



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zdravotně sociální Fakulta  
Ústav laboratorní diagnostiky a veřejného zdraví

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

# Průkaz kryptosporidiových nákaz u lidí a zvířat

Vypracoval: Ondřej Bláhovec  
Vedoucí práce: MUDr. Věra Kůrková

České Budějovice 2016

# Abstrakt

Reprezentanti rodu *Cryptosporidium* jsou jedním z původců gastrointestinálního onemocnění traktu člověka i zvířat. U zvířat se může stát hostitelem i respirační aparát. Onemocnění je nazvané kryptosporidióza. V majoritním počtu případů se toto infekční napadení obejde bez závažných problémů, avšak u imunosuprimovaných jedinců mohou znamenat závažné zdravotní problémy. Vývojový cyklus kryptosporidií je monoxenní, což v podstatě znamená, že celý vývojový cyklus probíhá v jednom hostiteli. Exogenní stadium je reprezentováno oocystami, které jsou při gastrointestinálním onemocnění vylučovány výkaly. Při respiračním onemocnění odchází oocysty do vnějšího prostředí respiračními či nasálními sekrety. Tím dochází ke kontaminaci prostředí nebo vody.

V obecné rovině se předpokládá, že izoláty kryptosporidií, které jsou přítomny u jedné třídy obratlovců, nejsou infekční pro nespecifické hostitele z dalších tříd. Zároveň se předpokládá, že kryptosporidie mají nízkou hostitelskou specifitu. To však nevylučuje to, že některé druhy svou specifitu postupně rozšířily i na více druhů. Dále je patrné, že se kryptosporidiové infekce vyskytují běžně u zvířat ve vnějším prostředí, je tedy touto zoonózou ohrožen i člověk, ačkoliv výskyt v České republice je nízký. Důvodem však může být to, že se parazitologické vyšetření neprovádí tak často, tudíž předpokládaný výskyt v lidské populaci je zřejmě mnohem vyšší. Proto by bylo vhodné pro odhalení původce tohoto onemocnění, kdyby se při prvním výskytu potíží u osob, které jsou ve styku se zvířaty, uvažovalo o provedení parazitologického vyšetření, a tím byla vyloučena nebo prokázána kryptosporidiová infekce.

## Klíčová slova

*Cryptosporidium*, gastrointestinální infekce, oocysty, vítovec-miláček barvení, specifita hostitele

# Abstract

The representatives of the *Cryptosporidium* genus are one of the causes of gastrointestinal tract diseases in humans and animals. In animals the host may even be a respiratory apparatus. The disease is called cryptosporidiosis. In majority of cases this infection can bypass without any major problems, but in immunosuppressed individuals it can cause serious health problems. *Cryptosporidium* has a monoxenous development cycle, which basically means that the entire development takes place in a single host. Exogenous stage is represented by oocysts, which are in case of a gastrointestinal disease excreted in faeces. In case of a respiratory disease the oocysts make their way out via respiratory and nasal secretions. This leads to contamination of the environment or water.

In general, it is expected that *Cryptosporidium* isolates, which are present in one class of vertebrates, are not infectious to a non-specific host from other classes. It is also expected that cryptosporidia have low host specificity. But this does not exclude that some kinds have gradually extended its specificity to more species. It is also apparent that cryptosporidium infections are common in animals that inhabit the external environment, so even a human can be endangered by this zoonosis, although the incidence in the Czech Republic is low. The reason for the low numbers may as well be that parasitological examination is not performed very often, so the estimated prevalence in the population is probably much higher. Therefore to reveal the originator of this disease it would be appropriate to perform a parasitological examination in persons who are in contact with animals, this way the cryptosporidium infection would be excluded or proven.

## Key Words

*Cryptosporidium*, gastrointestinal infection, oocysts, Vítovec-Miláček dyeing method, host specificity

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval 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 12. 8. 2016

.....

(Ondřej Bláhovec)

## **Poděkování**

Chtěl bych velice poděkovat své vedoucí práce paní prim. MUDr. Věře Kůrkové za odborné vedení mé práce, bez které by tato práce nemohla vzniknout. Za její rady a trpělivost. Rovněž chci poděkovat za podporu své rodině.

## Obsah

|       |                                                                    |    |
|-------|--------------------------------------------------------------------|----|
| 1     | Úvod.....                                                          | 8  |
| 2     | Charakteristika kryptosporidivých nákaz .....                      | 9  |
| 2.1   | Kmen Apicomplexa .....                                             | 9  |
| 2.2   | Historie a taxonomie .....                                         | 9  |
| 2.2.1 | Specifita hostitele.....                                           | 11 |
| 2.2.2 | Kryptosporidióza a kryptosporidie nespecifických hostitelů.....    | 13 |
| 2.3   | Patogeneze infekce .....                                           | 15 |
| 2.3.1 | Cyklus vývoje .....                                                | 15 |
| 2.4   | Patentní a prepatentní periody.....                                | 18 |
| 2.4.1 | Patogeneze infekce .....                                           | 18 |
| 2.4.2 | Onemocnění vyvolaného <i>C. parvum</i> a jeho klinický průběh..... | 19 |
| 2.5   | Imunitní odpověď organismu.....                                    | 20 |
| 2.5.1 | Prevence a léčba.....                                              | 21 |
| 2.6   | Možnosti diagnostiky .....                                         | 22 |
| 2.6.1 | Detekce oocyst v hostitelích .....                                 | 22 |
| 3     | Cíl práce .....                                                    | 25 |
| 4     | Metodika a materiál .....                                          | 26 |
| 4.1   | Metodika .....                                                     | 26 |
| 4.2   | Materiál .....                                                     | 26 |
| 4.2.1 | Použité přístroje .....                                            | 28 |
| 4.2.2 | Metody parazitologického vyšetření.....                            | 28 |
| 5     | Výsledky .....                                                     | 30 |
| 6     | Diskuze výsledků.....                                              | 40 |
| 7     | Závěr .....                                                        | 44 |
| 8     | Literatura.....                                                    | 46 |
| 9     | Seznam Obrázků .....                                               | 52 |

|    |                               |    |
|----|-------------------------------|----|
| 10 | Seznam tabulek.....           | 53 |
| 11 | Seznam použitých zkratk ..... | 54 |
| 12 | Přílohy.....                  | 55 |

## 1 Úvod

Kryptosporidie jsou jednobuněční parazitičtí prvoci, kteří jsou zařazeni do kmene *Apicomplexa*. *Cryptosporidium* jsou ubiquitárně rozšířeny po celém světě, kromě Antarktidy (Palacois et al. 2010). Velmi dlouho byly kryptosporidie málo prozkoumány a až s rozvojem molekulárních metod a také díky jejich rozšířenosti, bylo možné nalézt velký počet odlišných kryptosporidií (Nagamani et al. 2007). Patří mezi významné patogeny obratlovců a to včetně člověka. Některé druhy Kryptosporidií mají nízkou hostitelskou specifitu a díky tomu jsou schopné infikovat širokou skupinu živočichů, oproti tomu jsou některé druhy úzce zaměřené pouze na jeden druh, který dokážou nakazit. Ne vždy se musí onemocnění těmito parazity projevovat symptomaticky a to může být pro imunosuprimované jedince fatální (Sterling a Arrowood, 1993).

Nemoc, jež kryptosporidie způsobují, je pojmenovaná po nich – kryptosporidióza. Tato nemoc patří mezi prozatím neléčitelné onemocnění, jež u zdravého člověka samovolně odezní po několika dnech, avšak u jedinců imunodeficitních a také imunosuprimovaných je toto onemocnění rizikové a může způsobit i smrt.

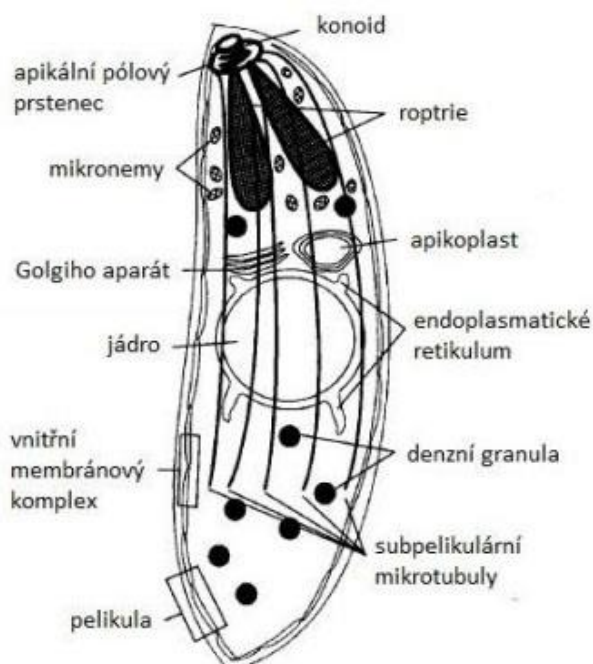
V této bakalářské práci jsem se v teoretické části soustředil na všeobecnou charakteristiku zkoumané problematiky a studium literárních zdrojů. Téma kryptosporidiového onemocnění je rozsáhlé a existuje nepřehledné množství literatury a také podkladů pro studium, avšak pro prokázání aktuálního stavu bylo nutné provést testy. Aplikační část je zaměřena na popsání získaných dat z provedených testů, popsání informací získaných z Písecké nemocnice a také porovnání literárních zdrojů s dosaženými výsledky.

## 2 Charakteristika kryptosporidivých nákaz

### 2.1 Kmen *Apicomplexa*

*Apicomplexa* je početná skupina parazitů obratlovců a také bezobratlých. Dříve byly *Apicomplexy* řazeny do říše prvoků, avšak postupem času byly přeřazeny do *Chromisty*. Velká část parazitů z tohoto kmene byly a jsou hlavními původci medicínsky a ekonomicky významných onemocnění a to jak u zvířat, tak i u lidí. Pojmenování *Apicomplexa* získali podle subcelulární struktury nazývané apikální komplex. Apikální komplex je obecně popsán jako složení ze tří základních struktur, které rozdělujeme na spirálový konoid utvořený z mikrotubulů, apikálního pólového prstence a roptií viz. Obrázek č. 1. *Apicomplexy* dosahují velikosti 0,004 až 0,04 mm. (Hausmann a Hülsmann, 2003).

Obrázek 1 - Morfologie zoita kmene *Apicomplexa*



Zdroj: Morrissette a Sibley, 2002 (upraveno)

### 2.2 Historie a taxonomie

V roce 1907 byly poprvé nalezeny Kryptosporidie a to v žaludečních žlázách laboratorních myši Tyzzerem (Tyzzer 1907). Kryptosporidie jsou jedno hostitelské kokcidie, které byly pojmenovány od autora, který je našel, *Cryptosporidium muris* (Tyzzer 1907). O 5 let později našel Tyzzer v epitelu myši, další druh kryptosporidie, jejíž jméno je *Cryptosporidium parvum* (Tyzzer 1912).

Rod *Cryptosporidium* můžeme zařadit mezi jedny z více jak 300 rodů, jež zahrnují okolo 4800 druhů do kmene *Apicomplexa*. Konkrétně nalezené prvoky je možno zařadit do podříše *Protozoa*, do kmene *Apicomplexa*, třídy *Sporozoa*, podtřídy *Coccidia*, řádu *Eucoccidria* v podřádu *Eimiorina*, čeledi *Cryptosporidiidae* a rodu *Cryptosporidium* (Charmete 1988).

Dříve bývaly kryptosporidie díky svému vývojovému cyklu řazeny ke kokcidiím (Corliss 1994; Freyer et al. 1997). Avšak na základě současných znalostí byly kryptosporidie řazeny svou vlastní příbuzností ke gregarinám, kdy k tomuto faktu pomohly fylogenetické analýzy. Přesto nelze přesně určit, jestli kryptosporidie jsou vyvinuty z gregarin či je jejich sesterskou skupinou (Leander et al. 2003). To, co je přivádí k sobě, je společná morfologická stavba organel, které slouží k přichycování k hostitelské buňce (Valigurová et al. 2007). Za pomoci apikální organely se kryptosporidie přichycují k hostiteli (mikronemy, denzní granula, rhoptrie), přičemž všechna endogenní stádia jsou uzavřena v parazioforní vakuole, jenž přispívá k rozlišení od ostatních rodů z kmene Výtrusovců - *Apicomplexa* (Valigurová et al. 2008).

Ze studií, které byly provedeny na různých hostitelích, bylo nalezeno a popsáno více než 20 různých druhů kryptosporidií. U člověka jsou kryptosporidiové infekce vyvolány s největší pravděpodobností druhem *Cryptosporidium parvum* /*C. parvum*/, kdy tyto výsledky byly získány na základě studia hostitelských specifit a morfologií endogenních vývojových stádií. V minulosti popisované druhy kryptosporidií, můžeme nejspíše brát jako synonyma pro *C. parvum*. U savců je jako platný druh kryptosporidií považován *Cryptosporidium muris*, avšak jeho existence nebyla u lidí zcela prokázána.

V minulosti nebyla těmto prvokům věnována žádná mimořádná pozornost, ale to se změnilo v první polovině 70. let. Výzkum zaměřený na tyto parazity začal v roce 1971 a v oblasti humánní medicíny až po roce 1976. Tyto výzkumy byly z převážné části odstartovány nálezy již existujících kryptosporidií, které byly právě primárním etiologickým agens u vodnatých průjmů tříletého děvčátka a u třiceti devítiletého muže (Charmete 1988). V roce 1982 byly zveřejněny první nálezy ve zprávách WHO<sup>1</sup>, které poukazovali na kryptosporidie u pacientů s AIDS<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup> World Health Organization

<sup>2</sup> Syndrom získaného selhání imunity

V tom samém roce byl poprvé zaznamenán přenos kryptosporidie *C. parvum* z experimentálně nakaženého telete na studenta veterinární medicíny, díky čemuž byla kryptosporidioza zařazena mezi zoonózy (Anderson et al., 1982).

Kryptosporidiová infekce byla u člověka v České Republice poprvé zaznamenána v roce 1985 (Janda et al. 1987). Prevalence se v Evropě pohybuje na nižších číslech a to 1-2 %. V severní Africe je toto procento od 0,6 - 4,3 % a nejvyšší čísla se objevují v rozvojových státech, jako je Asie, Afrika, Střední a Jižní Amerika a Austrálie, kde dosahují 3 – 20 % (Butler a Mayfield, 1997).

Od roku 1994 bylo v České Republice zaznamenáno až 41 případů nakažených lidí a to z převážné části u dětí do 1 roku a to na základě tvrzení Dr. Rubíka z NRL<sup>3</sup> pro tropické a oportunní parazitózy.

### 2.2.1 *Specifita hostitele*

Jednotlivé druhy kryptosporidií se mezi sebou rozlišují dle přirozené specifity hostitele (Xiao a Ryan, 2004a). Můžeme rozlišovat dvě výrazné morfologicky odlišné skupiny v rámci rodu *Cryptosporidium*. První skupina *Cryptosporidia* je charakteristická menšími tvary, kulatými oocysty a afinitou ke střevu a to k enterocytům (př. *C. bovis*, *C. fayeri*, *C. hominis* atd.). Druhá skupina je odlišná většími oocystami, svým oválným tvarem a afinitou k žaludečním žlázám (př. *C. muris*, *C. galli*, *C. monari*).

Kryptosporidiové oocysty hlavně infikují buňky gastrointestinálního traktu a to nejen u člověka, ale také u celé řady obratlovců (Tyzzer 1912; Lindsay et al. 2000; Xiao 2010). Například *C. andersoni* a *C. muris* byly nalezeny a popsány u savců v žaludku, kdy se lišily svojí hostitelskou specifitou (Xiao a Ryan 2004a; Morgan et al. 2000; Kváč et al. 2008a).

V současné době je na základě hostitelské specifity morfologie oocyst, molekulárních rozdílů a lokalizace vývojového cyklu, akceptováno 31 platných druhů spadajících do rodu *Cryptosporidium* viz Tabulka č. 1 (Šlapeta 2013). Každý z 31 druhů spadajících do rodu *Cryptosporidium* se vyznačuje širokou hostitelskou specifitou s tím, že dokáže infikovat i vysoké množství hostitelů a to i skrz jiné řády např. *C. parvum* a *C. ubiquitum*.

---

<sup>3</sup> NRL – Národní referenční laboratoř

Jiné dokáží infikovat pouze specifické skupiny hostitelů, kdy například u hlodavců či přežvýkavců to jsou *C. andersoni* a *C. muris* (Fayer a Xiao, 2008b).

Každý rod má své specifické místo, kam se zaměřuje nebo kde se vyskytuje, a v těchto místech hostitele kryptosporidie infikují. Pro *C. parvum* a *C. hominis* je to tenké střevo. U zvířat, konkrétně u telat a myši, se jako predilekční místo považuje *ileum* a *caecum* pro rod *C. parvum*. Pokud se jedná o druhy žaludečních kryptosporidií *C. andersoni* a *C. muris*, tak tyto druhy infikují žaludeční sliznici a oocysty, které byly pozřeny a excystují již v žaludku. V případě kuřat infekce začíná *Cryptosporidium* *byiley* a nachází se v kloace (Xiao a Ryan, 2004a; Fleta et al. 1995).

**Tabulka 1 - Platné druhy rodu *Cryptosporidium***

| <b><i>Cryptosporidium</i></b>                                         | <b>Specifita hostitele</b> | <b>Lokalizace</b>               |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| <i>Cryptosporidium andersoni</i>                                      | Skot                       | Slez                            |
| <i>Cryptosporidium baileyi</i>                                        | Drůbež                     | Bursa Fabricii                  |
| <i>Cryptosporidium bovis, ryanae, ubiquitum</i>                       | Skot                       | Tenké střevo, střevo            |
| <i>Cryptosporidium canis</i>                                          | Psi                        | Tenké střevo                    |
| <i>Cryptosporidium cichlidis, molnari, natoris, reichenbachlinkei</i> | Ryby                       | Žaludek, tenké střevo, střevo   |
| <i>Cryptosporidium cuniculus</i>                                      | Králíci                    | Tenké střevo                    |
| <i>Cryptosporidium ducismarci, serpentis, varanii</i>                 | Plazi                      | Střevo, žaludek, tenké střevo   |
| <i>Cryptosporidium fayeri, macropodum</i>                             | Klokani                    | Střevo                          |
| <i>Cryptosporidium felis</i>                                          | Kočky                      | Tenké střevo                    |
| <i>Cryptosporidium fragile</i>                                        | Obojživelníci              | Žaludek                         |
| <i>Cryptosporidium galli, meleagridis</i>                             | Ptáci                      | Žláznatý žaludek, tenké střevo, |
| <i>Cryptosporidium hominis</i>                                        | Člověk                     | Tenké střevo                    |
| <i>Cryptosporidium muris</i>                                          | Hlodavci                   | Žaludek                         |
| <i>Cryptosporidium parvum</i>                                         | Savci                      | Tenké střevo                    |
| <i>Cryptosporidium scophtalmi</i>                                     | Platýs                     | Střevo                          |
| <i>Cryptosporidium suis</i>                                           | Prasata                    | Žaludek, tenké střevo           |
| <i>Cryptosporidium tyzzeri</i>                                        | Myši                       | Tenké střevo                    |
| <i>Cryptosporidium wrairi</i>                                         | Morčata                    | Tenké střevo                    |
| <i>Cryptosporidium xiaoi</i>                                          | Ovce                       | Střevo                          |

Zdroj: Vlastní

### 2.2.2 *Kryptosporidíóza a kryptosporidie nespecifických hostitelů*

Hostitelská specifita či hostitelské spektrum, představuje ve své podstatě soubor hostitelů, jež určitý parazit dokáže infikovat a ukončit v nich rádný vývojový cyklus. Aby bylo ověřeno hostitelské spektrum, tak se využívají jednotlivé druhy a genotypy kryptosporidií a to tak, že se získají z jednoho přirozeně infikovaného hostitele a potom se experimentálně přenášejí na hostitele další. Jestliže má být druh či genotyp rozšířen, pak je potřeba, aby v novém hostitelském těle proběhl celý vývojový cyklus a oocysty, které jsou vylučované do prostředí a navíc musí být geneticky stejné, jako ty, které byly použity pro přímou infekci. Obecně je předpokládáno to, že izolát kryptosporidií z vybrané třídy obratlovců není dostatečně infekční pro hostitele z tříd dalších a navíc je většina genotypů kryptosporidií a druhů velmi nízkého hostitelského specifita. I přesto však existuje několik případů, kdy se našli oocysty nebo spíše specifické kryptosporidiové DNA<sup>4</sup> ve zkoumaném trusu netypických hostitelů ( Fayer 2008b).

U genotypů velké řady druhů kryptosporidií je zatím znám pouze jediný typický hostitel. Podle Graczyk et al. (1997), byl druh *C. wrairi* velmi dlouho považován za typický specifický hostitelský druh, který dokáže infikovat jen a pouze morčata. K vyvrácení došlo roku 2007, kdy byl tento druh nalezen u skotu a člověka (Azami et al. 2007) Podobně byl specifikován Xiao a Ryanem (2004a) *C. meleagridis* u krocanů, ale postupem času byl diagnostikován jako nový lidský patogen. Tento patogen je zodpovědný za takřka 1% veškerých nákaz v Anglii (Pedraza - Diaz et al. 2001; Leoni et al. 2006). Cama et al.(2003) určili, že tento druh je hojně vyskytující se v Peru a to okolo 10 %, což je skoro stejně, jako *C. parvum*.

*C. muris* je oproti tomu velmi silně infekční pro více hostitelů. Lze tento druh nalézt u hlodavců, velbloudů, žiraf, prasat, tuleňů, opic, damanů, horských koz a lidí (Gatai et al., 2002; Xiao a Ryan, 2004a; Kváč 2009a).

U druhu *C. muris* byly hlášeny hlavně experimentální infekce a to u hostitelů: jehňat, psů, koček a králíků (Iseki et al. 1989). Poprvé byla v České republice nahlášena první zpráva o přirozeně vzniklé infekci *C. muris* u kočky s tím, že do té doby předtím byla potvrzena u koček infekce pouze s *C. felis* (Pavlásek 2005)

---

<sup>4</sup> Deoxyribonukleová kyselina

Nálezy *Oocyst C. muris* byly podle Crawshawa a Mehrenda (1987) nalezeny dokonce v trusu *Ceratophrys ornata* (Žáby rohatky).

Tento druh oocysty byl dokonce nalezen také u užovky černé a červené (*Elaphe absolete*, *Elaphe guttata*) a nakonec byly nalezeny i u hroznýše královského – *Boa constrictor* (Xiao et al.2004c).

Oocysty byly nalezeny u ptáků volně žijících v přírodě a také u dravých ptáků, držených v zajetí. Proto nelze jednoznačně říci, že by se oocysty vyskytovaly pouze u volně žijících ptáků. U volně žijících ptáků byly u studií nalezeny *C. andersoni* a *C. muris* a to konkrétně ve výkalech dvou dravců a to konkrétně u lelouna sovího – *Podargus strigoides*. Druhý nález byl u koroptve korunkaté – *Rollulus rouloul* (Ng a lok. 2006) U ptáků žijících v zajetí byla nalezena poprvé roku 2010 *C. baileyi* v trusu výřečka malého – *Otus scops* (Molina-Lopez et al. 2010).

V otázce ryb, existují pouze dva uznávané druhy. První druh je *C. molnari*, nalezený u morčáka evropského a mořana zlatého (*Dicentrarchus labrax* a *Sparus aurata*) a *C. scophthalmi* nalezený u *Psetta maxima* (Kumbala velká), (Alvarez-Pellitero et al.2004Alvarez-pellitero a Sitja-Bodadilla, 2002;).

V průběhu studií byly u dvou ryb nalezeny dvě kryptosporidie, které nejsou klasickými oocystami, které by se dali u tohoto druhu zvířat nalézt. Nález byl objeven u cípata hlavatého (*Nugil cephalus*) a ježdíkovce pruhovaného ( *Sillago vittata*), kdy se jednalo o druhy *C. parvum*, *C. xiaoi* a dokonce u nich byla nalezena *Cryptosporidium pig genotype II* – *C. andersoni*.

Zvláštností *C. andersoni* je to, že je převážně typickým hostitel dobytka (*Bos taurus*), avšak dokáže také infikovat a využít hostitele jako je velbloud dvouhrbý (*Camelus bactrianus*), zebra (*Bison bonasus*) a dokonce sviště stepního ( *Mormota bobac*), (Ryan et al. 2003; Kváš et al. 2004).

Díky studiím bylo zjištěno, že nespécifičtí hostitelé se neustále rozšiřují a současný pohled na hostitelskou specifitu kryptosporidií, již není pohledem správným, neboť hostitelská specifita předpokládá, že druhy kryptosporidií a jejich genotypy jsou ve většině případů hostitelky specifické a to až na výjimku *Cryptosporidium parvum* (Xiao et al.2004c).

Na základě zjištění, které vychází z dostupných studií, lze vyvodit dvě možná východiska:

1. Zkoumané druhy nebo genotypy, jež mají zatím známého pouze jednoho hostitele, mohou mít mnohem širší hostitelské spektrum;
2. Zjišťování různých druhů a genotypů zkoumaných kryptosporidií v nespecifických hostitelských je pouze průchodem oocyst zaživacím traktem hostitele.

Vezmeme-li v potaz průběh zmíněných popisů, kdy se jedná o molekulární detekci DNA, jenž byly získány v průběhu epidemiologických studií, pak až na výjimky experimentálních studijních důkazů, které jasně potvrzují zvětšení hostitelského rozsahu pro kompetentní kryptosporidie. K další otázce, zabývající se celým probíhajícím vývojovým cyklem uvnitř hostitele, nebyly dodnes přineseny jasné odpovědi, které by potvrdili tento vývoj, který by v hostiteli měl probíhat.

## **2.3 Patogeneze infekce**

### **2.3.1 Cyklus vývoje**

U člověka dochází ke kryptosporidiové nákaze v prostředí, které je kontaminované oocystami či pokud přijde do kontaktu s infikovanými mláďaty užitkových, domácích nebo exotických savců. K nákaze však může dojít nejen touto cestou, ale i skrz znečištěnou pitnou vodu. Tato voda se nejčastěji objevuje zejména po záplavách nebo také v důsledku poruch, které mohou vzniknout při technologickém procesu úpravy pitné vody (Janda et al. 1987; Mac Kenzi et al. 1995; Goldstein et al. 1996; Zítek 1998). Kryptosporidie byly popsány nejen ve spojitosti s koupáním v jezerech, ale dokonce i v bazénech, které jsou udržované a přítomnost těchto kryptosporidií by měla být minimální (Hejlová 1999; Zítek 1998; Jokipii 1985).

Celý životní cyklus kryptosporidií, probíhá komplexně v jednom hostiteli, a to od infekce po vyloučení oocyst viz obrázek č. 2. Životní cyklus je tedy monoxenní a jejich exogenní infekční vývojová stádia, která se nazývají oocysty, jsou z převážné části vylučovány výkaly. Výjimku tvoří kryptosporidie, které se infikují skrz dýchací trakt. Tato infekce například probíhá u ptáků se *Cryptosporidium baileyi*, kdy je infikován dýchací trakt a oocysty poté opouštějí tělo dýchacími cestami či nosním sekretem (Current a Reese, 1986b).

V procesu excystace dochází k uvolnění 4 sporoizitů z oocyst, jež poté aktivně pronikají do mikrokleků slizničních epiteliálních buněk, které jsou v trávicím ústrojí. Provok se může vyvíjet také extraintestinálně v tzv. parazitoformní vakuole, kde probíhá endogenní vývoj. Parazit se přichycuje apikálním komplexem, který se skládá z několika speciálně vyvinutých přichycovacích organel, jež nejspíše slouží zároveň jako prostředek pro výživu prvoka. Na předním pólu, některých stádií životního cyklu, jsou umístěny organely a podle toho, zda se přichycují sporozoiti či merozoiti, vnikají do buněk částečně nebo zcela. Apikální organely obsahují kyjovité rhoptrie, což jsou početné vláskovité mikronémy, přičemž v buňce rozptýlná denzní granula, jež je zcela netransparentní v elektronovém mikroskopu (Volf et al. 2007; Valigurová et al. 2008).

The diagram illustrates the life cycle of *Toxoplasma gondii*, divided into asexual and sexual reproduction pathways. The asexual cycle starts with an oocyst containing sporozoites. A sporozoite can infect a new cell (autoinfection) or be excreted in feces. It then develops into a trophozoite, which can form meronts of type I. These meronts release merozoites, which infect a new cell to start the cycle again. The sexual cycle begins when a merozoite infects a cell, forming a microgamont. This develops into a macrogamont, which then produces microgametes. These microgametes fuse with a gamete from a microgamont to form a zygote. The zygote develops into a motile ookinete, which penetrates the intestinal wall and forms a cyst in the muscle or brain, completing the cycle.

Dle Harrise a Petry (1999) oocysty, které se pohybují v hostitelově těle, se skládají z třívrstvenné stěny, která má průměrně tloušťku 49 mm a ta oocystu obklopuje, aby je udržovala životaschopné v nepříznivých podmínkách v těle hostitele. Takto obaleny

putují Sporozoity putují tělem a tato ochranná bariéra je složena z proteino-lipido-sacharidového matrixu s tím, že právě oni jsou zdrojem nových infekcí (Feyer 2008b).

Sporozoiti excystující z oocysty, jsou vysoce pohybliví, dokáží infikovat cílové buňky střevního epitelu. V těchto buňkách probíhají další vývojová stádia – trofozoity, které jsou uzavřené v parazitoformním vaku (Wetzel et al. 2005). U skupiny prvoků, která je stejná jako *C. parvum*, dochází k typickému střídání sexuální a asexuální generace v 6 - ti běžně známých fázích vývoje.

Konkrétně pro druh *C. parvum* je pro období sexuálního vývoje zmiňována existence dvou typů schizogonie-merogonie, kdy se vyvíjejí meronti I. a II. Typu. U merontů *C. baileyi* vznikají 3 typy merontů viz obrázek č. 3 ( Bjorneby 1990).

U *C. parvum* je:

1. I typ merontu je složen z 6-8 jader a po konečném dodozrání tvoří 6-8 merontů přičemž každý meront je infekční a dokáže infikovat novou hostitelskou buňku a vytvořit další meront I. typu.
2. II typ je složen ze 4 jader a tato jádra se přetvoří ve 4 meronty.

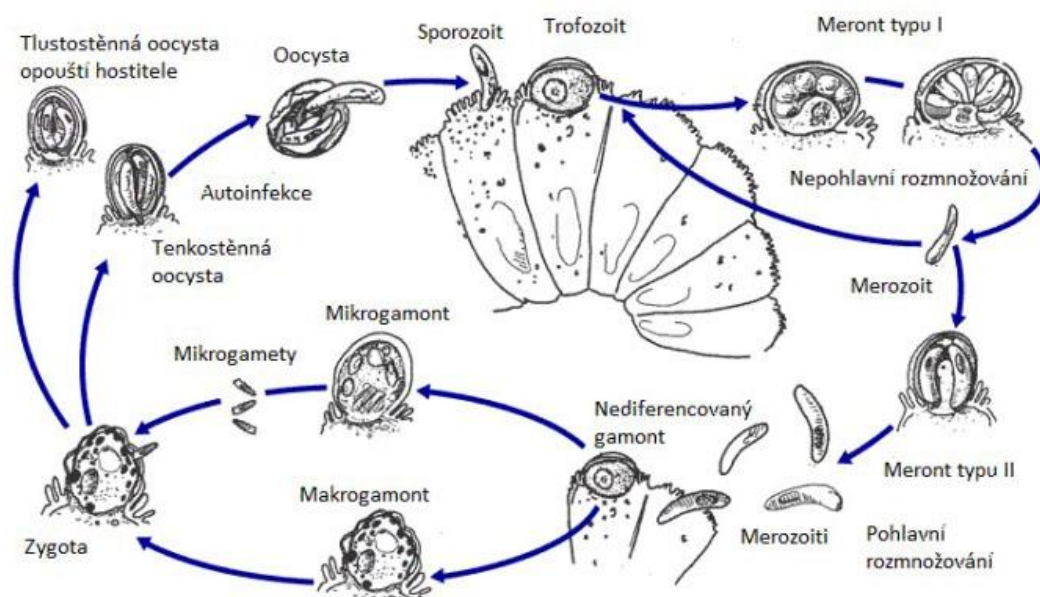
II. typ *C. parvum* podstupují ve vývojovém stádiu buněčné dělení a výsledkem dělení jsou 4 merozoity, které se vyvinou do nediferenciovaného stádia na gamonti, jež jsou schopné infikovat další enterocyty. V konečné fázi se enterocyty diferencují na sexuální reprodukční stádium rozdělené na – mikrogamonty a makrogamonty. V jednom makrogamontu se nalézá až 16 mikrogamontů, kde se dále vyvíjejí. Vícejaderné mikrogamonty, jež jsou nebičíkatého charakteru, tvoří mikrogametocyty. Tyto mikrogametocyty jsou lokalizovány nám prozatím neznámým procesem, kdy nakonec oplodí jednojadernou makrogamontu.

Tyto oplodněné makrogamonty vytváří další makrogametocyty, z čehož vychází diploidní fáze vývoje (Tyzzer 1910; Current et al.1986a). Z mikrogametocytů se postupně vytváří pohyblivé mikrogamety, které dokáží migrovat a oplodňovat makrogamety vznikající před přeměnou makrogametocytů a díky tomu je výsledkem diploidní zygota, která postupně podstupuje proces podobající se meióze, kdy se dá dělit sporogonií. Během tohoto procesu se vytváří 4 haploidní sporozoiti fungující v jedné oocystě (Current 1988; O'Hara a Chen 2011).

Autoři Fayer a Ungar (1986), zabývající se hlavně studiem ultrastruktury u jednotlivých endogenních stádií, uvádějí fakt, že existují 2 typy oocyst. Tyto typy jsou rozděleny na tenkostěnné, jež čítají přibližně 20 % v celkovém počtu. Tenkostěnné typy neopouštějí hostitelský organismus a působí v těle tak, že vyvolávají tzv. autoinfekci. Druhá forma oocyst jsou silnostěnné a ty, jsou vylučovány výkaly infikovaného jedince a jsou navíc ihned hlavním zdrojem nové nákazy, která ohrožuje vnímavé hostitele ve vnějším prostředí.

V současnosti obecně platí, že ukončení životního cyklu v napadené buněčné kultuře se velmi těžko prokazuje, navíc to zabraňuje nepřetržité pasáži a také to brání in vitro analýzám životního cyklu oocyst. V posledních letech bylo ukazováno na šíření *C. parvum*, které se dokáže šířit extracelulárně a to velmi podobným způsobem, jako u gregarin (Hijjawi et al. 2004).

**Obrázek 3 - Životní cyklus parazita *C. parvum***



**Zdroj: Juranek 2000 (upraveno)**

## **2.4 Patentní a prepatentní periody**

### **2.4.1 Patogeneze infekce**

Po průběhu excystace se sporozoity, za pomoci apikálního konce, adherují k povrchu intestiálních epiteliálních buněk, přičemž faktorem adherace je speciální lectin (Keutsh et al, 1995).

Jakmile se sporozoití přichytí, tak postupně dochází k uvolňování cytokinů a také k samotné aktivaci fagocytů. V tomto procesu dochází k zánětlivé reakci organismu, zároveň se zvyšuje sekrece střevní tekutiny a snižuje se její absorpce.

V organismu jsou poté epiteliální buňky ničeny dvěma příčinami:

1. Za pomoci přímého působení parazita na buňku
2. Vznikající zánětlivou reakcí organismu

Dochází k regresivní změně klků a hyperplazii krypt a také deskvamace povrchových epiteliálních buněk.

#### **2.4.2 Onemocnění vyvolaného *C. parvum* a jeho klinický průběh**

*C. parvum* vyvolává u lidí kryptosporidiovou infekci, přičemž právě tento prvok je významným enteropatogenem u mláďat savců. Vezmeme-li v potaz zmíněnou a experimentálně prokázanou nízkou hostitelskou specifitu, tak skrz mláďata savců může být tento prvok přenesen na člověka. Kryptosporitidie se nevyskytují pouze z imunokompetentních lidí, kdy se zejména jedná o malé děti, ale také i u imunokompromitovaných jedinců. Podle výše infekční dávky se může různě vyvinout prepatentní doba, která je také závislá na věku jedince a imunitním stavu, a to od 3 do 20 dní a v průměru se může jednat o deset až dvanáct dní. Rozdílná délka je i u vylučování oocyst *C. parvum*, kdy se pohybuje povětšinou v průměru 10 - 12 dnů, pokud má však pacient poruchu imunity, pak je doba vylučování mnohem delší. Aby byl jedinec infikován, pak výše pozřených oocyst do hostitelova těla, byla stanovena na 132. Tento počet byl ověřen pokusy, jež byly uskutečněny na dobrovolných pacientech USA, za pomoci izolátu získaného od spontánně nakažených pokusných telatech a to po antibakteriálním antivirovém ošetření (Fayer a Ungar, 1986).

Klinický obraz pro kryptosporidiové onemocnění vyvolané *C. parvum* bývá nejčastěji popsán, jako choleriformní průjem, který v extrémních případech může být až 25 l tekutiny denně. Další příznaky jsou subferilie, bolesti hlavy, bolesti břicha, ztráta hmotnosti, anorexie a nauzea. *Cryptosporidium parvum* bylo navíc nalezeno i u důvodů respiračních onemocnění u lidí (Charmete, 1988)

U zvířat se prepatentní perioda velmi podobá délce životního cyklu oocysty jako u lidí. Doba se mění podle druhu hostitele a také podle druhu kryptosporidií a jejich počtu

oocyst, které se podílí na infekci. Experimentální stanovená doba a prepatentní perioda je konkrétně u *C. suis* 2-9 dní ve specifickém hostiteli – prasat, od 10 – 12 dní pro *Cryptosporidium bovis*, které se vyvíjí u skotu (Enemark et al. 2003)

Patentní doba, je název pro dobu trvání celkové infekce, je povětšinou charakterizována od prvního dne vylučování oocyst. Experimentálně stanovené patentní období trvá 1 – 20 dnů pro *C. parvum* v lidském hostiteli. Další patentní období je 9 – 15 dní u prasat s *Cryptosporidium suis* a 18 dní to je skotu, kdy je infekční příčinou *Cryptosporidium bovis* (Enemark et al. 2003; Fayer et al. 2005).

V převážné většině je hlavním místem, kde infekce probíhá, jejunum a ileum a žláznatý žaludek, ač se parazit může rozšířit po celé délce gastrointestinálního nebo respiračního traktu. Napadnutí a infekce hostitelských buněk vede k postupné ztrátě epitelu, což návazně způsobuje narušení klků a také jejich atrofii, což vede k postupné smrti enterocytů, zhoršení transportu elektrolytů a živin. Vzniklé poškození tkáně u hostitelů vyvolává zpětnou zánětlivou odezvu hostitele a podporuje a vyvolává indukci prostaglandinů, jež se brání, a proto vylučují potřebné protizánětlivé látky. (Farthing 2000) Prostaglandiny v těle stimulují sekreci chloridových iontů a zároveň inhibují absorpci NaCl<sup>5</sup>. U Imunokompetentních a také u imunodeficitních jedinců byla zaznamenána extra-gastrointestinální kryptosporidióza, kdy způsobovala změny ve funkci slinivky, žlučovodu a jater. I přes četné výzkumy nebyly prozatím přesné patogenní nástroje kryptosporidiózy úplně objasněny a to i přes fakt, že pokusy prováděné in vitro plně nasvědčují tomu, že se procesu mohou zároveň účastnit i enterotoxiny (Guarino et al. 1995; Carmena 2010).

## **2.5 Imunitní odpověď organismu**

Jestliže je imunokompetentní jedinec nakažen parazitem, pak dojde k silné protilátkové odpovědi. I přes fakt, že sérové protilátky nemají žádný protektivní účinek, tak některé studie uvádějí, že může být za pomoci podané protilátky ve střevním lumen, dosaženo pomoci proti probíhající infekci (Doyle et al. 1993). Výše pomoci závisí úměrně na počtu CD4<sup>6</sup> T lymfocytů, které jsou přítomny při léčbě. Studie, které byly provedeny na pacientech s AIDS, zjistily, že při počtu 180 buněk na mm<sup>3</sup> CD4 T lymfocytů, bylo

---

<sup>5</sup> Chlorid Sodný

<sup>6</sup> Diferenciační skupina povrchových glykoproteinů

dosaženo spontánního uzdravení. Do 4 týdnů a při využití nižších počtů lymfocytů, došlo pouze k rozvoji perzistující infekce, avšak ne k plnému uzdravení (Clark a Spears, 1996).

Samotná kryptosporidióza způsobuje vcelku velkou sociálně-ekonomickou zátěž a to hlavně v rozvojových zemích, díky čemuž byla zahrnuta v roce 2004 ve Světové zdravotnické organizaci WHO jako opomíjené onemocnění (Savioli 2006).

### **2.5.1 Prevence a léčba**

Jelikož samotná infekce kryptosporidii je získatelná požitím či vdechnutím oocyst, tak lze velmi špatně zabránit či snížit infekci, aniž by se to obešlo bez odstranění či šíření oocyst v kontaminovaném prostředí. Lidští hostitelé navíc ve svém prostředí minimalizují přenos kryptosporidií za pomoci dezinfekčních prostředků. Tyto prostředky jsou používány v domácím prostředí, ale také i v institučních zařízeních. Lze snižovat množství či přítomnost oocyst v kontaminované vodě a to převážně v rekreačních zařízeních za pomoci dezinfekčních prostředků. U potravy lze omezení a snížení možnosti nákazy snížit dodržováním hygienických předpisů.

V současné době neexistují žádné všeobecně známé dostatečně efektivní léky profylaxi nebo snad terapii pro lidské a zvířecí hostitele, jenž by dokázaly zabránit až zastavit produkci oocyst již infikovanými jedinci. Nad všechny léky a možnosti ochrany je nejlepším prostředkem dezinfekce v oblasti péče. Je-li potřeba zjistit účinnost ochranného prostředku před oocystami, tak je v prvních krocích nutné stanovit životaschopnost a výši infekčnosti oocyst po proběhnuté léčbě (Fayer et al. 2008a) – Kaolin, lopermaid a pektin jsou látky, které lze využít proti průjmům a u pacientů s AIDS je využíváno antiretrovirové terapie, kdy podpůrná léčba dokáže redukovat počet vyloučených oocyst z hostitelova těla a také zlepšuje gastrointestinální příznaky klinického průběhu infekce. (Thomson et al. 2005)

Mimo výše zmíněné léky je možné využít azithromycinu, paramomycinu a nitazoxanidu, avšak výsledky s nimi dosažené nejsou dostatečně uspokojivé. Je možné využít i imunoterapii, které obsahuje podávání hyperimunitní bovinní kolostrum, které obsahuje protilátky proti *C. parvum* (Ramirez et al. 2004). Bohužel tato léčba může mít vedlejší účinek a vyvolat zvracení a křeče, což je nejspíše způsobeno rozdílem imunitních protilátek v hostiteli a také tím, že každý pacient má unikátní střevní fyziologii (Thompson et al. 2005).

## 2.6 Možnosti diagnostiky

Pokud chceme diagnostikovat kryptosporidiové infekce, tak musíme především prokázat výskyt oocyst, antigenních markerů a specifických protilátek. Pro diagnostiku se využívá nových metod, které jsou založeny na základech molekulární biologie. Veškerá vývojová stadia *Cryptosporidium parvum* se zjišťují v roztěrech či otiscích slizničních epitelů střevního traktu. Popřípadě se tato stadia zjišťují při extraintestinální formě infekce, která zasahuje do jiných orgánů, fixovaných metanolem a barvených metodou dle Giemsy či klasicky používanými metodami histologického vyšetření za použití elektronové mikroskopie.

### 2.6.1 Detekce oocyst v hostitelích

K detekování oocyst *C. parvum* a jiných kryptosporidií, lze využít detekce ve stolici a respirační formě ve sputu a to následujícím způsobem:

#### Nativní preparát

Nativní preparáty se používají kupříkladu při pozorování buněčného dělení, zjišťování struktury a tvaru buněk kvasinek a také při určování morfologických znaků plísň. Dále při pozorování množení a postupného růstu u klinicko-biologického průkazu vajíček, vegetativních forem střevních parazitů a cyst.

- **Faustova metoda**

Faustova koncentrační flotační metoda patří mezi základní parazitologické vyšetřovací metody, které využívají stolici při odhalování přítomnosti parazitů. Prvoci, jež se nacházejí ve stolici, v roztoku síranu zinečnatého vzlínají. Za pomoci vzlínání na povrchu tekutiny se uchycují na krycí sklo.

#### Specifické metody barvení v parazitologii

- **Anilin – karbon - metylviolet'**

Barvení dle Miláčka a Vítovce (1985) je metoda založená na barvení anilin-karbon-metylvioletí, aby bylo možné detekovat kryptosporidie. Při použití této metody se kryptosporidie jeví jako nápadné okrouhlé nebo tlumě epileptické útvary na barevném pozadí.

- **Barvení dle Giemsy**

U tohoto druhu barvení se používá barvivo Giemse, které obsahuje azur, methylenovou modř a eozin. (Getilhomme et al., 1989) Barvivo dokáže obarvit acidické struktury a to do odstínu červené barvy. Bazické struktury jsou obarveny do odstínů purpurové a modré. Toto barvení je hojně využíváno protozoologii k barvení prvoků a také krevních roztěrů. Dá se využít též na detekování některých bakterií a velkých virů. Existuje nepřeberná řada dalších barvicích metod, jen jsou více či méně zaměřené na detekci různých organismů. Metodu barvení je nutné volit podle toho, jaké parazity hledáme.

### **Průkaz antigenu**

- **Latexová aglutinace**

Latexová aglutinace spočívá v tom, že se bakterie (*korpuskulární antigen*) v přítomnosti specifické protilátky aglutinuje. Jestliže se použije standardní suspenze buněk a série ředění protilátky se může za pomoci titrace stanovit množství antigenu v antiséru. Reakce se velmi často provádí na podložním sklíčku, kdy po smíchání kapky specifického séra s bakteriální suspenzí dochází k vyjasnění původně mléčně zbarvené suspenze.

V konečné fázi vzniknou viditelné vločky – shluk korpuskulárního antigenu obaleného protilátkou (Melter a Malmgren, 2014)

- **Imunofluorescence**

Imunofluorescence je jednou z běžných laboratorních metod, které se používá v současné medicíně. Díky ní se mohou prokázat kvantitativní a kvalitativní průkazy protilátek. Existuje několik imunofluorescenčních metod. Jejich používání bývá spojeno s histologickými preparáty, buněčnými strukturami či jednotlivými buňkami a jejich částmi. Za pomoci této metody můžeme detekovat přítomnost a distribuci glykanů, proteinů a dalších molekul v buňkách.

Základ fungování imunofluorescenčních metod je reakce určitého antigenu s fluorescenčně značenou protilátkou. Konečná vizualizace se provádí za pomoci světelného fluorescenčního mikroskopu. Imunofluorescence se dělá na přímou a nepřímou. U přímé metody se značená protilátka váže na cílovou molekulu, kdežto

nepřímá metody se používá nejprve neznačená protilátka, jež se váže na cílovou molekulu, a potom se v druhém kroku přidá fluorescenčně značená protilátka, která se specificky naváže na první použitou protilátku. (Robert et al., 2006)

- **ELISA**

ELISA je zkratka z anglického Enzyme – Lynked Immuno Sorbet Assay a může být také označována jako EIA, což je z anglické zkratky Enzyme Immuno assay. ELISA patří mezi jednu z nejpoužívanějších imunologických metod, která je určena pro detekci protilátek. Tato metoda využívá dvou základních vlastností imunoglobulinů. První schopnost je schopnost vázání proteinů na povrch plastů a druhá schopnost je vázání enzymů na těžké řetězce imunoglobulinových molekul, jež katalyzují přeměnu substrátu na barevný výsledek. (Toman et al., 2009)

Existují čtyři druhy ELISY:

- 1) Přímá ELISA, používaná pro detekci antigenu;
- 2) Nepřímá ELISA, používaná pro detekci specifických protilátek;
- 3) Přímá sendvičová ELISA, pro detekci antigenu;
- 4) Nepřímá sendvičová ELISA, pro detekci specifických protilátek.

- **Imunochromatografie**

Princip tohoto testu spočívá v navázání monoklonálních protilátek proti antigenům na testovacích zónách membrán. V průběhu této reakce reaguje vzorek s částicemi konjugovanými s protilátkami proti zjišťovanému patogenu. Posléze jsou zasušeny na testovacím proužku. Testovací směs se pohybuje směrem na horu díky vztlakovosti. V případě positivity dochází k zreagování komponentů a dochází k zabarvení diagnostické zóny. U toho testu je výhoda, že lze prokázat antigeny ve stolici po delší době, kdy už nelze prokazovat kryptosporidie ve stolici běžným barvením.

### **Průkaz protilátek**

Nepřímá ELISA

### **Ostatní metody**

Histologické řezy

### 3 Cíl práce

Cílem práce je zmapování výskytu kryptosporidiových nákaz u lidí a u vybraných druhů zvířat - skotu, prasat, ovcí, psů koček a i u jejich mláďat. Poté porovnání a posouzení výsledků ve sledovaných profilech vzorků. A zjištění afinity přenosu v jednotlivých skupinách.

#### **Hypotetické otázky:**

*1 – Jaká je prevalence Kryptosporidiového. parazitologického onemocnění u jednotlivých zkoumaných skupin?*

*2 – Jaké věkové skupiny nejčastěji trpí tímto parazitárním onemocněním?*

## 4 Metodika a materiál

### 4.1 Metodika

Hlavní materiál, který bude důležitý pro celkovou studii, bude 600 vzorků pro 6 skupin. Každá skupina bude obsahovat 100 kusů vzorků, pro co největší rozsah možnosti zkoumání a vyloučení náhodného pozitivního vzorku. Trus, který bude sesbírán, bude vložen do sterilních zkumavek a poté aplikován na sklíčka, kde bude dále podroben barvení metodou Miláček – Vítovec. Následně nabarvené oocysty budou následně sledovány pod světelným mikroskopem a to při zvětšení 1000x .

Sběr vzorků u lidských a zvířecích hostitelů probíhal sběrem do speciálních sterilních kontejnerů. viz obrázek č. 4.

Obrázek 4 – Speciální kontejnery na odběr materiálu



*Zdroj: autor, vyfoceno - Samsung Note II*

### 4.2 Materiál

Po osobní domluvě s vlastníky chovů a zvířat, jsem se zavázal, že nebudu informace o chovech uvádět, a že budu zpracovávat data anonymně. Proto uvádím jen některá data.

- **Skot**

Skupina zkoumaného skotu pocházela z odběrů vzorků v rámci Jihočeského kraje, kdy se jednalo o oblasti Strakonicka, Písecka, Českobudějovicka, Českokrumlovska, Tábořska, Prachaticka a v jednom případě souboru vzorků z Vysočiny z Havlíčkobrodska. Složení studované a pozorované skupiny bylo v rozmezí 1 roku až 18 let, přičemž skupina se skládala z 55 % ze samců a 45% samic.

- **Ovce**

Zkoumané vzorky trusu ovcí byly vybrány z Jihočeského kraje a to z několika chovných stanic. V této skupině se nacházelo 54% samců a 46% samic a to ve věkovém rozpětí 1 rok až 8 let a k tomu byl jeden vzorek 13leté ovce.

- **Kočky a psi**

Stejně jako u ovcí, byly vzorky trusu sesbírány v Jihočeském kraji a také z nejmenovaných veterinárních stanic. Poměr samic ve zkoumaných vzorcích u koček bylo 43% a samců 57% a věkové rozpětí bylo 1 rok až 9 let. U psů byl tento poměr více rozdílný a to počet vzorků do samců bylo 63% a od samic 37%. Věkové rozpětí bylo vyšší než u koček a to do 1 roku do 13 let.

- **Prasata**

Prasata byla vybrána ze stejného prostředí jako ovce, kočky a psi. Jejich věkové rozpětí bylo 1 rok až 8 let, kdy další vzorky pocházely z věkových skupin 8, 12, 20 a 21letých prasat. Složení zkoumaných vzorků bylo v poměru 61% samčích a 39% samičích.

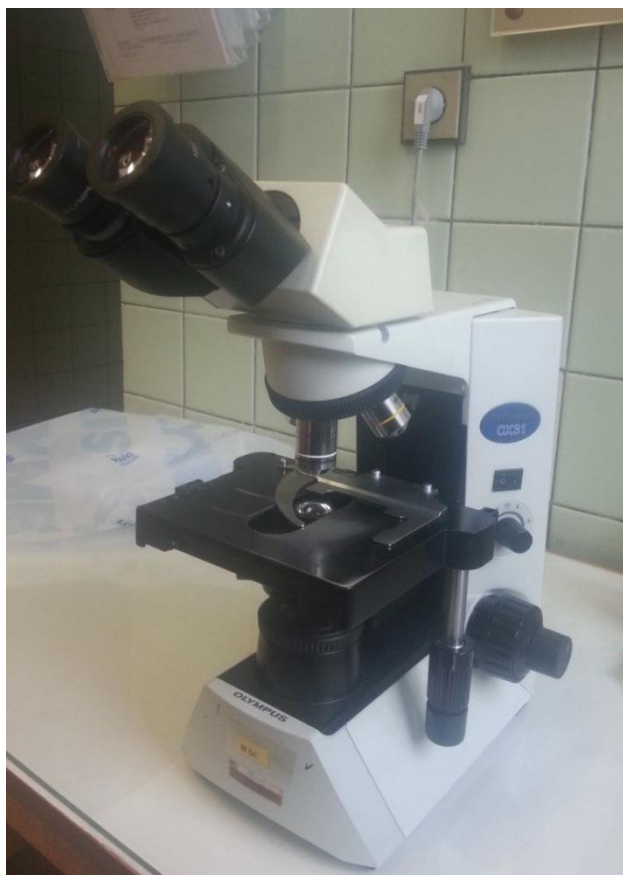
- **Lidé**

Sledovaný profil výtěrů u lidí byl ze spádové oblasti Písecka a části Strakonicka, Písecka a Tábořska. Vzorky byly poskytnuty Píseckou nemocnicí u osob, které trpěly gastrointestinální infekcí. Vzorky byly ve složení 45% mužů a 55% žen. Věkové rozpětí studovaných vzorků trusu bylo od 1 roku po 78 let, aby bylo možné identifikovat, jestli je k nákaze nakloněna určitá věková skupina. Vzorky byly dodány za pomoci bakteriologického výtěru z rektu (u lidí) – vybraná skupina lidí trpěla průjemovým onemocněním. Musím podotknout, že jsem přislíbil, že data o chovech a zvířatech budou anonymní.

#### **4.2.1 Použité přístroje**

Pro diagnostiku jsem využíval mikroskop Mikrobiologického oddělení Písecké nemocnice a to konkrétně mikroskop typu: Olympus CX31, uvedený na obrázku č. 5

**Obrázek 5 - Olympus CX31**



*Zdroj: Autor, foceno - Samsung Note II*

#### **4.2.2 Metody parazitologického vyšetření**

- Miláček – Vítovec: vyšetření na kryptosporidie

Pro správné výsledky, které mohou pomoci odhalit výskyt oocyst ve zkoumané stolici, je nutné dodržet postup, aby bylo zamezeno zavádějícím výstupům. Tato metoda je zachycena na obrázku č. 6.

- 1) Zkoumanou stolici o velikosti hrachu rozmícháme v destilované vodě;
- 2) Na podložní sklíčko napíšeme číslo vzorku a poté natřeme suspenzi na sklo;
- 3) Nátěr musí být volně usušen;
- 4) Je nutné fixovat methanolem po dobu 5min;
- 5) Provádí se fixace za pomoci plamenu laboratorního kahanu;

- 6) Studená podložní sklíčka barvíme po dobu 30 min. v methylvioleti;
- 7) Opláchneme za pomoci vody;
- 8) Obarvení ve 2 % kyseliny sírové;
- 9) Opláchneme znovu vodou;
- 10) Barvení v tartrazinu v délce 30 min.;
- 11) Opláchneme vodou;
- 12) Volné uschnutí v prostoru stojanu na podložní sklíčka;
- 13) Mikroskopie v imerzi – světelný mikroskop OLYMPUS-EV 3922842/7;
- 14) Zápis výsledků do připravených tabulek.

**Obrázek 6 - Metoda barvení Miláček - Vítovec**



*Zdroj: Autor, foceno - Canon EOS 600D*

## 5 Výsledky

V této části této práce se budu věnovat souhrnem výsledků vyšetření na kryptosporidie, které jsem provedl za v roce 2015 a 2016 na pracovišti oddělení Klinické mikrobiologie v Písecké nemocnici, kde diagnostiku kryptosporidií, mají jako rutinní metodu při průjemových onemocnění. Cílem bylo posoudit výskyt tohoto parazita v jednotlivých skupinách, tedy u lidí, koček, psů, ovcí, prasat, skotu, kde jsem provedl odběr trusu u zvířat, u lidí se jednalo o výtěr z rektu. Celkový objem vyšetření v každé skupině činil 100 vzorků.

### Výskyt kryptosporidií u skotu

Zkoumaný skot, který byl mladší, měl 71 vzorků, jenž byly podrobeny barevní a hledání oocyst ve stolici. V rozmezí věkových skupin, kdy první větší skupina byla 1 týden – 11 týdnů starý skot, se našlo 6 pozitivních nálezů u zkoumaných vzorků a z toho byly převážně nakaženy samice. V druhé větší skupině 12 týdnů – 18 týdnů starého skotu se našlo 9 pozitivních vzorků, kde opět byly z převážné části nakaženy samice. U vzorků odebraných u skotu 18 týdnů starého, byly pozitivní nálezy, proto je zde samčí a samičí vyrovnané. Celkový nález pozitivních vzorků byl 15 a negativních 56. Tyto výsledky jsou viditelné v tabulce č. 2.

Tabulka 2 - Výskyt kryptosporidií u skotu 1 týden – 18 týdnů

| Věk      | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví |   |
|----------|--------|-----------|-----------|---------|---|
|          |        | negativní | pozitivní | ♀       | ♂ |
| 1 týden  | 1      | 1         | 0         | 1       | 0 |
| 6 týdnů  | 5      | 4         | 1         | 1       | 4 |
| 7 týdnů  | 5      | 4         | 1         | 4       | 1 |
| 8 týdnů  | 9      | 6         | 3         | 5       | 4 |
| 9 týdnů  | 5      | 4         | 1         | 2       | 3 |
| 10 týdnů | 2      | 2         | 0         | 2       | 0 |
| 11 týdnů | 1      | 1         | 0         | 1       | 0 |
| 12 týdnů | 12     | 7         | 5         | 3       | 9 |
| 13 týdnů | 6      | 5         | 1         | 4       | 2 |
| 14 týdnů | 2      | 2         | 0         | 1       | 1 |
| 15 týdnů | 3      | 3         | 0         | 1       | 2 |
| 16 týdnů | 6      | 5         | 1         | 4       | 2 |
| 18 týdnů | 14     | 12        | 2         | 8       | 6 |

Zdroj: Vlastní

V druhé části zkoumaných vzorků stolice u skotu, byla věková skupina od 2 do 8 let. Zde při zkoumání vyšlo najevo, že z 29 vzorků, bylo 44,83 % pozitivních a 55,17 % negativních. V otázce rozložení pozitivního výsledku v poměru samčích či samičích vzorků je viditelná převaha u samičích vzorků v počtu 5 oproti 2 samčích. Výsledky jsou viditelné v tabulce č. 3.

**Tabulka 3 - Výskyt kryptosporidií u skotu 2 – 8 let**

| Věk   | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví |   |
|-------|--------|-----------|-----------|---------|---|
|       |        | negativní | pozitivní | ♀       | ♂ |
| 2 let | 3      | 2         | 1         | 2       | 1 |
| 3 let | 3      | 3         | 0         | 3       | 0 |
| 4 let | 8      | 3         | 5         | 4       | 4 |
| 5 let | 8      | 6         | 2         | 3       | 5 |
| 6 let | 4      | 2         | 2         | 2       | 2 |
| 7 let | 2      | 0         | 2         | 2       | 0 |
| 8 let | 1      | 0         | 1         | 1       | 0 |

*Zdroj: Vlastní*

U zkoumaného souboru 100 vzorků trusu skotu se metodou Miláček – Vítovec podařilo najít v celkovém počtu 28 % pozitivních nálezů a 72 % negativních. Počty nálezů jsou zobrazeny v tabulce č. 2, 3 a celkové nesetříděné nálezy jsou přiložené v přílohách. Největší míra pozitivních nálezů se nacházela ve věkové skupině 4 let, kdy počet pozitivních nálezů byl 5 vzorků ze zkoumaných 8. Druhý největší počet pozitivně nakažených bylo ve věku 12 týdnů, kdy počet pozitivních byl 5 ze zkoumaných 12.

### **Výskyt kryptosporidií u ovci**

Zkoumaný výskyt kryptosporidií ve skupině 100 vzorků u ovci byl méně pozitivních nálezů, než u skotu a to o 18 % méně. Na tento fakt poukazuje tabulka č. 4, která má základ v neroztříděné tabulce v přílohách. V celkovém rozdílu negativních a pozitivních výsledků pouze ve skupině skotu bylo 90 % negativních a 10% pozitivních. Nakažených bylo více samičích vzorků než samčích a to v poměru 4:3 a ve věkové skupině 3 let byly pozitivní nálezy u obou pohlaví.

Věkové rozložení nasbíraných vzorků bylo od 1 roku do 13 let. Nejvíce nakaženou věkovou skupinou bylo období 1 roku, kdy byly nalezeny 3 vzorky s kryptosporidiemi, což je vyšší číslo oproti ostatním věkovým skupinám.

**Tabulka 4 - Výskyt kryptosporidií u ovcí**

| Věk    | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví |   |
|--------|--------|-----------|-----------|---------|---|
|        |        | negativní | pozitivní | ♀       | ♂ |
| 1 let  | 21     | 18        | 3         | 13      | 8 |
| 2 let  | 18     | 17        | 1         | 12      | 6 |
| 3 let  | 14     | 12        | 2         | 8       | 6 |
| 4 let  | 11     | 11        | 0         | 6       | 5 |
| 5 let  | 4      | 4         | 0         | 1       | 3 |
| 6 let  | 13     | 12        | 1         | 6       | 7 |
| 7 let  | 8      | 7         | 1         | 2       | 6 |
| 8 let  | 10     | 8         | 2         | 5       | 5 |
| 13 let | 1      | 1         | 0         | 1       | 0 |

*Zdroj: Vlastní*

### Výskyt kryptosporidií u koček

Zkoumané vzorky od koček byly také rozděleny na starší věkové skupiny a ta první je od 1 roku do 9 let viz. tabulka č. 5. V této skupině byly celkem 2 pozitivní nálezy z 64 odebraných vzorků. Oba dva pozitivní vzorky byly v samičích vzorcích.

**Tabulka 5 - Výskyt kryptosporidií u koček 1 – 9 let**

| Věk    | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví |    |
|--------|--------|-----------|-----------|---------|----|
|        |        | Negativní | pozitivní | ♀       | ♂  |
| 1 rok  | 11     | 10        | 1         | 6       | 5  |
| 2 roky | 13     | 13        | 0         | 10      | 3  |
| 3 roky | 16     | 16        | 0         | 6       | 10 |
| 4 roky | 14     | 14        | 0         | 8       | 5  |
| 5 let  | 4      | 4         | 0         | 4       | 0  |
| 6 let  | 1      | 1         | 0         | 1       | 0  |
| 7 let  | 2      | 2         | 0         | 2       | 0  |
| 8 let  | 2      | 1         | 1         | 2       | 0  |
| 9 let  | 1      | 1         | 0         | 1       | 0  |

*Zdroj: Vlastní*

V druhé věkové skupině v tomto rozmezí 4 – 8 týdnů, byl nalezen pouze jeden pozitivní nález a to ve vzorku patřícímu 8 týdennímu kotěti samičího pohlaví. Z celkových 17 vzorků je pouze 5,88 % pozitivního nálezu.

**Tabulka 6 - Výskyt kryptosporidií u koček 4 – 8 týdnů**

| Věk     | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví |   |
|---------|--------|-----------|-----------|---------|---|
|         |        | negativní | pozitivní | ♀       | ♂ |
| 4 týdny | 3      | 3         | 0         | 3       | 0 |
| 5 týdnů | 4      | 4         | 0         | 4       | 0 |
| 6 týdnů | 3      | 3         | 0         | 3       | 0 |
| 7 týdnů | 4      | 4         | 0         | 4       | 0 |
| 8 týdnů | 3      | 2         | 1         | 3       | 0 |

*Zdroj: Vlastní*

Celková skupina 100 vzorků u koček, která vychází z tabulky č. 5 a 6, jejíž plná forma je přiložena v přílohách., byla s pozitivními nálezy na nízkém čísle. Pouhá 3 % zkoumaných vzorků byla pozitivní a celých 97 % bylo negativních. Věkové rozhraní získaných vzorků trusu bylo od 1 roku do 9 let a 4 – 8 týdnů, kdy nálezy byly ve věku 1 roku a druhý pozitivní nález byl u 8letých zvířat a poslední u 8 týdenní kočky. U koček byly všechny tři pozitivní nálezy nalezeny u samicích vzorků, přičemž rozdíl mezi zkoumanými vzorky v zaměření na pohlaví byl velmi nepatrný, neboť samicích vzorků bylo 57 % a samčích 43 %.

### **Výskyt kryptosporidií u psů**

V tabulce č. 7 jsou reprezentovány výsledky u zkoumaných vzorků nasbíraných u psů. První část zkoumaných vzorků je z věkové skupiny 2 až 13 týdnů. U psů nebyl nalezen žádný pozitivní vzorek ze zkoumaných 34 kusů stolice. Rozložení vzorků bylo 22 samicích a 12 samčích.

**Tabulka 7 - Výskyt kryptosporidií u psů 2 – 13 týdnů**

| Věk      | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví |   |
|----------|--------|-----------|-----------|---------|---|
|          |        | Negativní | pozitivní | ♀       | ♂ |
| 2 týdny  | 5      | 5         | 0         | 2       | 3 |
| 4 týdny  | 8      | 8         | 0         | 5       | 3 |
| 8 týdnů  | 7      | 7         | 0         | 5       | 2 |
| 10 týdnů | 7      | 7         | 0         | 6       | 1 |
| 12 týdnů | 3      | 3         | 0         | 1       | 2 |
| 13 týdnů | 4      | 4         | 0         | 3       | 1 |

*Zdroj: Vlastní*

U druhé zkoumané věkové skupiny 1 – 12 let, která patří k vzorkům odebraných od psů, byl na rozdíl od první zkoumané skupiny nalezen jeden pozitivní vzorek a to u vzorku odebraného psovi dvanáct let starého. V této skupině je to tedy 1,51 % pozitivního nálezu z celkových 66 zkoumaných vzorků viz. tabulka č. 8.

**Tabulka 8 - Výskyt kryptosporidií u psů 1 – 12 let**

| Věk           | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví  |   |
|---------------|--------|-----------|-----------|----------|---|
|               |        | Negativní | pozitivní | ♀        | ♂ |
| <b>1 rok</b>  | 6      | 6         | 0         | 4        | 2 |
| <b>2 roky</b> | 10     | 10        | 0         | 6        | 4 |
| <b>3 roky</b> | 12     | 12        | 0         | 7        | 5 |
| <b>4 roky</b> | 5      | 5         | 0         | 3        | 2 |
| <b>5 let</b>  | 10     | 10        | 0         | 5        | 5 |
| <b>6 let</b>  | 4      | 4         | 0         | 3        | 1 |
| <b>7 let</b>  | 4      | 4         | 0         | 3        | 1 |
| <b>8 let</b>  | 5      | 5         | 0         | 1        | 4 |
| <b>9 let</b>  | 6      | 6         | 0         | 5        | 1 |
| <b>11 let</b> | 3      | 3         | 0         | 3        | 0 |
| <b>12 let</b> | 1      | 0         | 1         | <b>1</b> | 0 |

*Zdroj: Vlastní*

U psů bylo z celkových 100 vzorků pozitivní pouze 1% a zbylých 99 % bylo negativních. Věkové rozložení dostupných vzorků pro sledování bylo od 1 roku do 12 let a 2 až 13 týdnů. Pozitivní nález se projevil u jednoho samičího vzorku u feny staré dvanáct let. Tyto výsledky jsou zaznamenány v tabulce č. 7, 8 a neroztříděná data v přílohách.

### **Výskyt kryptosporidií u prasat**

U prasat byl výzkum také rozdělen na dvě věkové skupiny, kdy první z nich byla 1 – 5 let. Ze 30 odebraných vzorků nebyl žádný pozitivní.

**Tabulka 9 - Výskyt kryptosporidií u prasat 1 – 5 let**

| Věk           | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví |   |
|---------------|--------|-----------|-----------|---------|---|
|               |        | Negativní | pozitivní | ♀       | ♂ |
| <b>1 rok</b>  | 16     | 16        | 0         | 11      | 5 |
| <b>2 roky</b> | 9      | 9         | 0         | 7       | 2 |
| <b>3 roky</b> | 3      | 3         | 0         | 1       | 2 |
| <b>4 roky</b> | 1      | 1         | 0         | 0       | 1 |
| <b>5 let</b>  | 1      | 1         | 0         | 0       | 1 |

*Zdroj: Vlastní*

V druhé věkové skupině 1 – 21 týdnů, kde byly odebrány vzorky ve výši 70 kusů stolice, nebyl také nalezen ani jeden pozitivní nález.

**Tabulka 10 - Výskyt kryptosporidií u prasat 1 – 21 týdnů**

| Věk            | Celkem | Výsledky  |           | Pohlaví |   |
|----------------|--------|-----------|-----------|---------|---|
|                |        | negativní | pozitivní | ♀       | ♂ |
| <b>1 týden</b> | 9      | 9         | 0         | 6       | 3 |
| <b>5 týdnů</b> | 11     | 11        | 0         | 5       | 6 |
| <b>7</b>       | 13     | 13        | 0         | 7       | 6 |
| <b>8</b>       | 11     | 11        | 0         | 8       | 3 |
| <b>12</b>      | 12     | 12        | 0         | 9       | 3 |
| <b>20</b>      | 9      | 9         | 0         | 6       | 3 |
| <b>21</b>      | 5      | 5         | 0         | 3       | 2 |

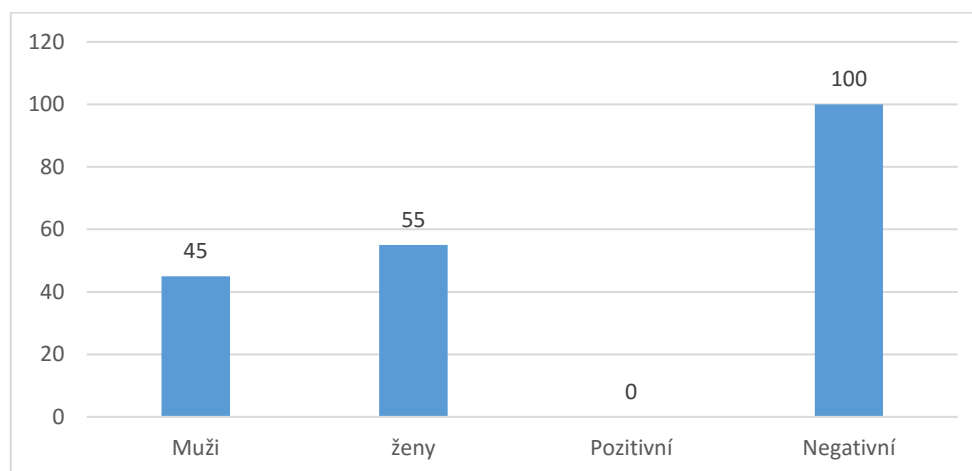
*Zdroj: Vlastní*

U zkoumaných vzorků trusu ve skupině prasat nebyl nalezen ani jeden pozitivní nález a celých 100% vyšlo negativních. Vzorky byly od zvířat ve věkových skupinách od 1 roku až do 8 let a pro zmapování starších věkových kategorií byly použity i vzorky od věkových kategorií 20 a 21 týdnů. Tyto výsledky jsou zachyceny v tabulce č. 9 a 10.

### Nález kryptosporidií u lidí

Výsledky ze zkoumání lidských vzorků vyšly negativně a nebyl nalezen ani jeden pozitivní nález. Porovnání výsledků je zachyceno v obrázku č. 7. Věkové rozložení mělo velké rozpětí a to od 1 roku po 78 let. Složení zkoumaných vzorků bylo 45 % od mužů a 55 % od žen. Jedná o velmi malý počet a procenta, proto jsou data vysloveně orientační.

**Obrázek 7 - Graf : Nález kryptosporidií u lidí**



*Zdroj: Vlastní*

## Kazuistika - Osoby s kryptosporidiovou infekcí

Pacient pracující v zemědělském podniku, ve věku 22 let, váhy 87 kg., vysoký 173 cm, byl přijat do ordinace. Od 31. Ledna od 22:00 hodin, začal trpět nevolností, zvracení 5 až 8 denně, průjem, vodnatá stolice hnědá bez zápachu, celkem defekoval 10 krát denně.

7. Února opět pacient navštívil ambulanci, stolice již 1 krát denně, dietu není schopen držet, neboť má hlad.

Pacient hospitalizován od 7. Února do 10. Února, provedené vyšetření a odběr laboratorního materiálu: odběr krve, stolice- výtěr.

Dne 11. Února hlášen výsledek z laboratoře, kde bylo zjištěná a diagnostikována Kryptosporidíóza, posléze pacient uvedl, že pracuje v zemědělství a že je ve styku s telaty.

### Laboratorní hodnoty provedené dne: 3. Února.

- **Biochemie** : CRP: 27,3 mg/l, Glukóza: 4,88 mmol/l, Urea: 6,47 mmol/l, Kreatinin 92 umol/l, ALT 0,41 µkat/l , AST 0,65 µkat/l, GGT 0,23 µkat/l, ALP 1,55 µkat/l.
- **Hematologie**: WBC (Leukocyty) 7,84 10<sup>9</sup>/l, RBC (Erytrocyty) 6,09 10<sup>9</sup>/l, HGB (Hemoglobin) 163,00 g/l, HCT (Hematokrit) 0,47, MCV (Střední objem erytrocytů) 76,70 fl, MCH (Hemoglobin erytr.) 26,80 pg, MCHC (Stř. konc. Hem. Ery.) 349,0 g/l, RDW (Erytr. Křivka) 13,8 %, MPV (Tromb. stř. obj.) 10,9 fl, PLT (trombocyty) 190 10<sup>9</sup>/l, Segmenty 64,80 %, Eozinofily 1,8 %, Bazofily 0,40 %, Monocyty 17,0 %, Lymfocyty 22,4 %, APGRAN. ( Abs. poč. neutrof.) 5,02 10<sup>9</sup>/l , APEOS. ( Abs. poč. eosinof.) 0,14 10<sup>9</sup>/l , APBASO ( Abs. poč. basof.) 0,03 10<sup>9</sup>/l , APMONO (Abs. poč. mono.) 1,33 10<sup>9</sup>/l , APLYMF (Abs. poč. lymfo.) 1,3 10<sup>9</sup>/l.

### Laboratorní hodnoty provedené dne: 7. Února.

- **Biochemie** : CRP: 7,0 mg/l, Glukóza: 5,71 mmol/l, Urea: 3,83 mmol/l, Kreatinin 95 umol/l, ALT 0,53 µkat/l , AST 0,54 µkat/l, GGT 0,22 µkat/l, ALP 0,53 µkat/.
- **Hematologie**: WBC (Leukocyty) 6,87 10<sup>9</sup>/l RBC (Erytrocyty) 6,08 10<sup>9</sup>/l, HGB ( Hemoglobin) 163,00 g/l HCT 0,44, MCV ( Střední objem erytrocytů) 73,00 fl, MCH (Hemoglobin erytr.) 26,80 pg, MCHC (Stř. konc. Hem. Ery.) 367,0 g/l, RDW (Erytr. Křivka) 13,8 %, MPV (Tromb. stř. obj.) 11,10 fl, PLT

(trombocyty) **244,0**  $10^9/l$ , Segmenty **60,80** %, Eozinofily **2,60** %, Bazofily **0,30** %, Monocyty **14,0** %, Lymfocyty **22,3** %, APGRAN. ( Abs. poč. neutrof.) **4,17**  $10^9/l$  , APEOS. ( Abs. poč. eosinof.) **0,18**  $10^9/l$  , APBASO ( Abs. poč. basof.) **0,02**  $10^9/l$  , APMONO (Abs. poč. mono.) **0,96**  $10^9/l$  , APLYMF (( Abs. poč. lymfo.) **1,5**  $10^9/l$  .

Z laboratorních výsledků z biochemického souboru je rapidně zvýšená hladina CRP která činila hodnotu 27,3 mg/l, a dále byly nepatrně zvýšené v hraničních hodnotách některé jaterní testy. Všechny parametry se za několika dnů vrátili do normálu.

Z laboratorních výsledků z hematologického souboru byla většina parametrů v normě. Na krptosporidiovou infekci, reagovaly zvýšenou hladinou pouze monocyty v hodnotě: 17 % a mírně reagovaly Eozinofily v hodnotě: 1,8 procent a několika dnech se hladina zvýšila na 2,6 procenta. Jinak tomu bylo u monocytů, které reagovaly naopak, hladina klesla z 17 procent na 14 procent.

Dále bych rád uvedl, že u pacienta, došlo k vyléčení bez jakéhokoliv podávání léku: Na tuto infekci zareagoval imunitní systém postupně a došlo k postupnému odeznění příznaků.

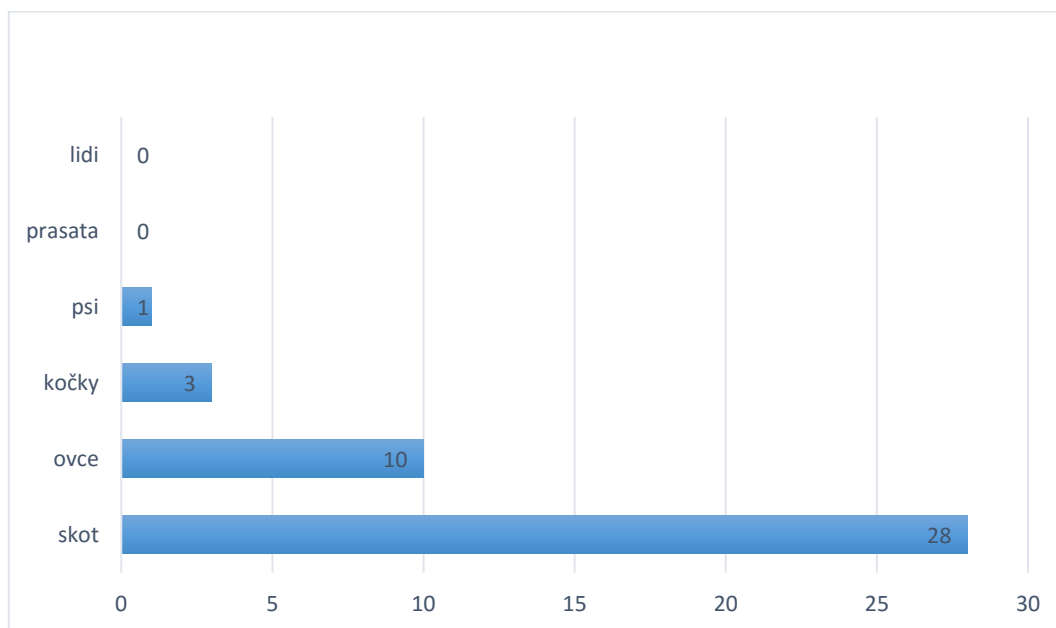
Díky tomuto případu jsem se s vedoucí práce paní prim. MUDr. Věrou Kůrkovou, rozhodli pro toto téma a zjistit výskyt u zvířat a zjistit možnou nákazu a riziko pro člověka.

Tento pacient byl přijat k hospitalizaci a infuzní terapii a jak už nasvědčují laboratorní hodnoty, prodělal těžší formu gastroenteritidy, vysoké hodnoty byly zánětlivého markeru, tak zvaného CRP. Po odeznění příznaků byl již v dobrém stavu propuštěn do domácí péče.

### **Celkový pozitivní nález u zkoumaných vzorků**

Největší výskyt pozitivních nálezů byl u skupiny zkoumaného skotu a to s počtem 28, což činí kolem 66% infekčně nakažených jedinců viz. Obrázek č. 8. Druhý největší výskyt pozitivních vzorků bylo u ovcí a to s 24 %, o mnoho menší výskyt byl u koček se 7 %, a nejnižší z pozitivních výsledků byli psi a to se 3 %. U lidí a prasat nebyl ve sledovaném období výskyt kryptosporidií potvrzen.

**Obrázek 8 - Graf: celkový pozitivní nález**



*Zdroj: Vlastní*

### ***Porovnání výskytů onemocnění Písecká nemocnice a ČR***

Dle dostupných dat, bylo zjištěno, že během 5 let na území České republiky bylo nalezeno 9 případů nakažení kryptosporidii u lidského hostitele. Tato čísla však mohou být zkreslena a v menším počtu, než mohlo být reálně. K tomuto faktu mohlo dojít díky příkladu odchylky čísel u roku 2014, což se nevylučuje i pro jiné roky.

Největší počet prokázaných nakažených byl v roce 2012, kdy činil 4 pozitivní nálezy čítající 44,45 % z celkového počtu pozitivně diagnostikovaných za pozorované pětileté období. (Státní zdravotní ústav).

V roce 2013 byl počet pozitivních lidských hostitelů ve výši 22,22 % z celkového počtu a o rok později to bylo 11,15 %, což je o jeden nález méně, než rok předchozí. (Státní zdravotní ústav. V posledních dostupných výsledcích z roku 2015 v ČR, je jasné, že počet nakažených se o jeden zvýšil a tak byl počet pozitivních lidských hostitelů 22,22 % (Státní zdravotní ústav).

V Písecké nemocnici byly roku 2014 nalezeny dva pozitivní nálezy kryptosporidické infekce, avšak nebyly odeslány do Epidatu<sup>7</sup> a z toho důvodu nejsou zaneseny do

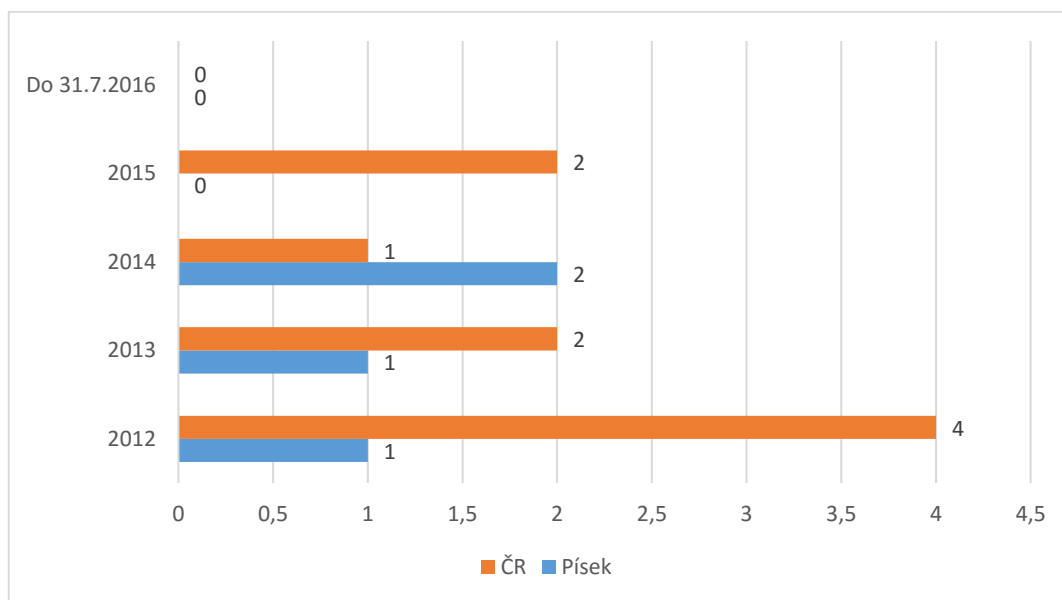
---

<sup>7</sup> Informační systém infekčních nemocí

celorepublikových výsledků. Proto je v této sekci v Písecké nemocnici o jeden pozitivní nález více, než je v oficiálních absolutních hodnotách v ČR<sup>8</sup> (Státní zdravotní ústav).

V konečné fázi by se tedy jednalo o celkem 3 nakažené případy. Porovnání jednotlivých veličin je na obrázku č. 9 (Státní zdravotní ústav).

**Obrázek 9- Graf : Výskyt onemocnění kryptosporidií**



*Zdroj: Státní zdravotní ústav*

<sup>8</sup> Česká republika

## 6 Diskuze výsledků

V této části práce se budu zabývat hodnocením a srovnáváním výsledků a dat, která jsem shromáždil v dané oblasti a skupin vyšetřovaných na kryptosporidie, a zároveň zodpovězením položených hypotetických otázek.

Největší výskyt pozitivních nálezů byl sledovaný profil skotu. Jednalo se o 28% pozitivních výsledků ze 100 vzorků. U dospělých kusů ve věku od 2 let do 8 let bylo nalezeno 46,42 % pozitivních výsledků z celkového počtu pozitivních výsledků. V druhé části zkoumaného profilu skotu a to od 1 až 18 týdnů, bylo nalezeno 53,58 % pozitivních nálezů z celkového počtu pozitivních výsledků. Proto je možné říci, že větší část nakažených zvířat je u telat.

Což odpovídá častému přisouzení průjmových a respiračních onemocnění u skotu, kdy novější studie poukazují na to, že až 55% průjmových onemocnění u telat, je právě způsobeno kryptosporidii (Agranavigator, 2011).

Největší výskyt pozitivních nálezů, byl z chovu z Vysočiny z Havlíčkobrodska, kde bylo z celkového objemu 32 vzorků z tohoto chovu pozitivních 22 jedinců. Bylo zajímavé, že v tomto chovu vše probíhalo latentně a bez příznaků či průjmového onemocnění a kusy skotu byly i v dobré kondici. Jen u jednoho mladého jedince (6. týdenního) probíhaly některé příznaky - průjmové onemocnění a byl oproti ostatním viditelně pohublější. V jiných chovech se jednalo o ojedinělé případy, u kterých probíhalo toho onemocnění charakteristicky s gastrointestinálními potížemi při tomto onemocnění.

Druhý nejvyšší výskyt byl ve sledovaném profilu ovcí, kde celkový počet pozitivních vzorků bylo 10 ze 100 vzorků. U mláďat od 1 roku do 3 let se jednalo o 60 % pozitivních nálezů a od 6 let do 8 let to bylo 40%. Oproti předchozímu nálezu u skotu je to menší počet a to o 47,36 %.

Nejčastějšími příznaky kryptosporidiového onemocnění jsou popsány jako, choleriformní průjem, který může být pro zvířata velmi nebezpečný v podobě úbytku velkého množství tekutin a také svalové hmoty celkově. Dále bolesti břicha, anorexie, nauzea a ztráta výrazné části hmotnosti.

Kryptosporidie mohou napadnouti respirační trakt, kdy tento fakt je více jak pravděpodobný u hospodářských zvířat, která jsou v převážné většině volně v přírodě (Charmete, 1988).

Třetí skupinou v řebříčku byly kočky, u kterých byl výskyt 3 pozitivní výsledky ze 100 vzorků. Jednalo se kočky ve věku 8 týdnů, 1 roku a 8 let. Ve dvou případech se jednalo o odběr trusů u zemědělských objektů (kravínů) a u jednoho případu nalezeného kotěte (8 týdnů) v odpadním kontejneru, kterého probíhalo toho onemocnění akutně.

Ve skupině u psů, byl pozitivní pouze 1 vzorek ze 100 vzorků, tento vzorek byl pozitivní u feny ve věku 12 let. Tato skutečnost se dá předpokládat na základě převážného soužití psů a lidí v jednom prostředí, kde jsou tyto možnosti nákazy snižovány.

Pokud shrnu skupinu psů a koček, tak podle mého hlediska se jedná o velmi nízký výskyt, který je způsobený dobrými chovatelskými podmínkami. Tyto skupiny hostitelů jsou chováni převážně v lidských obydlích nebo jsou v prostředí, které je častěji lidmi dezinfikováno a tím je snížena možnost nákazy. Druhý důvod nízkého výskytu kryptosporidií je také možný díky pravidelnému odčervování (dehelmintizaci).

U prasat nebyl žádný pozitivní nález, odběr vzorků probíhal v chovech s výbornými zoohygienickými podmínkami a s moderními technologiemi chovu.

Jelikož je velmi těžké zamezit kontaktu skotu s infikovanými místy, kde se nacházejí oocysty, vyloučené z již předchozích nakažených jedinců, tak právě skot a hospodářská zvířata všeobecně jsou nejvíce náchylná k nakažení. Je tomu i kvůli podmínkám, ve kterých žijí a nízké procento možností dezinfekce prostředí a eliminaci možností nákazy. Nejvíce náchylná k těmto onemocněním jsou mláďata, což i prokázala studie 100 vzorků u skotu z různých míst, kdy nejčastěji byly nakaženými právě telata a mladší kusy.

Ve sledovaném profilu u lidí v mých vzorcích nebyl pozitivní ani jeden výsledek. Za sledované období Oddělení klinické mikrobiologie, Nemocnice Písek, a.s. nediagnostikovalo žádný případ, ale v předchozím roce 2014, kdy jsme připravovali toho téma, byly diagnostikovány 2 případy.

V jednom případě se jednalo o muže viz. kazuistika, který byl pracovníkem zemědělského družstva a staral se o zvířata, které jsem sledoval a pokusil jsem se zjistit afinitu přenosu této zoonózy mezi jednotlivými skupinami. Od roku 1994 bylo v České

Republice zaznamenáno až 41 případů nakažených lidí a to z převážné části u dětí do 1 roku a to na základě tvrzení Dr. Rubíka z NRL pro tropické a oportunní parazitózy, tudíž jejich počet postupně roste, avšak jejich výše není nikterak závratná.

Prevalence se podle Butlera a Mayfielda (1997) v Evropě pohybuje na nižších číslech a to 1-2 %. Což plně odpovídá i průběžným výskytům na území České Republiky.

Dále uvádím podle obrázku č. 7, ve které je počet pozitivních výsledků u lidí za 5leté období, diagnostikované v Písecké nemocnici. Je zde patrné, že toho onemocnění je sporadické a vyskytuje se u lidí v nízkých počtech.

Hlášený výskyt kryptosporidiových infekcí v České republice je nízký a jedná je o jedince u kterých je tento parazitární onemocnění diagnostikované.

Pokud se porovnájí výsledky výskytu tohoto onemocnění v ČR a onemocnění diagnostikované v Písecké nemocnici je patrné, že počet hodnot skoro stejný. Což z mého hlediska je nedíametrické a nekoreluje se sledovanou oblastí Písecka, jak už malou velikostí, tak i počtem obyvatel ve srovnání s počtem obyvatel a velikostí České Republiky.

V Písecké nemocnici, je toho onemocnění diagnostikované častěji, také pravděpodobně protože barvení Vítovec Miláček pro průkaz toho parazita, je zavedené jako rutinní vyšetření a provádí se u všech zaslaných stolic gastrointestinálních infekcí. V ČR se na všech pracovištích toho barvení neprovádí u všech stolic zaslaných na virologické vyšetření rutinně a z toho důvodu je nejspíše v ČR tento počet, tak nízký.

Ve většině případů, kdy je lidský hostitel nakažený a trpí střevními problémy a zároveň není imunosupresivní, tak imunitní systém na toho onemocnění zareaguje a odezní bez jakých kolik přetrvávajících výrazných problémů. Z těchto důvodu lidský hostitel se vyhne návštěvě praktického lékaře či dalšího specialisty a tím je dána možnost nízkého nálezů celkově nakažených lidských hostitelů v ČR. Navíc jsou tyto výsledky zkreslené také tím, že u praktického lékaře, v převážných případech, nejsou z úsporných důvodů provedeny všechny tři možné vyšetření.

Bylo by vhodné provést všechna tři vyšetření souběžně a to ihned po nástupu příznaků, aby byla vyloučena jakákoliv možnost nákazy kryptosporidii a také mohla být více prostudována infekce probíhající v lidských hostitelích. Navíc by bylo možné zavést

účinnou léčbu. Dále bych také rád zdůraznil to, že pokud vyjde negativně virologické a bakteriologické vyšetření, tak je potřeba provést parazitologické vyšetření. Tyto kroky jsou nezbytné pro záchyt tohoto patogenu.

V současnosti je možný průkaz např. rychlým imunochromatografickým testem pro detekci antigenů Kryptosporidií ve stolici. Průkaz je nutné udělat v počátku onemocnění nebo u bezpříznakových kontaktů.

Nákaza u lidí je velmi vzácná a dochází k ní pouze v příhodném prostředí, kde jsou oocysty v hojném počtu a jsou pro člověka hostitelsky přijatelné. Nejčastěji k nákaze dochází právě při kontaktu s infikovanými mláďaty užitkových, domácích či exotických savců (Janda et al. 1987; Mac Kenzi et al. 1995). Avšak k nákaze může dojít i skrz kontaminovanou vodu, přičemž k tomuto dochází například při záplavách nebo při poruchách technologického procesu úprav pitné vody (Zítek, 1998).

## 7 Závěr

Kryptosporidie patří veterinárně a lékařsky k významným jednobuněčným parazitickým prvokům. Jsou to enteropatogenní agens s ubikviterním výskytem, kdy zvládají infikovat domestikovaná i volně žijící zvířata a také lidi. Jejich výskytu je věnována pozornost díky příznakům, které vyvolávají, a to může být až hromadné průjemové onemocnění lidí a mláďat hospodářských zvířat. Navíc u hospodářských zvířat dochází velmi často ke smíšeným infekcím, a to kvůli nákaze několika odlišnými kryptosporidiemi. Ty dokážou působit závažné zdravotní komplikace u jedinců s imunodeficiencí. Jejich výskyt v přírodě může zatěžovat životní prostředí a ohrožuje například bezpečnost potravin a kontaminaci vodních toků.

Na závěr lze díky provedené studii konstatovat, že na zkoumanou otázku, *1 – Jaká je prevalence Krypt. parazitologického onemocnění u jednotlivých zkoumaných skupin?*, byla nalezena odpověď ve formě dostupných pozitivních nálezů. Kryptosporidiové onemocnění v jednotlivých zkoumaných skupinách bylo vysoce rozdílné a nejvyšší nakaženou skupinou byl skot, který přesáhl více jak polovinu nasbíraných pozitivních vzorků, prokazujících výskyt oocyst. Celých 66 % ze 42 pozitivních vzorků patřilo skotu a ostatní měřené skupiny dosáhly nízkých hodnot, které byly oproti tomuto nálezu zanedbatelné.

Na druhou položenou hypotetickou otázku: *2 – Jaké věkové skupiny nejčastěji trpí tímto parazitárním onemocněním?*, se dá odpovědět na základě výzkumu, který byl proveden na 600 vzorcích různých věkových skupin. Nejvíce byla nakažena skupina starších jedinců, kdy věk je od 1 roku do 13 let a to s 61,90 % z celkových pozitivních vzorků. Mláďata ve věkové skupině od 1 týdne po 21 týdnů měli pouze 38,10 % z celkového počtu pozitivních vzorků. Nejčastěji jsou tedy nakaženi starší kusy zvířat a to do 2 do 13 let.

Důležitý aspekt, na který bych chtěl poukázat, je ten, že kryptosporidie se vyskytují běžně u zvířat ve volné přírodě. Díky tomuto faktu je pravděpodobné vyšší procento nakažených lidských hostitelů, a to častěji než je uvedený průměr v České republice. Bohužel jen nejsou tyto nákazy diagnostikovány, a to z důvodu horší organizace práce na klinických mikrobiologických pracovištích, která tak často neprovádí průkazy parazitů, kdy se stolice od pacienta s akutním průjmem vůbec nedostane na parazitologii.

Nejčastěji se provádí virologické a mikrobiologické vyšetření a v posledním bodě až parazitologické, kdy v odebrané stolici už kryptosporidie nebývají. Proto by bylo dobré při rutinním vyšetření provést z jednoho vzorku, jak virologické, mikrobiologické, tak i parazitologické vyšetření, jako je to prováděno na oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a. s.

Dále bych rád uvedl, že některá pracoviště využívají imunochromatografický test. Je vhodné ho využít v pozdější době diagnostiky z důvodu nižších koncentrací oocyst ve stolici. Barvením se prokázat toto onemocnění nemusí a zde lze použít imunochromatografický test, která prokazuje antigeny kryptosporidií ve stolici. Přesněji detekuje antigeny kryptosporidií, které se nejčastěji prodávají v souboru na detekci *Cryptosporidie*, *Giardia*, *Entamoeba*. Test je rychlý a zjišťuje antigeny ve stolici v tomto případě soubor 3 patogenů. Výhodou je jeho vysoká citlivost a to až 94 procent. Nevýhodou je, že tento test je poměrně drahý a vychází kolem 2.000,- korun českých.

V současnosti, a to i přes rozsáhlý výzkum v této oblasti infekčních onemocnění, není stále dostupná naprosto účinná léčba. Navíc u imunosuprimovaných jedinců je léčba komplikovanější a pomalejší. Pokud by se podařilo vyvinout vhodný model pro dlouhodobou kultivaci kryptosporidií, tak by to znatelně pomohlo také k mnohem lepšímu porozumění v otázkách hostitelsko-parazitických interakcí u rodů kryptosporidií a následnému vývoji léků, které by byly dostatečně účinné.

## 8 Literatura

- [1] AGRONAVIGÁTOR, 2011. Profylaxe a terapie v odchovu telat, [www.agronavigator.cz](http://www.agronavigator.cz), [online], © 2011, [cit. 13-10-2011], Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/service.asp?act=print&val=114504>
- [2] ALVAREZ – PELLITERO, P., SITJA – BOBASILLA, A., 2002. *Cryptosporidium molnari* n. sp. a infecting two marine fish species, *Spartus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L., *Int J. Parasitol.* 32: 1007 – 101
- [3] ALVAREZ – PELLITERO, P., QUIROGA, et al., 2004. *Cryptosporidium scophalmi* n. sp. from cultured turbot *Scophalmus maximus*. *Light and elektron microscope description and histopathological study.* *Dis. Aquat. Organ.* 62: 133-145
- [4] AZAMI, M., MOGHDDAN, D. D., SALEHI, R., SALEHI, M., 2007. *The infectication of Cryptosporidium species (protozao) in Isfahan, Iran by PCR-RFLP analysis of the 18SrRNA, gene.* *Appl. Mol. Biol.* 41: 851-856
- [5] BJORNEBY, J. M., RIGGA, M. W., PERRYMAN, L. E., 1990. *Cryptosporidium parvum* merozoites share neutralization – sensitive epitopes with sporozoites. *J. Immun.* 145: 298-304.
- [6] CARMENA, D., 2010. *Waterborne trasmission of Cryptosporidium and Giardia: detection, surveillance nad implications for public health, In Méndez – Vilas A (Eds.), Formatex press, Current Research. Technology and Education Topics in Appl. Microiol. Microbial Biotech.* P. 3-13.
- [7] CLARK, D. P., SEARS, C. L., 1996. *The pathogenesis of Cryptosporidiosis.* *Parasitology Today.* 12/6:221-225
- [8] CORLISS, J. L., 1994. *An interim utilitarian hierarchial lymphocytes classification and characterization of the proist.* *Acta Protozool.* 33:1-51.
- [9] CURRENR, W. L., UPTON, S. J., HAYNES, T. B., 1986a. *The life cycle of Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *J. Protozool.* 33: 289 -296.
- [10] CURRENT, W. L., REESE, N. C., 1986b. *A comparison of endogenous development of three isolates of Cryptosporidium in suckling mice.* *J. Protozool.* 33:98-108.

- [11] CURRENT, W. L., 1988. *The biology of Cryptosporidium*. ASM News. 54:605-611.
- [12] DOYLE, P. S., CRABB, J., 1993. PETERSEN, C., Anti-Cryptosporidium parvum antibodies inhibit infectivity in vitro and in vivo. Infet. Immun. 10: 4079 – 4084.
- [13] ENEMARK, H. L., AHRENS, P., BILLE – HANSEN, V., et al., 2003. *Cryptosporidium parvum, infectivity and pathogenicity of the „porcine“ genotype*. Parasitology. 126:407-416.
- [14] FARTHING, M. J. G., 2000. *Clinical aspects of human cryptosporidiosis*. In: petry F, ed. *Cryptosporidiosis and Microsporidiosis*. Contribut. Microbiol. 6: 50-74.
- [15] FAYER, R., SANTÍN, M., M TROUT, J. M., 2008a. *Cryptosporidium ryanae n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) in cattle (Bos taurus)*. Vet Parasitol. 156:191-198. DOI: 10.1016/j. vetpar.
- [16] FAYER, R., UNGAR, B. L. P., 1986. *Cryptosporidium spp. And Cryptosporidiosis.*, Micr. Rew., 50:458-483.
- [17] FAYER, R., XIAO, L., 2008b. *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. CRC Press. ISBN: 9781420052268.
- [18] FLETA, J., SANCHEZ – ACEDO, C., CLAVEL, A., QIILEZ, J., 1995. *Detection of Cryptosporidium oocyst in extraintestinal tissues of sheep and pigs*. Vet. Parasitol. 59: 201-205.
- [19] GATEI, W., ASHFORD, R. W., BEECHING, N. J., et al., *Cryptosporidium muris infection in an HIV – infected adult*. 2002. Kenya. Emerg. Infect. Dis. 9:204 206.
- [20] GENTILHOMME, O., TREILLE-RITOUET, D., BRAYON, P-A., 1989. Cytologie hématologique. Les cellules normales, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL, Reactifs R. A. L.
- [21] GRACZYK, T. K., CRANFIELD, 1997. M. R., et Al. *Infectivity of Cryptosporidium parvum oocysts in retained upon intestinal passage through a migratory water – fowl species (Canada goose, Branta canadensis)*. Trop. Med, Int. Health. 2:341-347.

- [22] GUARINO, A., CANANI, R. B., CASOLA, A., et al., 1995. *Human intestinal cryptosporidiosis: secretory diarrhoea and enterotoxic activity in Caco-2 cells*. J. Infect. Dis. 171: 976 – 983.
- [23] HARRIS, J. R., PETRY, F., 1999. *Cryptosporidium parvum, structural components of the oocyst wall*. J. Parasitol. 85: 839 – 849.
- [24] HIJJAWI, N. S., MELONI, B. P., 2004. Ng'anzano, M., et al., *Complete development of Cryptosporidium parvum in host cell-free culture*. Int. J. Parasitol. 34: 769 – 777.
- [25] CHARMETE, R., *Cryptosporidiosis*, 1988: 39 -49
- [26] ISEKI, M., MAEKAWA, T., MORIYA, K., et al., 1989. *Infectivity of Cryptosporidium muris (strain RN 66) in various laboratory animals*. Parasitology Research 75:218 – 222.
- [27] JIRKŮ, M., VALIGUROVÁ, A., KOUDELKA, B., et al., 2008. *New species of Cryptosporidium tyzzer, 1907 (Apicomplexa) from amphibian host, morphology, biology and phylogeny*. Folia Parasitol. 55: 81 – 98.
- [28] KVÁČ, M., DITRICH, O., KOUBA, M., SAK, B., et al., 2004. *Failed Attempt of Cryptosporidium andersoni infection of lambs*. Folia Parasitol. 51: 373 – 374.
- [29] KVÁČ, M., SAK, B., KVĚTOVNOVÁ, D., SECOR, W. E., 2009a. *Infectivity of gastric and intestinal Cryptosporidium species in immunocompetent Mongolian gerbils (Meriones unguiculatus)*. Vet. Parasitol. 163: 33 – 38.
- [30] KVÁČ, M., SAK, B., KVĚTOŇOVÁ, D., et al., 2008a. *Infectivity, pathogenicity, and genetic characteristics of mammalian gastric Cryptosporidium spp in domestic ruminants*. Vet. Parasitol. 153: 367 – 367.
- [31] LINDSAY, D. S., UPTON, S. J., et al., 2000. *Cryptosporidium andersoni n. sp. (apicomplexa Cryptosporiidae) from cattle (Bos taurus)*. J. Eukar. Microbiol. 47:91 -95.
- [32] MELTER, O., MALMGREN, A., 2014. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Karolinum Press, ISBN: 8024624141.

- [33] MONILA-LOPEZ, R. A., RAMIS, A., MARTIN-VASQUEZ, S., et al., 2010. *Cryptosporidium baileyi* infection associated with an outbreak of ocular and respiratory disease in otus owls (*Otus scops*) in a rehabilitation centre. *Avian Pathol.* 39:171 – 176.
- [34] MORGAN, U. M., MONIS, P. T., XIAO, L., et al., 2000. *Molecular and phylogenetic analysis of Cryptosporidium from variol hosts.* *Parasitol.* 120:457 – 464.
- [35] NAGAMANI, K., PAVULURI, P. R. R., et al., 2007. *Molecular characterisation of Cryptosporidium: An emerging parasite.* *Microb. Infect.* 13:721 – 730.
- [36] NG, J., PAVLÁSEK, I., RYAN, U., 2006. Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from avian hosts. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 7548 – 7553.
- [37] O'HARA, S. P., CHEN, X. M., 2011. *The cell biology of Cryptosporidium infection.* *Microb. Infect.* 13: 721 – 730.
- [38] PALACIOS, M. J., BARBOSA, A., PEDRAZA – DIÁZ, S., et al., 2010. *Apparent absence of Cryptosporidium Giardia and Toxoplasma gondii in three species of penguins along the Antarctic Peninsula.* *Antarctic Science.* 22:265 – 270.
- [39] PAVLÁSEK, I., 2005. *První nález oocyst morfometricky podobných druhům Cryptosporidium muris a C. andersoni u kočky.* *Veterinářství.* 55: 480 – 483.
- [40] RAMIREZ, N. E., WARD, L. A., SREEVATSAN, S., 2004. *A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals.* *Microbes Infect.* 6(8):773 – 85.
- [41] RAYAN, U. M., MONIS, P., ENEMARK, H. L., et al., 2004. *Cryptosporidium suis n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) in pigs (Sus scrofa).* *J. Parasitol.* 90:769 – 773.
- [42] ROBERT, C. K., WILLIAM, D. S., PAMELA, K. M. A., 2006. *Dictionary of Genetics.* Oxford University Press. ISBN: 9780195307610.
- [43] SAVIOLI, L., 2006. *Giardia and Cryptosporidium joint the Neglected Disease Initiative.* *Trend. Parasitol.* 22: 203 – 208.
- [44] STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV, © 2015. *Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2006 – 2015 – absolutně [online].* Dostupné z:

<http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2006-2015-absolutne>

- [45] STERLING, C. R., ARROWOOD, M. J., 1993. *Cryptosporidia* In Kreier J. P. (Ed). Academic Press Inc., New York. Parasitic Protozoa, pp 159 – 225
- [46] ŠLAPETA, J., 2012. *The name Cryptosporidium tyzzeri* Ren X., Zhao J., Zhang L., Ning C., Jian F., Wang R., Lv C., Wang Q, Arrowood M. J. and Xiao L., 2012 is permanently invalid. *Experimental Parasitology*. 130:306 – 307.
- [47] THOMPSON, R. C., OLSON, M. E., ZHU, G., et al., 2005. *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. *Adv. Parasitol.* 59:77–158.
- [48] TOMAN, M., et al., 2009. *Veterinární imunologie*. Praha: Grada. ISBN: 9788024767628
- [49] TYZZER, E. E., 1910. *An extracellular coccidia, Cryptosporidium muris. (Gen. Et. Sp. Nov.), of the gastric gland of the Common Mouse*. *J Med Res*. 23: 487 – 510.3.
- [50] TYZZER, E. E., 1912. *Cryptosporidium parvum a coccidium found in the small intestine of the common mouse*. *Folia Parasitologica* 45:101- 107
- [51] VALIGUROVÁ, A., HOFMANNOVÁ, L., et al., 2007. *An ultrastructural comparison of the attachment sites between Gregarina steini and Cryptosporidium muris*. *J. Eucaryot. Microbiol.* 54: 495 – 510. DOI: 10.1111/j. 1550 – 7408. 00291. x.
- [52] VALIGUROVÁ, A., JIRKŮ, M., KOUDELKA, et al., 2008. *Cryptosporidia* *Epicellular parasites embraced by the host cell membrane*. *Int. J. parasitol.* 38: 913 – 922.
- [53] VOLF, P., HORÁK, P., et al., 2007. *Paraziti a jejich biologie*. Praha: Triton, pp. 94 – 96. ISBN: 978 – 80- 7387-008-9.
- [54] WETZEL, D., M., SMIDT, J., KUHLENSCHMIDT, M., S., DUBEY, J. P., SIBLEY, L. D., 2005. *Gliding mobility leads to active cellular invasion by Cryptosporidium parvum sporozoites*. *Infect Immun*. 73:5379 – 5387.
- [55] XIAO, L., RYAN, U. M., 2004a, *Cryptosporidiosis: an update in molecular epidemiology*. *Curr. Opin, Infected Dis*. 17:483 – 490.

[56] XIAO, L., RYAN, et al., 2004c. *Genetic diversity of Cryptosporidium spp. In captive reptiles. Applied Environmental Microbiology* 70:891 – 899.

## 9 Seznam Obrázků

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| Obrázek 1 - Morfologie zoita kmene Apicomplexa .....      | 9  |
| Obrázek 2 - Životní cyklus kryptosporidií.....            | 16 |
| Obrázek 3 - Životní cyklus parazita C. parvum.....        | 18 |
| Obrázek 4 – Speciální kontejnery na odběr materiálu ..... | 26 |
| Obrázek 5 - Olympus CX31 .....                            | 28 |
| Obrázek 6 - Metoda barvení Miláček - Vítovec .....        | 29 |
| Obrázek 7 - Graf : Nález kryptosporidií u lidí.....       | 35 |
| Obrázek 8 - Graf: celkový pozitivní nález.....            | 38 |
| Obrázek 9- Graf : Výskyt onemocnění kryptosporidií .....  | 39 |

## 10 Seznam tabulek

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| Tabulka 1 - Platné druhy rodu <i>Cryptosporidium</i> .....        | 12 |
| Tabulka 2 - Výskyt kryptosporidií u skotu 1 týden – 18 týdnů..... | 30 |
| Tabulka 3 - Výskyt kryptosporidií u skotu 2 – 8 let.....          | 31 |
| Tabulka 4 - Výskyt kryptosporidií u ovcí.....                     | 32 |
| Tabulka 5 - Výskyt kryptosporidií u koček 1 – 9 let.....          | 32 |
| Tabulka 6 - Výskyt kryptosporidií u koček 4 – 8 týdnů.....        | 33 |
| Tabulka 7 - Výskyt kryptosporidií u psů 2 – 13 týdnů.....         | 33 |
| Tabulka 8 - Výskyt kryptosporidií u psů 1 – 12 let.....           | 34 |
| Tabulka 9 - Výskyt kryptosporidií u prasat 1 – 5 let.....         | 34 |
| Tabulka 10 - Výskyt kryptosporidií u prasat 1 – 21 týdnů.....     | 35 |

## **11 Seznam použitých zkratek**

AIDS – Syndrom získaného selhání imunity

CD4 - Diferenciační skupina povrchových glykoproteinů

ČR – Česká Republika

DNA – Deoxyribonukleová kyselina

EPIDAT - Informační systém infekčních nemocí

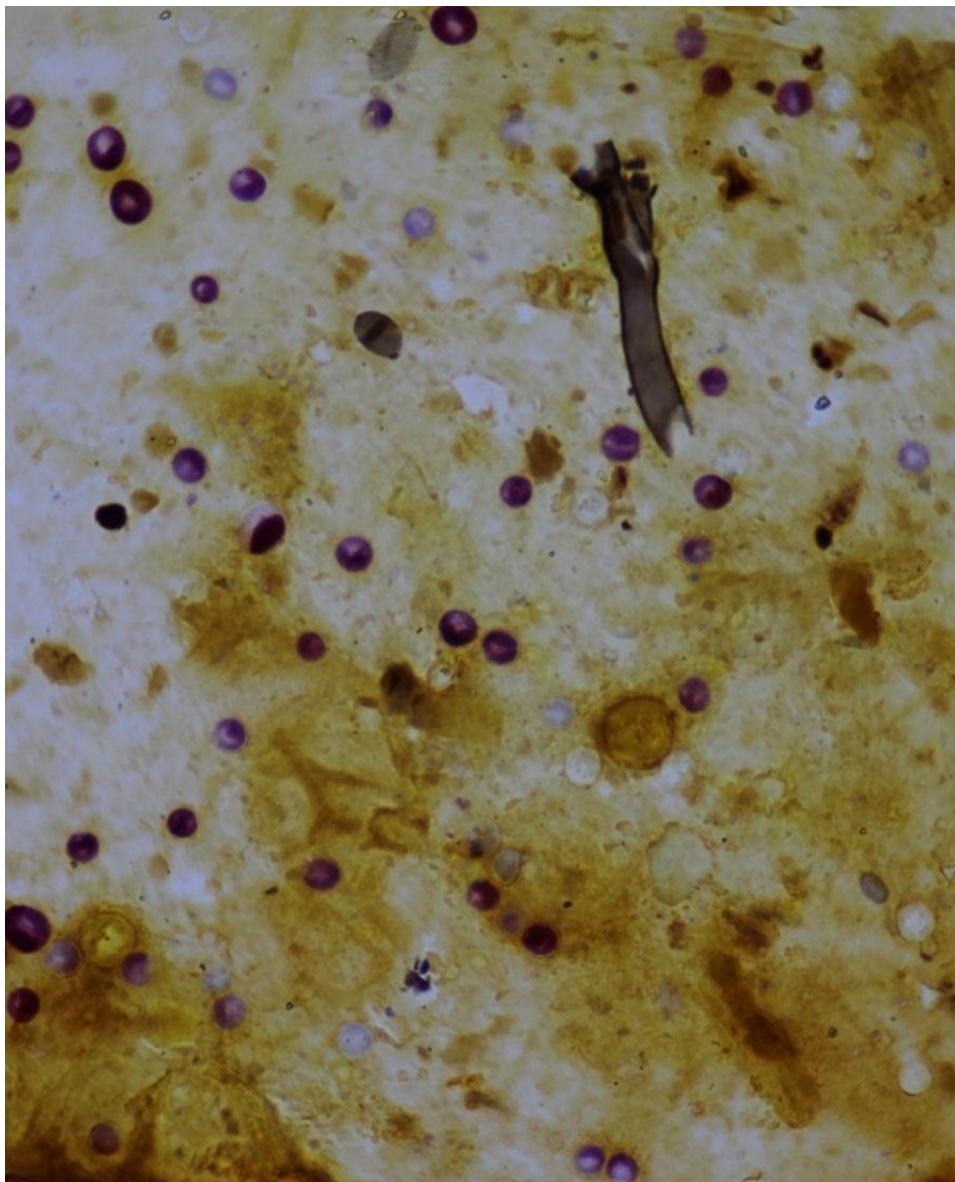
NRL - Národní referenční laboratoř

NaCl - Chlorid Sodný

WHO – Světová zdravotnická organizace

## 12 Přílohy

**Příloha č. 1 – obarvené Kryptosporidie, zachyceno - Mikroskop NIKON Eclipse E100/E100LED MV a fotoaparát Canon EOS 600D**



*Zdroj: Vlastní*

## Příloha č. 2. – TABULKY S VÝSLEDKY - SKOT

### Vysvětlivky:

- T. – týdnů
- Let. – let /roků
- Neg. – Negativní
- Pozitiv. - Pozitivní

| Vyšetření strusu na kryptosporidie u skotu |                  |         |          |                    |          |
|--------------------------------------------|------------------|---------|----------|--------------------|----------|
| Číslo vzorku                               | Datum vyšetření. | pohlaví | Věk      | Výsledek Vyšetření | Poznámka |
| 1                                          | 12. 1. 2016      | ♀       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 2                                          | 12. 1. 2016      | ♂       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 3                                          | 12. 1. 2016      | ♂       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 4                                          | 12. 1. 2016      | ♂       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 5                                          | 12. 1. 2016      | ♀       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 6                                          | 12. 1. 2016      | ♀       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 7                                          | 12. 1. 2016      | ♂       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 8                                          | 12. 1. 2016      | ♀       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 9                                          | 12. 1. 2016      | ♀       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 10                                         | 12. 1. 2016      | ♂       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 11                                         | 12. 1. 2016      | ♀       | 18 týdnů | Neg.               |          |
| 12                                         | 12. 1. 2016      | ♂       | 16 týdnů | Pozitiv.           |          |
| 13                                         | 12. 1. 2016      | ♀       | 16 týdnů | Neg.               |          |

|    |             |   |          |          |  |
|----|-------------|---|----------|----------|--|
| 14 | 12. 1. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Pozitiv. |  |
| 15 | 12. 1. 2016 | ♀ | 13 týdnů | Neg.     |  |
| 16 | 12. 1. 2016 | ♀ | 16 týdnů | Neg.     |  |
| 17 | 12. 1. 2016 | ♀ | 13 týdnů | Neg.     |  |
| 18 | 12. 1. 2016 | ♂ | 16 týdnů | Neg.     |  |
| 19 | 12. 1. 2016 | ♀ | 16 týdnů | Neg.     |  |
| 20 | 12. 1. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Pozitiv. |  |
| 21 | 12. 1. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Neg.     |  |
| 22 | 12. 1. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Neg.     |  |
| 23 | 12. 1. 2016 | ♀ | 18 týdnů | Neg.     |  |
| 24 | 12. 1. 2016 | ♂ | 18 týdnů | Pozitiv. |  |
| 25 | 12. 1. 2016 | ♀ | 18 týdnů | Pozitiv. |  |
| 26 | 19. 1. 2016 | ♂ | 6 týdnů  | Neg.     |  |
| 27 | 19. 1. 2016 | ♀ | 7 týdnů  | Neg.     |  |
| 28 | 19. 1. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg.     |  |
| 29 | 19. 1. 2016 | ♂ | 9 týdnů  | Neg.     |  |
| 30 | 19. 1. 2016 | ♀ | 6 týdnů  | Neg.     |  |
| 31 | 19. 1. 2016 | ♀ | 7 týdnů  | Neg.     |  |
| 32 | 19. 1. 2016 | ♂ | 8 týdnů  | Neg.     |  |
| 33 | 19. 1. 2016 | ♀ | 9 týdnů  | Neg.     |  |
| 34 | 19. 1. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Neg.     |  |

|    |             |   |          |          |  |
|----|-------------|---|----------|----------|--|
| 35 | 19. 1. 2016 | ♀ | 14 týdnů | Neg.     |  |
| 36 | 19. 1. 2016 | ♂ | 15 týdnů | Neg.     |  |
| 37 | 19. 1. 2016 | ♀ | 13 týdnů | Neg.     |  |
| 38 | 19. 1. 2016 | ♀ | 10 týdnů | Neg.     |  |
| 39 | 19. 1. 2016 | ♀ | 12 týdnů | Neg.     |  |
| 40 | 19. 1. 2016 | ♂ | 13 týdnů | Neg.     |  |
| 41 | 19. 1. 2016 | ♀ | 7 týdnů  | Pozitiv. |  |
| 42 | 19. 1. 2016 | ♂ | 9 týdnů  | Pozitiv. |  |
| 43 | 19. 1. 2016 | ♂ | 8 týdnů  | Pozitiv. |  |
| 44 | 19. 1. 2016 | ♂ | 6 týdnů  | Pozitiv. |  |
| 45 | 19. 1. 2016 | ♀ | 12 týdnů | Pozitiv. |  |
| 46 | 19. 1. 2016 | ♂ | 13 týdnů | Pozitiv. |  |
| 47 | 19. 1. 2016 | ♀ | 12 týdnů | Pozitiv. |  |
| 48 | 19. 1. 2016 | ♂ | 8 týdnů  | Pozitiv. |  |
| 49 | 19. 1. 2016 | ♀ | 2 roky   | Pozitiv. |  |
| 50 | 19. 1. 2016 | ♂ | 4 roky   | Pozitiv. |  |
| 51 | 19. 1. 2016 | ♀ | 6 let    | Pozitiv. |  |
| 52 | 19. 1. 2016 | ♂ | 4 roky   | Pozitiv. |  |
| 53 | 19. 1. 2016 | ♀ | 7 let    | Pozitiv. |  |
| 54 | 19. 1. 2016 | ♀ | 5 let    | Pozitiv. |  |
| 55 | 19. 1. 2016 | ♂ | 6 let    | Pozitiv. |  |

|    |             |   |          |          |  |
|----|-------------|---|----------|----------|--|
| 56 | 19. 1. 2016 | ♀ | 5 let    | Pozitiv. |  |
| 57 | 19. 1. 2016 | ♀ | 4 roky   | Pozitiv. |  |
| 58 | 19. 1. 2016 | ♂ | 4 roky   | Pozitiv. |  |
| 59 | 19. 1. 2016 | ♀ | 5 let    | Neg.     |  |
| 60 | 19. 1. 2016 | ♂ | 3 roky   | Neg.     |  |
| 61 | 19. 1. 2016 | ♀ | 5 let    | Neg.     |  |
| 62 | 19. 1. 2016 | ♂ | 8 let    | Pozitiv. |  |
| 63 | 19. 1. 2016 | ♀ | 4 roky   | Pozitiv. |  |
| 64 | 19. 1. 2016 | ♀ | 5 let    | Pozitiv. |  |
| 65 | 19. 1. 2016 | ♀ | 7 let    | Pozitiv. |  |
| 66 | 20. 2. 2016 | ♂ | 6 týdnů  | Neg.     |  |
| 67 | 20. 2. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg.     |  |
| 68 | 20. 2. 2016 | ♂ | 8 týdnů  | Neg.     |  |
| 69 | 20. 2. 2016 | ♂ | 7 týdnů  | Neg.     |  |
| 70 | 20. 2. 2016 | ♂ | 6 týdnů  | Neg.     |  |
| 71 | 20. 2. 2016 | ♀ | 7 týdnů  | Neg.     |  |
| 72 | 20. 2. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Pozitiv. |  |
| 73 | 20. 2. 2016 | ♀ | 16 týdnů | Neg.     |  |
| 74 | 20. 2. 2016 | ♂ | 9 týdnů  | Neg.     |  |
| 75 | 20. 2. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Pozitiv. |  |
| 76 | 20. 2. 2016 | ♀ | 15 týdnů | Neg.     |  |

|    |             |   |          |      |  |
|----|-------------|---|----------|------|--|
| 77 | 20. 2. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Neg. |  |
| 78 | 20. 2. 2016 | ♀ | 13 týdnů | Neg. |  |
| 79 | 20. 2. 2016 | ♂ | 11 týdnů | Neg. |  |
| 80 | 20. 2. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 81 | 20. 2. 2016 | ♂ | 5 let    | Neg. |  |
| 82 | 20. 2. 2016 | ♂ | 6 let    | Neg. |  |
| 83 | 20. 2. 2016 | ♀ | 4 roky   | Neg. |  |
| 84 | 20. 2. 2016 | ♀ | 6 let    | Neg. |  |
| 85 | 20. 2. 2016 | ♂ | 5 let    | Neg. |  |
| 86 | 20. 2. 2016 | ♀ | 4 roky   | Neg. |  |
| 87 | 20. 2. 2016 | ♂ | 3 roky   | Neg. |  |
| 88 | 20. 2. 2016 | ♀ | 2 roky   | Neg. |  |
| 89 | 20. 2. 2016 | ♂ | 4 roky   | Neg. |  |
| 90 | 20. 2. 2016 | ♀ | 10 týdnů | Neg. |  |
| 91 | 20. 2. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 92 | 20. 2. 2016 | ♀ | 12 týdnů | Neg. |  |
| 93 | 20. 2. 2016 | ♂ | 14 týdnů | Neg. |  |
| 94 | 20. 2. 2016 | ♀ | 9 týdnů  | Neg. |  |
| 95 | 21. 3. 2016 | ♀ | 15 týdnů | Neg. |  |
| 96 | 21. 3. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Neg. |  |
| 97 | 21. 3. 2016 | ♀ | 5 let    | Neg. |  |

|     |             |   |        |      |  |
|-----|-------------|---|--------|------|--|
| 98  | 21. 3. 2016 | ♂ | 3 roky | Neg. |  |
| 99  | 21. 3. 2016 | ♂ | 2 roky | Neg. |  |
| 100 | 21. 3. 2016 | ♀ | 1 rok  | Neg. |  |

*Zdroj: Vlastní*

### Příloha č. 3. – TABULKY S VÝSLEDKY - OVCE

#### Vysvětlivky:

- T. – týdnů
- Let. – let /roků
- Neg. – Negativní
- Pozitiv. - Pozitivní

| Vyšetření strusu na kryptosporidie u ovčí |               |         |         |                    |          |
|-------------------------------------------|---------------|---------|---------|--------------------|----------|
| Číslo vzorku                              | Datum vyšetř. | pohlaví | Věk     | Výsledek Vyšetření | Poznámka |
| 1                                         | 10. 11. 2015  | ♀       | 5 let.  | Neg.               |          |
| 2                                         | 10. 11. 2015  | ♂       | 5 let.  | Neg.               |          |
| 3                                         | 10. 11. 2015  | ♀       | 1 rok   | Neg.               |          |
| 4                                         | 10. 11. 2015  | ♂       | 1 rok   | Neg.               |          |
| 5                                         | 10. 11. 2015  | ♀       | 4 roky  | Neg.               |          |
| 6                                         | 10. 11. 2015  | ♀       | 3 roky  | Neg.               |          |
| 7                                         | 10. 11. 2015  | ♂       | 2 roky  | Neg.               |          |
| 8                                         | 10. 11. 2015  | ♀       | 2 roky. | Pozitiv.           |          |
| 9                                         | 10. 11. 2015  | ♀       | 2 roky  | Neg.               |          |
| 10                                        | 10. 11. 2015  | ♂       | 4 roky. | Neg.               |          |
| 11                                        | 10. 11. 2015  | ♀       | 2 roky  | Neg.               |          |
| 12                                        | 10. 11. 2015  | ♂       | 5 let.  | Neg.               |          |
| 13                                        | 10. 11. 2015  | ♀       | 1 rok   | Neg.               |          |

|    |              |   |         |          |  |
|----|--------------|---|---------|----------|--|
| 14 | 10. 11. 2015 | ♂ | 4 roky. | Neg.     |  |
| 15 | 10. 11. 2015 | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 16 | 10. 11. 2015 | ♀ | 2 roky. | Neg.     |  |
| 17 | 10. 11. 2015 | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 18 | 10. 11. 2015 | ♂ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 19 | 10. 11. 2015 | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 20 | 10. 11. 2015 | ♂ | 5 let.  | Neg.     |  |
| 21 | 10. 11. 2015 | ♂ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 22 | 10. 11. 2015 | ♂ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 23 | 10. 11. 2015 | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 24 | 10. 11. 2015 | ♂ | 6 let.  | Neg.     |  |
| 25 | 10. 11. 2015 | ♂ | 4 roky. | Neg.     |  |
| 26 | 10. 11. 2015 | ♂ | 2 roky. | Neg.     |  |
| 27 | 10. 11. 2015 | ♀ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 28 | 10. 11. 2015 | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 29 | 10. 11. 2015 | ♂ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 30 | 10. 11. 2015 | ♀ | 1 rok   | Pozitiv. |  |
| 31 | 10. 11. 2015 | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 32 | 10. 11. 2015 | ♂ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 33 | 10. 11. 2015 | ♀ | 2 roky. | Neg.     |  |
| 34 | 10. 11. 2015 | ♂ | 3 roky  | Neg.     |  |

|    |              |   |         |          |  |
|----|--------------|---|---------|----------|--|
| 35 | 10. 11. 2015 | ♀ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 36 | 10. 11. 2015 | ♂ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 37 | 10. 11. 2015 | ♀ | 4 roky. | Neg.     |  |
| 38 | 2. 2. 2016   | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 39 | 2. 2. 2016   | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 40 | 2. 2. 2016   | ♂ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 41 | 2. 2. 2016   | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 42 | 2. 2. 2016   | ♂ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 43 | 2. 2. 2016   | ♂ | 3 roky  | Pozitiv. |  |
| 44 | 2. 2. 2016   | ♂ | 1 rok   | Pozitiv. |  |
| 45 | 2. 2. 2016   | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 46 | 2. 2. 2016   | ♂ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 47 | 2. 2. 2016   | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 48 | 2. 2. 2016   | ♂ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 49 | 2. 2. 2016   | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 50 | 2. 2. 2016   | ♂ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 51 | 2. 2. 2016   | ♀ | 1 rok   | Pozitiv. |  |
| 52 | 2. 2. 2016   | ♂ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 53 | 2. 2. 2016   | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 54 | 2. 2. 2016   | ♀ | 6 let.  | Neg.     |  |
| 55 | 2. 2. 2016   | ♂ | 8 let.  | Neg.     |  |

|    |             |   |         |          |  |
|----|-------------|---|---------|----------|--|
| 56 | 2. 2. 2016  | ♀ | 8 let.  | Neg.     |  |
| 57 | 2. 2. 2016  | ♀ | 7 let.  | Neg.     |  |
| 58 | 2. 2. 2016  | ♂ | 6 let.  | Pozitiv. |  |
| 59 | 2. 2. 2016  | ♀ | 7 let.  | Neg.     |  |
| 60 | 2. 2. 2016  | ♂ | 6 let.  | Neg.     |  |
| 61 | 2. 2. 2016  | ♀ | 8 let.  | Neg.     |  |
| 62 | 2. 2. 2016  | ♂ | 8 let.  | Neg.     |  |
| 63 | 2. 2. 2016  | ♀ | 3 roky  | Pozitiv. |  |
| 64 | 2. 2. 2016  | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 65 | 2. 2. 2016  | ♀ | 4 roky. | Neg.     |  |
| 66 | 2. 2. 2016  | ♂ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 67 | 2. 2. 2016  | ♀ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 68 | 2. 2. 2016  | ♂ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 69 | 2. 2. 2016  | ♂ | 6 let.  | Neg.     |  |
| 70 | 2. 2. 2016  | ♂ | 8 let.  | Neg.     |  |
| 71 | 2. 2. 2016  | ♀ | 8 let.  | Neg.     |  |
| 72 | 2. 2. 2016  | ♂ | 7 let.  | Neg.     |  |
| 73 | 12. 4. 2016 | ♀ | 6 let.  | Neg.     |  |
| 74 | 12. 4. 2016 | ♂ | 7 let.  | Neg.     |  |
| 75 | 12. 4. 2016 | ♀ | 6 let.  | Neg.     |  |
| 76 | 12. 4. 2016 | ♀ | 8 let.  | Pozitiv. |  |

|    |             |   |        |          |  |
|----|-------------|---|--------|----------|--|
| 77 | 12. 4. 2016 | ♂ | 8 let. | Pozitiv. |  |
| 78 | 12. 4. 2016 | ♀ | 7 let. | Pozitiv. |  |
| 79 | 12. 4. 2016 | ♂ | 6 let. | Neg.     |  |
| 80 | 12. 4. 2016 | ♀ | 7 let. | Neg.     |  |
| 81 | 12. 4. 2016 | ♀ | 6 let  | Neg.     |  |
| 82 | 12. 4. 2016 | ♂ | 8 let  | Neg.     |  |
| 83 | 12. 4. 2016 | ♀ | 8 let  | Neg.     |  |
| 84 | 12. 4. 2016 | ♀ | 7 let  | Neg.     |  |
| 85 | 12. 4. 2016 | ♂ | 6 let  | Neg.     |  |
| 86 | 12. 4. 2016 | ♀ | 7 let  | Neg.     |  |
| 87 | 12. 4. 2016 | ♂ | 6 let  | Neg.     |  |
| 88 | 12. 4. 2016 | ♀ | 1 rok  | Neg.     |  |
| 89 | 20. 5. 2016 | ♂ | 3 roky | Neg.     |  |
| 90 | 20. 5. 2016 | ♀ | 2 roky | Neg.     |  |
| 91 | 20. 5. 2016 | ♀ | 4 roky | Neg.     |  |
| 92 | 20. 5. 2016 | ♀ | 4 roky | Neg.     |  |
| 93 | 20. 5. 2016 | ♂ | 13 let | Neg.     |  |
| 94 | 20. 5. 2016 | ♀ | 6 let  | Neg.     |  |
| 95 | 20. 5. 2016 | ♀ | 6 let  | Neg.     |  |
| 96 | 20. 5. 2016 | ♂ | 2 roky | Neg.     |  |
| 97 | 20. 5. 2016 | ♀ | 4 roky | Neg.     |  |

|     |             |   |        |      |  |
|-----|-------------|---|--------|------|--|
| 98  | 20. 5. 2016 | ♂ | 3 roky | Neg. |  |
| 99  | 20. 5. 2016 | ♂ | 2 roky | Neg. |  |
| 100 | 20. 5. 2016 | ♀ | 3 roky | Neg. |  |

*Zdroj: Vlastní*

## Příloha č. 4. – TABULKY S VÝSLEDKY - KOČKY

### Vysvětlivky:

- T. – týdnů
- Let. – let /roků
- Neg. – Negativní
- Pozitiv. - Pozitivní

| Vyšetření strusu na kryptosporidie u koček |                |         |         |                    |          |
|--------------------------------------------|----------------|---------|---------|--------------------|----------|
| Číslo vzorku                               | Datum vyšetři. | pohlaví | Věk     | Výsledek Vyšetření | Poznámka |
| 1                                          | 12. 10. 2015   | ♀       | 5 let   | Neg.               |          |
| 2                                          | 12. 10. 2015   | ♂       | 3 roky  | Neg.               |          |
| 3                                          | 12. 10. 2015   | ♀       | 1 rok   | Neg.               |          |
| 4                                          | 12. 10. 2015   | ♂       | 7 let   | Neg.               |          |
| 5                                          | 12. 10. 2015   | ♀       | 5 týdnů | Neg.               |          |
| 6                                          | 12. 10. 2015   | ♀       | 5 týdnů | Neg.               |          |
| 7                                          | 12. 10. 2015   | ♂       | 5 týdnů | Neg.               |          |
| 8                                          | 12. 10. 2015   | ♀       | 5 týdnů | Neg.               |          |
| 9                                          | 12. 10. 2015   | ♀       | 5 týdnů | Neg.               |          |
| 10                                         | 12. 10. 2015   | ♂       | 5týdnů  | Neg.               |          |
| 11                                         | 12. 10. 2015   | ♂       | 3 roky  | Neg.               |          |
| 12                                         | 12. 10. 2015   | ♂       | 6 let   | Neg.               |          |
| 13                                         | 12. 10. 2015   | ♀       | 6 týdnů | Neg.               |          |

|    |              |   |         |          |  |
|----|--------------|---|---------|----------|--|
| 14 | 12. 10. 2015 | ♂ | 6 týdnů | Neg.     |  |
| 15 | 12. 10. 2015 | ♀ | 6 týdnů | Neg.     |  |
| 16 | 20. 10. 2015 | ♀ | 6 týdnů | Neg.     |  |
| 17 | 20. 10. 2015 | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 18 | 20. 10. 2015 | ♂ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 19 | 20. 10. 2015 | ♀ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 20 | 20. 10. 2015 | ♂ | 7 týdnů | Neg.     |  |
| 21 | 20. 10. 2015 | ♂ | 7 týdnů | Neg.     |  |
| 22 | 20. 10. 2015 | ♂ | 7 týdnů | Neg.     |  |
| 23 | 20. 10. 2015 | ♀ | 7 týdnů | Neg.     |  |
| 24 | 20. 10. 2015 | ♂ | 7 týdnů | Neg.     |  |
| 25 | 20. 10. 2015 | ♀ | 7 týdnů | Neg.     |  |
| 26 | 20. 10. 2015 | ♂ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 27 | 20. 10. 2015 | ♀ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 28 | 20. 10. 2015 | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 29 | 20. 10. 2015 | ♂ | 5 let   | Neg.     |  |
| 30 | 20. 10. 2015 | ♀ | 1 roky  | Neg.     |  |
| 31 | 20. 10. 2015 | ♀ | 7 let   | Neg.     |  |
| 32 | 20. 10. 2015 | ♂ | 5 let   | Neg.     |  |
| 33 | 20. 10. 2015 | ♀ | 8 let   | Pozitiv. |  |
| 34 | 20. 10. 2015 | ♂ | 3 roky  | Neg.     |  |

|    |              |   |         |      |  |
|----|--------------|---|---------|------|--|
| 35 | 20. 10. 2015 | ♀ | 2 roky  | Neg. |  |
| 36 | 20. 10. 2015 | ♂ | 4 týdnů | Neg. |  |
| 37 | 20. 10. 2015 | ♀ | 4 týdnů | Neg. |  |
| 38 | 20. 10. 2015 | ♀ | 4 týdnů | Neg. |  |
| 39 | 20. 10. 2015 | ♀ | 4 týdnů | Neg. |  |
| 40 | 20. 10. 2015 | ♂ | 7 let   | Neg. |  |
| 41 | 20. 10. 2015 | ♀ | 5 let   | Neg. |  |
| 42 | 20. 10. 2015 | ♂ | 3 roky  | Neg. |  |
| 43 | 20. 10. 2015 | ♂ | 2 roky  | Neg. |  |
| 44 | 20. 10. 2015 | ♂ | 1 rok   | Neg. |  |
| 45 | 20. 10. 2015 | ♀ | 4 roky  | Neg. |  |
| 46 | 11. 1. 2016  | ♂ | 3 roky  | Neg. |  |
| 47 | 11. 1. 2016  | ♀ | 2 roky  | Neg. |  |
| 48 | 11. 1. 2016  | ♂ | 1 rok   | Neg. |  |
| 49 | 11. 1. 2016  | ♂ | 4 roky  | Neg. |  |
| 50 | 11. 1. 2016  | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 51 | 11. 1. 2016  | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 52 | 11. 1. 2016  | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 53 | 11. 1. 2016  | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 54 | 11. 1. 2016  | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 55 | 11. 1. 2016  | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |

|    |             |   |        |      |  |
|----|-------------|---|--------|------|--|
| 56 | 11. 1. 2016 | ♀ | 1 rok  | Neg. |  |
| 57 | 11. 1. 2016 | ♀ | 4 roky | Neg. |  |
| 58 | 11. 1. 2016 | ♂ | 3 roky | Neg. |  |
| 59 | 11. 1. 2016 | ♀ | 6 let  | Neg. |  |
| 60 | 11. 1. 2016 | ♂ | 1 rok  | Neg. |  |
| 61 | 11. 1. 2016 | ♀ | 4 roky | Neg. |  |
| 62 | 11. 1. 2016 | ♂ | 3 roky | Neg. |  |
| 63 | 11. 1. 2016 | ♀ | 2 roky | Neg. |  |
| 64 | 11. 1. 2016 | ♀ | 3 roky | Neg. |  |
| 65 | 11. 1. 2016 | ♀ | 4 roky | Neg. |  |
| 66 | 11. 1. 2016 | ♀ | 3 roky | Neg. |  |
| 67 | 11. 1. 2016 | ♀ | 2 roky | Neg. |  |
| 68 | 11. 1. 2016 | ♂ | 3 roky | Neg. |  |
| 69 | 11. 1. 2016 | ♂ | 4 roky | Neg. |  |
| 70 | 11. 1. 2016 | ♀ | 3 roky | Neg. |  |
| 71 | 11. 1. 2016 | ♀ | 2 roky | Neg. |  |
| 72 | 11. 1. 2016 | ♂ | 1 rok  | Neg. |  |
| 73 | 11. 1. 2016 | ♀ | 4 roky | Neg. |  |
| 74 | 18. 1. 2016 | ♂ | 1 rok  | Neg. |  |
| 75 | 18. 1. 2016 | ♀ | 2 roky | Neg. |  |
| 76 | 18. 1. 2016 | ♀ | 7 let  | Neg. |  |

|    |             |   |         |          |  |
|----|-------------|---|---------|----------|--|
| 77 | 18. 1. 2016 | ♂ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 78 | 18. 1. 2016 | ♀ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 79 | 18. 1. 2016 | ♂ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 80 | 18. 1. 2016 | ♀ | 1 rok   | Neg.     |  |
| 81 | 18. 1. 2016 | ♀ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 82 | 18. 1. 2016 | ♂ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 83 | 18. 1. 2016 | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 84 | 18. 1. 2016 | ♀ | 1 rok   | Pozitiv. |  |
| 85 | 18. 1. 2016 | ♂ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 86 | 18. 1. 2016 | ♀ | 5 let   | Neg.     |  |
| 87 | 18. 1. 2016 | ♂ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 88 | 18. 1. 2016 | ♀ | 9 let   | Neg.     |  |
| 89 | 18. 1. 2016 | ♂ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 90 | 18. 1. 2016 | ♀ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 91 | 18. 1. 2016 | ♀ | 8let    | Neg.     |  |
| 92 | 18. 1. 2016 | ♀ | 5 let   | Neg.     |  |
| 93 | 18. 1. 2016 | ♂ | 4 roky  | Neg.     |  |
| 94 | 18. 1. 2016 | ♀ | 3 roky  | Neg.     |  |
| 95 | 18. 1. 2016 | ♀ | 2 roky  | Neg.     |  |
| 96 | 18. 1. 2016 | ♀ | 8 týdnů | Neg.     |  |
| 97 | 18. 1. 2016 | ♀ | 8 týdnů | Pozitiv. |  |

|     |             |   |         |      |  |
|-----|-------------|---|---------|------|--|
| 98  | 18. 1. 2016 | ♂ | 8 týdnů | Neg. |  |
| 99  | 18. 1. 2016 | ♂ | 8 týdnů | Neg. |  |
| 100 | 18. 1. 2016 | ♀ | 8 týdnů | Neg. |  |

*Zdroj: Vlastní*

## Příloha č. 4. – TABULKY S VÝSLEDKY - PSI

### Vysvětlivky:

- T. – týdnů
- Let. – let /roků
- Neg. – Negativní
- Pozitiv. - Pozitivní

| Vyšetření strusu na kryptosporidie u psů |                |         |         |                    |          |
|------------------------------------------|----------------|---------|---------|--------------------|----------|
| Číslo vzorku                             | Datum vyšetři. | pohlaví | Věk     | Výsledek Vyšetření | Poznámka |
| 1                                        | 24. 11. 2016   | ♀       | 4 týdnů | Neg.               |          |
| 2                                        | 24. 11. 2016   | ♂       | 4 týdnů | Neg.               |          |
| 3                                        | 24. 11. 2016   | ♀       | 4 týdnů | Neg.               |          |
| 4                                        | 24. 11. 2016   | ♂       | 4 týdnů | Neg.               |          |
| 5                                        | 24. 11. 2016   | ♀       | 4 týdnů | Neg.               |          |
| 6                                        | 24. 11. 2016   | ♀       | 4 týdnů | Neg.               |          |
| 7                                        | 24. 11. 2016   | ♂       | 4 týdnů | Neg.               |          |
| 8                                        | 24. 11. 2016   | ♀       | 4 týdnů | Neg.               |          |
| 9                                        | 24. 11. 2016   | ♀       | 5 let   | Neg.               |          |
| 10                                       | 24. 11. 2016   | ♂       | 2 roky  | Neg.               |          |
| 11                                       | 24. 11. 2016   | ♀       | 2 roky  | Neg.               |          |
| 12                                       | 24. 11. 2016   | ♂       | 4 roky  | Neg.               |          |
| 13                                       | 24. 11. 2016   | ♀       | 12 let  | Pozitiv.           |          |

|    |              |   |        |      |  |
|----|--------------|---|--------|------|--|
| 14 | 24. 11. 2016 | ♂ | 8 let  | Neg. |  |
| 15 | 24. 11. 2016 | ♂ | 5 let  | Neg. |  |
| 16 | 24. 11. 2016 | ♀ | 2 roky | Neg. |  |
| 17 | 24. 11. 2016 | ♀ | 9 let  | Neg. |  |
| 18 | 24. 11. 2016 | ♂ | 3 roky | Neg. |  |
| 19 | 24. 11. 2016 | ♀ | 2 roky | Neg. |  |
| 20 | 24. 11. 2016 | ♂ | 6let   | Neg. |  |
| 21 | 24. 11. 2016 | ♂ | 4 roky | Neg. |  |
| 22 | 24. 11. 2016 | ♂ | 5 let  | Neg. |  |
| 23 | 24. 11. 2016 | ♀ | 9 let  | Neg. |  |
| 24 | 24. 11. 2016 | ♂ | 5 let  | Neg. |  |
| 25 | 24. 11. 2016 | ♀ | 1 rok  | Neg. |  |
| 26 | 24. 11. 2016 | ♂ | 3 roky | Neg. |  |
| 27 | 24. 11. 2016 | ♂ | 8 let  | Neg. |  |
| 28 | 24. 11. 2016 | ♀ | 2 roky | Neg. |  |
| 29 | 24. 11. 2016 | ♂ | 1 rok  | Neg. |  |
| 30 | 24. 11. 2016 | ♀ | 3 roky | Neg. |  |
| 31 | 24. 11. 2016 | ♀ | 11 let | Neg. |  |
| 32 | 24. 11. 2016 | ♂ | 7 let  | Neg. |  |
| 33 | 24. 11. 2016 | ♀ | 3 roky | Neg. |  |
| 34 | 24. 11. 2016 | ♂ | 8 let  | Neg. |  |

|    |             |   |          |      |  |
|----|-------------|---|----------|------|--|
| 35 | 4. 12. 2016 | ♀ | 5 let    | Neg. |  |
| 36 | 4. 12. 2016 | ♂ | 2 roky   | Neg. |  |
| 37 | 4. 12. 2016 | ♀ | 9 let    | Neg. |  |
| 38 | 4. 12. 2016 | ♀ | 3 roky   | Neg. |  |
| 39 | 4. 12. 2016 | ♀ | 2 roky   | Neg. |  |
| 40 | 4. 12. 2016 | ♂ | 6 let    | Neg. |  |
| 41 | 4. 12. 2016 | ♀ | 12 týdnů | Neg. |  |
| 42 | 4. 12. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Neg. |  |
| 43 | 4. 12. 2016 | ♂ | 12 týdnů | Neg. |  |
| 44 | 4. 12. 2016 | ♀ | 2 týdnů  | Neg. |  |
| 45 | 4. 12. 2016 | ♀ | 2 týdnů  | Neg. |  |
| 46 | 4. 12. 2016 | ♂ | 2 týdnů  | Neg. |  |
| 47 | 4. 12. 2016 | ♀ | 2 týdnů  | Neg. |  |
| 48 | 4. 12. 2016 | ♂ | 2 týdnů  | Neg. |  |
| 49 | 4. 12. 2016 | ♀ | 1 rok    | Neg. |  |
| 50 | 4. 12. 2016 | ♂ | 3 roky   | Neg. |  |
| 51 | 4. 12. 2016 | ♀ | 11 let   | Neg. |  |
| 52 | 4. 12. 2016 | ♂ | 7 let    | Neg. |  |
| 53 | 4. 12. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 54 | 4. 12. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 55 | 4. 12. 2016 | ♂ | 8 týdnů  | Neg. |  |

|    |             |   |         |      |  |
|----|-------------|---|---------|------|--|
| 56 | 4. 12. 2016 | ♀ | 8 týdnů | Neg. |  |
| 57 | 4. 12. 2016 | ♀ | 8 týdnů | Neg. |  |
| 58 | 4. 12. 2016 | ♂ | 8 týdnů | Neg. |  |
| 59 | 4. 12. 2016 | ♀ | 8 týdnů | Neg. |  |
| 60 | 4. 12. 2016 | ♂ | 6 let   | Neg. |  |
| 61 | 4. 12. 2016 | ♀ | 4 roky  | Neg. |  |
| 62 | 4. 12. 2016 | ♂ | 5 let   | Neg. |  |
| 63 | 4. 12. 2016 | ♀ | 9 let   | Neg. |  |
| 64 | 4. 12. 2016 | ♀ | 5 let   | Neg. |  |
| 65 | 4. 12. 2016 | ♀ | 1 rok   | Neg. |  |
| 66 | 23. 3. 2016 | ♂ | 3 roky  | Neg. |  |
| 67 | 23. 3. 2016 | ♀ | 8 let   | Neg. |  |
| 68 | 23. 3. 2016 | ♂ | 2 roky  | Neg. |  |
| 69 | 23. 3. 2016 | ♀ | 1 rok   | Neg. |  |
| 70 | 23. 3. 2016 | ♂ | 3 roky  | Neg. |  |
| 71 | 23. 3. 2016 | ♀ | 11 let  | Neg. |  |
| 72 | 23. 3. 2016 | ♂ | 7 let   | Neg. |  |
| 73 | 23. 3. 2016 | ♀ | 3 roky  | Neg. |  |
| 74 | 23. 3. 2016 | ♂ | 8 let   | Neg. |  |
| 75 | 23. 3. 2016 | ♀ | 5 let   | Neg. |  |
| 76 | 23. 3. 2016 | ♀ | 2 roky  | Neg. |  |

|    |             |   |          |      |  |
|----|-------------|---|----------|------|--|
| 77 | 23. 3. 2016 | ♂ | 9 let    | Neg. |  |
| 78 | 23. 3. 2016 | ♀ | 3 roky   | Neg. |  |
| 79 | 23. 3. 2016 | ♂ | 2 roky   | Neg. |  |
| 80 | 23. 3. 2016 | ♀ | 6 let    | Neg. |  |
| 81 | 23. 3. 2016 | ♀ | 4 roky   | Neg. |  |
| 82 | 23. 3. 2016 | ♂ | 5 let    | Neg. |  |
| 83 | 23. 3. 2016 | ♀ | 9 let    | Neg. |  |
| 84 | 23. 3. 2016 | ♀ | 5 let    | Neg. |  |
| 85 | 23. 3. 2016 | ♂ | 1 rok    | Neg. |  |
| 86 | 23. 3. 2016 | ♀ | 3 roky   | Neg. |  |
| 87 | 23. 3. 2016 | ♂ | 10 týdnů | Neg. |  |
| 88 | 23. 3. 2016 | ♀ | 10 týdnů | Neg. |  |
| 89 | 23. 3. 2016 | ♀ | 10 týdnů | Neg. |  |
| 90 | 23. 3. 2016 | ♀ | 10 týdnů | Neg. |  |
| 91 | 31. 3. 2016 | ♀ | 10 týdnů | Neg. |  |
| 92 | 31. 3. 2016 | ♀ | 10 týdnů | Neg. |  |
| 93 | 31. 3. 2016 | ♀ | 10 týdnů | Neg. |  |
| 94 | 31. 3. 2016 | ♀ | 7 let    | Neg. |  |
| 95 | 31. 3. 2016 | ♀ | 3 roky   | Neg. |  |
| 96 | 31. 3. 2016 | ♂ | 4 roky   | Neg. |  |
| 97 | 31. 3. 2016 | ♀ | 13 týdnů | Neg. |  |

|     |             |   |          |      |  |
|-----|-------------|---|----------|------|--|
| 98  | 31. 3. 2016 | ♂ | 13 týdnů | Neg. |  |
| 99  | 31. 3. 2016 | ♀ | 13 týdnů | Neg. |  |
| 100 | 31. 3. 2016 | ♀ | 13 týdnů | Neg. |  |

*Zdroj: Vlastní*

## Příloha č. 5. – TABULKY S VÝSLEDKY - PRASATA

### Vysvětlivky:

- T. – týdnů
- Let. – let /roků
- Neg. – Negativní
- Pozitiv. - Pozitivní

| Vyšetření strusu na kryptosporidie u prasat |                  |         |          |                    |          |
|---------------------------------------------|------------------|---------|----------|--------------------|----------|
| Číslo vzorku                                | Datum vyšetření. | pohlaví | Věk      | Výsledek Vyšetření | Poznámka |
| 1                                           | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 2                                           | 31. 3. 2016      | ♂       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 3                                           | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 4                                           | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 5                                           | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 6                                           | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 7                                           | 31. 3. 2016      | ♂       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 8                                           | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 9                                           | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 10                                          | 31. 3. 2016      | ♂       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 11                                          | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 12                                          | 31. 3. 2016      | ♀       | 12 týdnů | Neg.               |          |
| 13                                          | 31. 3. 2016      | ♀       | 1 týdnů  | Neg.               |          |

|    |             |   |          |      |  |
|----|-------------|---|----------|------|--|
| 14 | 31. 3. 2016 | ♂ | 1 týdnů  | Neg. |  |
| 15 | 31. 3. 2016 | ♀ | 1 týdnů  | Neg. |  |
| 16 | 31. 3. 2016 | ♀ | 1 týdnů  | Neg. |  |
| 17 | 31. 3. 2016 | ♀ | 1 týdnů  | Neg. |  |
| 18 | 31. 3. 2016 | ♀ | 1 týdnů  | Neg. |  |
| 19 | 31. 3. 2016 | ♀ | 1 týdnů  | Neg. |  |
| 20 | 31. 3. 2016 | ♂ | 1 týdnů  | Neg. |  |
| 21 | 31. 3. 2016 | ♂ | 1 týdnů  | Neg. |  |
| 22 | 31. 3. 2016 | ♂ | 3 roky   | Neg. |  |
| 23 | 31. 3. 2016 | ♀ | 2 roky   | Neg. |  |
| 24 | 31. 3. 2016 | ♂ | 2 roky   | Neg. |  |
| 25 | 31. 3. 2016 | ♀ | 1 rok    | Neg. |  |
| 26 | 31. 3. 2016 | ♂ | 2 roky   | Neg. |  |
| 27 | 31. 3. 2016 | ♀ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 28 | 31. 3. 2016 | ♀ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 29 | 31. 3. 2016 | ♂ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 30 | 31. 3. 2016 | ♀ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 31 | 31. 3. 2016 | ♀ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 32 | 31. 3. 2016 | ♂ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 33 | 4. 4. 2016  | ♀ | 2 roky   | Neg. |  |
| 34 | 4. 4. 2016  | ♂ | 1 rok    | Neg. |  |

|    |            |   |         |      |  |
|----|------------|---|---------|------|--|
| 35 | 4. 4. 2016 | ♀ | 1 rok   | Neg. |  |
| 36 | 4. 4. 2016 | ♂ | 1 rok   | Neg. |  |
| 37 | 4. 4. 2016 | ♀ | 3 roky  | Neg. |  |
| 38 | 4. 4. 2016 | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 39 | 4. 4. 2016 | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 40 | 4. 4. 2016 | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 41 | 4. 4. 2016 | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 42 | 4. 4. 2016 | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 43 | 4. 4. 2016 | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 44 | 4. 4. 2016 | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 45 | 4. 4. 2016 | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 46 | 4. 4. 2016 | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 47 | 4. 4. 2016 | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 48 | 4. 4. 2016 | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 49 | 4. 4. 2016 | ♀ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 50 | 4. 4. 2016 | ♂ | 7 týdnů | Neg. |  |
| 51 | 4. 4. 2016 | ♀ | 2 roky  | Neg. |  |
| 52 | 4. 4. 2016 | ♂ | 1 rok   | Neg. |  |
| 53 | 4. 4. 2016 | ♀ | 1 rok   | Neg. |  |
| 54 | 4. 4. 2016 | ♀ | 1 rok   | Neg. |  |
| 55 | 4. 4. 2016 | ♂ | 1 rok   | Neg. |  |

|    |             |   |         |      |  |
|----|-------------|---|---------|------|--|
| 56 | 4. 4. 2016  | ♀ | 2 roky  | Neg. |  |
| 57 | 4. 4. 2016  | ♀ | 2 roky  | Neg. |  |
| 58 | 4. 4. 2016  | ♂ | 5 let   | Neg. |  |
| 59 | 4. 4. 2016  | ♀ | 2 roky  | Neg. |  |
| 60 | 4. 4. 2016  | ♂ | 1 rok   | Neg. |  |
| 61 | 4. 4. 2016  | ♀ | 1 rok   | Neg. |  |
| 62 | 4. 4. 2016  | ♂ | 1 rok   | Neg. |  |
| 63 | 4. 4. 2016  | ♀ | 1 rok   | Neg. |  |
| 64 | 4. 4. 2016  | ♀ | 1 rok   | Neg. |  |
| 65 | 4. 4. 2016  | ♀ | 2 roky  | Neg. |  |
| 66 | 4. 4. 2016  | ♂ | 4 roky  | Neg. |  |
| 67 | 4. 4. 2016  | ♀ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 68 | 4. 4. 2016  | ♂ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 69 | 18. 4. 2016 | ♂ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 70 | 18. 4. 2016 | ♂ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 71 | 18. 4. 2016 | ♀ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 72 | 18. 4. 2016 | ♂ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 73 | 18. 4. 2016 | ♀ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 74 | 18. 4. 2016 | ♂ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 75 | 18. 4. 2016 | ♀ | 5 týdnů | Neg. |  |
| 76 | 18. 4. 2016 | ♀ | 5 týdnů | Neg. |  |

|    |             |   |          |      |  |
|----|-------------|---|----------|------|--|
| 77 | 18. 4. 2016 | ♂ | 5 týdnů  | Neg. |  |
| 78 | 18. 4. 2016 | ♀ | 21 týdnů | Neg. |  |
| 79 | 18. 4. 2016 | ♂ | 21 týdnů | Neg. |  |
| 80 | 18. 4. 2016 | ♀ | 21 týdnů | Neg. |  |
| 81 | 18. 4. 2016 | ♀ | 21 týdnů | Neg. |  |
| 82 | 18. 4. 2016 | ♂ | 21 týdnů | Neg. |  |
| 83 | 18. 4. 2016 | ♀ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 84 | 18. 4. 2016 | ♀ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 85 | 18. 4. 2016 | ♂ | 20 týdnů | Neg. |  |
| 86 | 18. 4. 2016 | ♀ | 1 roky   | Neg. |  |
| 87 | 18. 4. 2016 | ♂ | 1 roky   | Neg. |  |
| 88 | 18. 4. 2016 | ♀ | 1 roky   | Neg. |  |
| 89 | 18. 4. 2016 | ♂ | 3 roky   | Neg. |  |
| 90 | 18. 4. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 91 | 18. 4. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 92 | 18. 4. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 93 | 18. 4. 2016 | ♂ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 94 | 18. 4. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 95 | 18. 4. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 96 | 18. 4. 2016 | ♂ | 8 týdnů  | Neg. |  |
| 97 | 18. 4. 2016 | ♀ | 8 týdnů  | Neg. |  |

|     |             |   |         |      |  |
|-----|-------------|---|---------|------|--|
| 98  | 18. 4. 2016 | ♂ | 8 týdnů | Neg. |  |
| 99  | 18. 4. 2016 | ♀ | 8 týdnů | Neg. |  |
| 100 | 18. 4. 2016 | ♀ | 8 týdnů | Neg. |  |

*Zdroj: Vlastní*

## Příloha č. 6. – TABULKY S VÝSLEDKY - LIDI

### Vysvětlivky:

- Neg. – Negativní
- Pozitiv. – Pozitivní
- Ž- Žena
- M- Muž

| Vyšetření stolice na kryptosporidie u lidí |                 |         |            |                    |          |
|--------------------------------------------|-----------------|---------|------------|--------------------|----------|
| Číslo vzorku                               | Datum vyšetření | pohlaví | Věk (roky) | Výsledek Vyšetření | Poznámka |
| 1                                          | 5. 10. 2015     | Ž       | 1          | Neg.               |          |
| 2                                          | 5. 10. 2015     | Ž       | 2          | Neg.               |          |
| 3                                          | 6. 10. 2015     | M       | 2          | Neg.               |          |
| 4                                          | 6. 10. 2015     | M       | 1          | Neg.               |          |
| 5                                          | 6. 10. 2015     | Ž       | 3          | Neg.               |          |
| 6                                          | 7. 10. 2015     | M       | 4          | Neg.               |          |
| 7                                          | 7. 10. 2015     | Ž       | 4          | Neg.               |          |
| 8                                          | 7. 10. 2015     | Ž       | 4          | Neg.               |          |
| 9                                          | 7. 10. 2015     | Ž       | 7          | Neg.               |          |
| 10                                         | 7. 10. 2015     | M       | 7          | Neg.               |          |
| 11                                         | 7. 10. 2015     | M       | 8          | Neg.               |          |
| 12                                         | 7. 10. 2015     | Ž       | 8          | Neg.               |          |
| 13                                         | 7. 10. 2015     | Ž       | 12         | Neg.               |          |

|    |              |   |    |      |  |
|----|--------------|---|----|------|--|
| 14 | 7. 10. 2015  | M | 1  | Neg. |  |
| 15 | 19. 10. 2015 | M | 5  | Neg. |  |
| 16 | 19. 10. 2015 | Ž | 4  | Neg. |  |
| 17 | 19. 10. 2015 | M | 2  | Neg. |  |
| 18 | 19. 10. 2015 | Ž | 7  | Neg. |  |
| 19 | 19. 10. 2015 | Ž | 2  | Neg. |  |
| 20 | 19. 10. 2015 | M | 2  | Neg. |  |
| 21 | 19. 10. 2015 | M | 2  | Neg. |  |
| 22 | 19. 10. 2015 | Ž | 17 | Neg. |  |
| 23 | 10. 11. 2015 | M | 3  | Neg. |  |
| 24 | 10. 11. 2015 | Ž | 4  | Neg. |  |
| 25 | 10. 11. 2015 | Ž | 1  | Neg. |  |
| 26 | 10. 11. 2015 | Ž | 9  | Neg. |  |
| 27 | 10. 11. 2015 | Ž | 11 | Neg. |  |
| 28 | 10. 11. 2015 | Ž | 60 | Neg. |  |
| 29 | 10. 11. 2015 | M | 2  | Neg. |  |
| 30 | 10. 11. 2015 | M | 3  | Neg. |  |
| 31 | 10. 11. 2015 | Ž | 6  | Neg. |  |
| 32 | 10. 11. 2015 | M | 64 | Neg. |  |
| 33 | 10. 11. 2015 | Ž | 42 | Neg. |  |
| 34 | 10. 11. 2015 | Ž | 23 | Neg. |  |

|    |              |   |    |      |  |
|----|--------------|---|----|------|--|
| 35 | 17. 11. 2015 | Ž | 6  | Neg. |  |
| 36 | 17. 11. 2015 | M | 7  | Neg. |  |
| 37 | 17. 11. 2015 | M | 2  | Neg. |  |
| 38 | 17. 11. 2015 | Ž | 5  | Neg. |  |
| 39 | 17. 11. 2015 | Ž | 1  | Neg. |  |
| 40 | 17. 11. 2015 | M | 1  | Neg. |  |
| 41 | 9. 12. 2015  | M | 1  | Neg. |  |
| 42 | 9. 12. 2015  | Ž | 4  | Neg. |  |
| 43 | 9. 12. 2015  | M | 7  | Neg. |  |
| 44 | 9. 12. 2015  | Ž | 16 | Neg. |  |
| 45 | 9. 12. 2015  | Ž | 2  | Neg. |  |
| 46 | 9. 12. 2015  | Ž | 13 | Neg. |  |
| 47 | 11. 1. 2016  | M | 9  | Neg. |  |
| 48 | 11. 1. 2016  | M | 7  | Neg. |  |
| 49 | 11. 1. 2016  | Ž | 18 | Neg. |  |
| 50 | 11. 1. 2016  | Ž | 2  | Neg. |  |
| 51 | 18. 1. 2016  | M | 1  | Neg. |  |
| 52 | 18. 1. 2016  | M | 3  | Neg. |  |
| 53 | 18. 1. 2016  | Ž | 4  | Neg. |  |
| 54 | 18. 1. 2016  | M | 4  | Neg. |  |
| 55 | 18. 1. 2016  | Ž | 2  | Neg. |  |

|    |             |   |    |      |  |
|----|-------------|---|----|------|--|
| 56 | 18. 1. 2016 | Ž | 3  | Neg. |  |
| 57 | 18. 1. 2016 | M | 1  | Neg. |  |
| 58 | 15. 2. 2016 | M | 9  | Neg. |  |
| 59 | 15. 2. 2016 | Ž | 8  | Neg. |  |
| 60 | 15. 2. 2016 | M | 2  | Neg. |  |
| 61 | 15. 2. 2016 | Ž | 7  | Neg. |  |
| 62 | 15. 2. 2016 | Ž | 39 | Neg. |  |
| 63 | 23. 3. 2016 | M | 50 | Neg. |  |
| 64 | 23. 3. 2016 | Ž | 49 | Neg. |  |
| 65 | 23. 3. 2016 | M | 21 | Neg. |  |
| 66 | 23. 3. 2016 | Ž | 1  | Neg. |  |
| 67 | 23. 3. 2016 | Ž | 6  | Neg. |  |
| 68 | 23. 3. 2016 | M | 62 | Neg. |  |
| 69 | 4. 4. 2016  | M | 49 | Neg. |  |
| 70 | 4. 4. 2016  | Ž | 31 | Neg. |  |
| 71 | 4. 4. 2016  | M | 2  | Neg. |  |
| 72 | 4. 4. 2016  | Ž | 1  | Neg. |  |
| 73 | 4. 4. 2016  | Ž | 3  | Neg. |  |
| 74 | 4. 4. 2016  | Ž | 4  | Neg. |  |
| 75 | 4. 4. 2016  | M | 14 | Neg. |  |
| 76 | 18. 4. 2016 | M | 1  | Neg. |  |

|    |             |   |    |      |  |
|----|-------------|---|----|------|--|
| 77 | 18. 4. 2016 | Ž | 4  | Neg. |  |
| 78 | 18. 4. 2016 | Ž | 13 | Neg. |  |
| 79 | 18. 4. 2016 | Ž | 56 | Neg. |  |
| 80 | 18. 4. 2016 | Ž | 21 | Neg. |  |
| 81 | 18. 4. 2016 | M | 30 | Neg. |  |
| 82 | 18. 4. 2016 | M | 36 | Neg. |  |
| 83 | 18. 4. 2016 | Ž | 1  | Neg. |  |
| 84 | 18. 4. 2016 | M | 2  | Neg. |  |
| 85 | 18. 4. 2016 | M | 4  | Neg. |  |
| 86 | 18. 4. 2016 | Ž | 5  | Neg. |  |
| 87 | 18. 4. 2016 | Ž | 21 | Neg. |  |
| 88 | 18. 4. 2016 | M | 36 | Neg. |  |
| 89 | 18. 4. 2016 | M | 42 | Neg. |  |
| 90 | 18. 4. 2016 | Ž | 60 | Neg. |  |
| 91 | 18. 4. 2016 | Ž | 78 | Neg. |  |
| 92 | 18. 4. 2016 | M | 2  | Neg. |  |
| 93 | 18. 4. 2016 | M | 1  | Neg. |  |
| 94 | 17. 5. 2016 | Ž | 1  | Neg. |  |
| 95 | 17. 5. 2016 | M | 2  | Neg. |  |
| 96 | 17. 5. 2016 | Ž | 3  | Neg. |  |
| 97 | 17. 5. 2016 | Ž | 4  | Neg. |  |

|     |             |   |    |      |  |
|-----|-------------|---|----|------|--|
| 98  | 17. 5. 2016 | M | 6  | Neg. |  |
| 99  | 17. 5. 2016 | M | 7  | Neg. |  |
| 100 | 17. 5. 2016 | Ž | 27 | Neg. |  |

*Zdroj: Vlastní*