

LÉKAŘSKÁ PARAZITOLOGIE

prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Ústav imunologie a mikrobiologie 1.LF UK v Praze

RNDr. Eva Nohýnková, Ph.D.
Oddělení tropické medicíny
Klinika infekčních a tropických nemocí 1.LF UK v Praze a Nemocnice Na Bulovce

LÉKAŘSKÁ PARAZITOLOGIE

předmět: **původci parazitárních nákaz** = etiologie parazitóz

- životní cyklus/biologie původce
- rozšíření
- přenos
- patogenní působení
- klinický obraz nákazy
- průkaz = diagnostika
- léčba
- prevence

PARAZITI

PRVOCI



počet infikujících
<< počet parazitujících
prvoci se v organismu **množí**

HELMINTI



počet infikujících
= počet parazitujících
helmti se v organismu **nemnoží**

ČLENOVCI



- paraziti
- přenašeči

PARAZITIČTÍ PRVOCI

„taxonomické“ dělení

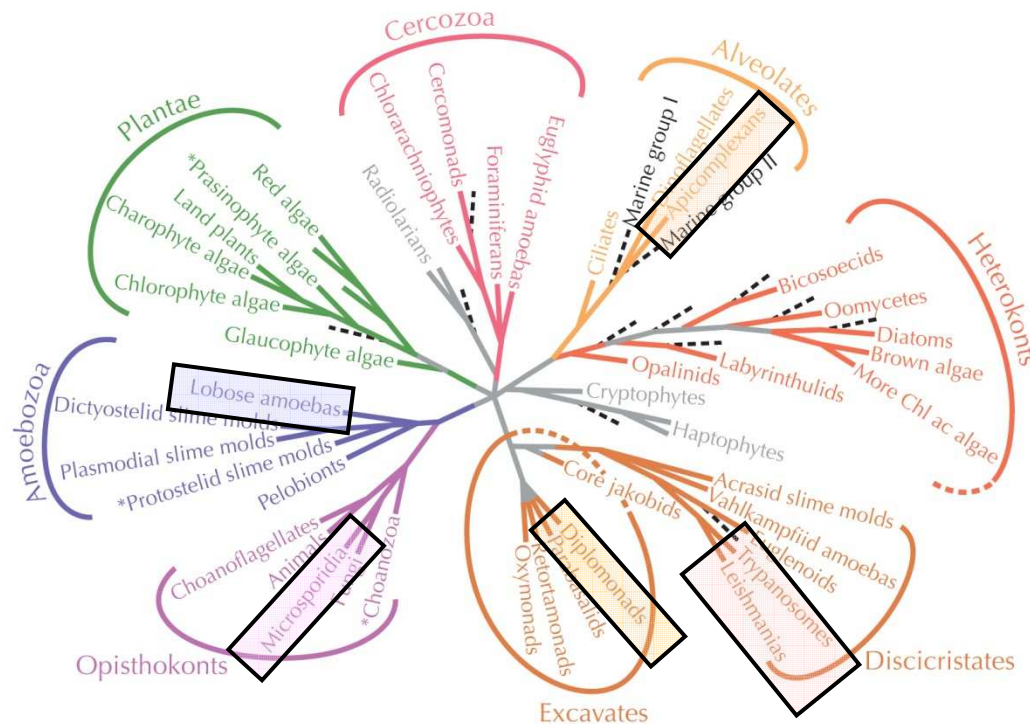


FIGURE 8.5. Phylogenetic tree of major evolutionary groups of eukaryotes. Branches are colored based on proposed supergroups, with gray indicating significant ambiguity. Dashed lines indicate major uncultured lineages known only from environmental surveys. Starred groups are possibly paraphyletic. Note the relationships among groups and the nature of the supergroups are still greatly debated.

8.5, redrawn from Baldauf S.L. et al., *Science* **300**: 1703–1706, © 2003 American Association for the Advancement of Science

Evolution © 2007 Cold Spring Harbor Laboratory Press

PARAZITIČTÍ PRVOCI

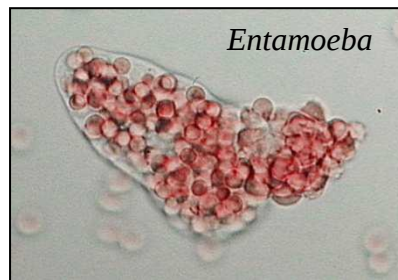
„taxonomické“ dělení

bičíkovci



extracelulární

améby



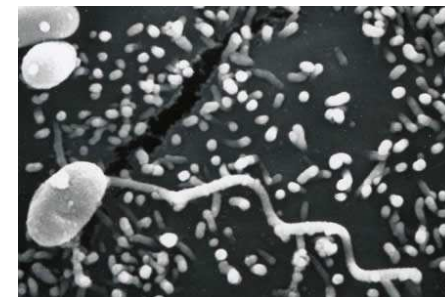
vždy
extracelulární

apicomplexa



intracelulární

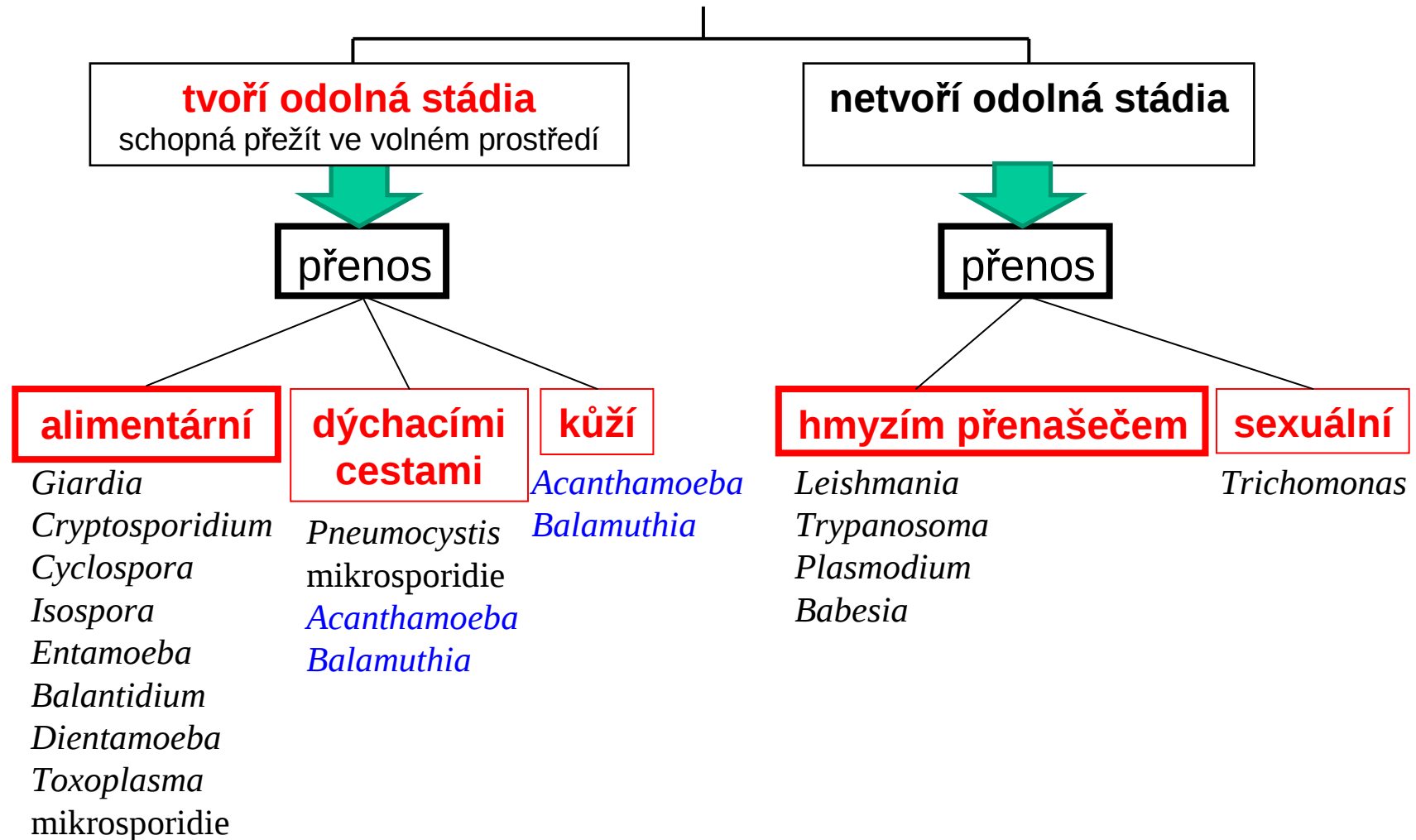
(mikrosporidie)



intracelulární

PARAZITIČTÍ PRVOCI

dělení podle způsobu přenosu



PARAZITIČTÍ PRVOCI

dělení podle infikovaných orgánů/soustav



CNS

Naegleria
Acanthamoeba
Balamuthia
Toxoplasma
Plasmodium
Trypanosoma

plíce

Pneumocystis

játra

Entamoeba

GIT

tlusté střevo

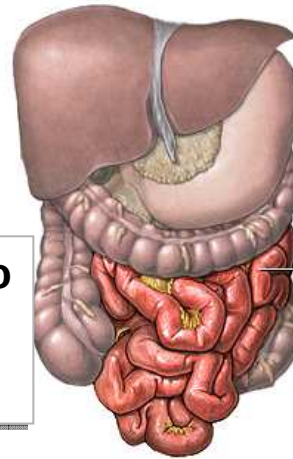
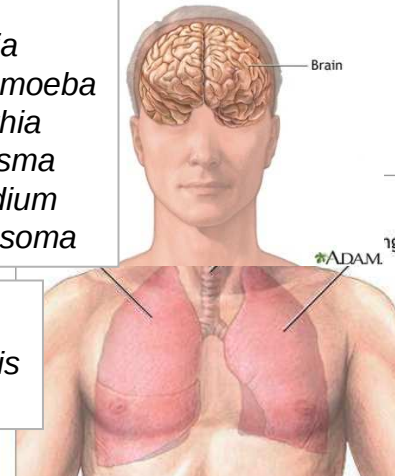
Entamoeba
Dientamoeba
Balantidium

CÉVNÍ/LYMFATICKÝ SYSTÉM

Leishmania
Trypanosoma
Plasmodium
Babesia

tenké střevo

Giardia
Cryptosporidium
Cyclospora
Isospora
mikrosporidie



PŮVODCI ALIMENTÁRNÍCH NÁKAZ

střevní parazitičtí prvoci 1.

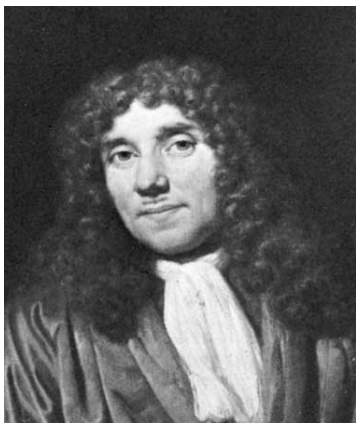
Giardia intestinalis

Cryptosporidium hominis

Cyclospora cayetanensis

Isospora belli

- nepronikají stěnou trávicí soustavy
- nevyvolávají zánět



Antonius A. Leeuwenhoek

1681

první parazitický prvok,
kterého spatřilo lidské oko

Giardia intestinalis

(synonymum: *Giardia lamblia*, *Lambliia intestinalis*)

patogenní střevní bičíkovec
parazituje v lumen tenkého střeva
onemocnění: giardióza (lamblióza)



Vilém Dušan Lambl

1859

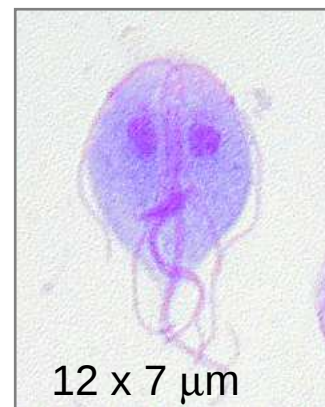
PŮVODCE: *Giardia intestinalis* tvoří **2 stádia**

1. TROFOZOIT

= vegetativní stádium

bičíkatá forma

= **patogenní stádium**



adhezivní disk

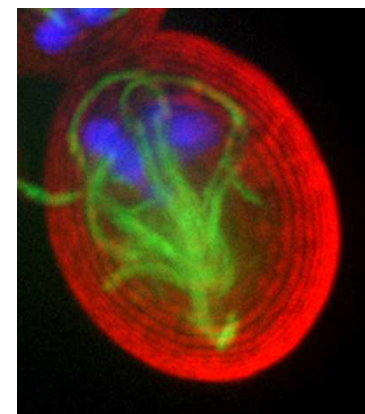
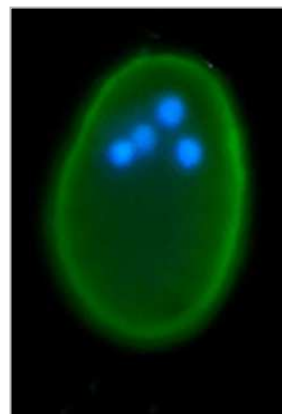
2. CYSTA

= odolné stádium

nepohyblivá „klidová“ forma

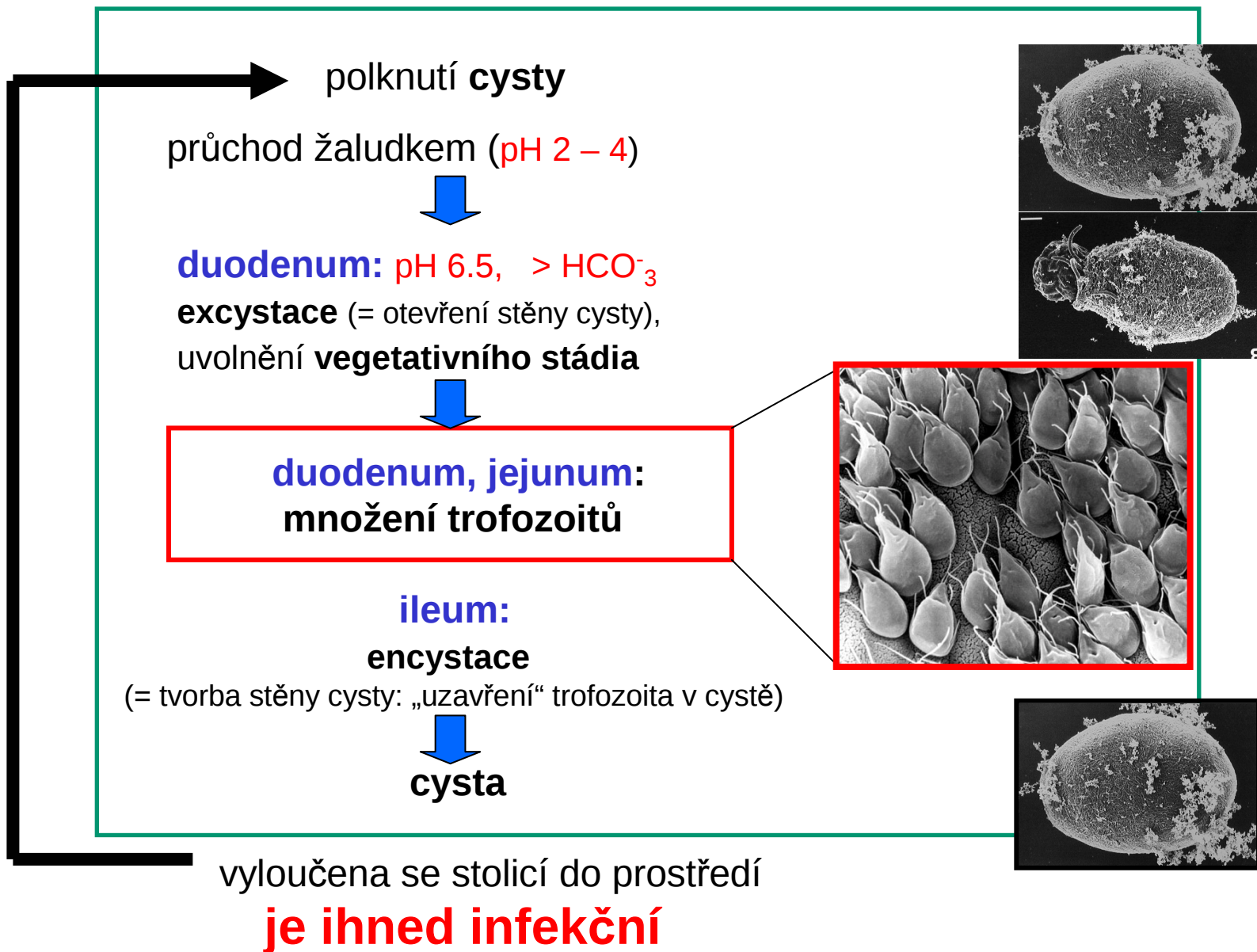
vlhko, nízká teplota, zmrazení,
běžná chlorace vody

= **infekční stádium**



stěna cysty

ŽIVOTNÍ CYKLUS *Giardia intestinalis*



PATOGENNÍ PŮSOBENÍ GIARDIÍ

Duodenum, jejunum

nehostinné podmínky:

- fluktuace kyslíku
- rychlý průtok tráveniny
- žluč, enzymy slinivky

normální osídlení bakteriemi: **velmi nízké**

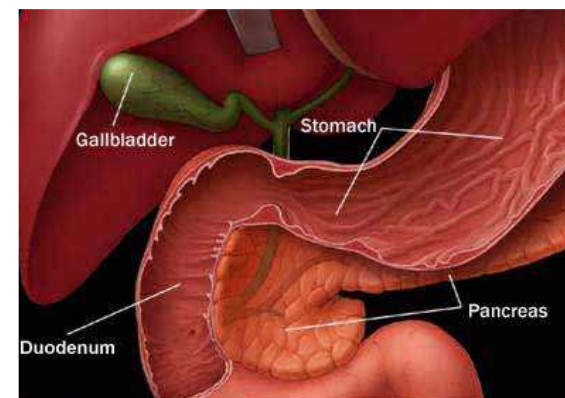
Trofozoity giardií

reverzibilně přichyceny k povrchu epitelu

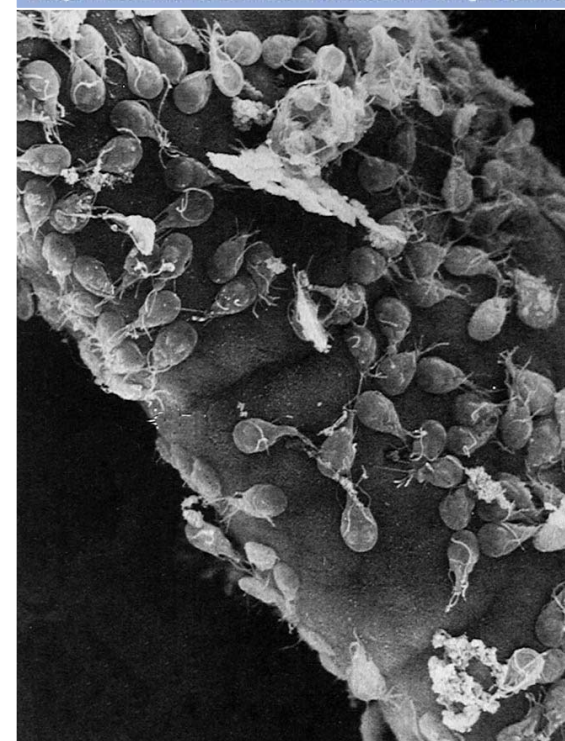
(**obrana před „spláchnutím“ střevním obsahem**)

přichyceny podél klku, uvolňují se na vrcholu

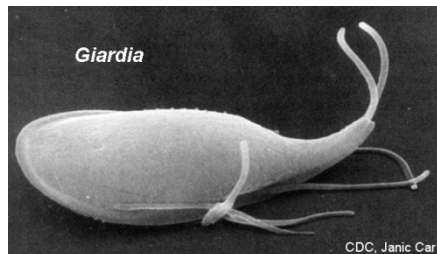
metabolismus: **závislý na vnějších zdrojích živin**



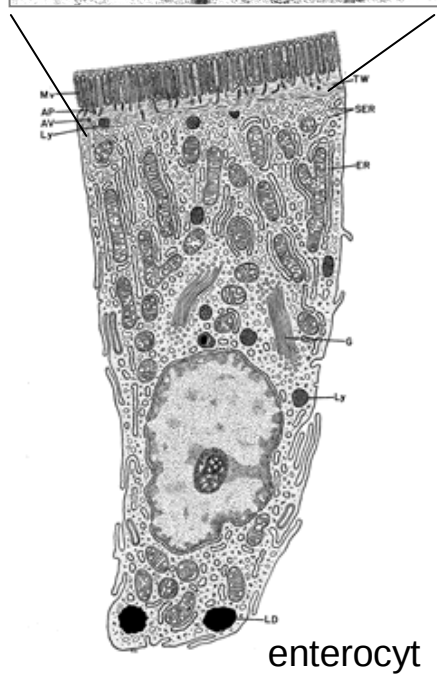
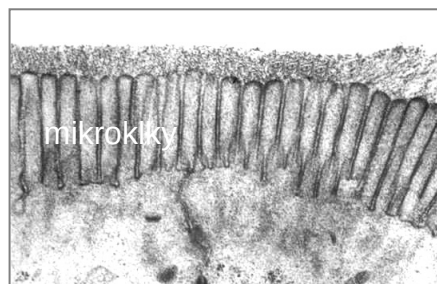
© Mayo Foundation for Medical Education and Research. All rights reserved.







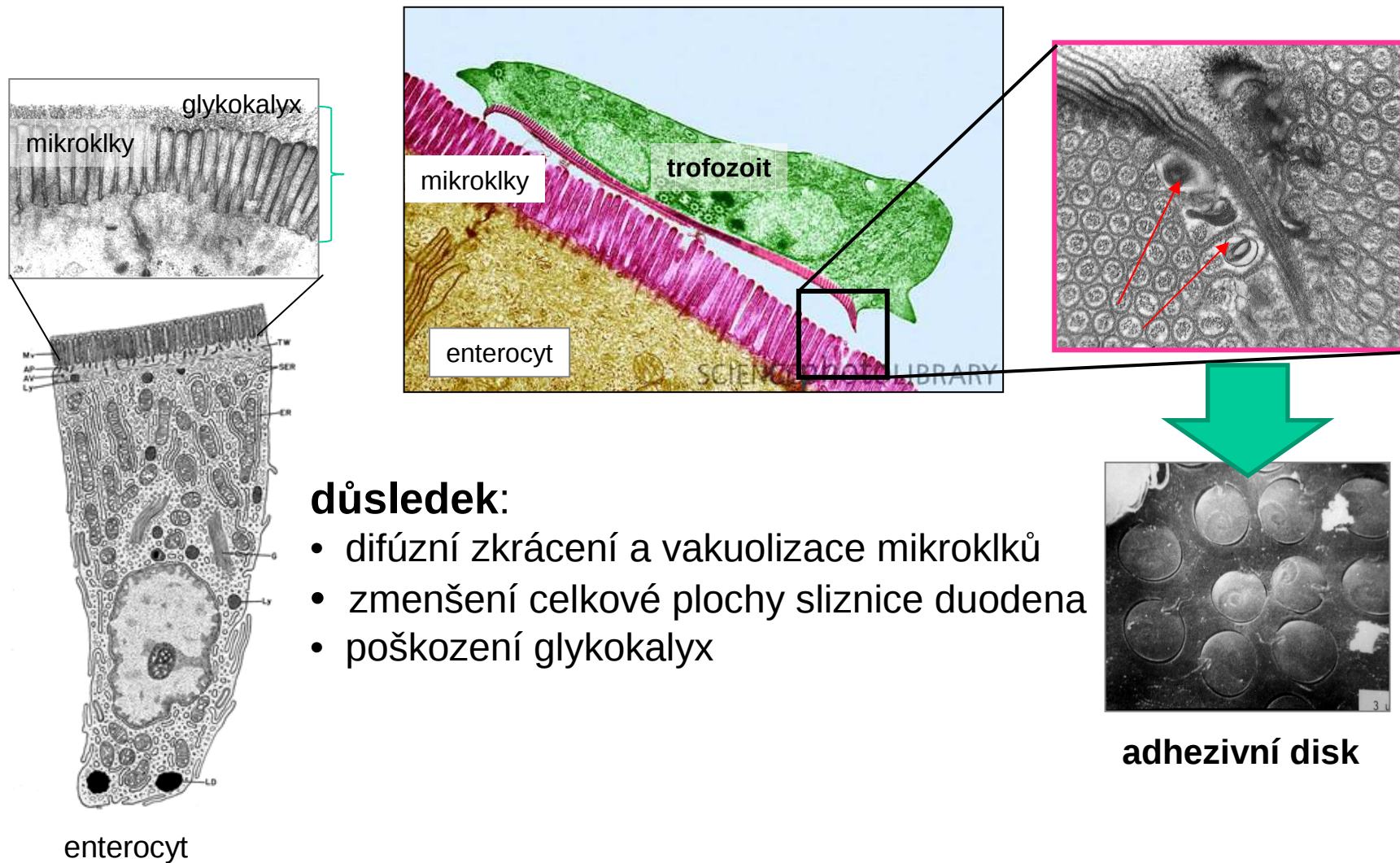
adhezivní disk



PATOGENNÍ PŮSOBENÍ GIARDIÍ

- nevnikají do enterocytů
- neprodukují toxin
- během přichycení k epitelu:
těsný kontakt giardií s kartáčovým lemem

PATOGENNÍ PŮSOBENÍ GIARDIÍ



PATOGENEZE

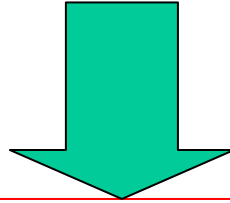
nákaza vyvolává zhoršení trávicí a absorpční funkce enterocytů

- malabsorpce cukrů (poškození disacharidáz kartáčového lemu)
- malabsorpce tuků a v tukách rozpustných vitamínů
(inhibice pankreatické lipázy)

další mechanismy

střevní hypermotilita: snížená resorpce tekutin

PATOGENEZE



osmotický průjem

tenké střevo: ↓ vstřebávání vody, ↑ sekrece vody

tlusté střevo: disacharidy štěpeny bakteriemi

- osmoticky aktivní produkty (laktát)
- plyny (H_2 , CO_2 , CH_4)

steatorhea

20-letý muž navštívil lékaře pro několik dnů trvající průjmy.

Udává denně **5-6 řídkých, světlých, silně páchnoucích stolic mastného vzhledu**, někdy **s hlenem**, ale **bez příměsi krve**.

Rovněž si stěžuje na bolesti břicha a pocit na zvracení, teplotu nemá.

OA: 2 měsíční prázdninový pobyt v Indii

stravoval se z místních zdrojů, **pil převážně balenou vodu**, ale **ne vždy**,
během pobytu prodělal několik epizod průjmů, po Endiformu vymizely.

Před odletem do ČR opět průjmy, které přetrvávají.

AKUTNÍ CESTOVATELSKÝ PRŮJEM

KLINICKÝ OBRAZ GIARDIÓZY

1. asymptomatická kolonizace tenkého střeva
2. akutní průjem
3. chronický průjem s malabsorpcí

Manifestace nákazy **není závislá na stavu imunitního systému**

ASYMPTOMATICKÁ NÁKAZA

dospělí (vzácně děti): ~ 50% nakažených dospělých
???% spontánní likvidace původce

hlavní obranná funkce:
sekretorický imunoglobulin A (sIgA)

AKUTNÍ PRŮJEM

oblasti s vyšší prevalencí nákazy

(a) **malé děti, cestovatelé**

(b) **účastníci „vodních“ epidemií**

inkubační doba: 12-20 dnů

klinické příznaky: **nevolnost, nechutenství, nadýmání
bolest břicha, zvracení, váhový úbytek**

bez teplot

průjem

stolice: objemná, kašovitá – vodnatá,
silně páchnoucí
mastný vzhled
bez příměsi krve

trvání: 2-4 týdny

CHRONICKÝ PRŮJEM

malé děti < 6 let

KOMPLIKACE:

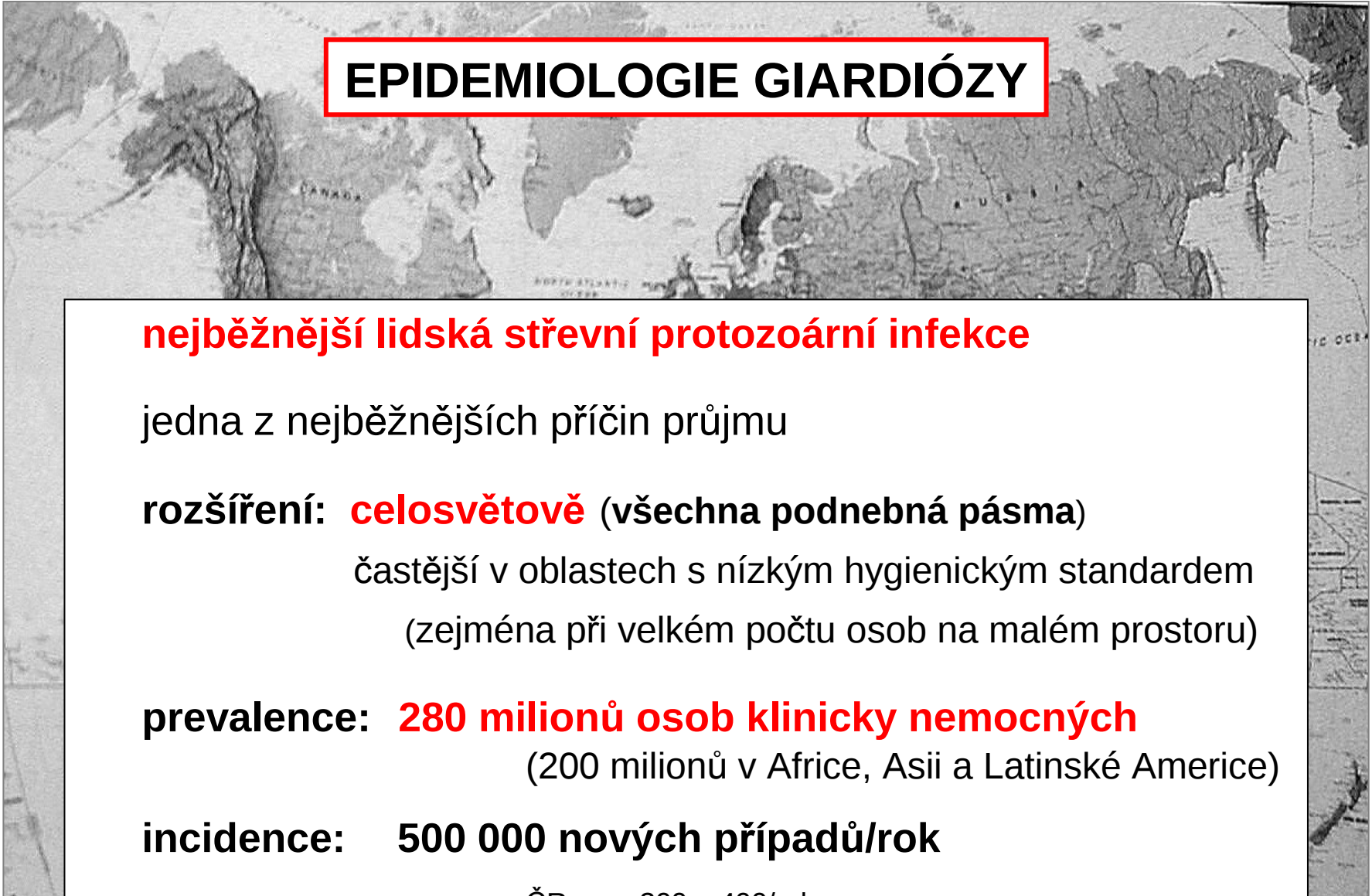
malabsorpční syndrom

malabsorpce: tuků

disacharidů

nedostatek vitaminů rozpustných v tucích (A, D, E, K)

- zpomalení růstu, neprospívání
- zpomalení vývoje kognitivních funkcí
- anémie z nedostatku železa

A grayscale world map serves as the background for the slide. The title 'EPIDEMIOLOGIE GIARDIÓZY' is centered at the top in a red-bordered box. Below it, a white box contains text about giardiasis. The map shows continents and oceans, with labels like 'CANADA', 'AUSTRALIA', and 'INDIC OCEAN' visible.

EPIDEMIOLOGIE GIARDIÓZY

nejběžnější lidská střevní protozoární infekce

jedna z nejběžnějších příčin průjmu

rozšíření: celosvětově (všechna podnebná pásma)

častější v oblastech s nízkým hygienickým standardem
(zejména při velkém počtu osob na malém prostoru)

prevalence: 280 milionů osob klinicky nemocných
(200 milionů v Africe, Asii a Latinské Americe)

incidence: 500 000 nových případů/rok

ČR: 300 – 400/rok

USA: 20 000/rok (4 500 hospitalizovaných)

EPIDEMIOLOGIE GIARDIÓZY

Nakazit se mohou všechny věkové skupiny

- **fekálně – orální cestou** (člověk – člověk)

- (a) nízká hygiena, špatné hygienické návyky (rozvíjející se země)

- (b) dětské kolektivy (předškolní děti – MŠ)
sexuální styk



- **vodou kontaminovanou cystami**

- (a) nízká hygiena, špatné návyky

- (b) „vodní“ epidemie

infekční dávka: nízká (~10 cyst)

nakažený člověk: vylučuje 10-100 milionů cyst/den týdny - měsíce

EPIDEMIOLOGIE GIARDIÓZY

Zdroj cyst ve vodě: **lidé, zvířata** → giardióza je **antropozoonóza**



genetická analýza giardií:

8 genotypů A-H (morfologicky nerozlišitelné)

genotyp A (**člověk**, dobytek, kočka, pes, bobr, morče)

genotyp B (**člověk**, činčila, pes, bobr, krysa)

genotypy C-H: zvířecí

EPIDEMIOLOGIE GIARDIÓZY

„VODNÍ“ EPIDEMIE: rozvinuté země

- kontaminovaná pitná voda
- kontaminovaná rekreační voda

Bergen, Norsko: 240 000 obyvatel



říjen 2004:

epidemie giardiózy

1300 potvrzených případů (odhad: až 2500 případů)

příčina: průsak z poškozené kanalizace do jezera

zdroj pitné vody: jezero Svartediket
dezinfekce vody: chlorování

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA střevních protozoárních nákaz

PŘÍMÝ PRŮKAZ

MATERIÁL:

a. stolice

b. duodenální šťáva

c. seškrab nebo biopsie sliznice střeva

NEPŘÍMÝ PRŮKAZ PROTILÁTEK:

není diagnosticky přínosný (výjimka: amébová kolitida)

VYŠETŘENÍ STOLICE = koprologické vyšetření

OBECNÉ SCHÉMA:

- **3 vzorky** velikosti lískového oříšku (nepravidelné vylučování parazitů)
- **odběry alespoň obden** (nepravidelné vylučování parazitů)
- **1 vzorek čerstvý: průkaz trofozoitů** (dysenterické améby)
(1-2 hodiny, uchovat při pokojové teplotě;!!! NE do lednice)
- **2 vzorky: průkaz cyst**
(skladovat v lednici, ale max. 48 hodin; nesmí zmraznout!!)

VÝTĚR NA TAMPONU ZCELA NEVHODNÝ!

VYŠETŘENÍ STOLICE

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ZÁCHYT PARAZITŮ VE STOLICI

- **antibiotika, protiprůjmové léky** (vliv na střevní bakteriální flóru)
- **kontrastní látky (barium) používané při vyšetření zažívacího traktu**

Vyšetření stolice lze provést teprve 2 týdny po ukončení antibiotické léčby nebo po aplikaci baria.

- **minerální olej**
- **živočišné uhlí**
- **použité metody**

METODY VYŠETŘENÍ STOLICE

- MIKROSKOPIE
 - koncentrační metody
 - nativní preparát
 - specializované barvicí metody
- PRŮKAZ ANTIGENU
- PRŮKAZ DNA
- KULTIVACE

KONTROLNÍ VYŠETŘENÍ STOLICE

- **provést vždy** (možná rezistence)
- **nejdříve 3 týdny po ukončení terapie**

Odběr materiálu a schéma shodné s počátečním vyšetřením

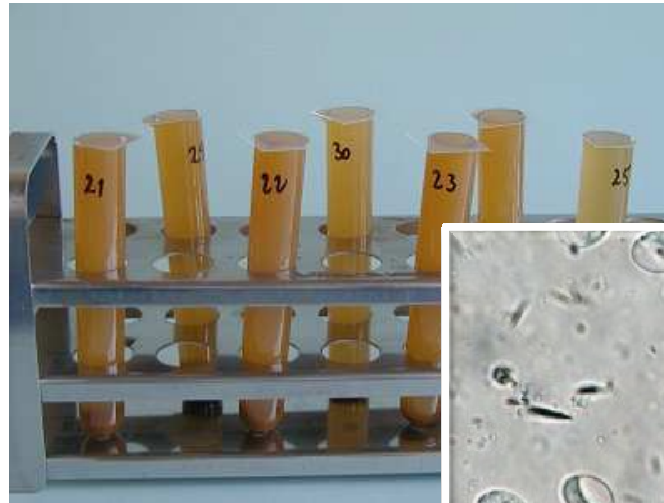
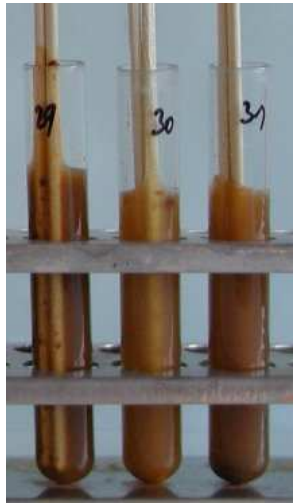
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA GIARDIÓZY

Přímý mikroskopický průkaz cyst a/nebo trofozoitů

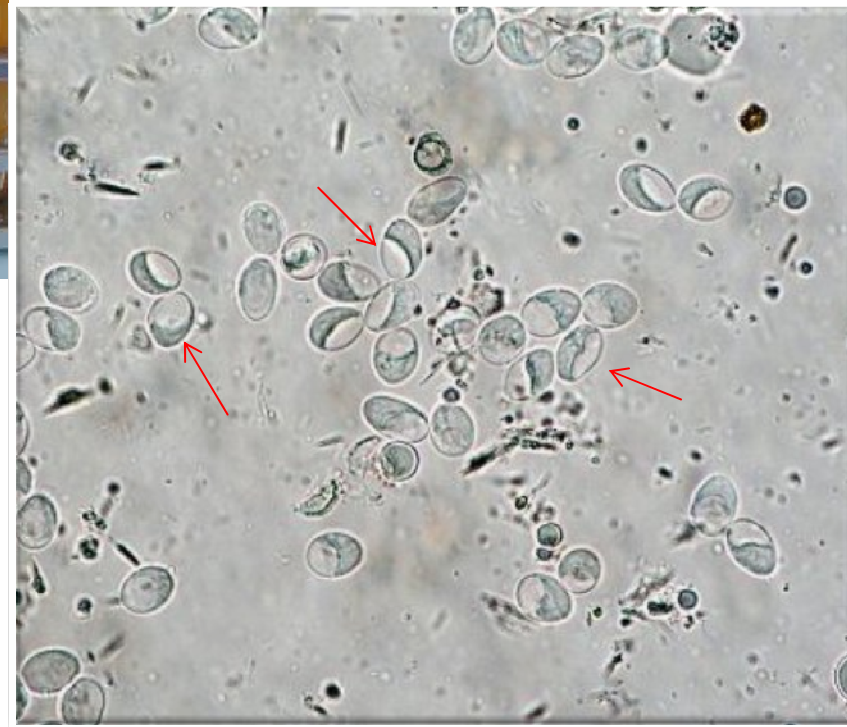
MATERIÁL

- **stolice:** průkaz **cyst** (v čerstvé průjmovité stolici i **trofozoity**!)
metody: nativní preparát, barvený preparát, koncentrace
- duodenální šťáva: průkaz **trofozoitů**
- duodenální biopsie: průkaz **trofozoitů**

STOLICE



Koncentrace:
Faustova flotační metoda
průkaz cyst



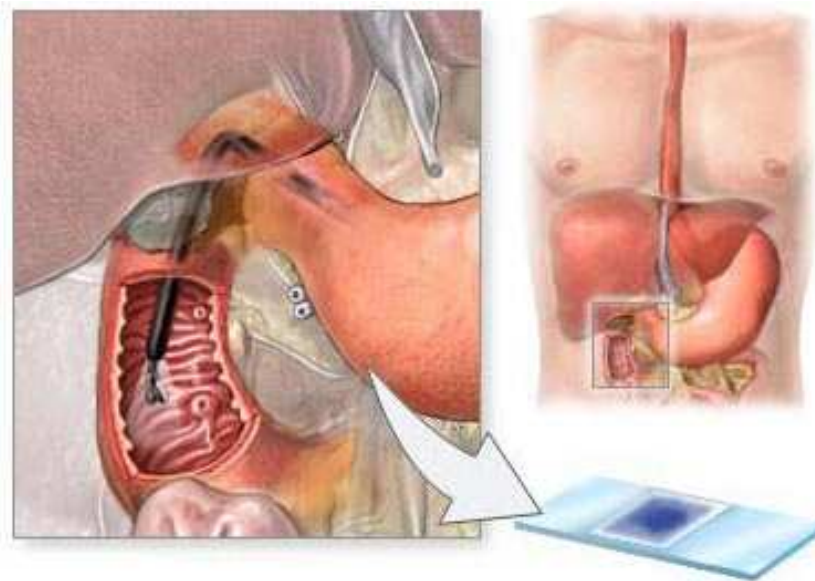
cysty *Giardia intestinalis* v nativu

DUODENÁLNÍ ŠŤÁVA

KDY VYŠETŘIT:

při **důvodném podezření** a opakovaně negativní stolici
(**děti předškolního věku, které neprospívají, nerostou, jsou anemické**)

ODBĚR DUODENÁLNÍ SONDOU



duodenální šťáva

čerstvá: vyšetřit **do 30 minut od odběru**

DUODENÁLNÍ BIOPSIE

(obvykle nejde o cílený odběr pro průkaz giardií)



Histopatologické zpracování

TERAPIE

- **5-nitroimidazoly** (metronidazol): **léky volby**
mechanismus účinku: vznik toxických radikálů
- **benzimidazoly** (albendazol)
mechanismus účinku: inhibice polymerizace mikrotubulů

paromomycin
furazolidon
nitazoxanid



cytoskelet giardií
tvořený mikrotubuly

PREVENCE

- dodržování hygienických pravidel
- pití balené vody
- převaření vody určené na pití, čištění zubů



Přirozená ochrana kojenců: **mateřské mléko**
(nenasycené mastné kyseliny lidského mléka giardie ničí)



Cryptosporidium hominis

Cryptosporidium parvum

patogenní střevní kokcidie (Apicomplexa)

primárně infikuje sliznici tenkého střeva

napadá a vyvíjí se uvnitř enterocytů = intracelulární

onemocnění: **kryptosporidióza** = oportunní nákaza

1976: první případ nákazy člověka

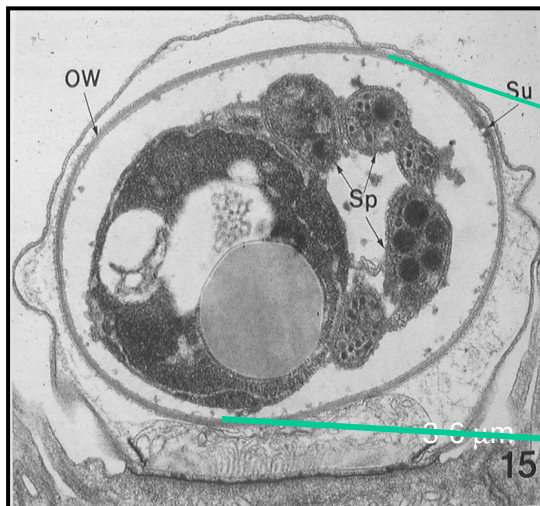
PŮVODCE *Cryptosporidium* tvoří **několik** stádií

OOCYSTA

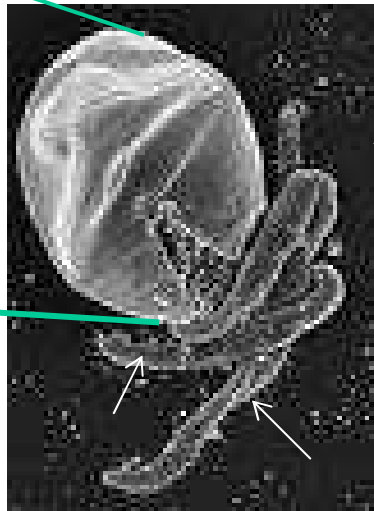
= odolné **silnostěnné stádium**

nepohyblivá „klidová“ forma

= **infekční stádium**



oocysta obsahuje
4 sporozoity



MEROZOIT

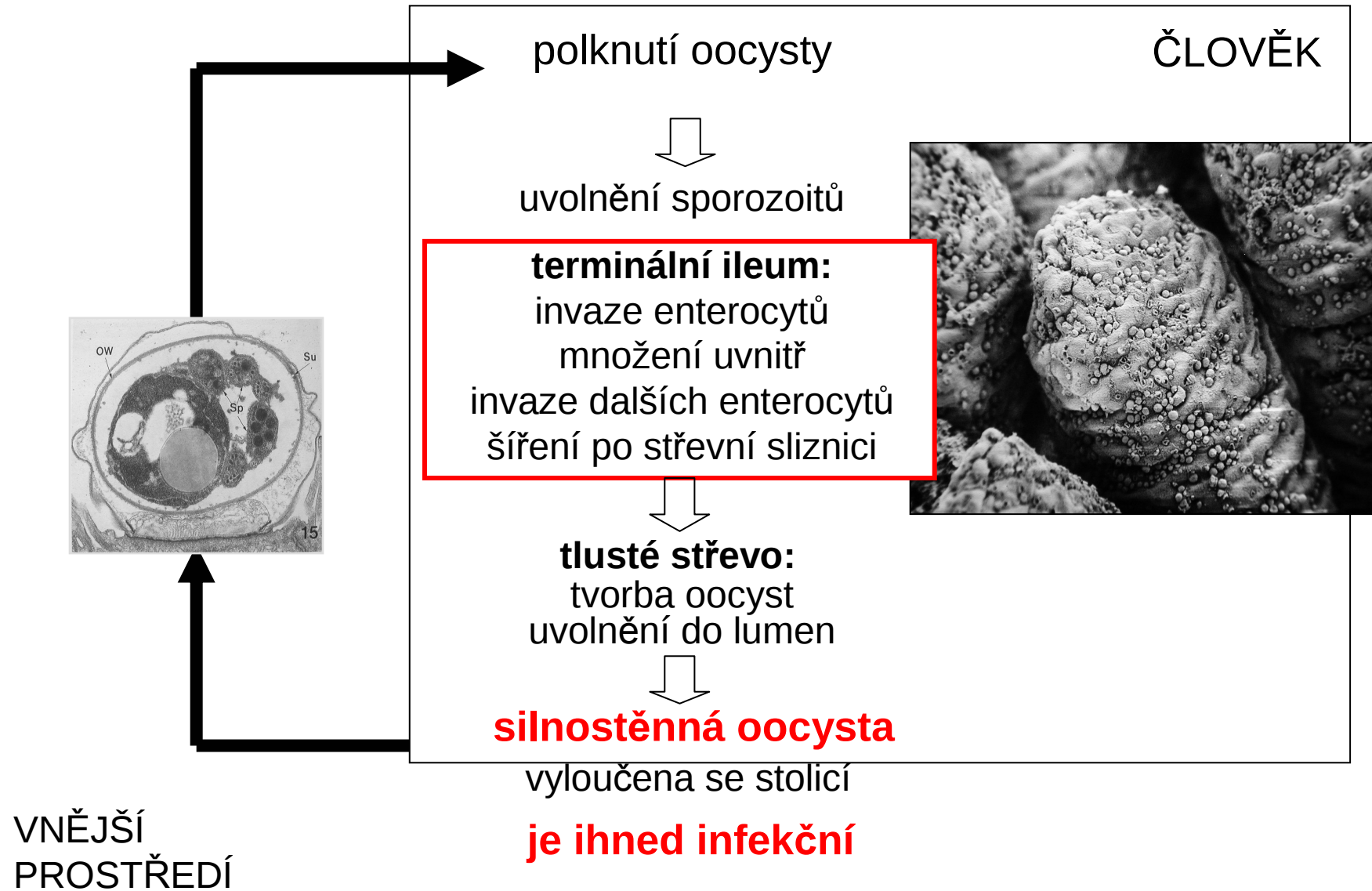
= vegetativní stádium

množí se intracelulárně

= **patogenní stádium**



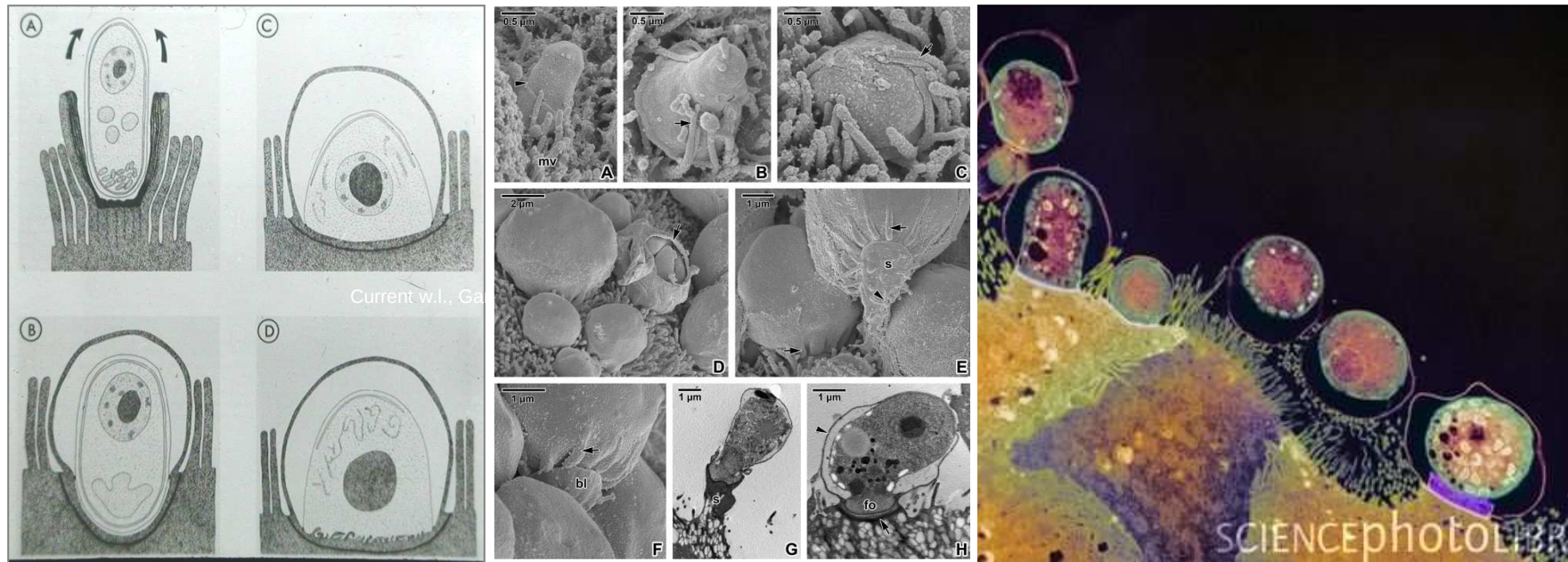
ŽIVOTNÍ CYKLUS



INVAZE ENTEROCYTU

unikátní manipulace s enterocytem

přichycení, obrůstání mikrokylky, uzavření do parazitoformního váčku



Parazit

= uzavřen uvnitř enterocytu, ale vně jeho cytoplazmy:

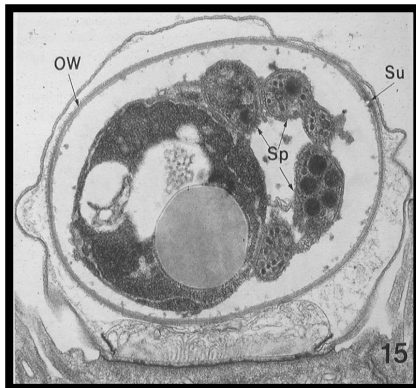
intracelulární parazit, uložen extracytoplazmaticky

Výhoda: vývoj mimo dosah obranných reakcí hostitele

ŽIVOTNÍ CYKLUS

V tlustém střevě se tvoří 2 typy oocyst

silnostěnná oocysta

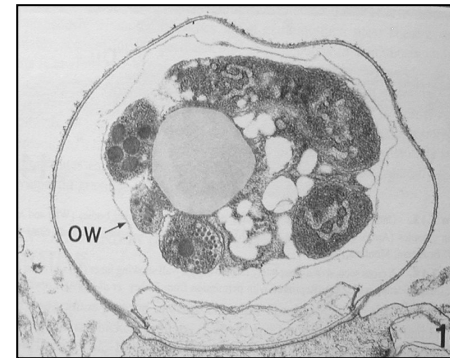


vyloučena se stolicí
ihned infekční



NOVÁ INFEKCE
šíření nákazy

tenkostěnná oocysta

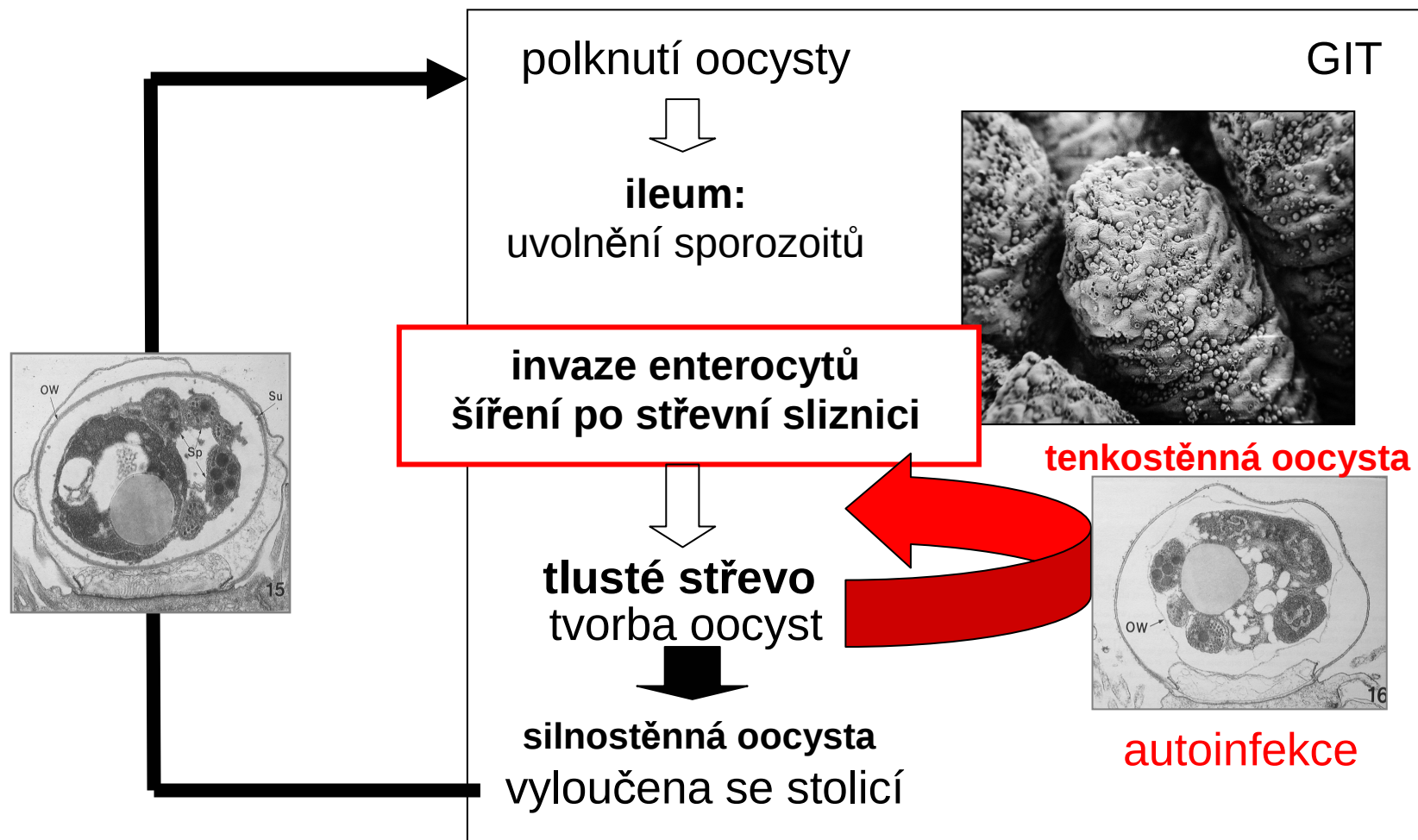


zůstává ve střevě
sporozoity se uvolní v lumen



AUTOINFEKCE
zvýšení počtu parazitů ve střevě

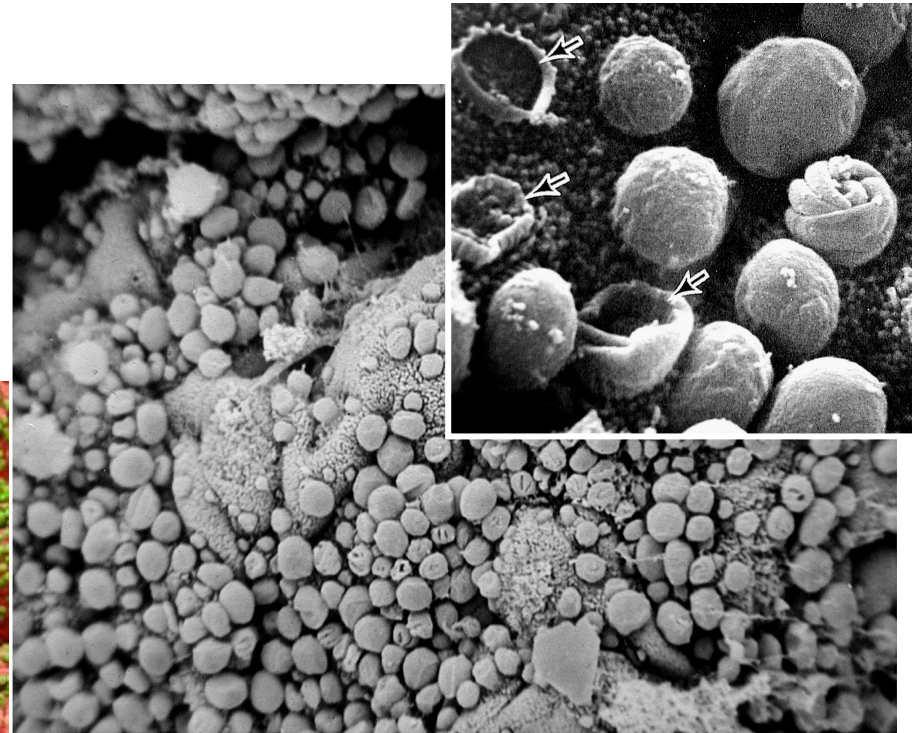
ŽIVOTNÍ CYKLUS



VNĚJŠÍ
PROSTŘEDÍ

PATOGENNÍ PŮSOBENÍ KRYPTOSPORIDIÍ

- neprodukují toxin
- vnikají do enterocytů
- vyvolávají apoptózu okolních enterocytů



NÁKAZA SE ŠÍŘÍ PO SLIZNICÍCH

- celý GIT
- žlučovody, žlučník, pankreas
- hrtanem do dýchacího traktu

PATOGENNÍ PŮSOBENÍ KRYPTOSPORIDIÍ



infikují klky i krypty:

- úbytek mikrokloků
ztráta absorpčního epitelu
mal digesce, malabsorpce
- zkrácení a fúze kloků,
prohloubení krypt
- útlum resorpce elektrolytů
- zvýšená sekrece v oblasti krypt

sekretorický průjem

33letý nemocný s ne-Hodgkinovým periferním **lymfomem** byl přijat pro **2 dny trvající zvracení, průjmy, kachektizaci** a svalovou slabost. Po příjmu byl rehydratován pro **výraznou minerálovou dysbalanci** (hypokalemie, hyponatremie). Zpočátku léčen jako CMV akutní infekce, následně pro zhoršení stavu nasazena imunosupresivní léčba. Později zjištěno **rozšíření žlučových cest**. V biopsii sestupného tračníku nalezena intracelulárně i extracelulárně protozoa, kryptosporidie či mikrosporidie.

KLINICKÝ OBRAZ KRYPTOSPORIDIÓZY

závisí na stavu imunitního systému

- imunokompetentní osoby: **akutní průjem**
- imunodeficitní osoby: **chronický průjem**

AKUTNÍ PRŮJEM

IMUNOKOMPETENTNÍ OSOBY

- inkubační doba: 3 -10 dnů
- trvání: dny až 2-3 týdny (9-15 dní)
- odezní spontánně bez léčby, úplné uzdravení
- **neohrožuje nakažené osoby**
- **příznaky:** vodnatý průjem, nevolnost, nechutenství, zvracení, váhový úbytek
stolice: vodnatá, zelená, páchnoucí, **bez krve, bez hnisavé příměsi**

hlavní mechanismus obrany: **produkce antimikrobiálních peptidů aktivovanými makrofágy (rezidentní makrofágy stimulované IFN- γ)**

předchozí nákaza nevyvolává protektivní imunitu

Malé děti (< 2 roky) v rozvojových zemích: podvýživa, zpomalení vývoje

CHRONICKÝ PRŮJEM

OSOBY S IMUNODEFICITEM (především s postižením funkce T lymfocytů)
chronický, život ohrožující vodnatý průjem (ČR: 3 osoby zemřely)

AIDS $CD4+T < 100/mm^3$ (= kritická hodnota)

- **celé střevo:** po rektum, horní partie GIT vč. jícnu
24% osob s AIDS: nezvladatelný průjem, připomínající cholera
dehydratace, minerálový rozvrat
- **mimostřevní nákazy:** žlučovody, žlučník, dýchací trakt

HAART= Highly Active AntiRetroviral Therapy

při chronickém průjmu: stimuluje rezidentní makrofágy $IFN-\gamma$ z $CD4+ T$

lymfocytů

Průjem přetrvává i po úplném vysazení potravy
(dehydratace při chronické kryptosporidióze)

EPIDEMIOLOGIE

- rozšíření: celosvětově (v ČR vzácně)
- počty infikovaných osob ??? vysoké



EPIDEMIOLOGIE

KDO SE MŮŽE NAKAZIT:

všechny věkové skupiny

častěji malé děti < 5 let

ZPŮSOB PŘENOSU:

obdoba *Giardia intestinalis* – časté paralelní infekce

- **fekálně – orální cestou** (člověk-člověk) *C. hominis*
- **vodou kontaminovanou oocystami**

„vodní“ epidemie: největší v USA v roce 1993: ~ 400 000 lidí

- rekreační vody (bazény)
- zdroje pitné vody

zdroj kontaminace: člověk (může být asymptomatický) *C. hominis*

domácí zvířata (skot, ostatní ???) *C. parvum* = zoonóza

infekční dávka: velmi nízká (**2-10 oocyst**)

infikovaná osoba vylučuje miliony oocyst denně!!!

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Přímý mikroskopický průkaz

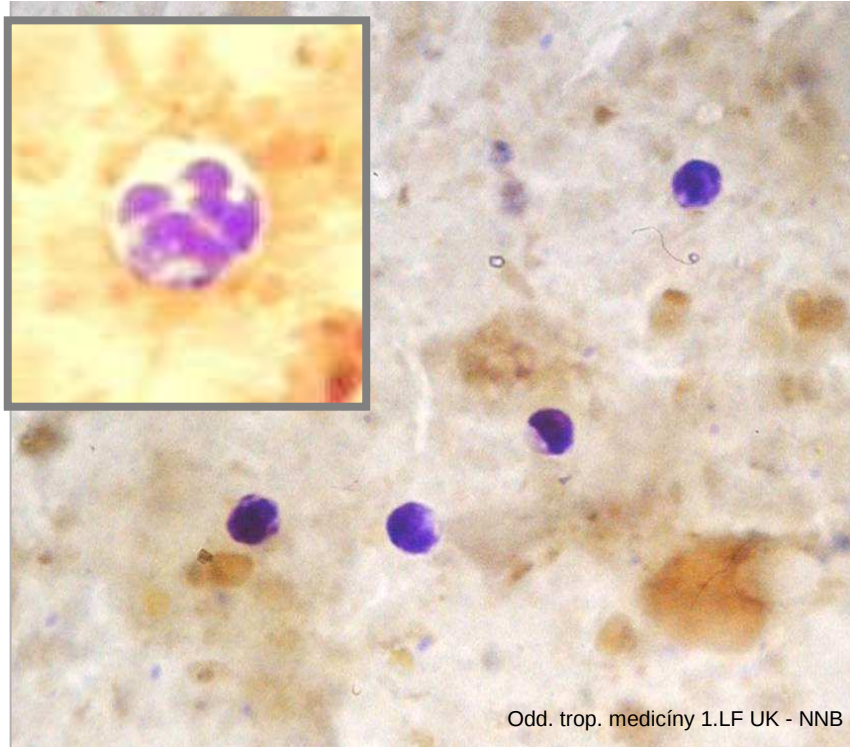
MATERIÁL:

- **stolice:** průkaz **oocyst** (10^{10} v akutní fázi nákazy)
- **biopsie, sekční materiál:** průkaz **všech stádií kryptosporidií**

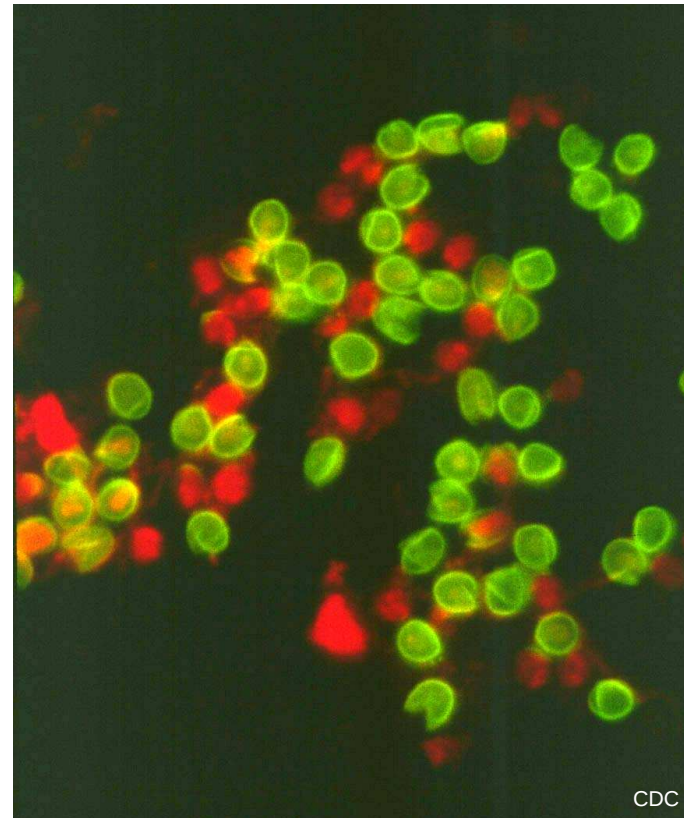
STOLICE

Mikroskopické metody:

- speciální barvení: Ziehl-Neelsen, Miláček
- průkaz antigenu

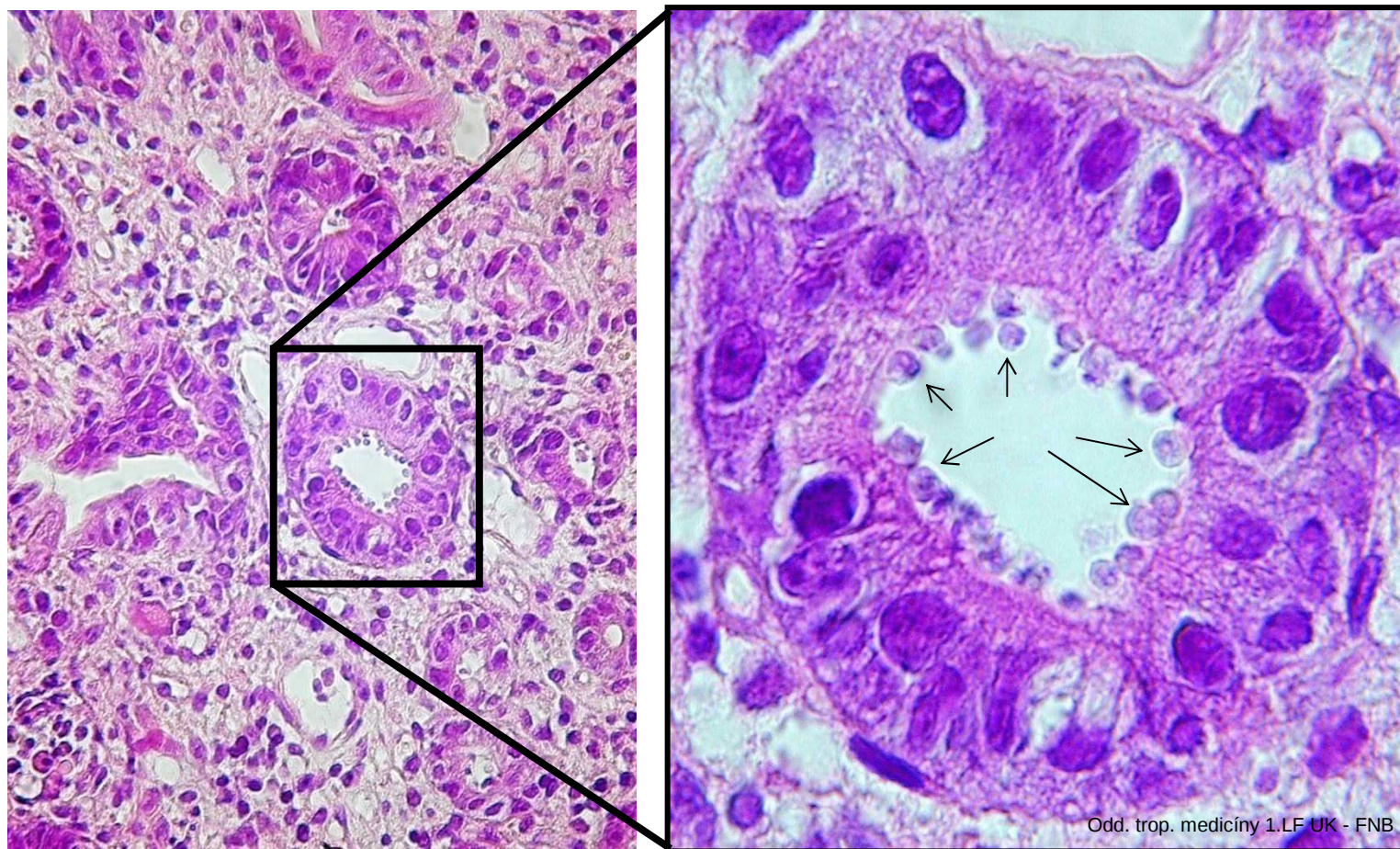


oocysta: velmi malá (3-5 μm);
barví se intenzivně červenofialově



oocysty: imunofluorescence

BIOPSIE SLIZNIC, SEKČNÍ MATERIÁL



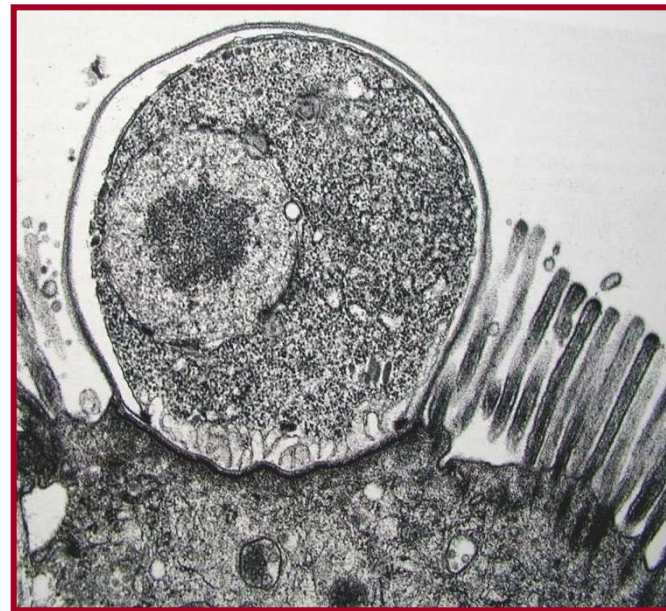
Průkaz vývojových stádií kryptosporidií na histologických řezech

TERAPIE

NENÍ ÚČINNÁ SPECIFICKÁ LÉČBA

Rezistence kryptosporidií k řadě léků → lokalizace parazita

- podpůrná léčba
 - rehydratace
 - zlepšení imunity
- HAART



paromomycin
nitazoxanid

Cyclospora cayetanensis

patogenní střevní kokcidie (Apicomplexa)
vniká do enterocytů = intracelulární
onemocnění: cyklosporiáza



EPIDEMIOLOGIE CYKLOSPORIÁZY

1970-85: první případy nákazy (Nová Guinea, Haiti)

1986-90: první epidemický výskyt (zdroj: pitná voda)

Nepál: 50 britských vojáků

USA: 21 zaměstnanců nemocnice v Chicagu

1994: popis původce ***Cyclospora cayetanensis*** (Peru)

1996: epidemie v USA a Německu spojené s importem ovoce

??? počet případů

EPIDEMIOLOGIE CYKLOSPORIÁZY

rozšíření: **celosvětově (?)**
endemické oblasti: Karibské ostrovy (Kuba, Haiti, Dominikánská rep.)
Mexiko, Peru, Nepál
výskyt: sezónní **jaro, léto** (souvisí s obdobími dešťů)

přenos: **potravinami**
kontaminovanými zralými oocystami

- **ovoce bez slupek (maliny)**
- **listová zelenina**

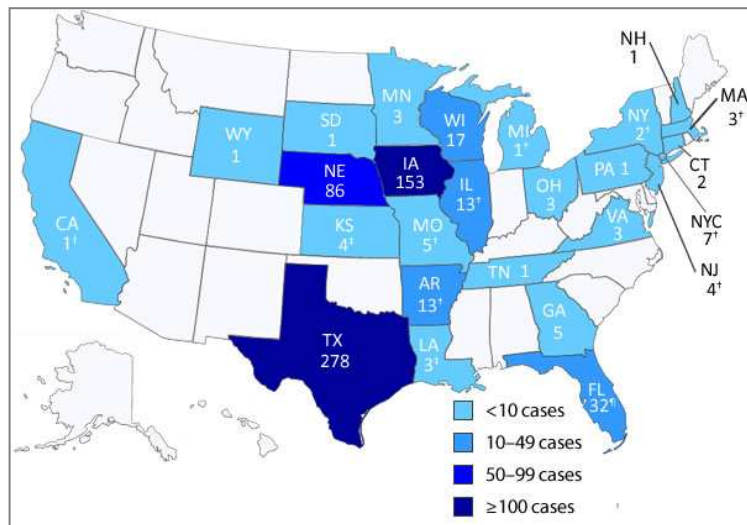


!!! přímý přenos z člověka na člověka nebyl prokázán

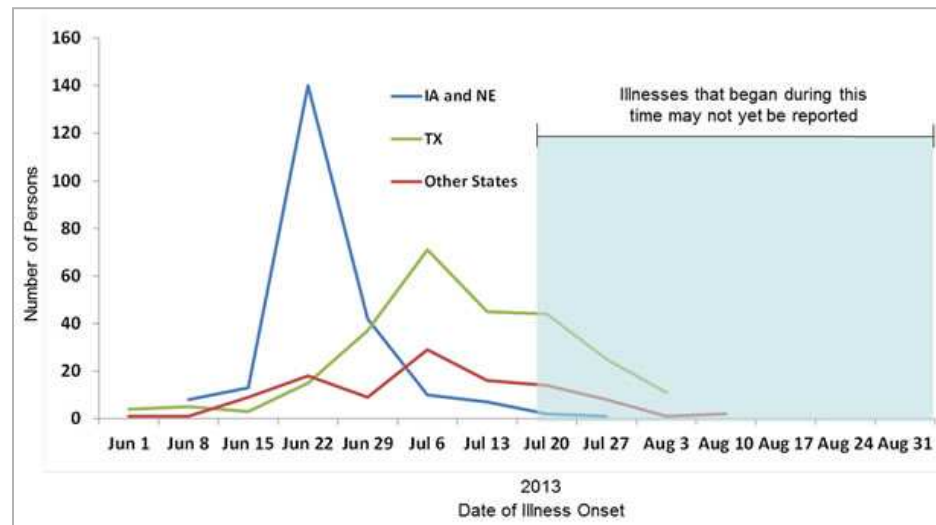
zdroj nákazy: **člověk** (žádný zvířecí rezervoár nebyl nalezen)

ČR: pouze importované případy

Epidemie cyklosporózy USA 2013: celkem 630 osob



Údaje: 20/9/2013



Zdroj: salát importovaný z jedné farmy v Mexiku

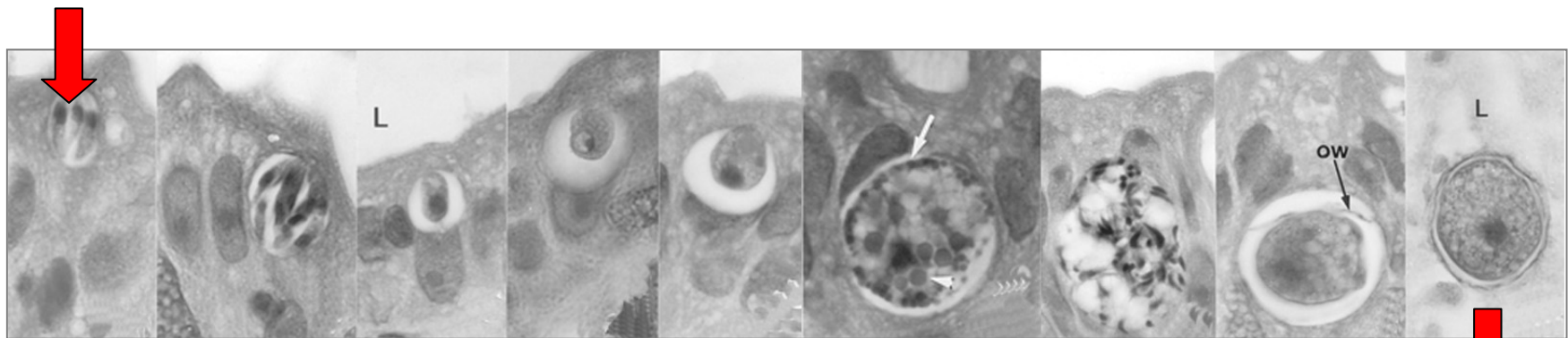
ŽIVOTNÍ CYKLUS

polknutí infekční oocysty

jejunum:

uvolnění sporozoitů

průnik sporozoitu **do enterocytu**



ve stolici vylučovány „**nezralé**“ **neinfekční oocysty**
zrají na vzduchu v závislosti na teplotě

25–30°C: 1 – 2 týdny

4°C: 6 měsíců

oocysta

KLINICKÝ OBRAZ CYKLOSPORIÁZY

inkubační doba: 1 týden

příznaky: období vodnatých průjmu s nechutenstvím a nevolností
se střídají s obdobími bez obtíží event. se zácpou

imunokompetentní osoby:

trvání: několik týdnů, ?? odezní spontánně

imunodeficitní osoby

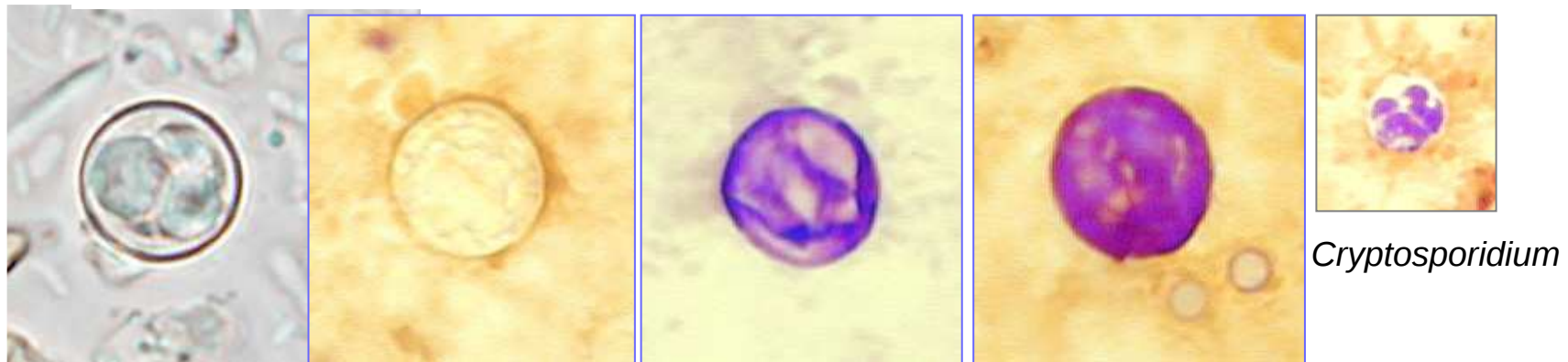
trvání: několik měsíců nezávisle na léčbě

Asymptomatické nákazy v endemických oblastech

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Přímý mikroskopický průkaz

oocyst ve stolici (barvený preparát, metoda jako pro *C.parvum*)



oocysty kulaté, 10 μm , nejednotné barvení)

!!! autofluorescence !!!

ve světle krátké vlnové délky (360-380 nm)

„Cyanobacterium-like“ organismy



TERAPIE

Trimetoprim-sulfamethoxazol (Co-trimoxazol)
mechanismus účinku: inhibice metabolismu kyseliny listové