

# **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

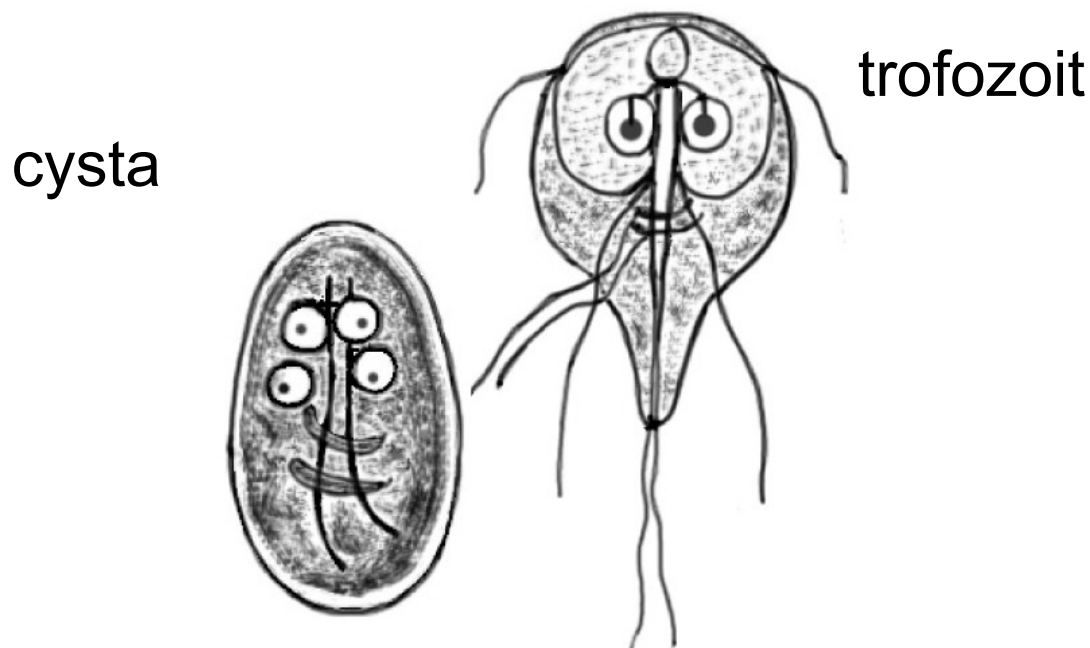
- Také bývá zvykem členit parazity podle **orgánových soustav**:
  - střevní (od lamblíí po tasemnice)
  - krevní (intra- a extraerytrocytární)
  - urogenitální (například bičenky)
  - tkáňoví (například toxoplasma)
- Toto členění má význam i pro diagnostiku
- U tkáňových parazitů má například logicky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

# Střevní parazité

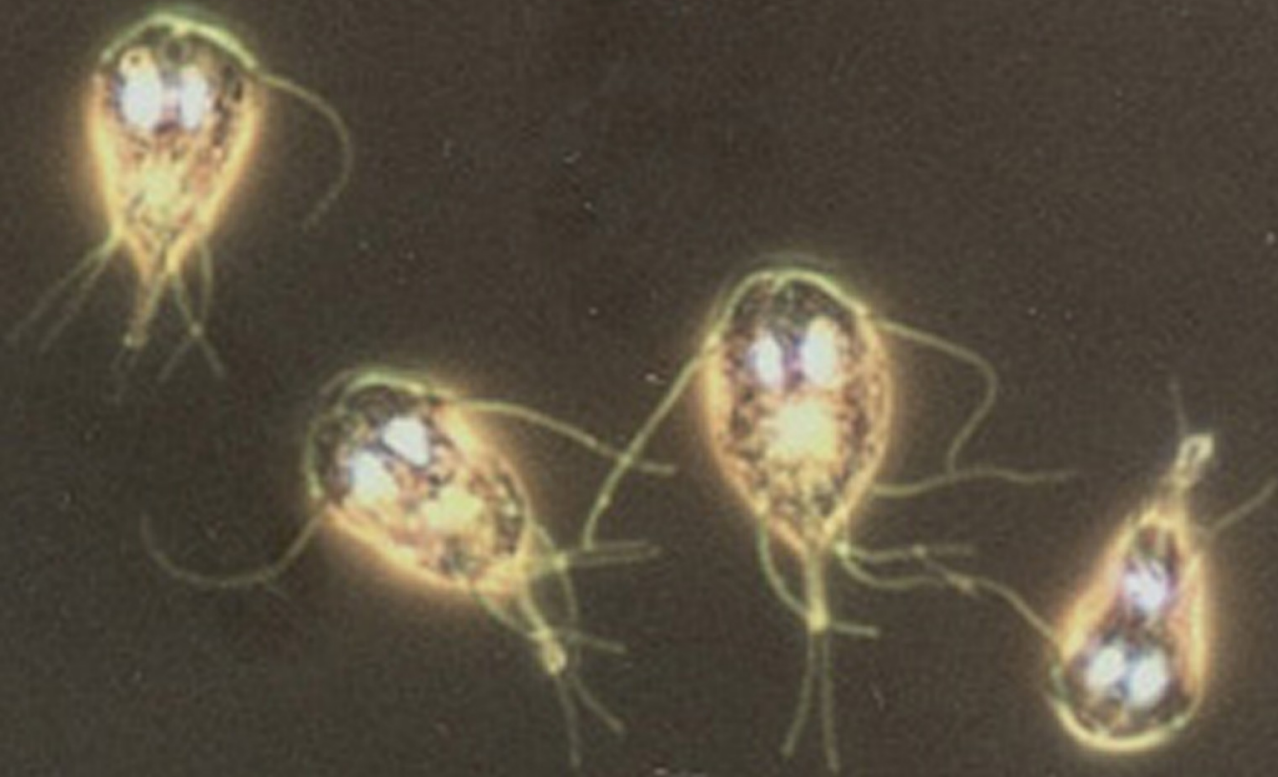
- Střevní parazité jsou nejběžnější
- Někteří způsobují průjemová onemocnění, jiní spíše nespecifické problémy (dyspepsie, svědění, únavu...)
- Mohou náležet do kterékoli ze skupin endoparazitů
- **Nejběžnější:**
  - **Prvoci:** améby (*Entamoeba histolytica*), bičíkovci (*Giardia intestinalis* = *Lamblia*)
  - **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

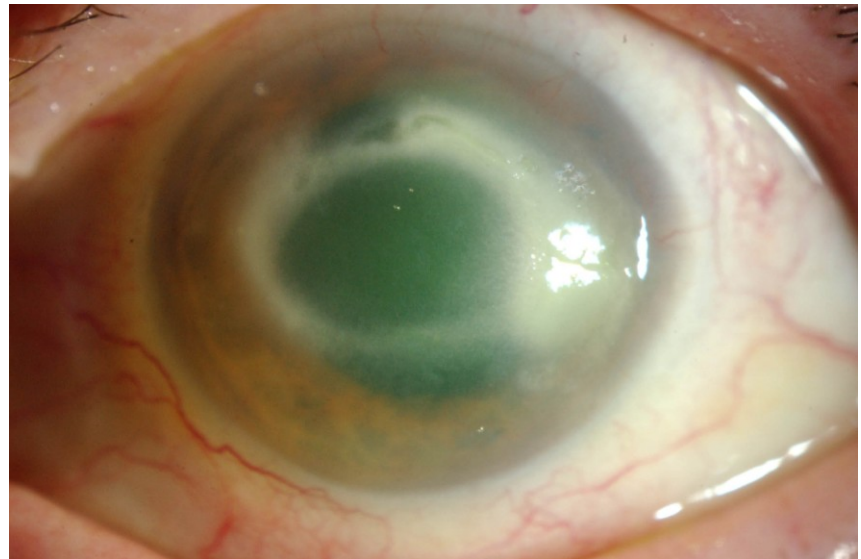


# Amébové infekce

- *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*

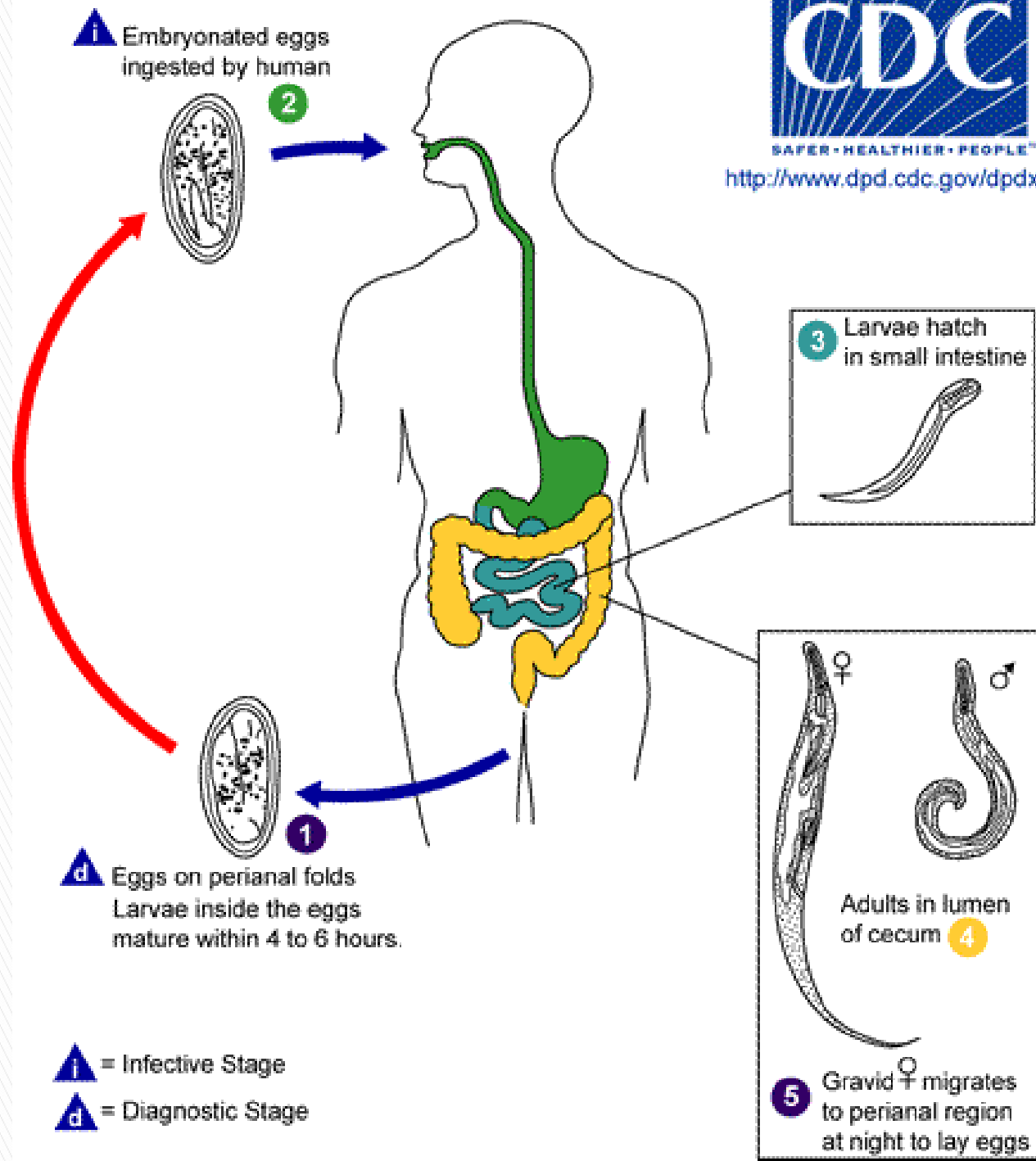
## (roup dětský)

- 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

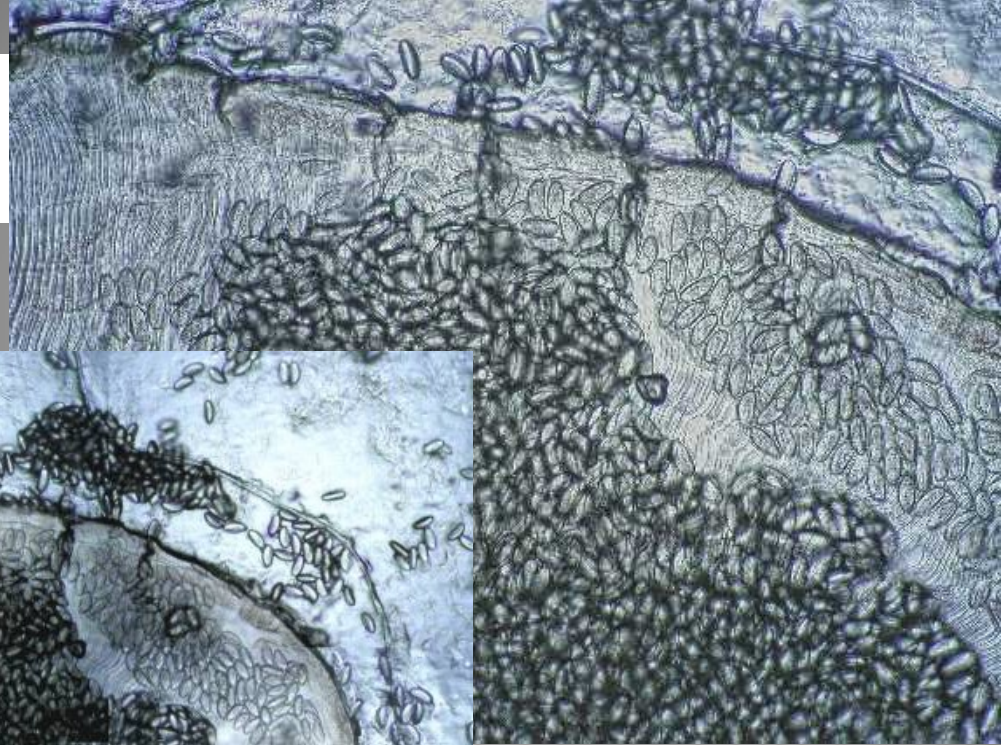
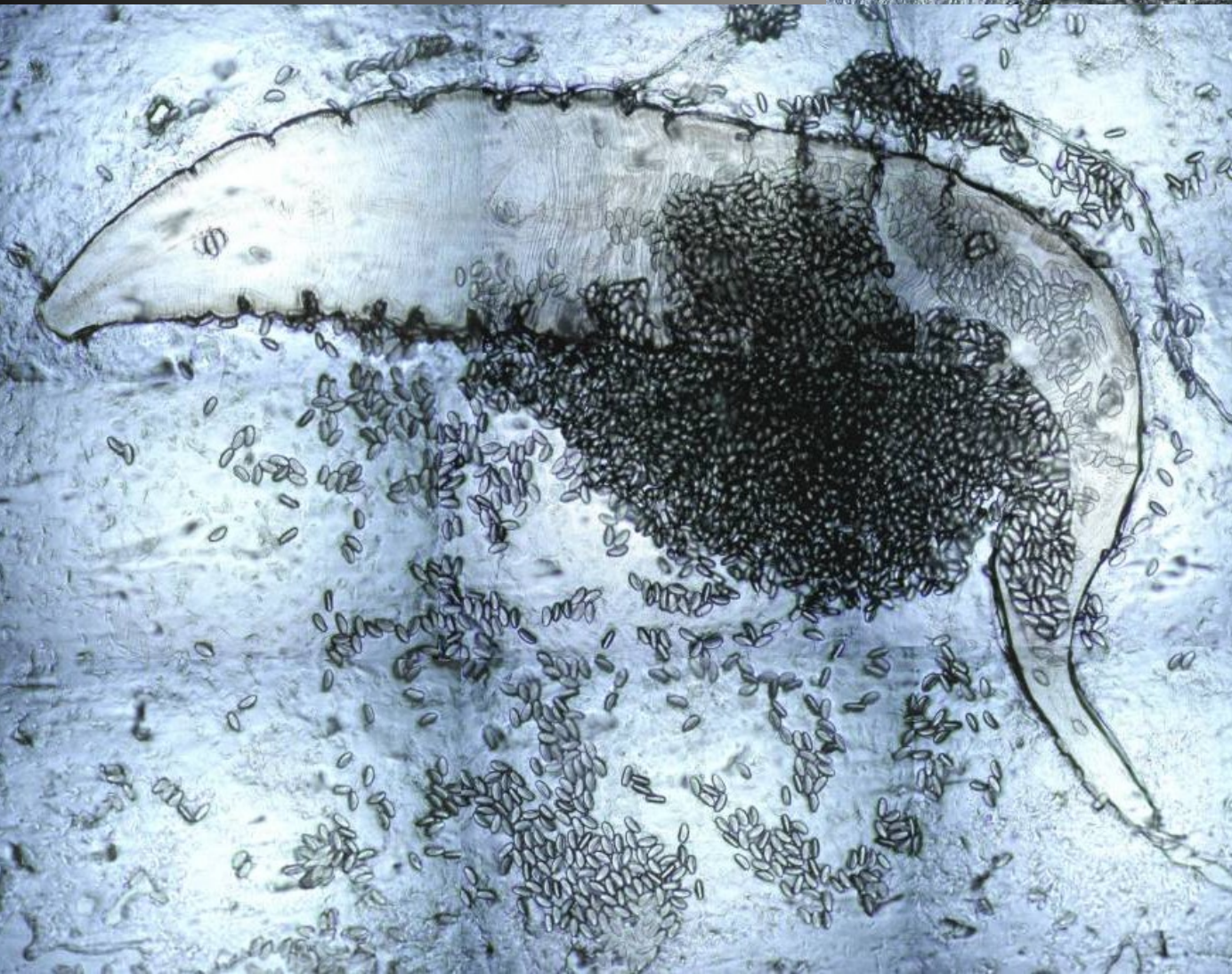


SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

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

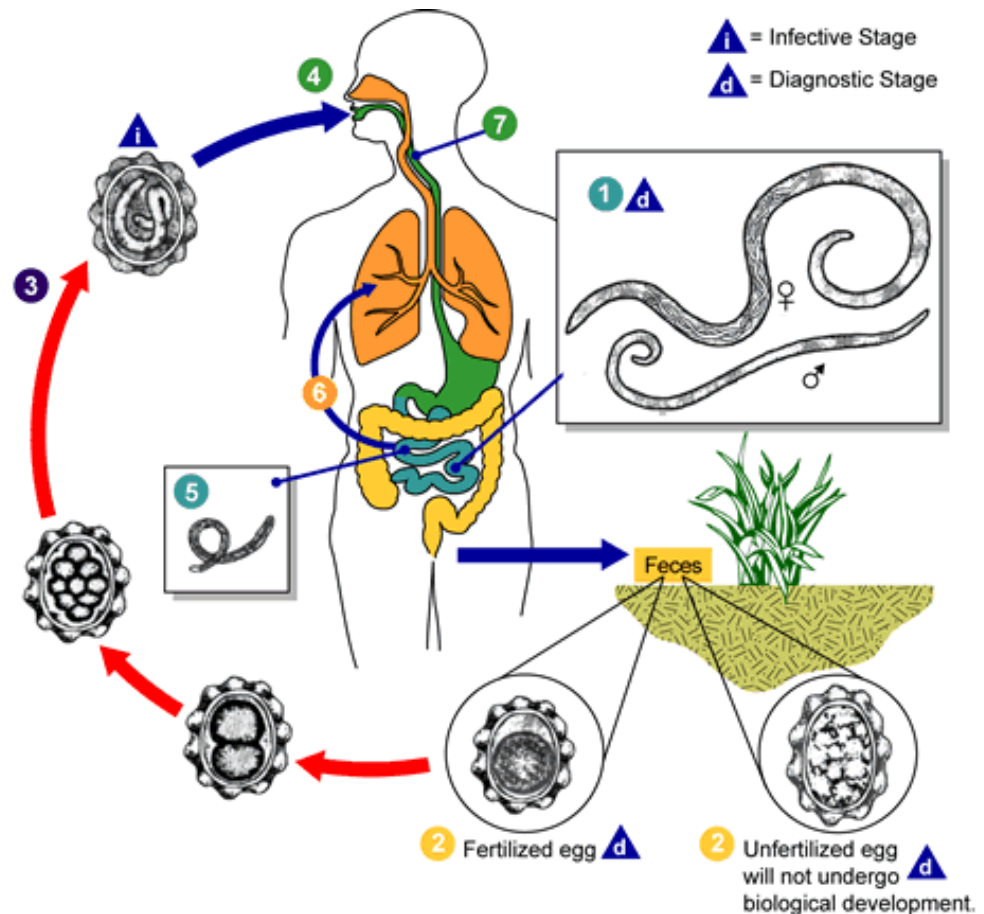


# Roup s vajíčky



# *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](http://www.medmicro.info) (vpravo)



Fertile egg (wet mount 400X)

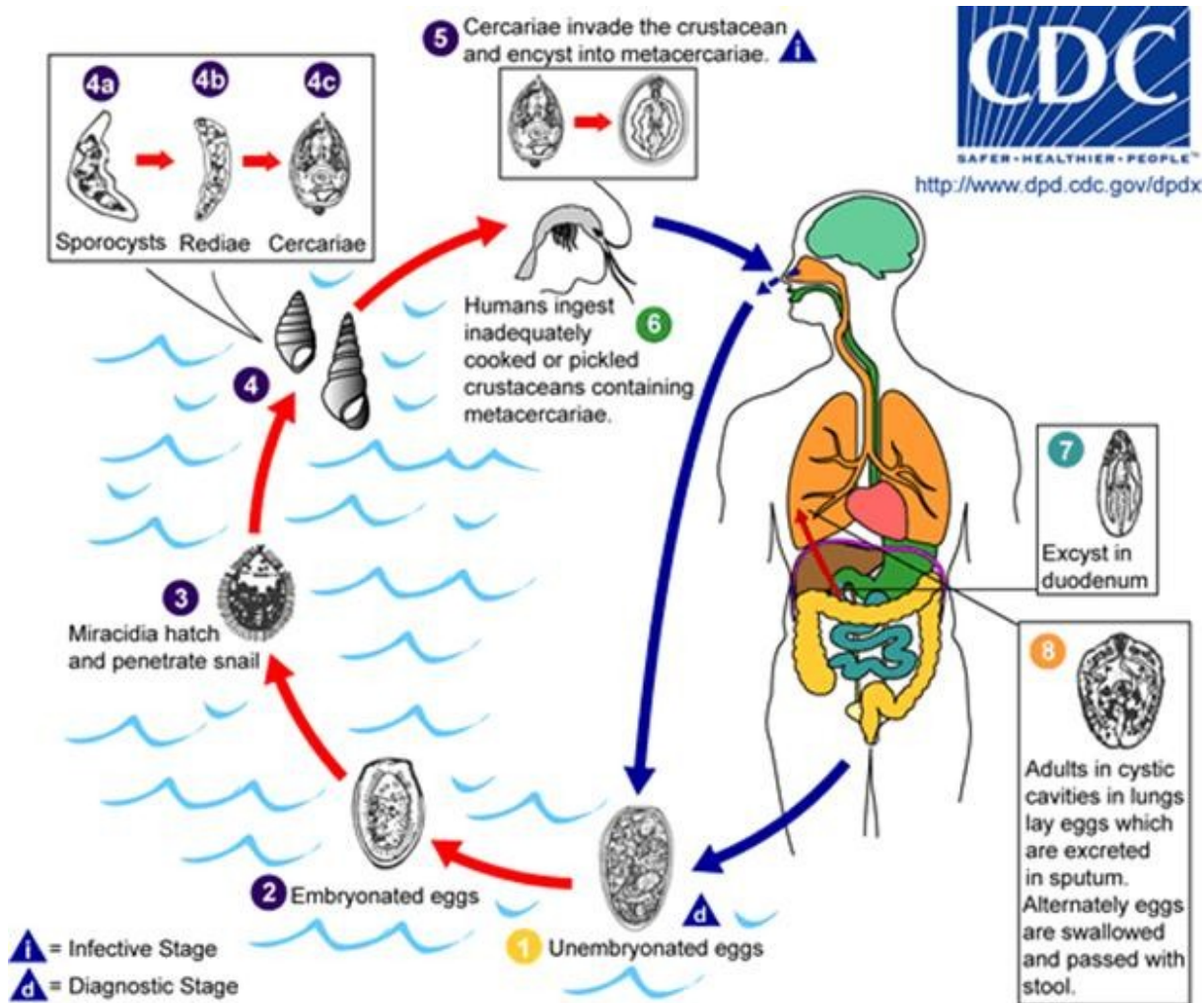


# Trematoda (motolice)

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

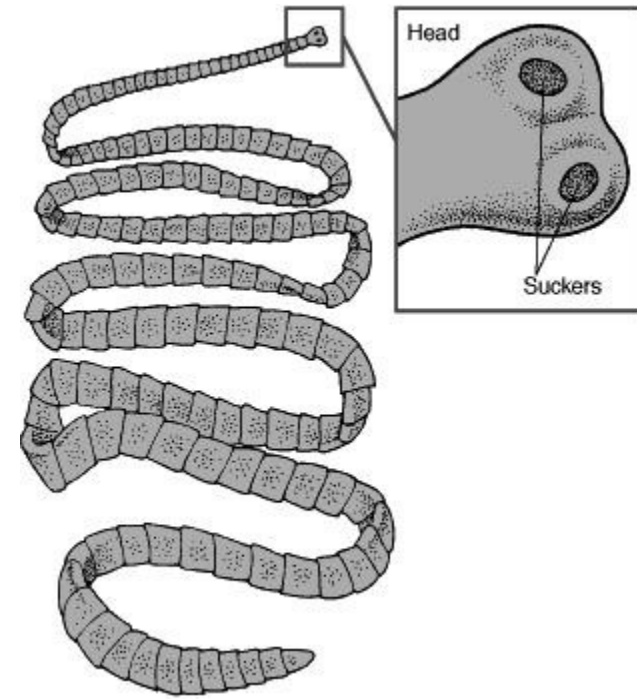


# *Fasciolopsis buski* (motolice střevní)





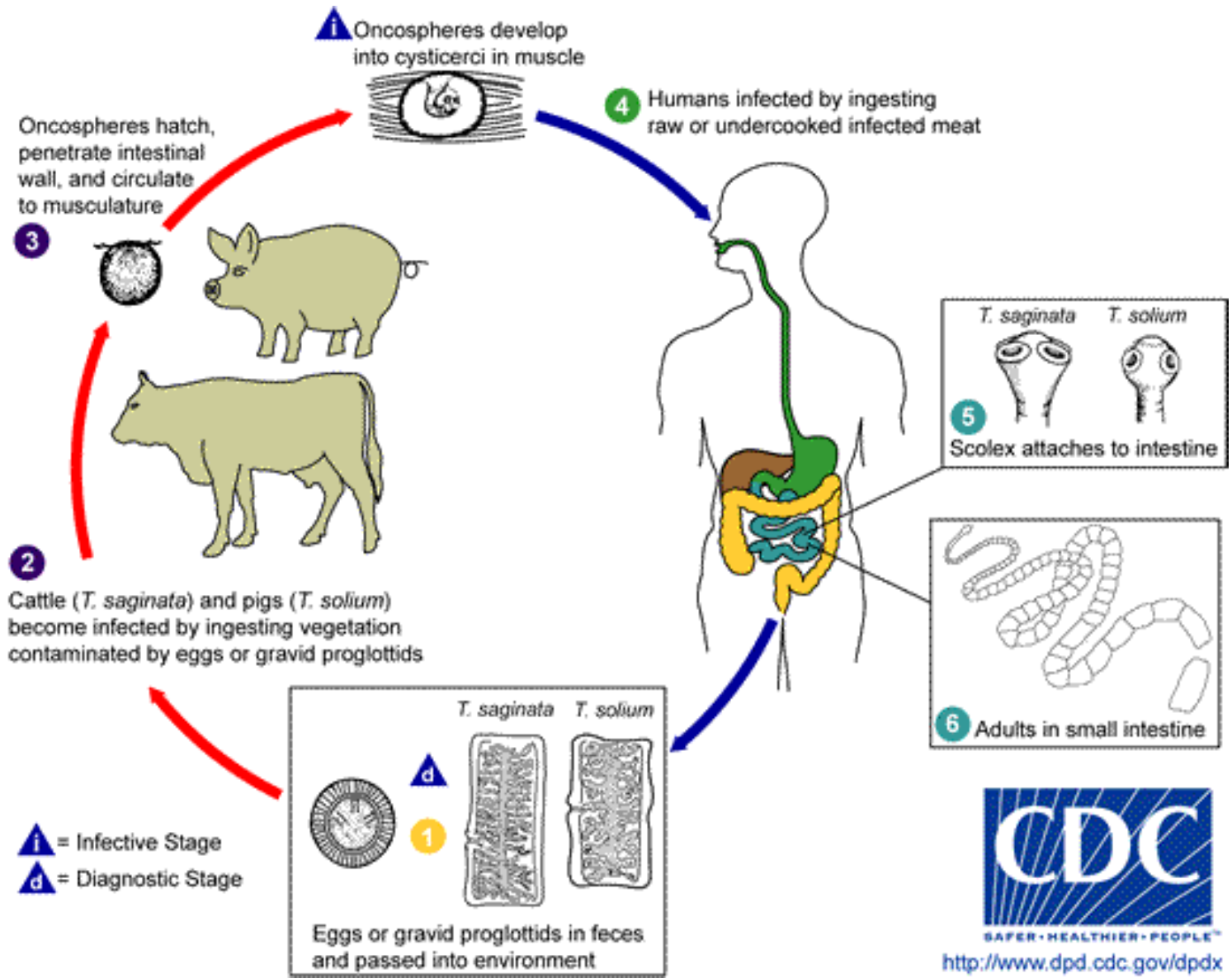
# Cestoda (tasemnice)



- ▶ 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

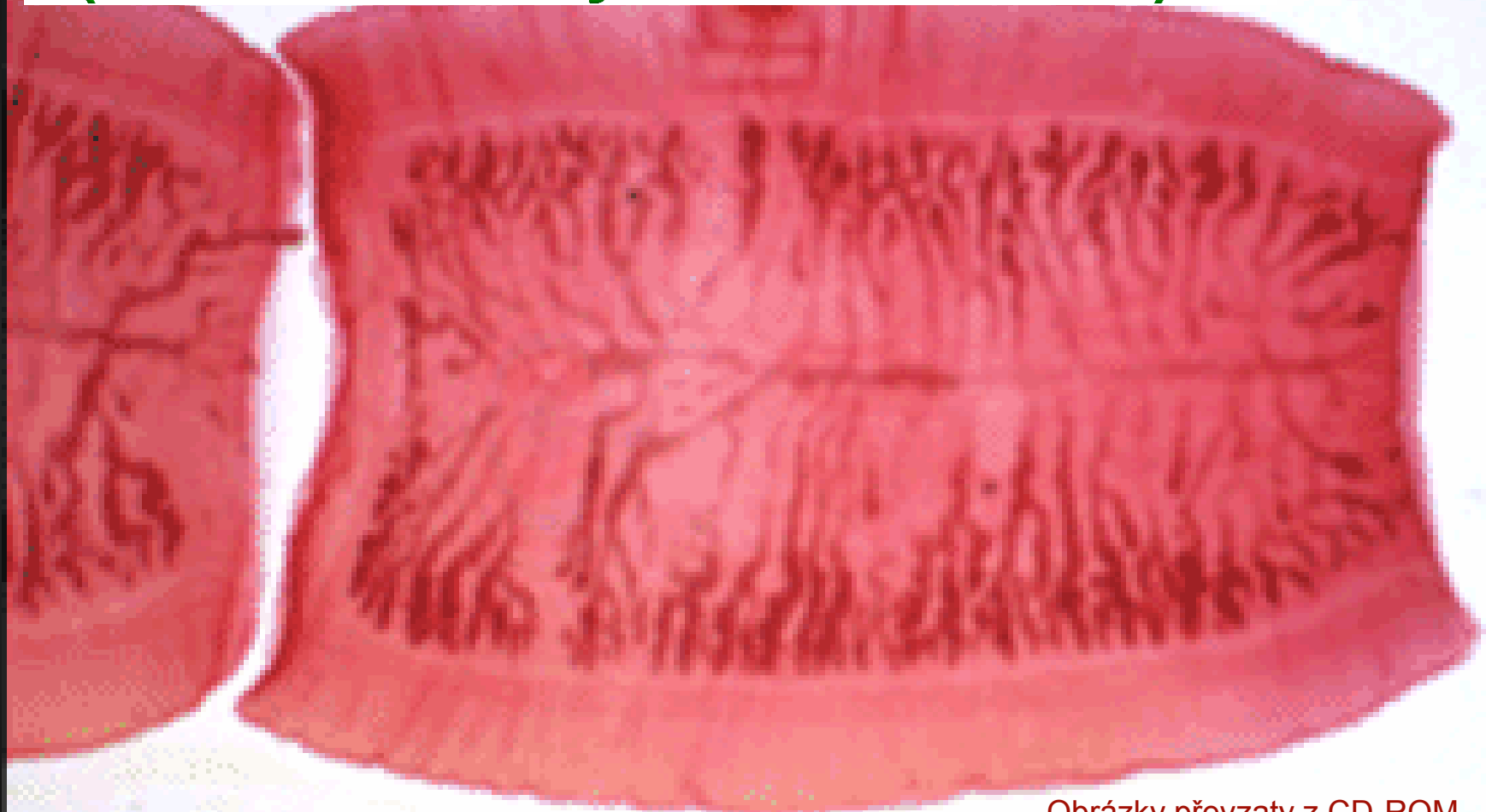
# Střevní cestodózy

- *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



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

# Článek tasemnice bezbranné (dlouhočlenná by měla méně větví)



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

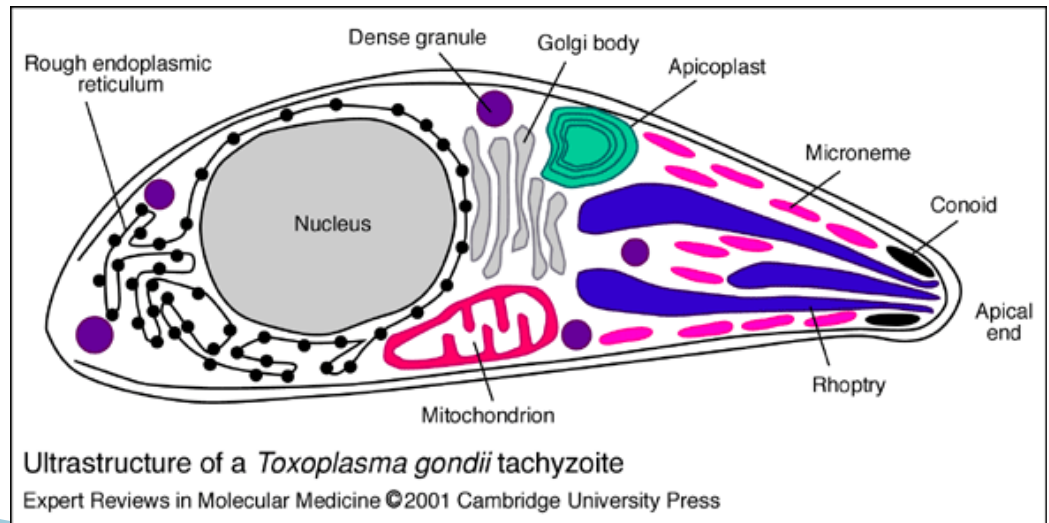
*Taenia saginata* gravid proglottid (stained)

# Tkáňoví parazité

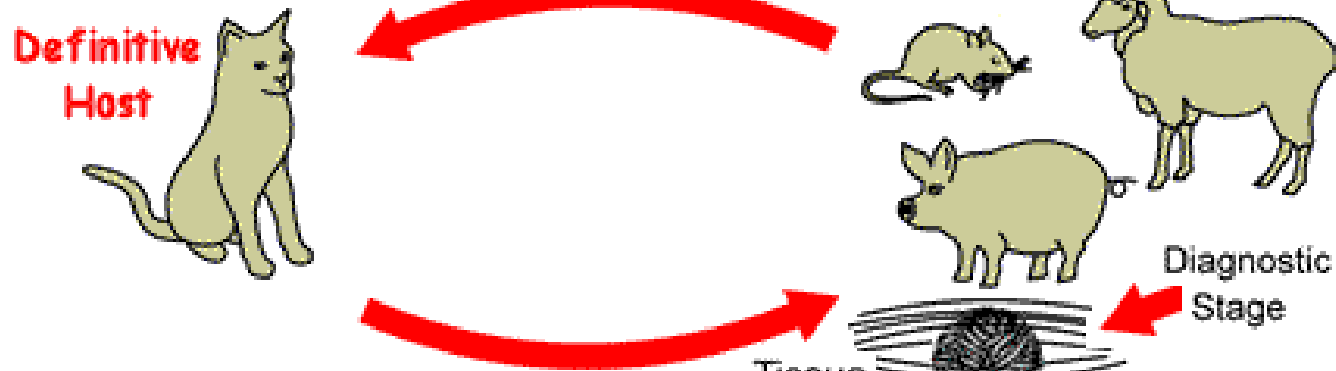
- Někteří parazité mohou žít přímo uvnitř těla
  - Někteří **prvoci**, jako toxoplasma, tvoří parazitární cysty
  - Některé **hlístice** mohou být přítomny ve tkáních, např. *Toxocara canis* či *T. cati*
  - Některé **tasemnice** (např. tasemnice dlouhočlenná) mohou ve tkáni tvořit boubele
- Symptomatologie 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

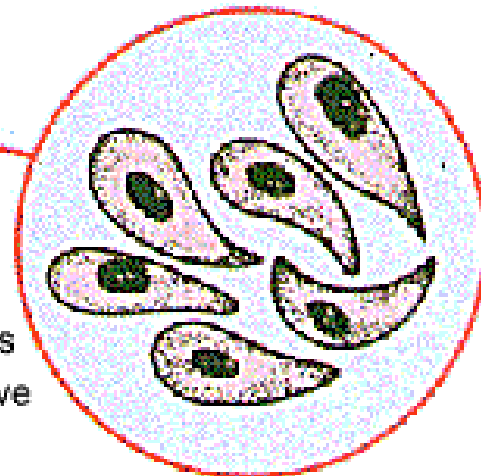
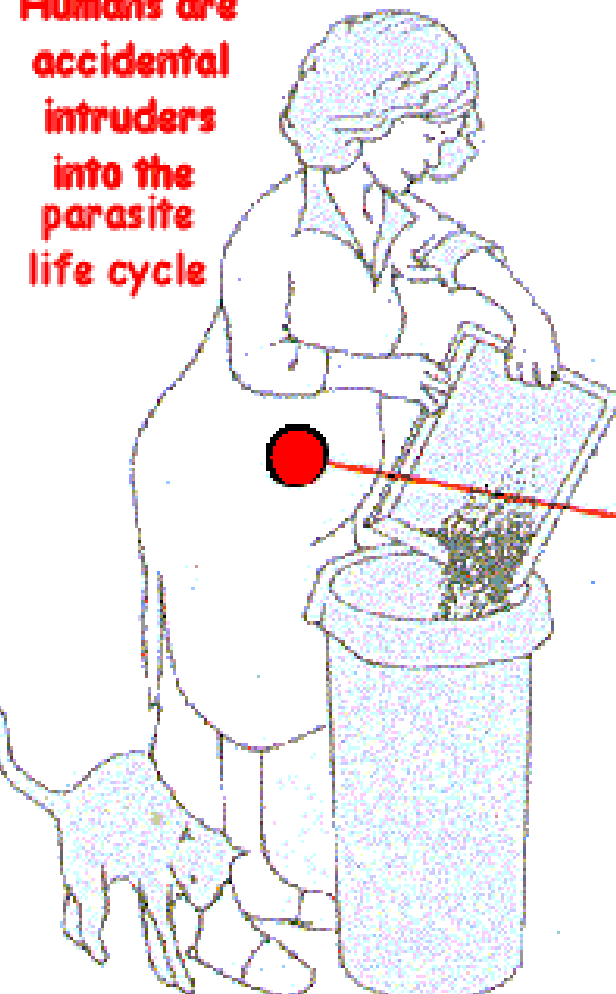


# Životní cyklus toxoplasem




**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
- 

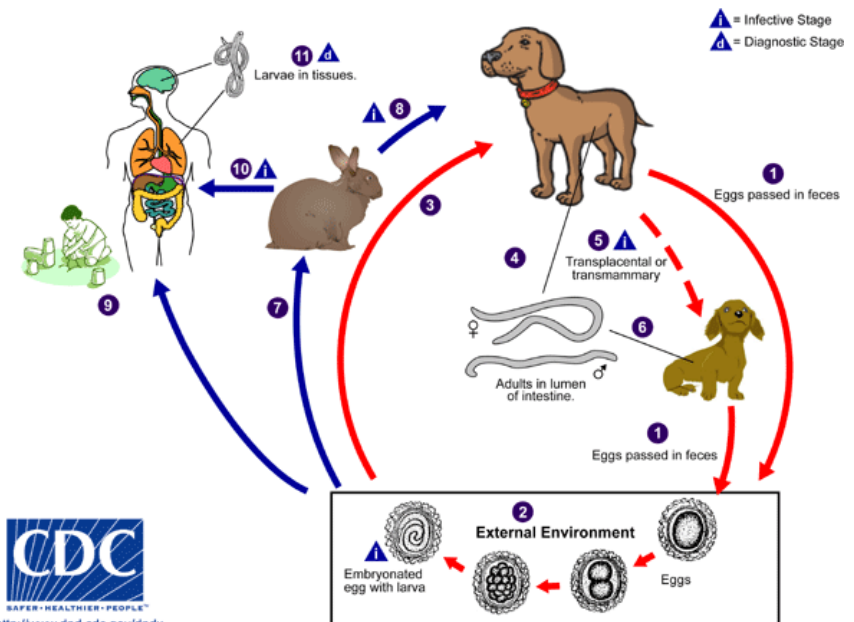
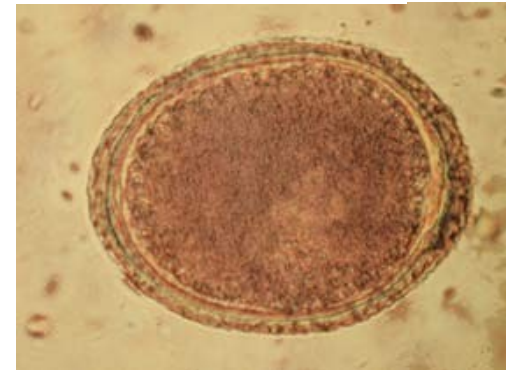


# *Toxocara canis, Toxocara cati* (škrkavka psí, kočičí)

- ▶ Střevní parazité psů a koček
- ▶ Člověk se nakazí příležitostně

(kontaminovanou potravou, vodou)

- ▶ Dostávají se do nejrůznějších orgánů (jater, srdce, plic, mozku, svalů, oka..)



# *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

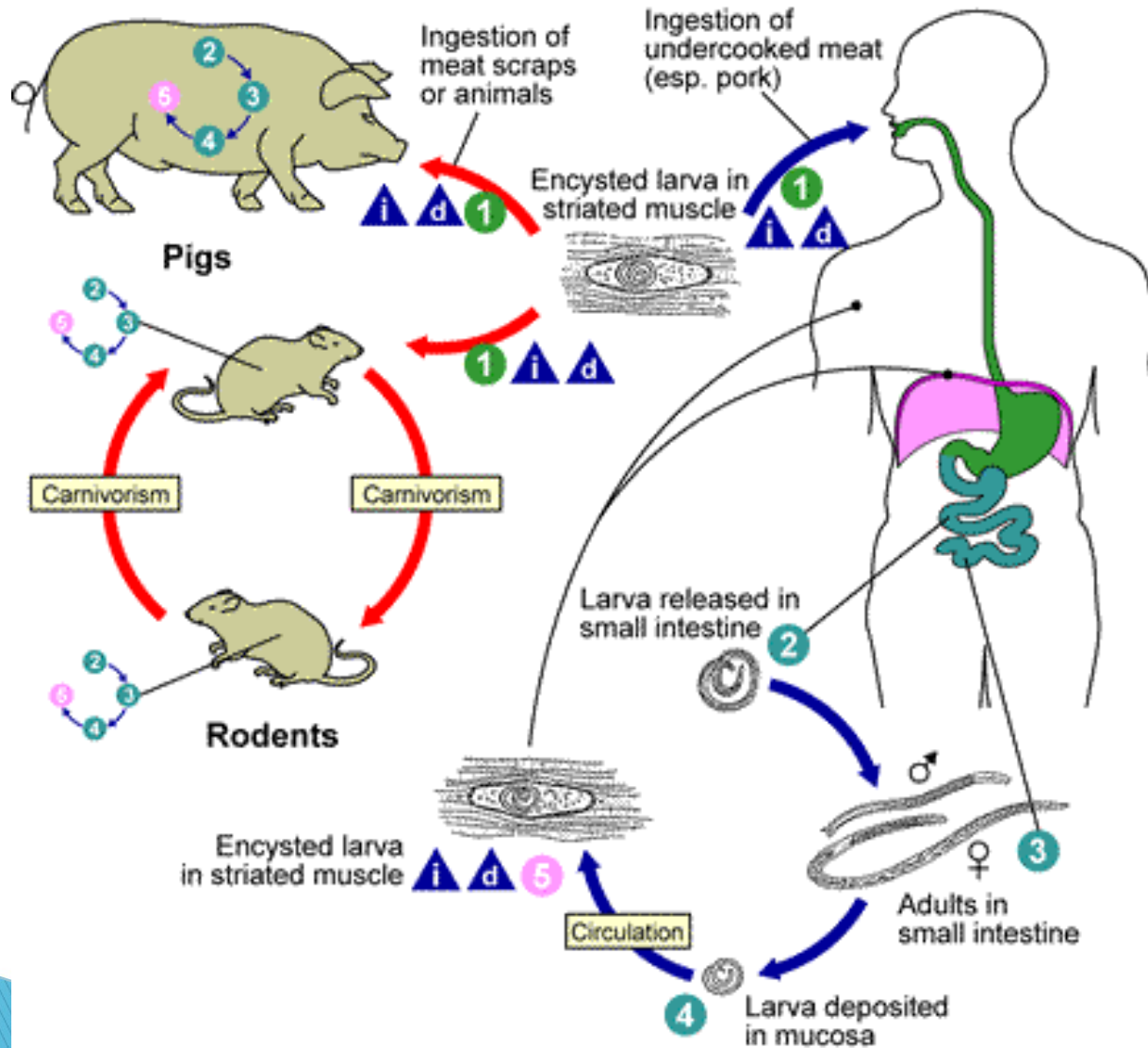


**i** = Infective Stage  
**d** = Diagnostic Stage



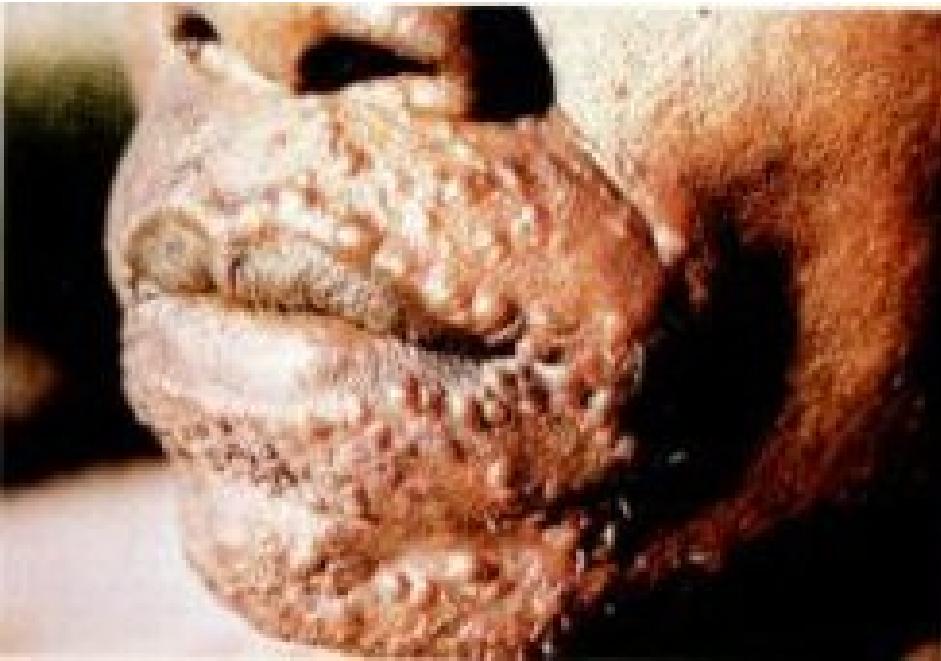
SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

<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>

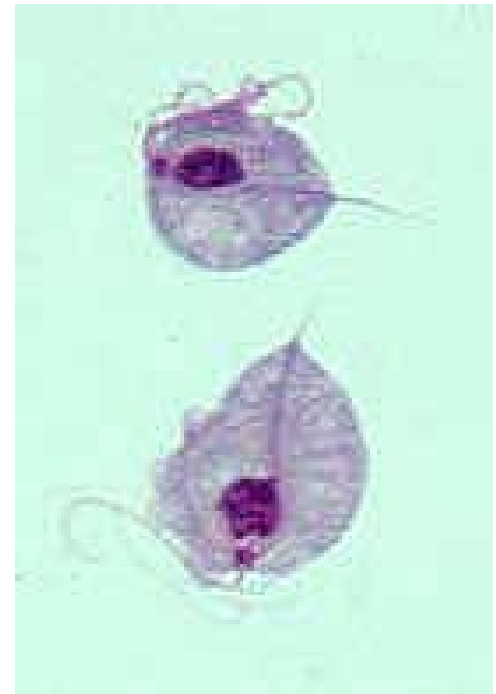


# Urogenitální parazité

- 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



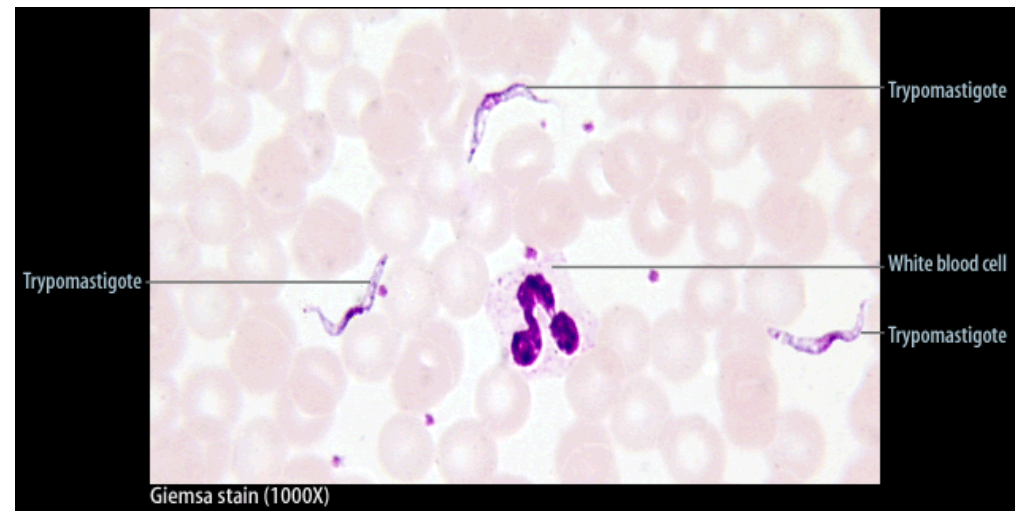


# Krevní parazité

- 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

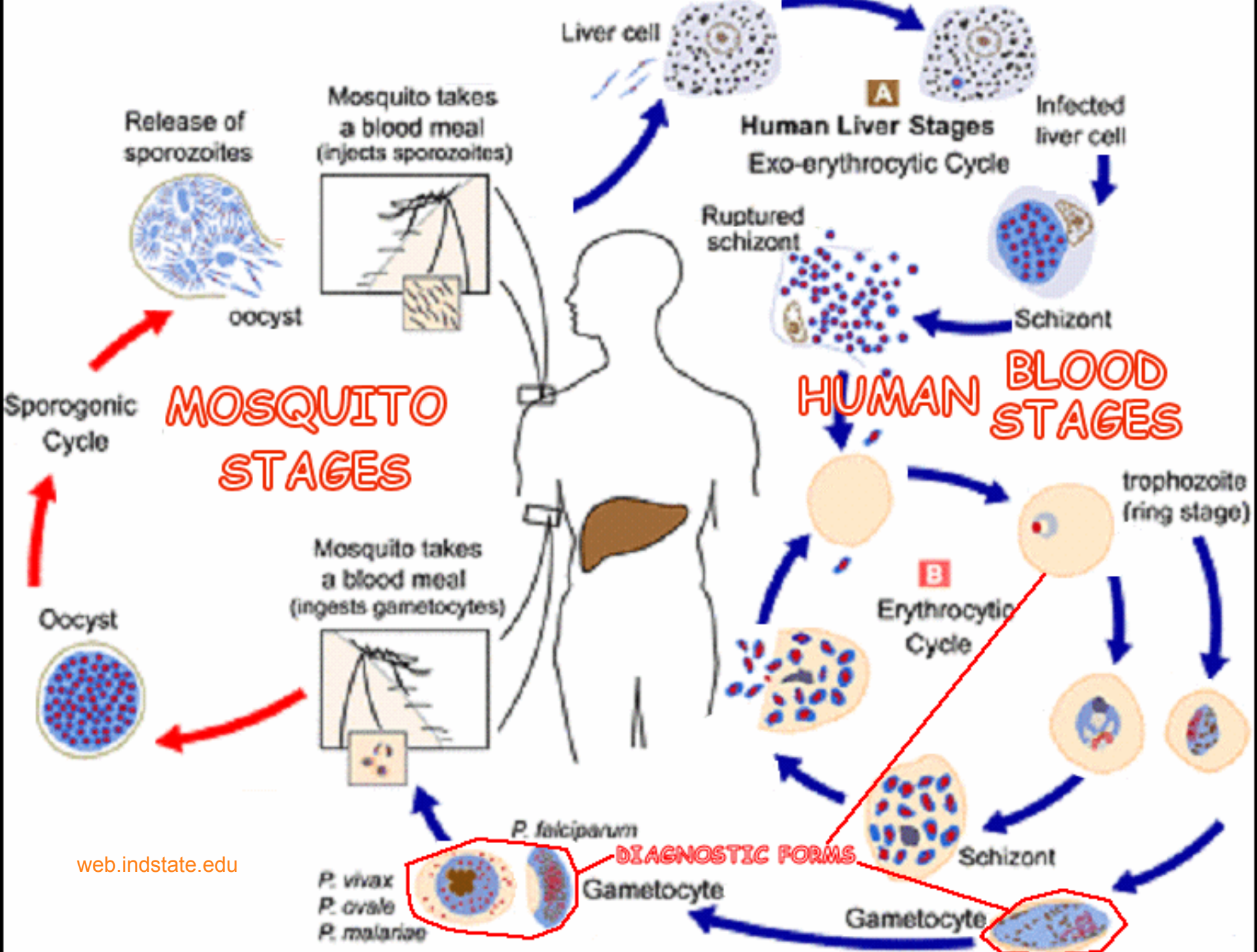
# Trypanosoma

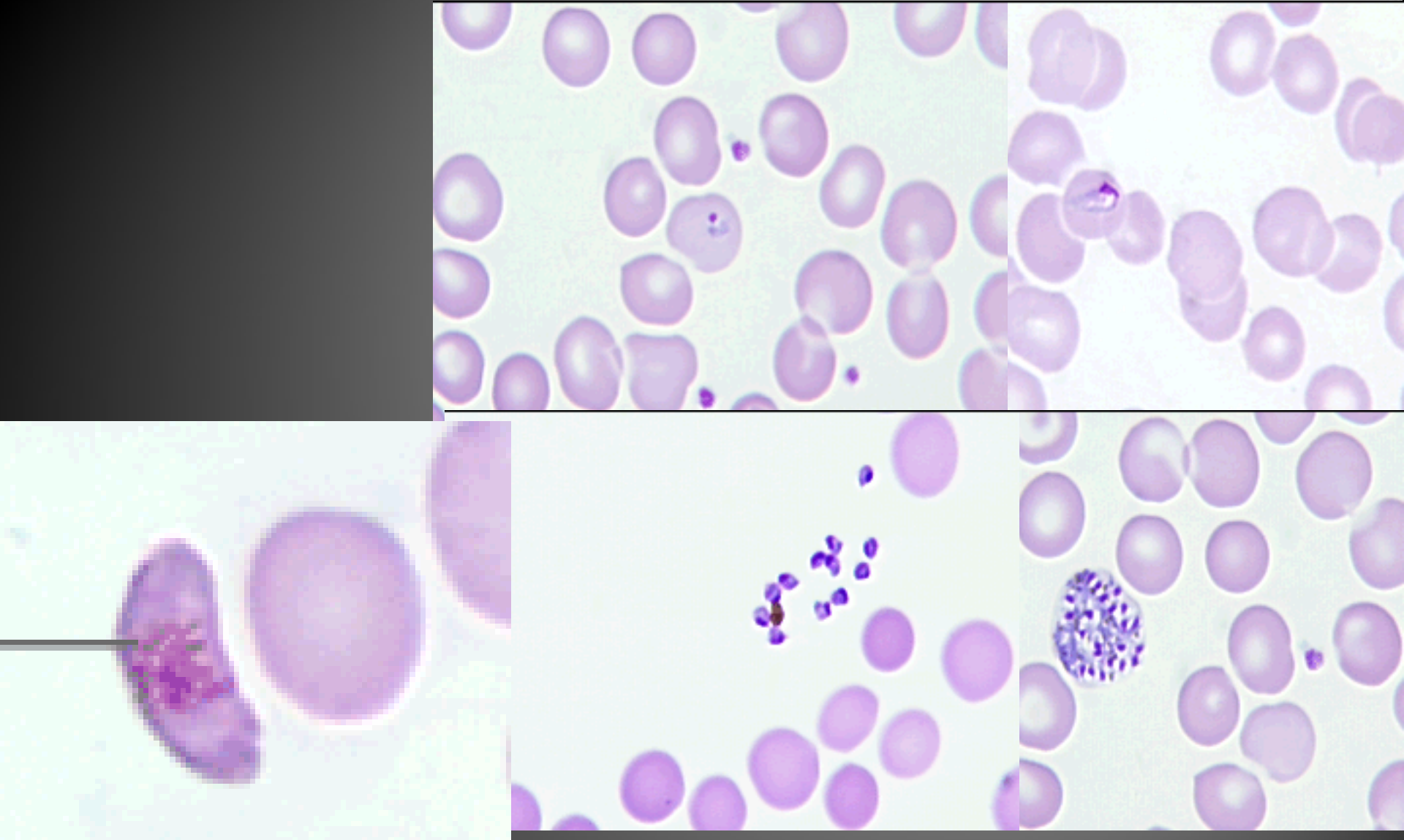
- ▶ *Trypanosoma brucei* – spavá nemoc, přenašečem moucha tse-tse
- ▶ *Trypanosoma cruzi* – Chagasova nemoc, přenašeči ploštěnci



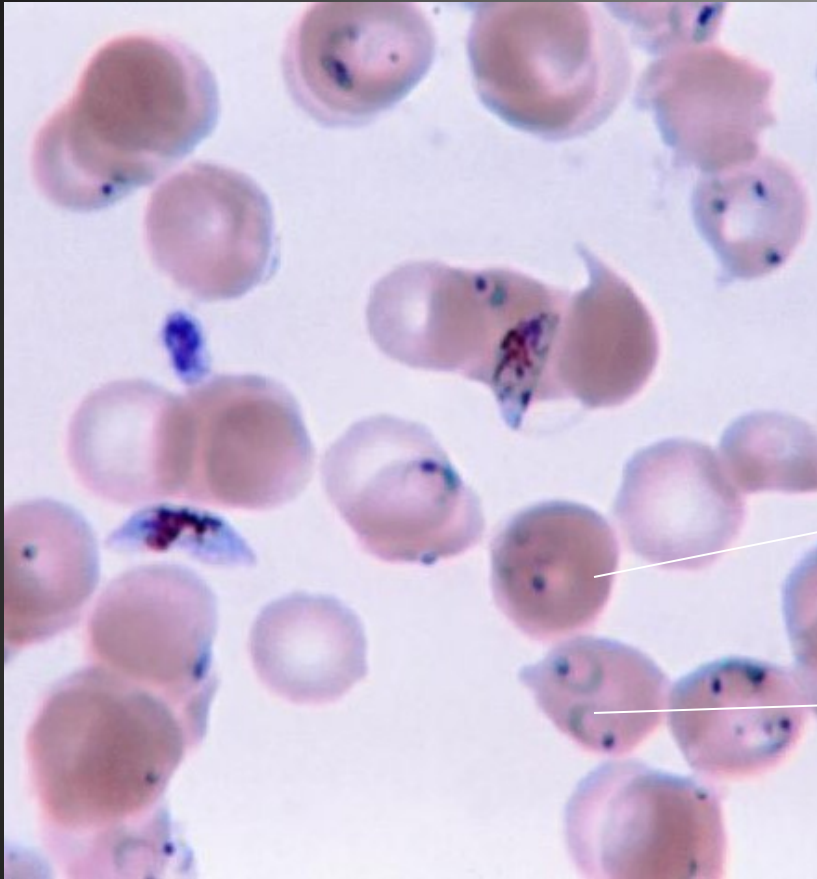
# *Plasmodium vivax*

- 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 ozardi*





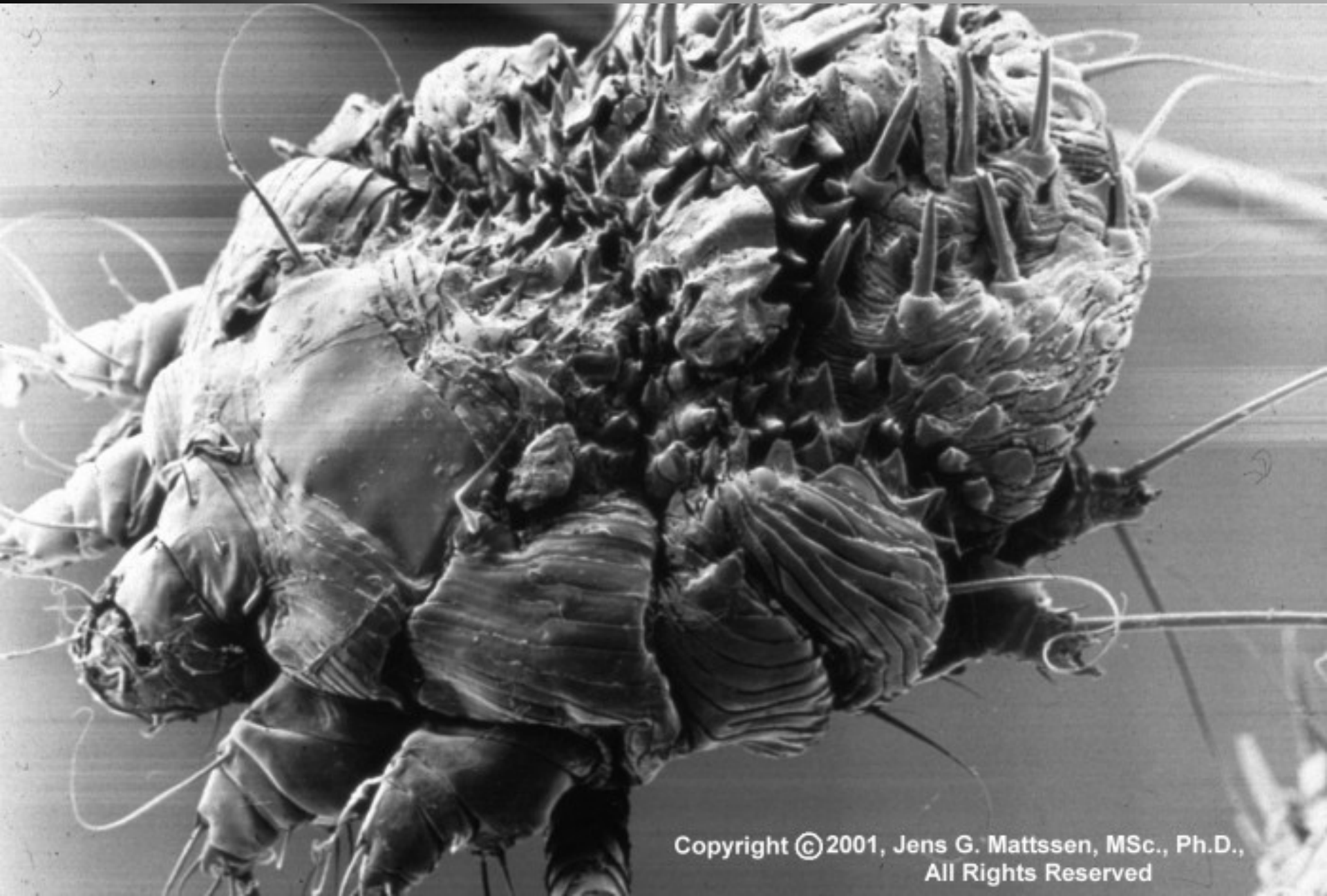
## *Loa loa*



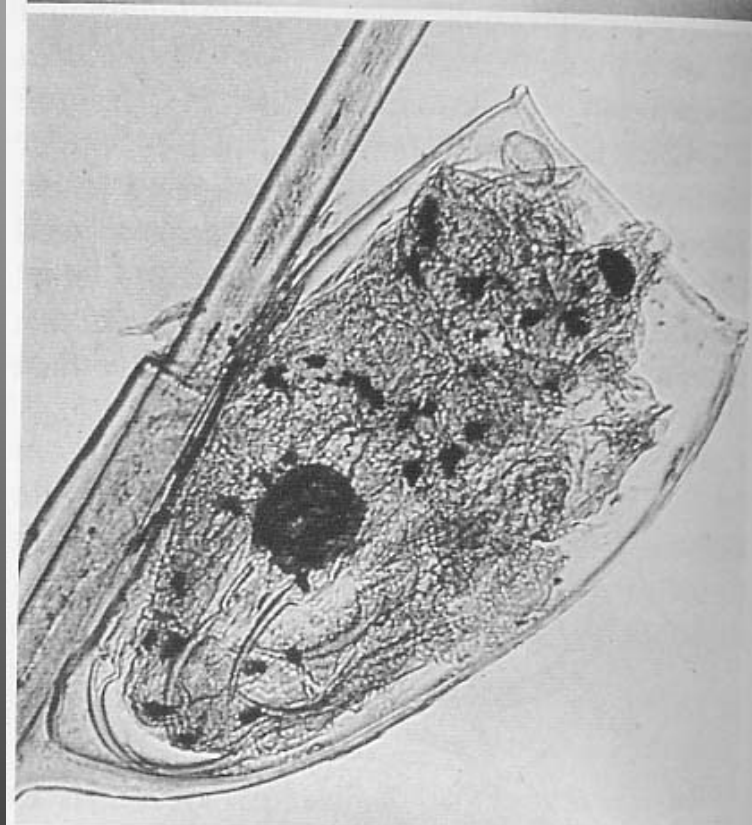
## *Wuchereria bancrofti*



# 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

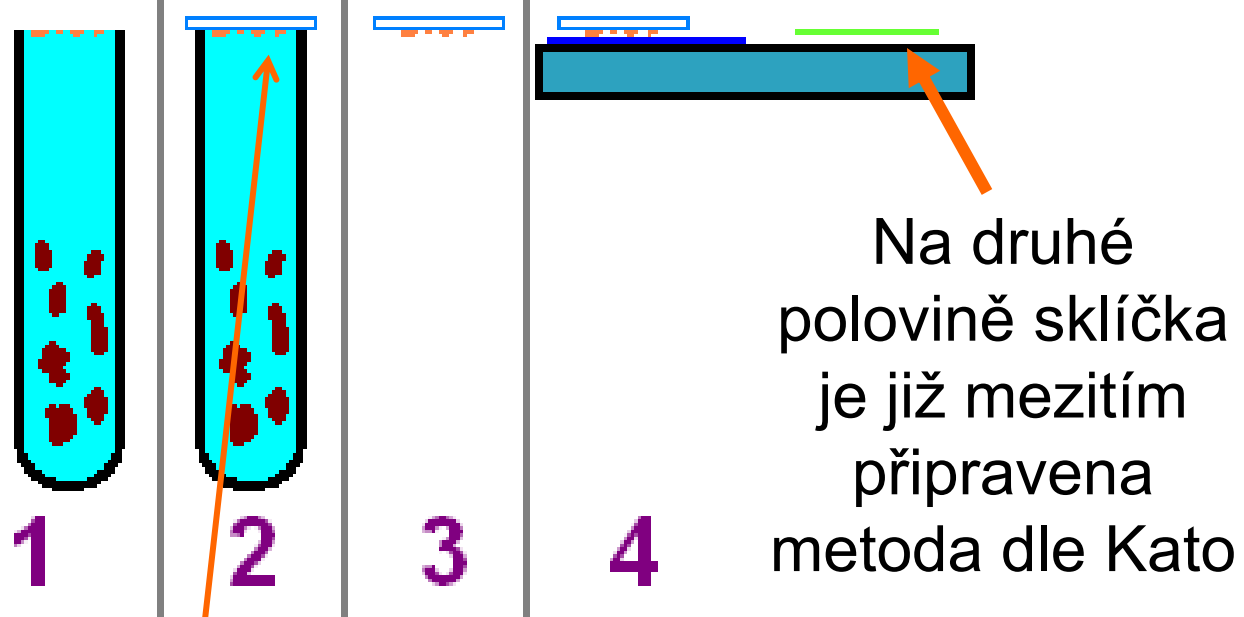
# Paraziti: diagnostické metody obecně

- 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: Stoličky 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.

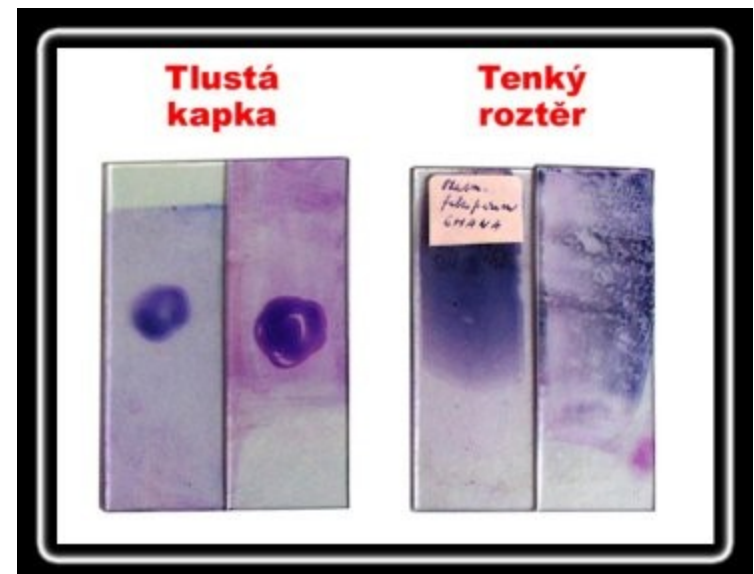


# Grahamova metoda v diagnostice roupu

- 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

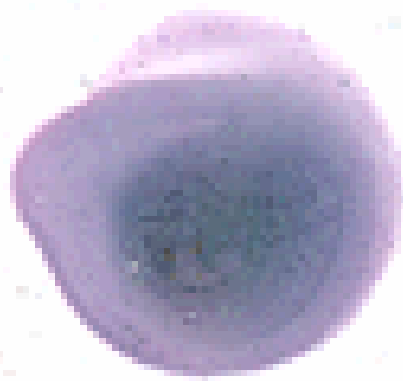
- V diagnostice krevních parazitů je důležité provedení nátěru metodami tzv. tenkého nátěru a tlusté kapky
- Pro obě metody se používá čerstvá, nesrážlivá krev. Tenký roztěr se fixuje, tlustá kapka ne. Oboje se pak barví Giemsovým barvením





SPECIMEN

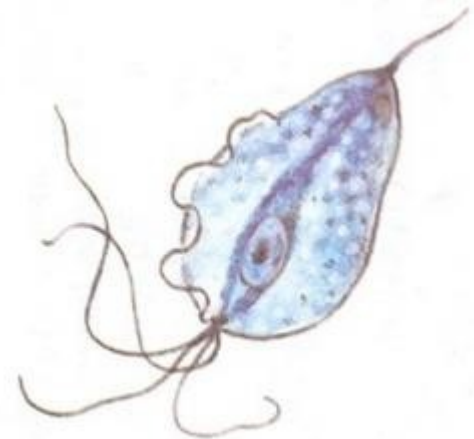
**Tenký nátěr**  
**Tlustá kapka**



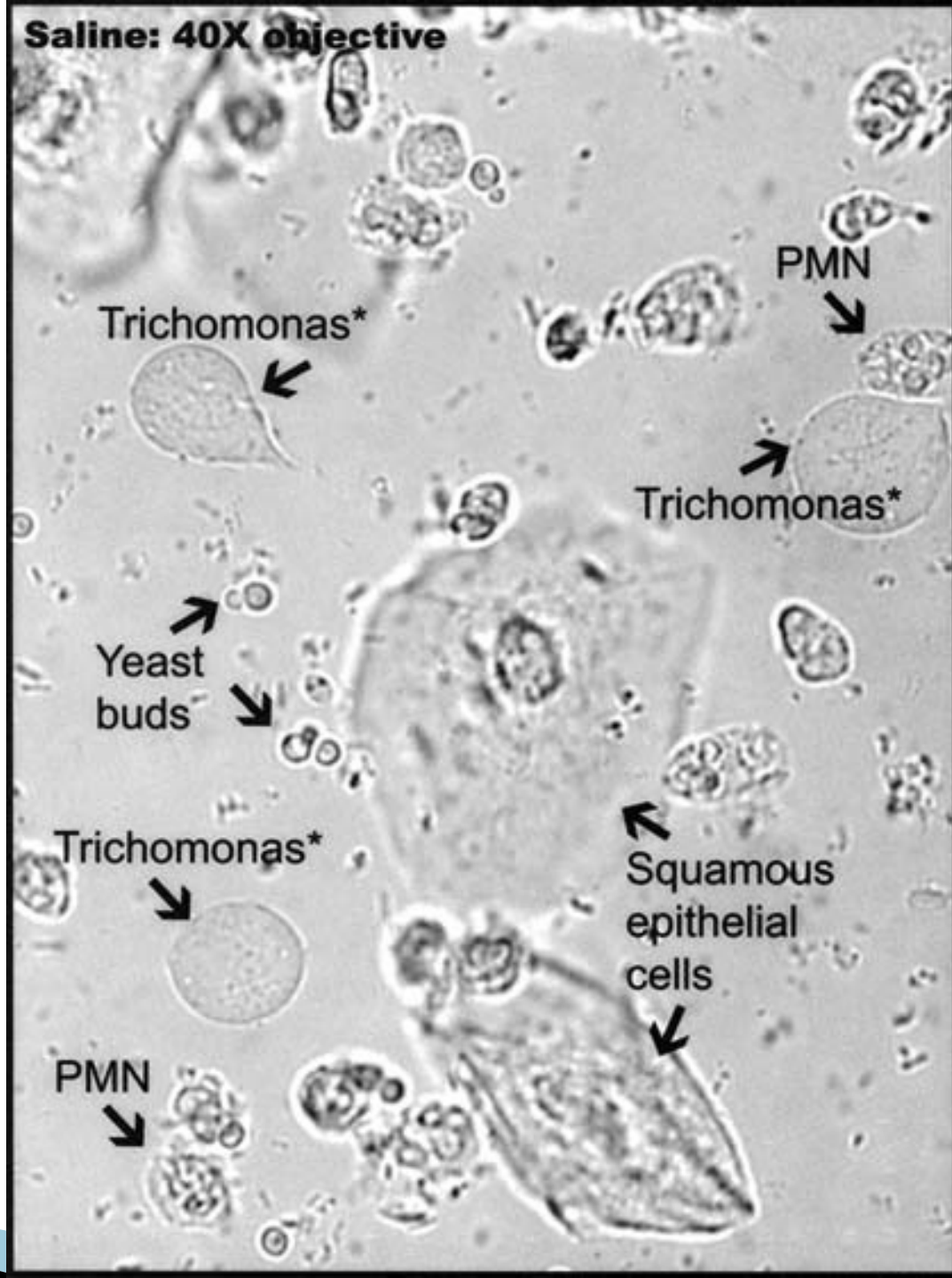
SPECIMEN

# Diagnostika trichomonád

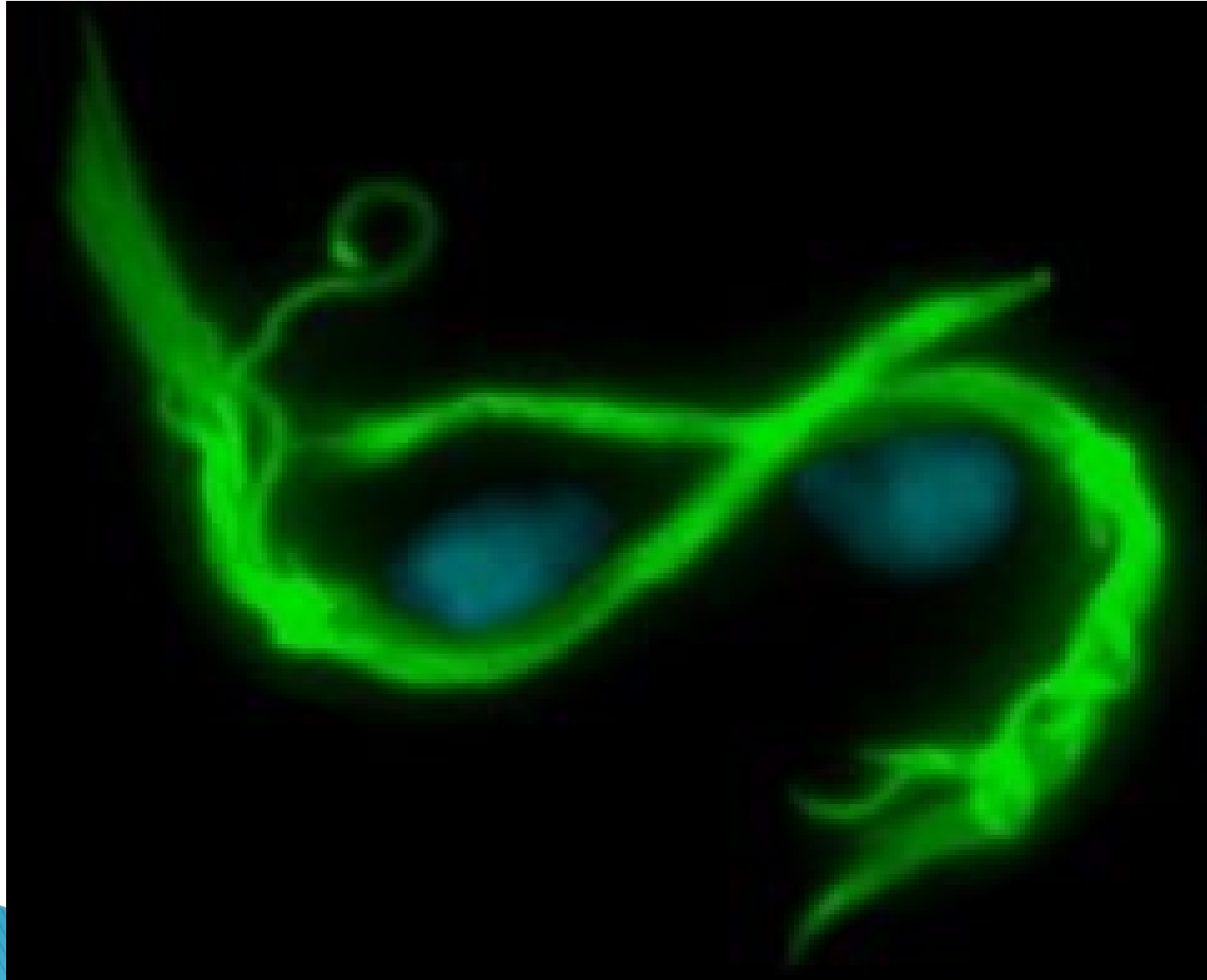
- Trichomonády se v poslední době diagnostikují zejména kultivačně-mikroskopickým vyšetřením:
  - odebere se výtěr na tamponu zanořeném do média C. A. T.
  - médium se nechá kultivovat do druhého dne
  - kapka média se mikroskopuje jako nativní preparát
- Tyto preparáty však nelze uchovat
- Proto v praxi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

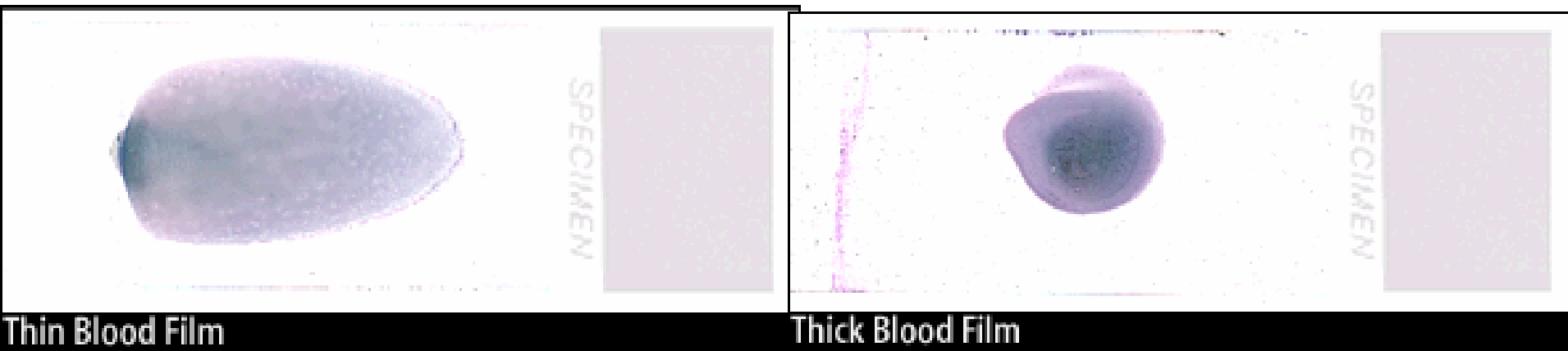
## a) Odběry na střevní parazity

- 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

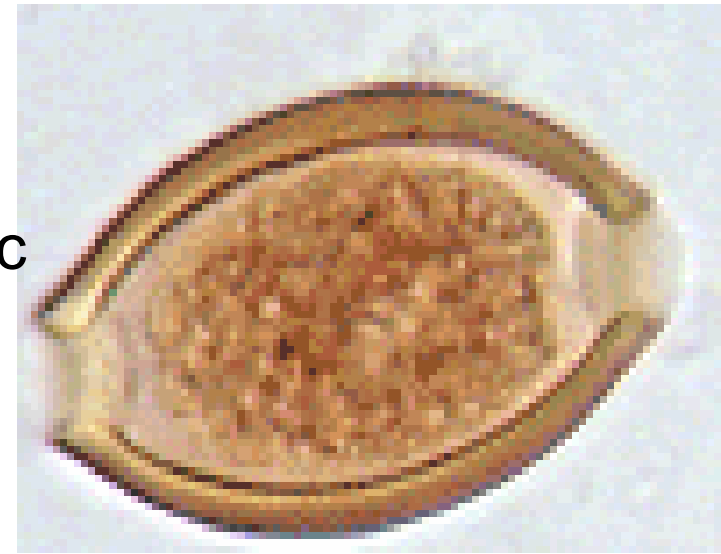
# Úkol 3: Morfologie vajíček střevních parazitů

Alespoň tyto tvary byste měli znát ke zkoušce



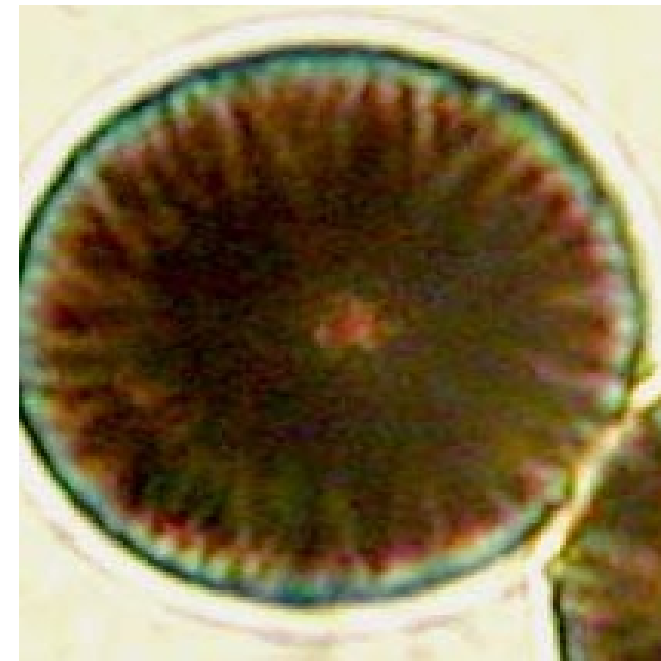
Roup  
*Enterobius*

Tenkohlavec  
*Trichuris*



Škrkavka  
*Ascaris*

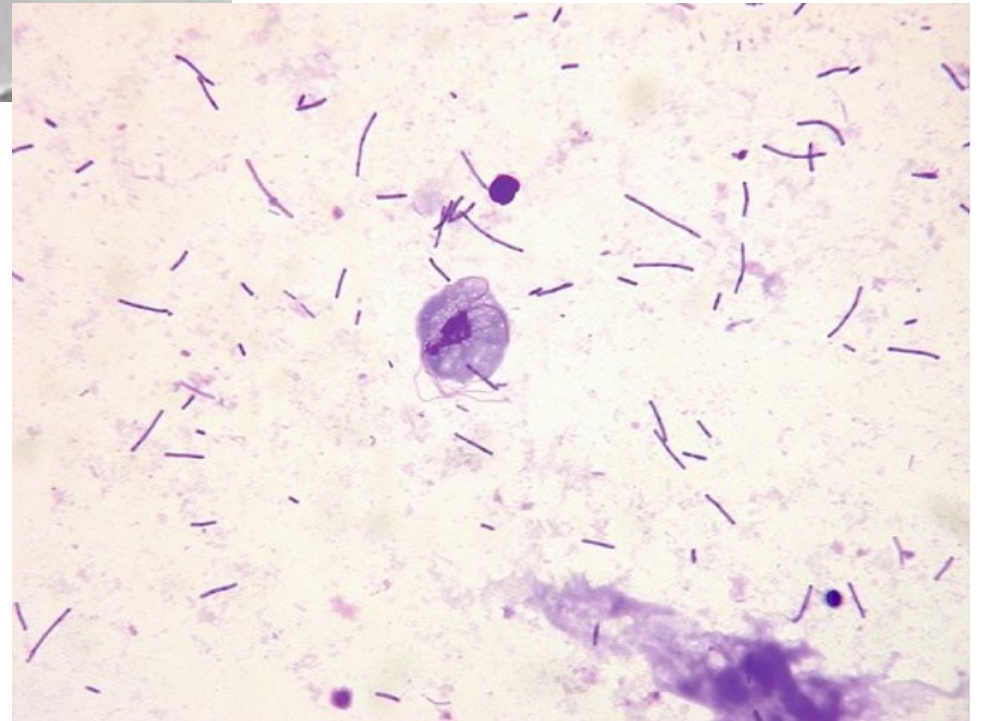
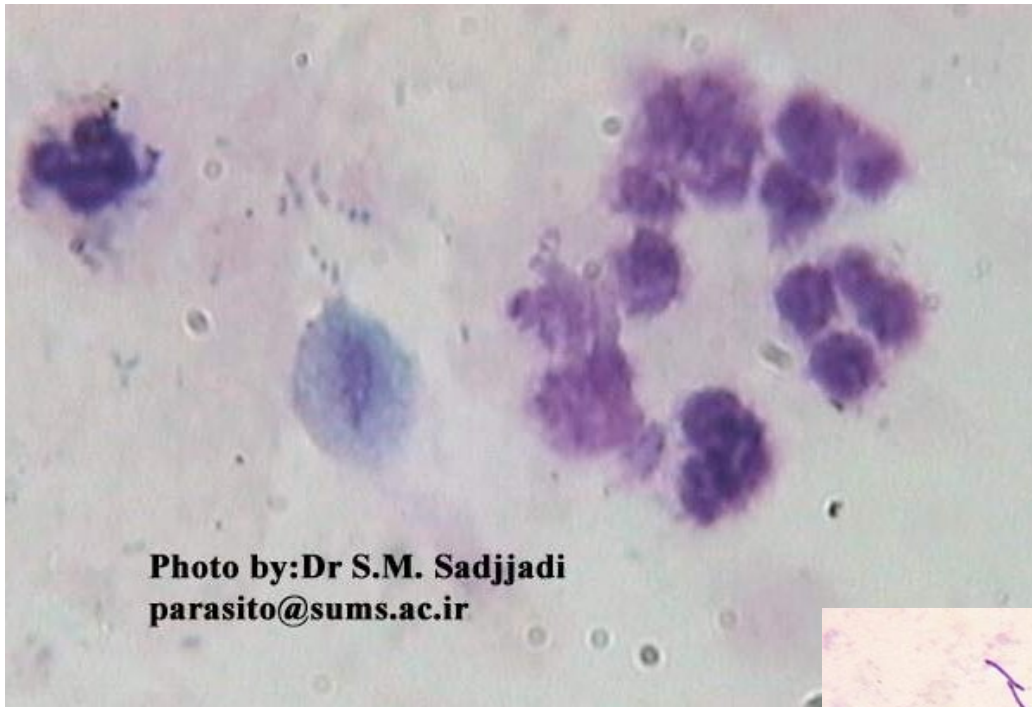
Tasemnice  
*Taenia*



# 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.







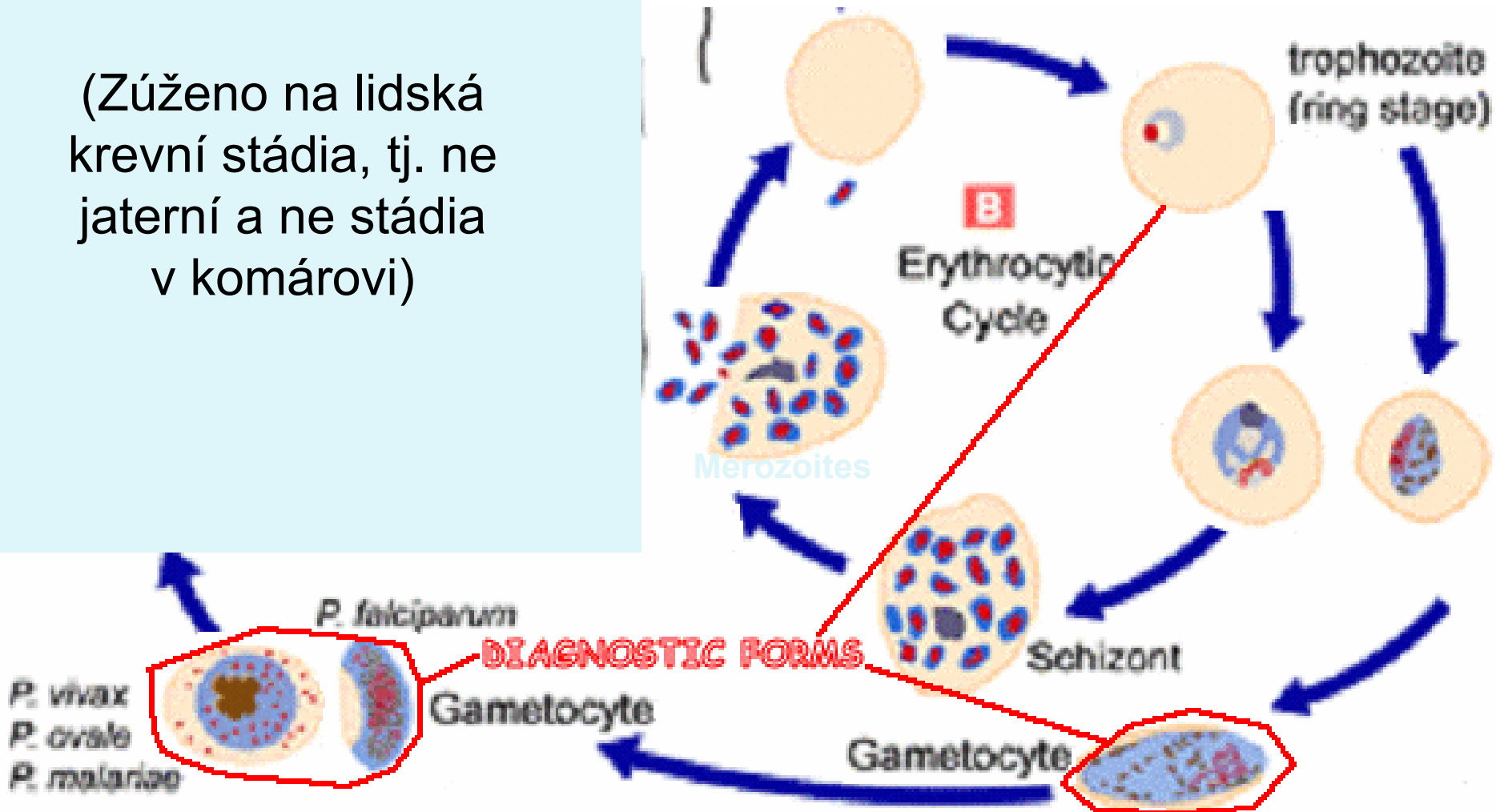
# Úkol 5 - Diagnostika malárie

## 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

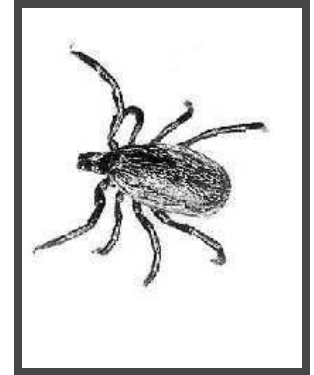
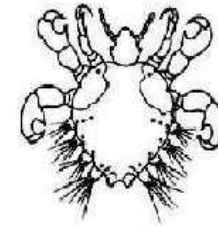
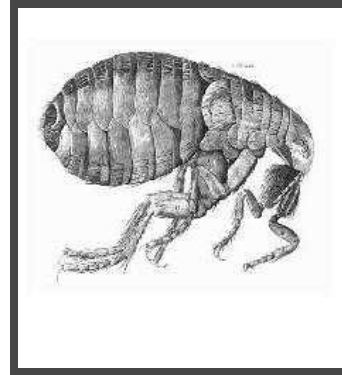
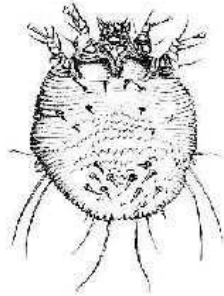
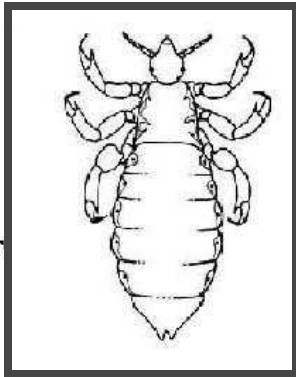
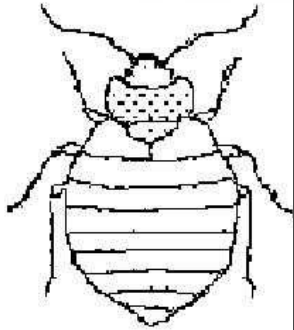
# Úkol 6: Popis pacientů

- 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<br>IgA | ELISA<br>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)