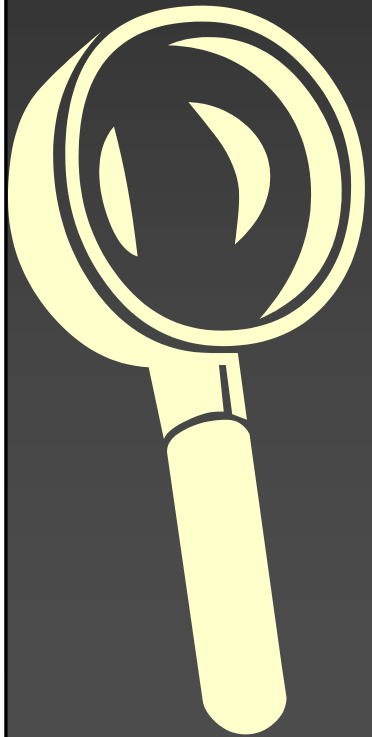


Mikrobiologický ústav uvádí

NA STOPĚ PACHATELE



Díl jedenáctý:

Pachatelé – paraziti

Opět začneme testíkem...

- Jaké je složení G+ buněčné stěny bakterií?

Peptidoglykan (murein), řetězce kys. teichoové

- Jaké je složení G- buněčné stěny bakterií?

Tenká vrstva mureinu, nad ní vnější membrána

- Jak se barví dle Grama kvasinky a proč?

Modrofialově – tlustá vrstva polysacharidů

- Které znáte nejvýznamnější mikromycety?

Candida; *Trichophyton* a *Epidermophyton* jako původci povrchových mykóz, *Pneumocystis*...

Testík pokračuje... a končí

- Jak vypadá kandida na krevním agaru?

Bílé kolonie podobné stafylokokovým, liší se vůní po chlebu (a jsou trochu menší)

- Jak lze odlišit kvasinku od stafylokoka?

Vůní, nátěrem, růstem na selektivní půdě

- Jak se vzájemně rozlišují kandidy?

Chromogenními půdami, biochemickými testy

- Proč se Sabouraud nalévá do zkumavek?

Některé vláknité houby rostou pomalu.

V miskách by půda během kultivace vyschla.

Na úvod...



„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 p****i, a občas jim
vyjde článek!

Příběh první

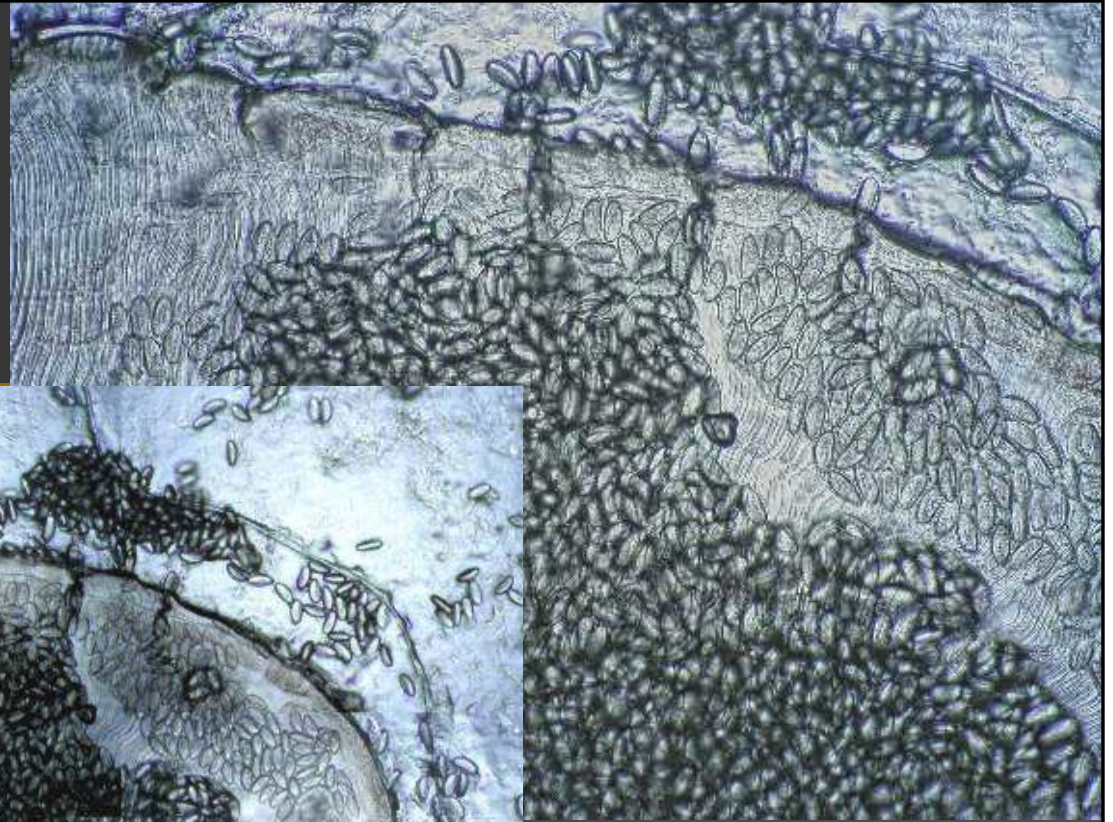
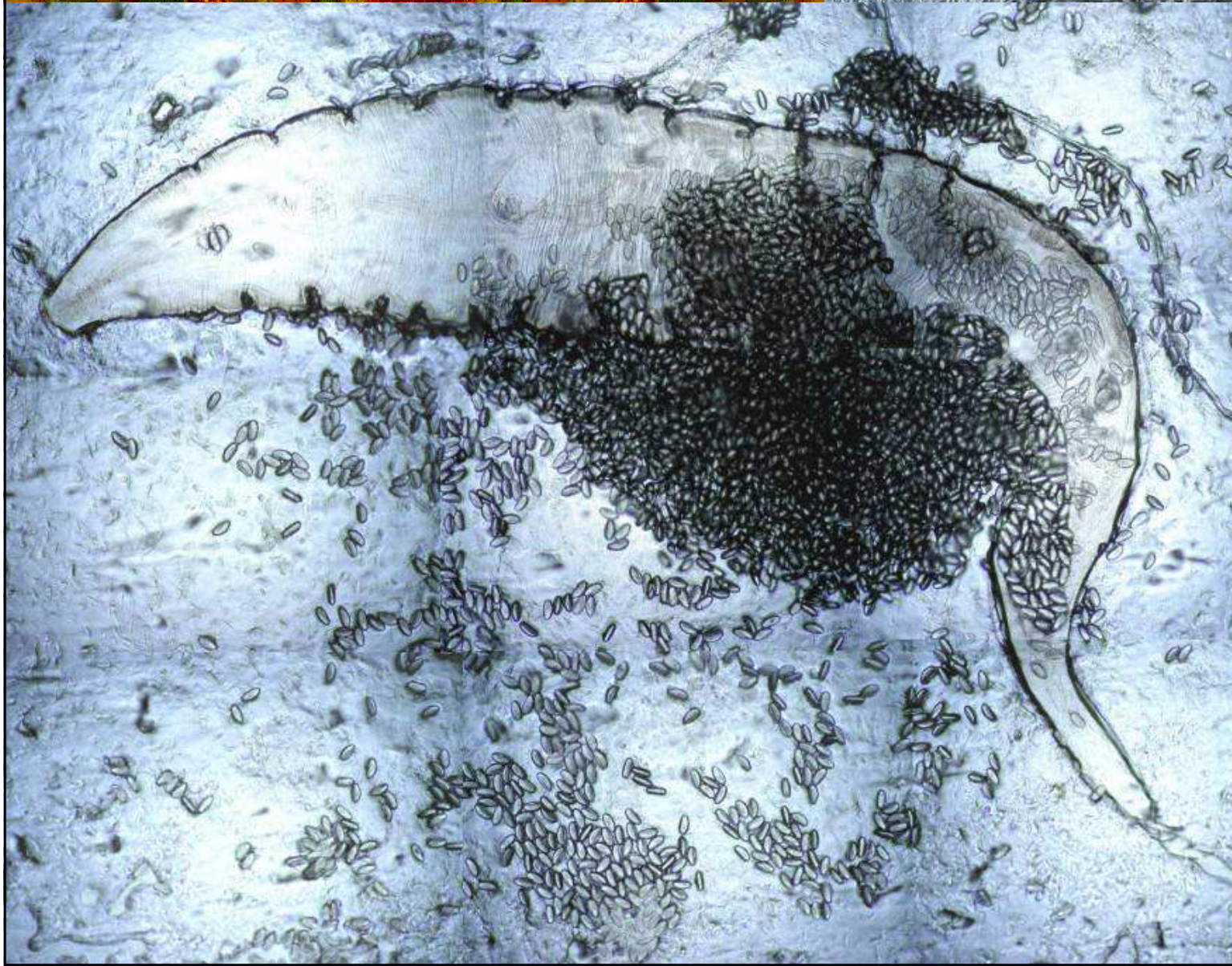
- Nikolka se pořád škrabala v zadečku, že už to bylo nápadné rodičům i učitelkám ve školce. Zároveň byla neklidná a roztěkaná. A tak jí nalepili na zadek průhlednou lepicí pásku a poslali do laboratoře. A výsledek nikoho nepřekvapil. Nikolka tedy začala užívat léky, a zanedlouho byla zase úplně v pořádku...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

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.

Roup



Vajíčko škrkavky



Egg

Fertile egg (wet mount 400X)



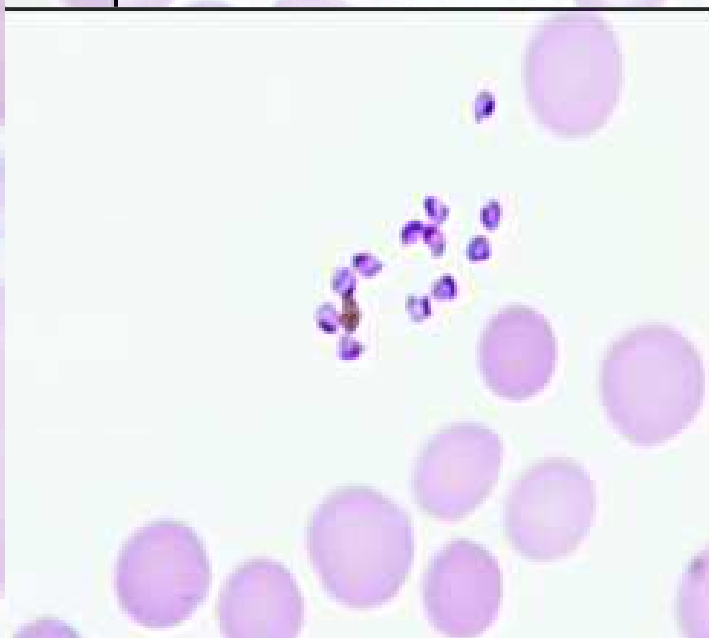
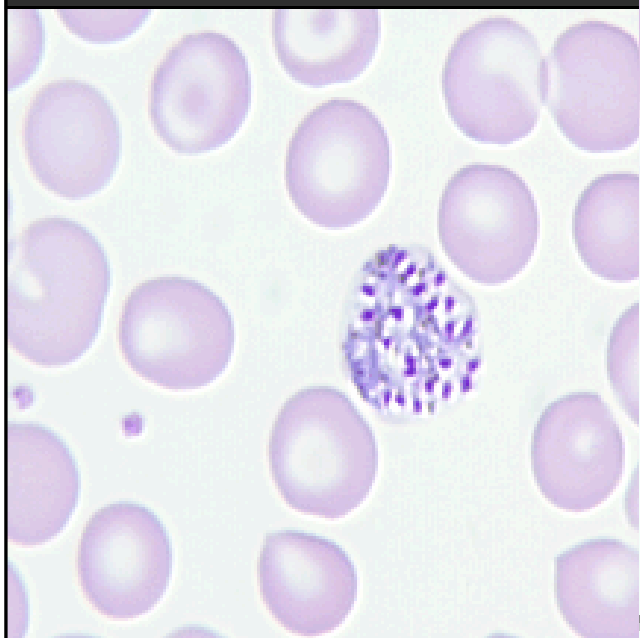
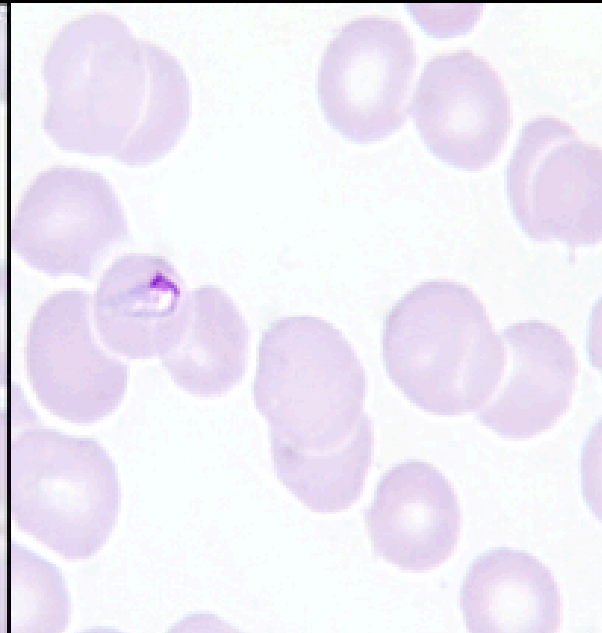
Příběh druhý

- **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

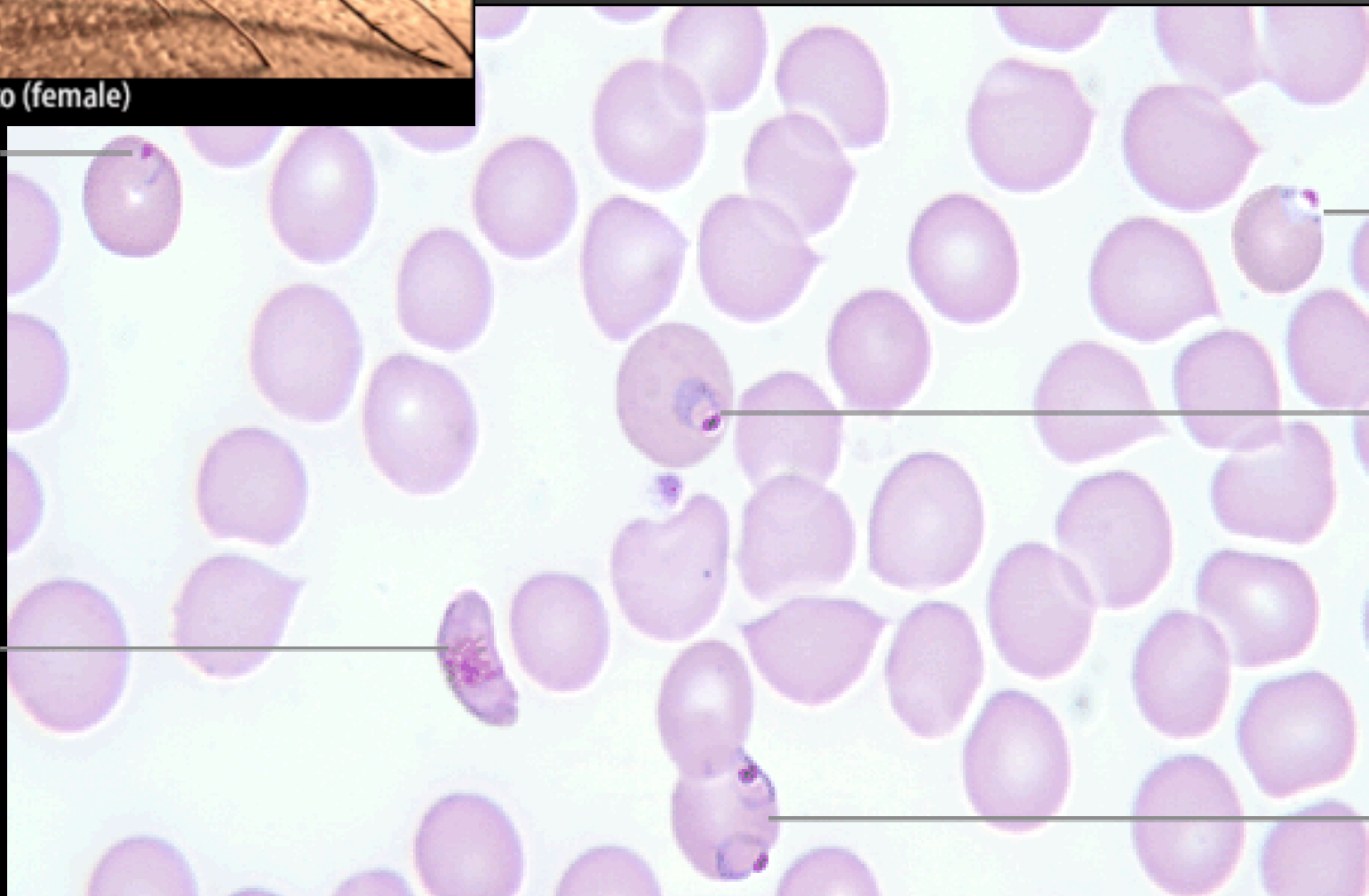
Vývojová stádia plasmodií



Různá stádia malarických plasmodií a přenašeč malárie



Anopheles mosquito (female)



Early trophozoite

Appliqué form

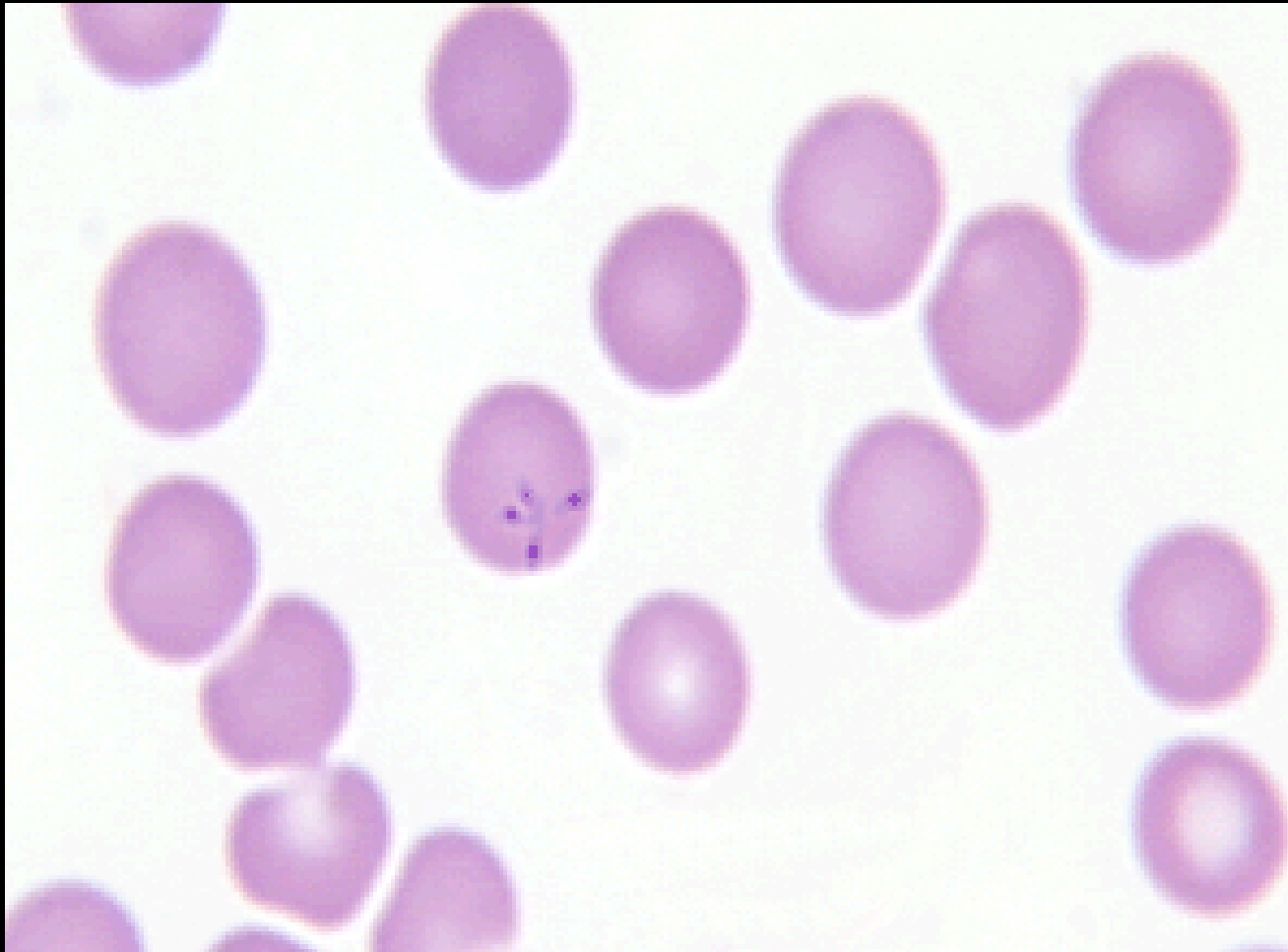
Late trophozoite

Gametocyte

Double infection

Wright's stain (1000X)

Babesie – příbuzní malárií (vyskytují se i v Evropě)



Wright's stain (1000X)

Typické jsou tetrády ve tvaru maltézského kříže

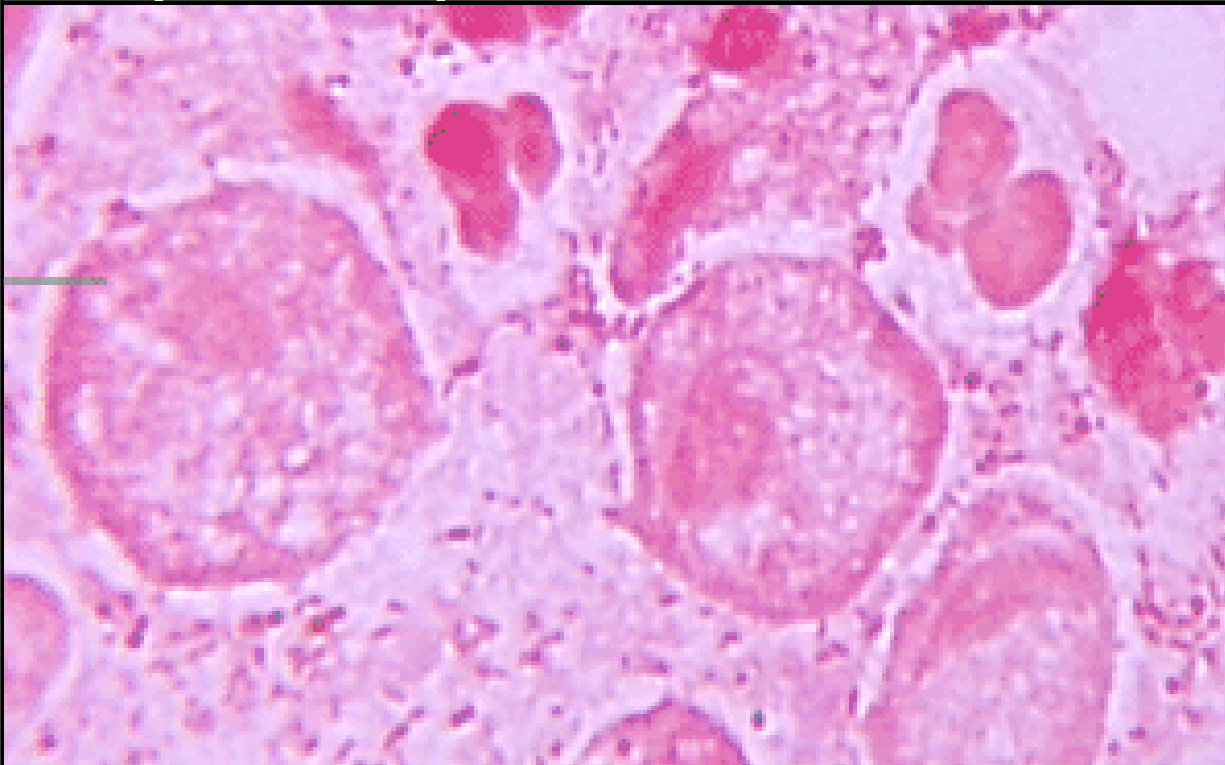
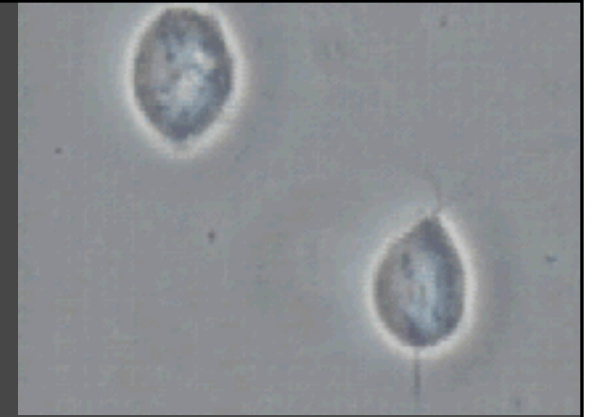
Příběh třetí

- **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



Klasifikace parazitů

- 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

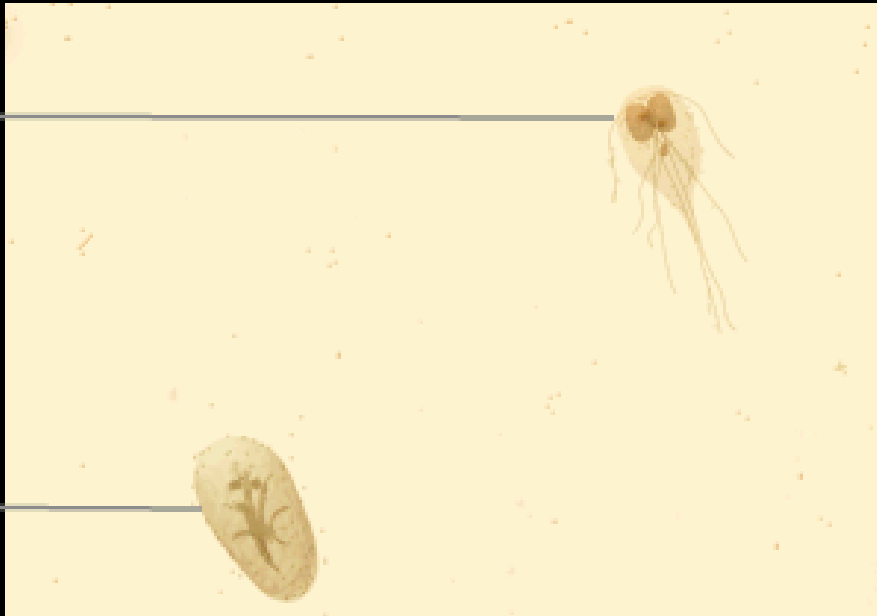
■ Také bývá zvykem členit parazity podle orgánových soustav:

- 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

Co v příbězích nebylo – I

Trophozoite



Cyst

Giardia
lamblia –
střevní
parazit,
prvok



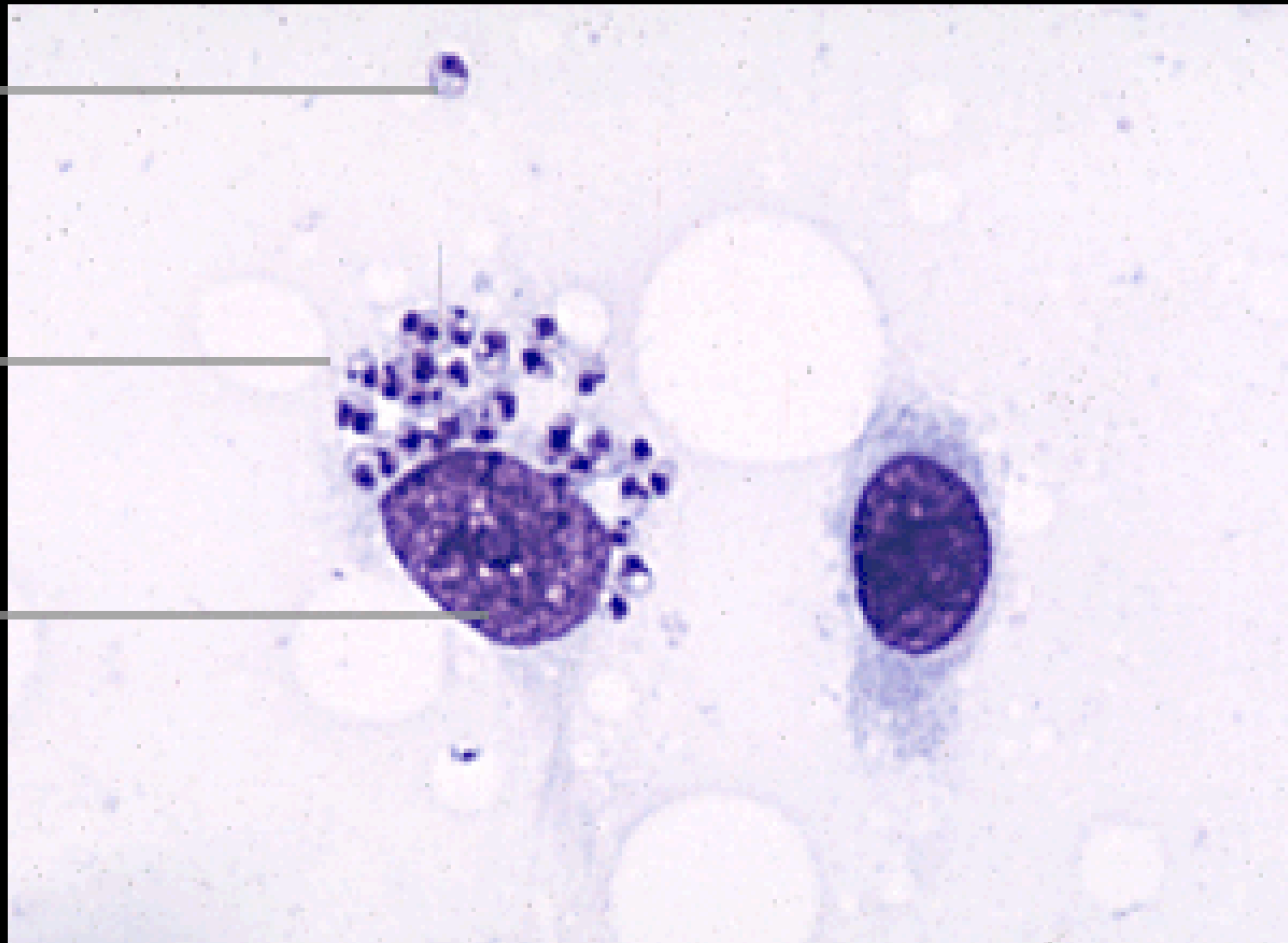
Co v příběžích nebylo – II

Leishmania sp. – prvok, tkáňový

Free amastigote

Amastigotes

Histiocyte
nucleus



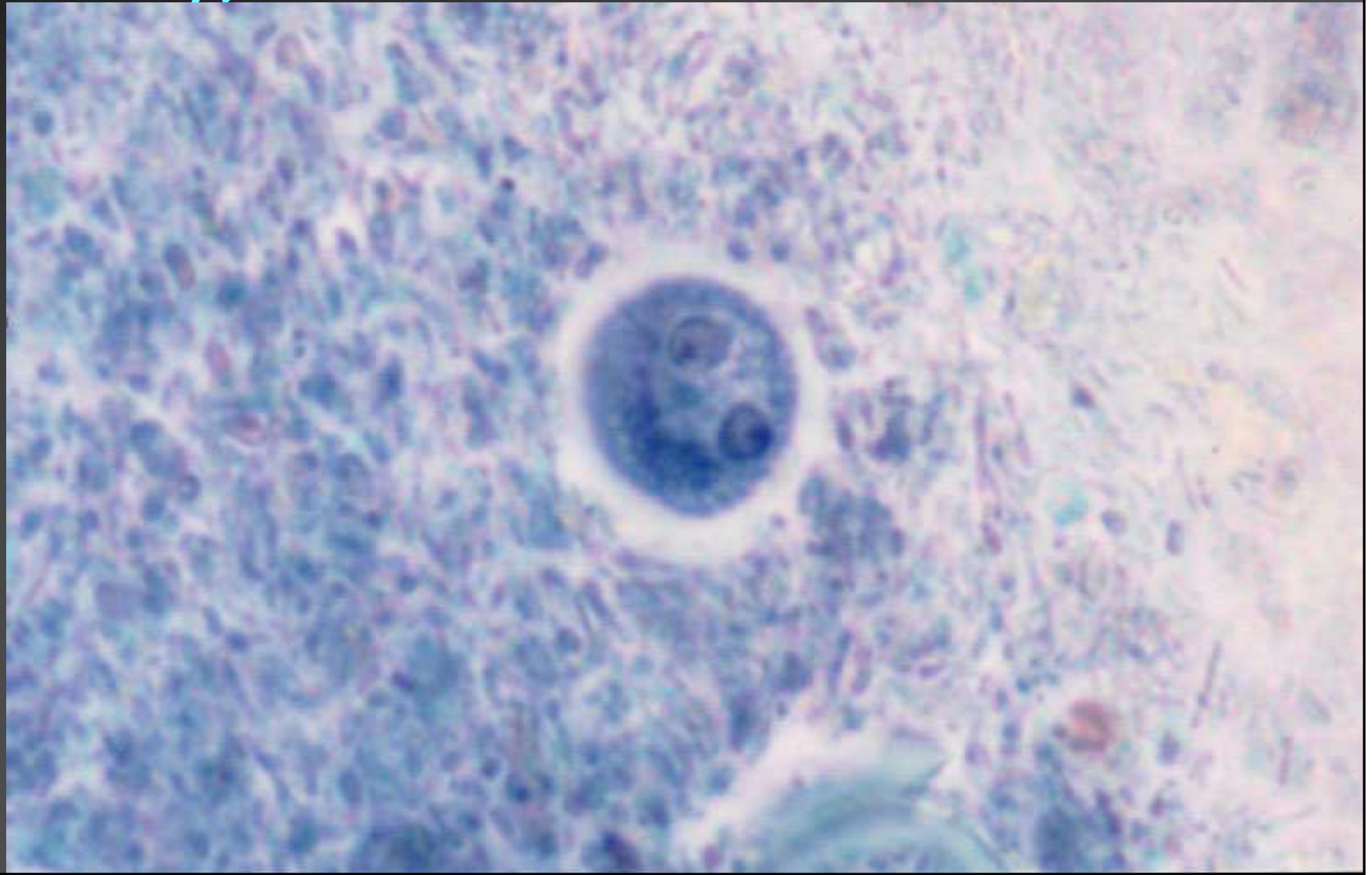
Imprint smear (Giemsa stain 1000X)

Co v příběžích nebylo – III

Acantamoeba sp. – prvok, oční



Co v příbězích nebylo – IV
Entamoeba histolytica. – prvok
(měňavka), střevní

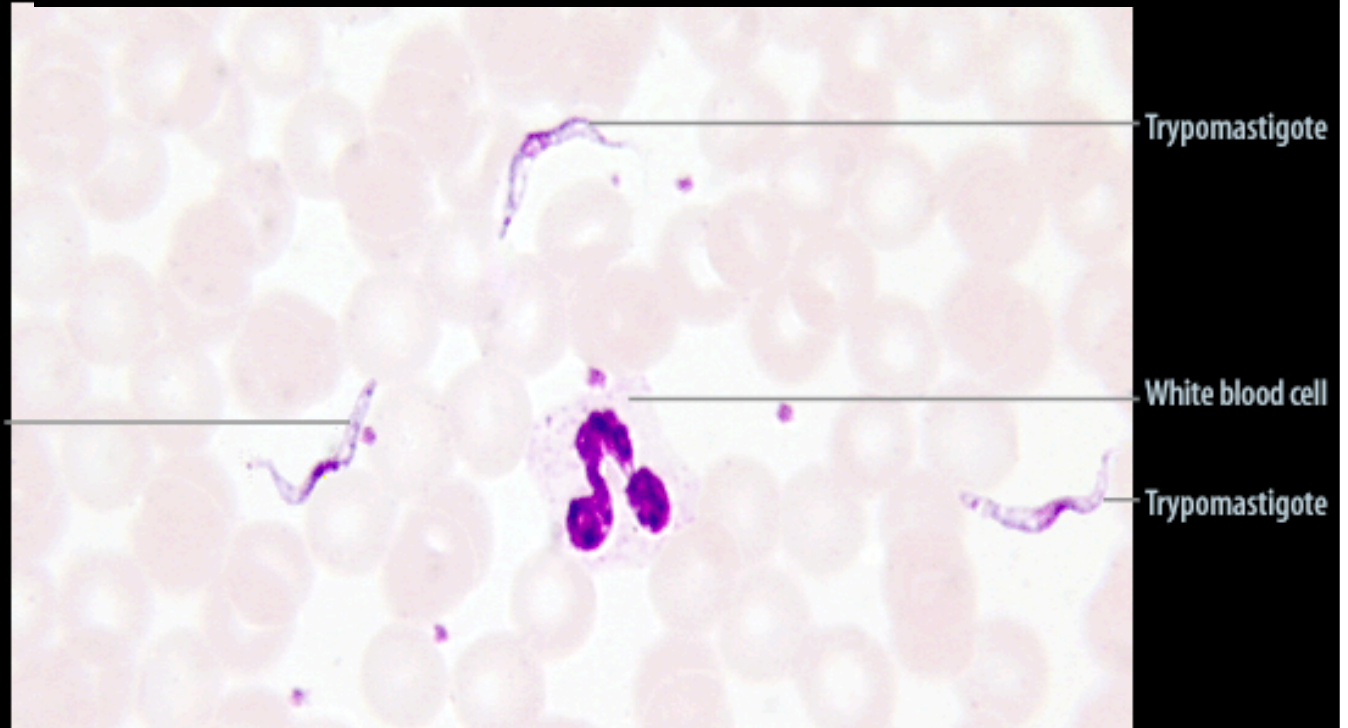


Co v příběžích
nebylo – V
~~*Trypanosoma*~~
sp. – prvok
(bičíkovec),
krevní.

Nahoře *T. cruzi*,
dole *T. brucei*



Giemsa stain (1000X)



Trypomastigote

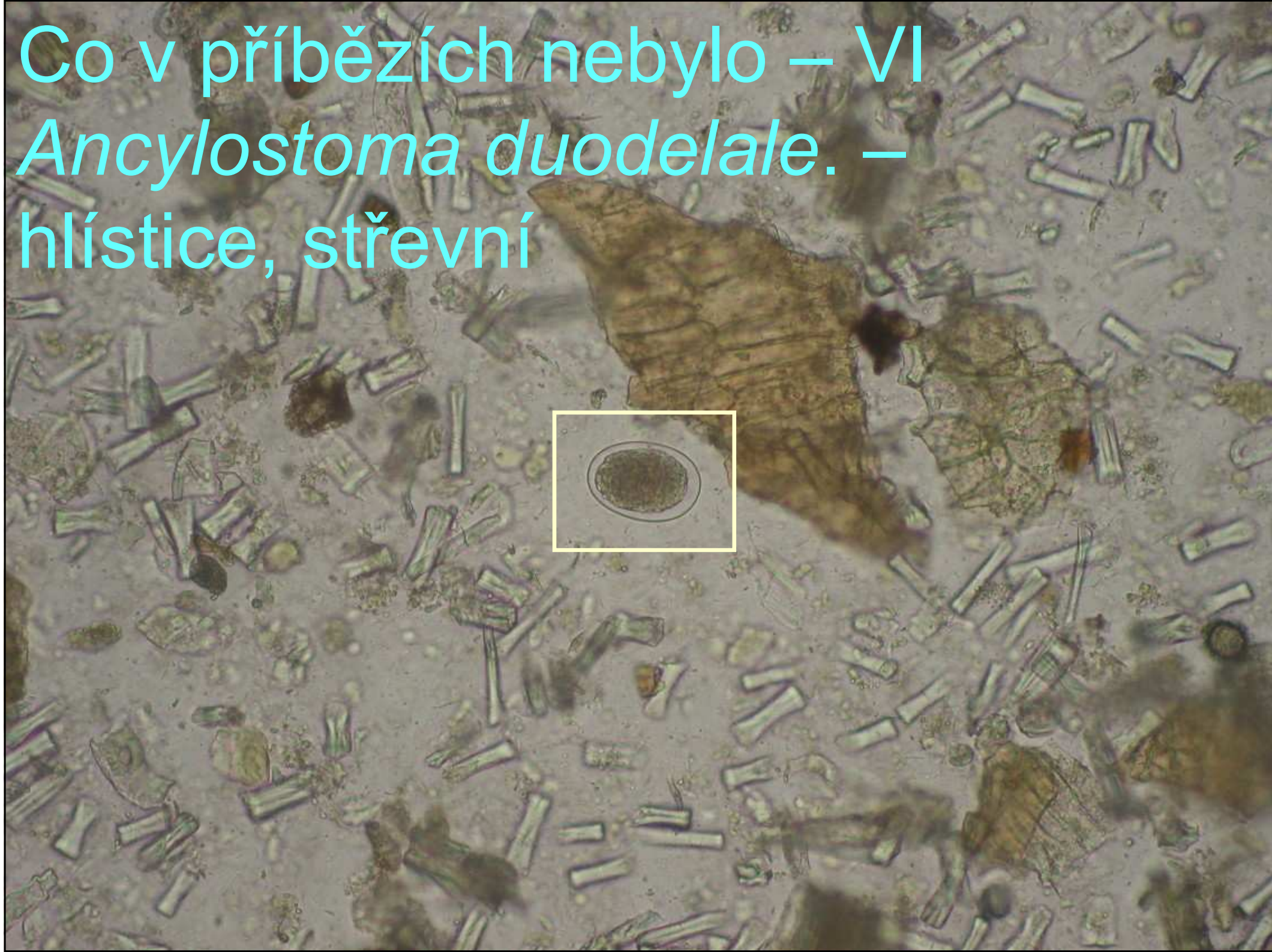
Trypomastigote

White blood cell

Trypomastigote

Giemsa stain (1000X)

Co v příběžích nebylo – VI
Ancylostoma duodenale. –
hlístice, střevní

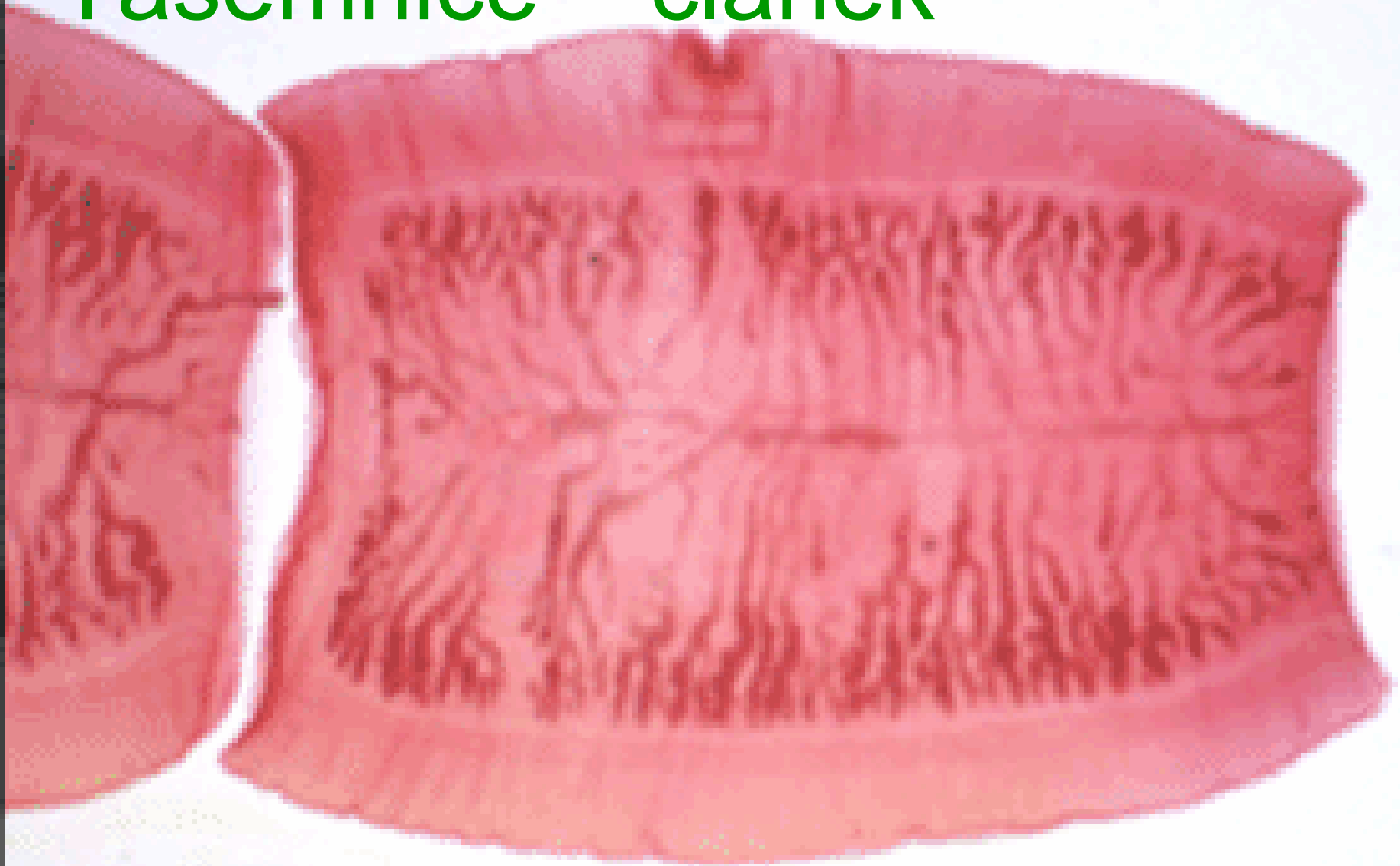


Co v příběžích
nebylo – VII

Taenia sp. –
tasemnice, střevní
(vajíčka)



Tasemnice – článěk



Taenia saginata gravid proglottid (stained)

Co v příbězích nebylo – VIII

Diphylobotrium latum (škulovec široký) – tasemnice, střevní



Co v příběžích nebylo – IX

Filárie – extraerytrocytární střevní paraziti

A – *Wuchereria bancrofti*

B – *Brugia malayi*

C – *Loa loa*

D – *Mansonella perstans*

E – *Mansonella ozardi*



Filárie a trypanosoma – velikostní porovnání (ta kolečka jsou erythrocyty)



Co v příběžích nebylo – X
Tenkohlavec bičíkový – *Trichuris trichiura* (vajíčko), tkáňová škrkavka

Plug



Wet Mount (400X)

Paraziti: diagnostické metody

- **Mikroskopie:** Stačí **nativní preparát**. Někdy je však nutno použít vhodné koncentrační metody. Jindy se používá speciálních barvení, např. trichrom
- **Kultivace** se používá zřídka, prakticky jen u trichomonád a akantaméb.
- **Z jiných metod přímého průkazu** se prosazuje v poslední době PCR
- **Nepřímý průkaz** se stává u tkáňových parazitóz, zejména toxoplasmózy, larvální toxokarózy a dalších

Diagnostika krevních parazitů: Tlustá a tenká kapka

- V diagnostice krevních parazitů je důležité provedení nátěru metodami tzv. **tenkého nátěru a tlusté kapky**. Přestože není součástí úkolů dnešního praktika, je třeba ho aspoň předvést demonstračně. Prohlédněte si obrázky na následující obrazovce a krátké videoklipy, pocházející z CD-ROMu „Parazite Tutor“.
- Pro obě metody se používá nesrážlivá krev. Zaschlé nátěry se fixují a barví **Giemsovým barvením**.



SPECIMEN

Tenký nátěr



SPECIMEN

Tlustá kapka

Úkol 1: Prohlédněte si mikroskopické preparáty trichomonád

- Trichomonády se v poslední době diagnostikují zejména kultivačně-mikroskopickým vyšetřením: odebre se **výtěr na tamponu zanořeném do média C. A. T.**, médium se nechá **kultivovat** do druhého dne a poté se kapka média **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.

Úkol 2: Morfologie vajíček střevních parazitů

Ještě jednou si prohlédněte vajíčka střevních parazitů, která jste už viděli



Roup Tenkohlavec



Tasemnice



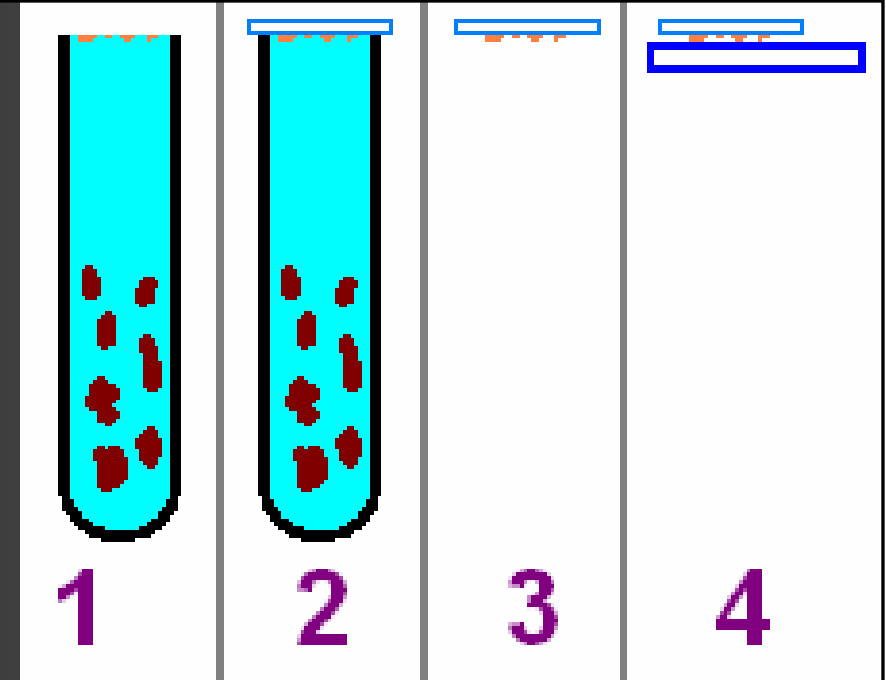
Škrkavka



Úkoly 3 a 4: Mikroskopie střevních parazitů

- Používá se zpravidla **kombinace dvou metod.**
- **Metoda dle Kato** je bez koncentrace, pro zvýraznění parazitů se používá překrytí preparátu celofánem napuštěným malachitovou zelení.
- **Faustova koncentrační metoda** naopak odděluje lehké parazity od těžších částí stolice.
- Zpravidla se **obě metody kombinují** na jednom podložním sklíčku

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 v levé části nachystán preparát připravený dle Kato. Paraziti ulpívají na krycím sklíčku zespodu (viz obrázek)

Poznámka k odběru materiálu

- 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 se nedoporučuje 😊*

Úkol 5 – diagnostika *Toxoplasma gondii* serologickými testy

- Jak již bylo řečeno, u tkáňových parazitů se často používá nepřímý průkaz
- Část 5a) je KFR – první důlek je test antikomplementarity séra (viz J09), ve druhém ředění 1 : 5, dále geometrickou řadou
- Část 5b) je ELISA – způsob výpočtu je uveden na listech na pracovních stolech

Úkol 6 – 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

Úkol 7 – demonstrace lihových preparátů

- Prohlédněte si naše tasemnice, škrkavky a roupy, naložené v lihu

Úkol 8 – demonstrace životních cyklů některých parazitů

- Prohlédněte si obrázky životních cyklů parazitů na pracovních stolech, a aspoň jeden si přeneste do protokolu

Nashledanou při dalším dílu!

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