

Základy klinické parazitologie

Klasifikace parazitů

- Parazité jsou klinicky významní živočiši, ne vždy mikroskopičtí
- Lze je členit dle **umístění v organismu**, zoologických kritérií a dalších vlastností
- Mezi **endoparazity** (vnitřní parazity) patří:
 - Prvoci- Protozoa
 - Hlístice- Nematoda
 - Motolice- Trematoda
 - Tasemnice- Cestoda
- Mezi **ektoparazity** patří různí členovci (vši, zákožka svrabová,...)

Jiná klasifikace parazitů

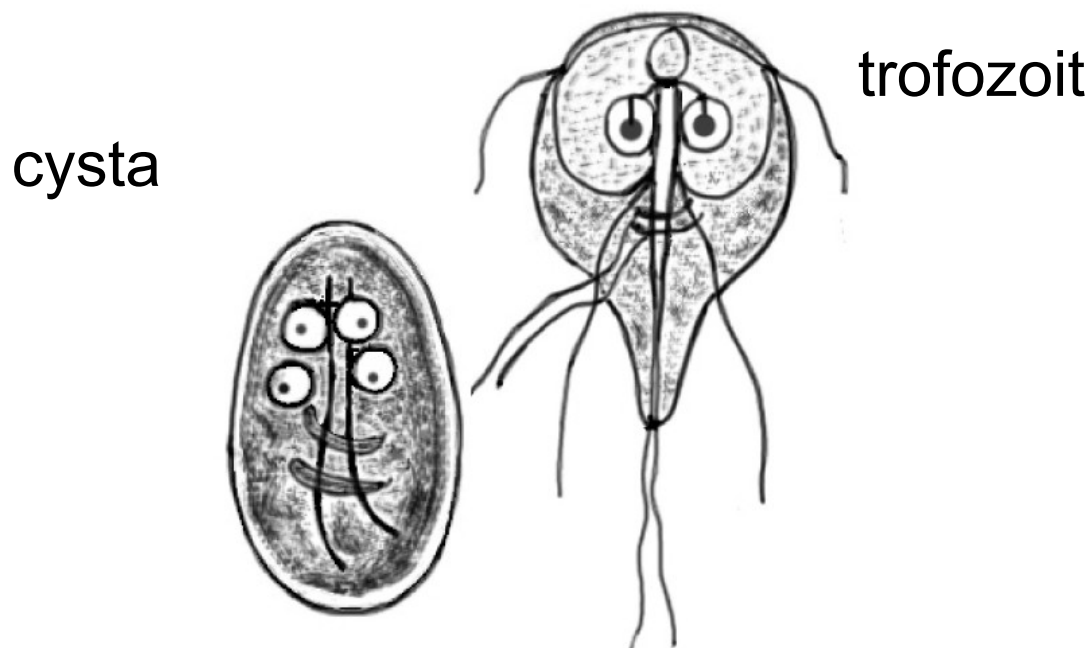
- Také bývá zvykem členit parazity podle **orgánových soustav**:
 - střevní (od lamblíí po tasemnice)
 - krevní (intra- a extraerytrocytární)
 - urogenitální (například bičenky)
 - tkáňoví (například toxoplasma)
- Toto členění má význam i pro diagnostiku
- U tkáňových parazitů má například logicky mnohem větší význam nepřímý průkaz – pro přímý průkaz nelze nalézt vhodný vzorek, který by měl být odebrán

Střevní parazité

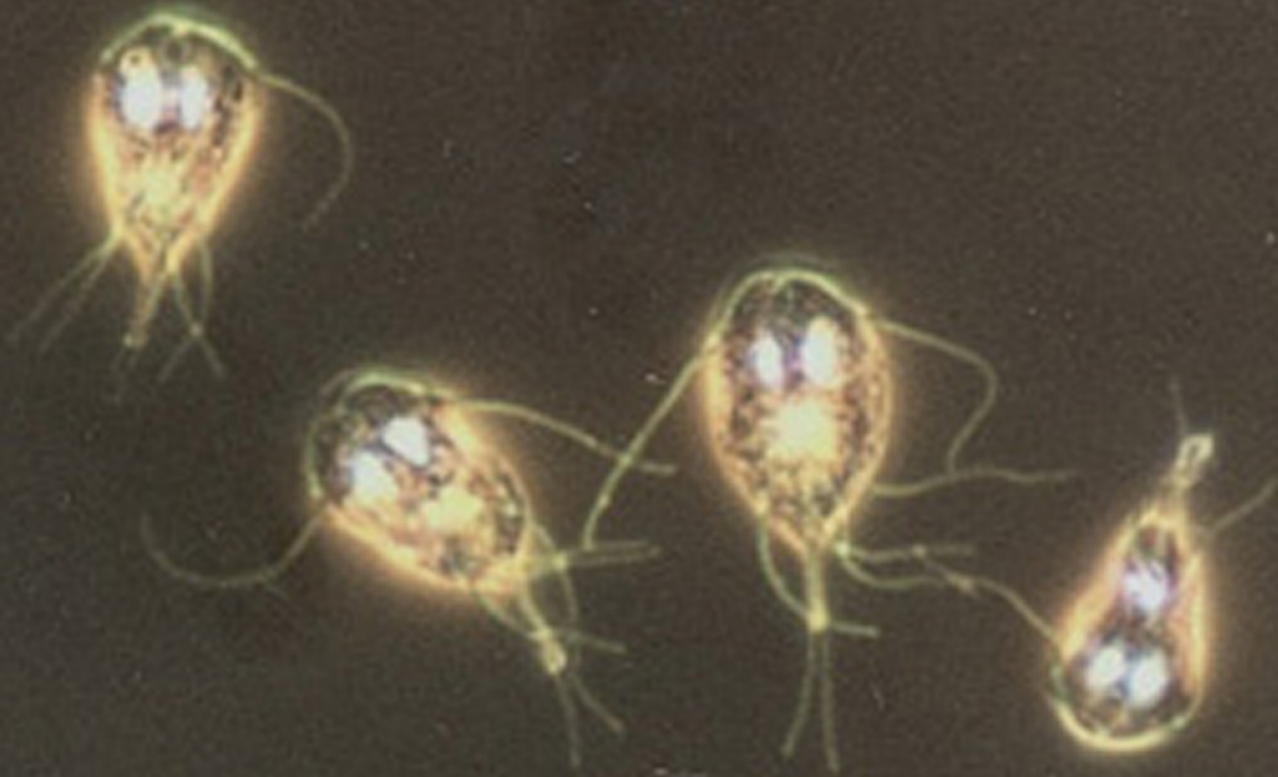
- Střevní parazité jsou nejběžnější
- Někteří způsobují průjemová onemocnění, jiní spíše nespecifické problémy (dyspepsie, svědění, únavu...)
- Mohou náležet do kterékoli ze skupin endoparazitů
- **Nejběžnější:**
 - **Prvoci:** améby (*Entamoeba histolytica*), bičíkovci (*Giardia intestinalis* = *Lamblia*)
 - **Hlístice:** Roup, škrkavka a další
 - **Motolice:** např. *Fasciolopsis buski*
 - **Tasemnice:** hovězí a vepřová tasemnice a spousta jiných tasemnic

Giardia intestinalis

- Původci alimentárních průjmových nákaz- člověk se nakazí pozřením cyst s vodou nebo potravinami
- Rozšířeny po celém světě, nejvíce v teplém podnebném pásmu



Giardia intestinalis – trofozoiti

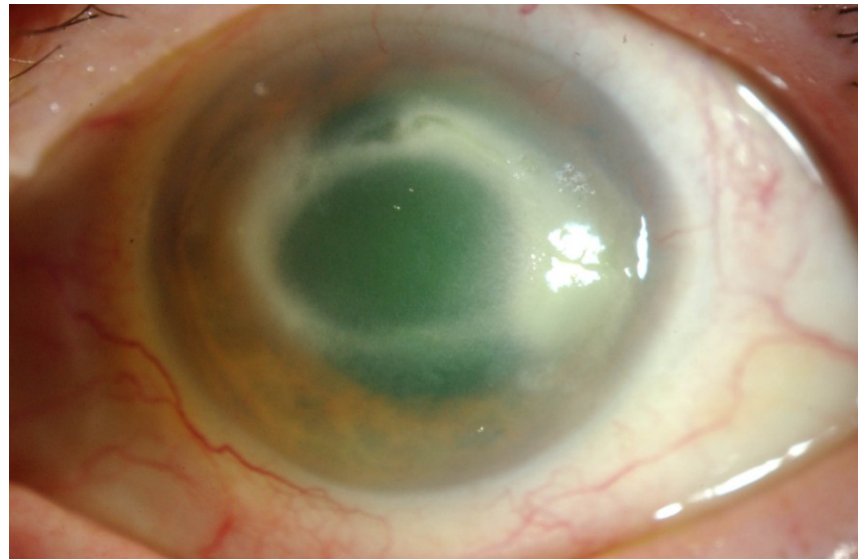


Amébové infekce

- *Entamoeba histolytica* (měňavka úplavičná)
se vyskytuje ve dvou formách:
 - *Forma minuta* - menší, neinvazivní tvořící cysty
 - *Forma magna* – větší, invazivní
- Původce střevních i mimostřevních infekcí v tropech či subtropích
- Tzv. cestovatelské průjmy, i mimostřevní infekce (jaterní amébový absces)

Další améby- *Acanthamoeba* sp.

- ▶ Běžně se vyskytuje volně ve vodě a půdě
- ▶ Původce amébové encefalitidy a keratitidy (u nositelů kontaktních čoček)



Nematoda (hlístice)

- ▶ Nečlánkované, protáhlé tělo
- ▶ Gonochoristé
- ▶ Původci střevních nematodóz:

Enterobius vermicularis

Ascaris lumbricoides



Enterobius vermicularis

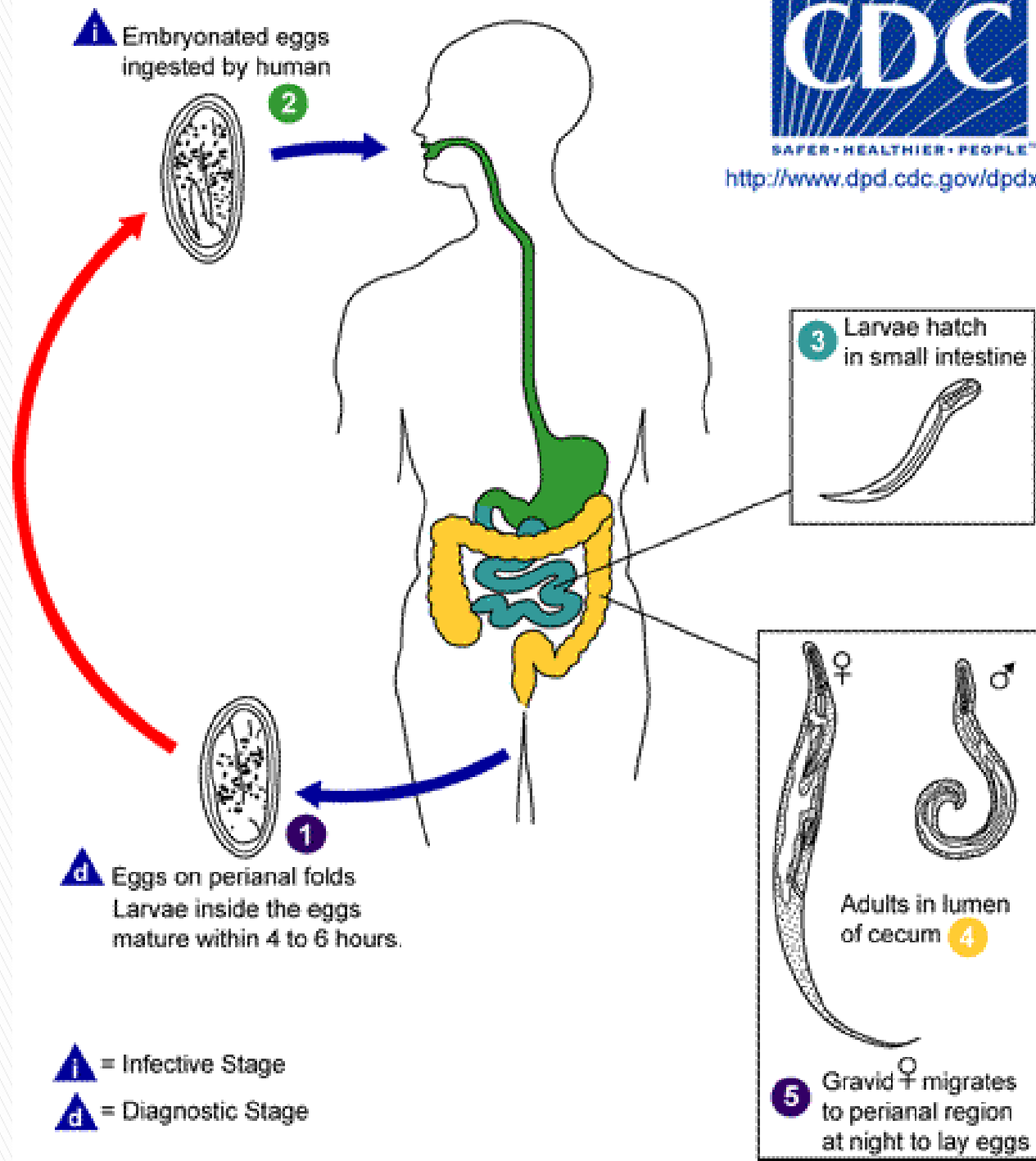
(roup dětský)

- Drobná hlístice
- Zdržuje se ve střevě, člověk se nakazí spolknutím infekčních vajíček
- Sameček je o něco menší než samička
- Vajíčka klade v perianálních řasách
- Vyskytuje se zejména v dětských kolektivech
- U malých dětí často dochází k autoinfekci
- Příznaky: zažívací potíže, bolesti v břiše, svědění v oblasti análního otvoru, neklid

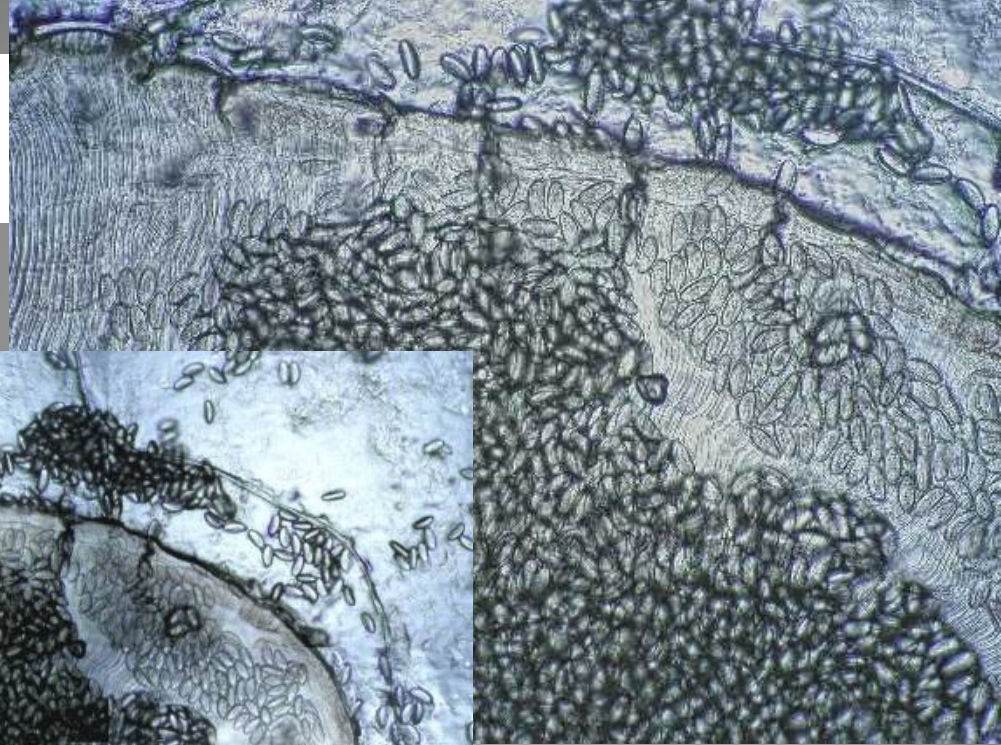
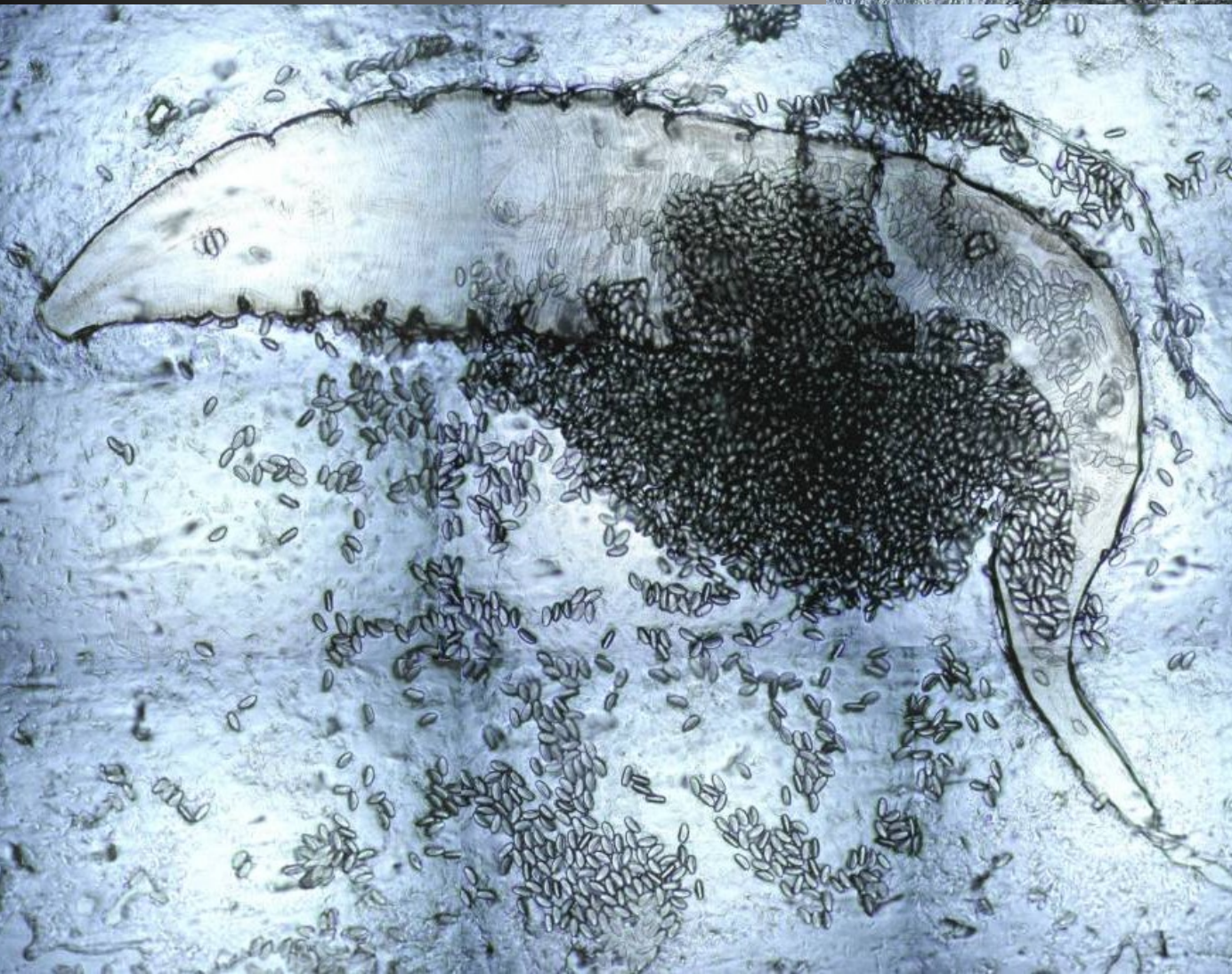


SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

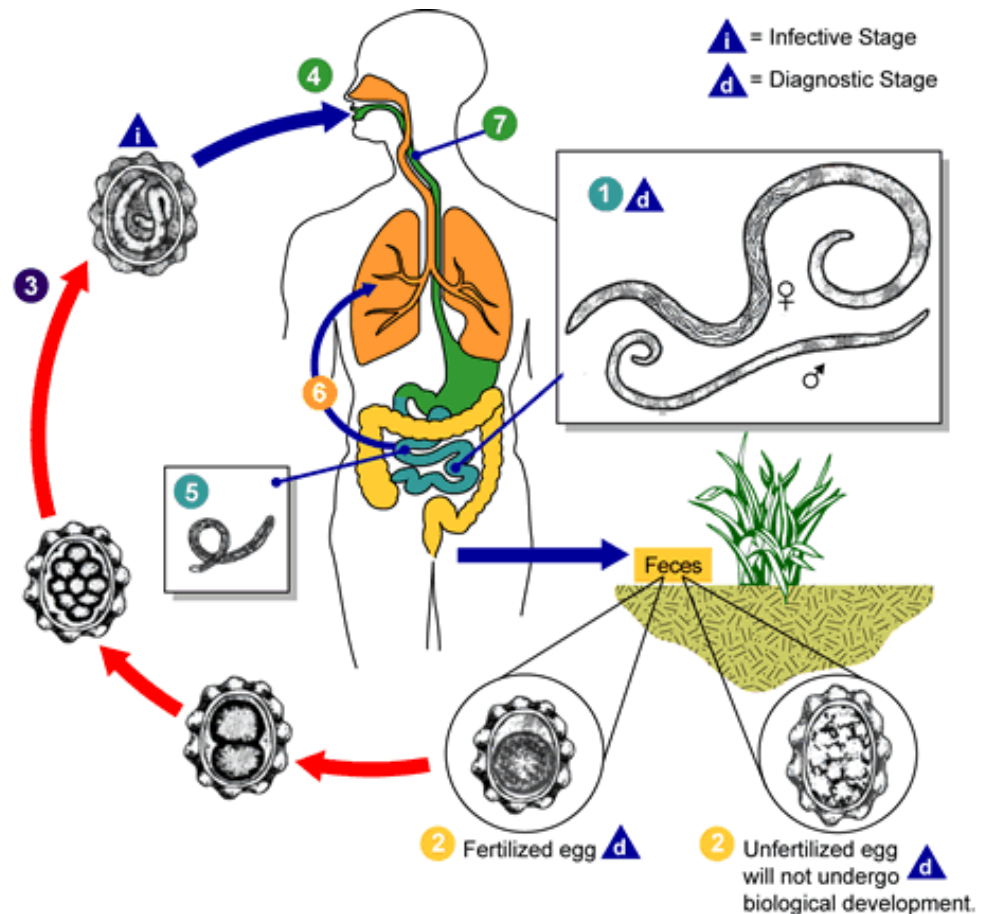


Roup s vajíčky



Ascaris lumbricoides (škrkavka dětská)

- ▶ Hlístice, dospělci žijí v tenkém střevě člověka



Vajíčko škrkavky

Obrázky převzaty z CD-ROM
„Parasite-Tutor“ – Department of
Laboratory Medicine, University of
Washington, Seattle, WA (vlevo) a
www.medmicro.info (vpravo)



Fertile egg (wet mount 400X)

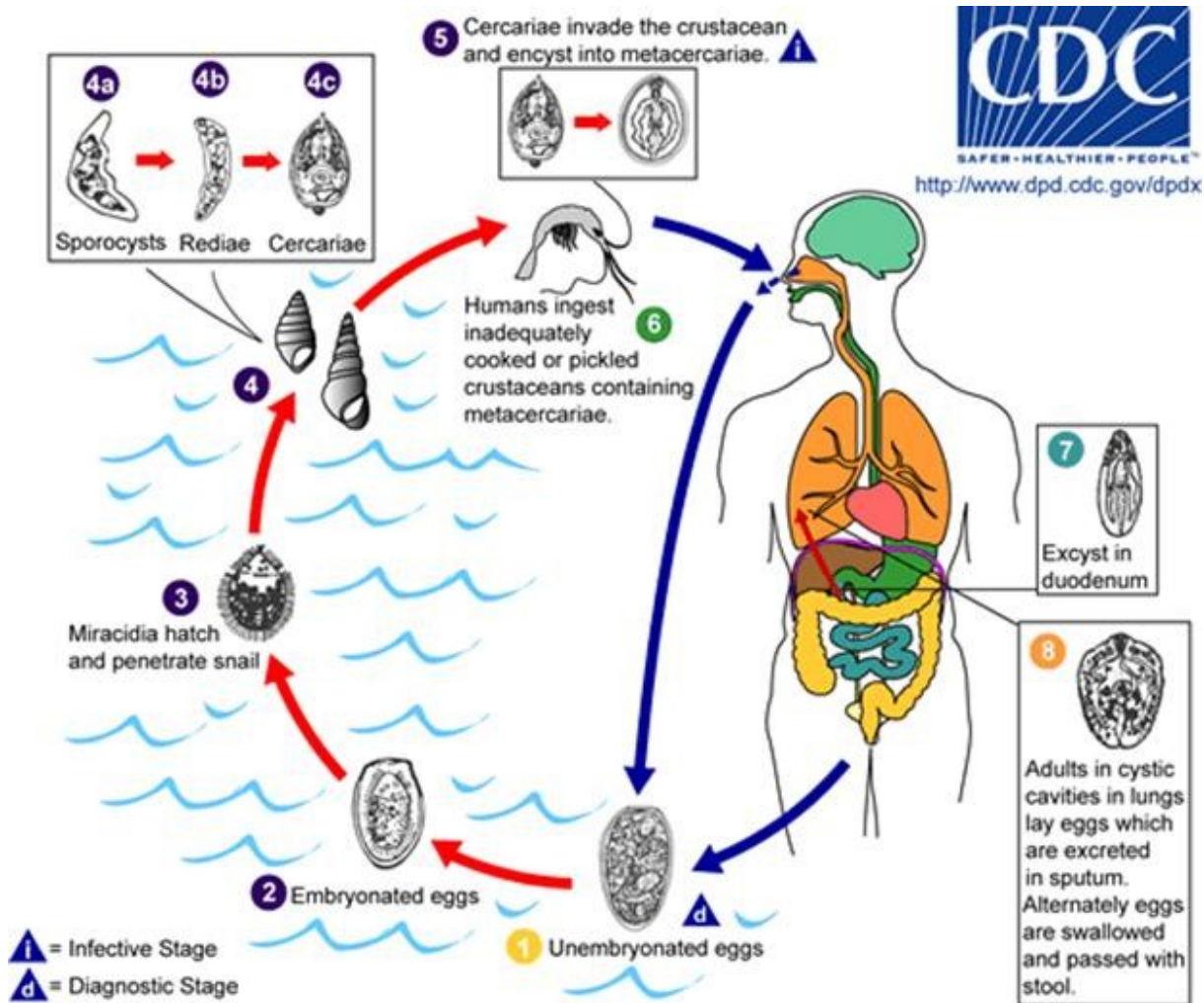


Trematoda (motolice)

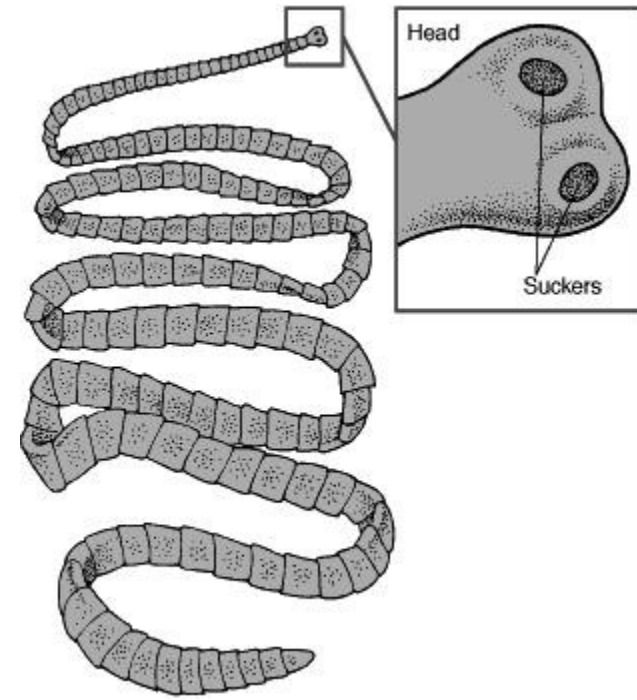
- ▶ Mohou žít v plicích, ledvinách, játrech, v močových cestách
- ▶ Dorzoventrálně zploštělé tělo, oválné, listovité či kopinaté
- ▶ Prochází několika larválními stádií, složitý ŽC



Fasciolopsis buski (motolice střevní)



Cestoda (tasemnice)

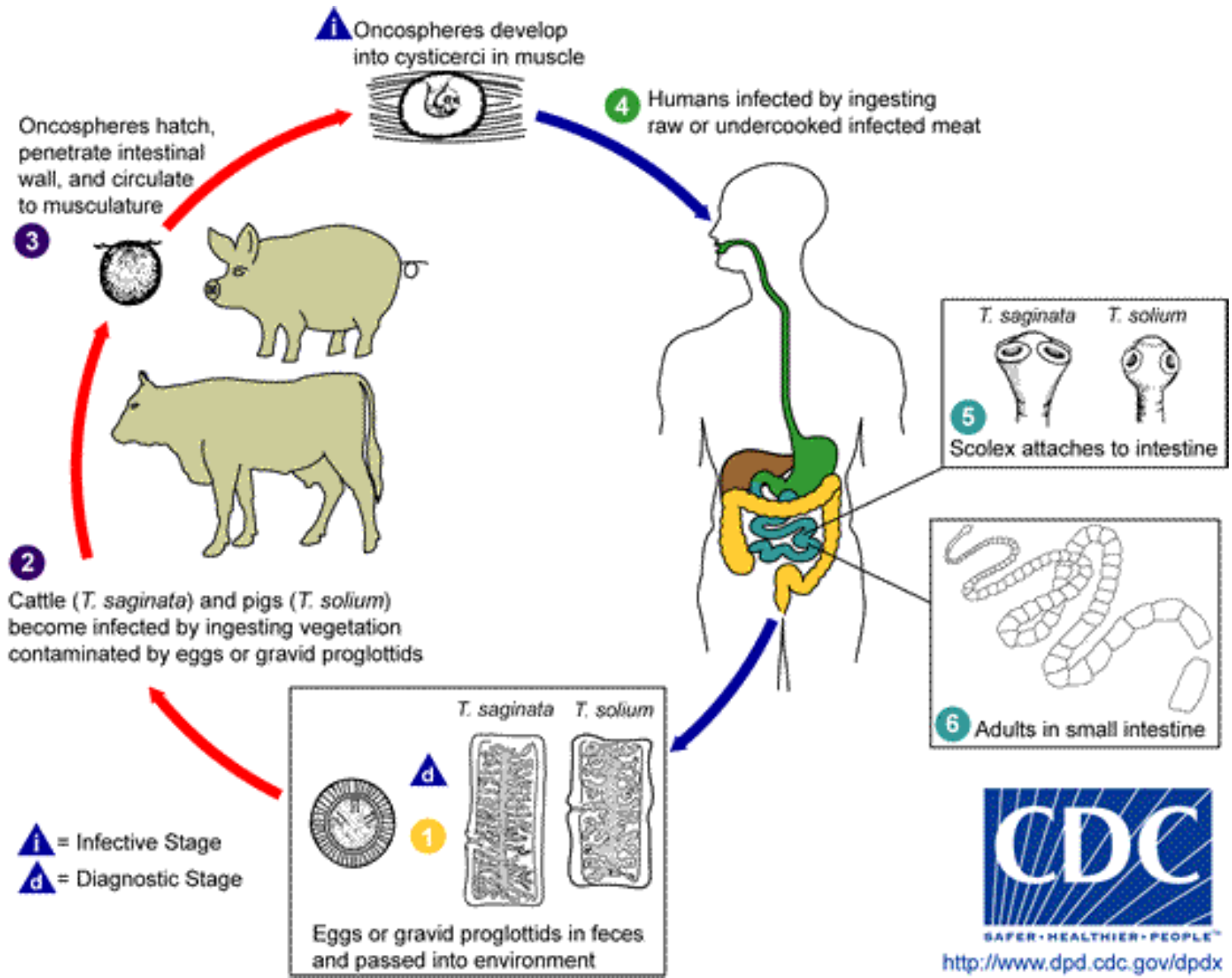


- ▶ Zploštělé tělo s hlavičkou (scolex) a s články (proglotidy), které se směrem dozadu prodlužují a rozšiřují
- ▶ Proglotidy se zralými vajíčky se oddělují a odcházejí ven z těla hostitele
- ▶ ŽC přes 1-2 meziphostitele a definitivního hostitele

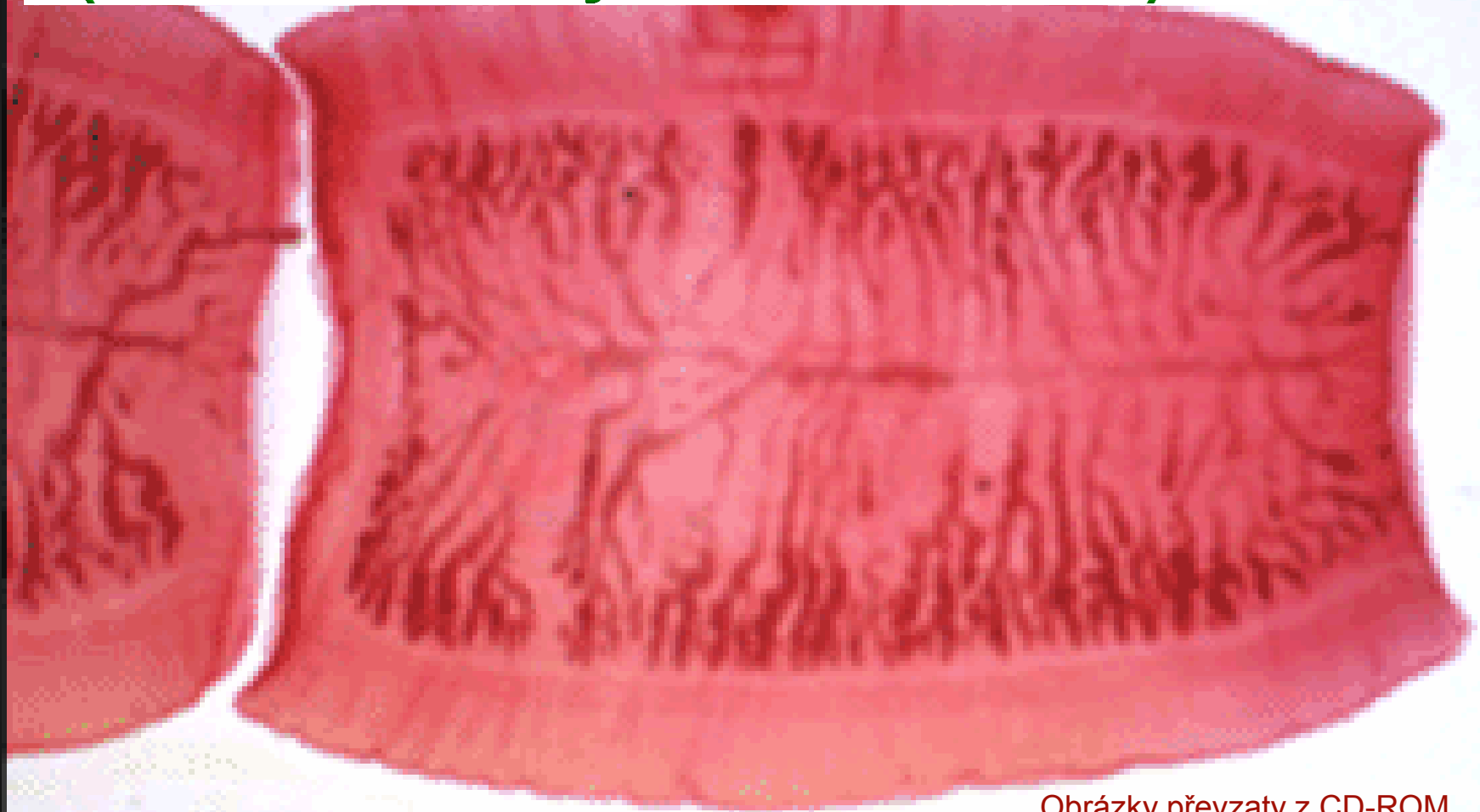
Střevní cestodózy

- *Taenia saginata* (tasemnice bezbranná)
- *Taenia solium* (tasemnice dlouhočlenná)

- Mezihostitelé: hovězí dobytek a vepři
- Definitivním hostitelem je člověk (nakazí se syrovým infikovaným masem)
- Bolesti břicha, průjmy nebo zácpa, nechutenství, hubnutí, alergická reakce



Článek tasemnice bezbranné (dlouhočlenná by měla méně větví)



Obrázky převzaty z CD-ROM
„Parasite-Tutor“ – Department of
Laboratory Medicine, University of
Washington, Seattle, WA

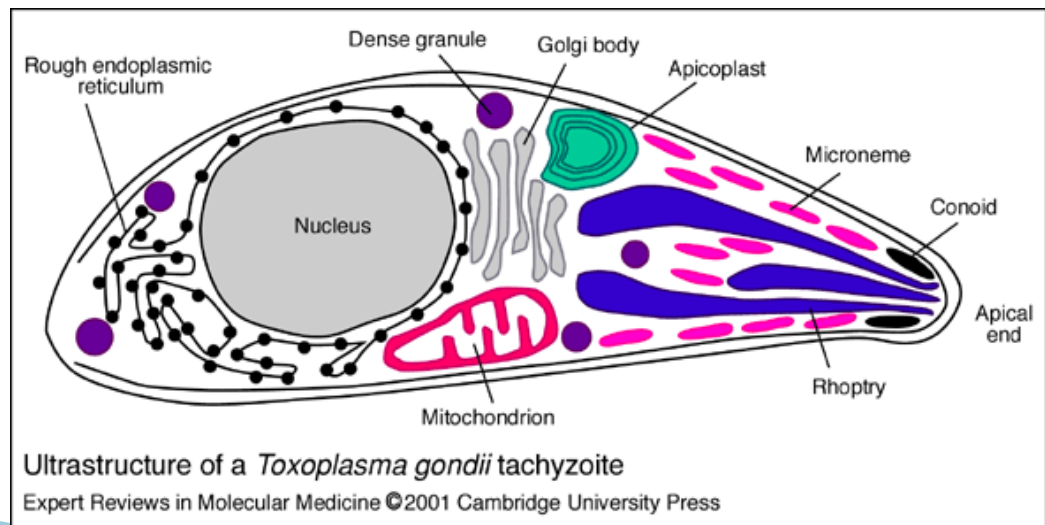
Taenia saginata gravid proglottid (stained)

Tkáňoví parazité

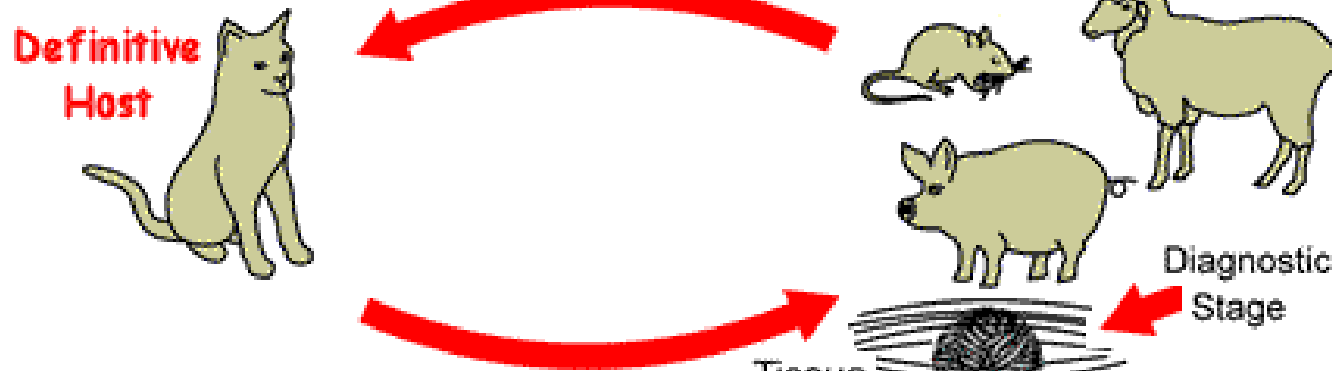
- Někteří parazité mohou žít přímo uvnitř těla
 - Někteří **prvoci**, jako toxoplasma, tvoří parazitární cysty
 - Některé **hlístice** mohou být přítomny ve tkáních, např. *Toxocara canis* či *T. cati*
 - Některé **tasemnice** (např. tasemnice dlouhočlenná) mohou ve tkáni tvořit boubele
- Symptomatologie je různorodá
- U toxoplasmózy cysty jsou klinicky téměř němé. Cysticerky tasemnic mohou být nebezpečné např. tlakem na důležité orgány.
- Diagnostika je obtížná, není co odebrat na přímý průkaz

Toxoplasma gondii

- Původce toxoplazmózy
- 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 imunokompetentních osob je bez příznaků
- Nebezpečí pro těhotné ženy

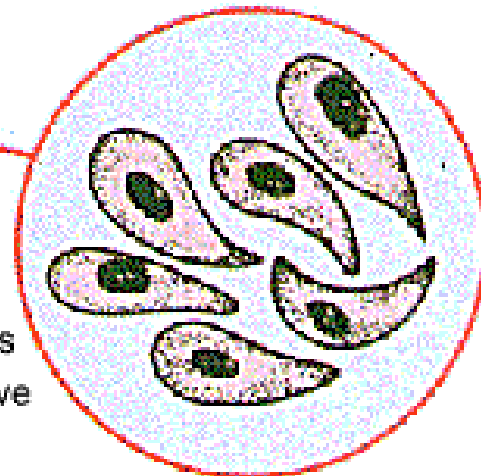
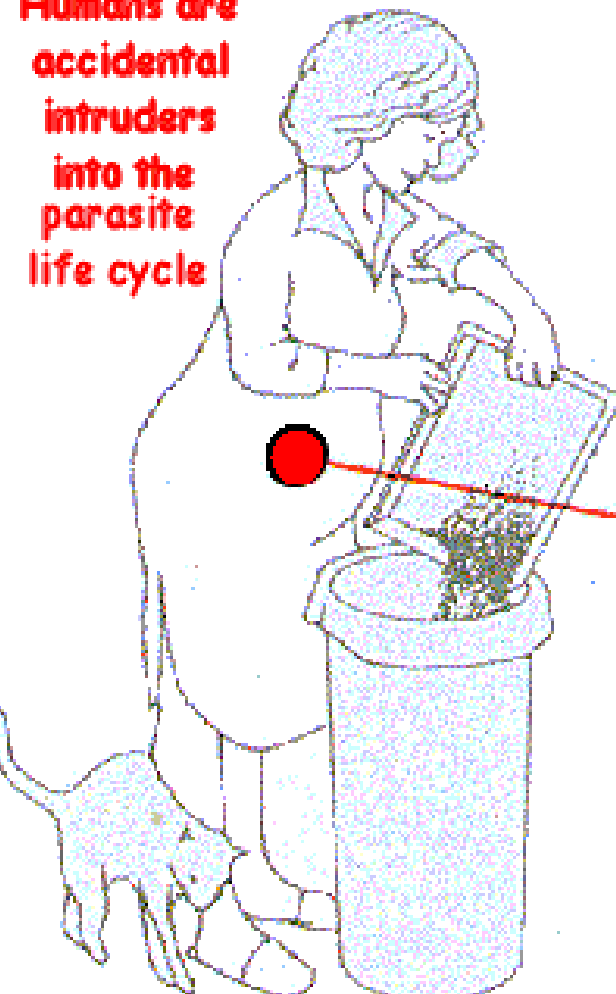


Životní cyklus toxoplasem




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

- Přenos na člověka:
 - Expozice oocystám
 - Transplacentárně
 - Požitím syrového či nedostatečně tepelně upraveného masa
 - Laboratorní infekce

 - 90 % asymptomatický průběh, 10% krční či šíjová lymfadenopatie, někdy celkové příznaky
 - Oční forma či další orgánové postižení (polyomyelitida, myokarditida, meningitida, hepatitida)
 - Kongenitální infekce- potrat či těžké vývojové vady
- 

Trichinella spiralis (svalovec stočený)

- ▶ Drobné hlístice, dospělci cizopasí v tenkém střevě obratlovců i člověka
- ▶ Hlavními hostiteli jsou šelmy, domácí a divoká prasata
- ▶ Samičky ve střevě rodí živé larvy, které putují do kosterního svalstva a vytváří zde cysty
- ▶ Další hostitel se nakazí pozřením masa s encystovanými larvami

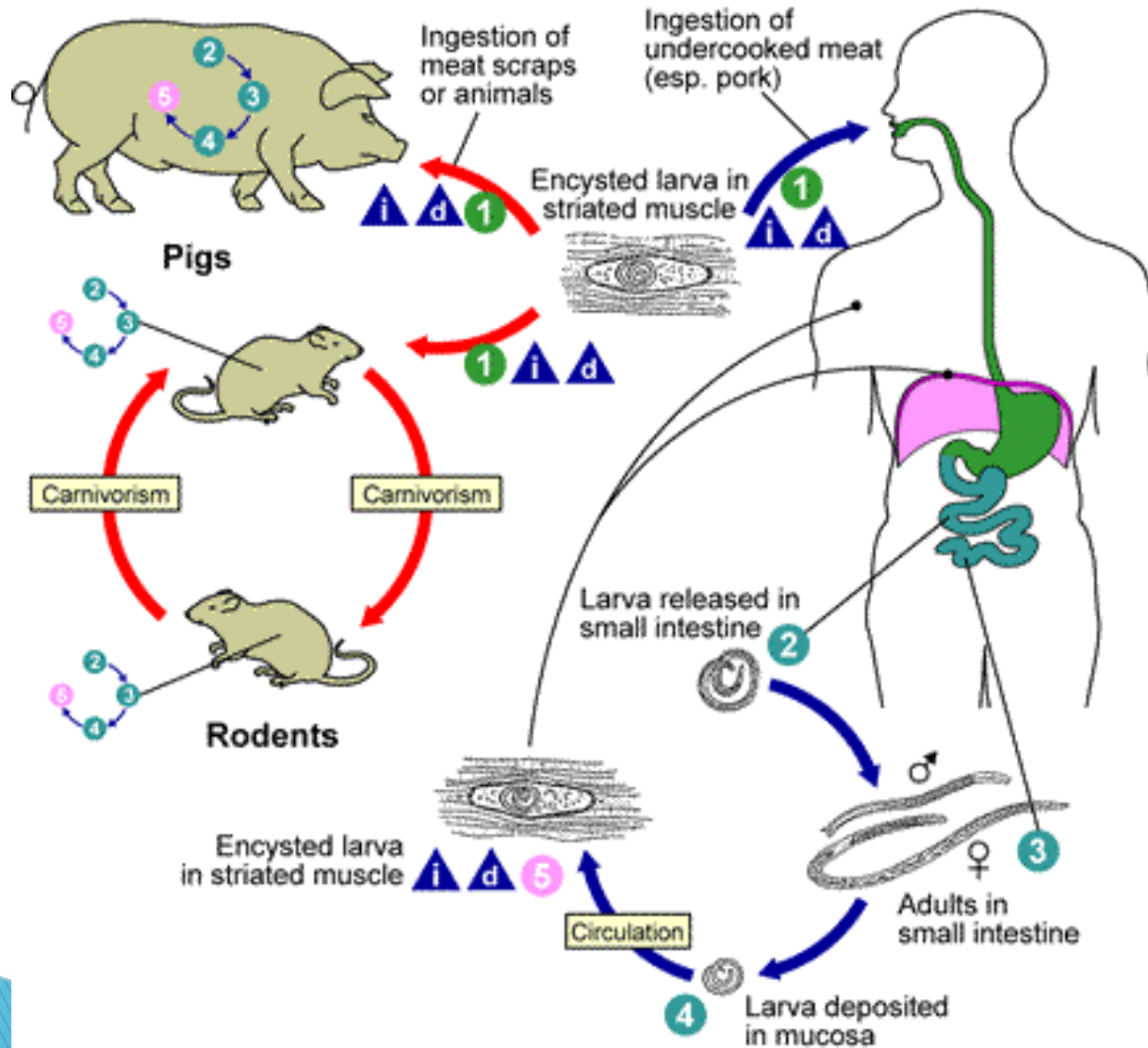


i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage



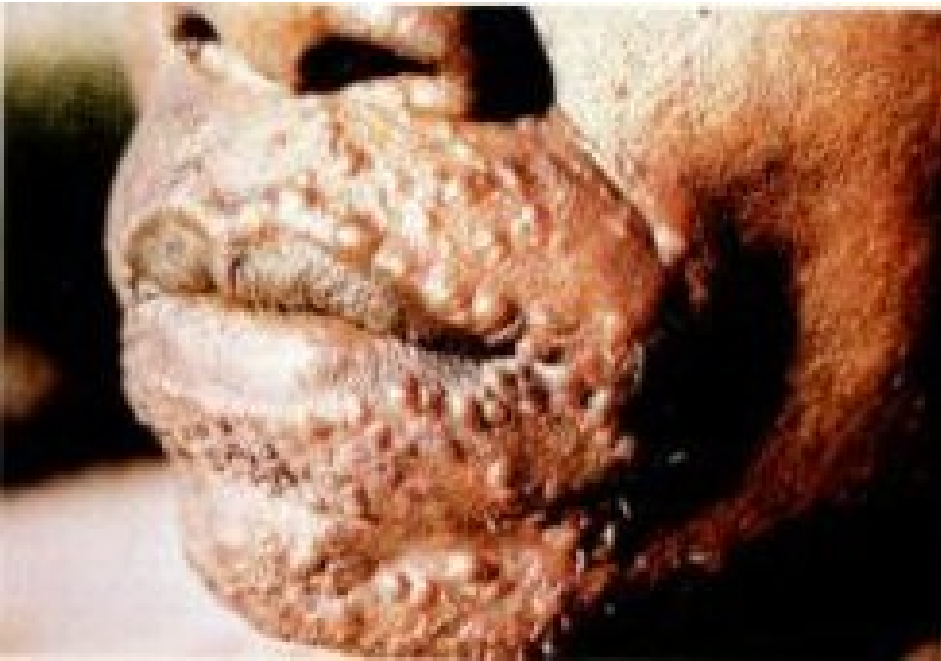
SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



Tkáňové parazitózy subtropů a tropů

- Mezi další významné parazitózy patří leishmaniózy způsobené bičíkovci rodu *Leishmania*
- Vyskytují se v celém tropickém a subtropickém pásmu
- Přenašečem je drobný dvoukřídlý krev sající hmyz (koutule, flebotom) rodu *Phlebotomus*
- Existuje jich asi dvacet významných druhů, které se dělí jednak na leishmanie „Starého“ a „Nového“ světa, jednak na kožní, kožně-slizniční a viscerální
- Mohou způsobovat od znetvoření kůže až po postižení jater a sleziny, často smrtelné



<http://web.indstate.edu/thcme/micro/parasitology>

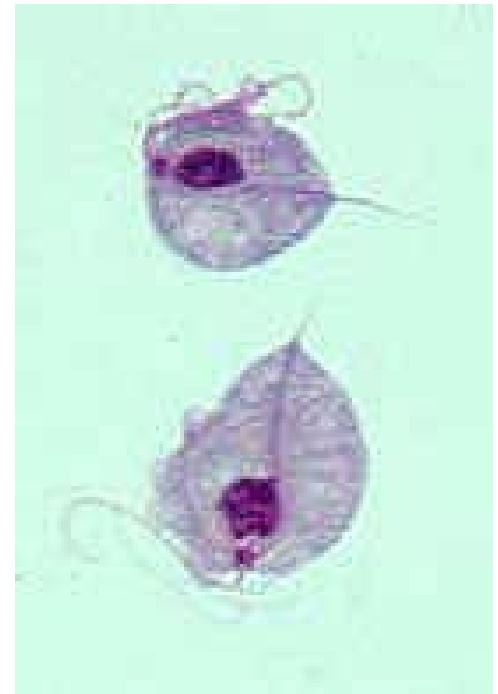


Urogenitální parazité

- Mezi **sexuálně přenosnými** parazitárními onemocněními je jediná opravdu významná trichomonóza
 - Diagnostika je zpravidla provedena zároveň s bakteriologickou, protože ze začátku nemusí být původ jasný
- V **močových cestách** jsou nejdůležitějšími parazity některé motolice (schistosomy), tedy Trematoda
 - Diagnostika je částečně mikrobiologická, částečně histologická

Trichomonas vaginalis (bičenka poševní)

- Bičíkovec, který se přenáší téměř výhradně sexuálně, i když výjimečně je možný i jiný způsob přenosu
- Může dojít k poškození děložního čípku či sterilitě
- U muže je onemocnění zpravidla bezpříznakové
- Vzhledem k tomu, že lék volby u anaerobních infekcí (metronidazol) zabírá i na trichomonády, počet trichomonóz v poslední době klesá



Schistosomy

Schistosoma haematobium (krevnička močová)

- ▶ Kromě toho ještě krevnička střevní a krevnička jaterní způsobující krvavé průjmy a jaterní schistosomózy

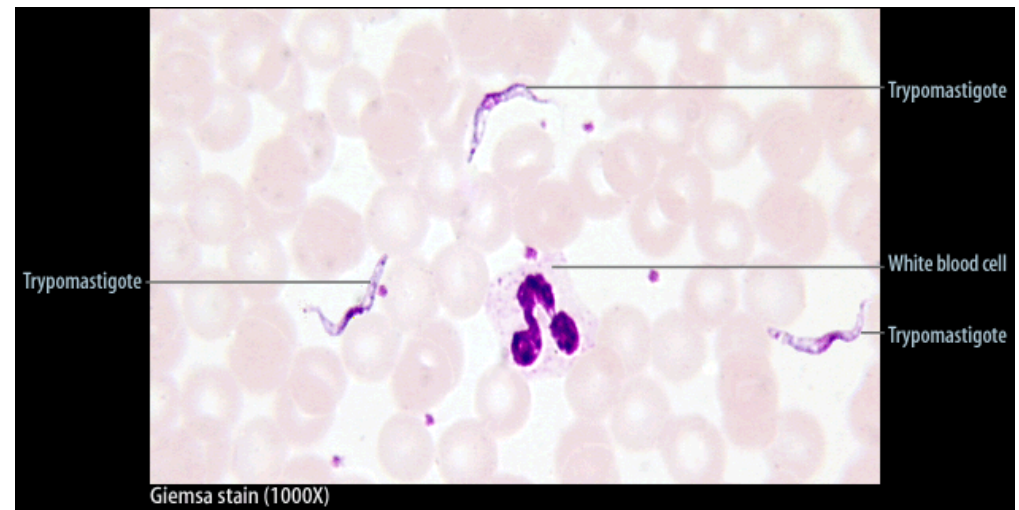


Krevní parazité

- Mezi krevními parazity jsou samozřejmě nejdůležitější malarická **plasmodia**
- **Bičíkovec** *Trypanosoma brucei* žije v krevním řečišti a způsobuje spavou nemoc. Tamtéž přebývá i *Trypanosoma cruzi*, způsobující Chagasovu nemoc
- **Symptomatologie:** u všech se objevuje horečka, ostatní příznaky záleží na původci

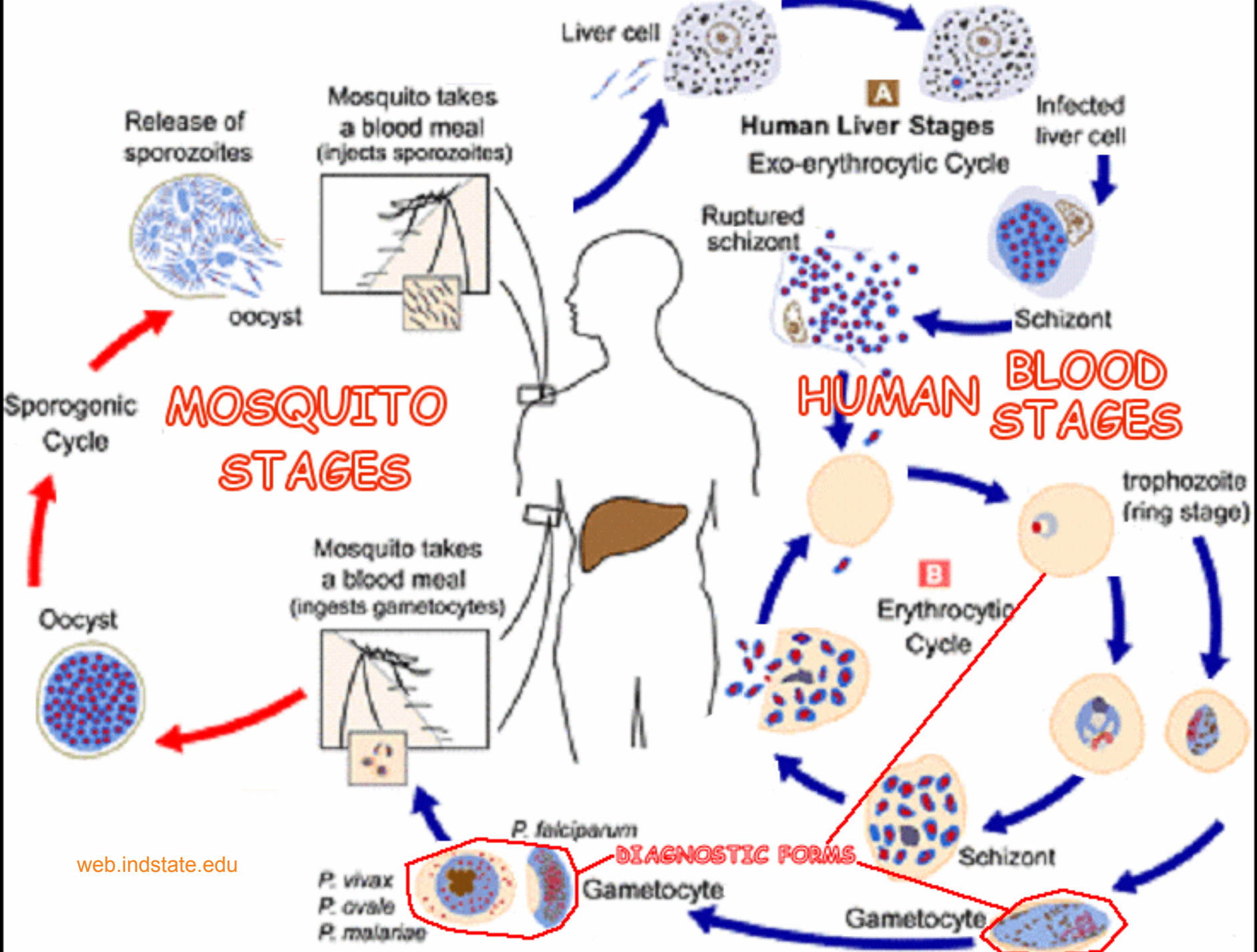
Trypanosoma

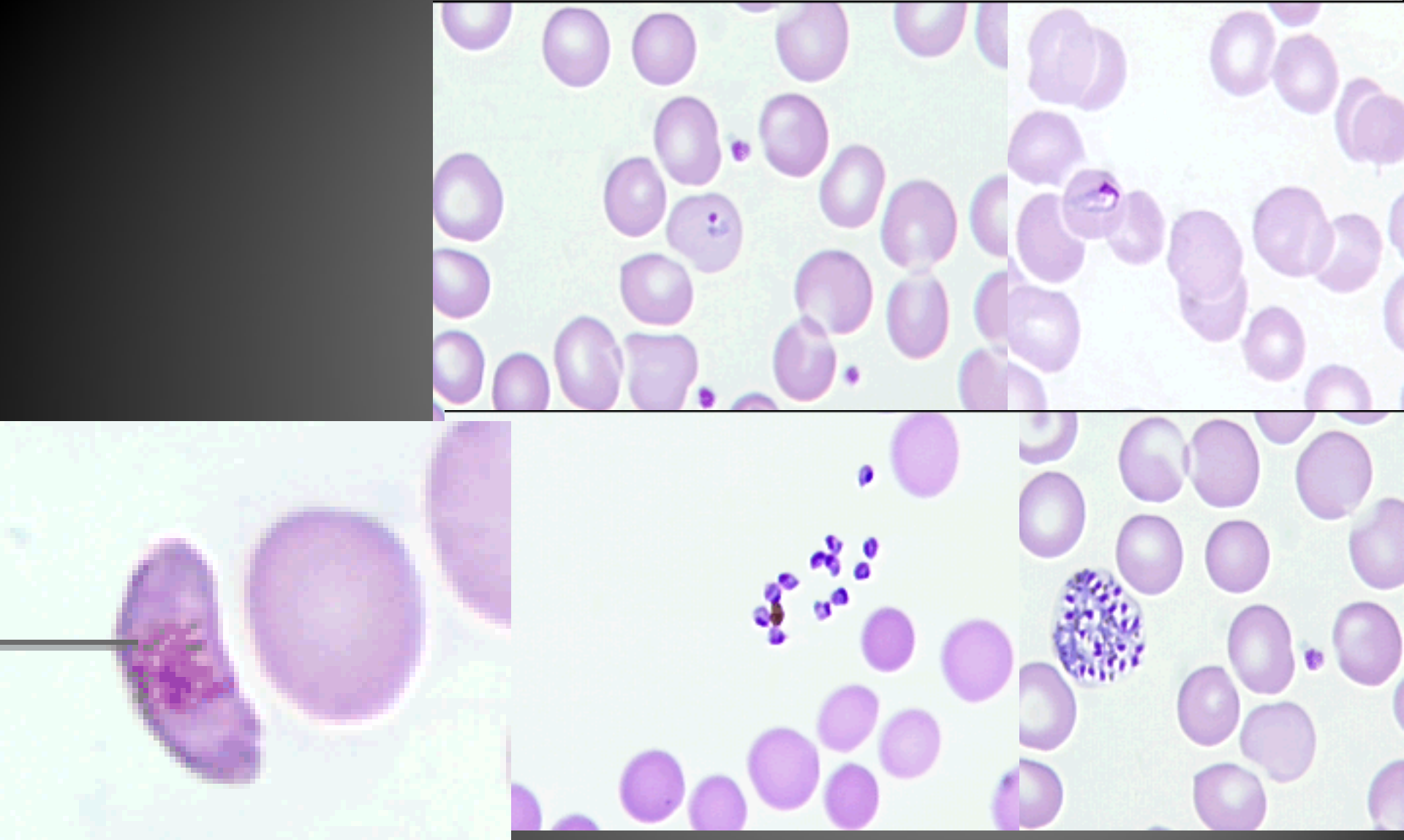
- ▶ *Trypanosoma brucei* – spavá nemoc, přenašečem moucha tse-tse
- ▶ *Trypanosoma cruzi* – Chagasova nemoc, přenašeči ploštěnci



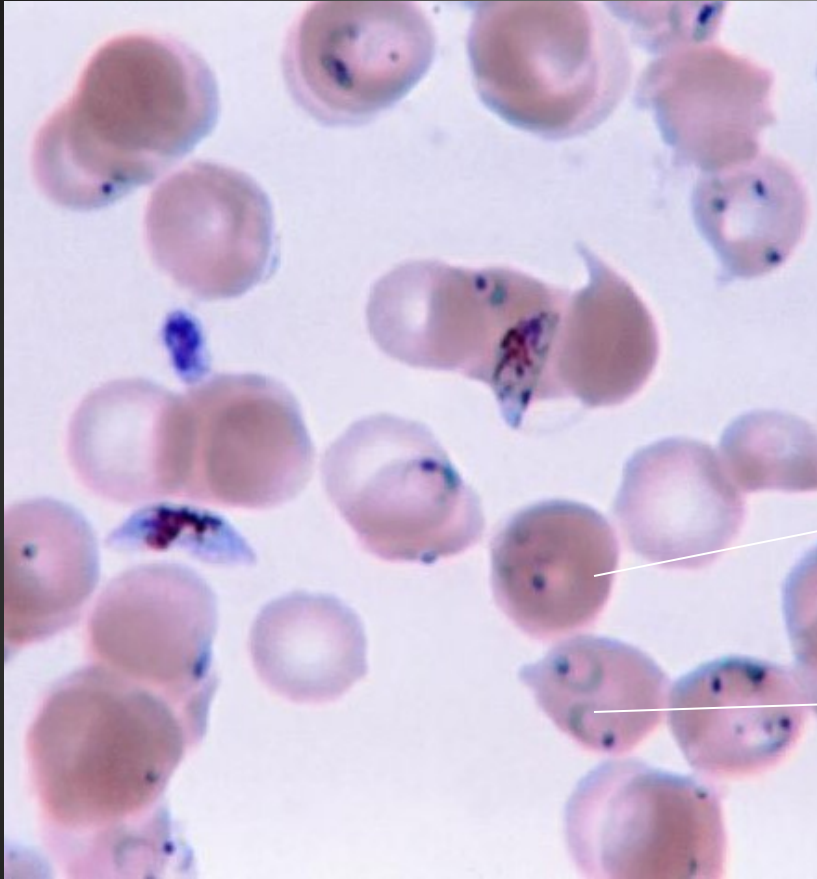
Plasmodium vivax

- Je jeden ze čtyř druhů malarických plasmodií
- **Malárie** je celosvětově jednou z těch úplně nejzávažnějších chorob
- Přenašečem je komár rodu *Anopheles*
- 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





Různá vývojová stádia plasmodií



erythrocyt

trofozoiti

Anopheles sp., přenašeč malárie



Anopheles mosquito (female)

Obrázek převzat z CD-ROM „Parasite-Tutor“ – Department of Laboratory Medicine, University of Washington, Seattle, WA

Filárie

Obrázky převzaty z CD-ROM „Parasite-Tutor“ –
Department of Laboratory Medicine, University of
Washington, Seattle, WA

A – *Wuchereria bancrofti*

B – *Brugia malayi*

C – *Loa loa*

D – *Mansonella perstans*

E – *Mansonella ozzardi*



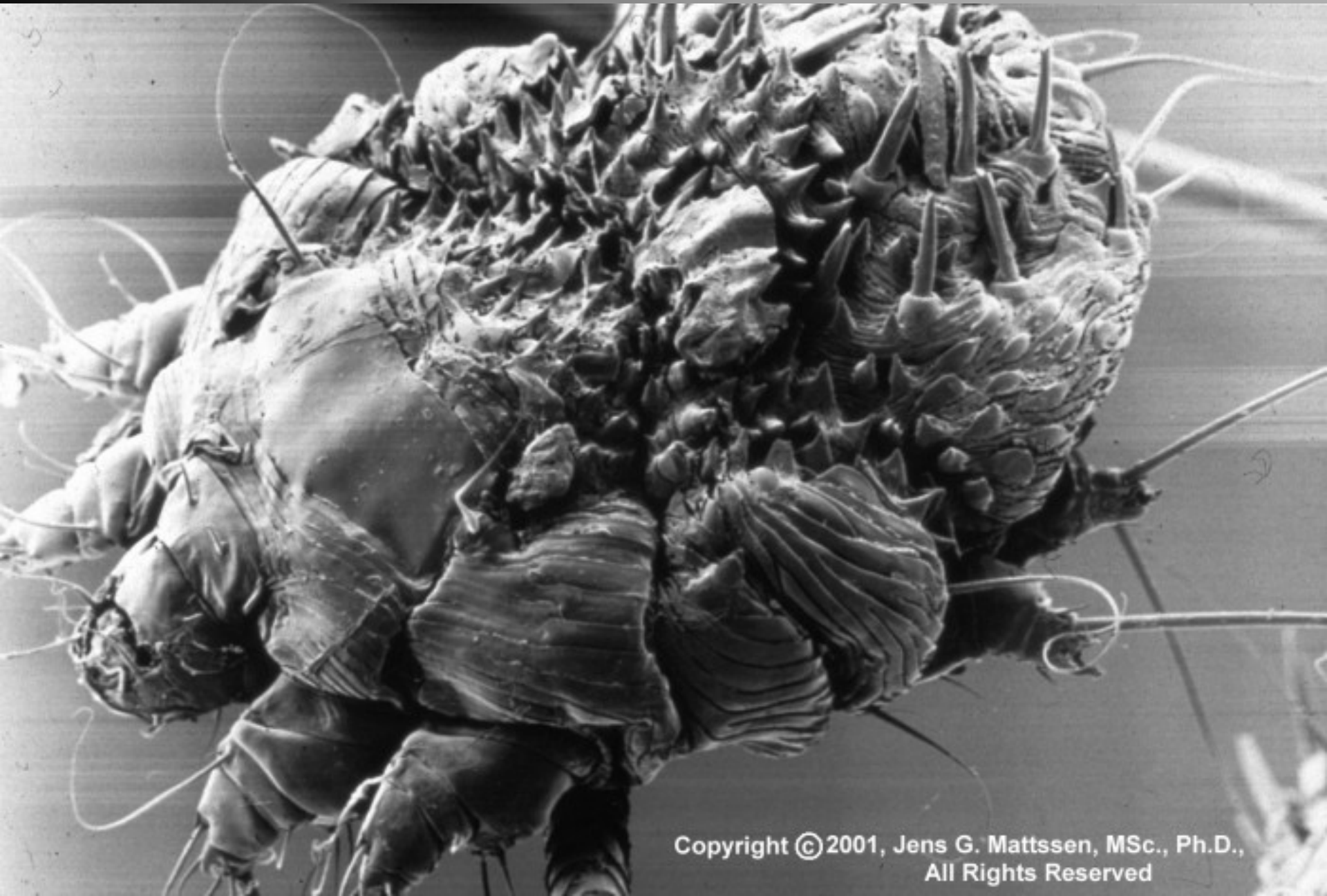
Loa loa



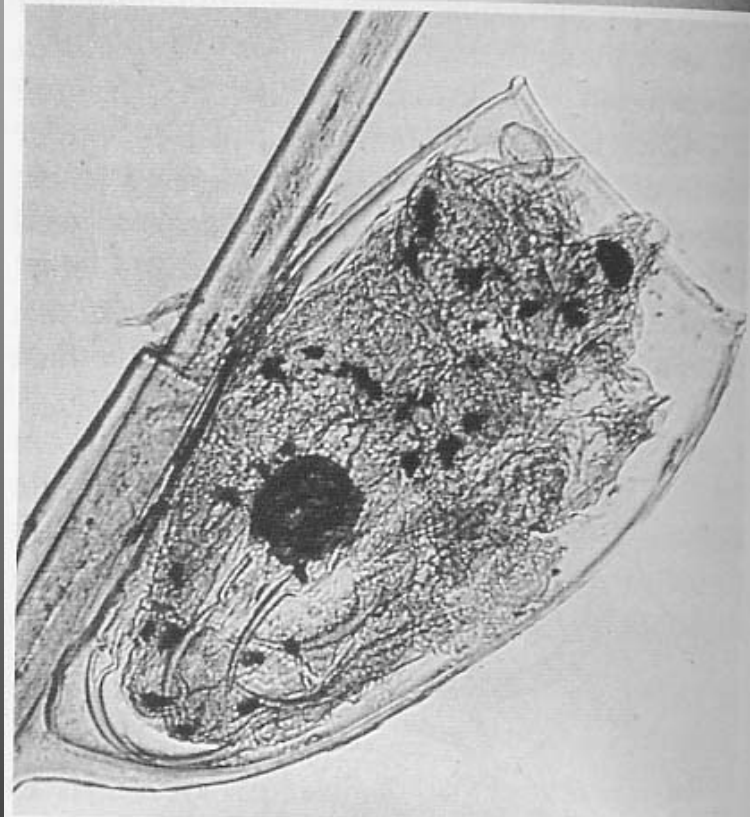
Wuchereria bancrofti



Zákožka svrabová



Veš hlavová s hnidou



Odběr materiálu

- Na střevní parazitózy se posílá kusová stolice (viz dále)
- Na trichomonózu se posílá buďto sklíčko na barvení Giemsou (samotné nebo společně se sklíčkem na barvení Gramem), nebo výtěr v soupravě C. A. T. swab
- Na průkaz akantaméb se zasílají použité kontaktní čočky ve své tekutině, případně lze provést seškrab rohovky
- U tkáňových parazitóz se posílá sérum
- U ostatních podle situace (moč, obsah cysty...)

Odběru stolice při vyšetření na střevní parazity

- Posílá-li se stolice na parazitologické vyšetření (obvykle kombinace 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

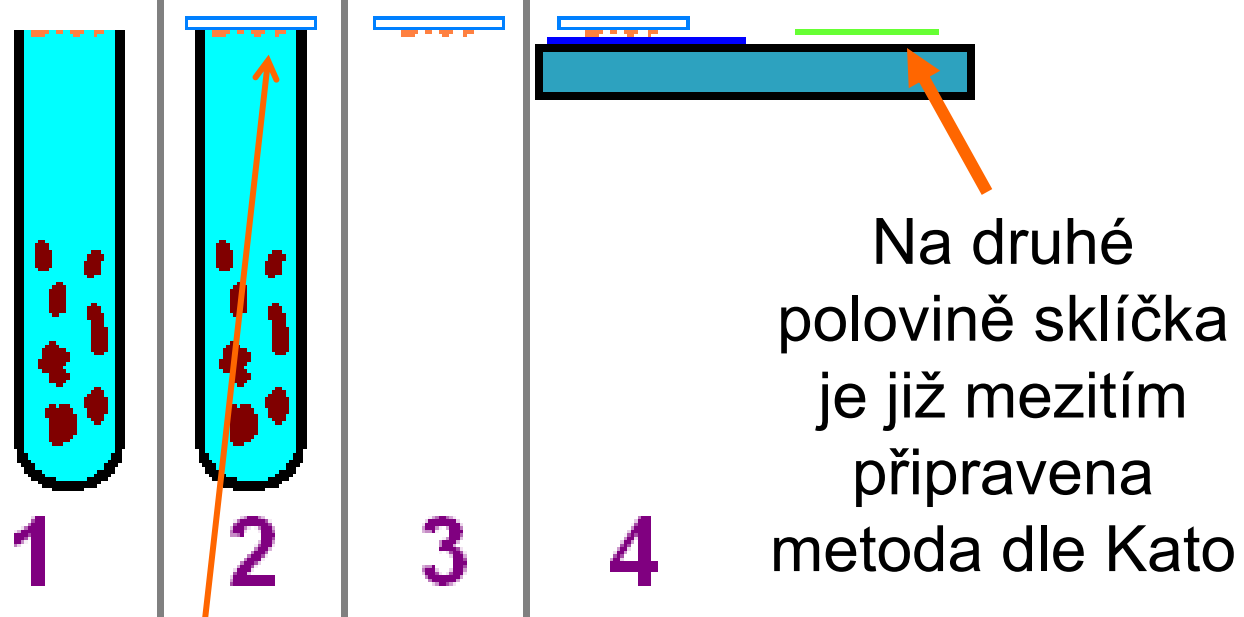
Paraziti: diagnostické metody obecně

- Důležitá je mikroskopie, buď nativní preparát nebo barvení (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

- Jako základ se používají metody, které představují v podstatě 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)

Faustova metoda



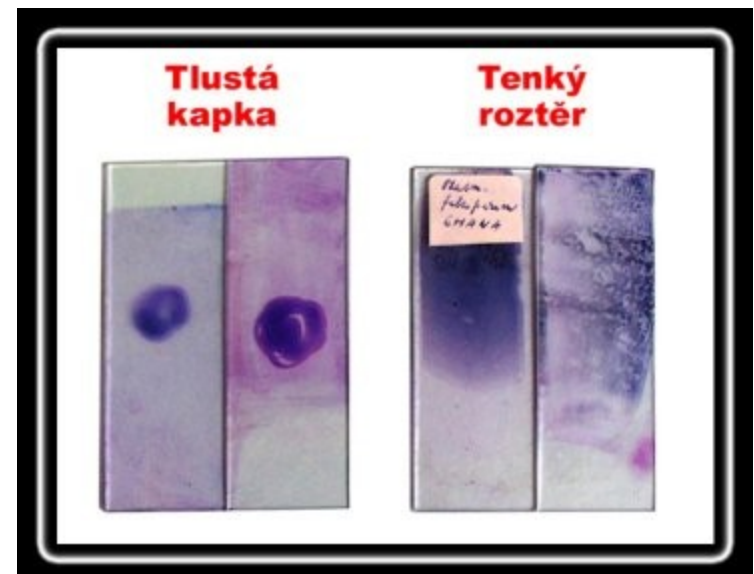
- Princip: Stolice se opakovaně smíchá s roztokem síranu zinečnatého, centrifuguje a supernatant použije do dalšího kroku. Nakonec se roztok doplní až po vršek zkumavky a překryje krycím sklíčkem. Paraziti ulpívají na krycím sklíčku zespodu (viz obrázek). Sklíčko se přenese na podložní sklo, kde je již Kato.

Grahamova metoda v diagnostice roupu

- 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
- Je jednodušší než vyšetření stolice. Používá se však častěji u dětí

Diagnostika krevních parazitů: Tlustá a tenká kapka

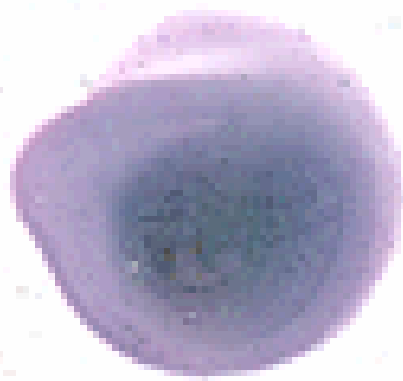
- V diagnostice krevních parazitů je důležité provedení nátěru metodami tzv. tenkého nátěru a tlusté kapky
- Pro obě metody se používá čerstvá, nesrážlivá krev. Tenký roztěr se fixuje, tlustá kapka ne. Oboje se pak barví Giemsovým barvením





SPECIMEN

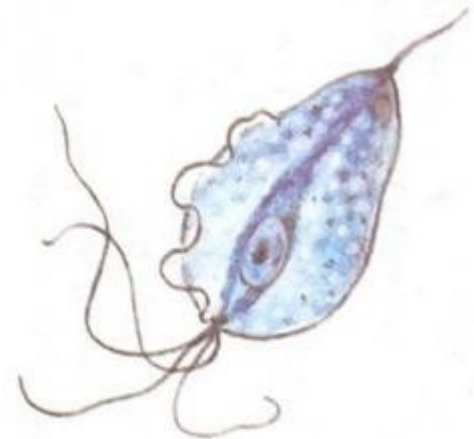
Tenký nátěr
Tlustá kapka



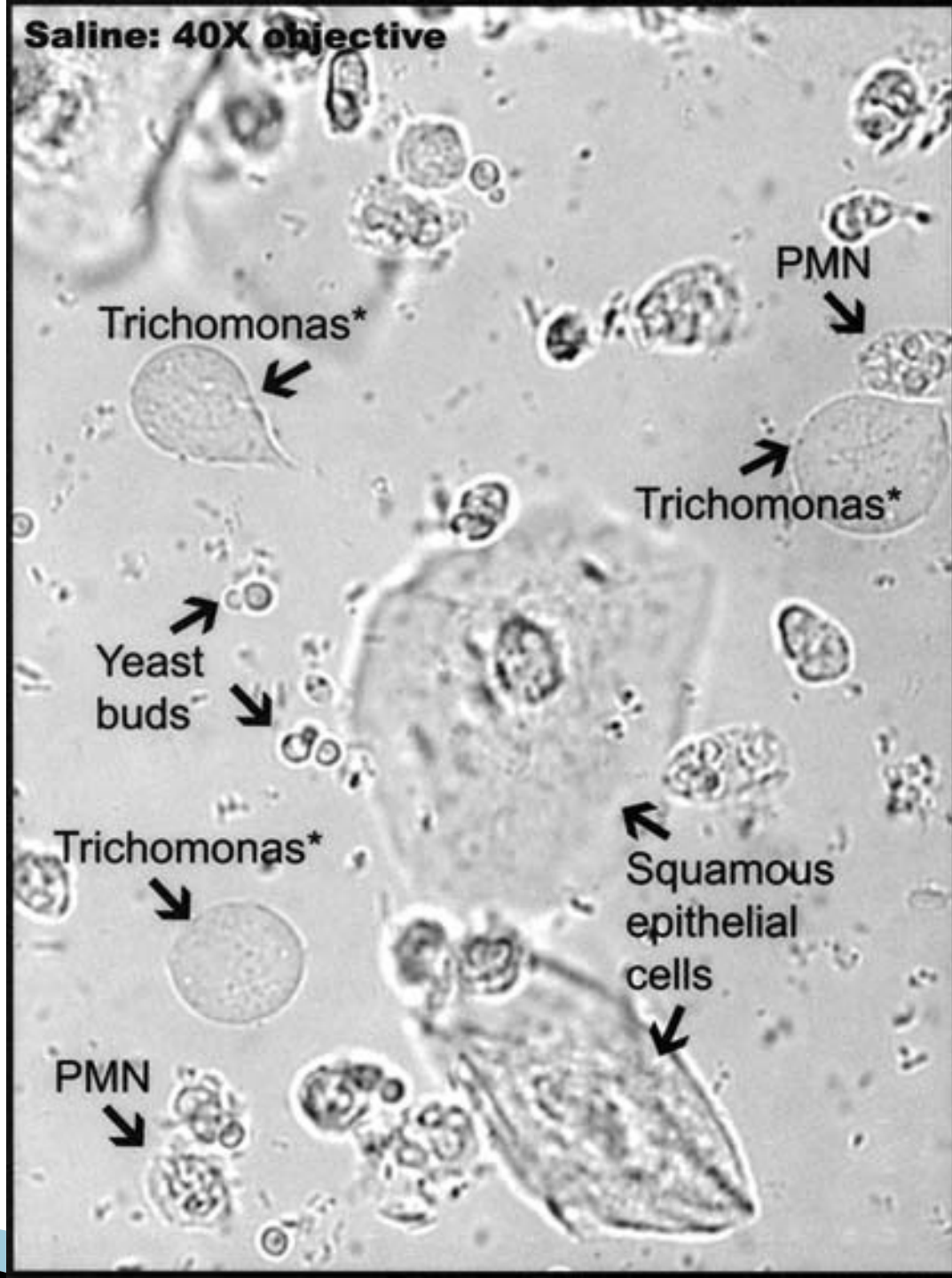
SPECIMEN

Diagnostika trichomonád

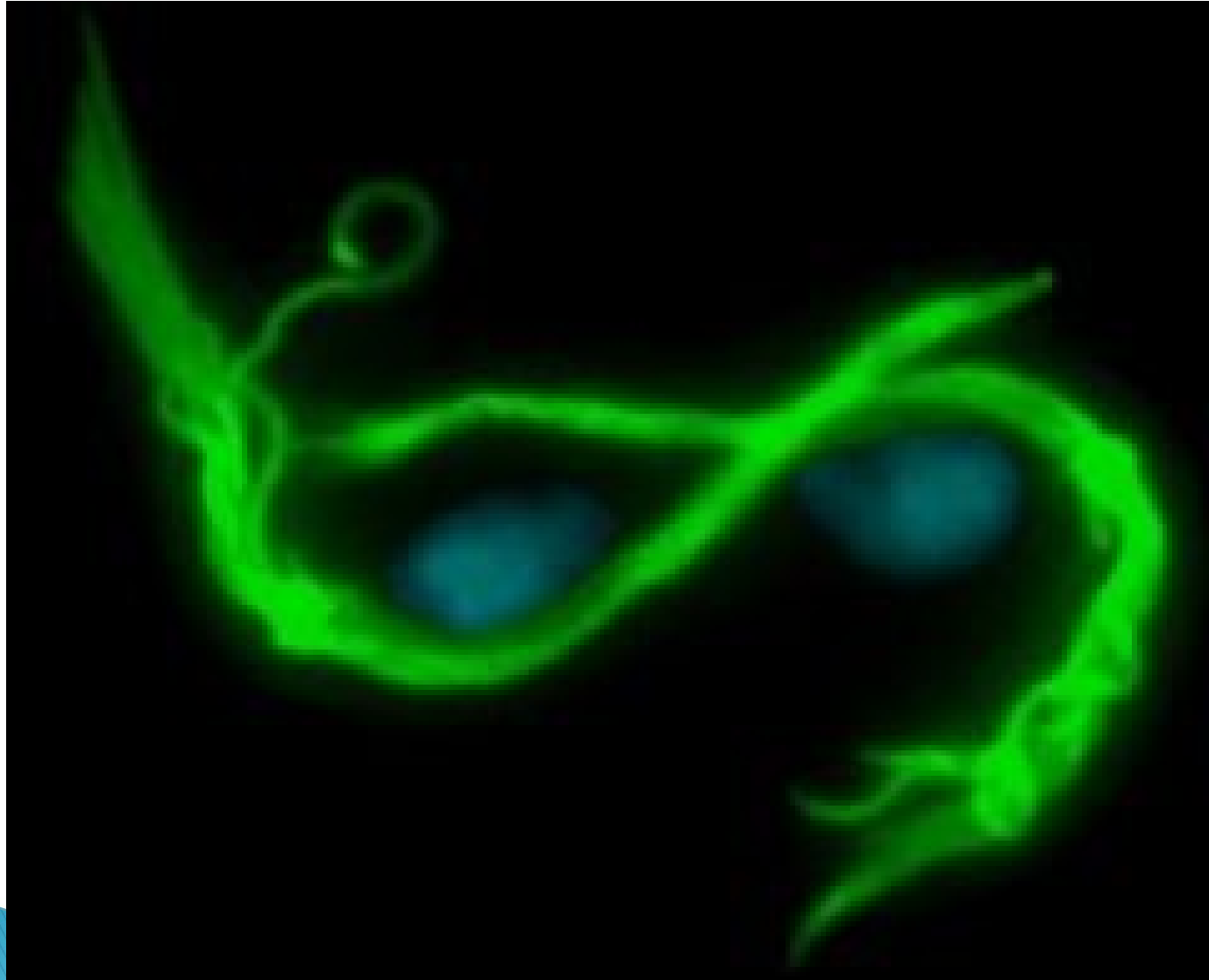
- Trichomonády se v poslední době diagnostikují zejména kultivačně-mikroskopickým vyšetřením:
 - odebere se výtěr na tamponu zanořeném do média C. A. T.
 - médium se nechá kultivovat do druhého dne
 - kapka média se mikroskopuje jako nativní preparát
- Tyto preparáty však nelze uchovat
- Proto v praxi máme druhý možný způsob – nátěr na sklíčku barvený dle Giemsy



Trichomonas vaginalis



Trichomonas – fluorescence



Dnešní mikroskopické úkoly

- Úkol 2a, b, c (Faust, Kato, Graham): bez imerze, objektivy 4 , 10 , 40
- Úkol 4 (*Trichomonas vaginalis*, Giemsovo barvení): imerzní olej, imerzní objektiv 100
- Úkol 5 (*Plasmodium*, tenký roztěr, Giemsa): imerzní olej, imerzní objektiv 100

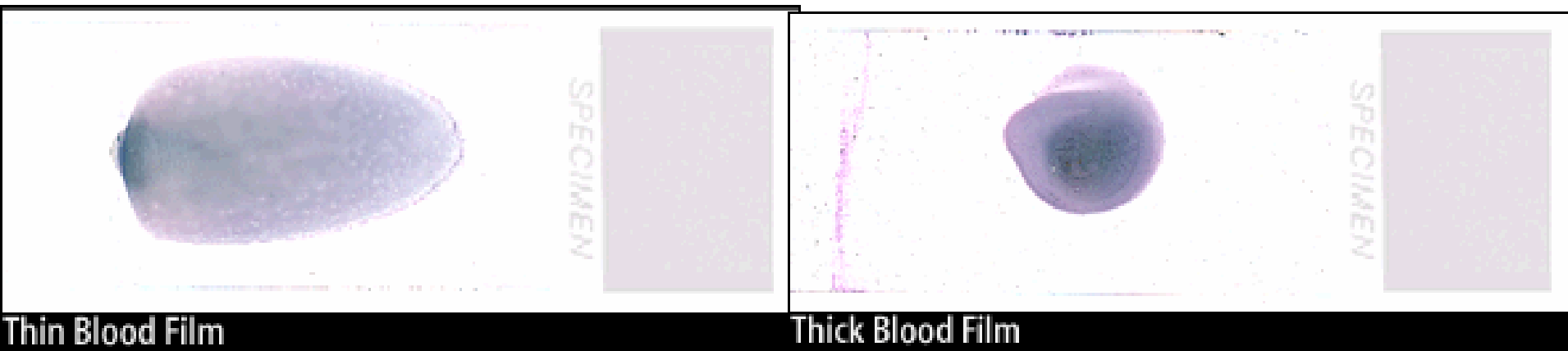
Úkol 1- Odběry na parazitologii

a) Odběry na střevní parazity

- Na střevní parazity používáme zpravidla nádobku, která nemusí být sterilní, protože bakteriální kontaminace výsledek neovlivní
- Na roupy existuje jiná metoda: Grahamova metoda, kde se nalepí páska na perianální řasy a poté na sklíčko

b) Odběr na krevní parazity

- ▶ Na krevní parazity se doporučuje zasílat tenký roztěr a tlustá kapka
- ▶ Prohlédněte si videoklip a pokuste se popsat přípravu tlusté a tenké kapky.



Thin Blood Film

Thick Blood Film

c) Některé další způsoby odběru

Po čem pátráme	Použitý způsob odběru
toxoplasmóza	sérum (na protilátky)
trichomonóza	C. A. T., nebo nátěr-sklo
močová schistosomóza	histologické vyšetření
giardiáza	12níková šťáva (stolice)
akantamébiáza	použité kontaktní čočky

Úkol 2 - Mikroskopie střevních parazitů

- Na bočním stole máte sklíčka, která obsahují Faustovu metodu a metodu dle Kato.
- Sklíčko k Faustově koncentrační metodě bylo přemístěno pinzetou na jednu polovinu podložního sklíčka (pokud nebylo, opatrně ho tam přemístěte z horní plochy zkumavky)
- *(Na bočním stole máte v každém případě na ukázkou i původní zkumavky s dalšími sklíčky)*
- Na druhé polovině sklíčka je již nachystán preparát dle Kato (to je ten zelený)

- Obě mikroskopujte společně, bez imerze, objektivy 10×, 20×, 40×. To, co uvidíte, je obraz normální stolice – sklíčka jsou negativní
- Prohlédněte si také sklíčko s lepicí páskou – vyšetření roupů Grahamovou metodou
- Tato sklíčka jsou pozitivní, obsahují vajíčka roupů

Úkol 3a – demonstrace lihových preparátů

- Prohlédněte si na bočním stole naše tasemnice, škrkavky a roupy, naložené v lihu
- Nakreslete dva z nich do protokolu

Úkol 3b – demonstrace některých parazitů a jejich životních cyklů

- Prohlédněte si obrázky životních cyklů parazitů na pracovních stolech a doplňte popisky

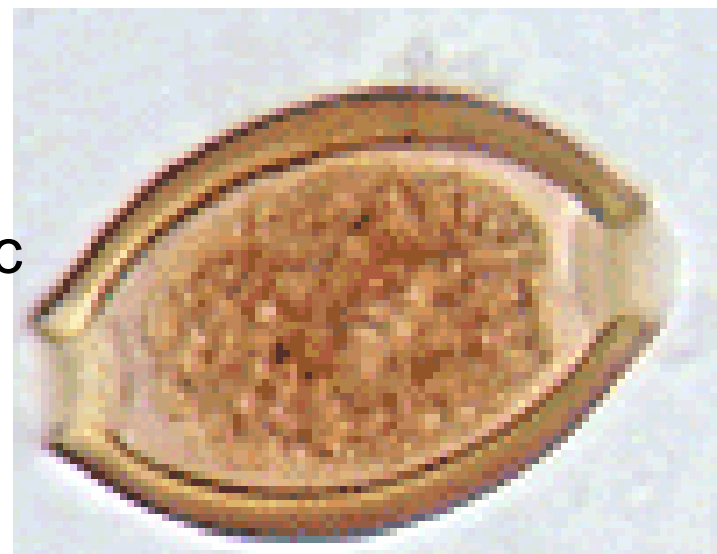
Úkol 3: Morfologie vajíček střevních parazitů

Alespoň tyto tvary byste měli znát ke zkoušce



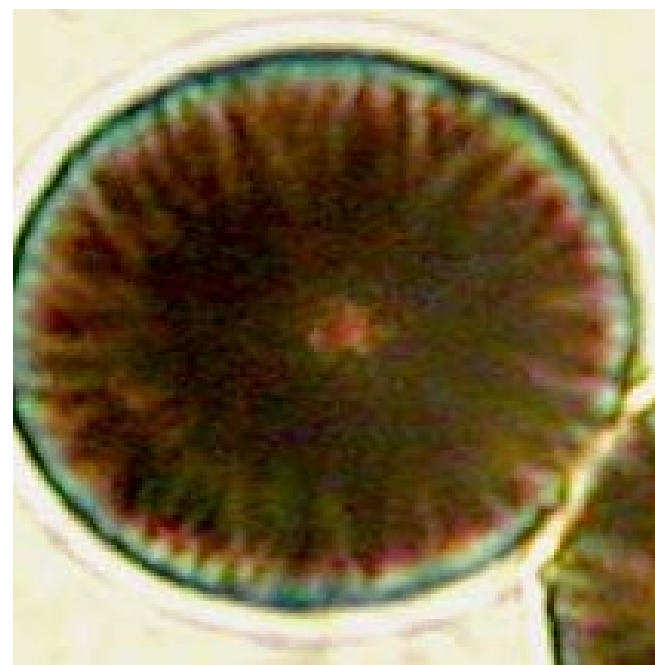
Roup
Enterobius

Tenkohlavec
Trichuris




Škrkavka
Ascaris

Tasemnice
Taenia



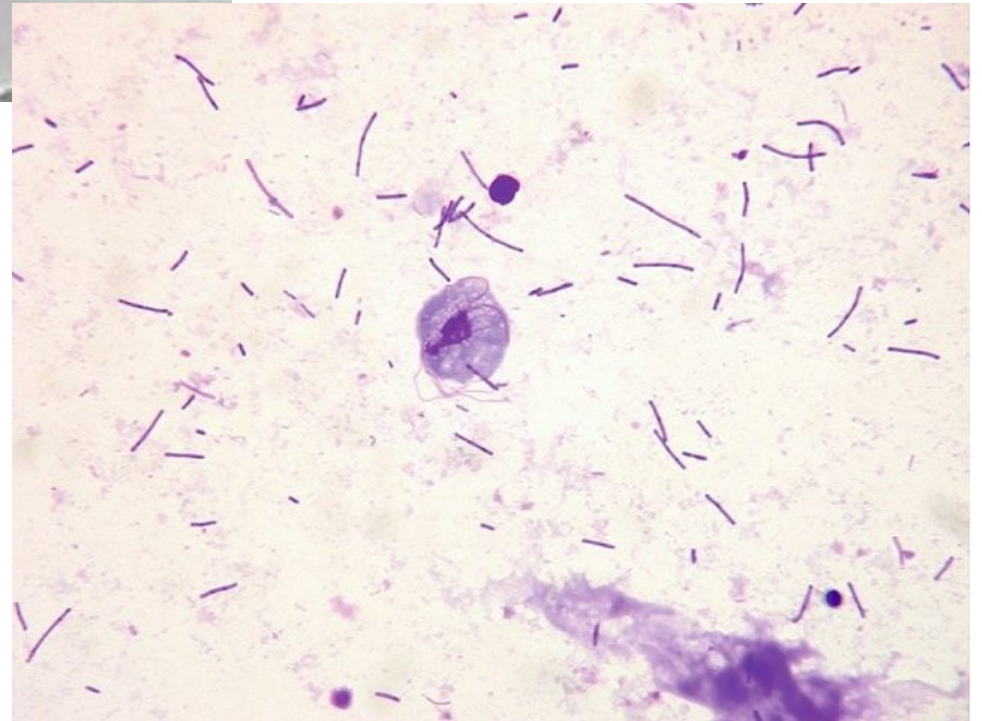
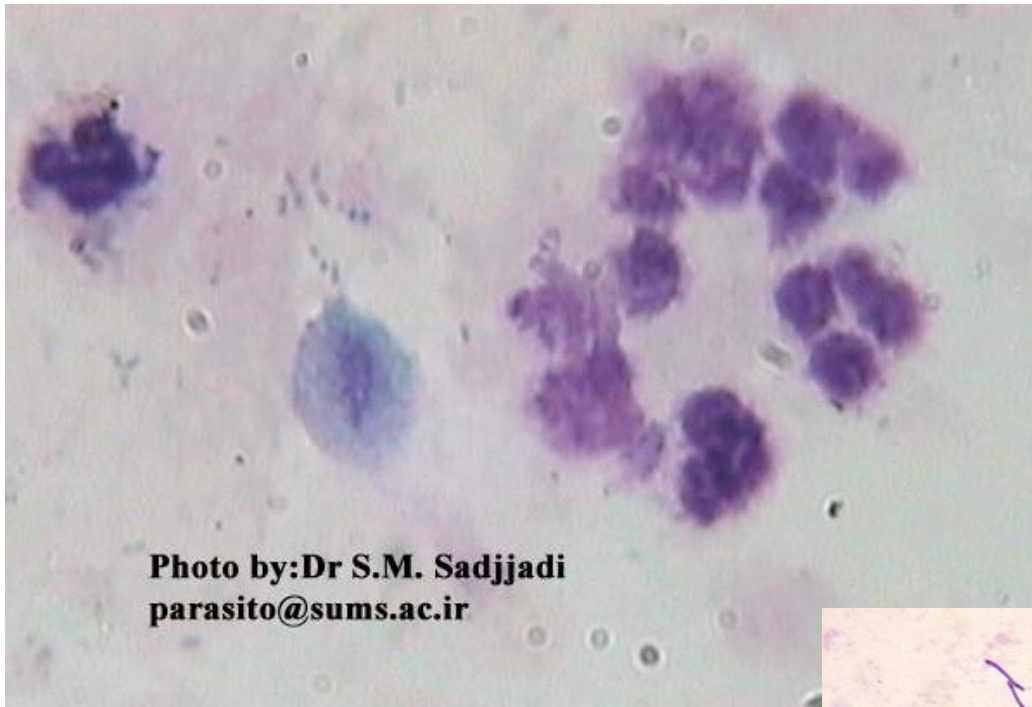
Úkol 4 - Prohlédněte si mikroskopické preparáty trichomonád

- Mikroskopujte s imerzí (objektiv 100 , imerzní olej)
- V některých preparátech mohou být kromě trichomonád i kvasinky
- Pravděpodobně uvidíte leukocyty a trichomonády, případně také bakterie, epitelie atd.

A microscopic image showing several trichomonads and leukocytes. The trichomonads are small, pear-shaped organisms with a flagellum. The leukocytes are larger, multi-lobed cells. The image is stained with a purple dye.

Trichomonas

Leucocyty



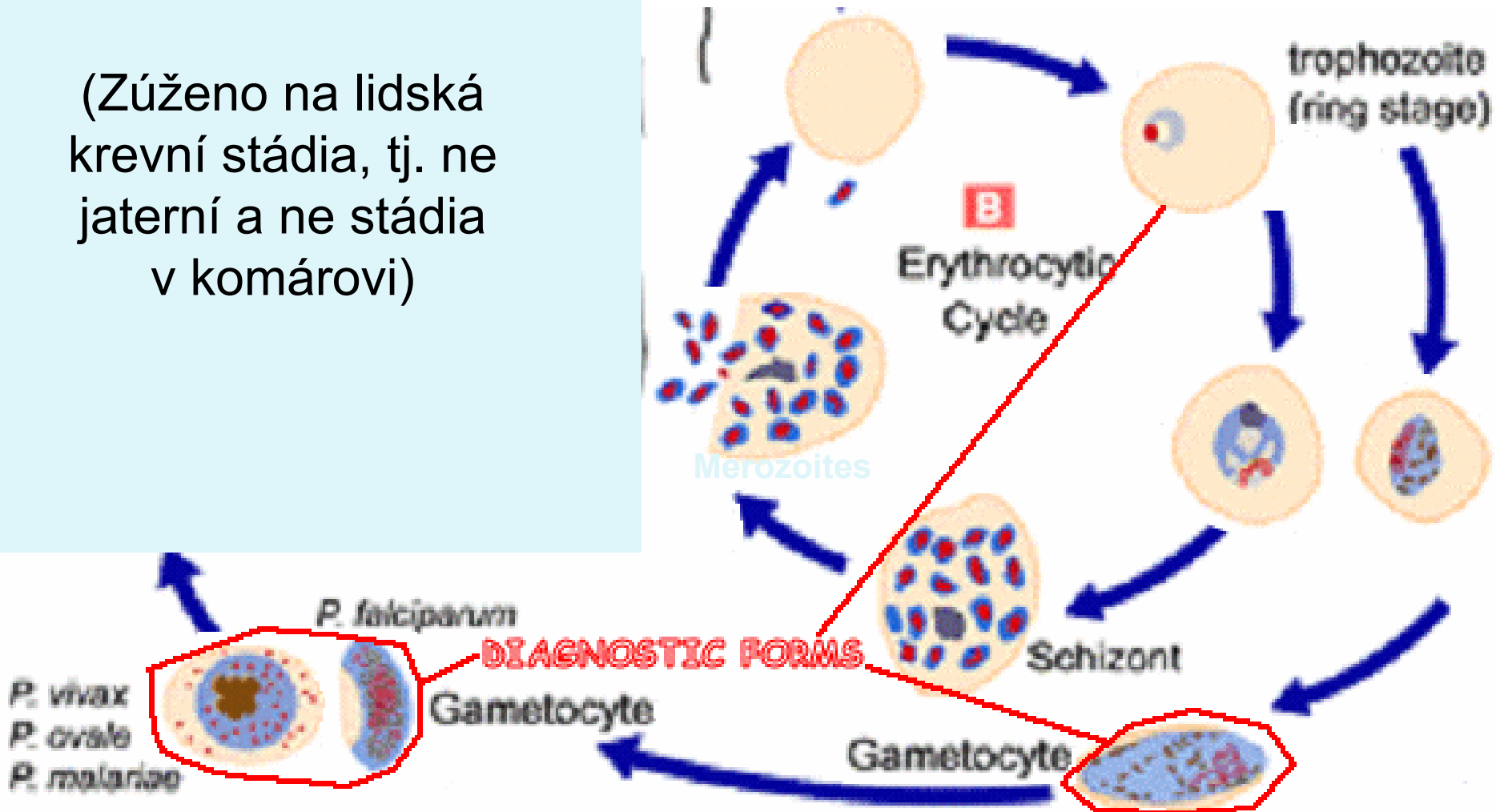
Úkol 5 - Diagnostika malárie

a) Prohlédněte si preparát

- Preparáty malárie jsou velmi vzácné. Prosíme, vůbec se nedotýkejte mikroskopu, kromě jemného doladění mikrošroubu na své oči. Uvidíte erythrocyty a mladé trofozoity *Plasmodium falciparum*

b) Erythrocytární stádia vývoje parazita

(Zúženo na lidská krevní stádia, tj. ne jaterní a ne stádia v komárovi)



Úkol 6 – diagnostika *Toxoplasma gondii* serologickými testy

- Jak již bylo řečeno, u tkáňových parazitů se často používá nepřímý průkaz
- Část 6a) je **KFR** – boční stůl. První důlek je test antikomplementarity séra, ve druhém ředění 1 : 5, dále geometrickou řadou (1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80 atd.)
- Pozitivní je nepřítomnost hemolýzy, negativní je hemolýza
- Část 6b) je **ELISA** – způsob výpočtu: co je vyšší než (C1+ D1) : 2, je pozitivní. A1 je blank, B1 negativní, E1 pozitivní kontrola

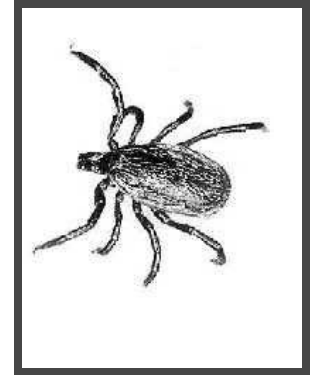
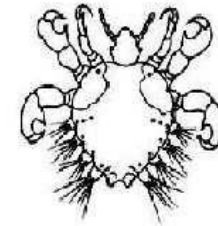
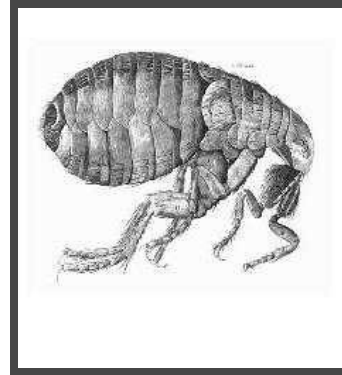
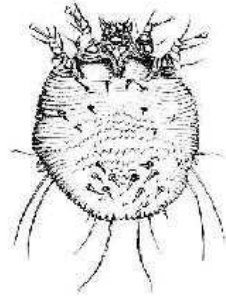
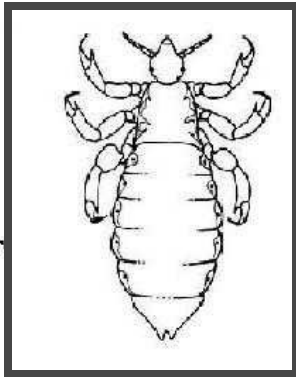
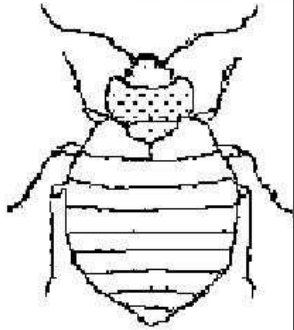
Úkol 6: Popis pacientů

- P: zdravá těhotná žena, doma kočky
- Q: jiná těhotná žena, bez koček
- R: mladá dáma toulající se v lesích; bez koček, zato však v kontaktu s prostředím kontaminovaným trusem divokých zvířat
- S: senior, pracující v zahradě, po které se procházejí kočky

Úkol 6 - výsledky

Pacient	KFR	ELISA IgA	ELISA IgG
P	1:10	-	+
Q	0	-	-
R	1:160	+	+
S	0	-	-

Úkol 7 Poznáváme ektoparazity



Bed bug Louse Itch mite Flea Crab louse Tick

Cimex Pediculus Sarcoptes Pulex Phthirus Ixodes

Štěnice Veš hlav. Zákožka Blecha Veš muňka Klíště

Úkol 8, nepovinný

- Jde o preparát ze stolice mladého muže s dobrodružnými sklony, který cestoval po Indii a pil vodu z Gangy. Pomocí metod Faust a Kato byly nalezeny podezřelé útvary, po barvení Gomoriho trichromem určené jako *Entamoeba histolytica/dispar* (mikroskopicky nelze rozlišit). U tohoto pacienta byla diagnostika prováděna i v NRL pro střevní parazity v Praze a pomocí PCR určeno, že jde o *E. histolytica*
- Na rozdíl od *Entamoeba coli* má *E. histolytica* maximálně čtyři jádra. Většinou se ale objevují a mizí při proostřování, tj. nejsou viditelná najednou.

PŘEHLED ENDOPARAZITŮ

▶ Prvoci – Protozoa

- Bičíkovci - Trypanosomy (*T. brucei*, *T. cruzi*)
 - Leishmanie (*L. major*, *L. braziliensis*,
L. chagasi,...)
 - *Giardia intestinalis*
 - *Trichomonas vaginalis*
- Améboidní prvoci - *Entamoeba histolytica*
 - *Acanthamoeba spp.*
- Sporozoa - *Toxoplasma gondii*
 - *Plasmodia*

▶ Motolice- Trematoda

- Schistosomy- krevničky
- Motolice plicní a jaterní (*Fasciola hepatica*)
- Motolice střevní (*Fasciolopsis buski*)

▶ Tasemnice- Cestoda

- Původci střevních cestodóz - *Taenia saginata*
- *Taenia solium*
- Původci tkáňových cestodóz - *Taenia solium*
- *Echinococcus granulosus*
(měchožil zhoubný)

▶ Hlístice- Nematoda

- Původci střevních nematodóz
 - *Enterobius vermicularis* (roup dětský)
 - *Ascaris lumbricoides* (škrkavka dětská)
 - *Trichuris trichiura* (tenkohlavec lidský)
- Původci tkáňových nematodóz
 - *Toxocara canis*, *Toxocara cati*
 - *Trichinella spiralis* (svalovec stočený)
- Filárie
 - *Loa loa* (vlasovec oční)