

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ČESKÉ BUDĚJOVICE

Paleoparazitologická analýza
organických sedimentů archeologického
naleziště na Národní třídě, Praha

Bakalářská práce



Autor práce: Eva Myšková
Vedoucí práce: doc. RNDr. Oleg Ditrich CSc.
Odborný konzultant: PhDr. Jaromír Beneš, Ph. D.

2011

Myšková, E. 2011. Paleoparazitologická analýza organických sedimentů archeologického naleziště na Národní třídě, Praha. [Paleoparasitological analysis of organic sediments at the archeological locality in Národní třída, Prague, Bc. Thesis, in Czech] – 49 p., Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

The aim of the work was to examine samples from the archaeological site in an attempt to identify human and/or animal intestinal parasite eggs. Another task was to detect parasitic protist DNA by polymerase chain reaction (PCR). Then the results were compared to other facts obtained from the research at this locality and overall comparisons of results to other medieval sites were obtained.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala 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 Přírodovědeckou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích 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

Eva Myšková.

Děkuji vedoucímu bakalářské práce doc. RNDr. Olegu Ditrichovi, CSc., za jeho cenné rady, ochotu, trpělivost a odborné vedení této práce. Dále bych chtěla poděkovat PhDr. Jaromíru Benešovi Ph.D., za jeho pomoc a odborné vedení v oblasti archeologie. Velký dík patří také Mgr. Tomasz Cymbalakovi za poskytnutí materiálu z naleziště a informací o něm. Dále bych chtěla poděkovat RNDr. Daně Květoňové a celému osazenstvu laboratoře za ochotu poradit a pomoci. Děkuji také svým spolužákům a kamarádům za morální podporu a hlavně svým rodičům za trpělivost a finanční podporu.

OBSAH

ÚVOD	6
1.1 Metody užívané v paleoparazitologii	8
1.2 Paleoparazitologické nálezy v Evropě	10
1.2.1 Třída Trematoda.....	10
1.2.2 Třída Cestoda	13
1.2.3 Třída Nematoda.....	15
1.2.4 Jednobuněční paraziti	18
1.3 Paraziti ve středověku	19
2 CÍLE PRÁCE	20
3 MATERIÁL A METODY	21
3.1 Naleziště	21
3.2 Materiál.....	24
3.3 Metody.....	25
3.3.1 Rehydratace.....	25
3.3.2 Sedimentace AMS III	26
3.3.3 Flotace dle Kozáka a Mágrové (KOMA).....	26
3.3.4 Mikroskopie	27
3.3.5 Molekulární diagnostika	27
3.3.6 Nested PCR	28
3.3.7 Elektroforéza	30
4 VÝSLEDKY	31
4.1 Mikroskopie	31
4.1.1 Fotografická dokumentace	37
4.2 Molekulární metody.....	42
DISKUSE	43
ZÁVĚR	46
LITERATURA	47

ÚVOD

V průběhu naší poměrně krátké historie na Zemi, lidé získali ohromný počet parazitů – okolo 300 druhů helmintů a přes 70 druhů protozoí. Většina z nich je vzácných a náhodných, ale stále skýtáme útočiště pro téměř 90 relativně běžných druhů, z kterých malá část způsobuje nějakou z nejzávažnějších nemocí na světě. Většina z těchto nemocí se vyskytuje v tropech (Cox 2002). Vzhledem k těmto skutečnostem tvoří znalost dějin a boje proti parazitům nezanedbatelnou část lidské historie.

První psaný záznam, který se pravděpodobně zmiňuje o parazitární infekci, pochází z dob starověkého egyptského lékařství z období 3000 - 400 př. n. l.. Významným textem je Eberský papyrus (1500 př. n. l., objeven v Thébách), který zmiňuje dva druhy červů „pened“ a „hefnat“, jež pravděpodobně odkazují na *Ascaris lumbricoides* a *Diphyllobothrium* spp.. V pozdějších dobách toho bylo napsáno mnoho o různých nemocech, které mohly, nebo nemusely být způsobeny parazity. Hodně je známo ze spisů řeckých lékařů (800 - 300 př. n. l.), mezi něž patří sbírka prací Hippokrata (460 - 375 př. n. l.), známá jako *Corpus Hippocratorum*, z níž je patrné, že věděl o parazitech z ryb, domácích zvířat a člověka. Dalšími texty jsou záznamy lékařů z jiných civilizací včetně Číny (3000 - 300 př. n. l.), Indie (2500 - 200 př. n. l.), Říma (700 př.n.l. - 400 n. l.) a Arabské říše (Cox 2002, Harter et al. 2003).

Příčinu rapidního nárůstu parazitů u dnešního člověka musíme hledat v minulosti. Jednou z hlavních událostí je přechod od lovců-sběračů k usedlému způsobu života, zaměřenému na zemědělství. Domestikace zvířat a rostlin favorizovala nárůst a změnu parazitární fauny mezi lidskou populací. Zvýšení produkce potravin získaných zemědělstvím vedlo k vytváření aglomerací, a tedy k výskytu konkrétních lidských parazitů přenosných přímým kontaktem s prostředím a/nebo kontaminací jídla (rozvoj parazitů fakultativně spojených s vlhkou půdou). Také mnoho domácích zvířat je známo jako zdroj parazitárních (zoonotických) nemocí u lidí. Dalším problémem vzniklým z tohoto způsobu života bylo skladování přebytků ze zemědělství, což zvýšilo potenciaální riziko infekce kontaminovaným obilím nebo jinými potravinami a přilákalo zvířata jako hlodavce, kteří jsou přirozenými hostiteli různých zoonóz ovlivňujících lidi (Sianto et al. 2009, Reinhard 1992, Dittmar 2009).

Velmi často jediným důkazem o přítomnosti parazitů jsou stopy, které po sobě zanechávají ve formě vajíček ve fekáliích, stopách ve tkáních nebo hnidách ve vlasech.

Občas jsou tyto méně doceněné pozůstatky existence zachovány skrz čas, a to je místo, kde paleoparazitologie začíná (Dittmar 2009). Studium parazitů v archeologickém materiálu se značně vyvinulo v poslední dekádě. Od svého vzniku, před více jak 100 lety, paleoparazitologie přispěla empirickými daty o přítomnosti infekčních a klinických projevů mezi populacemi, které již zmizely ze světa. Tato věda poskytuje data o evoluci parazitů a jejich hostitelích a navíc dává porozumět faktorům, které ovlivňují hustotu a výskyt populací a dovoluje stopovat jejich migrační cesty. Studia parazitů provedená po celém světě na organickém materiálu posbíraném z archeologických míst, odhalují informace o lidském chování, stravování, vývoji rozdílných kulturních systémů, stylu bydlení, hygieně, sanitárním zázemí, lékařské péči, ekonomii atd. A pomáhají nám zjišťovat, jak tyto podmínky života ovlivnily vztah parazit-hostitel. Nemalý vliv na tyto procesy měly i klimatické změny v průběhu času (Hidalgo-Argüello 2006, Bouchet et al. 2003a, Sianto 2009).

Paleoparazitologické závěry se vyvozují například z faktů, že určití parazité indikují konzumaci určitých druhů zvířat (*Diphyllobothrium* spp. – syrové ryby, *Taenia* spp. – hovězí a vepřové maso), což značnou měrou přispívá k rekonstrukci stravování. Jiným příkladem může být nález parazitů, kteří jsou přenášeni prostřednictvím fekální kontaminace, z čehož se může vyvozovat, že populace mohla být nebo byla ohrožena jinými fekálně přenosnými nemocemi, jako je úplavice, jejíž původce není zřejmý v archeologickém záznamu. (Dittmar 2009).

V poslední době je obnovena debata o migraci starověkých populací mezi kontinenty. Přispívají k ní paleoparazitologické nálezy, hlavně druhu *Trichuris trichiura*, které podporují názor, že se lidé nemuseli dostat do Nového světa přes Beringovu úžinu. Je to způsobeno jeho biologií. Tento parazit má obligatorní fázi vývoje v půdě a vyhovuje mu teplé podnebí. Chladné klima a téměř zmrzlá půda na severu by nedovolily přenos na nového hostitele. Na základě těchto údajů a nálezů existuje domněnka, že v některých případech mohlo arktické prostředí působit jako bariéra pro určité nemoci ze Starého světa. V případě *Trichuris trichiura* je pravděpodobnější prehistorický transpacifický kontakt asijských skupin s jihoamerickými indiány navržený archeology na základě kulturní podobnosti, který nyní může být prokázán také biologickými indikátory (Araújo 2000, Dittmar 2009).

V roce 1980 se věřilo v možnost vyhubení původců některých parazitárních nemocí. Dnes je více než zřejmé, že mnoho parazitů přetrvává, a že si vyvinuli nebo vyvíjí (tak jako bakterie) rezistenci na antiparazitické léky (Dittmar 2009).

Zatímco v Evropě a USA došlo k dramatickému poklesu střevních parazitů, v zemích třetího světa se tak nestalo, spíš právě naopak. Příčinou je nedostatek hygieny a nevhodné životní podmínky, ve kterých tamnější lidé žijí. WHO odhaduje, že do roku 2015 bude 2,7 miliard lidí bez přístupu k základním hygienickým zařízením. V současné době patří mezi regiony s nejnižším sanitárním pokrytím subsaharská Afrika (31 %), jižní Asie (36 %) a Oceánie (53 %). Problémem v těchto oblastech je slabá infrastruktura a málo zdrojů na zlepšení situace (www.who.int 2011)

Například na askariózu umírá odhadem 8000 – 100 000 dětí každý rok, a z toho většina v rozvojových zemích. Proto je pro WHO důležité získat více informací o evoluci a vývoji těchto parazitů, aby mohly být vyrobeny účinné léky a zavedeny kontrolní strategie (Loreille et al. 2003).

1.1 Metody užívané v paleoparazitologii

Pohled do minulosti a složení parazitické fauny v časové ose může být získán přímým důkazem ze vzorku z fosilií nebo archeologického materiálu, dále také identifikací antigenů nebo specifickou sekvencí DNA parazitů.

První metoda spočívá ve vyšetření vzorků světelným mikroskopem, pro které je nutné vzorky připravit. Světelná mikroskopie poskytuje precizní a spolehlivou diagnózu. Nejdřív jsou vzorky rehydratovány. Ve většině případů se používá 0,5 % Na_3PO_4 po dobu 48-72 hodin nebo i více, v závislosti na tom, zda vzorky jsou z půdy, lidských vzorků nebo koprolitů. V některých případech je využíván 5 % glycerin k zintenzivnění hydratace. Tuto metodu poprvé použili Callen a Cameron (1960) na koprolity (Hidalgo-Argüello 2006). Dále se postupuje metodou flotační a sedimentační. Takto připravené vzorky se prohlížejí mikroskopem.

Dalším z možných přístupů je použití sérologických technik (ELISA) za účelem detekování antigenů parazitů. Příkladem může být ověření přítomnosti krevniček *Schistosoma* spp. u egyptských mumií (Dittmar 2009).

V současnosti byla tato technika využita k potvrzení výskytu původce amébové úplavice (*Entamoeba histolytica*) a lamblie (*Giardia intestinalis*) ve středověkých latrínách v Izraeli (13. století) (Dittmar 2009, Mitchell et al. 2007).

Silným nástrojem ke zkoumání evoluce parazitů a detekování parazitů, kteří nejsou patrní při použití klasických metod, je zjišťování přítomnosti staré DNA (ancient DNA). Tato metoda se používá na prokázání přítomnosti nukleových kyselin, které se mohly zachovat v archeologickém materiálu nebo muzejních vzorcích (Araújo et al. 2000). Hlavní metoda paleoparazitologického zkoumání spoleshá na krátké individuální genové sekvence zaměřené na cílové druhy parazitů. Všeobecným problémem zkoumání DNA z archeologického materiálu je jeho velká degradace (obzvláště jaderné DNA) a kontaminace (Dittmar 2009).

Důkazy aDNA již dnes existují pro různé druhy parazitů. Například studium 9000 let staré chilské mumie odhalilo přítomnost druhu *Trypanozoma cruzi* užitím polymerázové řetězové reakce - PCR (Aufderheide et al. 2004). *Leishmania donovani* byla prokázána ve vzorcích ze starověkých egyptských a núbijských mumií starých 4000 let. Tento nález poskytl důkaz o přítomnosti leishmanií v tehdejší Núbii a o infekci Egyptanů, pravděpodobně kvůli obchodnímu kontaktu mezi těmito zeměmi v období Střední říše (přibližně 2040-1786 př. n. l.) (Kupfer et al. 2006). aDNA byla také izolována z helmintů, kteří jsou většinou detekovatelní i světelnou mikroskopií, jde hlavně o *Ascaris* spp.. V tomto případě šlo o rozlišení vajíček *A. suum* a *A. lumbricoides*, která nejsou normálně rozeznatelná a o evoluci obou blízce příbuzných škrkavek. Jedním ze záměrů bylo zjistit, za předpokladu jejich společného původu, který z těchto druhů je původní a jak došlo k jejich diferenciaci (Loreille et al. 2001). V dnešní době se názory přiklání k tomu, že *A. lumbricoides* je původnější a *A. suum* odvozenější. Přispívá k tomu i nález vajíčka starého cca 30 000 let z jeskyně Arcy-sur-Cure (Yonne, Francie), které je pravděpodobně lidského původu. Tento nález může vést k závěru, že škrkavka u lidí mohla existovat ve Francii ještě před příchodem domestikace (Loreille et al. 2003).

Dalšími druhy helmintů zkoumanými touto metodou byli *Trichuris trichiura* a *Enterobius vermicularis*. *Enterobius vermicularis* byl prokázán ve vzorcích z jižní Ameriky (předkolumbovská doba, stáří 6110 let).

Co se týká aDNA ektoparazitů, existují data z blechy lidské (*Pulex irritans*) a vši dětské (*Pediculus capitis*) (Dittmar 2009, Iñiguez 2006).

Současným trendem v aDNA výzkumu je vývoj technologií, které by amplifikovaly celkovou DNA ze vzorku spíše než individuální sekvence. Problémem těchto metod je kontaminace. Budoucnost v tomto směru možná poskytuje využití tzv. multiplex DNA technik (multiplex PCR), které využívají více primerových párů v jedné PCR reakci zaměřených na subsekvence ve vzorku DNA. V následných jednouchých PCR reakcích pak může být v oblasti zájmu již jen určitá sekvence (Dittmar 2009).

1.2 Paleoparazitologické nálezy v Evropě

Helminti mohou být nalézáni v organických sedimentech archeologických uloženin jako jímký, latríny, hroby a jiné struktury. Sedimenty spojené s kostrami jsou zkoumány méně než jiné struktury, i když poskytují příležitost spojit parazity přímo s lidským hostitelem. Paleoparazitologické analýzy se týkají hlavně vajíček endoparazitů a občas jejich larev a/nebo dospělců. V dnešní době se analýzy týkají i DNA parazitů. Ektoparazité jsou zachováni v menším měřítku a existuje jen několik záznamů. Dospělci a jejich vývojová stádia mohou být nalezena v šatech, ve vlasech, nebo ve spojení s nástroji, jako hřebeny. Ačkoliv chitinózní skelet je velmi rezistentní k rozkladu, neposkytuje dobrou ochranu pro vnitřní tělní struktury. Proto jsou většinou nacházeny jen prázdné schránky (Bouchet et al. 2003a, Dittmar 2009, Fugassa 2006).

1.2.1 Třída Trematoda

Dicrocoeliidae

Dicrocoelium dendriticum (motolice kopinatá) je parazitem žlučovodů savců i člověka, s výskytem obzvláště u *Bovidae*. Je to kosmopolitní druh. Má dva hostitele. Prvním jsou plži (*Zebrina* sp., *Helicella* sp., *Cionella* sp.) a druhým mravenci (*Formica* sp., *Lasius* sp.). Nákaza lidí je řazena mezi zoonózy, ale případy pravé infekce jsou výjimečné kvůli biologii parazita. Výskyt vajíček v lidské stolici může být důkazem pseudoparazitace, vyplývající z konzumace infikovaných zvířecích jater. Pro skutečnou infekci je podmínkou pozření mravence s rostlinnou potravou (Le Bailly et al. 2010, Volf, Horák et al. 2007, Šerý et al. 1998).

Unikátní je nález vajíček v koproliitech starých 550 000 let na místě Caune de l'Arango (Tautavel, Francie). Šlo pravděpodobně o koproliity masožravce. Vajíčka byla také nalezena v solných dolech v Hallein blízko Salcburku (Rakousko, 500 - 200 př. n. l.). Jediným nálezem motolice z doby římské je nález vajíček v jímce v Owlesbury, blízko Winchesteru (Anglie). Nálezy ze středověku jsou běžnější, např. Winchester (11.-12. st.), Ile de la Cité (Paříž, 12.-15. st.), Louver – Paříž (11.-16. st.), Namur (Belgie, 9.-16. st.) a další nálezy (Le Bailly et al. 2010, Bouchet et al. 2003b, Bouchet 1995, da Rocha et al. 2006, Gonçalves et al. 2003).

Nemůže být popřeno, že tento parazit je přítomen dlouhou dobu ve Starém světě. I když výsledky nebyly velmi početné, *Dicrocoelium* bylo přítomno ve vzorcích z Afriky (Súdán, jižní Afrika) starých téměř 3700 let. Jediný nález z Nového světa pochází z Ferrylandu (Newfoundland, Kanada), ze 17. století. Před tímto nálezem se *Dicrocoelium* nevyskytovalo na americkém kontinentu. Existuje hypotéza, že po introdukci během 17. století, si parazit našel v Americe vhodné přírodní podmínky a mezihostitele slučitelné s jeho biologii (Le Bailly et al. 2010).

Identifikace vajíček jako *Dicrocoelium dendriticum* je pro většinu evropských paleoparazitologických výsledků téměř jistá, jelikož jiné druhy mají rozdílný tvar a velikost vajíček a rozdílnou geografickou distribuci (Le Bailly et al. 2010).

Fasciolidae

Fasciola hepatica (motolice jaterní) je kosmopolitním parazitem jater a žlučvodů mnoha druhů přežvýkavců i monogastričních savců. Mezihostitelem jsou plži rodů *Lymnaea* sp. a *Fossaria* sp. a u nás *Galba truncatula*. Člověk je méně typický hostitel. Nakazí se pozřením metacerkárií (viz. níže - rostliny). U člověka dochází k migraci tělem, kdy motolice mohou být nalezeny v plicích, děloze nebo v podkoží. Při chronické formě, která je běžnější, dochází k destrukci jaterní tkáně (abscesy, cirhóza, nekrózy) a žlučnickovým obtížím (žlučové kameny, až obstrukce žlučvodů) (Šerý et al. 1998, Volf, Horák et al. 2007, Gonçalves et al. 2003).

Nejstarší nálezy jsou datovány do období neolitu, např. Clairvaux (Francie, 3600 př. n. l), Arbon (Švýcarsko), Chalain (Francie). V Hallstatských solných dolech je zaznamenán nález z doby bronzové (Bouchet et al. 2003b, Gonçalves et al. 2003).

Nálezy ze středověku pocházejí z francouzských měst (Paříž, Remeš, Montbeliard, Bordeaux), ale také z Polska, Německa a Belgie (Namur). Přítomnost tohoto parazita

u Evropanů dokládá, že bylo zvykem jíst saláty z rostlin jako pampeliška lékařská (*Taraxacum dens leonis*), kozlíček polní (*Valerianella olitoria*), čekanka obecná (*Cichorium intybus*), česnek medvědí (*Allium ursinum*), potočnice lékařská (*Nasturtium officinale*) nebo miřík plazivý (*Apium repens*) (Bouchet et al. 2003b, Gonçalves et al. 2003). Na těchto volně rostoucích rostlinách se mohly vyskytovat metacerkárie motolice.

Schistosomatidae

Schistosoma haematobium (krevnička močová) je původcem tzv. egyptské nebo močové schistosomózy (dříve též „bilharióza“). Dospělci motolice tohoto druhu se usazují v urogenitálním traktu (žíly močového měchýře). Samička klade vajíčka, která se spolu s krví dostávají do močového měchýře nebo do střevního obsahu. Tyto vajíčka mají na jednom pólu charakteristický trn. Odcházejí ven s močí, ve které se objevuje i malé množství krve - vzniká hematurie. Dochází k zánětům soustředěným hlavně v oblasti urogenitálního traktu, ale mohou být zasaženy i jiné orgány včetně jater, plic a míchy. (Volf, Horák et al. 2007, Šerý et al. 1998, Bouchet et al. 2003b).

Schistosoma mansoni (krevnička střevní) způsobuje tzv. střevní schistosomózu („bilharióza“). Dospělci se nachází v portální žíle a cévách mezenteria. Nejčastěji je postiženo tlusté střevo a játra. Infekce je provázena krvavými průjmy a zánětem střev. Hlavními příznaky jsou slabost, hubnutí a nadmutí břicha s tupými bolestmi (Volf, Horák et al. 2007, Šerý et al. 1998).

Závažným problémem je dlouhověkost lidských schistosom (až 30 let) a produkce vajíček (desítky až stovky denně). Dnešní rozšíření *S. haematobium* je ve více než 50 zemích Starého světa. V Africe je řada izolovaných ohnisek, z nichž endemickou oblast tvoří údolí řeky Nilu v Egyptě a jeho delta. Co se týče druhu *S. mansoni*, ten je rozšířen v 50 zemích světa. Patří mezi ně země na Arabském poloostrově, téměř celá Afrika, ale jsou hlášeny i případy z Jižní Ameriky a z ostrovů v Karibské oblasti. Odhadovaný počet nakažených je 200 milionů (Volf, Horák et al. 2007, Šerý et al. 1998).

Vajíčka *S. haematobium* byla prvním nálezem parazita v archeologickém materiálu. Vajíčka našel Ruffer v ledvině egyptské mumie v roce 1910. Východní Afrika se zdá být místem, odkud se *Schistosoma* rozšířila do jiných částí světa. Byl potvrzen vznik a rozptýlení podél Nilu do Núbie (mumifikované tělo, 2400 př. n. l.) nomádky karavanami a obchodem s otroky (Bouchet et al. 2003b, Gonçalves et al. 2003).

Schistosoma haematobium a *S. mansoni* byly nalezeny v odpadní jámě domu z 15. / 16. století ve Francii. Zajímavostí je přítomnost obou ve stejném kontextu a i to, že *Schistosoma* se v Evropě nikdy nevyskytovala, kromě jediného ohniska v Portugalsku. Bouchet vysvětluje tento nález, buď zavlečením z cest, nebo přítomností infikovaného Afričana, přivezeného do Francie, což byla běžná praktika v Evropě během 15. a 16. století (Bouchet et al. 2003b, Gonçalves et al. 2003).

1.2.2 Třída Cestoda

Pseudophyllidae

Diphyllobothrium latum (škulovec široký) je nejznámějším druhem tohoto rodu. Je to poměrně velká tasemnice, jejíž vývoj probíhá ve dvou meziphostitelích a jednom definitivním hostiteli. Člověk se nakazí pozřením nedostatečně tepelně upraveného rybího masa (larvální stádia – plerocerkoidy). Může být patogenní, protože je schopna vyčítávat ve střevě vitamín B₁₂, který je důležitý pro krvetvorbu (anémie). Nákaza se vyskytuje endemicky v okolí velkých jezer a řek v Evropě (Skandinávie, Švýcarsko, Francie, severozápadní Rusko), v Severní Americe a Japonsku (Volf, Horák et al. 2007, Šerý et al. 1998).

Nejstarší nalezená vajíčka tohoto parazita jsou již z neolitu. Pochází z neolitické osady Hornstaad-Hörnle I v Německu u Bodamského jezera (cca 3900 př. n. l.) (Le Bailly 2005). Další nálezy jsou z Chalain (Francie, cca 3000 př. n. l.) a mokřadní lokality Arbon (Švýcarsko). (Bouchet et al. 2003b, Gonçalves et al. 2003). Vajíčka z období středověku byla nalezena na archeologických nalezištích v Německu, Francii (Paříž) a Belgii (Namur). Výskyt v tomto období je soustředěn v latrínách domů bohatých lidí/šlechty (solené a syrové ryby) (Bouchet et al. 2003b, da Rocha et al. 2006, Gonçalves et al. 2003).

Cyclophyllidae

Taenia

Taenia solium (tasemnice dlouhočlenná) je kosmopolitně rozšířená tasemnice. Člověk je definitivním hostitelem a meziphostitelem je prase. Člověk se nakazí nedostatečně tepelně upraveným masem, v jehož tkáni se vyvíjejí larvální stádia – cysticerky. To se projeví různými příznaky včetně nechutenství, bolestí břicha, průjmem či zácpou, případně anémií.

Problém nastává při nakažení člověka vajíčky. Z vajíček se vylíhnou onkosféry, které migrují do různých orgánů a tvoří tam cysticerky. Nejčastěji jsou lokalizovány v CNS, dále postihují oči, mohou se usadit v kůži, myokardu, vzácněji jinde (Volf, Horák et al. 2007, Šerý et al. 1998).

Taenia saginata (tasemnice bezbranná) se vyskytuje také kosmopolitně. Jako mezihostitele využívá skot a jiné druhy turovitých a definitivním hostitelem je také člověk. Klinicky probíhá bez významnějších potíží (Volf, Horák et al. 2007, Šerý et al. 1998).

Nejstarší nález z lidských zbytků pochází z neolitu. Vajíčka byla nalezena v koprolitech na archeologickém nalezišti v Chalain (Francie, 3200-2900 př. n. l.) a v solných dolech v Hallstatu (Bouchet et al. 2003b, Gonçalves et al. 2003).

Taenia sp. se našla v núbijských přírodně mumifikovaných tělech datovaných 2400 př. n. l. Další byly objeveny v egyptské mumii (12. st. př. n. l.), nebo také v latríně v Jeruzalémě (6. st. př. n. l.). Ze středověku jsou nálezy z Amsterdamu v Holandsku, z Göttingenu v Německu nebo z Namur v Belgii (11.-19. st) (Bouchet et al. 2003a, Bouchet et al. 2003b, da Rocha et al. 2006, Gonçalves et al. 2003). Častý je výskyt ve Francii, kde jsou tyto nálezy soustředěny v domech obývaných šlechtou. Francouzská šlechta měla ve zvyku jíst nedovařené, někdy téměř syrové maso. Na žádných jiných nalezištích v zemi se nevyskytuje, jelikož nižší vrstvy měly ve zvyku připravovat hlavně polévku z malých kousků dobře uvařeného masa *ragout* (Bouchet et al. 2003b, da Rocha et al. 2006). Oproti *A. lumbricoides* má *Taenia* spp. velmi křehký obal. To je také jedním z důvodů, proč jsou zachovány jen velmi zřídka. Například v Göttingenu bylo nalezeno jen několik vajíček. Předpokládá se, že tyto vajíčka jsou příliš choulostivá pro uchování, a/nebo že kontrola masa byla v období středověku obzvláště efektivní (Reinhard et al. 1986, Harter et al. 2003). Další příčinou absence může být to, že ve středověku nebylo tak časté konzumovat syrové maso (kromě vyšších vrstev). Mimo Francii existuje jen velmi málo nálezů.

Otázka, zda vajíčka tasemnic v archeologickém materiálu představují *Taenia saginata* nebo *Taenia solium* (jelikož morfologicky je nejde odlišit), je problémem. Možným řešením je použití molekulárních technik.

1.2.3 Třída Nematoda

Ascaridae

Ascaris lumbricoides (škrkavka dětská) je kosmopolitním parazitem, který je v dospělosti lokalizován v tenkém střevě člověka a lidoopů. Jedná se o geohelmita s tkáňovou fází vývoje (Volf, Horák et al. 2007, Šerý et al. 1998). Způsobuje onemocnění - askariózu, která je jedním z nejvíce rozšířených parazitárních onemocnění u lidí, čítajících podle WHO asi miliardu nakažených lidí, obzvláště v tropických a subtropických oblastech. Životní cyklus je přímý. Druhy rodu *Ascaris* jsou přítomny hlavně v místech, kde převládá chudoba, a kde je nedostatek pitné vody a nízká úroveň hygienických podmínek. (Loreille et al. 2003).

Problém identifikace tohoto druhu je velká podobnost s prasečím druhem *A. suum*. Vajíčka není možné odlišit, ani na základě morfologie, ani podle velikosti. V případě nalezení *Ascaris* ve spojitosti s *Trichuris trichiura*, nález ukazuje na lidský původ (Fernandes et al. 2005).

Vajíčka v půdě mohou být životaschopná i několik let (až 15 let) (Loreille et al. 2003). Tato odolnost je umožněna díky stavbě jejich obalu, který se skládá z několika rozdílných vrstev, z nichž každá je odolná proti jiným podmínkám. Vnitřní vrstva je z chitinu. Vnější silnější obal je z albuminu a tvoří charakteristickou bradavičnatou strukturu. Ve většině případů je poškozena albuminová vrstva a chitinová zůstává (Leles et al. 2010).

Ascaris lumbricoides je považována za všudypřítomného parazita v archeologickém materiálu. Je to dáno jak už zmíněnou stavbou obalu, tak i množstvím vajíček, která je samice schopna vyprodukovat během jednoho dne (průměrně 200 tisíc) (Loreille et al. 2003).

Nejstarším nálezem jsou vajíčka z mladšího paleolitu stará cca 30 000 let z jeskyně Arcy-sur-Cure (Yonne, Francie) (Loreille et al. 2003).

V Novém světě jsou zaznamenány nálezy vajíček *Ascaris* z Peru (2277 př. n. l.) a Brazílie (17.-15. st. př. n. l.). Ze Starého světa jsou známy nálezy z lidských mumií na nilském ostrově (2050-1750 př. n. l., Súdán), nebo nález z koster z Hulína (Morava, 1600-1500 př. n. l. - doba bronzová) (Cox 2002, Gonçalves et al. 2003, Loreille et al. 2003).

Na středověkých nalezištích jsou vajíčka *Ascaris* nacházena velmi hojně, např. Francie (Beauvais, Louvre-Paříž, Montbeliard), Německo (Berlín, Göttingen, Regensburg a další), Anglie (Worcester, York), Španělsko (Leon), Belgie (Namur), Nizozemí (Utrecht) nebo

Norsko (Oslo) (Gonçalves et al. 2003, Bouchet 1991, Hidalgo-Argüello et al. 2003, da Rocha et al. 2006, Bouchet 1995).

Toxocara canis/cati (škrkavka psí / kočičí) jsou druhy parazitující u psovitých/kočkovitých šelem. U člověka může tento druh způsobit tzv. larvální toxokarózu, kdy larvy vylíhnuté z vajíček migrují tělem a poškozují různé orgány, nejčastěji plíce (Volf, Horák et al. 2007, Grove et al. 1900).

Toxocara sp. byla nalezena ve zřícené jeskyni Menez-Dregan v Bretani (Francie). V jeskyni bylo odhaleno lidské osídlení staré 300 až 500 tisíc let (Bouchet et al. 2003c). Přítomnost vajíčka rodu *Toxocara* v archeologických nálezích svědčí o psí/kočičí přítomnosti, než o lidské nákaze. Přímý nález vajíček ve zvířatech pochází z Kypru, kde byla toxocara nalezena v játrech mumifikované kočky (7000 př. n. l.) (Bouchet-Bruyet 2006).

Trichuridae

Trichuris trichiura (tenkohlavec lidský) je kosmopolitní parazit člověka a lidoopů, a spolu s *Ascaris* se běžně vyskytuje ve stejném hostiteli. Dospělí jedinci se nacházejí v tlustém střevě. Životní cyklus je přímý. Vajíčka mají obligatorní fázi vývoje v půdě. Což má za následek, že když projdou ve fekáliích, potřebují vhodné podmínky pro dokončení vývoje (teplota v průměru 22 °C, vlhko a přiměřené okysličení) (Fernandes et al. 2005, Martinez et al. 2003). Způsobuje jednu z nejrozšířenějších gastrointestinálních infekcí, ačkoliv většinou probíhá asymptomaticky. Silnější nákazy vyvolávají průjemy (někdy s krví), bolesti břicha, anémii, a někdy může dojít až vyhřeznutí konečníku (počet nakažených - cca 1 miliarda) (Šerý et al. 1998, Volf, Horák et al. 2007, Martinec et al. 2003). Vajíčka patří mezi nejlépe rozpoznatelné. Mají citronkovitý nebo soudkovitý tvar. Jsou zúžená na koncích a opatřená víčky. Jejich životnost se pohybuje kolem 6-8 let.

Spolu s *A. lumbricoides* patří mezi parazity přenosné fekálně-orální cestou, takže behaviorální faktory značně přispívají k vymizení nebo šíření infekce. Infekce se šíří v usedlých, přeplněných komunitách s nedostatečným sanitárním zázemím, nízkou úrovní hygieny a s jídlem a vodními zdroji kontaminovanými vajíčky bez přístupu k lékům (Leles et al. 2010).

Trichuris trichiura a *A. lumbricoides* patří mezi nejčastěji se vyskytující parazity v lidské historii (Hidalgo-Argüello et al. 2003). Odpovídají tomu i nálezy, ze kterých

vyplývá, že *T. trichiura* je nejběžněji nacházeným parazitem v archeologickém materiálu. Současný nález *Ascaris* a *Trichuris* v archeologickém materiálu je téměř 59 % (z toho v Evropě 78 %, a téměř 90 % ve vzorcích ze středověku) (Leles et al. 2010).

Z neznámého důvodu jsou vajíčka *T. trichuris* běžnější v Novém světě než vajíčka *A. lumbricoides*, která se v nálezech z prehistorické Ameriky téměř vůbec nevyskytují. Změna nastala až v nálezech po období neolitu (Leles et al. 2010, Gonçalves et al. 2003).

Trichuris trichiura byl jediným parazitem nalezeným u mumie z italsko-rakouského alpského sedla Ötzi (Ötzi, 3200 př. n. l.). Další nálezy pocházejí z archeologického materiálu z římské éry (753 př. n. l. – 476 n. l.) z Jeruzaléma. Ze středověku existuje mnoho nálezů, většinou spojených s *A. lumbricoides* z Francie, Německa, Belgie, Španělska, Anglie, Nizozemí a Norska. Parazit je velmi běžný v koproliitech a lidských mumiích z jižní Ameriky (Bouchet et al. 2003b, Hidalgo-Arguëllo et al. 2003, Gonçalves et al. 2003, da Rocha et al. 2006).

Capillaridae

Capillaria hepatica patří mezi kosmopolitní parazity hlodavců, zejména potkanů, přenosných na jiné druhy savců, včetně člověka. Vyskytují se v jaterním parenchymu. Vajíčka jsou enkapsulována hostitelskou tkání, takže přenos je možný až po smrti hostitele (nekrofágie, predace, kanibalismus) (Volf, Horák et al. 2007). Vajíčka ve tkáni jsou životaschopná kolem 2 let (Grove, et al. 1900). Vejce pozřena predátorem projdou trávicím traktem a jsou vylučována s fekáliemi. Ve vlhké půdě se stanou infekčními a mohou být pozřena spolu s kontaminovaným jídlem, vodou. Není jednoduché určit místo člověka v biologickém cyklu tohoto parazita. Nákazy člověka jsou vzácné, ale zato se závažnými následky. Může se vyskytnout také pseudoparazitace (Grove et al. 1900, Bouchet et al. 2003b).

Šíření kapilárií po Evropě bylo umožněno díky potkanům a myším, kteří zde byli rozšířeni od konce neolitu. Vajíčka byla nalezena v hojném počtu v neolitických mokřadních místech v Alpách a v oblasti Jura ve Francii (Chalain, Arbon a Concise)(Bouchet et al. 2003b).

1.2.4 Jednobuněční paraziti

Paleoparazitologické důkazy o infekci jednobuněčnými parazity jsou vzácné (Bouchet et al. 2003b). Nejsou zjistitelní standardními metodami, ale ukázalo se, že je možná detekce pomocí jejich antigenů nebo aDNA.

Mikrosporidie jsou obligátní, intracelulární paraziti živočichů, včetně člověka. Dva zástupci napadají střevní trakt lidí. Prvním je *Encephalitozoon intestinalis* vyskytující se ve střevní sliznici, který se může rozšířit i do plic a ledvin. Stejně může diseminovat i druh *Enterocytozoon bieneusi* osidluje enterocyty duodena a jejunu. Infekce těmito druhy jsou většinou bezpříznakové, ale někdy oba mohou vyvolat průjemy, může docházet ke ztrátě váhy a malabsorpci tuků a B₁₂. Dnes je to zájmová skupina parazitů v souvislosti s AIDS pacienti. Infekce však na ně není omezena (Cox 2002, Šerý et al. 1998).

Kryptosporidie jsou jednobuněční paraziti. U lidí se nejčastěji vyskytuje druh *Cryptosporidium parvum*, který se nachází v tenkém a tlustém střevě. Infekce je většinou bezpříznaková, ale někdy může způsobit kryptosporidiózu – infekci, která je dnes známá jako běžná příčina epidemií, při kterých postižení zažívají bolesti břicha a průjem. Závažný je výskyt u AIDS pacientů, mající odlišný průběh (Cox 2002, Šerý et al. 1998).

Cryptosporidium parvum bylo nalezeno v koproliitech z před-kolumbijské doby v Novém světě (11. st. př. n. l.) a u peruánských mumií (24. st. př. n. l. - 9. st. n. l.) (Le Bailly et al. 2008).

Lamblie

Giardia intestinalis (lamblie střevní) je rozšířena po celém světě. Lamblie se vyskytují v duodenu člověka jednak volně, a jednak přisáty na střevním epitelu. Většina nálezů probíhá asymptomaticky. Jejich hojný výskyt je obvykle provázen bolestmi břicha, průjemy a nauzeou (Šerý et al. 1998).

Giardia intestinalis byla nalezena v archeologických vzorcích pocházejících hlavně z Nového světa. Nejstarší nález v Evropě zaznamenal Le Bailly ve vzorcích ze středověkého místa Chevenez (7. - 9. st, Švýcarsko). Oocysty druhu *G. intestinalis* byly identifikovány v archeologických vzorcích, koproliitech a sedimentech, z rozdílných míst a rozdílných období, užitím techniky ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Ačkoliv giardiové infekce byly prokázány na různých archeologických nalezištích

v Novém světě, je toho málo známo o jejím rozšíření ve Starém světě. Nejstarší nález v Evropě pochází až ze 7. - 9. st., což přispívá k otázce původu tohoto parazita (Le Bailly et al. 2008).

1.3 Paraziti ve středověku

Středověk je v mnoha evropských zemích charakterizován náboženskou a pověřčivou vírou, která zadržovala pokrok v oblasti medicíny. V tomto období bylo mnoho původně antických konceptů zapomenuto. Představa o původu parazitárních nemocí byla obecně méně pochopená než ve starověku. Existovalo sice mnoho literárních odkazů na parazitické červy, ale medicínská literatura ze středověku je velmi kusá. V některých případech byli parazité rozpoznáni jako možná příčina nemoci, ale obecně literární texty z této doby odráží spíše kulturní vlivy a víru, než skutečnost. Pokrok v medicíně nastal až s příchodem renesance, jež dovolila znovu vzniknout racionální vědě a učenosti. Pravá vědní helmintologie vznikala v 17. a 18. století. Všechny tyto aktivity vedly nakonec k velkým objevům, které jsou charakteristické pro konec 19. a začátek 20. století (da Rocha et al. 2006, Cox 2002).

Veřejná i osobní hygiena ve středověkých sídlištích byla na nízké úrovni a s tím souvisel i nezáměr o likvidaci nečistot, což je asi největší rozdíl oproti římským městům, ve kterých byla kanalizace. Odpadky ležely na veřejných prostranstvích, v příkopech před hradbami i na dvorech domů a exkrementy byly často vyhazovány z nočníků přímo na ulici. Existuje záznam z 16. století, kdy konšelé Starého Města pražského vydali zákaz „vylévání nočních nádob z okna“. Tyto zákazy byly vydány i v jiných velkých městech jako Paříž, Florencie nebo Londýn. Latríny přijímaly všechny druhy odpadu od domácího smetí, přes zvířecí zbytky až po lidské exkrementy. Funkci jen jako sanitárních záchodů převzaly latríny až od 18. století (da Rocha et al. 2006, Vondruška 2007).

V roce 2009 Bartošová ve své diplomové práci zjišťovala přítomnost parazitů ve vzorcích z Hradební ulice v Chrudimi. Podle archeologických nálezů v této ulici bydleli bohatí měšťané (nález kupeckého závaží, luxusní sklo a porcelán). Jímky z této lokality byly parazitologicky velmi bohaté, a to jak do počtu druhů, tak i množství vajíček (*T. trichiura*, *A. lumbricoides*, *Toxocara canis/cati*, *Fasciola hepatica*, *Diphyllobothrium latum* a *Hymenolepis nana*). Zpracovávala i vzorky z Celetné ulice v Praze, ale v těch identifikovala pouze dva druhy střevních helmintů (*T. trichiura* a ojedinele vajíčka *A. lumbricoides*) (Bartošová 2009).

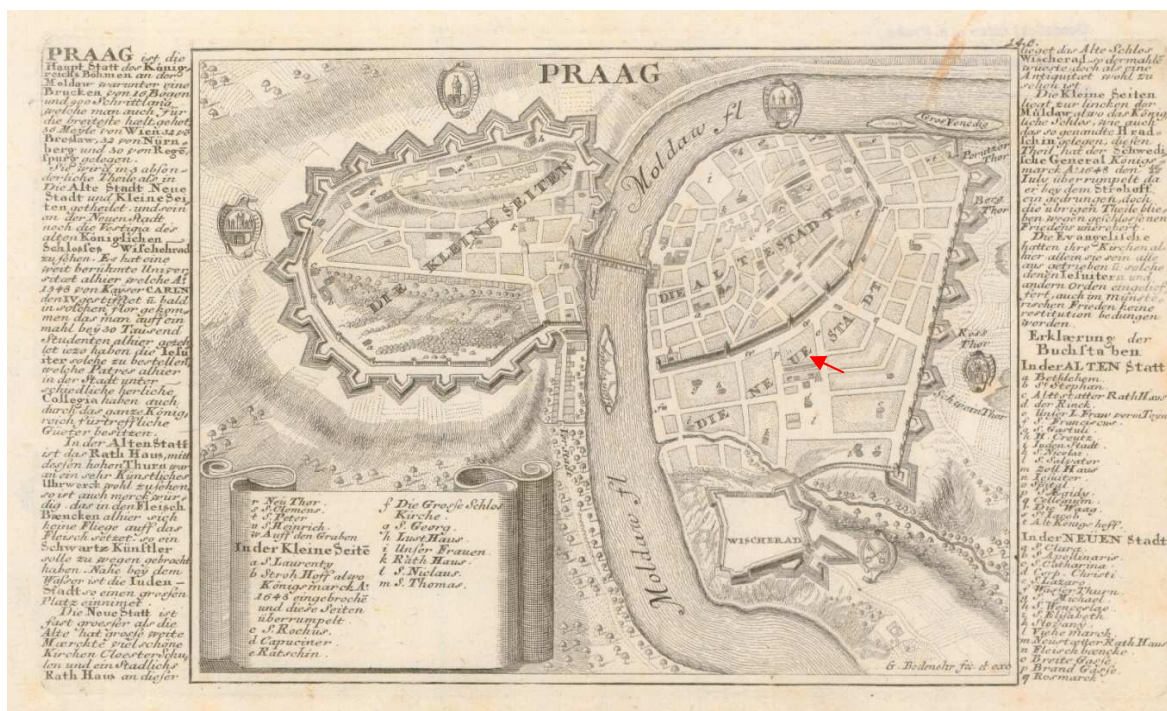
2 CÍLE PRÁCE

1. Zpracovat kriticky literární rešerši o tématu.
2. Koncentračními metodami vyšetřit vzorky ze zasypaných studní a odpadních jímek s cílem identifikovat vajíčka helmintů parazitujících u člověka a domácích zvířat.
3. Pomocí PCR identifikovat ve vybraných vzorcích případné DNA určitých druhů parazitů.
4. Výsledky dát do souvislosti s dostupnými informacemi o příslušných archeologických nalezištích.

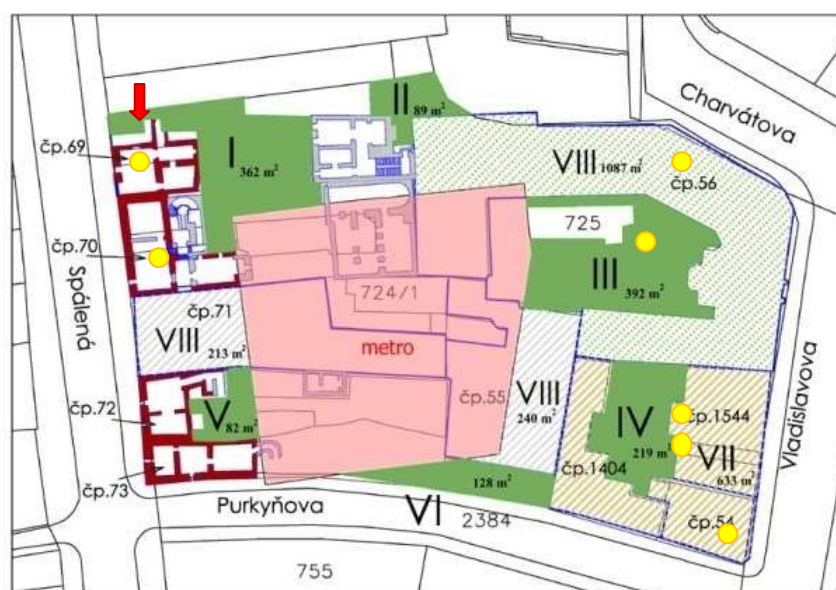
3 MATERIÁL A METODY

3.1 Naleziště

Místo archeologického výzkumu se nachází v historickém centru Prahy na hranici Starého a Nového Města pražského (obr. 1). Je situováno mezi ulicemi Spálená, Purkyňova, Vladislavova a Charvátova (obr. 2). Konkrétně se jedná o záchranný archeologický výzkum, na jehož ploše se vyskytoval novoměstský domovní blok. Původní měšťanská zástavba zde existovala do konce 70. let 20. století (1979), kdy byla zbourána z důvodu výstavby stanice metra Národní třída. Před výstavbou metra zde byl proveden záchranný archeologický výzkum Olmerovou.



Obrázek 1: Mapa Prahy z počátku 18. století s vyznačeným místem archeologického výzkumu. (Zdroj: Český úřad zeměměřický a katastrální)



Obrázek 2: Plánek archeologického naleziště, Národní třída, Praha. Žlutě je vyznačeno orientační umístění zkoumaných objektů a červenou šipkou pohřebiště.

(Zdroj: <http://www.archeopraha.cz/index.php?cid=283&lb=a>)

Nejstarší částí naleziště je část raně středověké osady Újezdu sv. Martina, která zde byla doložena již v roce 1140. Za vlády Václava I. ve 30. letech 13. století byla osada rozdělena, v té době budovanými, staroměstskými hradbami (Fiala et al. 1998). Z této osady zde bylo objeveno několik zahluobených objektů a část polozemnice, které jsou keramikou datované do 12. -13. století.

Významným historickým milníkem, pro stavební rozkvět na tomto místě, bylo založení Nového Města pražského českým králem a římským císařem Karlem IV., který si Prahu, tehdy hlavní město Království českého, vybral jako své sídelní město, a tedy i jako hlavní město římské říše. K založení došlo listinou vydanou v březnu roku 1348. Popudem k založení a vybudování nového města, které mělo obklopit již stávající město na pravém břehu Vltavy, bylo to, že podle panovníka nebylo dost reprezentativní a hlavně pravobřežní město uzavřené v hradbách bylo přelidněno. Došlo tedy k vykoupení okolních území a započatí výstavby. Hlavní stavební vývoj probíhal v letech 1347 – 1367. Rok 1367 byl rokem závěrečné fáze budování, kdy v prosinci došlo ke sloučení Starého a Nového Města pražského (Fiala et al. 1998).

Se středověkým a raně novověkým stavebním rozkvětem je také třeba spojit, kromě domovní výstavby, několik nadzemních a zahloubených, zděných nebo smíšených konstrukcí hospodářské, respektive sanitární povahy (studny, jímky).

Ve Spálené ulici se nalézaly jedny z nejstarších domů řemeslníků, spolu s Koňským trhem (dnešní Václavské náměstí). Podle historických pramenů byla ulice Kovářská, později Flašněřská a dnes Spálená ulice centrem zámečníků, kotlářů, nožířů, hřebíčníků, zlatotepců, ale hlavně zde byly kovářské dílny (Fiala et al. 1998). Tato skutečnost byla podpořena nálezy během archeologického výzkumu, které dokládají každodenní řemeslnou aktivitu tamějších obyvatel. Byly zde nalezeny fragmenty keramických a skleněných nádob, kosti (patřící jak ke kuchyňskému, tak řemeslnému odpadu), nebo stovky hrud strusky (kovolitecká a železářská výroba) (Cymbalak 2011 pers.com.).

Příčinou místní centralizace řemesel na tomto území bylo to, že všichni řemeslníci, kteří byli na obtíž ať už hlukem, zápachem, nebo potřebovali nadměrné prostory, se měli přestěhovat se svými dílnami i obydlími ze Starého Města za hradby při budování Nového Města (Fiala et al. 1998).

V období před založením Nového Města vedly tímto územím veřejné komunikace. Jedna z nich byla v trase dnešní Spálené ulice (Wallisová 2002). Tato skutečnost je doložena nálezy reliktní nejstarší zděné zástavby paralelní s uliční čarou dnešní komunikace, která pravděpodobně kopírovala starou cestu, která byla nazývána cestou „mezi hrady“, zmiňovanou již v Kosmově kronice (Olmerová 1981). Dalším vodítkem, že cesta vedla tímto místem, je nález části raně středověkého řadového pohřebiště v severozápadní části bývalého domovního bloku. Byly nalezeny a zdokumentovány 2 rovnoběžné řady s pozůstatky 5 jedinců. Hroby byly orientovány ve směru Z-V a ostatky byly uloženy v natažené poloze.

V jižní části mezi ulicemi Purkyňova, Spálená, Jungmannova a Lazarská se nalézal židovský hřbitov, který byl poprvé zmíněn v roce 1254, kdy byl králem Přemyslem Otakarem II. darován židovským osadníkům, usídlených zde od 11. století. Hřbitov byl na pozemcích jižně od Újezdu sv. Martina (Wallisová 2002, Fiala et al. 1998). Výskyt hřbitova byl doložen nálezem několika fragmentů deskových náhrobků. Hřbitov byl zrušen v roce 1478 králem Vladislavem Jagellonským (Wallisová 2002).

V jižní části domovního bloku byl nalezen fragment příkopu o délce cca 20 m z období středověku. Výskyt příkopu, který je paralelní s dnešní Purkyňovou ulicí, byl již nalezen při archeologickém výzkumu v roce 1978. Šlo o suchý příkop v prvním případě

o hloubce 1,8 m a šířce více jak 3 m a v druhém o hloubce 1,4 m a šířce 2,2 m. Byl orientován ve směru Z – V (Olmerová 1981). Funkce příkopu není jednoznačná. Podle Olmerové mohlo jít o hranici mezi zkoumaným novoměstským blokem a židovským hřbitovem (Olmerová 1981).

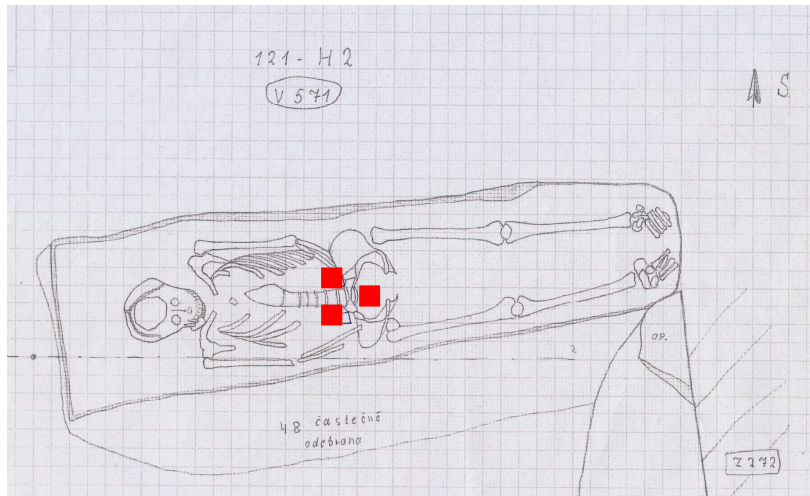
3.2 Materiál

Paleoparazitologické analýze byly podrobeny vzorky ze studní/jímek (sonda č. 124/131; 154; 358; 368; 416; 426; 606), zásypu interiéru zaniklé stavby (sonda č. 337/336/346), zánikového horizontu zahloubeného objektu (sonda č. 208) a z pěti odkrytých hrobů (H01 – H05). Materiál ze studní/jímek a objektů byl po jednotlivých vrstvách odebírán a balen do pytlů pro makrozbytkovou analýzu a z těchto pytlů byly posléze vybrány vrstvy, které obsahovaly hodně organického materiálu pro paleoparazitologickou analýzu. Vzorky byly odebrány do uzavíratelných igelitových sáčků a popsány číslem sondy a vrstvy. Před zpracováním byly uloženy v papírové krabici v chladicí místnosti.

Vzorky z hrobů byly odebírány také do igelitových uzavíratelných sáčků, popsány a uloženy v chladu. Jednalo se o vzorky z pánevní oblasti a kolem bederní páteře (obr. 3, 4).



Obrázek 3: Kosterní pozůstatky ze sondy č. 121, hrob H2.



Obrázek 4: Nákres kosterních pozůstatků z hrobu H2 s vyznačenými místy odběru.

3.3 Metody

Obsah sáčku byl vždy promíchán a lžičkou byl odebrán vzorek velikosti přibližně 1 g do připravené zkumavky. Z každého sáčku, tzn. z každé archeologické vrstvy, byla provedena analýza metodou flotační a sedimentační.

3.3.1 Rehydratace

Před samotným zpracováním byly vzorky rehydratovány nejméně 72 h. Použití této metody způsobí, že se zemina oddělí, uvolní více vajíček a zlepší pozorování ve světelném mikroskopu.

Do zkumavek s odebraným materiálem bylo přidáno 10 ml 0,5 % Na_3PO_4 a řádně promícháno. Do takto připravených vzorků byl přidán 10 % formaldehyd (na 2 % koncentraci), jako prevence proti plísňovému a bakteriálnímu růstu. Zkumavky ve stojánku byly překryty alobalem a umístěny do lednice (5 °C). Poté byly postupně zpracovány metodou flotační a sedimentační.

3.3.2 Sedimentace AMS III

Roztok pro sedimentační metodu AMS III se sestával z 115,2 g (bezvodého) Na_2SO_4 , 540 ml HCl a 660 ml H_2O , přičemž hustota roztoku má být 1,08 g/ml. Roztok Tritonu vzniknul smícháním 16,5 ml Tritonu X-100 (isooctylphenoxypolyethoxyphenol) s 33,5 ml H_2O .

Postup:

1. centrifugovat 2 minuty (2000 ot./min)
2. slít supernatant
3. sediment smíchat se 6 ml roztoku
4. slít přes gázu a nálevku do další zkumavky
5. přidat 3ml etheru a 3 kapky Tritonu, uzavřít gumovou zátkou a protřepat
6. centrifugovat 2 minuty (2000 ot./min)
7. opatrně slít supernatant
8. plastovou pipetou přenést 2 kapky sedimentu na podložní sklíčko a přiklopit krycím sklíčkem (24x40x0,13 mm)

3.3.3 Flotace dle Kozáka a Mágrové (KOMA)

Roztok KOMA se sestával z dílu roztoku A, dílu roztoku B a glycerolu. Roztok A byl složen z 560 g ZnSO_4 a 1000 ml destilované vody. Roztok B byl složen z 920 g MgSO_4 a 1000 ml vody.

Postup:

1. vzorek rozmíchat a slít přes gázu do další zkumavky
2. centrifugovat 3 minuty (2000 ot./min)
3. slít supernatant
4. sediment rozmíchat v malém množství roztoku KOMA
5. dolít zkumavku roztokem KOMA cca půl centimetru pod okraj (nezátkovat!)
6. centrifugovat 3 minuty (2000 ot./min)
7. kličkou přenést povrchovou blanku na podložní sklíčko a překrýt krycím sklíčkem (24x40x0,13 mm)

3.3.4 Mikroskopie

Vzorky byly prohlíženy mikroskopem Olympus BX51 se zvětšením 100x. Detaily byly prohlíženy objektivem 20x a 40x a s tímto zvětšením byla rovněž pořizována fotografická dokumentace. Vajíčka byla určována podle charakteristické morfologie a velikosti.

3.3.5 Molekulární diagnostika

DNA byla izolována u 12 vybraných vzorků.

DNA se izolovala kitem QIAamp DNA Stool (Cat. No. 51 504)

Postup:

1. do eppendorfký navážit 180 – 200 mg vzorku
2. přisypat skleněné kuličky
3. připipetovat 1 ml Buffer ASL, vertex 1 minutu, dokonale homogenizovat
4. rozbít v mini beadbeateru 2 minuty při max. rychlosti (120 s/5 000 kmitů)
5. inkubace 5 minut při 70 °C v inkubačním bloku
6. vortex 15 s, centrifugace 1 minutu při max. rychlosti
7. maximum supernatantu přenést do čisté zkumavky (pelet vyhodit)
8. přidat ½ inhibiční EX tablety, vertex 1 minutu (dokonale rozpustit), inkubace 1 minutu při laboratorní teplotě
9. centrifugace 3 minuty při max. rychlosti
10. nepipetovat veškerý supernatant do nové eppendorfký, znovu centrifugovat 3 minuty při max. rychlosti
11. nepipetovat 15 µl proteinase K do čisté mikrozkušavky a přidat 200 µl supernatantu
12. přidat 200 µl Buffer AL, vertex 15 s
13. inkubace 10 minut při 70 °C v inkubačním bloku
14. přidat 200 µl 96 % etanolu, vertex
15. nepipetování lyzátu na QIAamp kolonu opatřenou sběrnou zkumavkou, centrifugace 1 minutu při max. rychlosti
16. přidat 500 µl Buffer AW1, centrifugace 1 minutu při max. rychlosti, vyprázdnit sběrnou zkumavku
17. přidat 500 µl Buffer AW2, centrifugace 3 minuty při max. rychlosti

18. přenesení kolony na čistou mikrozkuhavku, nepipetovat 200 µl Buffer AE přímo na membránu, inkubace 1 minutu při lab. teplotě, centrifugace 1 minutu při max. rychlosti

19. získanou DNA uchovávat při -20 °C

3.3.6 Nested PCR

Celkový objem reakční směsi pro každou PCR byl 25µl. Byly prováděny čtyři sady PCR s různými sety primerů, na prokázání přítomnosti *Cryptosporidium* spp, *Giardia* spp., *E. bieneusi* a *Encephalitozoon* spp.

Cryptosporidium spp.

program 55 °C, SSU rRNA

Tabulka 1: Směs pro primární a sekundární PCR.

Primární PCR	1x [µl]	15x [µl]
1. H ₂ O	11,3	169,5
2. MgCl ₂	1,2	18
3. pufr	2,0	30
4. dNTPs	0,4	6
5. F1	0,4	6
6. R1	0,4	6
7. BSA	0,8	12
8. Taq	0,5	7,5
DNA	3,0	1. - 8./15 = 17

Sekundární PCR	1x [µl]	16x [µl]
1. H ₂ O	13,1	209,6
2. MgCl ₂	1,2	19,2
3. pufr	2,0	32
4. dNTPs	0,4	6,4
5. F2	0,4	6,4
6. R2	0,4	6,4
7. Taq	0,5	8
DNA	2,0	1. - 7./16 = 18

Primery pro primární PCR:

F1 - TTC TAG AGC TAA TAC ATG CG

R1 - CCC ATT TCC TTC GAA ACA GGA

Primery pro sekundární PCR:

F2 - GGA AGG GTT GTA TTT ATT AGA TAA AG

R2 - CTC ATA AGG TGC TGA AGG AGT A

Giardia spp.

program 50 °C

Tabulka 2: Směs pro primární a sekundární PCR.

Primární PCR	1x [μl]	15x [μl]
1. H ₂ O	14,7	220,5
2. pufr	2,5	37,5
3. dNTPs	0,5	7,5
4. F1	0,5	7,5
5. R1	0,5	7,5
6. BSA	1,0	15
7. Taq	0,3	4,5
DNA	5	1. - 7./15 = 20

Sekundární PCR	1x [μl]	16x [μl]
1. H ₂ O	18,7	299,2
2. pufr	2,5	40
3. dNTPs	0,5	8
4. F1	0,5	8
5. R1	0,5	8
6. Taq	0,3	4,8
DNA	2,0	1. - 6./16 = 23

Primery pro primární PCR:

GIAF1 - AAA TIA TGC CTG CTG GTC G

GIAR1 - CAA ACC TTI TCC GCA AAC C

Primery pro sekundární PCR:

GIAF2 - CCC TTC ATC GGI GGT AAC TT

GIAR2 - GTG GCC ACC ACI CCC GTG CC

Enterocytozoon bieneusi

program primární PCR 57 °C

program sekundární PCR 55 °C

Tabulka 3: Směs pro primární a sekundární PCR.

	1x [μl]	Primární PCR 15x [μl]	Sekundární PCR 16x [μl]
1. H ₂ O	15,37	230,55	245,9
2. Pufr	2,5	37,5	40
3. MgCl ₂	1,5	22,5	24
4. F	0,5	7,5	8
5. R	0,5	7,5	8
6. dNTPs	0,5	7,5	8
7. BSA	1	15	16
8. Taq	0,63	9,45	10,08
DNA/PCR	2,5	1. - 8./15 = 22,5	1. - 8./16 = 22,5

Primery pro primární PCR:
 MSP-1 TGA ATG KGT CCC TGT
 MSP-2A TCA ATA GCC GCT ACT

Primery pro sekundární PCR:
 MSP-3 GGA ATT CAC ACC GCC CGT CVY TAT
 MSP-4A CCA AGC TTA TGC TTA AGT YMA ARG GGT

Encephalitozoon spp.

program 58 °C

Tabulka 4: Směs pro primární a sekundární PCR.

	1x [μ l]	Primární PCR 15x [μ l]	Sekundární PCR 16x [μ l]
1. H ₂ O	12,87/15,3	193,05	245,92
2. Pufr	2,5	37,5	40
3. MgCl ₂	1,5	22,5	24
3. F	0,5	7,5	8
4. R	0,5	7,5	8
5. dNTPs	0,5	7,5	8
6. BSA	1	15	16
7. Taq	0,63	9,45	10,08
DNA/PCR	5/2,5	1.-7./15 = 20	1.-7./16 = 22,5

Primery pro primární PCR:
 MSP-1 TGA ATG KGT CCC TGT
 MSP-2B GTT CAT TCG CAC TAC T

Primery pro sekundární PCR:
 MSP-3 GGA ATT CAC ACC GCC CGT CVY TAT
 MSP-4B CCA AGC TTA TGC TTA AGT CCA GGG AG

3.3.7 Elektroforéza

Gelová elektroforéza je metoda, při níž dochází k rozdělení DNA fragmentů v agaróze podle molekulových hmotností působením elektrického pole. Pomocí této metody byla ověřována délka DNA fragmentů.

Pro elektroforézu byl použit 1 % gel složený z 0,4 g agarózy a 40 ml TAE pufru. Do gelu byl přidán 1 μ l ethidium bromidu. Po ztuhnutí a vložení do elektroforetické vany byl nanesen 100 bp DNA ladder o objemu 4 μ l, vzorky a kontroly o objemu 20 μ l. Vyvíjení probíhalo při napětí 70 V přibližně po dobu 45 min. Výsledky byly vizualizovány pomocí UV transiluminátoru.

4 VÝSLEDKY

4.1 Mikroskopie

Vzorky pocházejí z různých druhů objektů, z toho studny/jímky jsou parazitologicky nejzajímavější. Ve vzorcích jsem našla 4 druhy střevních helmintů. Nejvyšší počet vajíček byl zaznamenán v sondě č. 124/131 (78 vajíček).

Tabulka 5: Seznam jednotlivých objektů společně s počtem pozitivních vzorků daného objektu.

Objekt	Sonda	Počet vzorků	Počet pozitivních vzorků	% pozitivních vzorků
Studna/jímka	124/131	7	7	100
Studna	154	2	2	100
Zánikový horizont zahloubeného objektu	208	1	1	100
Zásyp interiéru zaniklé stavby	337/336/346	5	-	0
Studna	358	6	4	66
Studna/jímka	368	2	2	100
Studna	416	2	-	0
Studna	426	1	1	100
Studna	606	3	-	0
Celkem		29	17	77,8

Tabulka 6: Zastoupení parazitů v jednotlivých časových obdobích.

Období	Sonda	<i>Trichuris trichiura</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	<i>Toxocara canis/cati</i>
předlokační období (před r. 1348)	208	1	-	-	-
	337 (336,346)	-	-	-	-
14./15. století	358	8	2	-	-
	416	-	-	-	-
	426	2	-	1	-
renesance/baroko	124/131	51	22	5	2
	368	13	6	5	1
	606	-	-	-	-
18./19. století	154	5	8	1	1

Sonda č. 124/131

Jde o rozměrnou novověkou, čtvercovou (původně pozdně renesanční/barokní) studnu/jímku. Sloužila jako součást sanitárního zařízení původního čp. 69. Vzorky byly odebrány z její střední a spodní vrstvy. Objekt vykazoval známky několikerého čištění. V období zániku (mladší úsek novověku) se do svrchního prostoru objektu dostalo velké množství suchého materiálu (stavební suť).

Tabulka 7: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 124/131. Zkratky: tr = *Trichuris trichiura*, as = *Ascaris lumbricoides*, dc = *Dicrocoelium dendriticum*

Číslo vzorku	Vrstva	Nález			Flotace
		Sedimentace			
296	7	tr (7)			-
297	11J	tr (8)	as (7)		-
298	8J	tr (4)	as (3)	dc (1)	-
	8S	tr (13)	as (6)	dc (1)	-
	11S	tr (6)			-
	19	tr (12)	as (6)	dc (2)	-
	36	tr (1)		dc (1)	-

Sonda č. 154

Šlo o hlubokou (11 m) novověkou studnu z 18. - 19. století. Studna se nacházela na ploše bývalé parcely čp. 70. Vzorky byly odebrány z nejspodnější úrovně výplně.

Tabulka 8: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 154. Zkratky: tr = *Trichuris trichiura*, as = *Ascaris lumbricoides*, dc = *Dicrocoelium dendriticum*, ta = *Toxocara canis/cati*

Číslo vzorku	Nález							
	Sedimentace				Flotace			
287	tr (3)	as (4)				as (2)	dc (1)	
324P	tr (2)	as (2)						ta (1)

Sonda č. 208

Šlo o zahloubený objekt z období středověku (možná raného středověku). Mohlo jít o součást hospodářského zázemí předlokační osady (tzv. Újezd u sv. Martina). Vzorky byly odebrány ze spodní části zánikového horizontu.

Tabulka 9: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 208. Zkratky: tr = *Trichuris trichiura*

Číslo vzorků	Nález	
	Sedimentace	Flotace
208	tr (1)	-

Sonda č. 337 (+ 336,346)

Šlo o čtvercovou opukovou stavbu spadající pravděpodobně do období před založením Nového Města pražského. Nacházela se přibližně uprostřed dvora bývalého čp. 56. Její zánik se předpokládá na konci 15. a první poloviny 16. století. Vzorky byly odebrány z několikafázového zásypu interiéru.

Tabulka 10: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 337 (+ 336,346).

Číslo vzorku	Nález	
	Sedimentace	Flotace
166 (336)	-	-
221 (337)	-	-
266 (337)	-	-
279 (337)	-	-
265 (346)	-	-

Sonda č. 358

Šlo o vrcholně až pozdně středověkou studnu spadající do novoměstského horizontu 14. - 15. století. Mohla vzniknout při zřizování hospodářského zázemí. Vzorky byly odebrány z její střední a spodní vrstvy.

Tabulka 11: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 358. Zkratky: tr = *Trichuris trichiura*, as = *Ascaris lumbricoides*

Číslo vzorku	Nález	
	Sedimentace	Flotace
26	tr (2) as (1)	-
30	tr (4)	-
31	-	-
32	tr (1)	-
40	tr (1) as (1)	-
41	-	-

Sonda č. 368

Šlo o čtvercovou odpadní jímku/studnu renesančního/barokního původu, jež byla součástí sanitárního zařízení většího stavebního celku (měšťanský palác) původního čp. 56. Vzorky byly pravděpodobně odebrány ze střední části objektu.

Tabulka 12: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 154. Zkratky: tr = *Trichuris trichiura*, as = *Ascaris lumbricoides*, dc = *Dicrocoelium dendriticum*, ta = *Toxocara canis/cati*

Číslo vzorku	Nález			
	Sedimentace			Flotace
277	tr (7)	as (5)	dc (3)	-
278	tr (6)	as (1)	dc (1)	ta (1)

Sonda č. 416

Šlo o výplň vrcholně až pozdně středověké studny, spadající do novoměstského horizontu 14. - 15. století. Pravděpodobně vznikla při zřizování hospodářského zázemí.

Tabulka 13: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 416.

Číslo vzorku	Nález	
	Sedimentace	Flotace
206	-	-
217	-	-

Sonda č. 426

Šlo o studnu z období 2. poloviny 15. století (po roce 1561). Vzorek byl odebrán z nejspodnější vrstvy z období zániku, který lze zařadit do období raného novověku (16. - 17. století ?).

Tabulka 14: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 426. Zkratky: tr = *Trichuris trichiura*, dc = *Dicrocoelium dendriticum*

Číslo vzorku	Nález					
	Sedimentace			Flotace		
205	tr (1)		dc (1)	tr (1)		

Sonda č. 606

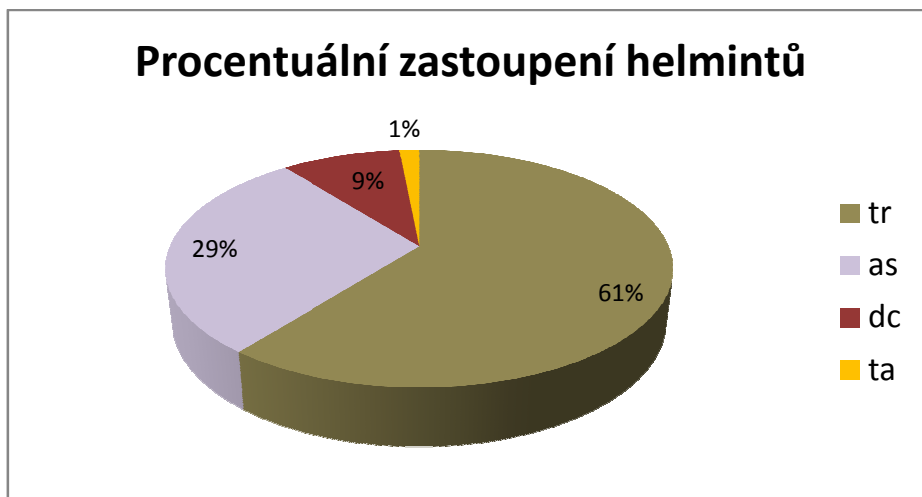
Šlo o studnu novověkého stáří, která byla 2 m široká. Byla situovaná na ploše bývalého čp. 55. Vzorky byly odebrány ze střední části.

Tabulka 15: Nálezy v jednotlivých vzorcích sondy č. 606.

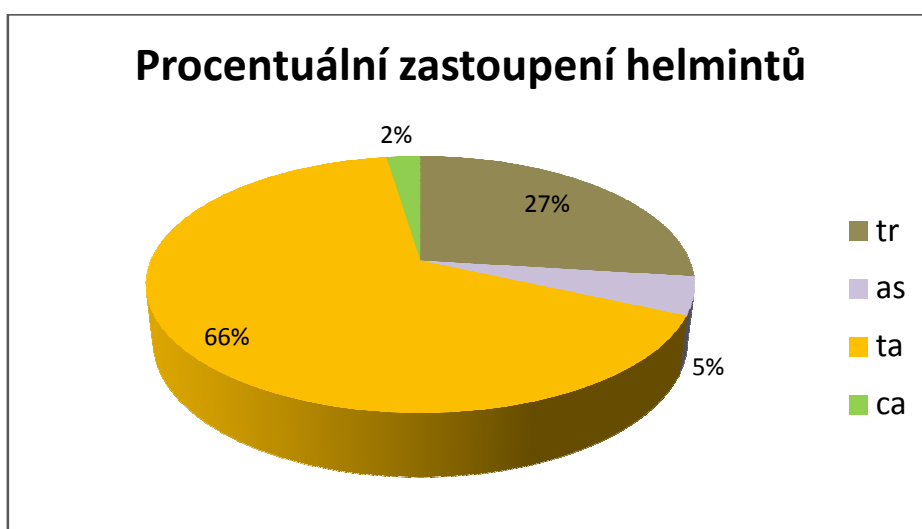
Číslo vzorku	Nález	
	Sedimentace	Flotace
54	-	-
56	-	-
62	-	-

Tabulka 16: Nálezy z hrobů (kostry – pánevní oblast).

Sonda	Hrob	Nález	
		Sedimentace	Flotace
101	H1	-	-
121	H2	-	-
102	H3	-	-
120	H4	-	-
102	H5	-	-



Graf 1: Spektrum vajíček nalezených na archeologickém nalezišti na Národní třídě. Zkratky: tr = *Trichuris trichiura*, as = *Ascaris lumbricoides*, dc = *Dicrocoelium dendriticum*, ta = *Toxocara canis/cati*



Graf 2: Spektrum vajíček nalezených na archeologickém nalezišti na Mírovém náměstí v Ústí nad Labem. Zkratky: tr = *Trichuris trichiura*, as = *Ascaris lumbricoides*, ta = *Toxocara canis/cati*, ca = *Capillaria* sp. Je uveden pro srovnání. Není součástí zadání práce.

4.1.1 Fotografická dokumentace

TREMATODA



Obrázek 5: *Dicrocoelium dendriticum* ze vzorku č. 131-19, sedimentace.

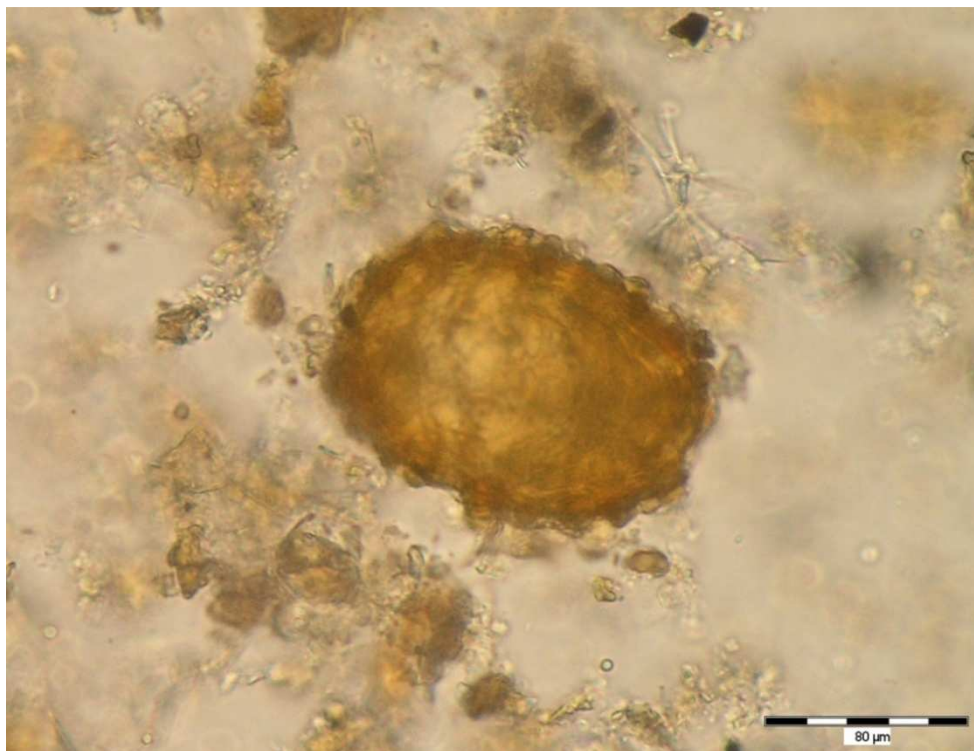


Obrázek 6: *Dicrocoelium dendriticum* ze vzorku č. 368-278, sedimentace.
mineralizovaný obsah



Obrázek 7: *Dicrocoelium dendriticum* ze vzorku č. 426-205, sedimentace.
na levém pólu operculum

NEMATODA



Obrázek 8: *Ascaris lumbricoides* ze vzorku č. 131-19, sedimentace.
bradavičnatý povrch, bez mineralizovaného obsahu



Obrázek 9: *Ascaris lumbricoides* ze vzorku č. 368-277, sedimentace
bradavičnatý povrch, bez mineralizovaného obsahu



Obrázek 10: *Ascaris lumbricoides* ze vzorku č. 358-40, sedimentace.
vajíčko bez obalu, neplodné



Obrázek 11: *Ascaris lumbricoides* ze vzorku č. 154-287, sedimentace.
široký, oválný tvar, bradavičnatý povrch, mineralizovaný obsah



Obrázek 12: *Trichuris trichiura* ze vzorku č. 131-11, sedimentace.
typický citrónkovitý tvar, pólové zátky, bez zřetelného vnitřního obsahu



Obrázek 13: *Trichuris trichiura* ze vzorku č. 358-30, sedimentace.
typický citronkovitý tvar, pólové zátky, bez zřetelného vnitřního obsahu



Obrázek 14: *Toxocara canis/cati* ze vzorku č. 154-324P, flotace.

4.2 Molekulární metody

Pro molekulární metody jsem vybrala jen vzorky, které obsahovaly množství střevních helmintů. U těchto vzorků se dalo předpokládat, že mohou obsahovat i jiné druhy parazitů. Sekvence prokázala výskyt DNA *E. intestinalis* ve třech vzorcích a u jednoho vzorku byla potvrzena DNA blíže neurčené mikrosporidie.

Tabulka 17: Výsledky DNA sekvenace.

Sonda	Číslo vzorku/ vrstva	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Giardia</i> spp.	<i>Microsporidium</i> sp.	<i>E. bienewisi</i>	<i>E. intestinalis</i>
124	297	-	-	-	-	ano
124	298	-	-	-	-	ano
131	8	-	-	ano	-	-
131	19	-	-	-	-	-
154	287	-	-	-	-	ano
154	324P	-	-	-	-	-
358	26	-	-	-	-	-
358	30	-	-	-	-	-
358	40	-	-	-	-	-
368	277	-	-	-	-	-
368	278	-	-	-	-	-
426	205	-	-	-	-	-

DISKUSE

V minulosti byla většina paleoparazitologických nálezů archeology a parazitology viděna spíše jako kuriozita, než jako zdroj užitečných vědeckých dat. Obrat nastal v posledních deseti letech, kdy archeologové začali přijímat paleoparazitologii a ostatní vědní obory jako důležitou součást při svých výzkumech. Parazitologické studie, provedené na organickém materiálu posbíraném z archeologických nalezišť, jsou nezbytné k tomu, abychom porozuměli středověkým populačním zdravotním podmínkám. Vajíčka parazitů v půdě odráží lidské chování a ukládací procesy, které rozhodují o složení vrstev v latrínách a jiných strukturách (Reinhard 1992).

Určení vzorků je přesnější, když je znám biologický původ studovaného materiálu. Problémem je, že mnoho analýz je provedeno na vzorcích pocházejících ze sedimentů odebraných z jímek/studen nebo latrín. Identifikace biologického materiálu fekálního původu je v takových případech méně přesná a výsledky jsou předmětem debaty (Le Bailly 2010).

Tento případ se týká i vzorků z Národní třídy v Praze, které jsem zpracovávala. Jedná se o různé objekty, převážně studny/jímky, s obdobím vzniku od 12. století, až do přelomu 18./19. století.

Všechny vzorky jsem rehydratovala a každý vzorek jsem poté podrobila dvěma testovacím metodám – flotaci a sedimentaci. V tomto směru musím konstatovat, že na tyto vzorky nebyla metoda flotace (KOMA) moc účinná. Díky ní bylo získáno jen velmi málo vajíček. Podle literatury to může být způsobeno půdou, ve které byla vajíčka helmintů uložena. Mohlo dojít k inkrustaci vajíček těžkými komponenty, které je činí těžší, což zabránilo jejich flotaci (Reinhard 1986). Domnívám se, že na některých nalezištích je metoda flotace (co se týče počtu získaných vajíček) srovnatelná se sedimentací.

Období středověku je charakteristické růstem městské populace okolo i uvnitř opevněných měst (a to i lokalita na Národní třídě). Tento růst měl za následek vysokou hustotu příbytků a tím redukcí prostoru (da Rocha 2006). Spolu s nízkou úrovní hygieny, zapříčiněnou zvyky, pověrami i vírou, bylo toto období charakteristické určitou parazitární faunou.

Po zpracování vzorků z Národní třídy musím konstatovat, že vzorky z této lokality patří mezi chudší (druhově i početně). Rozdíl je zřejmý hlavně při srovnání s výsledky z Chrudimi (Bartošová 2009). Před započítáním této práce jsem zpracovávala vzorky z Mírového náměstí z Ústí nad Labem, které co do počtu vajíček na vzorek byly bohatší,

ale pozitivních vzorků bylo jen 38 %. Na druhou stranu, na Národní třídě bylo pozitivních vzorků kolem 77 %.

Spektrum nálezů na Národní třídě odpovídá nálezům na evropských nalezištích z té doby. Našla jsem zde parazity přenášené fekálně-alimentární cestou, kteří jsou typičtí pro místa s nízkými hygienickými podmínkami (relativní standard pro středověk). Mezi ně patří *Trichuris trichiura*. Tento druh se v objektech na Národní třídě vyskytoval nejčastěji. To však neznamená, že by to byl jednoznačně dominantní druh. Na postup, který jsem zvolila, a který je běžně používán, nelze uplatnit kvantitativní analýzu. Takže srovnání mezi různými lokalitami je jen orientační a založené spíše na druhovém složení. Tato skutečnost je způsobena rozdílností produkce vajíček jednotlivými druhy a hlavně jejich odolností. Ne všechna vajíčka mají tlustostěnné obaly jako *Trichuris trichiura* nebo *Ascaris* spp., které by zabránily jejich degradaci v průběhu času (Reinhard 1986).

Druhým nejpočetnějším druhem byl *Ascaris lumbricoides*. Problémem tohoto druhu je jeho morfologická neodlišitelnost od příbuzného druhu *Ascaris suum*, který se vyskytuje u prasat. Jejich rozlišení je možné pomocí molekulárních metod. Na druhou stranu, druh lze určit i na základě nepřímých údajů, jako je například výskyt *T. trichiura* ve stejných vzorcích, který odkazuje na lidský původ.

Přítomnost druhu *Dicrocoelium dendriticum* jsem potvrdila ve dvou novověkých studnách/jímkách renesančního/barokního původu. Nález nelze tak snadno interpretovat. Mohlo jít o zvířecí zbytky, pseudoparazitaci, nebo o lidské exkrementy. K druhému případu mohlo dojít díky stravě obsahující parazitovaná játra. Například v Paříži byla tato jídla velmi ceněna od 14. století a stále jsou (Bouchet 1995).

Toxocara canis/cati ukazuje na přítomnost koček nebo psů, jež se běžně vyskytovali ve městech a pravděpodobně i přímo v měšťanských domech. Ve vzorcích jsem našla jen dvě vajíčka. Tak nízký počet je zarážející. Vajíčka tohoto druhu se obvykle dobře zachovávají a na jiných nalezištích jsou běžnější. Například na nalezišti v Ústí na Labem to byl převažující druh. Rozdíl mohl být způsoben jiným typem osídlení.

Nenašla jsem žádná vajíčka rodu *Taenia*, ani *Diphyllobothrium*. Jejich výskyt by odkazoval na stravu založenou na rybím, hovězím nebo vepřovém mase. Podle literatury tato absence není až tak výjimečná. Vajíčka tasemnic, hlavně rodu *Taenia*, se špatně dochovávají v archeologickém materiálu kvůli jejich obalu. Další důvod způsobující jejich nepřítomnost může být způsoben stravovacími návyky tamních obyvatel. Tato

novoměstská lokalita byla obývána převážně řemeslníky, v jejichž domácnostech pravděpodobně nebylo zvykem jíst nedostatečně tepelně opracované maso.

Zvláštností také je, že jsem nenalezla žádná vajíčka druhu *Fasciola hepatica*, která jsou dosti typická pro období středověku. A také jsem nenašla vajíčka rodu *Capillaria* spp.. Tato vajíčka nebyla nalezena ani ve vzorcích z Chrudimi, ale zaznamenala jsem je ve vzorcích z Ústí nad Labem.

Analýza provedená na vzorcích z hrobů nepřinesla žádné výsledky, i když kosterní pozůstatky jsou slibným materiálem pro paleoparazitologický výzkum, dovolující usoudit lidský původ parazita.

Pomocí molekulárních metod jsem neověřovala přítomnost již nalezených parazitů, ale zjišťovala jsem, zda materiál obsahuje DNA jiných parazitárních druhů. Pravděpodobnost výskytu jsem se snažila zvýšit výběrem vzorků, obsahujících množství jiných parazitů, v nichž se dal předpokládat výskyt jednobuněčných parazitů, kteří nejsou zjistitelní standardními metodami. Touto metodou se mi podařilo prokázat přítomnost DNA druhu *Encephalitozoon intestinalis* ve třech vzorcích. Z toho dva byly ze studny/jímky z renesančního/barokního období a jeden ze studny z 18. - 19. století. DNA *E. intestinalis* se pravděpodobně zachovalo ze spor, které jsou velmi rezistentní.

Problém při interpretaci výsledků nastává u míst, která jsou osídlena dlouhou dobu. Existuje zde totiž velká pravděpodobnost, že mohlo dojít ke kontaminaci starších vrstev současným materiálem zapříčiněné prosakováním vody (Dittmar 2009), nebo mechanickým narušením. Tuto možnost je nutné vyloučit pomocí archeologických zjištění.

Datace a interpretace výsledků je zatím předběžná. Ze současných výsledků, které mi byly poskytnuty, není zřejmé, zda vrstvy, které jsem zpracovávala, jsou z období využívání objektů, nebo vznikly až zásypem v pozdějších obdobích. U spodnějších vrstev by se dala předpokládat první možnost, ale ne všechny studny/jímky byly odebrány až na dno (technické důvody). Celkově informace z tohoto naleziště nejsou kompletní, jelikož jde o probíhající výzkum, a je tudíž nezbytné je dát do souvislosti s ucelenými výsledky archeologického, palynologického, botanického a zoologického výzkumu.

Paleoparazitologický výzkum v tomto směru může pomoci ke zpřesnění interpretace výsledků. Příkladem může být teoretické určení funkce jednotlivých objektů, stravovacích návyků tamních obyvatel anebo nastínění jejich sociálních poměrů.

ZÁVĚR

1. Na nalezišti na Národní třídě byly nalezeny pouze čtyři druhy, z toho dva šířící se fekálně-orálním transportem. Týká se to jak středověkých objektů (14., 15. st.), tak i novověkých (až do 18. - 19. století).
2. Nelze jednoznačně rozhodnout, zda nález druhu *Dicrocoelium dendriticum* je zvířecího, nebo lidského původu.
3. Druhové složení parazitů na Národní třídě bylo podobné jako v Ústí nad Labem, ale byl zde rozdíl v množství nalezených vajíček. Naleziště v Chrudimi bylo na druhy i množství bohatší, ale převažovaly opět druhy přenášené fekálně-orálním transportem. Rozdíl mohl být způsoben specifickým složením obyvatelstva (řemeslníci – Národní třída x bohatí měšťané – Chrudim), které tyto lokality obývalo.
4. Metodou PCR se podařilo prokázat přítomnost *Encephalitozoon intestinalis* ve třech vzorcích pocházejících ze dvou studní/jímek novověkého stáří. Jde o první nález mikrosporidií v archeologickém materiálu.

LITERATURA

1. ARAÚJO, A; FERREIRA, LF., 2000. Paleoparasitology and the antiquity of human host-parasite relationships. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 89-93.
2. ARAÚJO, A., et al., 2003. Parasitism, the diversity of life, and paleoparasitology. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 5-11.
3. AUFDERHEIDE, AC, et al., 2004. A 9,000-year record of Chagas' disease. *PNAS* 101: 2034-2039.
4. BARTOŠOVÁ, L., 2009. *Paleoparazitologická analýza organických sedimentů archeologického naleziště v Chrudimi*. České Budějovice, Diplomová práce. Jihočeská univerzita, Přírodovědecká fakulta: 55 s.
5. BOUCHET, F. 1991., Étude parasitologique des chantiers archéologiques de beauvais (Oise). *Rev. Archéol. Picardie* 3/4: 293-294.
6. BOUCHET, F. 1995., Recovery of helminths eggs from archeological excavations of the Grand Louvre (Paris, France). *J. Parasitol.* 81: 785-787.
7. BOUCHET, F, et al., 2003a. Parasite remains in archaeological sites. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 98: 47-52.
8. BOUCHET, F, et al., 2003b. The state of the art of paleoparasitological research in the Old World . *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 98: 95-101.
9. BOUCHET, F, et al., 2003c. *Toxocara canis* (Werner, 1782) eggs in the Pleistocene site of Menez-Dregan, France (300,000-500,000 Years Before Present). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 98 : 137-139.
10. BOUCHET-BRUYET, F., 2006. La paléoparasitologie: relation hôte parasite en contexte historique et paléoenvironnemental. *Ann Pharm Fr.* 64: 121-124.
11. COX, FEG., 2002. History of human parasitology. *Clin. Microbiol. Rev.* 15: 595-612.
12. DA ROCHA, GC, et al., 2006. Paleoparasitological remains revealed by seven historic contexts from "Place d'Armes", Namur, Belgium. *Mem Inst Oswaldo Cruz* . 101: 43-52.
13. DITTMAR, K ., 2009. Old parasites for a New World: The future of paleoparasitological research. A Review. *J. Parasitol.* 95: 365-371.

14. FERNANDES, A , et al., 2005. Intestinal parasite analysis in organic sediments collected from a 16th-century Belgian archeological site. *Cad. Saúde Pública*. 21: 329-332.
15. FIALA, M, et al., 1998. *Nové Město pražské 1348-1784*. Praha: Archiv hlavního města Prahy: 224 s.
16. FUGASSA, MH, et al., 2006. Quantitative paleoparasitology applied to archaeological sediments. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 101: 29-33.
17. GONÇALVES, MLC, et al., 2003. Human intestinal parasites in the past: New findings and a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 98: 103-118.
18. GROVE, DI, et al., 1900. *A history of human helminthology*. Wallingford : C.A.B. International: 848 s.
19. HARTER, S, et al., 2003. First paleoparasitological study of an embalming rejects jar found in Saqqara, Egypt. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 98: 119-121.
20. HIDALGO-ARGÜELLO, MR, et al., 2003. Parasitological analysis of Leonese royalty from Collegiate-Basilica of St. Isidoro, León (Spain): helminths, protozoa, and mites. *J. Parasitol.*. 89: 738-743.
21. HIDALGO-ARGÜELLO, MR., 2006. New paleoparasitological techniques. *J. Archaeol. Sci.* 33: 372-377.
22. IÑIGUEZ, AM, et al., 2006. SL1 RNA gene recovery from *Enterobius vermicularis* ancient DNA in pre-Columbian human coprolites . *Int. J. Parasitol.* 36: 1419-1425.
23. KUPFER, B, et al., 2006. Leishmaniasis in ancient Egypt and upper Nubia. *Emerg. Infect. Dis.* 12: 1616-1617.
24. LE BAILLY, M., 2005. *Evolution de la relation hôte/parasite dans les systèmes lacustres nord alpins au Néolithique (3900-2900 BC), et nouvelles données dans la détection des paléoantigènes de Protozoa*. Champagne-Ardenne. Dizertační práce. Université de Reims, L'École Doctorale Sciences, Technologies, Santé: 291 s.
25. LE BAILLY, M, et al., 2008. New finding of *Giardia intestinalis* (Eukaryote, Metamonad) in Old World archaeological site using immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 103: 298-300.
26. LE BAILLY, M; BOUCHET, F., 2010. Ancient dicrocoeliosis: Occurrence, distribution and migration. *Acta Trop.* 115: 1510-1520.

27. LELES, D, et al., 2010. A parasitological paradox: Why is ascarid infection so rare in the prehistoric Americas?. *J. Archaeol. Sci.* 37: 1510-1520.
28. LOREILLE, O, et al., 2001. Ancient DNA from *Ascaris*: Extraction amplification and sequences from eggs collected in coprolites. *Int. J. Parasitol.* 31: 1101-1106.
29. LOREILLE, O; BOUCHET, F., 2003. Evolution of ascariasis in humans and pigs: A multi-disciplinary approach. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 98: 39-46.
30. MARTINEZ, EM, et al., 2003. Random amplified polymorphic DNA analysis of DNA extracted from *Trichuris trichiura* (Linnaeus, 1771) eggs and its prospective application to paleoparasitological studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 98: 59-62.
31. MITCHELL, PD, et al., 2008. Dysentery in the crusader kingdom of Jerusalem: an ELISA analysis of two medieval latrines in the City of Acre (Israel). *J. Archaeol. Sci.* 35: 1849-1853.
32. OLMEROVÁ, Helena., 1981. Archeologický výzkum v Praze v roce 1978 : Praha 1 - Nové Město, Charvátova, Purkyňova, Spálená ul.. *In. Pražský sborník historický.* 13: 174-178.
33. REINHARD, KJ, et al., 1986. Recovery of parasite remains from coprolites and latrines: Aspects of paleoparasitological technique. *Homo.* 37: 217-239.
34. REINHARD, KJ., 1992. Parasitology as an interpretive tool in archaeology. *Am. Antiquity* 57: 231-245.
35. SIANTO, L, et al., 2009. Animal helminth in human archaeological remains: a review of zoonoses in the past. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 51: 119-130.
36. ŠERÝ, V; BÁLINT, O., 1998. *Tropická a cestovní medicína.* Praha : Medon s.r.o.: 569 s.
37. VOLF, P; HORÁK, P, et al., 2007. *Paraziti a jejich biologie.* Praha : TRITON: 318 s.
38. WALLISOVÁ, M., 2002. Předběžná zpráva o archeologickém výzkumu v letech 1997-2000 za židovským hřbitovem ve Vladislavské ulici na Novém Městě pražském. *Archaeol. Prag.* 16: s. 73-97.
39. GAGERRO, C. 10 facts on sanitation [online]. WHO. Dostupný z WWW: www.who.int/features/factfiles/sanitation/facts/en/index.html.