Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

Parazitologické vyšetření stolice

bakalářská práce

Autor práce: Tereza Pechová
Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Datum odevzdání práce: 14.8.2013

Abstrakt

Střevní parazité jsou celosvětovým zdravotním problémem, nejen v rozvojových zemích.

Dbát by se mělo především na prevenci a diagnostiku stále více importovaných parazitárních onemocnění.

Parazit potřebuje ke svému životu jiný živý organismus, aby mu mohl odebírat živiny a tím mu škodit. Pro svůj další vývoj potřebuje definitivního hostitele, kterým se může stát i člověk.

Infekční onemocnění vyvolávají živočišné organismy, jako jsou prvoci, helminti, členovci. Mezi nejčastější parazity, ohrožující lidský organismus, patří jednobuněčné organismy- protozoa. Z této říše se nejčastěji vyskytuje rod *Giardia intestinalis* a *Entamoeba histolytica*.

Typickým příznakem přítomnosti prvoka *Giardia intestinalis* je páchnoucí, vodnatá stolice s hlenem. Infekční onemocnění způsobené tímto prvokem se nazývá giardióza.

Při pozření fekálně znečištěné potraviny nebo vody se můžeme nakazit amébózou. Původce tohoto onemocnění je *Entamoeba histolytica*. Hojně se vyskytuje v oblastech s nízkou hygienickou úrovní. Jedná se o závažné onemocnění, které bez léčby může končit smrtí.

Mezi další časté střevní parazity patří helminti. Jedná se o endoparazity cizopasící ve střevě a i jiných orgánech. Helminti se dělí na 3 skupiny: trematoda, cestoda a oblé červy.

Mezi často vyskytující se cestody patří *Taenia saginata*. Onemocnění tímto parazitem se nazývá taenióza. Mezihostitelem tohoto parazita je skot, který má ve svalovině cysticerkus. Ten je pro člověka zdrojem infekce. Člověk se nakazí pozřením nakaženého, tepelně neupravovaného masa. Definitivním hostitelem je člověk.

Co se týče střevních parazitů na území ČR, patří třída nematoda mezi nejpočetnější. Tato třída zahrnuje hodně druhů. Mezi nejvýznamnější patří *Enterobius vermicularis, Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Ancylostoma duodenale*.

Nejběžnějším původcem střevních nematodóz na světe je *Enterobius vermicularis*. Onemocnění, při němž jsou postiženy především děti, se nazývá enterobióza. Přenáší se z člověka na člověka a je možná i autoinfekce. V blízkosti análního otvoru naklade samička vajíčka. Člověk se pak nakazí pozřením infekčních vajíček.

Při masivní infekci parazitem *Ancylostoma duodenale* se usadí červy ve střevě. Způsobují průjmy a zánětlivé reakce střeva. Pro diagnostiku se používá výhradně čerstvá stolice. Pomocí mikroskopické techniky se hledají vajíčka ve stolici.

Ascaris lumbricoides je původcem askaridózy. Onemocnění je nebezpečné zejména pro děti.

Zdrojem *Trichuris trichiura* je člověk. Vyloučená vajíčka zrají ve vnějším prostředí. Onemocnění se nazývá trichurióza.

Při podezření na nákazu parazitem je třeba věnovat pozornost pacientům, trpícími poruchami střevními nebo žaludečními, zejména pak pacientům s eosinofilií. V dnešní době, kdy výrazně klesl počet nakažených osob na našem území, je třeba sledovat osoby, vracející se z tropů a subtropů.

Cílem této bakalářské práce je popis vyšetření vzorků, podezřelých z nákazy střevním parazitem a provádět laboratorní diagnostiku střevních parazitů pomocí rutinních metod.

Dalším cílem je zhodnocení prevalence onemocnění vyvolané střevními parazity. Veškeré mnou vyšetřované vzorky pochází z parazitologického a sérologického oddělení Fakultní nemocnice Plzeň. Závěr mé práce je proto věnovaný vyhodnocení stavu v Plzeňském kraji.

Celkem bylo vyšetřeno 316 vzorků stolice za období srpen až listopad. Vzorky pacientů se zpracovávaly pomocí rutinních metod dle KATO a koncentrační flotační metody dle Fausta. Cílem těchto metod je rozlišit ve stolici cysty prvoků, vajíčka helmintů, celé články parazitů.

Vyšetřované vzorky byly prohlíženy pomocí mikroskopu Olympus DP 20. Při orientačním vyhledávání se vzorky prohlížejí při zvětšení 100 x. Při podrobnějším hledání při zvětšení 200 x. Barvené preparáty 1000x.

Stolice by se měla zpracovávat čerstvá a to zejména u vyhledávání améb, jelikož se ve vychladlé stolici přestávají pohybovat a hynou. V čerstvé stolici se také lépe diagnostikují bičíkovci, vajíčka červů.

Ze skupiny vyšetřovaných vzorků se potvrdily pozitivní výsledky u 7 lidí. Z toho bylo pozitivních 5 mužů. Čtyři pacienti byli infikováni prvokem *Giardia intestinalis*. Jeden pacient měl v tomto období *Enterobius vermicularis*. Zbylé 2 pozitivní vzorky měly ženy. Obě ženy byly nakaženy cizopasným helmintem *Enterobius vermicularis*. Jako negativní výsledek bylo vyhodnoceno 309 preparátů.

Klíčová slova: střevní paraziti, helminti, protozoa, střevní parazitózy, diagnostika

Abstract

Intestinal parasites pose a global health problem, it does not concern only developing countries.

Care should be taken primarily on prevention and diagnostics of increasingly imported parasitic diseases.

Parasite needs another organism for living in order to remove its nutrients and thereby be harmful to it. Parasite needs a definitive host for its further development, which may be even a human.

Infectious diseases are caused by organisms such as protozoa, helminths and arthropods. The most common parasites threatening the human organism are single-celled organisms called protozoa. Genus *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* are the most frequently investigated parasitic protozoa.

Typical symptom presence of protozoan *Giardia intestinalis* is smelly, watery stool with mucus. Infectious disease caused by this protozoan is called giardiasis.

Ingestion of faceal contamined food or water will lead to amebiasis infection. The originator of this disease is *Entamoeba histolytica*. It is widespread in areas with low levels of hygiene. It is a serious disease which, without treatment, can lead to death.

Other common intestinal parasites are helminths. These are endoparasites parasitizing in the intestine and even other organs. Helminths are divided into three groups : cestodes, trematoda and round worms.

Among the frequently occurring include cestodes *Taenia saginata*. Disease caused by this parasite is called taeniasis. An intermediate host for this parasite is cattle that has cysticercus in the muscle mass. That is the source of infection for humans. People become infected after ingestion of infected, thermally untreated meat. The definitive host is a human.

As regards intestinal parasites in the Czech Republic, the class of nematodes is among the most numerous. This class is divided into multiple species. Among the most significant are *Enterobius vermicularis, Ascaris lumbricoides, Trichuris Trichiura, Ancylostoma duodenale*.

The most common originator of intestinal nematodoses in the worl is *Enterobius vermicularis*. Parasitic disease called enterobiasis affects mainly children. Typical transmission is from person to person and is perhaps autoinfection. The female lays eggs around anus. The person becomes infected after ingestion of infectious eggs.

In case of massive infection produced by parasite *Ancylostoma duodenale* worms settle in the intestine. They cause diarrhoea and intestinal inflammatory reactions. Doctors strictly use fresh stool samples for diagnostics. They look for eggs in the stool using microscopic techniques.

Ascaris lumbricoides is the originator of ascaridosis. The disease is dangerous especially for children.

The source of *Trichuris trichiura* is human. Excreted eggs mature in the external environment. The disease is called trichuriosis.

In case of suspected infection with parasite it is necessary to draw attention to patients suffering from intestinal or gastric disorders, especially to patients with eosinophilia. Nowadays, when the number of infected people in our country has significantly decreased, it is necessary to monitor people returning from the tropics and subtropics.

The aim of this bachelor thesis is the description of the test samples suspected of being infected with intestinal parasites and perform laboratory diagnostics of intestinal parasites using conventional methods.

Another goal is to evaluate the prevalence of diseases caused by intestinal parasites. All of my tested samples come from Parasitological and Serological Department of Pilsen Faculty Hospial (Fakultní nemocnice Plzeň). The conclusion of my work is therefore devoted to the evaluation of the situation in the Pilsen region.

In total, 316 stool samples was examined over the period from August to November. Patient's samples were processed using routine methods according to KATO and concentration flotation method by Faust. The aim of these methods is to distinguish protozoan cysts, helminth eggs in the stool and whole parts of parasites.

Investigated samples were observed with the microscope Olympus DP 20. When the search is indicative, samples are observed at the magnification of 100x. A more detailed search needs the magnification of 200x. Colored slides of 1000x.

The stools should be processed fresh, especially in search of amoebae, beause they cease to move and die in the cool stool. Flagellates and eggs of worms are also easier to diagnose in fresh stool.

From the group of investigated samples positive test results were confirmed for 7 people, 5 the positive ones were men. Four patients were infected with the protozoan *Giardia intestinalis*. One patient had in this period *Enterobius vermicularis.* The remaining positive samples came from women. Both women were infected with helminth *Enterobius vermicularis.* As a negative outcome were evaluated 309 samples.

Key words: intestinal parasites, helminths, protozoa, intestinal parasitosis, diagnostics

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval(a) samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne (datum) .....

(jméno a příjmení)

Poděkování

Děkuji především RNDr. Karlu Fajfrlíkovi, Ph.D., za nadstandardní pomoc při zpracovávání této práce, za trpělivost, vstřícnost a získání podkladů. Za cenné rady, připomínky, ochotu a hlavně za veškerý čas, který mi byl věnován, děkuji celému kolektivu z oddělení parazitologie a sérologie ve FN Plzeň.

Obsah

Úvod ... 12
1 Lékařská parazitologie ... 13
1.1 Obecné pojmy ... 13
1.1.1 Parazitologie ... 13
1.1.2 Parazitismus ... 13
1.1.3 Epidemiologie parazitóz ... 13
1.1.4 Přenos parazitů ... 14
1.2 Vliv parazita na hostitele ... 14
1.2.1 Definitivní hostitel ... 14
1.2.2 Působení parazita na hostitele ... 14
1.2.3 Parazitární aktivita ... 15
1.3 Akutní nákaza ... 15
1.4 Latentní nákaza ... 15
1.5 Historie výskytu parazitárních nákaz ... 15
1.6 Mikroskopie ... 16
1.7 Diagnostika ... 17
2 Střevní paraziti ... 18
2.1 Obecné dělení parazitů ... 18
2.1.1 Protozoa ... 18
2.1.1.1 Bičíkovci ... 18
2.1.1.1.1 *Giardia intestinalis*, Lamblia střevní ... 18
2.1.1.2 Améby ... 20
2.1.1.2.1 *Entamoeba histolytica*, měňavka úplavičná ... 20
2.1.2 Helminti ... 22
2.1.2.1 Cestoda ... 22
2.1.2.1.1 Taenia saginata, tasemnice bezbranná ... 23
2.1.2.1.2 Taenia solium, tasemnice dlouhočlenná ... 24
2.1.2.1.3 Diphyllobothrium latum, škulovec široký ... 25
2.1.2.1.4 Hymenolepis nana, tasemnice dětská ... 26
2.1.2.2 Nematoda (Hlístice) ... 27
2.1.2.2.1 *Enterobius vermicularis*, roup dětský ... 28
2.1.2.2.2 *Ascaris lumbricodea*, škrkavka dětská ... 29
2.1.2.2.3 *Ancylostoma duodenale, Necator americanus* ... 31
2.1.2.2.4 *Trichuris trichiura*, tenkohlavec lidský ... 32
3 Cíle práce ... 34
4 Metodika ... 35
4.1 Vyšetřovaný materiál ... 35
4.2 Odběr biologického materiálu ... 35
4.2.1 Odběr čerstvého materiálu ... 35
4.2.2 Odběr útvaru ... 35
4.3 Laboratorní diagnostika ... 36

4.3.1 Makroskopický průkaz 36
4.3.2 Mikroskopický průkaz 36
4.4 Zpracování materiálu 37
4.4.1 Tlustý nátěr dle KATO 37
4.4.2 Koncentrační flotační metoda dle Fausta 38
4.4.3 Barvený preparát 39
4.4.3.1 Barvení železitým hematoxylinem dle Heidenheina 39
4.4.3.2 Barvení dle Miláčka 40
4.4.3.3 Barvení dle Ziehl-Neelsena 40
4.4.4 Nativní preparát 40
4.5 Používané laboratorní vybavení 41
5 Výsledky 42
5.1 Vyhodnocení výsledků 42
5.2 Vlastní výsledky 42
6 Diskuze 46
7 Závěr 52
8 Seznam použité literatury 53

Úvod

Parazitologie se zabývá vztahy mezi parazity a jejich hostiteli.

I přes značný pokles onemocnění způsobených střevními parazity v České republice, jsou nákazy stále celosvětovým problémem. Nejvíce se objevují v rozvojových zemích a v oblastech s nedostatečnou hygienickou úrovní. Na našem území se objevují nákazy střevními parazity zejména díky importu. Z těchto důvodu jsem si vybrala téma parazitologické vyšetření stolice.

Při akutní nákaze střevními parazity se mohou projevit klinické příznaky, jako jsou silné průjmy, nevolnost, ztráta tělesné hmotnosti. Velké riziko ovšem představují lidé, kteří se označují jako latentní nosiči. V tomto případě nákaza nevyvolává žádné klinické příznaky, ale člověk vylučuje do vnějšího okolí infekční parazity.

Paraziti, zmínění v této bakalářské práci se dostávají do těla přímým pozřením, nejčastěji s kontaminovanou potravou nebo vodou. Jejich přítomnost v těle se prokazuje ve stolici pomocí rutinních metod. Tato práce je zaměřená na vyšetření pomocí metody dle Kato a koncentrační flotační metody dle Fausta. Diagnostika střevních parazitů je závislá hlavně na mikroskopické technice. Pomocí mikroskopu lze nacházet vajíčka helmintů, cysty prvoků i články parazitů.

1 Lékařská parazitologie

1.1 Obecné pojmy

1.1.1 Parazitologie

Parazitologie se zabývá živými organismy, kteří způsobují infekce člověka. Jedná se o organismy živočišného typu, tedy členovce, červy a prvoky (15)

1.1.2 Parazitismus

Tímto pojmem se vyznačuje forma soužití organismů, kdy je alespoň jeden organismus závislý na druhém a vyplívají výhody buď pro jednoho z nich, nebo pro oba. (24)

Parazit žije na úkor jiného organismu, hostitele. Jednohostitelští parazité prodělávají celý vývoj v jediném hostiteli. Vícehostitelští parazité střídají během života dva a více hostitelů. Část vývoje tohoto druhu parazita může probíhat neparazitickým způsobem života. Vývoj je dokončen v definitivním hostiteli, předstupně se odehrávají v mezihostiteli.

Při parazitizmu je porušen rovnovážný stav a dochází k vážnému až smrtlnému ohrožení hostitele. (15)

1.1.3 Epidemiologie parazitóz

Zoonózou se označuje, podle Světové zdravotnické organizace, přenos nemoci ze zvířete na člověka. Dále mohou nemoci kolovat ze zvířete na zvíře nebo pouze mezi lidmi. (15)

1.1.4 Přenos parazitů

Dutina ústní je nejčastější vstupní branou pro parazity. Tyto nákazy jsou často spojené se stupněm hygieny v lidské společnosti, dále s dostupností pitné vody.

Někteří parazité dokážou proniknout do lidského těla pokožkou, jedná se zejména o larvy některých parazitických červů.

Další přenos na člověka je hmyzím vektorem. (2)

1.2 Vliv parazita na hostitele

Časová závislost mezi klinickými příznaky a výskytem parazita v organismu bývá různá. Inkubační doba je závislá na časovém úseku mezi infekcí a prvními klinickými příznaky. Jako subpatentní období se označuje nemožnost prokázání parazita pro nepatrné množství. (15)

1.2.1 Definitivní hostitel

V tomto hostiteli se vytváří optimální podmínky pro vývoj a množení parazita. (15)

Lidé jsou definitivními hostiteli až pro 300 druhů červů a více než 70 druhů prvoků. (3)

1.2.2 Působení parazita na hostitele

Čím více je v hostiteli parazitů, tím více působí mechanický účinek. Například škrkavky mohou způsobit smrt hostiteli tím, že mechanicky ucpou střevo. *Entamoeba histolytica* zase rozpouští střevní epitelie svými proteolytickými enzymy a může vzniknout absces v tlustém střevě.

Střevní paraziti ochuzují hostitele o část potravy, kterou potřebují ke svému životu, tím dochází k poruchám výživy. *Giardia intestinalis* pokrývají velké části sliznice střeva, čímž snižují resorpční plochu. (15)

1.2.3 Parazitární aktivita

Nakažlivost je dána schopností proniknout vstupní branou do těla hostitele, adaptovat se, množit a nastoupit cestu k novému hostiteli. Průnik do hostitele může být aktivní, pasivní, přímým dotykem, potravu či vodou nebo vektorem. Schopnost uchytit se závisí na specifickém vztahu hostitele a parazita. (15)

1.3 Akutní nákaza

Může končit vyléčením, podaří-li se hostiteli včas omezit nebo úplně zneškodnit patogenní působení parazita, nebo smrtí v opačném případě.

Při superakutních nákazách je veliké riziko smrti, jelikož se parazit náhle silně rozmnoží. Z akutní nákazy se pacient může dostat do fáze chronické, při níži ubývají paraziti v hostiteli a zároveň se snižují klinické projevy. (15)

1.4 Latentní nákaza

Tato fáze vzniká, jsou-li v těle hostitele paraziti přítomni, ale nevznikají příznaky onemocnění. Latentní fáze je nebezpečná, jelikož se z hostitelů stávají nosiči, kteří i bez klinických příznaků vylučují cysty nebo vajíčka parazitů do vnějšího prostředí. (15)

1.5 Historie výskytu parazitárních nákaz

První zmínky o parazitárních infekcích pochází už ze starověku. První objevování parazitologie probíhala ve dvou liniích. Nejprve šlo o objev parazita a

následně spojování souvislostí s onemocněním. Poté následovalo uznání nemoci a zjištění, že to bylo skutečně způsobené parazitem. (3)

Střevní paraziti se vyvinuli nejspíše z jedinců, kteří se dostali potravou do jiných jedinců a zvykli si na nové výhodné prostředí. (15)

1.6 Mikroskopie

Za spolehlivou a levnou metodu lze považovat mikroskopický průkaz. (1) Mikroskop je základním nástrojem pro diagnostické laboratoře. (5)

V laboratoři se využívá světelný mikroskop, který se skládá z mechanických, optických, osvětlovacích částí. Mezi mechanické části mikroskopu řadíme stativ s okulárovým tubusem, objektivovou hlavicí a stolek. (15)

Na stativu lze pohybovat zaostřovacími šrouby, které umožňují pohyb tubusu. Na stolek mikroskopu se upevňují zhotovené preparáty. Na spodní straně tubusu je záchyt pro objektiv, který má revolverovou hlavici pro 5 objektivů.

Preparáty se nejprve prohlížejí pod menším zvětšením 60- 100 x, poté při silnějším zvětšení 300-600 x. Preparáty se prohlíží systematicky meandrovitým pohybem. Pohybující se objekty se přikryjí krycím sklíčkem. Při pozorování nativního preparátu se využívá mikroskopování s fázovým kontrastem. Tím se v preparátu zobrazí struktury, jako jsou jádra, bičíky. (15)

1.7 Diagnostika

Diagnostika parazitárních infekcí je založena na základě velikosti, morfologie, barvy a pohybu parazitů. Velikost a morfologie jsou hlavními parametry pro rozpoznávání parazitů ve stolici. Nejběžněji používané metody pro diagnostiku všech parazitů, které se nachází v trávicím traktu, je fekální flotační metod dle Fausta, metoda dle Kato a makroskopické zhodnocení. (5)

Hmotnost a typ používaného roztoku při zpracování dle Fausta často ovlivňuje dosažené výsledky.(18) Jedinou nevýhodou této metody je, že vajíčka některých parazitů, mohou být těžší než flotační roztok a klesnou dolů na dno zkumavky. (23)

Další důležitou technikou pro diagnostiku střevních parazitů je přímá metoda. (5)

V některých případech se pro podpůrnou diagnostiku používají sérologické testy (5) nebo polymerázovou řetězovou reakci. Ty se provádějí ve specializovaných laboratořích s odborným poradenstvím. (4)

Pro diagnostiku parazitů v rozvojových zemích je nutné využít metod levných, jednoduchých a efektivních. Mezi jednu z nich se řadí spontánní sedimentační technika v trubce (SSTT). Využívá se v chudých zdravotnických zařízeních a v polních pracovních podmínkách. Mezi výhody SSTT patří jeho schopnost detekovat většinu střevních parazitů, včetně vajíček, larev, cyst a trofozoitů. Dále pak mezi výhody patří jeho nízké náklady. (27) Oproti kvantitativnímu hodnocení fekálních vzorků se použitím trubky předpovídá kratší cesta sedimentace vzorku. Zvyšuje koncentraci parazitů pro mikroskopickou analýzu, minimalizuje riziko kontaminace, snižuje zápach a optimalizuje pracovní prostor.(22)

2 Střevní paraziti

2.1 Obecné dělení parazitů

Systematicky se dělí paraziti na cizopasné prvoky (*Protozoa*), cizopasné červy (helminty), cizopasné členovce (*Arthropoda*) . (29)

2.1.1 Protozoa

Mezi prvoky patří eukaryotické organismy, které mají většinou velikost od 10 μm do 150 μm. Velký počet protozoí parazituje u člověka ve střevním traktu. Lékařská protozoologie dělí prvoky na bičíkovce, améby, výtrusovce a nálevníky. (29)

2.1.1.1 Bičíkovci

Pohybují se pomocí bičíku. (29) Množí se nepohlavně. Přenos probíhá perorální cestou nebo bodavým hmyzem. (18)

2.1.1.1.1 *Giardia intestinalis*, Lamblia střevní

Typickým zastupitelem bičíkovců je *Giardia intestinalis*. Je původcem průjmovitých onemocnění, které jsou rozšířené po celém světě. Nejčastěji se vyskytuje v dětském věku. Onemocnění se nazývá giardióza (29).

Morfologie

Pohybliví trofozoiti mají tvar hrušky a měří 10-15 x 6-10 μm. Většinu organel mají zdvojených. K epitelu střeva se trofozoit přichycuje pomocí přísavky ve tvaru disku. Tělo má dvě jádra a čtyři páry bičíků. (29,6)

Cysty giardií jsou menší, mají oválný tvar a měří 8-12 x 7-10 μm. Obsahují 4 jádra s někdy pozorovatelným přísavným diskem a bičíkem. (29,6)

Přenos nákazy

Nákaza vzniká pozřením cyst s vodou nebo potravinami. Trofozoiti adherují k povrchu enterocytů duodena, kde se množí binárním dělením. Následně okupují tenké střevo. Trofozoiti se vylučují stolicí a jsou okamžitě infekční. K podmínkám vnějšího prostředí jsou velmi odolné. (29)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy jsou infikovaní lidé a zvířata jako jsou psi, bobři, potkani, kteří stolicí vylučují cysty. Přenos nákazy probíhá fekálně-orální cestou.(29)

Klinický obraz

U dospělých je průběh nákazy většinou bezpříznakový nebo subklinický, u dětí jsou projevy intenzivnější. Minimální dávka k vyvolání nákazy je 10- 100 cyst. Akutní fáze je spojená s bolestmi v nadbřišku, anorexií, nauzeou, průjmy, váhovým úbytkem. Stolice obsahuje větší množství tuku a hlenu. (14)

Inkubační doba

U giardiózy je 1-3 týdny, ve stolici se objevují první cysty po 3-4 týdnech.(14)

Diagnostika

Používá se mikroskopický průkaz cyst a trofozoitů v nativním, fixovaném a barveném preparátu. U barveného preparátu se používá barvení Giemsa- Romanovskij, trichrom. Trofozoiti se nacházejí pouze v průjmovité stolici. (14)

Terapie:

Přípravek pro léčbu giardiózy je doporučen metronidazol. (6)

2.1.1.2 Améby

Pohybují se pomocí panožek, tzv. plazmatických pseudopodií. Množení probíhá nepohlavně. Přenos probíhá převážně perorální cestou. (18)

2.1.1.2.1 *Entamoeba histolytica*, měňavka úplavičná

Je nejvýznamnějším patogenem ze všech 8 druhů měňavek v zažívacím ústrojí člověka. *E.histolytica* je kosmopolitně rozšířená měňavka, zejména v oblastech s hygienickou zanedbaností, v tropech a subtropech. U člověka se vyskytují dvě formy. Nepatogenní menší forma se nazývá *minuta* a patogenní větší forma *magna*. Závažné střevní onemocnění se nazývá Amébóza. (15,29,28).

Morfologie

V měňavce úplavičné nenacházíme mitochondrie ani Golgiho aparát. Množení probíhá binárním dělením. (24)

Forma minuta

Měří 10-20 μm. Cysty jsou čtyřjaderné obsahujé tzv. chromidie, což znamená silně barvitelná tyčinkovitá tělíska. Tato forma se nachází v lumen tlustého střeva (29,24)

Forma magna

Měří 20-40 μm. Jedná se o neinvazivní stadium trofozoitu. V plazmě jsou viditelné fagocytované erytrocyty. Cysty se v této formě netvoří, jelikož se tato forma vyskytuje pouze v akutní fázi onemocnění. (29,24,14)

Přenos nákazy

Člověk pozře cysty obsažené buďto v potravinách nebo nápojích. V částech tenkého střeva se z cyst měňavky úplavičné uvolní čtyřjaderné améby. Ty se dále dělí na jednojaderné a v tlustém střevě se živí bakteriemi. Forma minuta se přemění na formu magna a ta dále napadá střevní sliznici. Tyto améby mohou dále pronikat i do hlenu, kde likvidují enterocyty.(29)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy mohou být pouze lidé, kteří vylučují infekční cysty ve stolici. Velice nebezpečné pak bývají osoby, u kterých se neprojeví žádné symptomy, naznačující toto onemocnění a přenášejí cysty. *E.hystolitica* bývá v ČR diagnostikovaná zejména u osob, vracející se z teplých krajin. (29)

Klinický obraz

Onemocnění může být asymptomatické nebo klinicky manifestní, záleží na místě postižení. Střevní forma onemocnění se projevuje jako akutní kolitida s dyzenterickými průjmy. Stolice bývá zabarvena dočervena, jelikož může obsahovat příměs natrávené krve. Působení améb mimo střevo se nazývá extraintestinální infekce a může mít za příčinu napadení jaterního parenchymu a tvorbu velkých abscesů. Touto formou jsou postihováni častěji muži a u dětí se nerozvíjí. Na rozdíl od střevní formy se zde projevují vysoké horečky. Jen ve vzácných případech můžou abscesy postihnout i jiné orgány. (29)

Inkubační doba

Týden až několik měsíců (15)

Diagnostika

Invazivní formy jsou vyšetřovány mikroskopickým způsobem pomocí nativního preparátu. Stolice pro vyšetření musí být čerstvá, jelikož ve vychladlé a staré stolici měňavka ztrácí pohyblivost a může i odumřít. K identifikaci je vhodné také použít

barvící metody trichrom či železitý hematoxylin. Pro diagnostiku cyst lze využít koncentrační metodu dle Fausta. Sérologické testy k detekci protilátek proti amébám jsou vhodné především u pacientů s jaterním abscesem. Pro klinické laboratoře však zůstává praktickým, citlivým a specifickým způsobem vyšetření stolice. (29,14,26)

Terapie

Můžeme použít nitroimidazol nebo metronidazol (14)

2.1.2 Helminti

Jedná se o mnohobuněčné organismy. Jejich tělo je souměrné, dělí se na přední a zadní konec, má různě utvářený kožně svalový sval. Jsou schopni se různým způsobem přizpůsobit mikroprostředí střeva obratlovců. (29,13,8)

2.1.2.1 Cestoda

Známe asi 5000 druhů tasemnic, parazitujících u všech skupin obratlovců. Tasemnice mají většinou společné některé znaky jako je například skolex neboli hlavičku, která má přichycovací orgány, dále pak tělo tzv. segmentovanou strobilu. Tasemnice mají ve většině případech v každém článku samčí a samičí reprodukční soustavu, což znamená, že jsou hermafroditi. (28)

2.1.2.1.1 Taenia saginata, tasemnice bezbranná

Vyskytuje se kosmopolitně. Jejím mezihostitelem je skot a definitivním hostitelem se stane člověk (28). Pro člověka je zdrojem infekce asi 1 cm velký cysticerkus (boubel) , který se nachází ve svalovině skotu. Zralé články tasemnice se jednotlivě odtrhávají a vylézají z análního otvoru i mimo defekaci. (16) Onemocnění se nazývá taenióza (2)

Morfologie

Velikost tasemnice je od 3 m do 10 m. Na hruškovité hlavičce se nachází pouze 4 přísavky bez háčků. U zralého článku nacházíme na každé straně 15- 35 děložních větviček .

Cysticerkus, vyvíjející se ve skotu je podlouhlý váček o velikosti 4-9 x 3-7 mm s hlavičkou bez háčků. Dospívá mezi 14- 18 týdny a poté je schopen nákazy. Ve skotu může žít 21-30 měsíců. (16)

Přenos nákazy

Člověk se nakazí pozřením tepelně neopracovaným hovězím masem, ve kterém se nacházejí boubele. (28) Typickým příkladem je tatarský biftek. Vajíčka tasemnice bezbranné musí projít složitým vývojem při průchodu žaludkem přežvýkavců, proto se boubele nemohou u člověka nacházet. (29)

Zdroj nákazy

Zdroj nákazy je člověk, v němž tasemnice asi 14 týdnů pohlavně dospívá. (16,29)

Klinický obraz

Mezi typické symptomy patří bolesti břicha, nausea, zvracení, nechutenství, ztráta tělesné hmotnosti, průjmy. Průběh bývá ale také bezpříznakový. (2)

Inkubační doba

Období 10-12 týdnů. (29)

Diagnostika

Taeniózu diagnostikujeme hlavně makroskopickým nálezem ve stolici. Nejčastěji nacházíme celé články parazita. (2) Musíme dbát na správné rozlišení parazita, jelikož jsou vajíčka Taenia asiatica a T. saginata ve stolici téměř totožné. (21)

Rozlišit T.saginata od T. solium lze pomocí barvící metody dle Ziehl- Neelsena. (12)

Terapie

Používají se léky praziqauntel a niklosamid. (29)

2.1.2.1.2 Taenia solium, tasemnice dlouhočlenná

Dalším původcem střevních cestodóz je *Taenia solium*. Onemocnění, vyvolané tímto parazitem je méně časté, než parazitem *Taenia saginata*. Projevuje se také bolestmi břicha, hubnutím, zažívacími potížemi. (29)

Morflogie

Larva se ke sliznici tenkého střeva přichycuje pomocí čtyř přísavek a dvojitými háčky. Dospívá během 10 – 12 týdny. Dospělá tasemnice dorůstá do velikosti 2 – 3 metrů. Tělo tasemnice je složeno z 1000 článků. (29)

Přenos nákazy

Člověk je nakažen při pozření syrového nebo nedostatečně tepelně upraveného masa, které obsahuje *cysticercus cellulosae*. (29)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy je člověk. (29)

Klinický obraz

Podobně jako u tasemnice bezbranné se symptomy projevují také bolestmi břicha, hubnutím, zažívacími potížemi. (29) T.solium je schopná napadat centrální nervovou soustavu. (19)

Inkubační doba

Trvá 10 – 12 týdnů. (29)

Diagnostika

Makroskopické vyšetření stolice či celého parazita. Nelze jí však takto odlišit od *T. saginata*. (29)

Terapie

Co nejdříve podáváme lék niklosamid nebo praziquntel. (29)

2.1.2.1.3 Diphyllobothrium latum, škulovec široký

Diphyllobothrium latum je největší lidskou tasemnicí. Onemocnění se nazývá difyloborióza. (29) Nachází se v oblasti velkých řek a jezer mírného pásma. Byl pozorován ale také v Austrálii a arktické. (7)

Morflogie

Larvy musí dosáhnout určitého stupně zralosti, aby byly schopny infikovat konečného hostitele.(26) Larva dospívá během 5-6 týdnů v tenkém střevě. Dospělá tasemnice dorůstá do délky až 12 metrů. Tělo tasemnice má až 3000 článků. Vajíčka jsou oválná, opatřená operkulem a měří 60- 70 μm. (29,7)

Přenos nákazy

Člověk se nakazí pozřením syrových sladkovodních ryb, které obsahují encystovanou larvu. (29)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy jsou savci, živící se rybami (losos, pstruh) a vylučující ve stolici vajíčka nebo články tasemnice. (29, 11)

Klinický obraz

Hlavními projevy jsou přerušované gastrointestinální potíže, abdominální distenze, anémie. (11)

Inkubační doba

Trvá přibližně 3 týdny. (29)

Diagnostika

Makroskopické zhodnocení stolice i přímé mikroskopické vyšetření charakteristických vajíček. (29)

Terapie

Pro léčbu se doporučuje praziquantel či niklosamid. (29)

2.1.2.1.4 Hymenolepis nana, tasemnice dětská

U člověka způsobuje hymenolepiózu. *Hymenolepis nana* je tasemnice, která se nejčastěji vyskytuje u dětí. (29,25)

Morflogie

Larva, zavrtávající se do sliznice tenkého střeva, pochází z vajíček, které se uvolňují do střevního obsahu. *Cysticerkoid* se vyvíjí v tenkém střevě a po 3- 6 dnech se uvolní zpět do střeva a rychle dorůstá v douspělou tasemnici. Dospělá tasemnice dorůstá do délky 15-40 mm. (29)

Přenos nákazy

Vajíčka se uvolňují ze zralých článků tasemnice a odcházejí se stolicí do vnějšího prostředí, kde jsou velice infekční. (29)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy jsou drobní hlodavci a člověk. (29)

Klinický obraz

Charakteristické jsou zažívací problémy, průjmy a u malých dětí anémie a kachexie. Při lehké nákaze příznaky neprobíhají. (29)

Diagnostika

Optimální diagnostika je pomocí flotační metody. Vajíčka se snadněji identifikují v čerstvých vzorcích stolice. (29, 25)

Terapie

Na léčbu se užívají léky niklosamid nebo praziquantel. (29)

2.1.2.2 Nematoda (Hlístice)

Hlístice mají výhradně oddělené pohlaví. Tělo mají různě dlouhé, oblé a nečlánkované. Samička se liší od samečka.

Některé hlístice nepotřebují ke svému vývoji mezihostitele. Ve vnějším prostředí uvnitř vajíček dozrávají larvy, které čekají na pozření. Ty, které naopak ke svému vývoji mezihostitele potřebují se nazývají biohelminti. Mezihostitel se nakazí perorální cestou nebo v některých případech pomocí přenašečů. (18)

2.1.2.2.1 *Enterobius vermicularis*, roup dětský

Roup dětský způsobuje enterobiózu. (2) Jedná se o kosmopolitně rozšířené onemocněn. Často se nachází u dětí, jelikož u nich dochází k snadnému přenosu. (20)

Morfologie

Dospělý jedinci se usidlují v tlustém nebo slepém střevě člověka. Větší samička měří 8-13 mm, sameček 2-5 mm a na rozdíl od samičky má spirálovitě stočený zadní část těla. (29) Oba červi mají bělavé zabavení. Samička klade do perianální oblasti velký počet vajíček, kde za krátkou dobu dozrávají (v řádech hodin). Ihned po pozření vajíček začíná další vývoj až do jejich dospělosti pouze ve střevě. (2)

Přenos nákazy

K přenosu infekce dochází pozřením vajíček, které obsahují živou larvu. (2) Infikovaná vajíčka se přenáší kontaminovanou potravou, přímým kontaktem zejména u dětí. Zralá vajíčka se přenášejí vzduchem a společně s prachem pak ulpívají na předmětech.(29) U dětí je velké riziko reinfekce, jelikož samičky zejména v noci vylézají do okolí konečníku a vyvolávají svědění. Při poškrábání ulpívají za nehty a mohou být opět spolknuta. (2)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy je člověk (29)

Klinický obraz

Enterobióza vyvolává hlavně v noci silné svědění v oblasti konečníku. Bývají napadené zejména děti, u kterých se onemocnění projevuje bledostí, kruhy pod očima, nespavostí, podrážděností, nervositou. Dále se u lidí mohou projevovat bolesti v žaludku a ve střevech, průjmy, nechutenství. (2)

Inkubační doba

Pohybuje se okolo 15 dnů. (29)

Diagnostika

Prokazují se vajíčka výtěrem pomocí Schuffnerovy tyčinky nebo zejména u dětí Grahamovou metodou - lepící páskou, v oblasti řas análního otvoru. Důležité je provádět toto vyšetření před mytím análního okolí. (2) Dále můžeme nalézat vajíčka a celé červy ve stolici, doporučuje se však vždy při podezření na enterobiózu použít i anální výtěry. (16)

Terapie

Používají se pyrviniové preparáty, mebendazol, pyrantel nebo albendazol. (29)

2.1.2.2.2 *Ascaris lumbricodea*, škrkavka dětská

Onemocnění se nazývá askarióza. Škrkavka dětská žije v tenkém střevě. Jedná se o kosmopolitního parazita. Onemocnění se nejvíce vyskytuje ve špatných hygienických podmínkách. Důležitá je prevence v osobní hygieně a v hygieně potravy. (29,9,28,2)

Morfologie

Červi jsou velcí 10 – 30 cm. Mají nažloutlou až narůžovělou barvu. Samečci mají na rozdíl od samičky spirálovitě zakroucený zadeček a jsou menší než samičky. V přední části mají škrkavky ústní otvor se třemi pysky. Přijímají potravu jak svými ústy, tak i povrchem celého těla. Postranní pysky mají okrajích jemné zoubky. Samička je schopna vyprodukovat denně až 200 000 vajíček (2,16,13)

Přenos nákazy

Lidé se nakazí pozřením vajíček v potravě a v nápojích. Samička po oplození naklade velké množství vajíček, kdy společně se stolicí se dostanou do vnějšího prostředí. V nakladeném vajíčku se začne vyvíjet larva po 2-3 týdnech a tím se stane infekčním. Při pozření vajíčka se ve střevě začne uvolňovat larva, proniká střevní stěnou a krevním či lymfatickým oběhem a dostává se do srdce a plic. Dospívá v tenkém střevě. (2,9)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy je člověk, který vylučuje vajíčka stolicí, jelikož vajíčka škrkavky dozrávají ve vnějším prostředí. (29)

Klinický obraz

Může způsobovat dvě fáze příznaků. V první se jedná o plicní fázi, kde se projevují horečky, tvorba hlenu. Druhá fáze je střevní, kde jsou příznaky závislé na počtu hlístic. V druhé fázi se projevují zejména eosinofilie, otoky, křeče. (9)

Inkubační doba

Činí 6- 10 týdnů (15)

Diagnostika

U střevní fáze se mikroskopicky vyšetřuje průkaz vajíček ve stolici, kde lze nalézt i neoplozená vajíčka (29)

Terapie

Pacientovi podáváme benzimidazolové preparáty. V některých případech je nutný i chirurgický zákrok. (29)

2.1.2.2.3 *Ancylostoma duodenale, Necator americanus*

Je původcem ankylostomózy, respektive nekatorózy (29), která může mít fatální následky. (28)

Vyskytují se v teplém, vlhkém prostředí. *N. americanus* je rozšířený v Americe a Austrálii. Ve východní a severní Africe, v jižní Evropě a některých státech západní Evropy je rozšířený parazit *Ancylostoma duodenale*. (29)

Morfologie

Dospělí helminti žijí ve střevě člověka. Měří 10-18 mm. Z dělohy samice se uvolní oválná vajíčka, která odchází stolicí do vnějšího prostředí. V hlíně vzniká rýhováním larva prvního stádia, která se po svlékání mění v larvu druhého stádia a následně na larvu třetího stádia. V posledním stádiu je larva invazní. Do těla definitivního hostitele, tedy člověka se larva dostane pozřením v potravě nebo přímým průnikem do pokožky. Dále larvy pronikají do krevního oběhu, dále do srdce a plic. Dále se dostanou přes průdušky do hltanu a polknutím se dostávají do zažívací trubice, kde larvy dospívají. Optimální je pro ně teplé, vlhké prostředí. (9,10,16,28)

Přenos nákazy

Člověk se může nakazit při přímém styku s půdou, koupáním nebo na suchých záchodech, kdy larvy aktivně pronikají pokožkou. (29)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy je člověk, vylučující vajíčka (29)

Klinický obraz

Klinické příznaky ankylostomatózy se liší dle počtu infekčních jedinců v organismu. Toto onemocnění může mít dvě fáze. První fáze je plicní. Projevuje se především kašlem, záněty horních cest dýchacích. V další fázi se mohou hlístice přichytit v oblasti dvanáctníku, kde mohou následně způsobit těžké průjmy a následně i anémii. (24,28,29)

Inkubační doba

Pohlavně dozrávají v období od 5 do 7 týdnů. (16)

Diagnostika

Vajíčka prokazujeme mikroskopickou metodou z čerstvé stolice. Vajíčka A.duodenale nejdou odlišit od N. americanus. Provádí se proto identifikace na základě mikroskopie larev, které jsou v infekčním stádiu. (29)

Terapie

V současné terapii se užívají benzimidazoly. (10)

2.1.2.2.4 *Trichuris trichiura*, tenkohlavec lidský

Onemocnění se nazývá trichurióza. Parazituje v tenkém střevě. Rozšíření tenkohlavce lidského je kosmopolitní. Parazit se vyskytuje hlavně v tropech a subtropech. V našich oblastech se vyskytuje stejně často jako škrkavka. (2,28,29)

Morfologie

Měří 30 – 50 mm. Dospělí jedinci mají bělavou barvu. Mají oproti přednímu konci ztluštělý zadní konec těla. Samičku mohou produkovat až 2000 vajíček denně. Vajíčka měří 50- 55 x 22 – 25 μm, mají tvar citronu. Vylučují se stolicí a vyvíjejí se bez mezihostitele. Dozrávají ve vnějším prostředí v infekční stadium. Tuto infekční schopnost si uchovávají po dlouhou dobu. (28,29)

Přenos nákazy

Infikovaný člověk se nakazí především kontaminovanou zeleninou, špinavýma rukama ze zemědělské půdy. (29)

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy je člověk, který vylučuje vajíčka. Ty poté dozrávají ve vnějším prostředí. (29)

Klinický obraz

Nákaza se projevuje intenzivními bolestmi v podbřišku. Dochází také k anémii. Způsobuje těžké průjmy, může dojít i k vyhřeznutí konečníku. Vyskytují se také záněty a krvácení sliznic. Při malém počtu infikovaných parazitů v těle člověka se nákaza takřka neprojevuje. (28,29)

Inkubační doba

Pohybuje se v rozmezí 4-8 týdnů. (29)

Diagnostika

Vyšetření na průkaz T*richuris trichiura* se provádí přímým mikroskopickým průkazem. Hledají se vajíčka ve stolici. Stolice se zpracovává dle Faustovy koncentrační metody a metodou dle Kato. (29)

Terapie

Trichuriózu léčíme benzimidazoly. (29)

3 Cíle práce

Cíle mé bakalářské práce byly následující:

- Provézt vyšetření střevních parazitů
- Zhodnotit používané diagnostické metody střevních parazitů
- Porovnat prevalenci onemocnění vyvolané střevními parazity
- Vyhodnotit výskyt onemocnění v Plzeňském kraji

4 Metodika

4.1 Vyšetřovaný materiál

Výsledky vyšetření biologického materiálu s podezřením na parazity pochází z oddělení sérologie a parazitologie FN Plzeň. Celkem bylo vyšetřeno 316 vzorků stolice v období měsíců srpna až listopadu.

4.2 Odběr biologického materiálu

Vzorek stolice by měl být čerstvý, jelikož při nákaze prvoky se při uchovávání v chladničce zachovají pouze klidové formy parazita. (6)

4.2.1 Odběr čerstvého materiálu

Odběrová nádobka pro parazitologické vyšetření je z umělé hmoty, vyráběná s lopatičkou uvnitř. Pacient obden odebere tři vzorky o velikosti lískového oříšku. (6)

Pokud není možné materiál ihned zpracovat, je nutné ho uchovávat v chladničce při 4°C. (17)

4.2.2 Odběr útvaru

Při nálezu útvaru připomínající parazita, část jeho těla nebo červa, je třeba uchovat nález ve vodném prostředí. Nutné je dopravit takto uložený útvar do laboratoře do 24 hodin. (6)

4.3 Laboratorní diagnostika

Před zpracováním stolice se musí provézt makroskopický rozbor stolice. Vyhledávají se jakékoliv útvary, které připomínají střevní parazity nebo jejich části.

Najde-li sám pacient ve stolici parazita, je třeba, aby ho do laboratoře dopravil pouze ve vodném prostředí, nikoli v alkoholu. (6)

4.3.1 Makroskopický průkaz

Po doručení do laboratoře se prohledávají útvary ze stolice. Ve sporném případě se útvary prohlížejí pod mikroskopem. (6)

4.3.2 Mikroskopický průkaz

Pro parazitologické vyšetření je nejdůležitější mikroskopická metoda.

Při orientačním vyhledávání se vzorky prohlížejí při zvětšení 100 x. Při podrobnějším hledání při zvětšení 200 x. Barvené preparáty prohlížíme při zvětšení 1000x. (15)

Vyšetřované vzorky byly prohlíženy pomocí mikroskopu Olympus DP 20.

Obr.3: Mikroskop Olympus DP 20

(Fotografie pořízená ve FN Plzeň,parazitologické oddělení)

4.4 Zpracování materiálu

4.4.1 Tlustý nátěr dle KATO

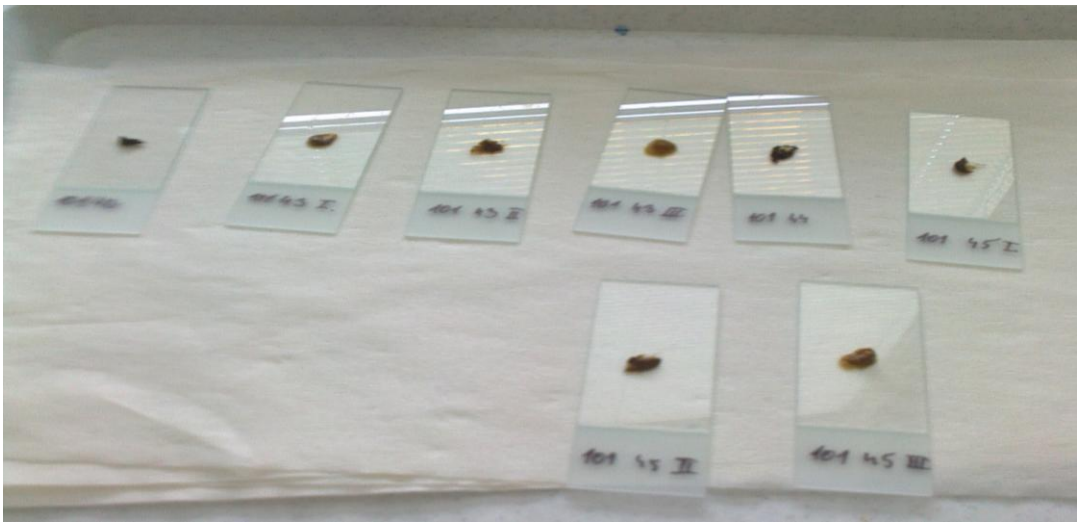
Jedná se o základní vyšetřovací metodu na přítomnost vajíček střevních parazitů a helmintů.

Vzorek stolice o velikosti pšeničného zrníčka se umístí na podložní sklo a překryje se celofánovou páskou, namočenou v malachitové zeleni. Dále se pomocí vhodného předmětu stolice rozprostírá lehkým tlačením přes celofán tak, aby se dal vzorek mikroskopicky vyšetřit (nejčastěji se používá gumová zátka). Takto připravený vzorek se nechává inkubovat 20- 30 min při pokojové teplotě.

Celofánové pásky musí být ponořené alespoň 24 hodin v roztoku, který je složen z 1,2 ml 3% vodného roztoku malachitové zeleně, 100 ml 6% fenolu a 100 ml glycerinu. Pásky se v tomto roztoku mohou uchovávat dlouhodobě. (6)

Vyhodnocení

Preparát prohlížíme pod optickým mikroskopem při zvětšení 100-200 krát. Prohlížíme systematicky vajíčka helmintů. (6)



Obr. 1 : Zpracování materiálu dle metody Kato

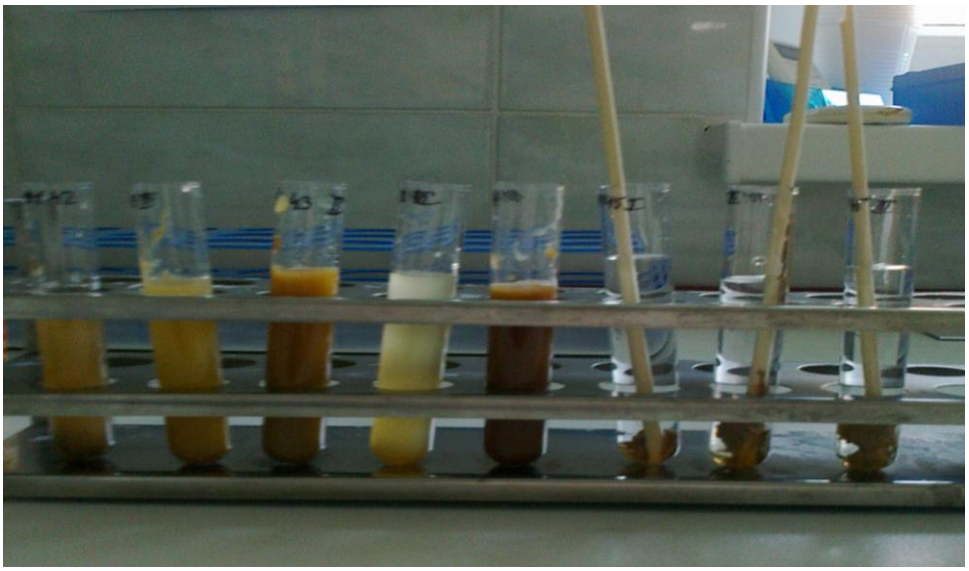
(Fotografie pochází z FN Plzeň, z parazitologické laboratoře)

4.4.2 Koncentrační flotační metoda dle Fausta

Jedná se o koncentrační vyplavující metodu.(17) Vzorek stolice o velikosti hrášku se přenáší pomocí špejle do destilované vody ve zkumavce. Obsah ve zkumavce se důkladně promíchá a dolije se destilovanou vodou asi jeden centimetr pod okraj. Zkumavka s rozmíchaným obsahem se vloží do centrifugy a stáčí se při 2500 otáček za minutu. Poté se slije supernatant a opakovaně se znovu promývá. Tímto postupem se z vyšetřované stolice odstraní lehké balastní látky. Po posledním promytí se sediment resuspenduje v nasyceném roztoku síranu zinečnatém. Používá se roztok z 331 g ZnSO4 . 7 H20 doplněných do 1000 ml destilovanou vodu. Hustota toho roztoku je 1,18. Sediment s tímto roztokem se důkladně promíchá a nechá se opět zcentrifugovat. Poté se doplní roztok síranu až po okraj zkumavky. Na hladinu se položí krycí sklíčko a v takovémto stavu se 20 minut nesmí se zkumavkou hýbat. V případě nakažení parazitem vyplavou vajíčka, cysty nebo trofozoiti na povrch hypertonického roztoku. Na podložní sklíčko se nanese kapka Lugolova roztoku. Po ukončení inkubační doby se přenese krycí sklíčko i se zachycenou povrchní blankou na připravené podložní sklíčko. (6)

Vyhodnocení

Ve zhotoveném preparátu se vyhledává přítomnost vajíček helmintů, ale i vývojová stádia prvoků. Vyšetření stolice se provádí při zvětšení 100- 400 krát. Při větším zvětšení lze nalézt cysty prvoků. U čerstvé stolice lze zpracovat i trofozoity. (6)



Obr.2 : Zpracovávání stolice metodou dle Fausta

(Foceno ve FN Plzeň, v parazitologické laboratoři)

4.4.3 Barvený preparát

4.4.3.1 Barvení železitým hematoxylinem dle Heidenheina

Zároveň s metodou dle Kato se provádí barvení dle Heindeheina u cizích státních příslušníků nebo českých cestovatelů.

Jedná se o metodu určenou k odečítání struktur cyst a trofozoitů prvoků z čerstvého materiálu. Zhotovuje se pouze z tenkého roztěru čerstvé stolice. (6)

Preparát fixujeme alkoholem po dobu 1 hodiny. Po vložení vzorku do kyvety s 80 % etanolem se preparát opláchne a naneseme na něj molybdenan amonný po dobu 10 minut. Následuje oplach , na 10 až 20 minut 70 % alkohol, karbol-xylen na 10 minut, xylen také na 10 minut. (30)

Na odečet hotového materiálu je nutné použít imerzní objektiv. Při odečítání se používá zvětšení 1000x, imerzní objektiv a okulár 10x. (6)

4.4.3.2 Barvení dle Miláčka

Tenký roztěr necháme zaschnout a fixujeme 5 minut metylalkoholem. Poté necháme 30 minut preparát v barvícím roztoku metylvioleti (0,6 g metylové violeti, 1 ml anilinu a 30 ml 96 % lihobenzinu doplněného deionizovanou vodou do 100 ml). Preparát se opláchne vodou a diferencuje se v 1% kyselině sírové 30 sekund až 2 minuty do modrofialového zabarvení. Poté se opět opláchne vodu a dobarví se po 30 až 60 sekundách v roztoku oranže G(1 g ve 100 ml 1% kyseliny octové). Znovu se provede opláchnutí ve vodě a vzorek se nechá zaschnout. Prohlíží se pod mikroskopem s pomocí imerze. (6)

4.4.3.3 Barvení dle Ziehl-Neelsena

Preparát se zafixuje etanolem a pokryje se karbolfuchsinem (10 g krystalického bazického fuchsinu ve 100 ml 96% alkoholu + 50 krystalického fenolu rozpuštěného nejprve ve 200 ml destilované vody a poté doplněné na objem 100 ml). Zahřívá se 5 minut plamenem. Preparát se opláchne a barví se 2-3 minuty 25% kyselinou sírovou. Poté se nechá 1 minutu dobarvit 1 % roztokem malachytové zeleně. Nakonec se po opláchnutí nechá zaschnout a prohlíží se pomocí imerze pod mikroskopem. (6)

4.4.4 Nativní preparát

Odebere se kousek stolice a přidá se kapka fyziologického roztoku. Preparát se přikryje krycím sklíčkem. Prohlíží s pod mikroskopem při zvětšení 100 x. (17)

4.5 Používané laboratorní vybavení

- mikroskop Olympus DP 20
- podložní sklo
- krycí sklíčko 24 x 24 mm
- zkumavky
- centirfuga
- špejle
- celofánové proužky 4 x 2 cm naložené v malachitové zeleni pro vyšetření dle Kato
- kahan
- pinzeta
- stojánek na zkumavky
- stopky

5 Výsledky

5.1 Vyhodnocení výsledků

Pro správnost výsledků je důležitá přesná diagnostika parazitárních infekcí, která je založena na správném určení velikosti, morfologie, barvy a pohybu parazita.

5.2 Vlastní výsledky

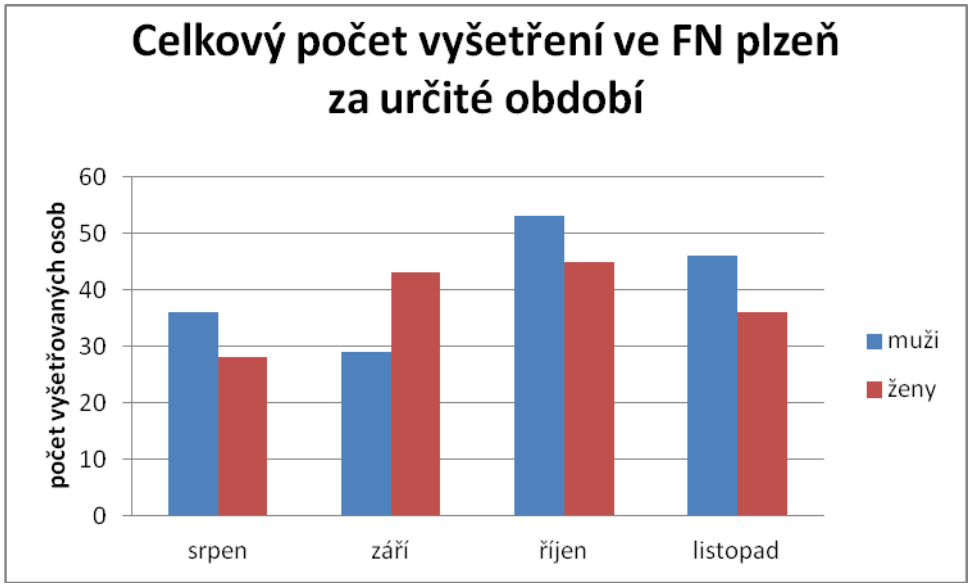
Ve Fakultní nemocnici Plzeň bylo vyšetřováno v období od srpna do listopadu 316 vzorků stolice s podezřením na parazitární nákazu. Veškerý biologický materiál byl vyšetřován metodami dle Kato a dle Fausta. Po zpracování vzorků a následné diagnóze bylo prokázáno 7 pozitivních výsledků. Zbylých 309 vzorků bylo označeno za negativní.

Z celkového počtu 316 vzorků jsem během měsíce srpna vyšetřila 64 vzorků. Z toho bylo 36 vzorků od mužů a 28 od žen.

Během měsíce září jsem vyšetřila 72 vzorků stolic. Z toho 29 vzorků patřilo mužům a 43 ženám.

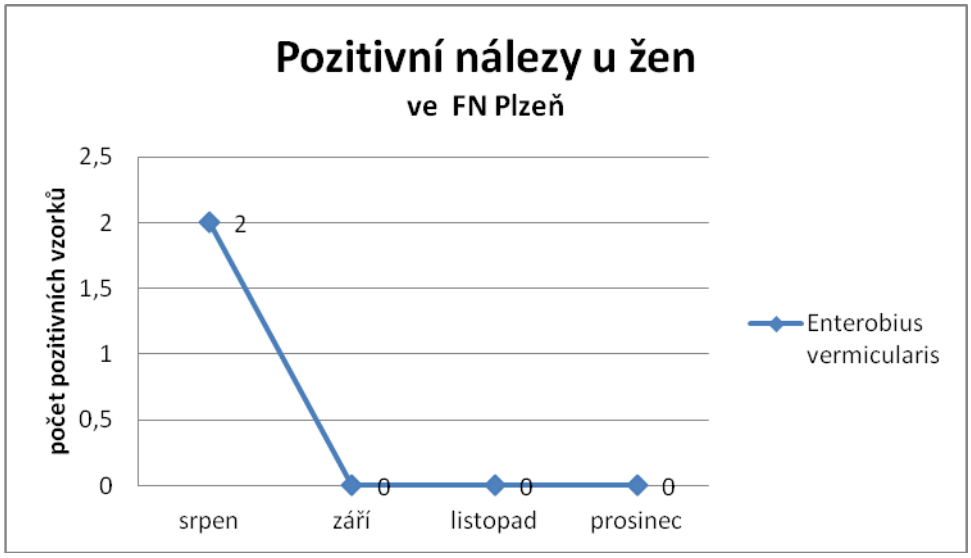
V říjnu bylo zpracováno 98 stolic, z toho 53 mužských a 45 ženských.

V posledním měsíci listopadu se zpracovalo 82 vzorků. Z toho mužům patřilo 46 a ženám 36.

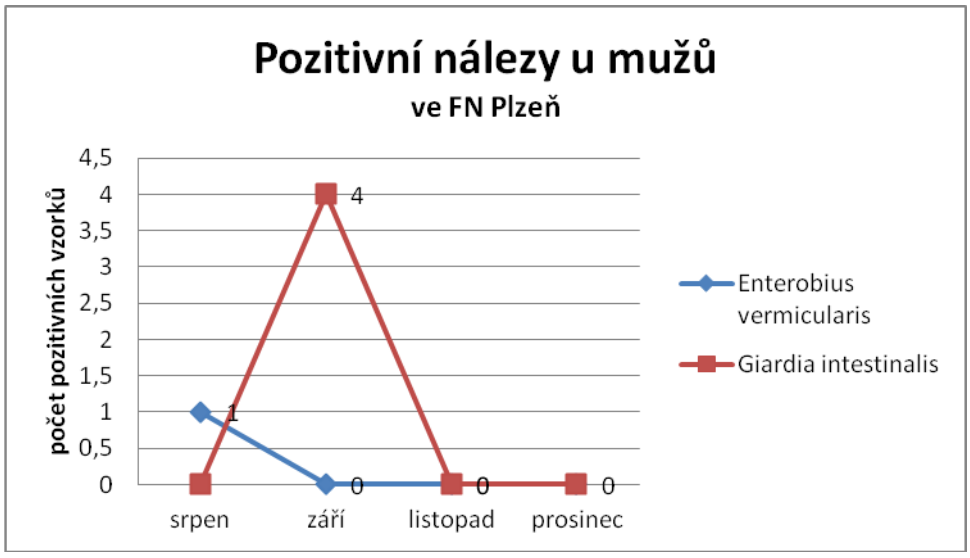


Během sledovaného období jsem vyšetřila 152 vzorků stolic od žen.

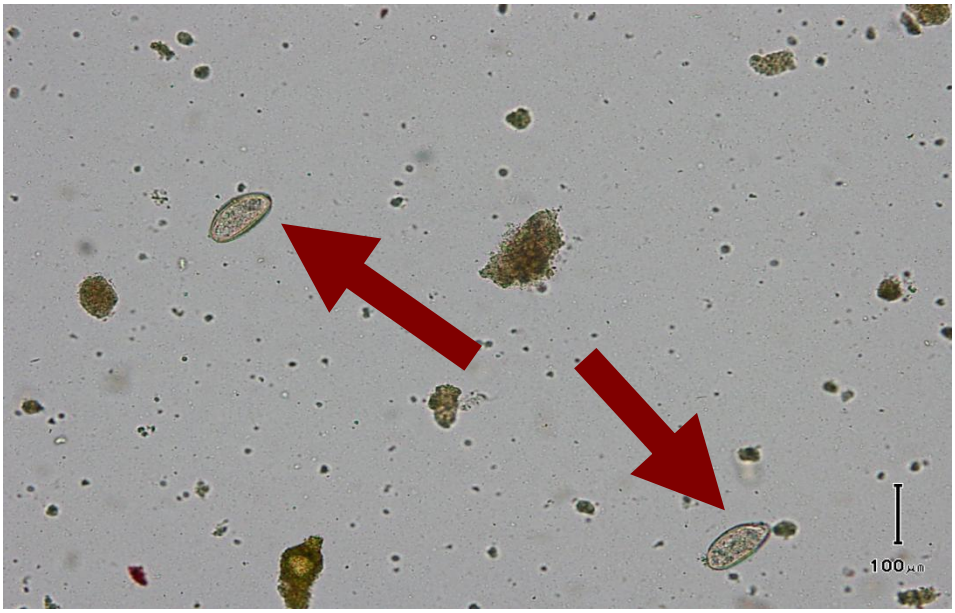
V období měsíce srpna jsem diagnostikovala 2 pozitivní nálezy u žen. Jednalo se o parazita *Enterobius vermicularis*. V dalších měsících byly všechny vzorky u žen negativní.



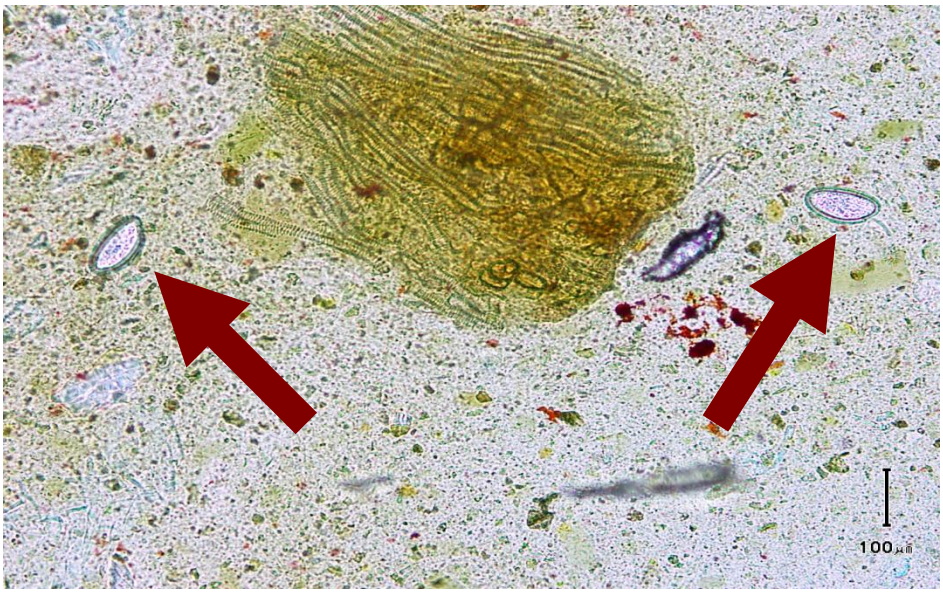
Během sledovaného období jsem vyšetřila 164 vzorů stolic od mužů. V měsíci srpen jsem zjistila 1 pozitivní nález parazita *Enterobius vermicularis* a v měsíci září 4 pozitivní nálezy na *Giardia intestinalis* u mužů. V měsících listopad a prosinec nebyl nalezen žádný pozitivní vzorek.



Mikroskopický pohled na parazita *Enterobius vermicularis*, zaznamenaného během sledovaného období ve Fakultní nemocnici Plzeň. Vzorek stolice byl zpracováván metodou dle Fausta.



Druhý mikroskopický náhled je také pořízený z Fakultní nemocnice Plzeň z období vyšetřování stolic s podezřením na parazity. Na fotografii je zaznamenaná vajíčka rodu *Enterobius vermicularis*, zpracovaný metodou dle Kato.

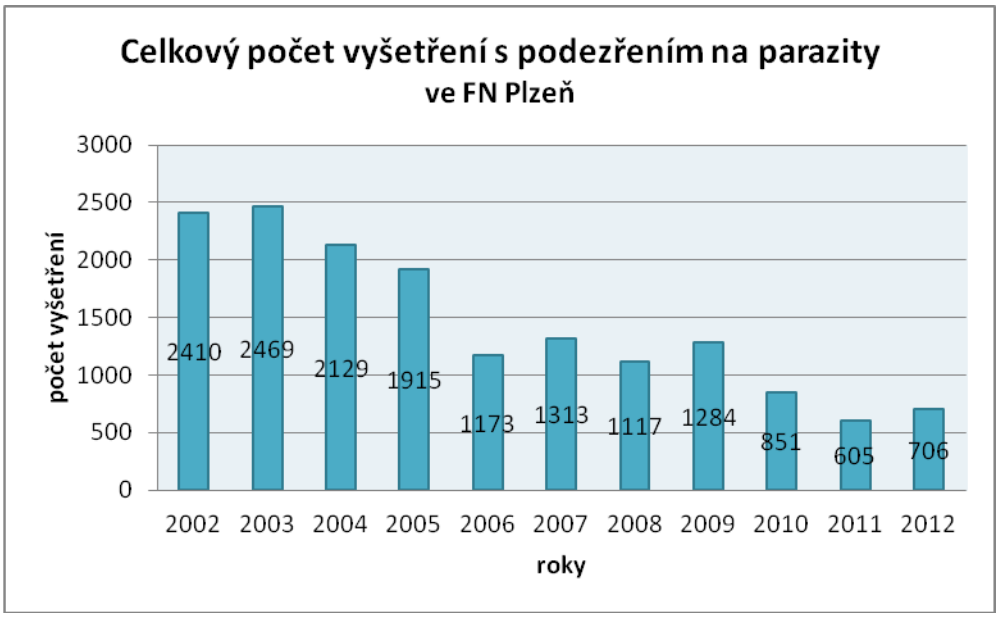


6 Diskuze

Najdeme-li pod mikroskopem ve zpracovaném materiálu vajíčka helmintů, cysty prvoků nebo články parazitů, vždy se jedná o pozitivní nález. Následným rozpoznáním barvy, morfologie a velikosti můžeme identifikovat parazita. Pro správnou diagnostiku je nutné nejprve odebrat odpovídající část stolice, vzorek stolice makroskopicky prozkoumat, a zpracovat vhodnou metodou. Mezi rutinní metody patří zpracování dle Kato, koncentrační flotační metoda dle Fausta a barvící metody. Nutné je provádět metody dle Kato a dle Fausta najednou pro každý vzorek stolice. Flotační metoda využívá rozdíl hmotnosti vajíček a cyst oproti flotačnímu roztoku. V metodě dle Kato se používá celofánová páska namočená v malachitové zeleni. Obě metody zároveň se užívají nejen pro potvrzení výsledků, ale i proto, že ve flotační metodě jsou lépe znatelné cysty améb a díky flotačnímu roztoku lze i zachytit na krycím sklíčku články helmintů.

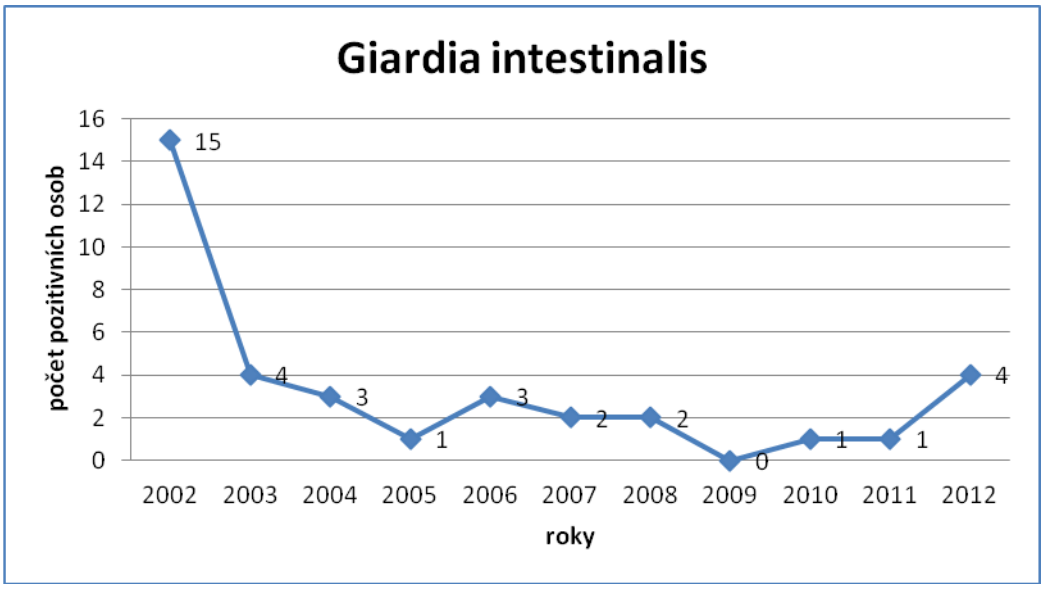
Souběžně s metodou dle Kato se vždy u cizích státních příslušníků a cestovatelů zhotovuje barvený preparát dle Heindeheina. V případě pozitivních nálezů, po zpracování vzorků metodou dle Kato, se u českých občanů provádí barvení stolice také touto metodou. K tomuto barvení je nutná pouze čerstvá stolice. Zde nastává problém, jelikož se v běžné praxi zasílají do parazitologické laboratoře starší stolice, uchovávané v chladničce.

V následujícím grafu je znatelné, jak se v uplynulých letech snižuje počet vyšetření s podezřením na parazitární onemocnění. V grafu jsou zaznamenané počty všech vyšetřovaných vzorků stolic z období roků 2002 až 2012 ve Fakultní nemocnici Plzeň.

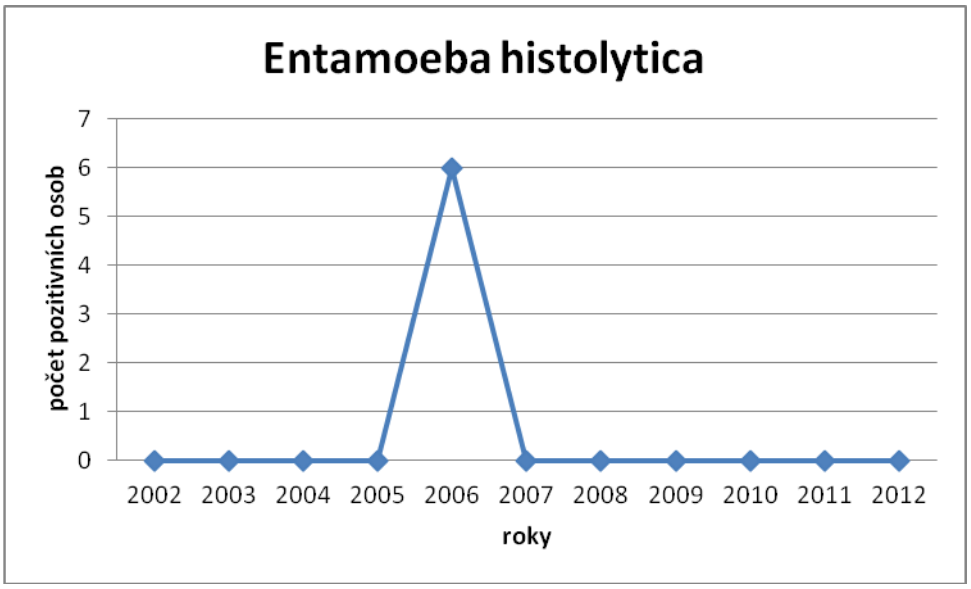


V následujících 7 grafech se budu zabývat pozitivními nálezy parazitů v období od roku 2002 do roku 2012. Uváděné hodnoty pocházejí z oddělení parazitologie ve Fakultní nemocnici Plzeň. U všech následujících grafů je znatelné, jak počty pozitivních nálezů klesají, v některých případech zcela vymizí.

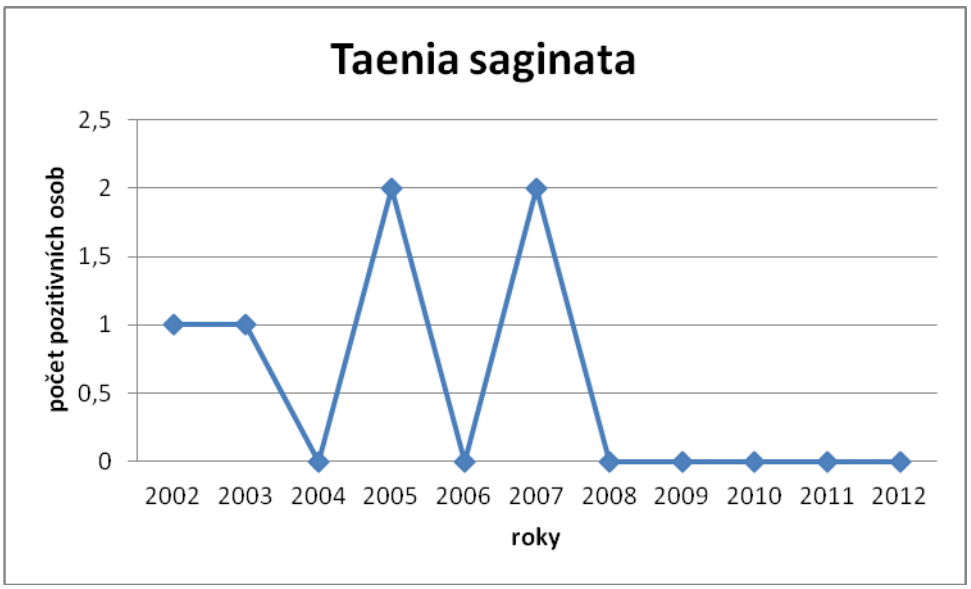
Tento graf ukazuje pokles pozitivních vzorků prvoka *Giardie intestinalis* v období 2002 až 2012. Kdy nejvyšší počet pozitivit byl zaznamenaný v roce 2002. V dalších letech se počet nalezených pozitivních vzorků tohoto parazita ustálil mezi žádným až 4 nálezy.



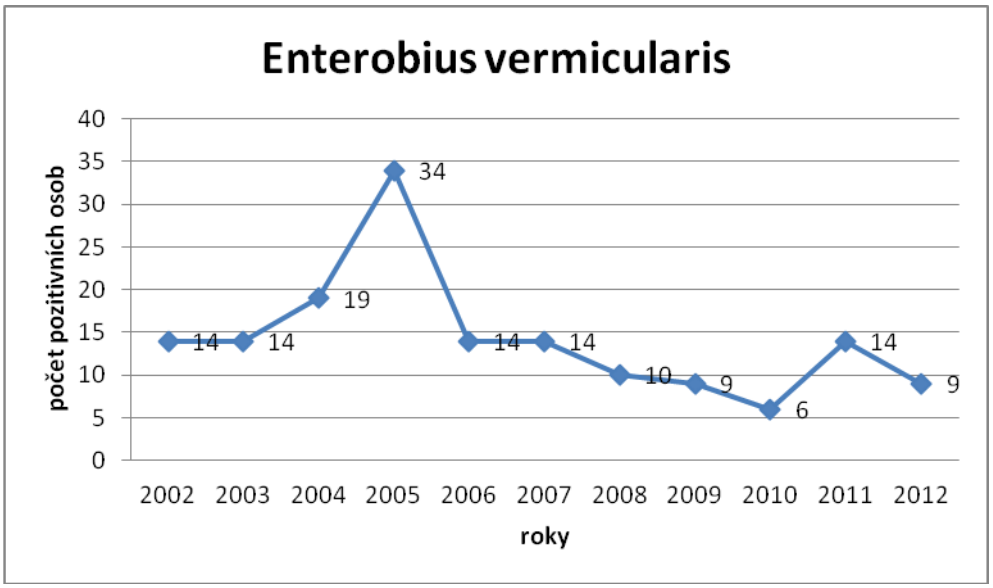
Další graf znázorňuje pozitivní nálezy prvoka *Entamoeba histolytica* od roku 2002 do 2012. U tohoto parazita bylo zaznamenáno 6 pozitivních vzorků pouze v roce 2006.



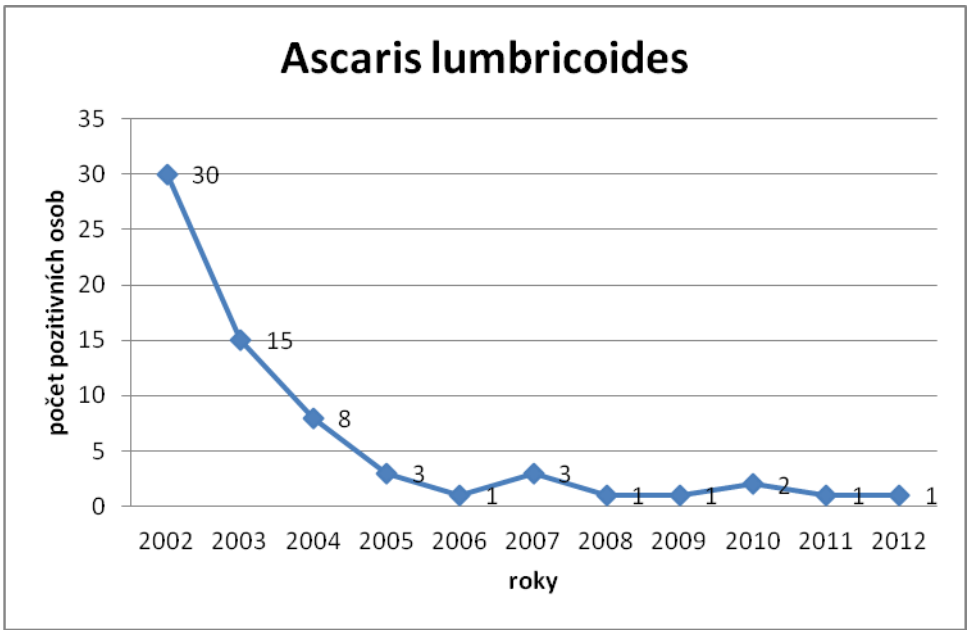
V tomto grafu je zaznamenán počet pozitivních vzorků *Taenia saginata* v určitém období. V roce 2002 a 2003 byl zaznamenán pouze jeden případ tohoto helminta. V roce 2005 a 2007 se vyskytly 2 případy.



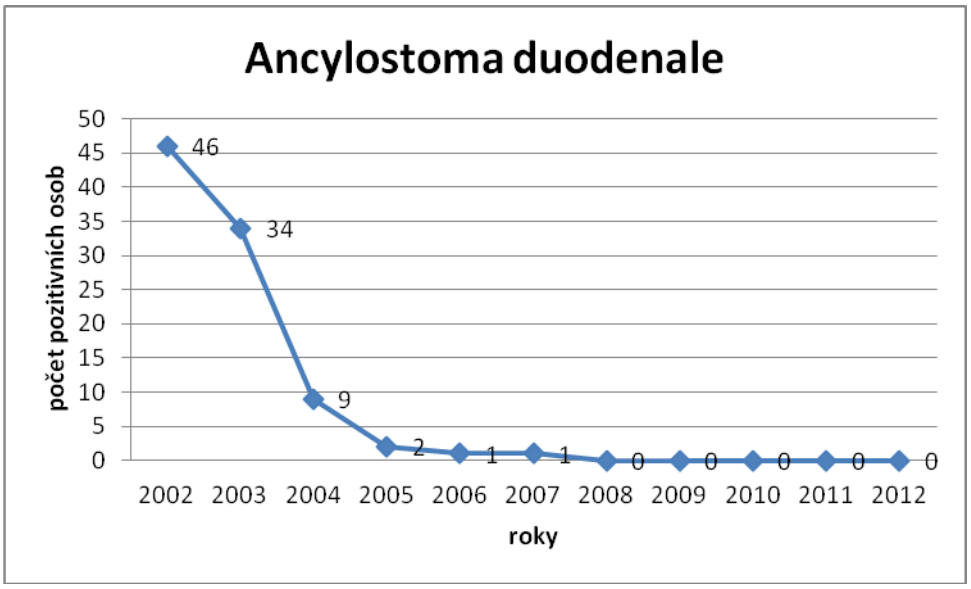
V tomto grafu vidíme počet záchytu hlístice *Enterobius vermicularis* v laboratoři FN Plzeň. Jde o nejčastěji nacházejícího parazita v období od roku 2002 do 2012 ve FN Plzeň. Největší počet pozitivit je zaznamenán v roce 2005. Od tohoto roku je značný pokles pozitivních nálezů.



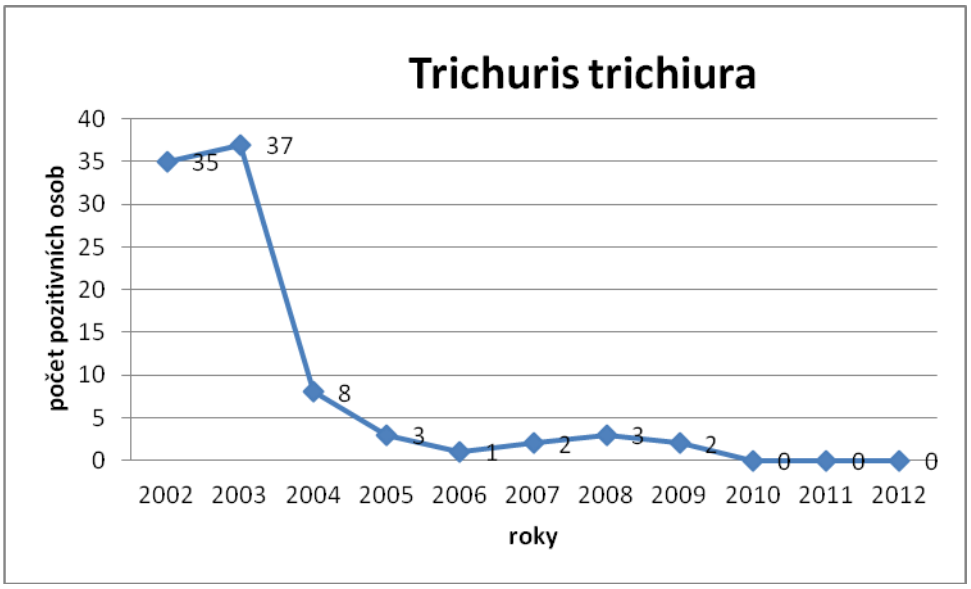
Následující graf ukazuje počet nákaz parazitem *Ascaris lumbricoides* v daném období. Od roku 2002, kdy byl zjištěn největší počet nákaz, se počet pozitivních vyšetření značně snížil. Od roku 2005 do roku 2012 pak počet balancuje mezi 1 až 3 nálezy za rok.



Ancylostoma duodenale má podobný vývoj jako parazit na předešlém grafu. Od roku 2003 došlo ke značnému poklesu a od roku 2008 došlo k ustálení na 0, tedy žádný pozitivní výsledek.



Na posledním grafu vidíme počet pozitivních vzorků *Trichuris trichiura*. Oproti rokům 2002 a 2003 počet pozitivních výsledků velice klesl. V roce 2004 bylo nalezeno 8 parazitů a od roku 2010 nebyl nalezen žádný.



Procentuální zastoupení pozitivních vzorků ve Fakultní nemocnici Plzeň.

Období srpen až listopad 2012	
Enterobius vermicularis	*Giardia intestinalis*
0,9494%	**1,2658 %**

7 Závěr

Po zhodnocení minulých let jsou pozitivní nálezy v oblasti nákazy střevními parazity na území ČR čím dál tím méně časté. S ohlédnutím zpět o deset let vidíme, že se někteří parazité už téměř neobjevují. Je to dáno především kontrolou a rozvojem hospodářství a zemědělství. Dále pak častějším podáváním antiparazitik, jak v oblasti domácích zvířat, tak i v oblasti hospodářského chovu. Hlavní podíl má ovšem hygienická úroveň v našem státě.

Příčiny parazitóz ve světě i u nás jsou způsobeny nedostatečnými hygienickými návyky. Jedná o špatné mytí rukou, nedostatečné omytí zeleniny a jiných tepelně neupravovaných potravin.

Další příčina objevů parazitů na našem území je import z jiných států, zejména pak z tropických zemí. Cestovatelé se často nakazí vypitím tamní vody či pozřením tepelně neopracované potravy.

Včasným zahájením léčby v podobě vhodných léků se během krátké doby zabrání množení parazitů v těle hostitele a tím i hrozba přenašečství a následného vylučování parazita do okolí.

Díky mikroskopickému posouzení dokážeme určit různá stádia a druhy parazitů. Při zpracování materiálu má velký význam koncentrační flotační metoda, kde se od sebe oddělí, díky rozdílné hmotnosti, flotační tekutina a vajíčka helmintů či cysty protozoí. Na dno usednou balastní látky a části parazitů se vyplaví vzhůru na povrch. Další důležitou metodou při zpracování stolice na parazitologické vyšetření je metoda dle Kato. V mikroskopu se vyhledávají články parazitů, vajíčka a cysty. Pro pravdivost diagnostiky je třeba správnost zpracování materiálu a znalost morfologie parazitů. Problém parazitologických vyšetření nastává v případě, že se zpracovává starší materiál. Pro barvící metody jsou možné pouze čerstvé vzorky stolice, jichž se při běžném příjmu materiálu příliš nedostává. Proto by bylo vhodné zaměřit se do budoucna právě na sběr materiálu a včasné donesení do parazitologické laboratoře.

8 Seznam použité literatury

1. ASHBURN, D., et al. Do IgA, IgE, and IgG avidity tests have any value in the diagnosis of toxoplasma infection in pregnancy? *Journal of Clinical Pathology*, 1998. č. 51: s. 312–315
2. BEDNÁŘ, M., et al. *Lékařská mikrobiologie, bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1999. ISBN 80-210-1188-2
3. COX, F.E. History of human parasitology. *Clin Microbiol* 2002. č. 4 : s. 595-612.
4. FRANCIS, J., et al. Best practice guidelines for the examination of specimens for the diagnosis of parasitic infections in routine diagnostic laboratories . *J Clin Pathol*, 2003, č. 56 : s. 888 – 891
5. FOREYT, W.J. Diagnostic parasitology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1989.č. 5: s. 979-1000
6. FÖRSTL, M., et al. *Praktický atlas lékařské parazitologie*. Hradec Králové: Nukleus, 2003. ISBN 80-86225-38-0
7. GUTTOWA, A., et al. The history of the exploration of the Diphyllobothrium latum life cycle. *Wiad Parazytol*, 2005. Č. 4: s.359- 64
8. HAYUNQA, E.G. Morphological adaptations of intestinal helminths. *J Parasitol*, 1991.č. 6: s. 865- 73
9. HORÁK, P., et al. *Biologie helmintů*. Praha: Karolinum- Univerzity Karlovy, 1998. ISBN 80-7184-782-8
10. HU, Y., et al. An extensive comparison of the effect of anthelmintic classes on diverse nematodes. *PLoS One*, 2013. Č.8: e70702
11. CHOI, H.J., et al. Four human cases of Diphyllobothrium latum infection. *Korean J Parasitol*, 2012. Č.6: s. 143-6
12. JIMENEZ, J.E., et al. Differentiating Taenia eggs found in human stools: does Ziehl-Neelsen staining help? *Trop Med Int Health*, 2010. Č. 9 : s. 1077-81
13. JÍRA, J. *Lékařská helmintologie. Helmintoparazitární nemoci*. 1.vydání. Praha: Galén, 1998. ISBN 80-85824-82-5

14. JÍRA, J. *Lékařská protozoologie*: *protozoální nemoc*i. Praha: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-381-5
15. JÍROVEC, O. *Parasitologie pro lékaře I.* Praha: Avicenum, 1977.
16. JÍROVEC, O. *Parasitologie pro lékaře II.* Praha: Avicenum, 1977.
17. KOLEKTIV AUTORŮ. *Acta hygienica, epidemiologica et mikrobiologica*, 1979.
18. KOLEKTIV AUTORŮ. *Parazitární nemoci člověka a možnosti jejich laboratorní diagnostiky.* 2 přepracované vydání. Brno: IDV SZP, 1989. ISBN 80-7013-014-89
19. LESCANO, A.G., et al. Other cestodes: sparganosis, coenurosis and Taenia crassiceps cysticercosis. *Handb Clin Neurol*, 2013. Č. 114: s. 336
20. LÝSEK, H. *Přehled parazitóz člověka a jejich diagnostiky*. 1. Vydání. Olomouc: Rektorát Univerzity Palackého v Olomouci. ISBN 80 – 7067-242-0
21. MICHELET, L., et al. Molecular evidence of host influences on the evolution and spread of human tapeworms. *Biological*, 2012. č. 3, s. 731- 741
22. RIBEIRO, S.R., et al. Parasitological stool sample exam by spontaneous sedimentation method using conical tubes: effectiveness, practice, and biosafety. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2012. č.3: s. 399-401
23. RIDLEY, D.S. The laboratory diagnosis of tropical diseases with special reference to Britain: *J Clin Pathol* 1974; 6 , s.436
24. RYŠAVÝ, B., et al. *Základy parazitologie*. 1. vyd. Praha : SPN, 1988. ISBN 80-04-20864-9
25. STEINMANN, P., et al. FLOTAC for the diagnosis of Hymenolepis spp. infection: proof-of-concept and comparing diagnostic accuracy with other methods. *Parasitol Res*, 2012. Č. 2: s. 749 – 54
26. TANYUKSEL, M., et al. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clinical Inical Microbiology* , 2003. č. 4 : s.713
27. TELLO, R., et al. Highly effective and inexpensive parasitological technique for diagnosis of intestinal parasites in developing countries: spontaneous sedimentation technique in tube. *International Journal of Infectious Diseases*, 2012. č. 6: s. E414-E416

28. VOLF, P., et al. *Paraziti a jejich biologie*. Praha: Triton, 2007. ISBN 978-80-7387-008-9
29. VOTAVA, M., et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2006. ISBN 80-902896-2-2
30. VOTAVA, M., et al. *Lékařská mikrobiologie vyšetřovací metody.* Brno: Neptun, 2010. ISBN 987-80-86850-04-8