

# Laboratorní diagnostika parazitárních infekcí

Zuzana Čermáková<sup>1</sup>, Barbora Voxová<sup>1</sup>, Olga Ryšková<sup>1</sup>, Zbyněk Valenta<sup>2</sup>, Stanislav Plíšek<sup>3</sup>, Petr Prášil<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN Hradec Králové

<sup>2</sup>Ústřední vojenský zdravotní ústav Praha, Centrum biologické ochrany Těchonín

<sup>3</sup>Klinika infekčních nemocí LF UK a FN Hradec Králové

## Souhrn

Sdělení seznamuje lékařskou veřejnost s principy a významem laboratorních technik – morfologických i sérologických používaných v diagnostice helmintárních a protozoárních infekcí člověka. Součástí přehledu jsou rovněž praktické rady pro odběr a transport vzorků biologického materiálu

## Summary

### Laboratory diagnostics of parasitic infections

The aim of this information presented to medical public is to introduce principles and importance of microbiological laboratory techniques (morphological and serological) used in diagnosis of parasitic dis-

eases caused by helminths and protozoa. Information also includes practical advices for sampling and transportation of samples taken from digestive tract, possible difficulties result interpretation and necessity of accepting specific biology of parasites. Proper anamnestic data are essen-

tial for optimal selection of investigated material and diagnostic methods.

tyšetřovaného materiálu i diagnostických metod.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** STŘEVNÍ PARAZITÉ, VZOREK STOLICE, AMEBIÁZA, ENTEROBIUS VERMICULARIS, ASCARIS LUMBRICOIDES

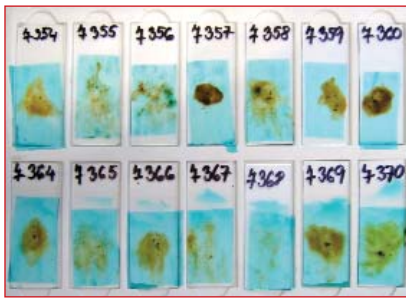
KEY WORDS: INTESTINAL PARASITES, STOOL SAMPLE, AMOEBIASIS, ENTEROBIUS VERMICULARIS, ASCARIS LUMBRICOIDES

Infekce způsobené jednobuněčnými (prvoci – protozoa) i vícebuněčnými (červi – helminti) parazity provázejí člověka po celou dobu jeho fylogenetického vývoje [1]. Vyskytují se i dnes na celém světě, ale s výrazně vyšší prevalencí v zemích teplého klimatu s nedostatečnou hygienickou úrovní a nekvalitní a často nevyváženou výživou. Zvyšující se počet parazitóz celosvětově souvisí mimo ostatních faktorů také s přibýváním osob s poruchami imunity (imunopresí) a s šířením onemocnění AIDS (acquired immunodeficiency syndrome). Z klinických vzorků těchto nemocných bývají izolováni i vzácněji se vyskytující parazité.

K nákaze střevními parazity dochází mnoha způsoby, nejčastěji však perorální cestou, a to vodou, půdou nebo potravinami obsahujícími vajíčka

červů nebo cysty prvoků, možný je i interhumánní přenos infekce kontaminovanými rukama a předměty [6]. Původci střevních parazitóz vegetují v duodenu, v dalších částech tenkého střeva i v tlustém střevě [1]. Klinické projevy nákazy mohou být u člověka různě vyjádřeny, závisí to na druhu parazita, jeho virulenci, množství a biologickém cyklu, který v organismu hostitele probíhá. Patogenní améby adherují k enterocytům, způsobují zvýšený přísun neutrofilních leukocytů na sliznici střeva, působí lýzu buněk i destrukci mezibuněčné hmoty s následnou invazí a diseminací do vzdálených orgánů. Nejčastějšími klinickými projevy střevních parazitárních nákaz bývají chronické bolesti břicha, protrahovaný průjem [6,9], plynatost, nauzea, nechutenství a další příznaky. Děti udávají zvýšenou únavnost,

ospalost, nechutenství, svědění v perianální oblasti, při nákaze škrkavkami je možný také kašel. V krevním obrazu bývá při infekcích helminty často pozorováno zmnožení počtu eozinofilů (eozinofilie), při protozoární nákaze se eozinofilie nevyskytuje [9]. Při klinickém podezření na infekci vyvolanou parazity je indikováno parazitologické vyšetření [8]. Krevní parazité pronikají do organismu většinou při bodnutí hmyzem, kde po průniku prodělávají v lidském těle složitý vývojový cyklus. V posledním období, v souvislosti se zvýšenou migrací obyvatel (cestováním do tropů a subtropů, přílivem žadatelů o azyl i turistů do naší země), se setkáváme v České republice i s výskytem parazitů, kteří jsou na našem území zaznamenáni zcela nově [9]. Pozoruje se také výskyt infekcí způsobených parazity, kteří se



Metoda dle Kato, parazitologické vyšetření stolice (foto B. Voxová).

na našem území začali znovu vyskytovat, po delším období, kdy nebyli jako původci nálezů diagnostikováni. Základním předpokladem úspěšné laboratorní diagnostiky parazitární nález u člověka je vhodný a správně odebraný vzorek klinického materiálu i volba příslušné laboratorní metody podle formy a stadia onemocnění.

V následujícím přehledu uvádíme nejčastěji doporučované obecné postupy a laboratorní metody diagnostiky střevních parazitárních nálezů v České republice. V dalších, postupně uveřejňovaných článcích se budeme podrobněji zabývat jednotlivými lékářsky důležitými parazity, jejich epidemiologií, diagnostickými možnostmi i nástiněm léčby infekcí.

## METODY DIAGNOSTIKY STŘEVNÍCH HELMINTÓZ A PROTOZOÓZ

### Vzorky biologického materiálu od nemocných [2-4,9]

Při klinickém podezření na infekci vyvolanou střevními parazity je indikováno parazitologické vyšetření stolice. Ve vzorcích stolice lze diagnostikovat jednobuněčné (protozoa – prvoky) i vícebuněčné (metazoa – červy) střevní parazity. Vzorek stolice o velikosti lískového až vlašského ořechu je třeba odebrat a uložit pomocí malé lopatky (upevněné v uzávěru odběrové nádoby) do plastické nádoby opatřené dobře těsnícím uzávěrem. Speciální kontejner je možné nahradit čistou nádobkou s uzávěrem, například lékovkou a vzorek odebrat dřevěnou lopatkou. Odebranou stolicí je

třeba uchovávat v chladničce (+ 4 °C), nesmí zmrznout, a pokud možno čerstvý klinický materiál doručit v uzavřené nádobce do laboratoře. Vzorek stolice k parazitologickému vyšetření nesmí být kontaminován močí a doprava do laboratoře má být co nejrychlejší, neboť po delší době dochází kvasnými procesy k narušení morfologie vegetativních stadií i cyst prvoků [9].

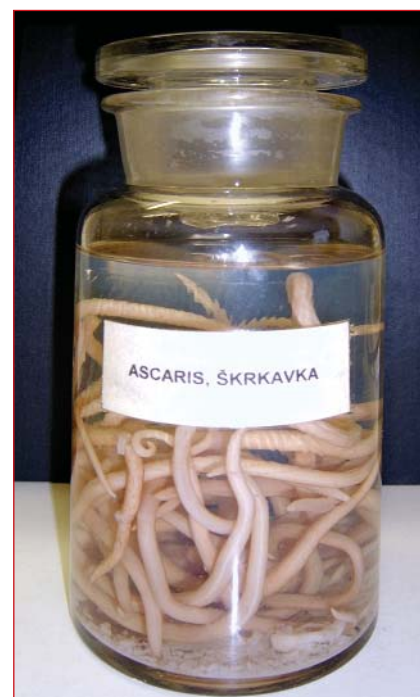
Pokud je stolice průjmová až vodnatá a lze předpokládat nález vegetativních stadií (trofozoitů) prvoků, je vhodné doručit vzorek do laboratoře do 30 min po defekaci, což je ovšem v praxi obvykle jenom stěží proveditelné. V laboratoři lze v některých případech stanovit diagnózu již po vizuálním vyšetření stolice, při kterém můžeme pozorovat celé červy (roupy, škrkavky) nebo jejich části (články tasemnice). Vajíčka červů ani prvoků nejsou vylučována pravidelně a proto je doporučováno provádět odběr stolice nejméně 3krát v intervalu 1–2 dny pro zvýšení citlivosti vyšetření. V běžně odebraném a uchovávaném vzorku stolice nalézáme vajíčka červů a cysty prvoků při chladničkové teplotě (+4 °C) zchovalé i několik dnů. Trofozoity (vegetativní stadia – např. *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*), nalézáme jen ve vzorku čerstvé stolice a takto odebraný vzorek nesmí vychladnout, aby se pohyb a vitální funkce prvoků nezastavily. V případě pacienta s trávicími potížemi (průjem!) po návratu z tropů a subtropů [9] je vhodné provést odběr čerstvého vzorku stolice přímo ve spolupráci s parazitologickou laboratoří. Vzorky určené pro transmisní elektronovou mikroskopii (běžně se nepoužívá), je nejvhodnější fixovat formaldehydem (4% formalín). Jiný postup při odběru klinického materiálu se používá v případě, že potřebujeme identifikovat celé parazity nebo jejich části (Škrkavka dětská – *Ascaris lumbricoides*, články tasemnic – *Taenia saginata* a podobně). Vzorky

celých parazitů nebo jejich částí před transportem pouze uložíme do malého množství pitné vody, ničím nefixujeme, krátkodobě je možné uskladnění v chladničce (+ 4 °C) a rychle odešleme do laboratoře! Každá neodborná fixace vzorků (formaldehyd, ale i ředěný ethanol) hrubě porušuje povrchové struktury těla parazita a ztěžuje tak jeho identifikaci v laboratoři.

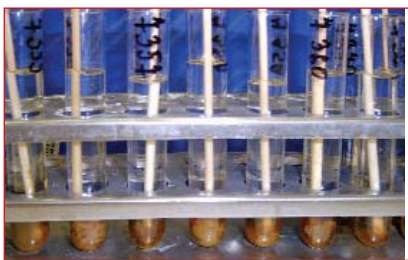
Odběr klinického vzorku při nazeve roupem dětským (*Enterobius vermicularis*) se u dětí provádí nejlépe jako perianální otisk (Grahamova metoda). Průhledná lepicí páska se ráno po



Škrkavka dětská – *Ascaris lumbricoides* (foto B. Voxová).



Škrkavka dětská – *Ascaris lumbricoides*, několik jedinců (foto B. Voxová).



Koncentrační metoda dle Fausta k parazitologickému vyšetření stolice, 1. promývání vzorku vodou (foto B. Voxová).

probuzení dítěte nalepí na perianální řasy, ihned sejme a přilepí na podložní sklíčko. Takto vytvořený preparát je připraven k mikroskopickému vyšetření. U dospělých osob při podezření na enterobiózu se odběr vajíček roupa dětského provádí pomocí skleněné Schüffnerovy tyčinky, kterou jsou setřeny perianální kožní řasy. Odběr je nejlépe provést ráno před defekací a 24 hod před vyšetřením si pacient nemá umývat oblast konečníku [2].

**Laboratorní metody v diagnostice střevních parazitárních nákaz**  
[1,2,4,9]

#### Morfologické vyšetření:

- makroskopické – pouhým okem lze ve stolici pozorovat celé červy (roupy, škrkavky) nebo jejich části (články tasemnice)
- optická mikroskopie preparátů ze vzorků stolice (prvoci, vajíčka červů)
- nepřímá imunofluorescence (průkaz parazita pomocí druhově specifických protilátek obarvených fluorescenčním barvivem)

#### Detekce nukleových kyselin parazitů:

- polymerázová řetězová reakce (PCR) se provádí ve specializovaných laboratořích amplifikací příslušného úseku DNA pomocí primerů. Po elektroforetickém rozdělení a vizualizaci produktu amplifikace lze například rozlišit patogenní *E. histolytica* od nepatogenní *E. dispar*. Genotypizaci parazita po amplifikaci DNA lze také provést restriktivní analýzou, eventuálně sekvenací.

**Sérologický průkaz protilátek** (nejčastěji používané metody):

- metoda ELISA (enzyme-linked immunoassay – enzymem značené imunoglobuliny) umožňují stanovit protilátky (imunoglobuliny třídy IgM, IgA, IgE, IgG a avidita IgG) v séru pacienta v průběhu parazitární infekce (akutní začátek infekce, perzistence protilátek apod.)
- metoda western-blot – elektroforeticky rozdělené antigeny parazitů jsou inkubovány s vyšetřovaným sérem pacienta. Protilátky ze séra se naváží na antigeny parazitů. Následuje druhá inkubace s protilátkou proti lidským imunoglobulinům (značenou enzymem), která po přidání substrátu vyvolá barevnou reakci.

#### DISKUSE

S problematikou diagnostiky střevních parazitárních infekcí mohou být velmi často konfrontováni lékaři nejrůznějších klinických oborů. Ve své praxi se s pacienty trpícími průjmovým onemocněním i udávajícími nespecifické trávivé potíže různého druhu, setkávají praktičtí a dětské lékaři, infekcionisté, gastroenterologové, chirurgové i gynekologové. Parazitární nákaza může být posuzována také jako choroba z povolání, pokud vznikne v souvislosti s pracovním pobytem v zahraničí [9].

V diferenciální diagnostice je nutné při podobných příznacích odlišit zánětlivé střevní onemocnění infekčního původu od chorob neinfekční etiologie, což není možné bez kompletního mikrobiologického vyšetření, které zahrnuje především bakteriologický a parazitologický laboratorní rozbor. Důležité je, aby lékař vždy podrobně odebral anamnézu, zejména u osob po pobytu v oblastech s předpokládaným vyšším výskytem parazitů, nejen v tropech a subtropích, ale i v dalších lokalitách [8]. I v České republice se vzácně setkáváme s nejdelší lidskou tasemnicí *Diphyllobotrium latum*, kterou se člověk může

infikovat při konzumaci nedostatečně tepelně upraveného importovaného masa ze sladkovodních ryb nebo při rybaření v severských zemích, jako jsou Kanada, Norsko i dalších. Pro zdůraznění významu odběru cestovní anamnézy lze použít také případy extraintestinálního amébového abscesu, jehož původcem je *Entamoeba histolytica*, a který se může vyvíjet po řadu týdnů až měsíců, takže je nutno pátrat v anamnestických údajích, po možném zdroji infekce. Důležitou úlohu parazitologického vyšetření podporuje i kazuistika mladé ženy s nálezem koloskopicky diagnostikované solitární ulcerace v céku (neoplázie tračnicku?) a s podezřením na mnohočetné metastázy v játrech, kdy histologické vyšetření biopsických vzorků z céka prokázalo infekci *Entamoeba histolytica*. Jaterní biopsie amébový absces ani metastázy v játrech neprokázala, pacientka byla úspěšně vyléčena metronidazolem [7]. Parazitologické vyšetření stolice je nezbytné i při podezření na Crohnovu chorobu, ulcerózní kolitidu nebo další záněty střeva [6], vzhledem k tomu, že mnohé příznaky těchto chorob jsou si podobné, ale léčba je diametrálně odlišná [5].

Získání správných výsledků mikrobiologického laboratorního vyšetření je podmíněno jednak dodržáním pravidel při odběru klinických vzorků od pacienta a zajištěním jejich rychlého transportu do laboratoře, ale v neposlední míře také výběrem vhodného typu laboratorní analýzy podle charakteru předpokládaného infekčního agens. Mnozí parazité mají složitý vývojový cyklus, a proto před dosažením pohlavní dospělosti nenalezneme vajíčka či larvy ve vyšetřovaném vzorku stolice (prepatentní perioda). Je tedy zapotřebí v případě parazitární nákazy člověka konzultovat laboratorní diagnostický postup s parazitologem a respektovat možnou časovou prodlevu ve vývojovém cyklu parazitů a vyšetření provést opakovaně.

**Literatura**

1. Neva FA, Brown HW. Basic Clinical Parasitology. East Norwalk: Appleton & Lange 1994: 317-343.
2. Čermáková Z, Prášil P, Ryšková O. Parazitologická laboratorní diagnostika: přínos pro klinickou praxi. Lék Zpr 2004; 49: 119-127.
3. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Diagnostic Microbiology. St Louis: Bailey&Scott 2002: 2-75.
4. Förstl M, Čermák P, Čermáková Z. Roup dětský. Pediatr pro Praxi 2002; 3: 111-113.
5. Geboes K. Crohn's disease, ulcerative colitis or indeterminate colitis how important is it to differentiate? Acta Gastroenterol Belg 2001; 64: 197-200.
6. Dostál V. Infektologie. Praha: Karolinum 2005: 121-126.
7. Kopáčková M, Hadži Nikolov D, Honegr K et al. Caecal amoebiasis mimicking colon neoplasm with secondary hepatic involvement. Folia Gastroenterol Hepatol 2005; 3: 150-154.
8. Anderson RM. Epidemiology of parasitic infections. In: Cox FEG, Kreier JP, Wakelin D (eds). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. New York: Oxford University Press 1998; 5. vol: 39-55.
9. Vaništa J. Střevní parazitózy. Doporučené postupy pro praktické lékaře (Reg. č. o/020 /247) 2002: 1-6. <http://www.cls.cz/dokumenty2/os/t247.rtf>

**Adresa pro korespondenci/****Correspondence to:****MVDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.****Ústav klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice,****Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové****E-mail: [cermakovaz@fnhk.cz](mailto:cermakovaz@fnhk.cz)**