

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Jaroslava Radová

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Jaroslava Radová

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví B0914P360004

KOPROLOGICKÉ METODY

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, PhD.

PLZEŇ 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 28. 1. 2023.

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Radová Jaroslava

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Koprologické metody

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, PhD.

Počet stran – číslované: 55

Počet stran – nečíslované: 16

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 21

Klíčová slova: parazit, hostitel, parazitární onemocnění, střevní paraziti, diagnostika, laboratorní diagnostika, endoparazit, helminti, protozoa

Souhrn:

V teoretické části této bakalářské práce se dozvíte základní pojmy ohledně parazitismu a parazitologie. Následně si můžete přečíst popis a stručný postup různých koprologických metod spolu s charakteristikou nejběžnějších střevních parazitů u nás dle SZÚ.

V praktické části jsou pak popsány mnou provedené postupy, které potvrdily účinnost Flotační metody dle Fausta, smysluplnost zařazení tlustého nátěru dle Kato mezi referenční metody a potenciál ne tak často prováděných metod, jako je Füllebornova metoda nebo Sheatherova metoda. Dále, jako vedlejší produkt svého výzkumu, jsou uvedeny ne příliš podrobné informace o četnosti odčervování mazlíčků mezi majiteli zvířat.

Abstract

Surname and name: Radová Jaroslava

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Health

Title of thesis: Coprological methods

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, PhD.

Number of pages – numbered: 55

Number of pages – unnumbered: 16

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 21

Keywords: parasite, host, parasitic disease, intestinal parasites, diagnostics, laboratory diagnostics, endoparasite, helminths, protozoa

Summary:

In the theoretical part of this bachelor thesis you will learn the basic concepts of parasitism and parasitology. Then you can read the description and brief procedure of different coprological methods together with the characteristics of the most common intestinal parasites in our country according to the National Institute of Intestinal Health.

The practical part describes the procedures performed by me, which confirmed the efficiency of the Faust's flotation method, the meaningfulness of including the Kato Thick-Smear Technique among the reference methods and the potential of not so frequently performed methods such as the Fülleborn's method or the Sheather's method. Furthermore, as a by-product of their research, not too detailed information on the frequency of pet deworming among pet owners is provided.

Předmluva

Důvodem výběru tématu mé bakalářské práce je zájem o hlubší vzdělávání se v oblasti parazitologie. Ačkoliv v našich končinách nejsou parazitární nákazy tak časté jako v rozvojových zemích – především díky preventivním opatřením (osobní hygiena, domácí karanténa zavšivených dětí, veterinární prohlídka jatečných zvířat atd.) – jejich laboratorní diagnostika je stále neméně důležitá. Cílem mé práce je ovládnout laboratorní metody zjišťující přítomnost endoparazitů a získat větší přehled o jejich efektivnosti.

Poděkování

Děkuji RNDr. Karlu Fajfrlíkovi, Ph.D. za odborné vedení mé práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále bych chtěla poděkovat FN Plzeň za umožnění vyšetřování, díky němuž jsem získala výsledky pro svoji práci. Ráda bych také poděkovala své kamarádce Evě Slavíkové, jež mi pomáhala s jazykovou korekturou.

OBSAH

TEORETICKÁ ČÁST.....	14
1 VYMEZENÍ ZÁKLADNÍCH POJMŮ.....	15
1.1 Co je to parazit?.....	15
1.2 Obecné vlastnosti parazitů.....	15
1.3 Rozdíl mezi parazitem a predátorem.....	15
1.4 Vývojový cyklus parazitů.....	15
2 PŘEHLED KOPROLOGICKÝCH METOD.....	17
2.1 Preanalytická fáze.....	17
2.1.1 Odběr materiálu.....	17
2.1.2 Uchovávání.....	17
2.2 Analytická fáze.....	18
2.2.1 Přímé mikroskopické vyšetření.....	18
2.2.2 Tlusté roztěry.....	18
2.2.3 Koncentrační metody.....	19
2.2.4 Barvicí metody.....	20
2.2.5 Larvoskopické metody.....	21
2.2.6 Ostatní metody.....	22
2.3 Postanalytická fáze.....	23
3 NEJČASTĚJI DIAGNOSTIKOVANÍ PARAZITÉ KOPROLOGICKÝMI METODAMI U ČLOVĚKA.....	24
3.1 <i>Protozoa</i>	25
3.1.1 Lamblie střevní (<i>Giardia intestinalis</i>).....	26
3.1.2 Měňavka úplavičná (<i>Entamoeba histolytica</i>).....	27
3.1.3 <i>Cryptosporidium parvum</i>	28
3.2 Prvoústí (<i>Protostomia</i>).....	29
3.2.1 Kmen Hlístice (<i>Nematoda</i>).....	30
3.2.2 Kmen Ploštěnci (<i>Platyhelminthes</i>).....	35
PRAKTICKÁ ČÁST.....	38
4 CÍL A ÚKOLY PRÁCE.....	39
4.1 Hlavní cíl.....	39
4.2 Dílčí cíle.....	39
5 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY.....	40
5.1 Zkoumané vzorky.....	40
5.2 Transport a uchovávání vzorků.....	40
5.3 Zpracovávání.....	41
6 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU.....	42

7	METODIKA PRÁCE.....	43
7.1	Základní zpracování vzorků.....	43
7.2	Použité pomůcky a zařízení.....	43
7.3	Postupy laboratorních metod.....	44
7.4	Dotazník.....	46
8	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ.....	47
8.1	Koprologické metody.....	47
8.2	Obrazová dokumentace zachycených nálezů.....	52
8.3	Vyhodnocení dotazníkové části.....	61
9	DISKUZE.....	63
9.1	Prvoci.....	63
9.2	Vajíčka a larvy červů.....	64
9.3	Tlustý nátěr dle Kato.....	64
9.4	Faustova flotační metoda.....	65
9.5	Füllebornova metoda.....	65
9.6	Sheatherova metoda.....	65
9.7	Dotazník.....	65
10	ZÁVĚR.....	67
	Příloha A – Vzorový dotazník.....	71

SEZNAM GRAFŮ

Graf č. 1: Poměr pozitivních a negativních vzorků.....	47
Graf č. 2: Výsledky prvotního zpracování vzorků.....	48
Graf č. 3: Relativní spolehlivost metody tlustého roztěru dle Kato.....	49
Graf č. 4: Relativní spolehlivost Faustovy flotační metody.....	50
Graf č. 5: Výsledky druhotného zpracování vzorků.....	50
Graf č. 6: Majitelé a odčervování.....	61
Graf č. 7: Majitel někdy zaznamenal přítomnost parazita u svého zvířete.....	62

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Vzorek č. 45 při zvětšení 200krát.....	52
Obrázek č. 2: Vzorek č. 24 při zvětšení 200krát.....	53
Obrázek č. 3: Cysty kokcidií – vzorek č. 24 při zvětšení 200krát.....	54
Obrázek č. 4: Menší larva – vzorek č. 16 při zvětšení 200krát.....	55
Obrázek č. 5: Větší larva – vzorek č. 16 při zvětšení 200krát.....	56
Obrázek č. 6: Menší typ vajíček – vzorek č. 51 při zvětšení 200krát.....	57
Obrázek č. 7: Střední vajíčko – vzorek č. 26 při zvětšení 200krát.....	58
Obrázek č. 8: Velké vajíčko s larvou – vzorek č. 24 při zvětšení 200krát.....	59
Obrázek č. 9: Větší vajíčka – vzorek č. 19 při zvětšení 200krát.....	60

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Incidence parazitárních onemocnění v letech 2013 – 2022.....	25
--	----

SEZNAM ZKRATEK

atd.a tak dále

b.r.bez roku

č.....číslo

FN.....Fakultní nemocnice

mm.....milimetr

μm.....mikrometr

např.například

NCBI.....National Center for Biotechnology Information (česky
„Národní centrum pro biotechnologické informace“)

RPS.....Revolutions Per Minute (česky „otáčky za minutu“)

sp.species (česky „druh“)

SZÚ.....Státní zdravotní ústav

zn.....značka/značky

ÚVOD

Koprologické metody se využívají k diagnostice většiny střevních parazitů (popřípadě i jiných endoparazitů trávicího traktu – např. motolice) ze vzorku trusu. Stejně jako při diagnostice ektoparazitů (vši, blechy, svrab a podobně), odečítáme výsledky v mikroskopu, jedná se asi o nejrychlejší a nejlevnější vyšetřovací metody.

Přestože mají parazitologické metody větší využití ve veterinární medicíně, jejich metodologie se odlišuje jen minimálně od té humánní (použití různých flotačních roztoků); liší se pouze parazité nebo jejich části, které nalezneme u jednotlivých živočišných druhů. Tato práce by snad mohla přinést nové poznatky pro obě tato odvětví medicíny.

V teoretické části bych se ráda věnovala základním lidským endoparazitům, jejichž infestaci můžeme odhalit pomocí vyšetření trusu. Dále pak transportu, uchovávání a zpracování samotného vyšetřovaného materiálu.

Praktická část této práce by se potom měla soustředit na efektivnost a správné provedení koprologických metod. Ráda bych vyzkoumala výhody a nevýhody tradičních i ne tak často používaných metod. Chci si rozšířit své znalosti v oblasti parazitologie a získat lepší přehled o aktuální situaci ohledně výskytu parazitárních agens v České republice.

TEORETICKÁ ČÁST

1 VYMEZENÍ ZÁKLADNÍCH POJMŮ

1.1 Co je to parazit?

„Parazit je organismus získávající živiny z jednoho či několika málo hostitelů, kterým obvykle škodí, ale nemusí je zabít.“

(Petr Wolf, 2007)¹

1.2 Obecné vlastnosti parazitů

Cizopasníci bývají velmi dokonale přizpůsobeni svému způsobu života. Parazity lze nalézt jak v rostlinné, tak v živočišné říši. Můžeme je také rozdělit na „zooparazity“, již parazitují na živočiších, a „fytoparazity“, kteří parazitují na rostlinách. Není však pravidlem, že na rostlinách parazitují pouze rostliny – např. mšice se totiž živí parazitickým sáním rostlinných šťáv. Cizopasníci rostlin však nejsou cílem našeho zkoumání. (10)

Parazité živočichů se dělí dle místa, kde žijí, na ektoparazity (vyskytující se na povrchu hostitelského organismu) a endoparazity (cizopasíci uvnitř organismu). Koprologické metody diagnostikují výhradně endoparazity ze zažívacího traktu a některých okolních orgánů. (10)

1.3 Rozdíl mezi parazitem a predátorem

Mohla by vás napadnout určitá podobnost mezi parazitem a predátorem – oba dva získávají živiny z jiného organismu. Parazité však v průběhu svého života využijí pouze jednoho hostitele nebo jen jednoho hostitele během každé vývojové fáze. Predátoři svým využíváním kořist zpravidla zabíjejí. Zvláštním poddruhem parazitů jsou pak parazitoidi, kteří podobně jako predátoři svého hostitele taktéž zabijí, je to totiž nezbytnou součástí jejich vývojového cyklu. (20)

1.4 Vývojový cyklus parazitů

Pokud parazit dokončí celý svůj vývoj v jednom hostiteli, hovoříme o cizopasníkovi s přímým životním cyklem. Potřebuje-li však několik různých hostitelů, jedná se o životní cyklus nepřímý. Pak tedy máme dva typy hostitelů – mezihostitele

¹ VOLF, Petr a Petr HORÁK. *Paraziti a jejich biologie*. Praha: Triton, 2007. ISBN isbn978-80-7387-008-9.

(hostitele živícího mezistádia) a definitivního hostitele (ve kterém dochází k pohlavnímu zrání parazita). (11)

2 PŘEHLED KOPROLOGICKÝCH METOD

Etymologický původ koprologických metod pochází z latinského slova „*copros*“, jež znamená „hnůj“ nebo také „výkal“. Pro tento druh vyšetření je tedy odebíraným materiálem trus od zvířat nebo stolice od lidí. Tyto metody používají výhradně přímý průkaz parazita, tzn. vyšetřují přítomnost vajíček/larev ve výkalu. Specializují-li se na diagnostiku jednoho či druhého, nazýváme je buď ovoskopické (detekující vajíčka), anebo larvoskopické (nalézající larvy). (3)

2.1 Preanalytická fáze

2.1.1 Odběr materiálu

Vzorek trusu je vhodné vložit do nádoby se širším hrdlem. Doporučovaná hmotnost vzorku je 1 g (cca velikost vlašského ořechu). (19)

Před odběrem stolice by se neměly podávat látky jako barium, vizmut, minerální oleje, antibiotika a antiparazitika – tyto látky mají toxický účinek pro parazity, a i když je nemusí přímo zabít, mohou ovlivnit vylučování jejich vajíček do stolice. (19)

Pro větší pravděpodobnost záchytu parazita nebo i zachycení širšího spektra parazitů se doporučuje sběr trusu v rozmezí 2–3 dnů, neboť vajíčka parazitů neustále, ale nepravidelně v různých cyklech. Při vyšetřování člověka je nutné dle metodiky odebrat 3 vzorky, které sbíráme obden. (19)

2.1.2 Uchovávání

Materiál vyšetřujeme co nejdříve po odběru. Krátkodobě můžeme ponechat při pokojové teplotě (jednu část vzorku) a zpracujeme do 2 hodin (diagnostika trofozoitů a améb); další část vzorku ponecháme v lednici (maximálně po dobu 48 hodin). Trus lze také fixovat, a to v desetiprocentním roztoku formaldehydu. (19)

2.2 Analytická fáze

2.2.1 Přímé mikroskopické vyšetření

2.2.1.1 *Nativní preparát*

Nativním preparátem nazýváme naředění malého vzorku stolice (velikost ječného zrna) s fyziologickým roztokem. Kapku poté přiklopíme krycím sklíčkem a pozorujeme při zvětšení 200–400krát. (21)

Po prohlédnutí preparátu jej lze obarvit kapkou Lugolova roztoku k probarvení jader améb a vakuol jodaméb. (21)

Pro identifikaci parazitů pozorujeme preparát při zvětšení 1000krát, takto lze však prohlížet pouze fixované preparáty. V případě nejistoty porovnáváme nalezené útvary s obrázky v parazitologických atlasech. Pro dourčení cyst prvoků používáme v humánní medicíně ještě barvený preparát. (21)

Stejným způsobem lze připravit i preparát z rektálního stěru – tato metoda je vhodná k záchytu vajíček roupa dětského. (16)

2.2.2 Tlusté roztěry

2.2.2.1 *Tlustý nátěr dle Kato*

Tato metoda patří mezi základní a nejčastěji užívané koprologické metody. V mé bakalářské práci plnila kontrolní funkci. (4)

Při této metodě rovněž roztíráme trus, nyní však naředěný. Vzorek rozetřený na čtvercové ploše o výměře 4 cm² překryjeme celofánem namočeným v malachitové zeleni a glycerinu, roztlačíme gumovou zátkou a necháme hodinu stát při pokojové teplotě nebo 20–30 minut při 34–40 °C v termostatu² – tímto postupem dojde k projasnění stěn vajíček a cyst (lepšímu zviditelnění pozorovaných objektů). Preparát prohlížíme při zvětšení 200–400krát. (4) (21)

Příprava celofánových pásek:

Celofán nastříháme na obdélníky o rozměru 30 × 18 mm. Vložíme je do roztoku malachitové zeleně (1,2 ml 3% malachitové zeleně + 100 ml 6% fenolu + 100 ml glycerinu). (4)

2 V praxi se tohoto procesu však příliš nevyužívá.

2.2.2.2 Tlustý roztěr dle Heina

Tato variace tlustého roztěru nevyužívá žádné barvení. Stolice se smísí s vodou v určitém poměru (1 díl vody a 3 díly stolice). Takováto směs se rozetře na podložní skličko a nechá se zaschnout. Před prohlížením se přidá parafinový olej a pozorujeme při zvětšení 1000krát.³ (16)

Oproti nátěru dle Kato dochází při této metodě častěji k deformaci vajíček parazitů a tenkostěnná vejce nejsou tak dobře rozpoznatelná, proto se tato metoda používá podstatně méně. (16)

2.2.3 Koncentrační metody

Koncentrační metody jsou takové metody, které koncentrují vajíčka v materiálu do určitého omezeného prostoru (dno či hladina) a umožňují tak větší šanci zachytu vajíček při jejich nižší koncentraci ve vzorku.

Princip těchto metod spočívá v odlišné hustotě vajíček a flotačního/sedimentačního roztoku. Podle toho, zdali je hustota vajíčka větší či menší než onen roztok, vajíčko vyplave na hladinu (flotační metody – z angl. *float* = plout, vznášet se, plavit), anebo klesne ke dnu (sedimentační metody – z lat. *sedimentum* = usazení, potopení, klesnutí). (1)

2.2.3.1 Faustova flotační metoda

Prvním krokem je rozmíchání 1 g trusu s 10 ml vody, směs následně zcentrifugujeme a slijeme supernatant – tento proces má za cíl homogenizaci vody s trusem a následné usazení vajíček na dno zkumavky i s jiným usazeninami. Tímto jsou z roztoku eliminovány částice se specifickou hmotností větší, než má voda. Dalším krokem je přidání samotného flotačního roztoku a opětovné promíchání. Tato metoda využívá jako flotační roztok 33% roztok síranu zinečnatého. Následně opětovně stočíme v centrifuze, na zkumavku položíme krycí skličko tak, aby se dotýkalo hladiny. Po asi 20minutovém stání sejmeme skličko pinzetou, položíme na podložní skličko a prohlížíme pod mikroskopem při 200–400násobném zvětšení. (21)

2.2.3.2 Sedimentace

Stejně jako neexistuje jen jedna flotační metoda⁴ (Faustova flotační metoda), neexistuje jen jedna sedimentační metoda. Ačkoliv lze sedimentovat pomocí obyčejné

3 Obvykle se preparáty pozorují při maximálním zvětšení 400násobném. Tato metoda se v praxi prohlíží při zvětšení 60-100krát. Díky zaschnutí se však preparát chová podobně jako krevní nátěr a je možno jej prohlížet i při 1000násobném zvětšení.

vody, časté bývá použití jiných flotačních roztoků (Telemanova metoda = HCl + dimethyléter; formalínová metoda = formalín + éter; metoda MIFC = merthiolátová tinktura + glycerol + Lugolův roztok + formalín + éter). Nejčastěji bývá používán éter, který rozpouští tuky a žlučová barviva. Pomocí HCl můžeme rozpustit bílkoviny, hleny a anorganické soli. Dle anamnézy volíme vhodnou sedimentační metodu – formol-éterová je např. vhodná u lidí, kteří strávili nějaký čas v tropech a subtropích, pro diagnostiku cyst prvoků a vajíček helmintů. (6) (13)

2.2.4 Barvicí metody

2.2.4.1 Barvení trichromem dle Gomoriho

Tato metoda pomáhá určit cysty a trofozoity prvoků nalezené předchozími metodami. (6)

Postup:

Špejlí rozetřený trus ihned fixujeme sublimát-alkoholem na 1 hodinu až 1 den. (21)

Sklo se vzorkem postupně máčíme v kyvetách s 75% ethanolem (zde necháme 10 minut), s trichromem (ponecháme 1 hodinu a 50 minut), opláchneme pod tekoucí vodou, poté opláchneme 96% ethanolem a vkládáme do kyvet s 96% ethanolem (opět necháme stát 10 minut), s karbol-xylenem (1 hodinu a 50 minut) a s xylenem (10 minut). (21)

Je velice důležité, aby během procesu barvení vzorek nevyschnul! (21)

Preparát montujeme do solakrylu pro dlouhodobé uchování – na vlhký preparát se kápne kapka solakrylu, překryje se krycím sklíčkem a nechá se zaschnout. (21)

Prohlížíme při 1000násobném zvětšení s použitím imerzního oleje. (21)

2.2.4.2 Barvení Heidenhainovým hematoxylinem

„Heidenhainův železitý hematoxylin barví nejen jádra, ale i cytoplasmu šedočerně. Používá se pro barvení svalů a v parazitologii na průkaz parazitů (červů) v tkáních.“

(Vítězslav Bárta, 2023)⁵

4 Mezi jiné metody patří například Sheatherova metoda, používající roztok sacharózy o hustotě 1,15 g/cm³, nebo Füllebornova metoda s roztokem soli s hustotou 1,22 g/cm³, nebo metoda Kozák-Mágrová (KOMA) kombinující roztok MgSO₄, ZnSO₄ a glycerínu (1,274 g/cm³), nebo neposlední v řadě Brezova metoda s roztokem Mg SO₄ + Na₂S₂O₃ (1,292 g/cm³). (13)

Konkrétně se tato metoda v parazitologii používá na barvení prvoků a buněčných struktur, průkaz červů, členovců a hostitelských tkání.

Postup:

Celému procesu barvení předchází fixace sublimát-alkoholem po dobu 1 hodiny. (21)

Následně vložíme preparát do kyvety se 70–80% ethanolem (na 5 minut). (21)

Po vyjmutí jej opláchneme destilovanou vodou a přesuneme ho do molybdenanu amonného (zde ponecháme 10 minut). (21)

Před vložením do samotného hematoxilinu (10–20 minut) opět opláchneme destilovanou vodou. (21)

Následuje odvodnění preparátu – oplach přebytečného barviva destilovanou vodou, 70–90% alkoholem (10minutové stání), karbol-xylenem (1 hodinu a 50 minut) a konečně xylenem (na posledních 10 minut). (21)

Na závěr montujeme do solakrylu nebo do kanadského balzámu a pozorujeme při zvětšení 1000krát. (21)

2.2.5 Larvoskopické metody

Většina larvoskopických metod využívá schopnosti aktivního pohybu u larev, které se přesouvají za lepšími podmínkami do námi požadovaného místa, kde je pak můžeme pozorovat. Z toho důvodu je použitelný pouze trus, který nebyl chemicky fixován. (18)

2.2.5.1 Vajdova metoda

Tato metoda je jednodušší a rychlejší než Baermannova metoda, spolehlivé výsledky však získáme pouze při výraznější infekci. Při této metodě se vyšetřovaný trus obalí gázou nebo vloží do sítka a položí se na hodinové sklíčko/Petriho misku nebo podložní sklíčko. Výkal pokapeme teplou vodou (asi 40 °C) a necháme 15–60 minut stát. Parazitární larvy by se měly zaktivovat vlivem tepla a migrovat do teplého vodního prostředí. Po odebrání trusu tedy pod mikroskopem prohlížíme vodu. (16) (18)

2.2.5.2 Baermannova metoda

I v tomto případě výkal zabalíme do gázy nebo vložíme do sítka. Samotný trus však nevložíme do nějaké misky, ale do nálevky, na kterou je dále napojena hadička s ventilem.

5 **BÁRTA, Vítězslav**, 2023. *Metody v histologii*. In: [online]. <https://slideplayer.cz/>. [vid. 2023-03-10]. Dostupné z: <https://slideplayer.cz/slide/3358056/>

Vzorek zalijeme vodou (opět o teplotě cca 40 °C) asi do poloviny a necháme stát při pokojové teplotě (ideální 25 °C) po dobu 8–20 hodin. Larvy opět opouštějí trus a usazují se nad ventilem. Povoláním ventilu vypustíme vodu přímo ze dna s největší koncentrací parazitárních larev, tu pak opět pozorujeme pod mikroskopem. Obvyklá velikost larev je okolo 300 µm. (16) (18)

2.2.6 Ostatní metody

2.2.6.1 Vyšetření perianálních otisků

Toto vyšetření nevyžaduje přímo trus, ale patří mezi vyšetření střevních parazitů u člověka. Indikace vyšetření je při podezření na infekci roupem dětským (latinsky *Enterobius vermicularis*), jehož samičky během spánku dítěte/dospělého vylézají a kladou vajíčka okolo řitního otvoru.

Lepicí páska se přitiskne na anální řasy. Poté se páska nalepí na podložní skličko a dopraví do laboratoře, kde je prohlédnuta pod mikroskopem při 100násobném zvětšení. (21)

Pro správnou efektivnost a šanci záchytu by si pacient 8–12 hodin před vyšetřením neměl omývat anální oblast. (6)

2.2.6.2 McMasterova kvantifikační metoda

Jak již název vypovídá, tato metoda jako jedna z mála je schopna objektivně kvantifikovat parazitární zamoření. Navazuje na flotační metodu, kdy se z 1 g trusu pomocí McMasterovy komůrky počítá množství vývojových stádií na onen jeden gram. (14)

2.2.6.3 Dekantace

Jedná se o způsob pročištění vzorku pro lepší orientaci v nativním preparátu, ale i při jiných metodách. Trus se resuspenduje ve vodě a nechá se opakovaně přefiltrovat přes gázu, cedník nebo jiný síťovaný materiál. Velké nečistoty a nestrávené zbytky se uchytí v sítu, přičemž parazitární útvary klesnou ke dnu. Proces usazování lze urychlit pomocí centrifugy. (4)

2.3 Postanalytická fáze

Výsledek je obvykle odeslán ihned po ukončení vyšetření. Odebraný materiál je uchováván do ukončení vyšetření (za podmínek dle typu vzorku a druhu původně požadovaného vyšetření). Po ukončení a odeslání výsledku je zlikvidován. V indikovaných případech je materiál uchováván podle potřeby.

3 NEJČASTĚJI DIAGNOSTIKOVANÍ PARAZITÉ KOPROLOGICKÝMI METODAMI U ČLOVĚKA

Dle údajů Státního zdravotního ústavu je nejčastější parazitární nákazou v ČR infekce roupem dětským, dále pak infekce kokcií kočičí (latinsky *Toxoplasma gondii*). Pouze u těchto dvou parazitů dosahuje roční počet případů řádů stovek, jinak mluvíme pouze o desítkách až jednotkách případů. Proto v následujících odstavcích budu psát pouze o těch, kteří jsou v našich krajinách alespoň trochu relevantní (SZÚ považoval za vhodné je zmínit ve svých statistikách – viz tabulka na další stránce) a které lze u člověka diagnostikovat pomocí koprologických metod.

Tabulka č. 1: Incidence parazitárních onemocnění v letech 2013 – 2022

Incidence v roce (na 100 tis. obyvatel)	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	Průměrná incidence
Prvoci											
Toxoplazmóza	1,5	1,4	1,6	1,4	1,0	1,0	1,0	0,8	1,0	0,7	1,140
Giardióza	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	0,5	0,2	0,1	0,2	0,320
Trichomoníáza	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,2	0,3	0,4	0,310
Malárie	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,1	0,1	0,3	0,270
Amébóza	0,1	0,2	0,1	0,2	>0,0	>0,0	0,1	>0,0	>0,0	0,1	0,080
Jiná protozoární střevní onemocnění	0,1	0,1	>0,0	>0,0	>0,0	>0,0	0,3	0,1	>0,0	0,1	0,070
Kryptosporidióza	>0,0	>0,0	>0,0	>0,0	>0,0	0,1	0,1	>0,0	>0,0	0,1	0,030
Leishmanióza	>0,0	0,0	>0,0	>0,0	>0,0	0,0	>0,0	0,0	>0,0	>0,0	0,000
Prvoústí											
Enterobiasis	4,9	6,9	7,3	9,6	8,9	10,2	11,0	7,8	7,4	9,1	8,310
Askarióza	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	>0,0	0,1	0,160
Schistosomóza	0,0	>0,0	0,1	>0,0	0,0	0,6	>0,0	0,1	0,0	>0,0	0,080
Tenióza	0,3	0,2	0,1	>0,0	0,1	0,1	>0,0	>0,0	>0,0	>0,0	0,080
Jiné helmintózy	0,1	0,1	>0,0	0,1	>0,0	0,1	>0,0	>0,0	>0,0	>0,0	0,040
Echinokokóza	>0,0	0,1	>0,0	>0,0	>0,0	0,1	>0,0	>0,0	>0,0	0,1	0,030
Onemocnění měchovci	>0,0	>0,0	>0,0	>0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	>0,0	0,020
Hymenolepiasis (Hymenol. nana)	0,0	0,0	0,0	>0,0	>0,0	>0,0	>0,0	>0,0	0,0	0,0	0,000
Strongyloidóza střevní	>0,0	>0,0	0,0	0,0	>0,0	>0,0	>0,0	0,0	0,0	0,0	0,000
Trichinóza	0,0	>0,0	0,0	>0,0	0,0	>0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,000
Trichuriasis	>0,0	>0,0	>0,0	0,0	>0,0	0,0	>0,0	0,0	0,0	0,0	0,000

Zdroj: Infekce v ČR - ISIN (dříve EPIDAT). SZÚ | *Oficiální web Státního zdravotního ústavu v Praze* - <https://szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr/> (2)

3.1 Protozoa

Protozoa, neboli prvoci, jsou jednobuněčné organismy, jejichž buňka obsahuje pravé jádro. Mimo jiné mají i druhově specifické orgány, které umožňují vlastní metabolismus (mitochondrie, Golgiho aparát, endoplazmatické retikulum atd.), slouží jako cytoskelet a plní funkci vlastního pohybového aparátu (bičíky, brvy, panožky) – v důsledku toho jsou uzpůsobeny pro intracelulární/extracelulární způsob života. Zajímavostí je, že kromě pohlavního dělení jsou schopni i dělení nepohlavního. Jejich velikost se pohybuje nejčastěji v rozmezí 1–150 µm, mohou však dosahovat až makroskopických velikostí. K nákaze dochází fekálně-orální cestou, pohlavním stykem,

aspirací nebo pomocí vektoru (např. komár rodu *Anopheles* přenáší ve svých slinách prvoka rodu *Plasmodium*). (6) (11) (12) (15)

3.1.1 Lamblie střevní (*Giardia intestinalis*)

Onemocnění:

Giardióza je onemocnění způsobené lamblíí střevní, která je jednou z nejčastějších příčin tzv. „cestovatelských průjmů“. Má dvě formy: akutní (trvá obvykle 7–10 dnů) a chronickou (dlouhotrvající průjmy, stolice má mastný vzhled, odporně zapáchá; dále je tato forma doprovázená pocitem slabosti, ztrátou váhy, břišními křečemi a nutkáním ke zvracení). (7)

Obecná charakteristika:

Lamblie je nazývána takzvaným „kobercovým parazitem“, a to pro její adhezi k lemu epiteliálních buněk, kde může pokrývat rozsáhlé oblasti. Jedná se o jednohostitelského parazita. Jeho trofozoiti mají dvě jádra a čtyři páry bičků (dosahují velikosti 10–20 × 6–16 μm), živí se pinocytózou a pomocí přísavného disku se pevně přichycují na povrch enterocytů v tenkém střevě (respektive v oblasti dvanáctníku a lačnicku). Cysty lamblie, jež pak můžeme nalézt v trusu, jsou velké 8–12 × 7–10 μm. (11)

Životní cyklus:

Po požití infekčních cyst se při pasáži žaludkem uvolňují excyzoiti, kteří se rychle transformují v trofozoity a dále se šíří do dvanáctníku a lačnicku (v případě silných infekcí i do žlučových cest a žlučnicku). Tam se trofozoiti intenzivně dělí binárním dělením, posléze tvoří cysty, které jsou vylučovány se stolicí do vnějšího prostředí. (11)

Přenos:

Nákaza probíhá kontaminovanou vodou a potravou a jsou i případy, kdy byla předána pomocí nechráněného análního styku. (11)

Epidemiologie:

Giardia se vyskytuje po celém světě. (7)

Laboratorní diagnostika:

Je prováděna pomocí klasického vyšetření stolice koprologickými metodami, průkazem antigenu, metodou ELISA či stanovením PCR. (11)

3.1.2 Měňavka úplavičná (*Entamoeba histolytica*)

Onemocnění:

Parazitózy způsobené měňavkou úplavičnou mají mnoho názvů – (protozoární) úplavice, amébová dyzenterie a extraintestinální forma tvoří „amébový absces“. Projevy mohou být jak mírné průjmy, tak těžká dyzeterie (hlen a krev ve stolici, dále v ní bývá častý výskyt eozinofilů a Cardot-Leydenových krystalů). V nejzávažnějších případech může dojít až k perforaci střeva, následné extraintestinální invazi a peritonitidě. (7)

Obecná charakteristika:

Tento parazit má jak patogenní, tak nepatogenní formu. (11)

Nepatogenní forma (*forma minuta*) měří 10–20 μm v průměru; tvoří cysty, které jsou zpočátku jednojaderné, během jejich vývoje však dojde k rozdělení jádra (mimo jiné zmizí i chromidiální tělíska a vakuola). Konečné stadium obsahuje 4 jádra a živí se bakteriemi. (11)

Patogenní forma (*forma magna, forma dysenterica*) je větší než forma nepatogenní (v průměru dosahuje velikosti 20–40 μm). Tato forma se živí červenými krvinkami a produkuje proteolytické enzymy, vniká nejen do střevní sliznice, ale následně i do dalších orgánů. Množí se dělením ve dvě zralé cysty. (11)

Životní cyklus:

K nákaze dochází cystami nepatogenní *Entamoeba histolytica f. minuta*. Tato forma se za určitých okolností (změna bakteriální flóry, změna redoxního potenciálu apod.) může změnit ve větší, patogenní formu. (11)

Přenos:

Jako u předchozího prvoka i v tomto případě dochází k infekci kontaminovanou vodou, potravou a vzácně i análním sexuálním stykem. (11)

Epidemiologie:

Měňavka úplavičná se běžně vyskytuje v tropických a subtropických oblastech (prevalence tohoto onemocnění v těchto místech dosahuje až 50 %). Můžeme ji však nalézt po celém světě. (11)

Laboratorní diagnostika:

Pro diagnostiku tohoto parazita používáme jak koprologické metody, tak je možná i kultivace, nebo při podezření na extraintestinální formu použití metod sérologických (nepřímá hemaglutinace, nepřímá imunofluorescence nebo ELISA). Morfologicky totožný je nepatogenní druh *E. dispar*, který lze odlišit od patogenní *E. histolytica* pomocí PCR nebo imunologických testů. (11)

3.1.3 *Cryptosporidium parvum*

Onemocnění:

Kryptosporidíóza se projevuje mírnými až závažnými průjmy trvajících 15–40 dnů. Rozdílný průběh je u imunokompetentních a imunosuprimovaných pacientů. (7)

Obecná charakteristika:

Cryptosporidium parvum je jednohostitelský parazit drobné velikosti. Tvoří oocysty (3–7 µm v průměru), ty obsahují čtyři sporozoity. Tento prvok cizopasí v zóně mikroklů epitelu trávicího traktu (zejména spodní část tenkého střeva a tlustého střeva). (11)

Životní cyklus:

Po infekci oocystami se sporozoiti uvolní a jejich následný vývoj probíhá v růstové komůrce (parazitoformní vakuole), která je tvořena výběžky hostitelské buňky, jež obrůstají invadujícího parazita (zoita). Tento vakuolární útvar vyčnívá do dutiny napadeného orgánu. Následně probíhá množení (merogonie). Další vývojové stádium je vznik mikro- a makrogamontu – ty spolu kopulují a vzniká zygota, z níž se pak vyvine oocysta. Oocysty mají dva typy: tenkostěnné (ty excystují již v infikovaném hostiteli → autoinfekce) a tlustostěnné (tyto cysty jsou velmi odolné vůči vlivům vnějšího prostředí a jsou tedy vhodné pro mezihostitelský přenos). (11)

Přenos:

Nakazit se opět můžeme kontaminovanými potravinami a vodou. (7)

Epidemiologie:

Tento parazit je kosmopolitně rozšířen. (7)

Laboratorní diagnostika:

Pro diagnostiku těchto prvoků se používají koncentrační metody s následným barvením Ziehl-Neelsena, nebo dle Miláčka, dále pak přímá imunofluorescence nebo detekce antigenu pomocí metody ELISA či PCR. (11)

3.2 Prvoústí (*Protostomia*)

Pododdělení prvoústí, taktéž známí jako helminti, jsou mnohobuněčné organismy, které prodělávají část svého vývoje v obratlovci. Tento vývoj bývá složitý – může probíhat v jednom, ale i v několika hostitelích. Dle způsobu přenosu na člověka je můžeme rozdělit na alimentární (příjem vajíček skrze ústa hostitele), perkutánní (aktivní průnik larev helmintů kůží, nebo také hmyzem), transplacentární (nákaza skrze placentu) a konečně přenosné transplantací (kdy je infikován přímo dárcovský orgán). A v rámci tohoto procesu člověk může zaujímat pozici definitivního hostitele (dospělí jedinci sídlí ve střevě, žlučovodech, plicích apod.), anebo pouhého mezihostitele (larvální stádia se vyvíjejí v různých orgánech). (11)

Dříve se dělili na tři skupiny: na ploštěnce (*Plathelminthes* – zploštělí na průřezu), oblovce (*Nemathelminthes* – nečlánkované tělo oblovitého tvaru) a konečně vrtejše (*Acantocephala*). Nynější taxonomie už tak jednoduchá není. NCBI rozděluje pododdělení prvoústé na dvě skupiny, *Ecdysozoa* a *Spiralia*, přičemž má i skupinu "nezařazeno". Rozdělení na oblé a ploché červy se však v hovorové řeči zachovává dodnes. (7) (17)

Stále však zůstává rozdělení na geohelmintry a biohelmintry. Geohelminti část svého vývoje dokončují v půdě, zatímco biohelminti celý svůj vývoj prodělávají vždy v živém organismu (nemusí však nutně jít jen o jednoho hostitele). Někteří helminti mají dokonce schopnost rozmnožování již během larválního vývoje. (15)

Jako paraziti poškozují svého hostitele jak mechanicky (prostupem různých háčků, chobotků a výstupků do tkání hostitele, tlakem na okolní tkáň, snižováním průchodnosti střeva atd.), tak i chemicky (ochuzování hostitele o živiny, produkování zplodin, které působí toxicky na tělo hostitele). Následkem toho může mít parazit širokosáhlé účinky na život hostitele. (15)

3.2.1 Kmen Hlístice (*Nematoda*)

3.2.1.1 Roup dětský (*Enterobius vermicularis*)

Onemocnění:

Enterobióza se projevuje iritací oblasti análního otvoru (může způsobit občasnou nespavost), mohou se objevit i dětské vaginální výtoky a vzácně apendicitis nebo napadení urogenitálního traktu žen. (7)

Obecná charakteristika:

Roupi jsou malé hlístice (samice dorůstají velikosti $8-13 \times 0,3-0,5$ mm, samci jsou o něco menší a dosahují pouze $3-6 \times 0,2$ mm). Tito parazité jsou vybaveni typickými postranními křídélky. (11)

Jejich vajíčka mají bezbarvou tlustou membránu a velikostně se pohybují mezi $30-60 \times 20-35$ μm . (11)

Životní cyklus:

Na počátku svého života roupi žijí v tenkém střevě, posléze však oplodněné samičky migrují do střeva tlustého a vylézají z konečníku, kde do perianálních řas kladou vajíčka. Ta se rychle vyvíjejí ve vajíčka infekční (při teplotě 37°C a při dostatečné vlhkosti a přístupu kyslíku je vývoj ukončen během 6 hodin). (11)

Přenos:

K infekci člověka dochází pozřením infekčních vajíček (ze špinavých rukou nebo znečištěnou potravou). Možná je i autoinfekce. Zajímavostí je, že díky velké lehkosti mohou být vajíčka přenášena také prouděním vzduchu. (7)

Epidemiologie:

Roupi se vyskytují kosmopolitně po celém světě. U nás je běžný výskyt především v dětských kolektivech. (11)

Laboratorní diagnostika:

Pro diagnostiku roupů se používá průkaz vajíček v oblasti řas análního otvoru (buď pomocí Shüffnerovy tyčinky, nebo použitím lepící pásky), nalezení červů ve stolici nebo v anální oblasti. (11)

3.2.1.2 Škrkavka dětská (*Ascaris lumricoides*)

Onemocnění:

Název parazitární infekce způsobené škrkavkou je askaridóza. Příznaky jsou široké – červi migrují tělem (mladší vývojová stádia) nebo setrvávají ve střevě (dospělí jedinci). Tomu pak odpovídají i projevy parazitózy: lehké horečky, kašel, tvorba plicních infiltrátů, výskyt krve ve sputu, bolest za hrudní kostí, eozinofilie. Migrující larvy mohou způsobit také různé obtíže mimo orgány obvyklého vývoje – mohou zabloudit. Dospělí červi pak při silnějších infekcích mají snahu pronikat do vývodů žlučovodu, pankreatu nebo slepého střeva (následuje cholangitida, cholecystitida, výskyt pyogenních jaterních abscesů, pankreatitida, apendicitida apod.). V nejzávažnějších případech dojde k obstrukci střeva, průniku červů střevní stěnou a k peritonitidě. (11)

Obecná charakteristika:

Samice obvykle dosahují velikosti 10–40 cm × 3–6 mm, samci bývají o něco menší (10–20 cm × 2–4 mm). (11)

Škrkavky parazitují v tenkém střevě člověka a lidoopů. Pro tento způsob života jsou uzpůsobeny ústním otvorem, jenž je lemován ozubenými pysky; na zadním konci těla jsou pak kutikulární křídélka vyztužená papilami. (11)

Životní cyklus:

Po konzumaci zralých vajíček se v tenkém střevě uvolní larvy, které penetrují stěnu tenkého střeva a následně putují portálním řečištěm do jater. Odtud se pak přes pravou polovinu srdce dostávají do plic. Zde zhruba po 10 dnech růstu vnikají do dýchacích cest, odkud se dostávají zpět do ústní dutiny, kde jsou spolknuty. Svůj cyklus dokončují opět ve střevě, kde dospívají. (11)

Během své migrace se larvy několikrát svlékají. Celý tento proces trvá 50–60 dní od prvotní infekce. Oplozené samičky pak kladou 200 tisíc vajíček za den. Ve stolici se nacházejí jak oplozená vajíčka (velikost 80–90 × 50 μm), tak vajíčka neoplozená (45–75 × 35–50 μm). Ta oplozená za optimálních podmínek dozrají za 2–3 týdny (za ideální teploty a při ideální vlhkosti). (11)

Přenos:

K nákaze dochází kontaminovanou potravou a vodou. Vajíčka jsou totiž infekční po dobu několika měsíců. (7)

Epidemiologie:

Tito parazité se vyskytují především v tropech a subtropích, jejich rozšíření je však kosmopolitní. Za zmínku stojí druh *Ascaris suum*, což je druh parazitující u zvířat, zároveň je však přenosný na člověka. (7)

Laboratorní diagnostika:

Přítomnost škrkavky prokazujeme mikroskopickým nálezem vajíček ve stolici. (11)

3.2.1.3 Řád⁶ Měchovci (*Strongylida*)

Onemocnění:

Infekce způsobená měchovci se nazývá ankylostomóza (podle původce *Ancylostoma duodenale*) anebo nekatoróza (dle *Necator americanus*). (7)

Obecná charakteristika:

Samice těchto druhů dorůstají 10–13 × 1 mm, samci jsou opět menšího vzrůstu než samice (8–11 × 0,4–0,6 mm). Tito parazité žijí v tenkém střevě teplokrevných savců a v důsledku adaptace na toto prostředí mají mohutnou ústní kapsulu vyzbrojenou zuby či ostrými lištami, které slouží k přichycení se na stěnu střeva a k rozrušení krevních kapilár, ze kterých posléze sají krev. (11)

Vajíčka měchovců dosahují rozměrů 60–80 × 40 μm. (11)

Životní cyklus:

Ve vnějším prostředí se z vajíček rychle líhnou larvy (660–800 × 25 μm), které aktivně vyhledávají lidskou kůži a vnikají do ní. To je jim umožněno pomocí histolytických enzymů. Poté se dostávají do lymfatické tkáně nebo do krevního řečiště, kterým putují do plic. Odtud putují přes tracheu do dutiny ústní – zde jsou spolknuty a poté se usazují v tenkém střevě, kde pohlavně dospívají. (11)

Během svojí migrace se larvy několikrát svlékají, jak je tomu i u jiných helmintů. První vajíčka se objevují ve stolici zhruba za 5–7 týdnů po infekci. Dospělé hlístice mohou žít i několik let (6–8 let, výjimečně i 15 let). (11)

Přenos:

Přenos pozřením kontaminované potravy či vody je možný, nejčastějším způsobem nakažení však bývá průnik infekčních larev kůží hostitele. (7)

6 Do této kategorie spadá více rodů, proto mluvíme o jim nadřazeném řádu.

Epidemiologie:

Měchovci se vyskytují hlavně v tropech a subtropích, v ČR jen ojediněle. U nás se jedná většinou o importované nákazy. (7)

Laboratorní diagnostika:

Pro laboratorní diagnostiku se vyšetřuje čerstvá stolice, u starší stolice by došlo k vylíhnutí larev, které jsou jen velmi těžko rozlišitelné od larev jiných nematodů.

3.2.1.4 Hádě střevní (*Strongyloides stercoralis*)

Onemocnění:

Príznaky nákazy háďetem střevním můžeme rozdělit do několika kategorií:

kožní – od makul až po edémy a urtikárii,

plicní – kašel, bronchopneumonie atd.,

střevní – bolesti v epigastriu, průjem,

nespecifické – výrazná eozinofilie. (7)

Obecná charakteristika:

Hádě je drobný parazit o rozměrech $2-3 \times 0,035-0,07$ mm. (11)

Životní cyklus:

Samičky produkují vajíčka, v nichž se ještě ve střevě líhnou tzv. rabditiformní larvy – ty ve vnějším prostředí dospívají, kopulují a nadále se množí. Po několikanásobném opakování tohoto procesu vznikají tzv. filariformní larvy (délka kolem 550 μ), které jsou infekční pro člověka a mají schopnost aktivně pronikat do lidské kůže. Vnikají do krevního řečiště, jímž se dostanou do plic, tam se uvolňují z cév, migrují do ústní dutiny a odtud se pak dostávají do střeva. (11)

Přenos:

Člověk se může nakazit kontaktem s infekčními larvami ve vnějším prostředí (jak již bylo řečeno, aktivně pronikají pokožkou). Možná je i autoinfekce z vajíček vylíhlých ve střevním traktu. (7)

Epidemiologie:

Hlavní výskyt je především v tropech a subtropích; u nás se vyskytuje převážně u imunosuprimovaných pacientů. (11)

Laboratorní diagnostika:

Nejčastěji se používá mikroskopický průkaz larev (vzácně i vajíček) ve stolici nebo v duodenálním aspirátu, diagnostika je však možná i sérologicky, imunofluorescencí nebo metodou ELISA. (7)

3.2.1.5 Tenkohlavec lidský (*Trichuris trichiura*)

Onemocnění:

Trichurióza může probíhat asymptomaticky, při silné infekci dochází k poruchám výživy, krvavým a hlenovitým průjmům, anémii, bolestem břicha, kolitidě a případnému prolapsu rektu. U dětí je infekce také často spojena s retardací vývoje. (7)

Obecná charakteristika:

Tenkohlavec je geohelminť cizopasíci v tlustém střevě člověka a lidoopů. Jedná se o bělavé hlístice – samice dosahují délky 35–55 mm a samci 30–45 mm. Jak název napovídá, jejich přední část těla je velice tenká, tou jsou zanořeny do slizničního epitelu střeva; zadní část pak obsahuje pohlavní orgány. (11)

Samice kladou silnostěnná vajíčka (50–55 × 20–24 μm) opatřená pólovou zátkou. (11)

Životní cyklus:

Po dozrání se vajíčko stává infekčním. Po jeho požití se v gastrointestinálním traktu vylíhne larva (260 × 15 μm), která se 4krát svlékne, než dosáhne dospělosti. (11)

Přenos:

K nákaze dochází perorálně, požitím kontaminované potravy a vody. (7)

Epidemiologie:

Rozšíření tenkohlavce je kosmopolitní, nejběžnější je především v tropech a subtropích. U nás se vyskytuje jako importovaná nákaza. (7)

Laboratorní diagnostika:

Nejvhodnější metodou diagnostiky je mikroskopické vyšetření trusu.

3.2.2 Kmen Ploštěnci (*Platyhelminthes*)

3.2.2.1 Třída Tasemnice (*Cestoda*)

3.2.2.1.1 Tasemnice „hovězí“ bezbranná (*Taenia saginata*)

Onemocnění:

Taenióza se může projevovat jednak asymptomaticky, jednak může příležitostně způsobovat mírné gastrointestinální obtíže.

Obecná charakteristika:

Tyto tasemnice dosahují délky až 10 metrů, jejich obvyklá délka se však pohybuje mezi 3 a 5 metry. Mají skolex se čtyřmi přísavkami, avšak jejich rostellum je bez háčků. Jejich tělo je článkované (1200–2000 článků), přičemž velikost článků je $16\text{--}20 \times 5\text{--}7$ mm. (11)

Jejich vajíčka jsou kulovitá se silnou stěnou ($45\text{--}48 \times 43\text{--}54$ μm), která ochraňuje parazitární larvu (embryofor) před nepříznivými podmínkami vnějšího prostředí. (11)

Cysticercus naležitelný v mase pak narůstá do velikosti $7,5\text{--}10 \times 4\text{--}5$ mm. (11)

Životní cyklus:

Tasemnice během svého života vystřídají dva živočišné druhy hostitelů (dvouhostitelský životní cyklus). (11)

Vajíčka jsou infekční pro mezihostitele (skot). Líhne se z nich larva onkosféra – ta proniká stěnou střeva a migruje tělem do různých orgánů (u zvířat převážně do svalů). Dále se z ní stává larva zvaná cysticercus (boubel, uher), která je vybavena hlavičkou tasemnice. (11)

K nákaze člověka dochází po pozření svaloviny se zralými cysticercy, ze kterých se vlivem trávicích tekutin vychlípí skolex, jenž se uchytí na střevní sliznici a doroste v dospělou tasemnici. (11)

Přenos:

Pozřením infikovaného, nedostatečně tepelně zpracovaného masa, ve kterém je boubel. (7)

Epidemiologie:

Tento parazit se vyskytuje celosvětově, u nás však jen ojediněle. (7)

Laboratorní diagnostika

Diagnostika je založena na determinaci vypuzeného článku. (7)

3.2.2.1.2 Tasemnice „vepřová“ dlouhočlenná (*Taenia solium*)

Onemocnění:

Tato taenióza se projevuje obdobně jako u tasemnice bezbranné – příležitostně mírné gastrointestinální obtíže. Člověk se ale může stát mezihostitelem. Takovému onemocnění se říká cysticerkóza. Ta bývá zpravidla asymptomatická, s výjimkou cysticerkózy mozkové (ta se podle závažnosti projevuje příznaky, jako jsou křeče, hypertenze, zvracení, bolesti hlavy, poruchy vidění, psychické poruchy). Mozková cysticerkóza je fatální v 50 % případů. (7)

Obecná charakteristika:

Tasemnice dlouhočlenná dorůstá délky 1,5–8 m, má skolex se čtyřmi přísavkami a rostellum s masivními háčky. Tělo je článkované (až tisíce článků) o velikosti 10–14 × 6–8 mm. Vajíčka, která článek obsahuje, jsou opět vybavena silnou stěnou, ochraňující parazitární larvu. Cysticerkus pak dorůstá rozměrů 6–20 × 5–10 mm. (11)

Životní cyklus:

Tasemnice během svého života vystřídají dva živočišné druhy hostitelů (dvouhostitelský životní cyklus). (11)

Vajíčka jsou infekční pro mezihostitele (prase, člověk). Líhne se z nich larva onkosféra – ta proniká stěnou střeva a migruje tělem do různých orgánů (u zvířat převážně do svalů). Dále se z ní stává larva zvaná cysticerkus (boubel, uher), která obsahuje hlavičku tasemnice. (11)

Přenos

Nakazit se lze stejně jako u tasemnice bezbranné, pozřením masa infikovaného boubelem (v tomto případě však vepřového). Vlivem trávicích tekutin vychlípí skolex, jímž se uchytí na střevní sliznici a doroste v dospěléu tasemnici. Dále však může jít i o pozření potravy infikované vajíčkem. (11)

Epidemiologie:

U nás se vyskytuje pouze jako importované onemocnění. Jedná se však o parazita, jenž se vyskytuje celosvětově. (11)

Laboratorní diagnostika:

Diagnostika tasemnice dlouhočlenné je shodná s metodami vyšetřování taeniózy tasemnicí bezbrannou. (7)

3.2.2.1.3 Tasemnice dětská (*Hymenolepis nana*)

Onemocnění:

Při slabých nákazách hymenolepiázou je onemocnění asymptomatické, při silných nákazách však dochází k dyspnoei, periodickým průjmům, bolestem břicha a hlavy, závratím, nechutenství, svědění, podrážděnosti, anemii a kaxechii. (7)

Obecná charakteristika:

Tasemnice dětská je drobná tasemnice o délce 7–40 mm, žijící v tenkém střevě. (7)

Životní cyklus:

Vajíčka uvolněná do střevního obsahu se většinou vyvíjejí přímo, kdy se z vajíčka ještě v tenkém střevě líhne larva. Ta postupně dorůstá v dospělé tasemnici. Z tohoto důvodu je obvyklá přítomnost většího počtu tasemnic. (7)

Přenos:

Nakazit se lze pozřením infekčních vajíček. (7)

Epidemiologie:

Tento druh tasemnice je kosmopolitně rozšířen, nejvíce však v dětských kolektivech.

Laboratorní diagnostika:

Tuto tasemnici prokazujeme mikroskopickým průkazem vajíček ve stolici. (7)

PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

4.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem je zjistit vhodnost použité metody na záchyt vajíček a cyst ve stolici člověka nebo trusu zvířat.

Pomocí různých variací flotačních roztoků a jedné metody sedimentační byl zkoumán vliv na laboratorní výsledek – četnost a neporušenost vajíček, přítomnost rušivých artefaktů a tak dále.

Rozšíření znalostí v oblasti parazitologie.

4.2 Dílčí cíle

- A) Shromáždit dostatečné množství vzorků trusu s co největší pravděpodobností výskytu nějakého parazita.
- B) Separovat pozitivní a negativní vzorky trusu.
- C) Provedení různých obměn flotačních roztoků a sedimentační metody v rámci provedení koprologických metod.
- D) Statistické zpracování dat.
- E) Rozeslání a zpracování doplňujícího výzkumného dotazníku.

5 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY

Vzhledem k tomu, že problémů/otázek je celá řada, jsou rozděleny do několika oblastí.

5.1 Zkoumané vzorky

Dle již dříve zmíněné statistiky SZÚ, parazitární nákazy střevními parazity se v běžné populaci vyskytují vzácně, tudíž zajištění dostatku parazitologicky pozitivních vzorků pro tento výzkum by bylo velice obtížné.

Kde tedy získat pozitivní vzorky? A co zvířecí vzorky?

Zvířecí vzorky jsou lépe dostupné a pravděpodobnost výskytu parazitů mezi těmito vzorky je větší než u lidských vzorků.

Jaké vzorky zvířat budou pro můj výzkum nejvhodnější? Zvířata chovaná v zajetí či volně žijící zvířata?

Na základě svého malého dotazníku bylo jen potvrzeno, že veterinární prevence parazitóz je mezi majiteli zvířat celkem běžná a zvířata chovaná v zajetí jsou buď pravidelně odčervována, nebo žijí v izolaci (viz masný chov prasat, chov nosných slepic apod.). Nejlepší možností tedy bylo pracovat se vzorky volně žijících zvířat.

Bude možné určit druh volně žijících zvířat? Jaký vliv bude mít stáří vzorku na výsledky?

Díky mým limitacím znalostí ze zoologie, nebylo možno jen dle trusu určit druh vyšetřovaných živočichů. Mimo jiné stáří trusu mohlo být také odhadováno podle vzhledu trusu. Některé metody, které vyžadovaly rychlé zpracování vzorku, byly tedy rovnou vyloučeny (larvoskopické metody). Nicméně i tak byl záchyt parazitárních larev a vajíček vysoký.

5.2 Transport a uchování vzorků

Jaké prostředky zvolit pro transport? Skleněné uzavíratelné nádoby, plastové odběrovky či něco jiného?

Jelikož byl trus sbírán ve volné přírodě, nebyl tedy předem znám počet vzorků, které bude třeba transportovat – při sběru tedy bylo použito poněkud kompaktnějších prostředků – balení igelitových sáčků a látková taška. Optimální to nebylo; oproti

klasickým plastovým šroubovacím odběrovým nádobám, igelitové pytlíky nejsou tak zápachuvzdorné, vzájemné kontaminaci vzorků však zabránily.

5.3 Zpracovávání

Lze zvířecí vzorky zpracovat stejně jako vzorky lidské? Přece jen tyto metody jsou vyvinuty pro vzorky poněkud odlišné. Nakolik odlišnost těchto vzorků může mít vliv na výsledky?

Většinu metod šlo provést bez obtíží. Tlustý nátěr dle Kato je však uzpůsoben pro relativně měkký trus neobsahující mnoho pevných zbytků potravy. Při roztlačování gumovou zátkou nebo i při roztírání zbytky srsti a rostlin velice komplikovaly rovnoměrné rozložení trusu. Nemluvě o tom, že v několika případech drobné kamínky z trusu penetrovaly celofán, kterým se vzorek zakrývá.

6 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Vzhledem k tomu, že parazitární nákazy střevními parazity nejsou již v našich končinách u člověka nijak časté, byl zvolen sběr vzorků od volně žijících zvířat. Materiál pocházel od zvířat žijících v okolí Polínského vrchu, v okrese Plzeň-sever – z velké části se jednalo o trus přežvýkavců, menší zastoupení pak tvořil trus prasat a podařilo se nalézt i pár vzorků blíže nespecifikovaných dravců (nejspíše šlo však o trus lišek).

Dotazník byl rozeslán do facebookových skupin:

Koně a vše kolem nich-bazar-poradna-diskuse,

INFO KONĚ,

KOŇÁCI, KONĚ, KONÍČCI, PONÍCI... sdílení, poradna, diskuze, inzerce, ...,

Psi a vše o nich aneb skupina pro pejskaře,

Veterináři a chovatelé, zdraví a výchova nejen psů,

Výchova, výcvik, vše kolem psů - psovodi sobě,

Výcvik, výchova, krmení psů - první opravdu otevřená skupina bez cenzury.

7 METODIKA PRÁCE

7.1 Základní zpracování vzorků

Všechny shromážděné vzorky byly zpracovány v sériích po 10–25 vzorcích.

Základní zpracování proběhlo Faustovou flotační metodou a tlustým nátěrem dle Kato. Tomu však předcházelo očíslování vzorků.

Z pozitivních výsledků Faustovy flotační metody bylo vybráno 12 reprezentativních kusů, jež pokrývaly co nejširší druhové zastoupení parazitů. Toto množství bylo vybráno z důvodu maximální kapacity centrifugy. Následně pak byly zpracovány Füllebornovou metodou, Sheatherovou metodou a opakovanou sedimentací destilovanou vodou.

7.2 Použité pomůcky a zařízení

Předmět:

- igelitové sáčky o rozměru 16 × 24 cm, plátěná taška
- lihový fix
- standardní podložní sklíčka 76 × 26 mm, s matným okrajem
- krycí sklíčka 18 × 18 mm
- nesterilní plastové zkumavky 10 cm
- dřevěná špejle délky cca 14 cm a tloušťky 2–3 mm
- preparační jehla z chirurgické oceli
- mikrobiologické smyčky 10 µl, sterilní
- celofánové pásky 18 × 30 mm
- anatomická pinzeta z chirurgické oceli
- binokulární mikroskop zn. Olympus
- centrifuga zn. Phoenix instrument, model CD0412

Využití:

- shromažďování vzorků
- značení a popisování vzorků, zkumavek a sklíček
- pozorování pod mikroskopem
- pozorování pod mikroskopem
- flotační a sedimentační metoda
- rozmělnění trusu ve vodě, rozválení vzorku trusu po podložním sklíčku
- roztáhnutí trusu po podložním sklíčku
- sběr sedimentovaného materiálu ze dna zkumavky
- tlustý nátěr dle Kato
- snímání krycích sklíček ze zkumavky
- mikroskopické pozorování
- centrifugace (urychlení separace dle hustoty)

7.3 Postupy laboratorních metod

7.3.1.1 Faustova flotační metoda

Po očíslování vzorků a nadepsání sklíček a zkumavek konečně následovalo pracování se vzorky. Vzorek o objemu 1–2 cm³ jsme vložili do zkumavky a tu zalili asi do poloviny destilovanou vodou. Rozvázaný pytlík jsme odložila stranou na další zpracování.

Poté jsme vzali špejli a rozmíchali trus s vodou. Tento krok rozvolnil trus a vajíčka v něm a umožnil/usnadnil pak proces sedimentace v centrifuze. Následně jsme dolili vodu asi 1 cm pod horní okraj a před vložením do centrifugy jsme suspenzi opět zamíchali. Stejný postup jsme opakovali i u ostatních vzorků.

Po 2 minutách při 2000 RPS (Revolutions Per Minute = otáčkách za minutu) jsme vyndali zkumavky z centrifugy a slili vodu. Osvědčilo se nám pomalé slévání, kdy stěna klínu usazeniny zaujímala úhel 90° oproti rovině (byla bokem).

Poté jsme dolili zkumavky flotačním roztokem (33% roztok síranu zinečnatého⁷) opět do poloviny a znovu jsme je dali stočit při stejném nastavení centrifugy.

Po vyjmutí z centrifugy jsme dolili flotačním roztokem hladinu po okraj u všech zkumavek tak, aby byla lehce vypouklá. Doporučujeme podložit stojan se zkumavkami bunou, neboť ačkoli se budete snažit pracovat co nejprecizněji, stejně přelijete.

Na vypouklou hladinku každé zkumavky jsme položili krycí sklíčko a zapnuli minutku na 20 minut. Po uběhlé časové době jsme sejmuli sklíčka a mohli jsme jít pozorovat.

7.3.1.2 Tlustý nátěr dle Kato

Část trusu o velikosti pšeničného zrna jsme rozváleli špejli, popřípadě jsme jej roztáhli po sklíčku preparační jehlou.

Poté jsme vzorek překryli celofánem namočeným v malachitové zeleni a glycerinu. Gumovou zátkou jsme trus zarovnali a mohli pozorovat pod mikroskopem.

7.3.1.3 Füllebornova metoda

⁷ V našem případě jsme pracovali již s hotovým roztokem, můžeme si jej však i připravit doplněním 331,0 g síranu zinečnatého destilovanou vodou do objemu 1litru. Hustota výsledného roztoku by měla být 1,180 kg/l.

Zde jsme použili stejný postup jako při Faustově flotační metodě; rozmísení vzorku s vodou, centrifugace, slítí, nalítí flotačního roztoku. Jediná změna byla, že jsme roztok aplikovali plastovým kapátkem, což bylo sice zdlouhavé, pro kontrolu vypouklosti to však bylo daleko lepší než aplikace stříčkou.

Jako flotační roztok se při této metodě používá nasycený roztok soli. V teplé vodě jsme kuchyňským šlehačem míchali a přidávali sůl tak dlouho, dokud se zvládala rozpouštět. Lepších výsledků by bylo možné dosáhnout použitím vroucí vody, ale kvůli časovému presu to bohužel nebylo možné. Navíc, při chladnutí nasyceného roztoku přebytečná sůl vykrytalizuje.

Jedinou jeho nevýhodou je ona rychlá krystalizace. Po přesunutí krycího sklíčka na sklo podložní silně doporučuji většinu možného času preparát uchovávat ve vlhké komůrce, jelikož krystalizace způsobená vysycháním znemožní pozorování pod mikroskopem (jak je tomu i v případě prohlížení močových sedimentů).

7.3.1.4 Sheatherova metoda

Tato metoda je opět kopií flotační metody dle Fausta, tedy až na samotný flotační roztok. Ten jsme získali obdobně jako nasycený roztok soli, s tím rozdílem, že v 500 ml vody, jsme rozmíchávali 640 g cukru. Přidání fenolu jsme vynechali, jelikož nebylo nutné roztok skladovat na dlouhodobé použití.

Použití stříčky je pro tuto flotační tekutinu nemožné. Tato vazká tekutina šla stěží nabrat i kapátkem. Práce s ní je velmi obtížná.

7.3.1.5 Sedimentace destilovanou vodou

Tato experimentální metoda je mým návrhem. Pro sedimentaci se voda zpravidla nepoužívá (užívají se různé roztoky etheru), nicméně princip, že ve vodě sedimentují vajíčka u flotačních metod a larvy u larvoskopických metod, naznačoval, že by tato metoda mohla být funkční.

Prakticky jsme rozmísili vzorek trusu o velikosti 1–2 cm³ ve vodě. Stočili jsme ho v centrifuze, vodu jsme slili, opět jsme ho zalili vodou a promíchali. Znovu jsme ho stočili v centrifuze a po třetím slítí jsme vzali mikrobiologickou smyčku a snažili se nabrat materiál ze dna. Bylo by skvělé, kdybychom měli k dispozici kyretážní lžičku, která by umožnila lépe nabrat materiál ze dna. Nebo by v jiném případě bylo možné po vrstvách

špachtlí sundat horní část sedimentu a postupně se propracovat dolů, ale šikmá sedimentační linie byla pro tuto metodu velkou komplikací.

7.4 Dotazník

Původním plánem bylo zkoumat nejen trus volně žijících zvířat, ale i zvířat chovaných v hospodářství.

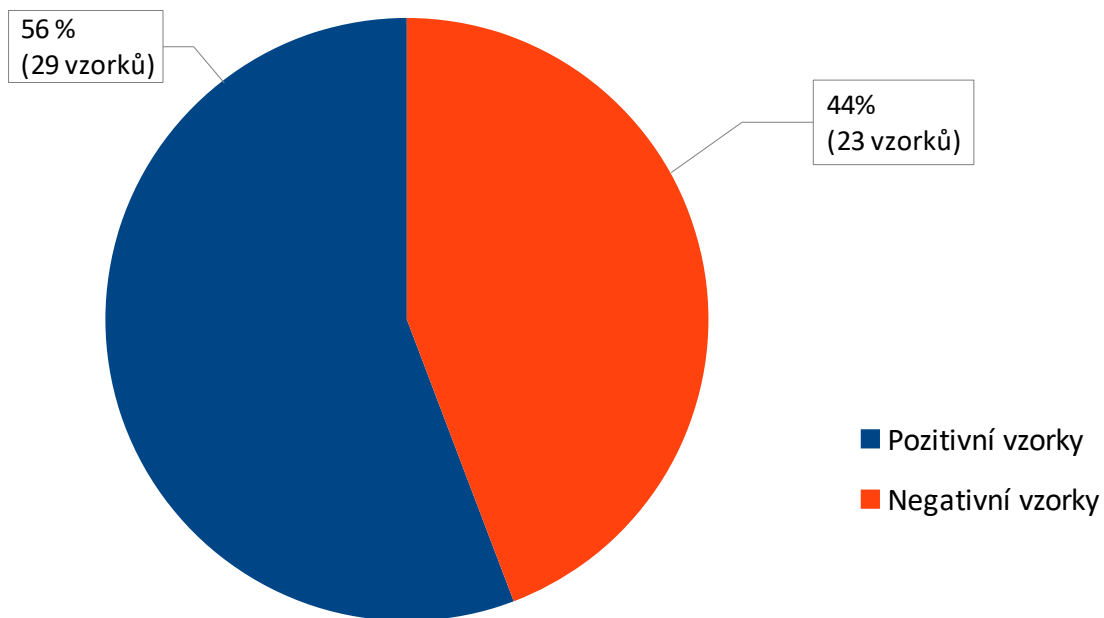
Do několika facebookových skupin, zabývajících se mazlíčky a jejich zdravím, byl rozeslán on-line dotazník zprostředkovaný stránkou Survio[®]. Soubor kladených otázek naleznete v příloze A.

Z mého výzkumu vyplynulo, že 45% majitelů odčervuje své mazlíčky pravidelně, 30 % pak nepravidelně. Na základě těchto informací bylo tedy rozhodnuto zvířata chovaná v zajetí z mého výzkumu vynechat.

8 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

8.1 Koprologické metody

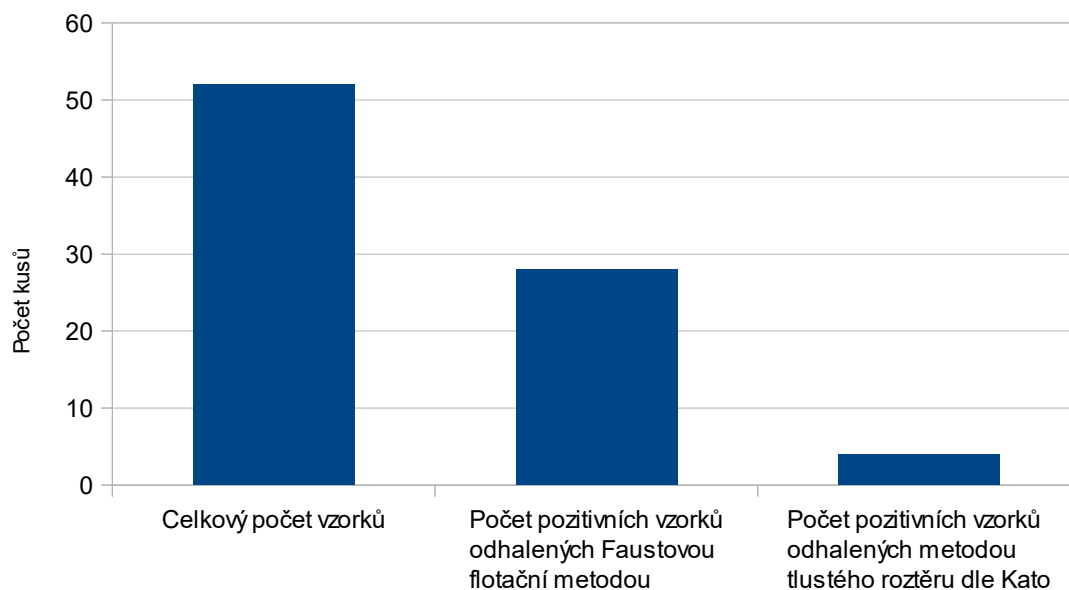
Graf č. 1: Poměr pozitivních a negativních vzorků



Zdroj: vlastní zpracování

Tento graf uvádí základní rozdělení vzorků na pozitivní a negativní bez ohledu na míru infestace. Více než polovina vzorků volně žijící zvěře obsahovala nějaká vajíčka, cysty či larvy parazitů.

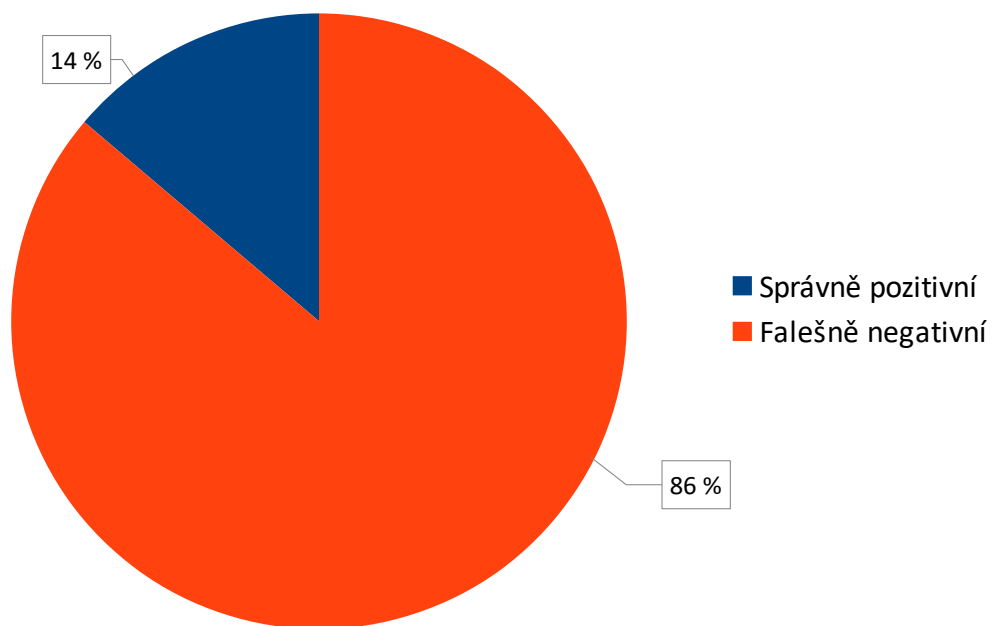
Graf č. 2: Výsledky prvotního zpracování vzorků



Zdroj: vlastní zpracování

Na tomto grafu lze pozorovat, že většinu pozitivních vzorků odhalila Faustova flotační metoda. Vyskytnul se však jeden vzorek, který tato metoda označila za falešně negativní, ačkoliv v tlustém nátěru dle Kato byla nalezena vajíčka parazitů.

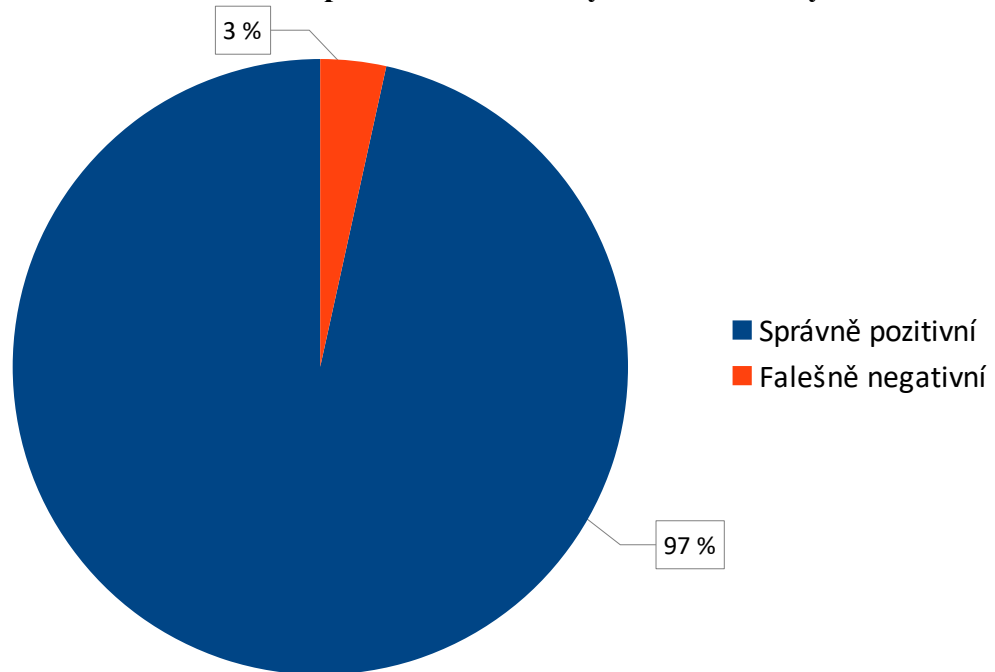
Graf č. 3: Relativní spolehlivost metody tlustého roztěru dle Kato



Zdroj: vlastní zpracování

Senzitivita metody tlustého roztěru dle Kato u zvířecích vzorků dosahuje dle výpočtu 13,79 %. Specifita dosahuje však 100 %, jelikož nedojde-li ke kontaminaci vzorků jinými vzorky, falešně pozitivní vzorky takřka neexistují. Taktéž pozitivní prediktivní hodnota dosahuje 100 % ze stejného důvodu. Negativní prediktivní hodnota je pak 47,92 %.

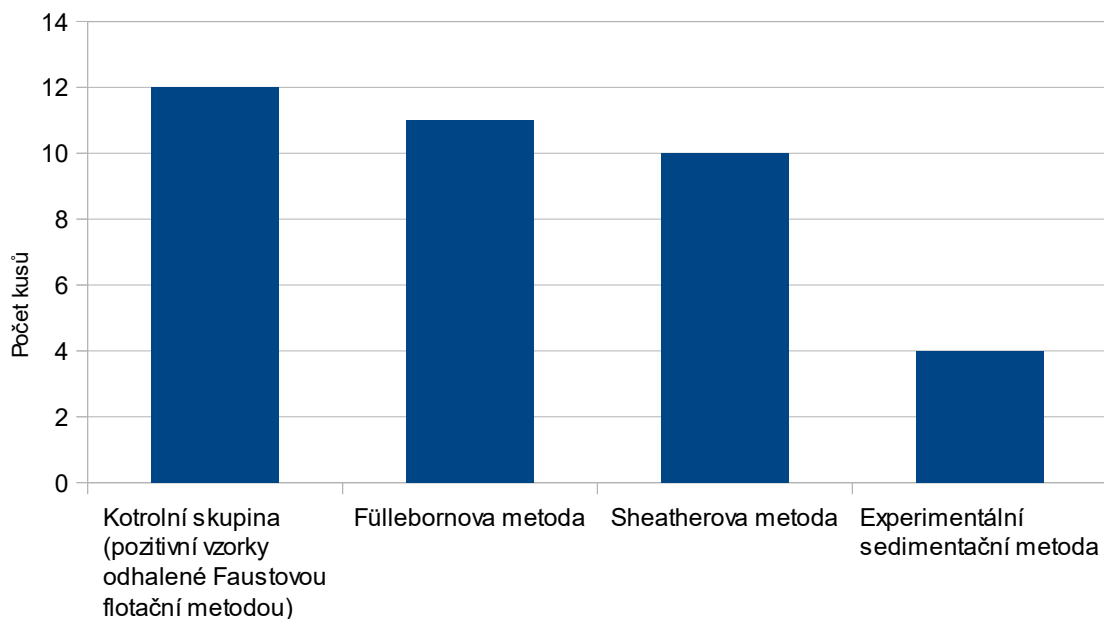
Graf č. 4: Relativní spolehlivost Faustovy flotační metody



Zdroj: vlastní zpracování

Senzitivita Faustovy flotační metody je o poznání lepší než u předchozí metody, a to 96,55 %. Negativní prediktivní hodnota je taktéž lepší – 95,83 %. Specifita a pozitivní prediktivní hodnota jsou shodné s předchozí metodou.

Graf č. 5: Výsledky druhotného zpracování vzorků



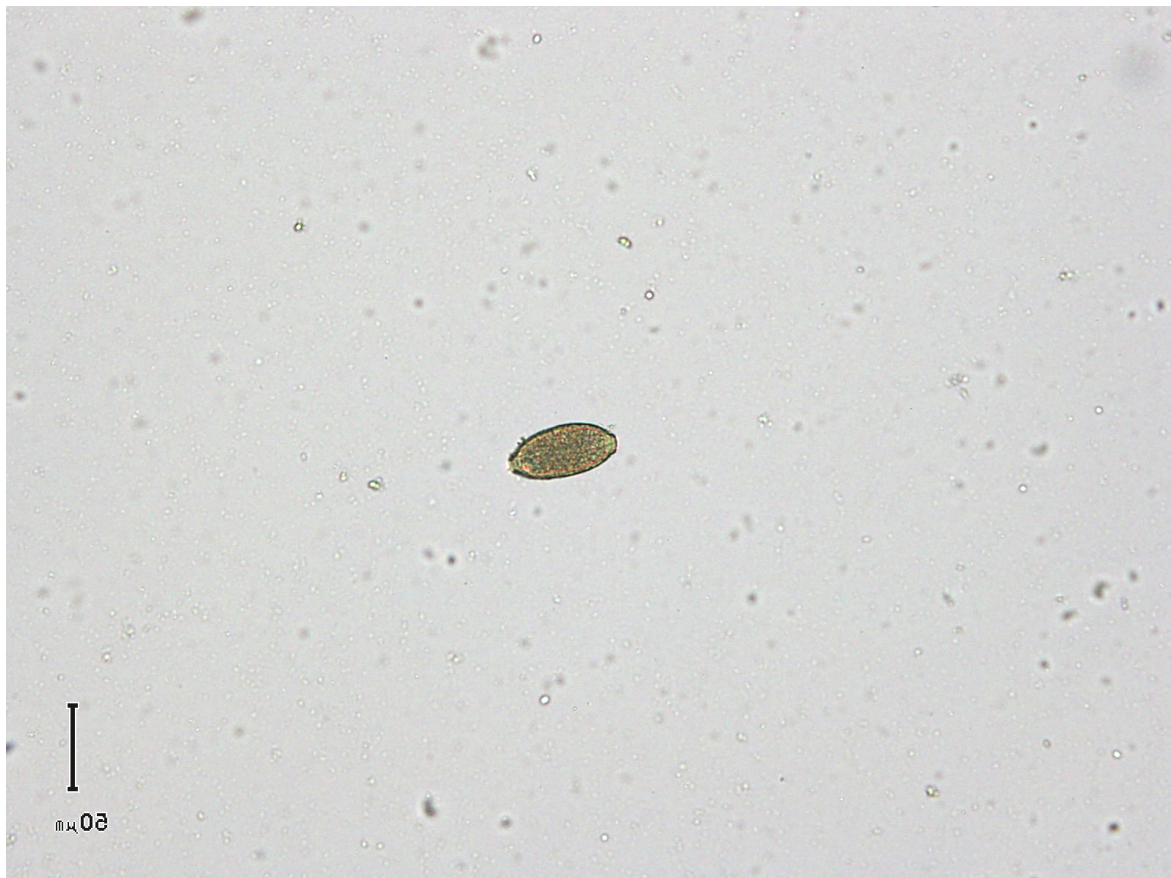
Zdroj: vlastní zpracování

Z pozitivních vzorků Faustovy flotační metody, jak již bylo zmíněno, bylo vybráno 12 pozitivních vzorků pro další zpracování. Absence správně negativních vzorků tedy znemožňuje výpočet negativní prediktivní hodnoty. Specifitu a pozitivní prediktivní hodnotu, z již zmíněných důvodů, opět předpokládáme stoprocentní. Senzitivita u Füllebornovy metody vychází na 91,67 %, u Sheatherovy metody 83,34 % a u experimentální sedimentační metody pak pouhých 33,34 %.

8.2 Obrazová dokumentace zachycených nálezů

Obrázek č. 1: Vzorek č. 45 při zvětšení 200krát

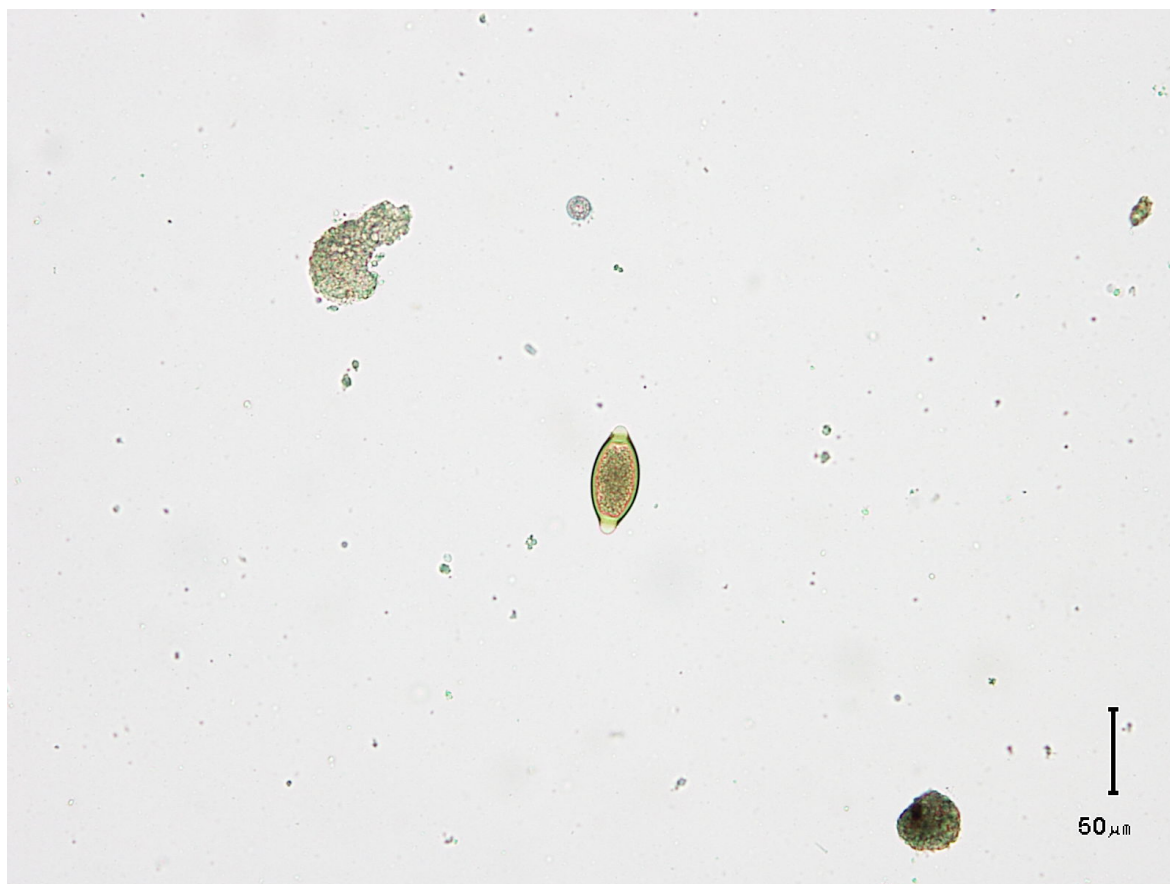
Rozměry: $66 \times 31 \mu\text{m}$



Zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 2: Vzorek č. 24 při zvětšení 200krát

Rozměry: $65 \times 28 \mu\text{m}$



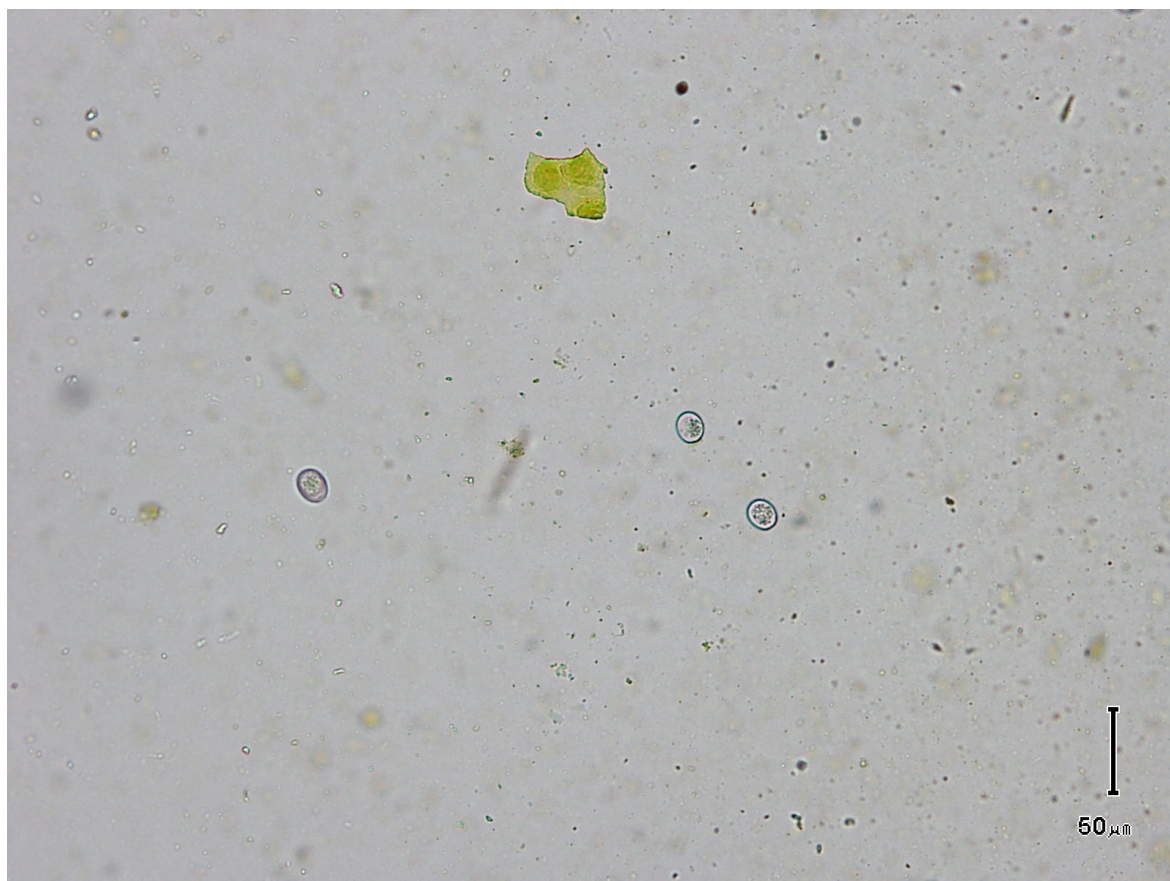
Zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 3: Cysty kokcií – vzorek č. 24 při zvětšení 200krát

Rozměry: $22 \times 17 \mu\text{m}$

$19 \times 17 \mu\text{m}$

$20 \times 17 \mu\text{m}$



Zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 4: Menší larva – vzorek č. 16 při zvětšení 200krát

Rozměry: $450 \times 17 \mu\text{m}$



Zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 5: Větší larva – vzorek č. 16 při zvětšení 200krát

Rozměry: 713 × 47 μm



Zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 6: Menší typ vajíček – vzorek č. 51 při zvětšení 200krát

Rozměry: $63 \times 27 \mu\text{m}$

$57 \times 29 \mu\text{m}$

$65 \times 27 \mu\text{m}$



Zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 7: Střední vajíčko – vzorek č. 26 při zvětšení 200krát

Rozměry: $60 \times 28 \mu\text{m}$



Zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 8: Velké vajíčko s larvou – vzorek č. 24 při zvětšení 200krát

Rozměry: $96 \times 56 \mu\text{m}$



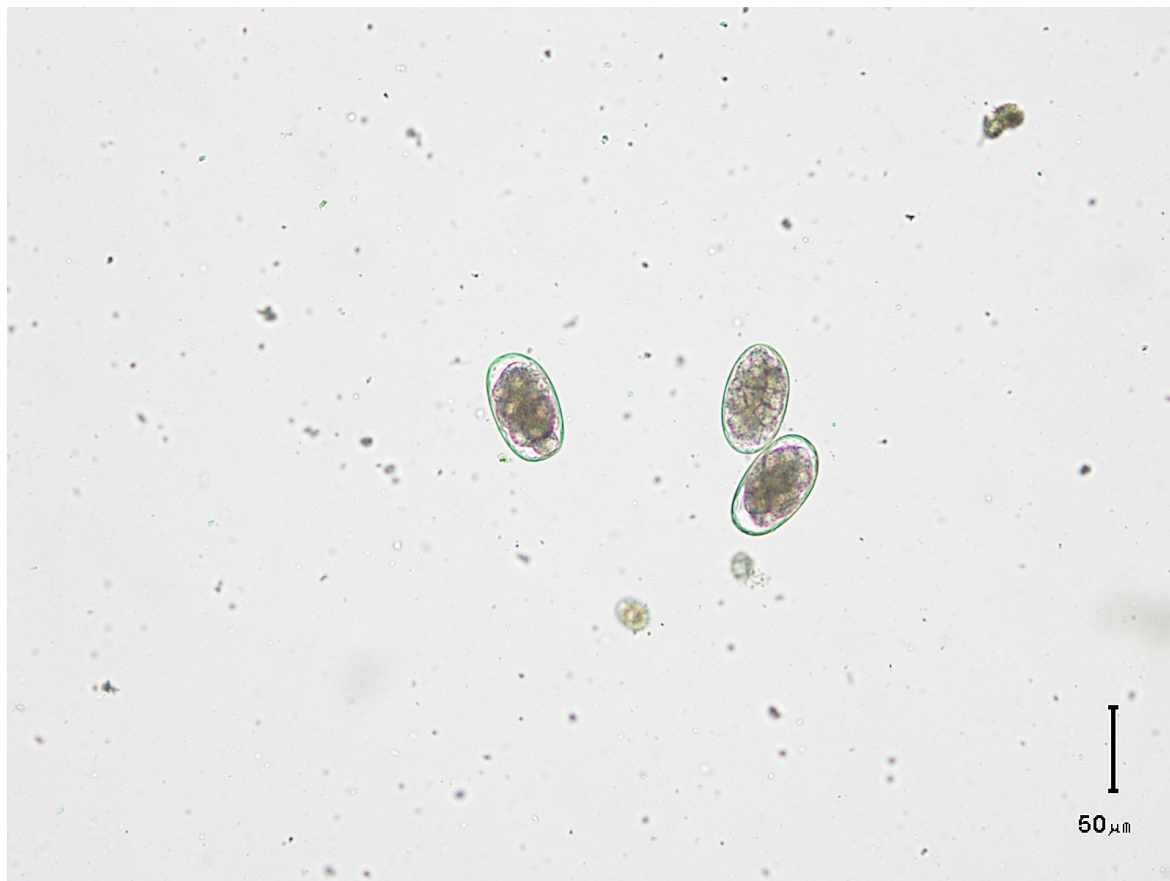
Zdroj: vlastní výzkum

Obrázek č. 9: Větší vajíčka – vzorek č. 19 při zvětšení 200krát

Rozměry: $67 \times 39 \mu\text{m}$

$66 \times 38 \mu\text{m}$

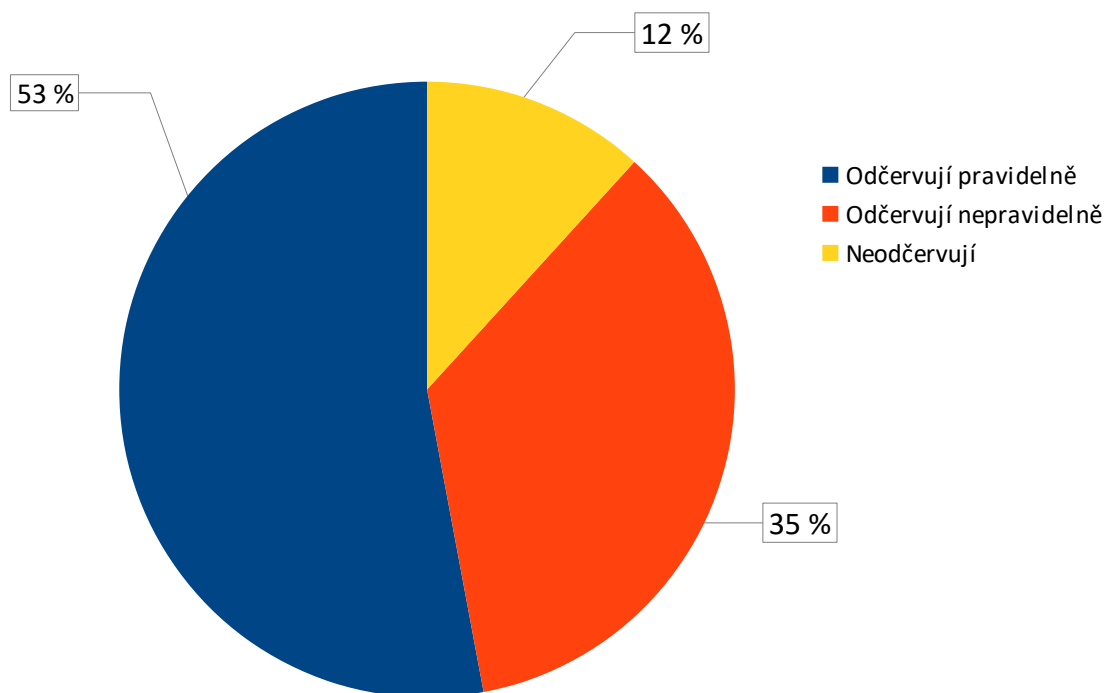
$67 \times 39 \mu\text{m}$



Zdroj: vlastní výzkum

8.3 Vyhodnocení dotazníkové části

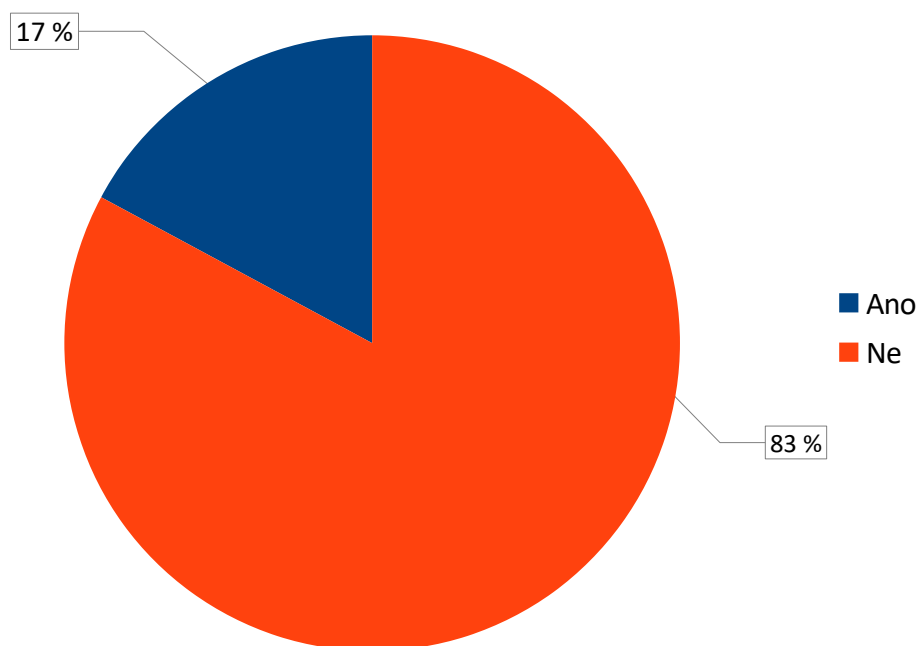
Graf č. 6: Majitelé a odčervování



Zdroj: vlastní zpracování dle odpovědí z dotazníku

Na grafu je znázorněn poměr majitelů domácích zvířat a jejich standardní péči o jejich zdraví ve vztahu k parazitům.

Graf č. 7: Majitel někdy zaznamenal přítomnost parazita u svého zvířete



Zdroj: vlastní zpracování dle odpovědí z dotazníku

Ačkoliv více než polovina majitelů pravidelně odčervuje svého mazlíčka, více než tři čtvrtiny majitelů nikdy u svého zvířete nezaznamenaly přítomnost parazita.

9 DISKUZE

Hlavním cílem bakalářské práce bylo porovnat výtěžnost různých koprologických metod. Rutinně používaných k diagnostice ve veterinární i humánní medicíně, dalších sice známých, ale používaných méně často, a nakonec jsme zkusili sedimentaci pouze v destilované vodě. K tomu bylo potřeba nashromáždit co nejvíce pozitivních vzorků. V humánní medicíně jsou záchyty parazitárních agens téměř vzácností, chovatelé hospodářských zvířat nebo domácích mazlíčků své svěřence odčervují, a tak i v této oblasti by byl záchyt nejistý. Zkusili jsme tedy vzorky od volně žijících zvířat. Celkem bylo sebráno 51 vzorků, z nichž 38 bylo pozitivních a byl v něm zachycen alespoň jeden parazit nebo jeho vývojové stádium.

Hlavní problém ale je, že nejsme schopni 100% určit, od které volně žijící zvěře vyšetřovaný trus pochází. Jsme si toho vědomi a tak při určování zachycených parazitů hovoříme pouze o typu vajíček a larev červů nebo o celé skupině prvoků (kokcidie). Některý trus volně žijících zvířat sice vypadá typicky, ale musí být nalezen čerstvý. Velký vliv na dosažení stanovených cílů to ale nemělo, protože šlo hlavně o kvantitu pozitivních vzorků. Práce není primárně taxonomická. Nad rámec naší činnosti by bylo, provést zoologický průzkum vyšetřované lokality a to by nám umožnilo s větší pravděpodobností určit detekované parazity ve vztahu ke svému hostiteli.

Známou skutečností je i nekontinuální vylučování infekčních stádií hostitelem. Ačkoliv jsem tedy zpracovali jednu dávku trusu, je možné, že množství parazitů se mohlo v jednotlivých částech lišit a zaparazitování živočišné populace ve vybraných lokalitách je podstatně vyšší. Ani to ale nebylo předmětem našeho výzkumu. Pro větší výpovědní hodnotu by bylo vhodné mít větší počet vzorků a porovnávat výsledky v jednotlivých skupinách dle druhu hostitele, jehož trus jsme získali. Taktéž by bylo vhodné vzorek homogenizovat nebo vyšetřit více materiálu z různých částí vzorku. To by rovněž poskytlo spolehlivější výsledky. To však bohužel nebylo s tak velkým množstvím zpracovávaných vzorků možné.

9.1 Prvoci

Jako první budeme mluvit o nálezů prvoků. Vzhledem k tomu, že jsme vyšetřovali trus přežvýkavců, kteří přirozeně mají nepatogenní prvoky v zažívacím traktu, nemohu říci, že cysty nalezených prvoků a trofozoiti byli patogenní. Byly zachyceny dva typy

prvoků. První s největší pravděpodobností kokcidie a v sedimentační metodě destilovanou vodou pohybující se trofozoiti jiného druhu. Vzhledem k jejich čilému pohybu nebylo fotografování možné. Experimentální sedimentační metoda však byla jediná, která dokázala tyto živé jednobuněčné organismy zachytit, což můžeme považovat za jistý úspěch. Vodné prostředí bylo nejspíše natolik přirozené, že nedošlo k usmrcení těchto protozoí.

V nálezů malých cyst kokcidií tlustý nátěr dle Kato selhal na plné čáře, není však k tomu primárně určen. Faustova flotační metoda si nevedla špatně, avšak v mých 12 vybraných pozitivních vzorcích Füllenbornova metoda a Sheatherova metoda objevily další dva vzorky, které Faust nezachytil. Nutno podotknout, že roztok nasycené soli vykázal doopravdy velkou četnost nalezených cyst.

9.2 Vajíčka a larvy červů

V námi zkoumaných vzorcích jsme našli 2 různé druhy vajíček typu „trichuris“ (viz obrázek č. 1 a 2). Podobnou morfologii mají ale také vajíčka ptačích parazitů rodu *Capillaria*. Zajímavé je, že v tom jednom jediném případě, kdy Faustova flotační metoda selhala a metoda dle Kato zazářila, to byl pravděpodobně silnostěnný typ „trichuris“, který byl tlustým roztěrem odhalen. Dále pak také Sheatherova a Füllenbornova metoda odhalila další vzorek s podobným typem vajíčka, který Faustova metoda opět nezachytila. Pokud jde tedy o tato vajíčka, jen na Faustovu flotační metodu se spolehnout nemůžeme.

Tenkostěnná vajíčka „strongyloidního typu“ byla nacházena ve větším množství vzorků, podobně jako jiný neurčený typ vajíček menší velikosti. V několika vzorcích byly nalezeny 2 odlišné typy larev.

9.3 Tlustý nátěr dle Kato

Jako samostatná metoda pro vyšetřování trusu není tato metoda vůbec vhodná. Zbytky potravy interferovaly natolik, že pouze 4 z 51 zkoumaných vzorků byly pozitivní. Nicméně v jednom z těch čtyř případů se stalo, že nebyl shodně pozitivní s Faustovou flotační metodou.

Tato metoda má velký význam u tlustostěnných vajíček, jež nevyflotují na hladinu a nemůžou být tedy zachyceny. Ten jeden ze čtyř případů je důvodem, proč je tato metoda rutinně používána v parazitologických metodách. Tento fakt je znám, a proto se při vyšetřování stolic člověka a snad i trusu zvířat ve veterinární medicíně používá vždy

kombinace metod: metody flotační, metody sedimentační a tlustý nátěr dle Kato nebo jiná obdoba nativního preparátu.

9.4 Faustova flotační metoda

Ze zkoumaných 51 vzorků jich tato Flotační metoda určila 28 jako pozitivních. Pouze jeden jediný, který metoda dle Kato určila jako pozitivní, tato metoda nezachytila. Ačkoliv metoda není všezachytávající, je natolik širokospektrá, že její zařazení do běžných parazitologických metod je více než právoplatné.

Další její výhodou je, že oproti ostatním flotačním metodám je vhodná na diagnostiku tenkostěnných vajíček a cyst prvoků. (8)

9.5 Füllebornova metoda

Z 12 vybraných pozitivních vzorků určila tato metoda 11 vzorků jako pozitivní. Jak již bylo zmíněno při metodice práce, další její nevýhodou je rychlá krystalizace. Pro malé veterinární ordinace, které vlastní mikroskop a centrifugu, by však mohla být použitelná. Výsledky tedy ukazují, že tyto dvě metody jsou srovnatelné.

9.6 Sheatherova metoda

Tato metoda si oproti Füllebornově metodě vedla o maličko hůře, byla schopna určit pouze 10 pozitivních vzorků z 12. Nicméně nálezy cyst kokcií z cukerného roztoku byly velice bohaté. Práce s ním je však jedno velké ulepené peklo. Literatura uvádí, že je nejvhodnější pro diagnostiku kryptosporidií, její užití na běžné bázi je však příliš nepraktické. Počítáme-li, že v našem případě je Faustova metoda spolehlivá na 100%, Sheatherova metoda je spolehlivá na 84%, což není tak špatné.

O výsledcích získaných sedimentací v destilované vodě nemá smysl hovořit. Tato metoda byla vyzkoušena pouze náhodně a prokázala, proč není jako diagnostická používána.

9.7 Dotazník

Cílem dotazníku bylo zjistit četnost odčervování mazlíčků/hospodářských zvířat (hlavně pro mou následující volbu zkoumaného souboru). Dále mě však zajímalo, jaké zkušenosti s parazity mají majitelé zvířat.

Pravidelné odčervování není očkování. Podává se aktivní látka, která má účinek jak na parazita, tak i na tělo hostitele. Nejedná se o budování imunity. Nicméně preventivní

užívání účinných látek (např. antibiotika po chirurgickém zákroku) je ve veterinární medicíně celkem běžné. Pro tělo zvířete nebývají odčervovací přípravky škodlivé, nicméně některým parazitům (vnějším) se už podařilo vypěstovat si imunitu (např. účinná látka fipronil už není vůči blechám tak efektivní jako dříve).

Většinou si majitelé povšimli článků tasemnice, popřípadě celého vyloučeného parazita. Jiní střevní parazité však bez fyzických obtíží mohou zůstat nepovšimnuti. Navíc, zažívací obtíže a hubnutí nejsou jen specifické pro střevní parazity, takže není překvapivé, že je počet majitelů, kteří si něčeho všimli, tak nízký.

Téměř 30% respondentů uvedlo, že u svého mazlíčka někdy nechali provést parazitologické vyšetření. Není však jisté, jakou část z toho tvořila koprologická vyšetření. Ve veterinární praxi se zpravidla jedná o kožní seškraby různých vyrážek za účelem zjištění, zdali se jedná o parazitární, nebo plísňový, nebo popřípadě jiný problém.

10 ZÁVĚR

Někdo by mohl namítat, že vyšetřování parazitů zvířat nemá s mým oborem nic společného. Já si však stojím za tím, že nejde tolik o diagnostikované parazity jako o diagnostické metody. Lidský rentgen lze také použít i pro zvířata, jen se musí upravit nastavení. Laboratorní metody fungují všechny na fyzikálních a chemických principech.

Jsem neuvěřitelně ráda, že jsem mohla uskutečnit tento výzkum. Bylo doopravdy zajímavé zjistit, že u nás lidí parazité sice skoro vymizeli, ale nejsou zas tak daleko. Tisíce let lidského vývoje, hygiena a způsob života do velké míry eliminovaly živočišné hrozby v našich životech, nicméně není důvod, proč by měly být opomíjeny nebo snad dokonce zapomenuty.

Využití tradičních koprologických metod má své odůvodnění, ale i nekonvenční metody poskytují určité výhody a neměly by být zcela zavrhnuty. Různorodost je důležitá a udržuje naše mozky ve střehu a zvědavé.

Doufám, že některé mé poznatky snad přinesou užitek dalším nadšencům parazitologie, nebo dokonce široké veřejnosti. A i kdyby ne, jsem velice vděčná za zkušenosti a poznatky, které mi tato práce poskytla.

SEZNAM LITERATURY

1	Anon. , [b.r.]. Charlton T. Lewis, Charles Short, A Latin Dictionary, sĕdimentum. <i>Charlton T. Lewis, Charles Short, A Latin Dictionary</i> [online] [vid. 2023-03-01]. Dostupné z: https://www.perseus.tufts.edu/hopper/text?doc=Perseus:text:1999.04.0059:entry=sedimentum
2	Anon. , [b.r.]. Infekce v ĀR - ISIN (dřívĕ EPIDAT). <i>SZÚ Oficiální web Státního zdravotního ústavu v Praze</i> [online]. informační stránky státu a státních institucí. [vid. 2023-03-01]. Dostupné z: https://szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr/
3	BAAR, Ondřej , [b.r.]. copros - překlad na Latinsky.cz. <i>Latinský slovník</i> [online]. online slovník. [vid. 2023-03-01]. Dostupné z: http://latinsky-slovník.latinsky.cz/cesko-latinsky/copros.html
4	BAČINA, Aleš, BUDAYOVÁ a Soňa VOKATÁ , [b.r.]. <i>Thustý nátĕr dle Kato</i> . labmet.zshk.c [online] [vid. 2023-03-01]. Dostupné z: https://labmet.zshk.cz/vyuka/tlusty-nater-dle-Kato.aspx
5	BÁRTA, Vítězslav , 2023. <i>Metody v histologii</i> . In: [online]. https://slideplayer.cz/ . [vid. 2023-03-10]. Dostupné z: https://slideplayer.cz/slide/3358056/
6	BEDNÁŘ, Marek , 2023. <i>Příručka pro bakaláře 3. LF UK</i> [online] [vid. 2023-03-09]. Dostupné z: http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/mikrobiologie-nova/Prukaz-primy/Odber-materialu/Parazitologie/Stolice
7	BEDNÁŘ, Marek . <i>Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie</i> . Praha: Marvil, 1996 558 s. ISBN 859-4-315-0528-0.
8	BURTON, Erin , 2021. <i>Module 2.3: Fecal Flotation</i> [online]. [vid. 2023-03-30]. Dostupné z: https://pressbooks.umn.edu/cvdl/chapter/module-2-3-fecal-procedure-2-fecal-flotation/
9	GOERING, Richard V., Hazel M. DOCKRELL, Mark A. ZUCKERMAN, Ivan M. ROITT a Peter L. CHIODINI, JULÁK, Jaroslav, ed. <i>Mimsova lékařská mikrobiologie</i> . 5. vydání. Přeložil Jan BOBEK, přeložil Renáta ČERMÁKOVÁ, přeložil Karel HOLADA, přeložil Zora MĚLKOVÁ, přeložil Tibor MOŠKO, přeložil Jan NOVÁK, přeložil Ludmila PROKEŠOVÁ, přeložil Jiřina SUCHANOVÁ. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2016. ISBN 978-80-7387-928-0.
10	JÍROVEC, Otto . <i>Parazitologie pro lékaře</i> . 2., přeprac. vyd. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1954.
11	KOLÁŘOVÁ, Libuše . <i>Obecná a klinická mikrobiologie</i> . Praha: Galén, [2020].

	ISBN 978-80-7492-477-4.
12	MURRAY, Patrick, Ken ROSENTHAL a Michael PFALLER. <i>Medical Microbiology: 9th Edition</i> . 9. vydání. USA: Elsevier, 2020. ISBN 978-0-323-67322-8.
13	NAVRÁTIL, Tomáš, 2016. <i>PŘEHLED NEJBĚŽNĚJŠÍCH KOPROLOGICKÝCH VYŠETŘOVACÍCH METOD</i> [online] [vid. 2022-05-24]. Dostupné z: https://docplayer.cz/7774749-Prehled-nejbeznejsich-koprologickych-vysetrovacich-metod.html
14	PECKOVÁ, Mgr Radka a MVDr Ivona FOITOVÁ, 2016. <i>Koprologické metody</i> . In: [online]. Ústav botaniky a zoologie - Masarykova univerzita. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/sci/jaro2016/Bi8761/Koprologicke_metody.pdf
15	RYŠAVÝ, Bohumil. <i>Základy parazitologie: vysokoškolská učebnice pro studenty přírodovědecké fakulty</i> . Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1989. Učebnice pro vysoké školy (Státní pedagogické nakladatelství). ISBN isbn80-04-20864-9.
16	SEIFERTOVÁ, Mária, [b.r.]. <i>Koprologické metody - vyšetření stolice/trusu na přítomnost parazitů</i> . docplayer.cz [online] [vid. 2023-03-01]. Dostupné z: https://docplayer.cz/219363313-Koprologicke-metody-vysetreni-stolice-trusu-na-pritomnost-parazitu-mgr-maria-seifertova-ph-d.html
17	SCHOCH, Conrad L, Stacy CIUFO, Mikhail DOMRACHEV, Carol L HOTTON, Sivakumar KANNAN, Rogneda KHOVANSKAYA, Detlef LEIPE, Richard MCVEIGH, Kathleen O'NEILL, Barbara ROBBERTSE, Shobha SHARMA, Vladimir SOUSSOV, John P SULLIVAN, Lu SUN, Seán TURNER a Ilene KARSCH-MIZRACHI, 2020. <i>NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools</i> . Database [online]. 2020, baaa062 [vid. 2023-03-12]. ISSN 1758-0463. Dostupné z: doi: 10.1093/database/baaa062
18	SVOBODOVÁ, Vlasta, Miroslav SVOBODA a Eva VERNEROVÁ. <i>Klinická parazitologie psa a kočky</i> . 2. vyd. Brno: B-V-M, 2013. ISBN 978-80-905468-1-3.
19	TICHÁ, Vladimíra, 2020. Odběr vzorků trusu a moči pro laboratorní vyšetření Labvet. <i>Labvet blog</i> [online]. odborně zaměřený blog. [vid. 2023-03-01]. Dostupné z: https://labvet.cz/blog/odber-vzorku-trusu-a-moci/
20	VOLF, Petr a Petr HORÁK. <i>Paraziti a jejich biologie</i> . Praha: Triton, 2007. ISBN isbn978-80-7387-008-9.
21	VOTAVA, Miroslav. <i>Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody</i> . Brno: Neptun, c2010. ISBN 978-80-86850-04-8.

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha A – Vzorový dotazník

PŘÍLOHY

Příloha A – Vzorový dotazník

Survio® | Parazitární vyšetření

survio.com/survey/d/O5L0F4G5A6Y2Q4P5R

1. Vlastníte nějaké zvíře?*

Vyberte jednu odpověď

Ano.

Ne.

2. Odčervujete pravidelně svého mazlíčka?*

Vyberte jednu odpověď

Ano.

Ne, nemám mazlíčka.

Ne, neodčervuji pravidelně.

Ne, neodčervuji vůbec.

3. Zaznamenali jste někdy přítomnost parazita u svého mazlíčka?*

Vyberte jednu odpověď

Ano.

Ne.

Ne, už jsem zaklikl, že nemám mazlíčka.

4. Pokud ano, o jakého parazita šlo? Jaké byly příznaky? Jak jste to poznali?

Napište jedno nebo více slov...

5. Nechali jste u svého mazlíčka někdy provést parazitologické vyšetření?*

Vyberte jednu odpověď

Ano.

Ne.

Ne, už jsem zaklikl, že nemám mazlíčka.