

# Základy humánní parazitologie

Prof. RNDr. Milan Gelnar, CSc.

Ústav botaniky a zoologie  
oddělení parazitologie  
Přírodovědecká fakulta MU  
E-mail: [gelnar@sci.muni.cz](mailto:gelnar@sci.muni.cz)

# Základy humánní parazitologie

Základní údaje o předmětu:

přednáška: pondělí, od 17.00 do 20.00 hodin,

budova B11, místnost 306

zkouška (ústní/písemná) se bude konat v kampusu MU Bohunicích v pavilonu Ústavu botaniky a zoologie A31 v místnosti 332 – bude info mailem ???

studijní materiály na IS – prezentace

# Paraziti mezi námi a všude kolem



# Stručná osnova přednášky

- Úvod
- Doporučená literatura
- Základní parazitologické metody:
  - Mikroskopické
  - Koprologické
  - Histologické
  - Ekologiko-evoluční
  - Molekulárně genetické metody
- Parazitologická pitva
- Sběr a fixace
- Preparace
- Dokumentace
- Barvicí techniky
- Taxonomie s systematika
- Diagnostika
- Základní parazitologické pojmy

# Možnosti studia parazitologie na PřF

Bakalářský stupeň:

Obecná parazitologie (Gelnar + Šimková)

Speciální parazitologie (Řehulková)

Základy humánní parazitologie (Gelnar)

Magisterský stupeň (povinně volitelné)

Biologie parazitických protozoí  
(Koudela)

Biologie parazitických helmintů (Kašný)

Biologie parazitických členovců  
(Valigurová)

Lékařská parazitologie a diagnostika  
(Ditrich)

Magisterský stupeň + DSP (volitelné)

Parazito-hostitelské interakce (Horák)

Patologie parazitismu (Dyková)

Imunologie parazitismu (Salát)

Ekologie parazitů (Vetešníková-Šimková)

Další související přednášky:

Evoluční ekologie (Vetešníková-Šimková)

Histologie (Hodová)

Mikroskopická (Zoologická) technika  
(Seifertová)

Mikroskopické zobrazovací techniky  
(Mašová)

Biostatistika (Jarkovský)



# Studijní a doporučená literatura

# PARASITOLOGIE PRO LÉKAŘE

III. přepracované a rozšířené vydání

**AKADEMIK OTTO JÍROVEC A SPOLUPRACOVNÍCI**

RNDR. PETR BEDRNÍK, CSc., MUDR. RNDR. JINDŘICH JÍRA, CSc., doc. MUDR. EMIL KMETY, DrSc., RNDR. BOŽENA KOTRLÁ, DrSc., prof. RNDR. JAROSLAV KRAMÁŘ, DrSc., doc. MUDR. KAMIL KUČERA, DrSc., RNDR. JAROSLAV KULDA, CSc., MUDR. MIROSLAV PŘÍVORA, CSc. A AKADEMIK BOHUMÍR ROSICKÝ

K vydání připravil redakční kolektiv:

JINDŘICH JÍRA, BOŽENA KOTRLÁ, JAROSLAV KRAMÁŘ A JAROSLAV KULDA



UČEBNICE

17/79

Pril. č. 1. a 2.



REVIZE 2003

PRAHA 1977

AVICENUM / ZDRAVOTNICKÉ NAKLADATELSTVÍ



Akademiik Otto JÍROVEC (1907–1972)

J. Havlík  
a spolupracovníci

Příručka  
infekčních  
a parazitárních  
nemocí

AVICENUM



ZDRAVOTNICKÉ NAKLADATELSTVÍ

VILIAM JURASEK, PAVOL DUBINSKY A KOLEKTIV

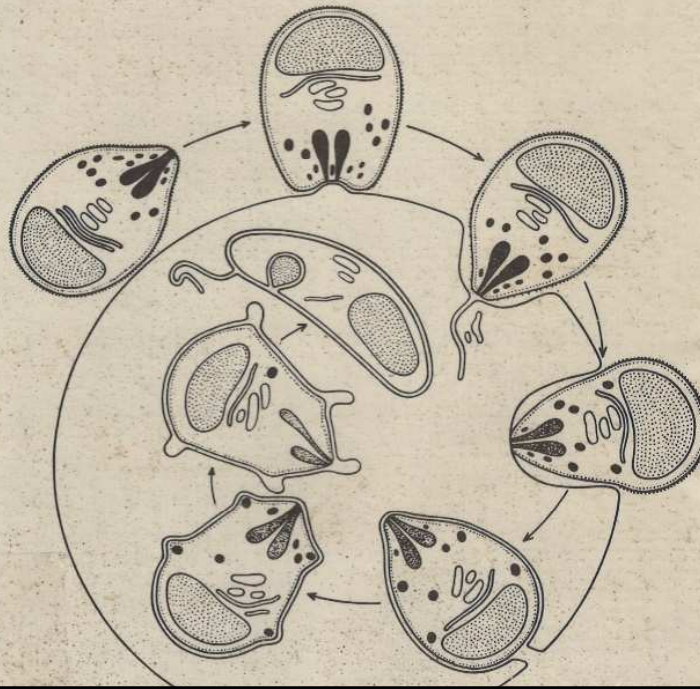
# Veterinárna parazitológia

PRÍRODA a. s.  
Bratislava

# ZÁKLADY PARAZITO LOGIE

Bohumil Ryšavý  
a kolektiv

SPN



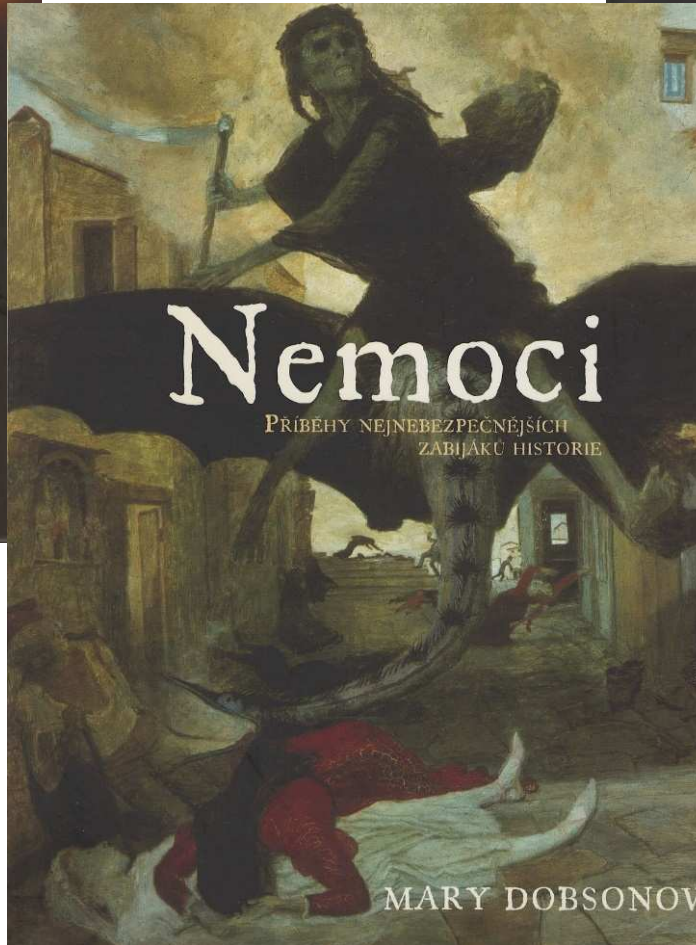


# PARAZITI

a jejich biologie

Petr Volf  
Petr Horák  
a kol.

TRITON



# Nemoci

PRÍBEHY NEJNEBEZPEČNĚJŠÍCH  
ZABIJÁKŮ HISTORIE

MARY DOBSONOVÁ

TRITON



Jan Votýpka  
Iva Kolářová  
Petr Horák a kol.

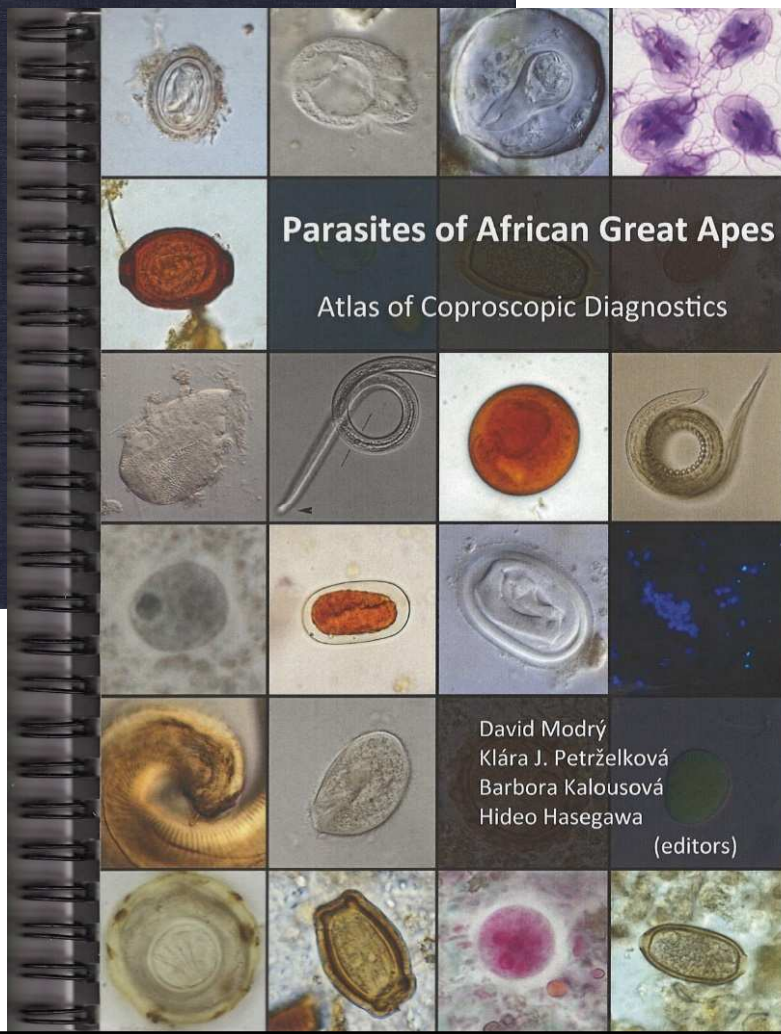
# O PARAZITECH A LIDECH

Jindřich Jíra

# LÉKAŘSKÁ HELMINTOLOGIE

Helmintoparazitární nemoci

Galen



# Proto zoologie

KLAUS  
HAUSMANN  
NORBERT  
HÜLSMANN

ACADEMIA

## ATLAS ZÁVAŽNÝCH PARAZITÓZONÓZ



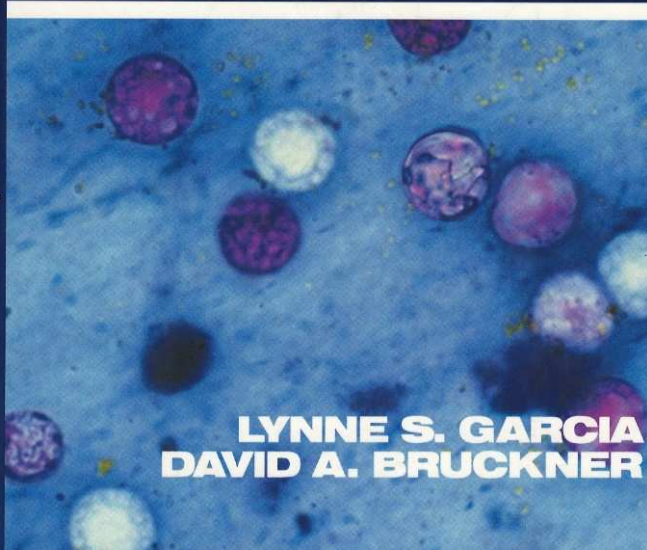
Pavol Dubinský, Viktória Majláthová,  
Martina Miterpáková, Ingrid Papajová, Branislav Petko,  
Michal Stanko, Bronislava Vichová

Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku  
Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ



SECOND EDITION

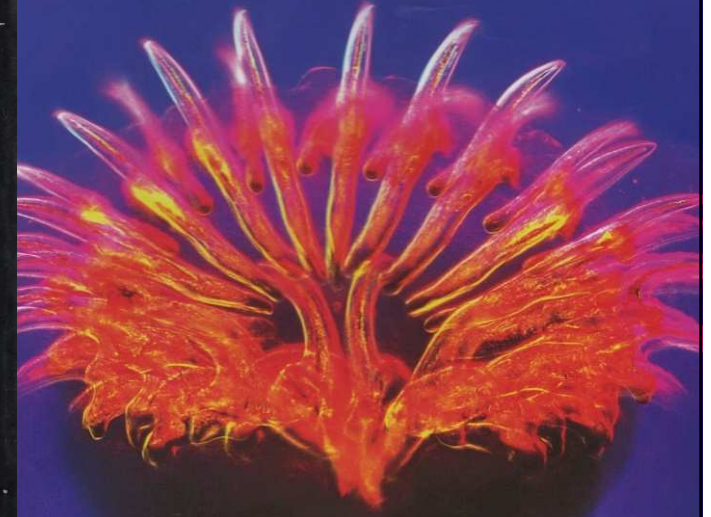
# Diagnostic Medical Parasitology



6TH EDITION

# DIAGNOSTIC MEDICAL PARASITOLOGY

LYNNE SHORE GARCIA



# HUMAN PARASITOLOGY

THIRD EDITION



BURTON J. BOGITSH CLINT E. CARTER THOMAS N. OELTMANN

Heinz Mehlhorn

# Human Parasites

Diagnosis, Treatment,  
Prevention



 Springer

Heinz Mehlhorn

# Animal Parasites

Diagnosis, Treatment,  
Prevention



 Springer

Rohela Mahmud · Yvonne Ai Lian Lim  
Amirah Amir

# Medical Parasitology

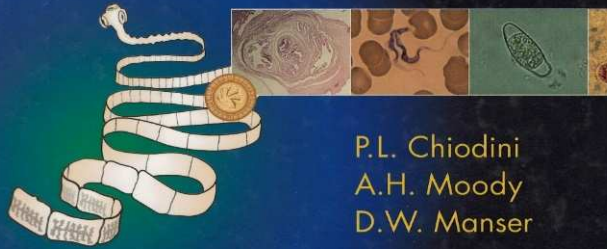
A Textbook

 Springer

Fourth edition



# Atlas of Medical Helminthology and Protozoology



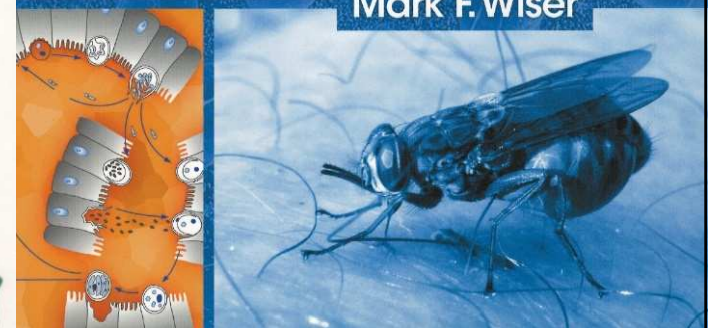
P.L. Chiodini  
A.H. Moody  
D.W. Manser



# Protozoa and Human Disease



Mark F. Wiser

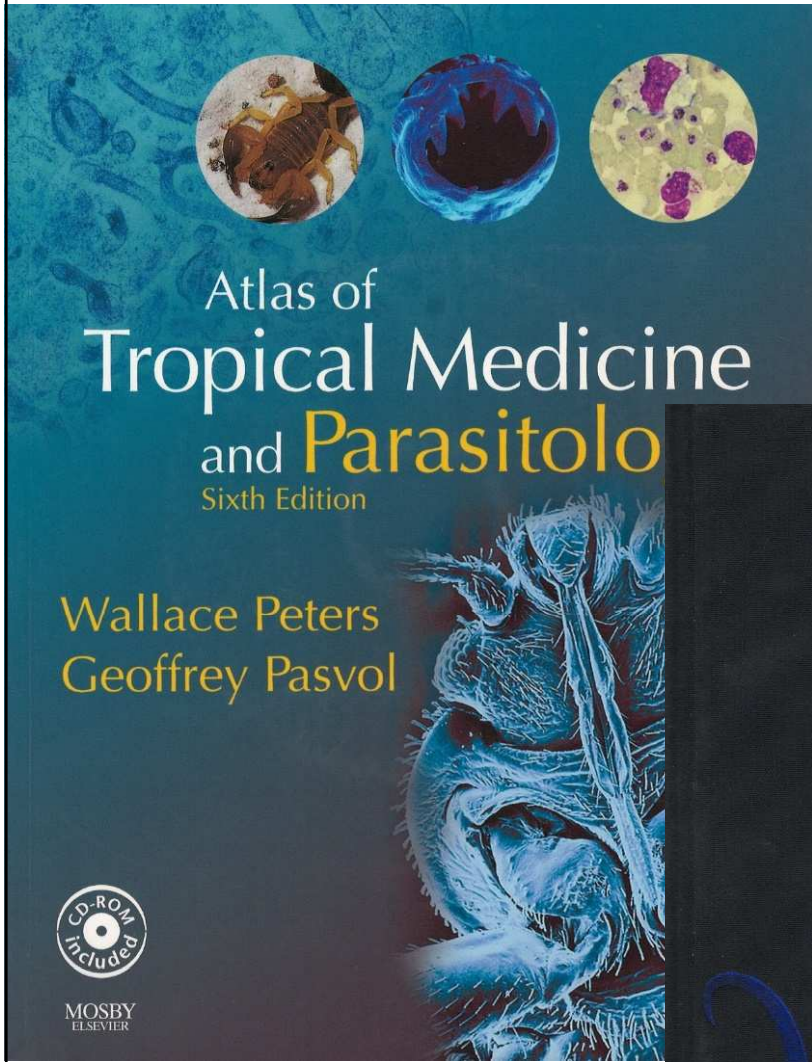


# A Color Atlas of Parasitology



John T. Sullivan



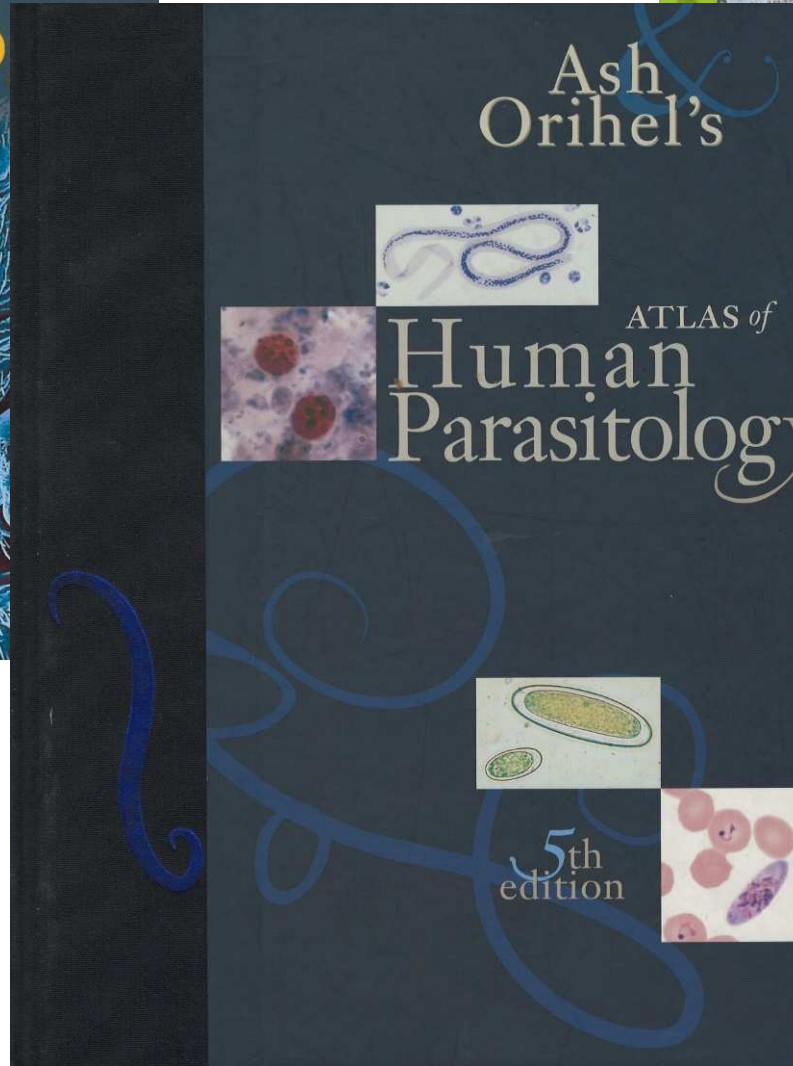


Atlas of  
**Tropical Medicine**  
and **Parasitology**  
Sixth Edition

Wallace Peters  
Geoffrey Pasvol



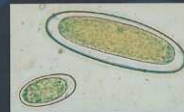
MOSBY  
ELSEVIER



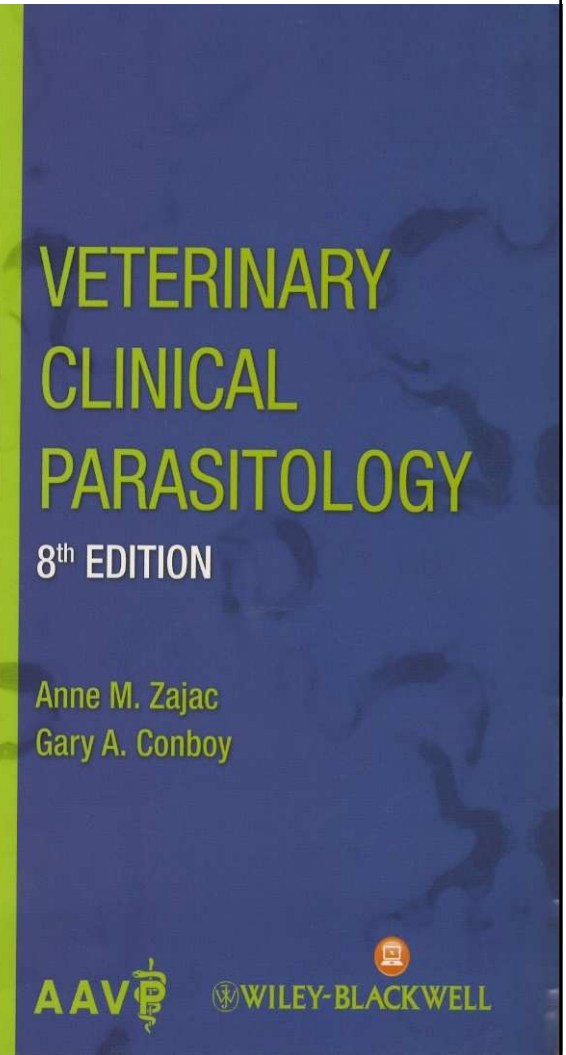
Ash  
& Orihel's



ATLAS of  
**Human Parasitology**



5<sup>th</sup>  
edition



**VETERINARY  
CLINICAL  
PARASITOLOGY**

8<sup>th</sup> EDITION

Anne M. Zajac  
Gary A. Conboy



ENCYCLOPEDIA  
REFERENCE  
OF  
**PARASITOLOGY**

*Diseases · Treatment · Therapy*

Heinz Mehlhorn (Ed.)

Second Edition

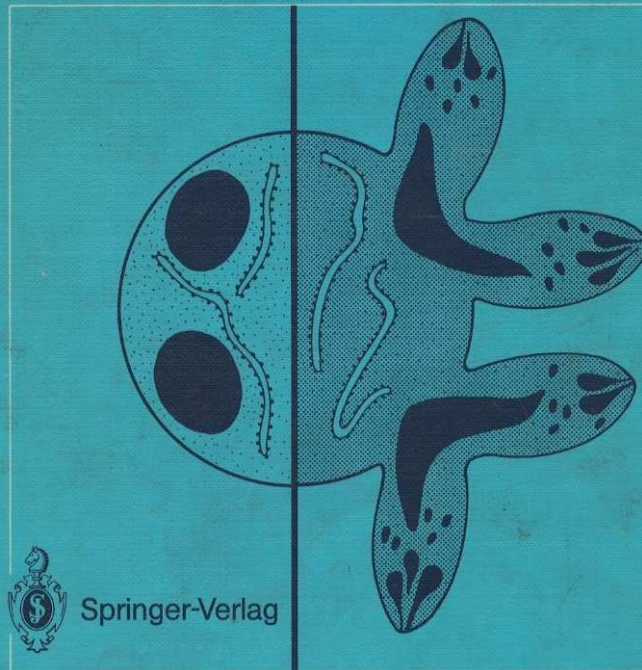


Springer

Heinz Mehlhorn (Ed.)

**Parasitology  
in Focus**

Facts and Trends



Springer-Verlag

SPRINGER  
REFERENCE

Heinz Mehlhorn  
*Editor*

VOLUME 1  
A-M

**Encyclopedia  
of Parasitology**

*3rd Edition*

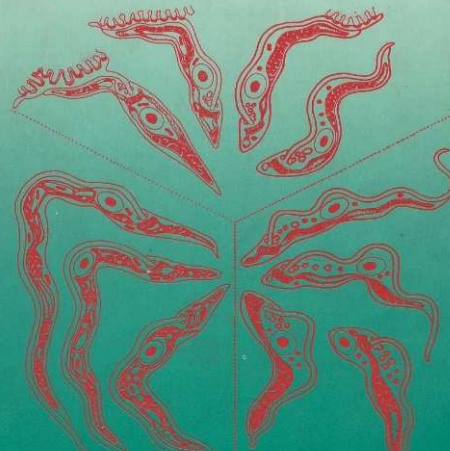
 Springer

William C. Marquardt  
Richard S. Demaree  
Robert B. Grieve

SECOND EDITION  
**Parasitology  
& Vector  
Biology**

INTRODUCTION TO  
**Animal Parasitology**

Third Edition



OXFORD TEXTBOOKS IN PUBLIC HEALTH

Oxford Textbook of  
**Zoonoses**

Biology, Clinical Practice, and Public Health Control

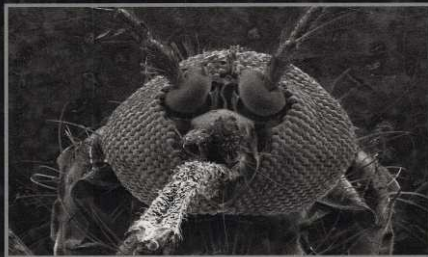
SECOND EDITION

Edited by  
S. R. Palmer  
Lord Soulsby  
P. R. Torgerson  
David W. G. Brown



**BIOLOGY  
OF  
DISEASE  
VECTORS**

SECOND EDITION



WILLIAM C. MARQUARDT

WILLIAM C. BLACK, IV  
JEROME E. FREIER  
HENRY H. HAGEDORN  
JANET HEMINGWAY

STEPHEN HIGGS  
ANTHONY A. JAMES  
BORIS KONDRATIEFF  
CHESTER G. MOORE

Larry S. Roberts / John Janovy, Jr. / Steve Nadler  
Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts'

Foundations of Parasitology

Ninth Edition



This  
International  
Student Edition  
is for use  
outside  
the U.S.

McGraw-Hill INTERNATIONAL EDITION

10<sup>TH</sup> EDITION  
**TOPLEY  
& WILSON'S**  
MICROBIOLOGY & MICROBIAL INFECTIONS



**PARASITOLOGY**

EDITED BY

F.E.G. COX, DEREK WAKELIN,  
STEPHEN H. GILLESPIE, &  
DICKSON D. DESPOMMIER

# Modern Parasitology

A TEXTBOOK OF PARASITOLOGY  
EDITED BY F. E. G. COX

SECOND EDITION



sixth edition

# PARASITOLOGY

The Biology of Animal Parasites



second edition

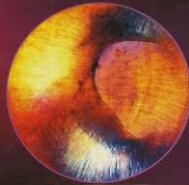


# PARASITISM

the diversity and ecology of animal parasites

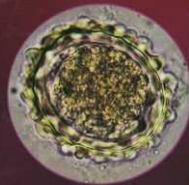
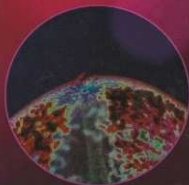
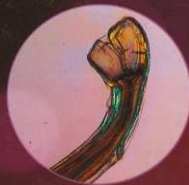


Alan Gunn and Sarah J. Pitt



# Parasitology

An Integrated Approach



WILEY-BLACKWELL



ELIZABETH A. ZEIBIG

# Clinical Parasitology

A PRACTICAL APPROACH

Second Edition

ELSEVIER

<http://evolve.elsevier.com>



# Parasitology

RCALLISTO  
REFERENCE

Elen Downey

# Z historie parazitologie

# Historie parazitologie



Je zřejmé, že dávní předci člověka měli své parazity, avšak nemáme o nich **v současnosti žádné doklady**. Obecně lze říci, že nálezy cizopasníků pravěkých lidí člověka lze doložit pouze studiem zkamenělých výkalů a nebo jiného fosilního materiálu. Nejstarším zjištěným nálezem jsou proto **vajíčka motolice plicní**, která byla nalezena ve fosilních výkalech v severní **Chile z doby 5000BC**. Rovněž byl z této doby doložen výskyt hlístic rodu **Ancylostoma v Brazílii** a **vajíčka škrkavek z doby cca 2330BC z Peru**.

# Starověký Egypt



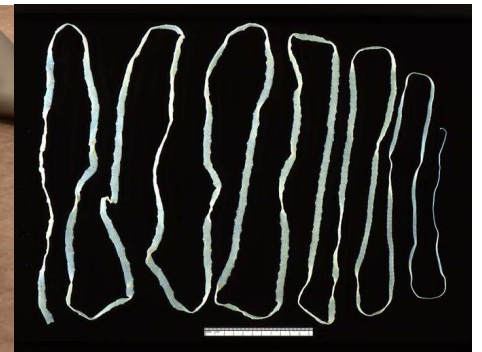
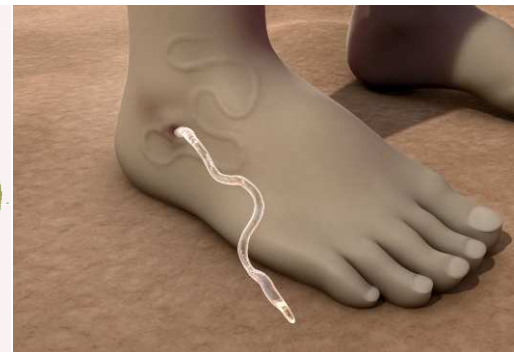
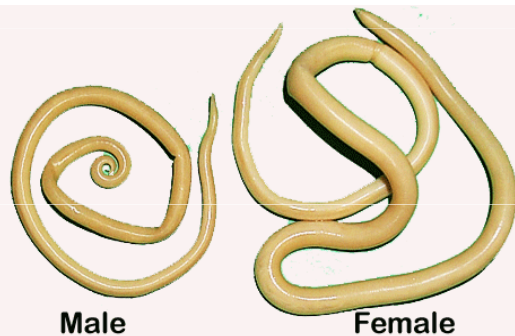
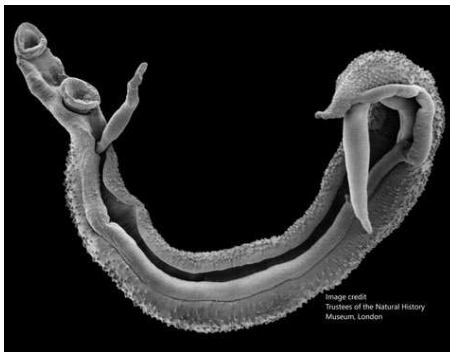
# Z historie parazitologie I

## Egypt:

První údaje ze staroegyptských papyrů z doby cca 3000 – 4000BC. Rozlišovali ***Schistosoma haematobium***, ***Ascaris lumbricoides***, ***Dracunculus medinensis***, ***Strongyloides***, tasemnice rodu ***Taeniathynchus***. Vajíčka tasemnic byly nalezeny v mumiích s datováním cca kolem **2000 BC**, **1250 BC** a **1000BC**.

## Řecko a Řím:

U starých Řeků, dokumentovali Hippocrates a Aristoteles několik dnešních druhů parazitů ve svém díle Corpus Hippocraticus. V této knize popsali výskyt červů parazitujících u ryb, domácích zvířat a lidí. Dobře je popsán výskyt Cysticerku tasemnice ***Taenia solium***. Tuto tasemnici popisuje taky Aristophanes s Aristotelem v části věnované prasatům, v jejich knize Historia Naturalium. Díky obětem byly ve starověku rovněž dobře známy cysty tasemnice ***Echinococcus granulosus***. Nejvýznamnější nemocí byla ve starověku **drakunkuloza**, díky metodě izolace samičky vyčuhující z těla na povrch. Tento příznak je hojně popisován v mnoha pramenech kolem roku 1000AD.





# Starověký Řím a Řecko



# Starověká Čína



# Z historie parazitologie II

## Čína

- V Číně většinou dokumentovali nemoci a ne jejich původce. Čínské texty obsahují několik údajů o ***Necator americanus***, ***Ancylostoma duodenale***. Z doby **2700 let BC** pochází první údaj o malárii v textu Nei Ching od císaře Huang Ti. Popsal pocení, horečky a bolesti hlavy jako hlavní příznaky.
- Rovněž doklady o ***Ascaris lumbricoides***

## Amerika



Figure 2. Early lesions associated with *Tunga penetrans*.



helminti

*Tunga penetrans*

*Pediculus humanus*

Malárie (*Plasmodium*)

Leishmanióza (*Leishmania*)

# Předkolumbovská amerika



# Z historie parazitologie III

## Evropa (1200 – 1650)

- 1379: Fasciola hepatica
- 1592: Diphyllbothrium latum
- 1674: Eimeria
- 1681: Giardia intestinalis
- 2. pol. 17.stol – Francesco Redi – „otec parazitologie“ - redie



(1626 – 1697, Itálie)

### REDI'S EXPERIMENT



open jar

gauze-covered jar

sealed jar



# Evropa historická



# Z historie parazitologie IV

- Středověk – mnoho falešných představ o cizopasnících

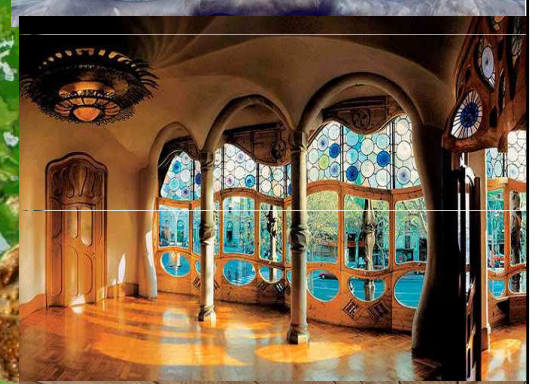
- Rudolphi:
  - Nematoidea
  - Acanthocephala
  - Nematoda
  - Cestoda
  - Cystica



(1771 – 1832)

- 1773: cercarie (Muller)
- 1816: cercarie – motolice (Nitzsch)
- 1842: životní cyklus motolice (Thomas, Leucard)
- 19. století – parazitologie jako věda (Zeder, Rudolphi, Frolich, Butschli, Dolfein, Dujarden, von Siebold, Schaudin, Loos aj.)

# Evropa současná

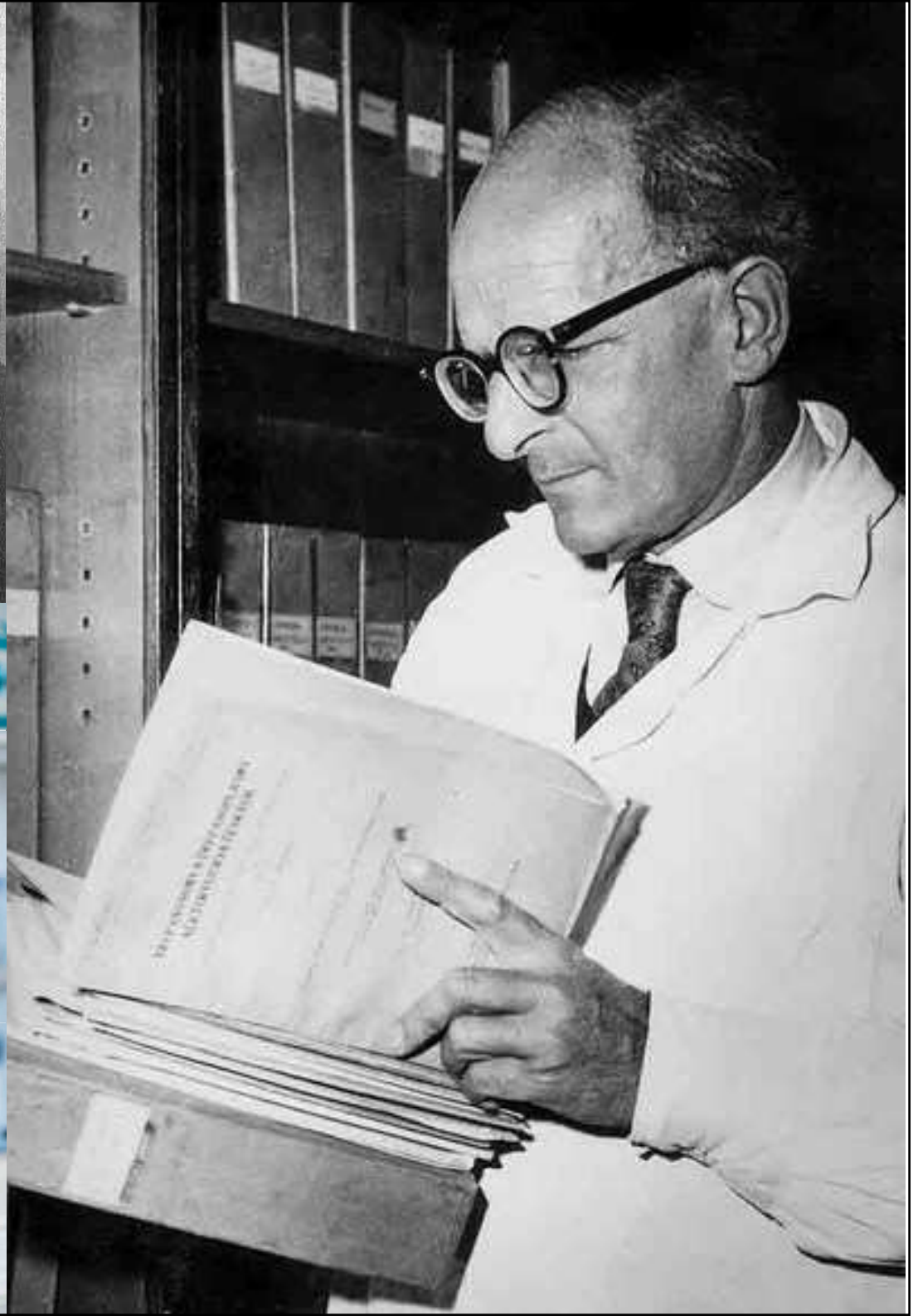






0077

Prof. MUDr. VILÉM D. LAMBL.  
Zemfel ve Várlavě dne 26. února 1895.  
Převodit reprodukce dle fotografie.



# Parazitologie v České republice

- Univerzita Karlova, Praha
- Masarykova univerzita, Brno
- Veterinární univerzita, Brno,
- Jihočeská univerzita a Biologické centrum AV ČR v Českých Budějovicích - Parazitologický ústav AV ČR - Č. Budějovice

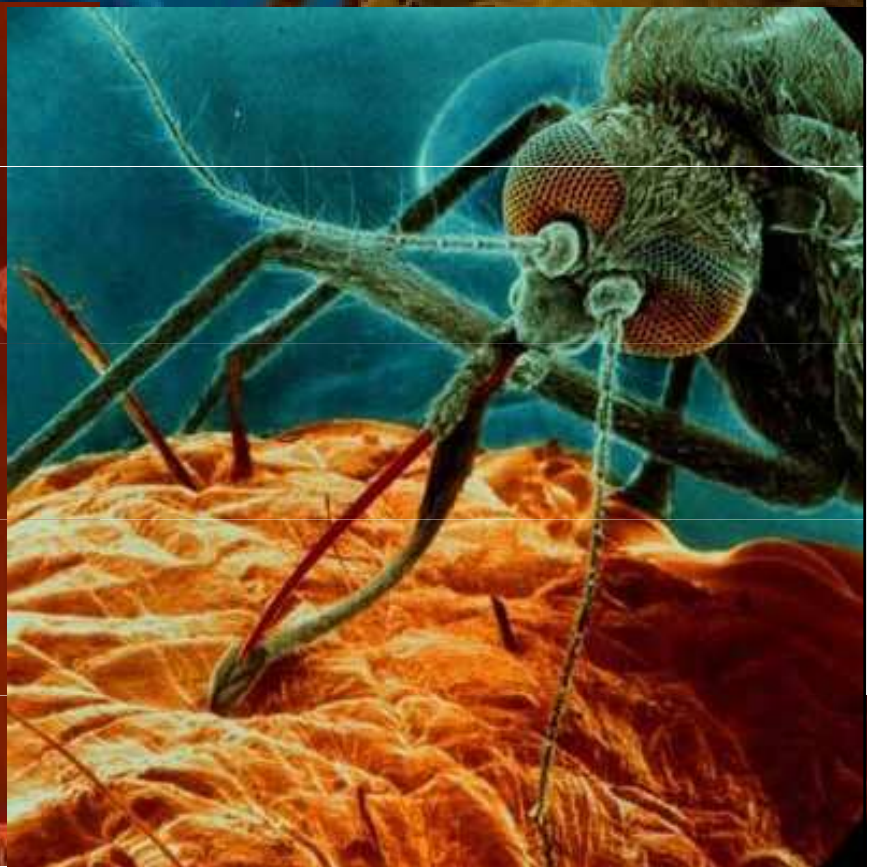
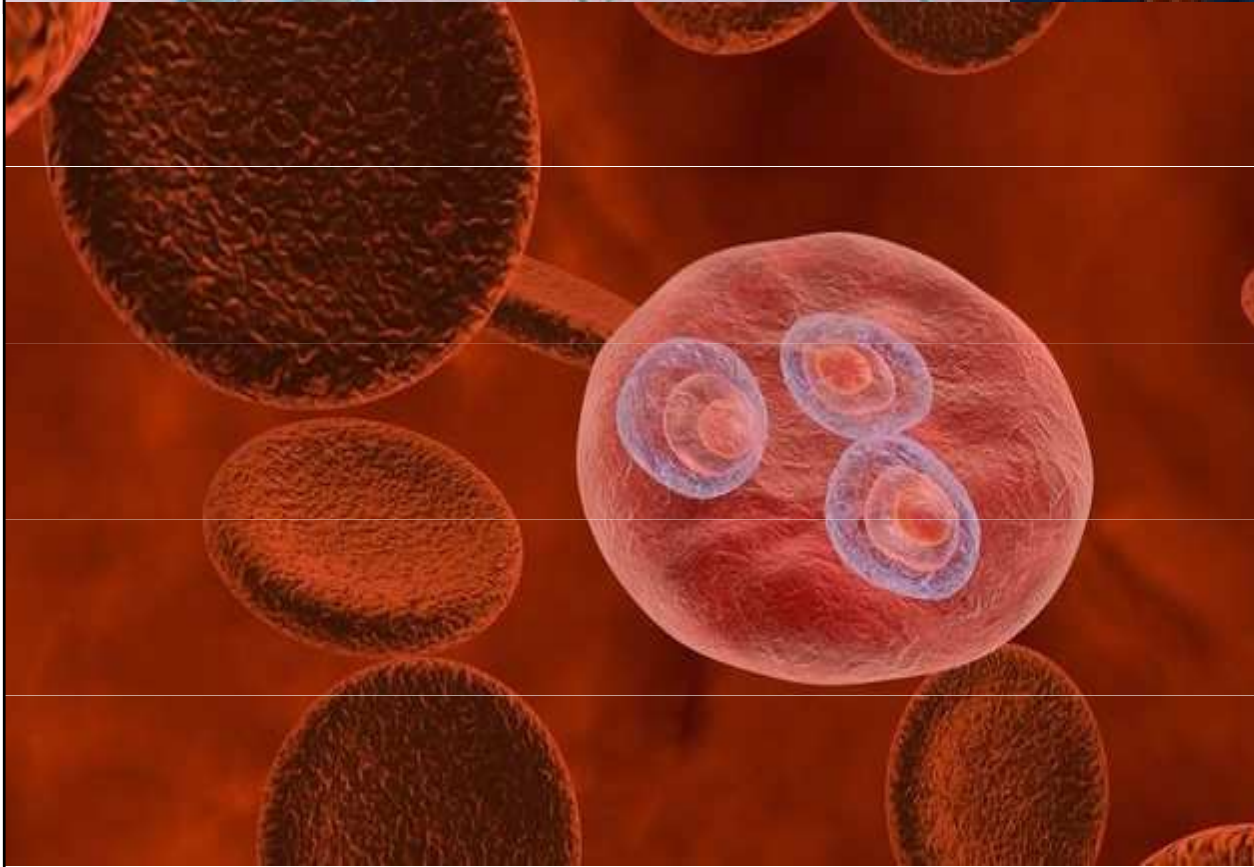
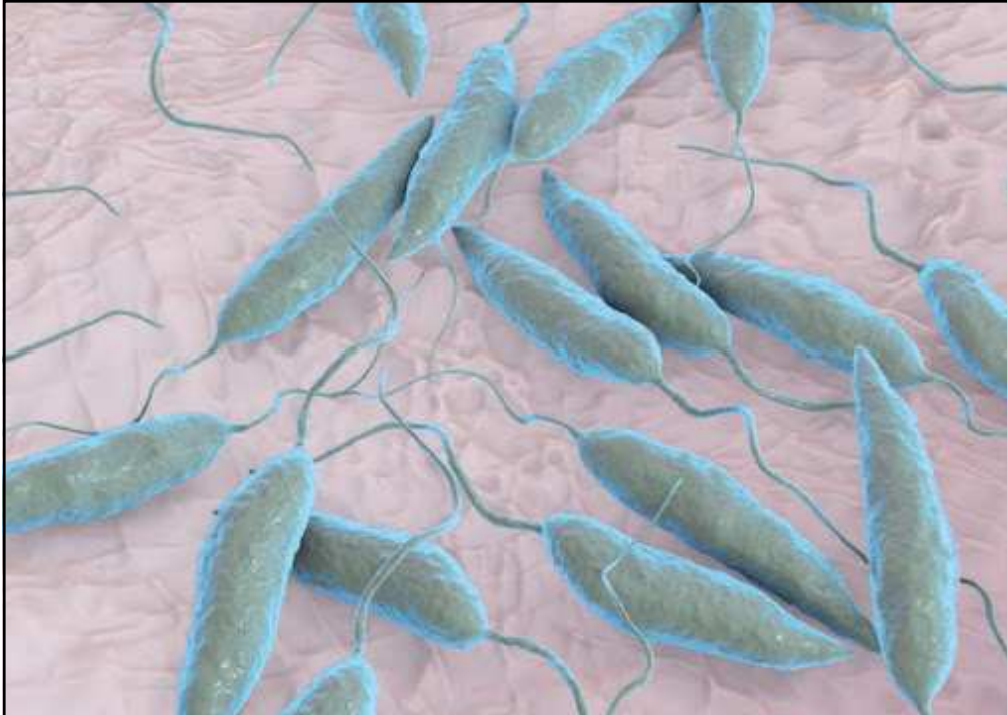






# Historický vývoj parazitologie VI

- 20. století – parazitologie vyhraněná vědní disciplína
- Fauna cizopasníků
- Morfologie, taxonomie a systematika
- Životní a vývojové cykly
- Biologie a ekologie
- Fyziologie, biochemie, imunologie
- Epidemiologie a matematické modelování
- Genetika a molekulární biologie
- Evoluční biologie a fylogenetika
- Genomika a transkriptomika
  
- Histologie, histochemie, imunohistochemie
- Ultrastruktura a anatomie
- SCAN, TEM, CLSM



# Parazit – Parazitismus -Parazitologie



# Rozmanitost cizopasníků



**Parazit** – organismus (mikroorganismus, rostlina, živočich), který žije na těle nebo uvnitř těla jiného organismu (hostitele), živí se na jeho úkor a tím mu škodí.

### **Kdo to je parazitolog ?**

Quaint person who seeks truth in strange places, person who sits on one stool, staring at another.

**Není to příliš kořeněné  
milostivá ?**



# Co je to parazit/parazitismus ?

Původně označení těch, kteří obsluhovali při chrámových slavnostech

Později označení prospěchářů (příživníků), kteří dostanou jídlo za příjemnou konverzaci nebo poskytnutí nějaké služby – běžné postavy v řecké komedii

O několik století později, život, který čerpá z jiných životů

Pojem **parasite** poprvé použit v angličtině roku 1539; slovo *parasite* pochází ze středověké francouzštiny *parasite* a to z latinského *parasitus*, a to vzniklo latinizací původního pojmu pocházejícího ze starověké řečtiny **παράσιτος** (*parasitos*), tj. „**ten kdo ujídá ze stolu druhého**“, a ten pak ze slov *παρά* (*para*) „vedle“ + *σιτος* (*sitos*), „pokrmu“.

**Parasitism** - v angličtině tento pojem ukotven v roce 1611, *parasitism* - jeho původ se odvozuje z řeckého *παρά* (*para*) + *σιτισμός* (*sitismos*) „pojídání, tloustnutí“.



Maska parazita



Schweinebandwurm (Taenia solium)

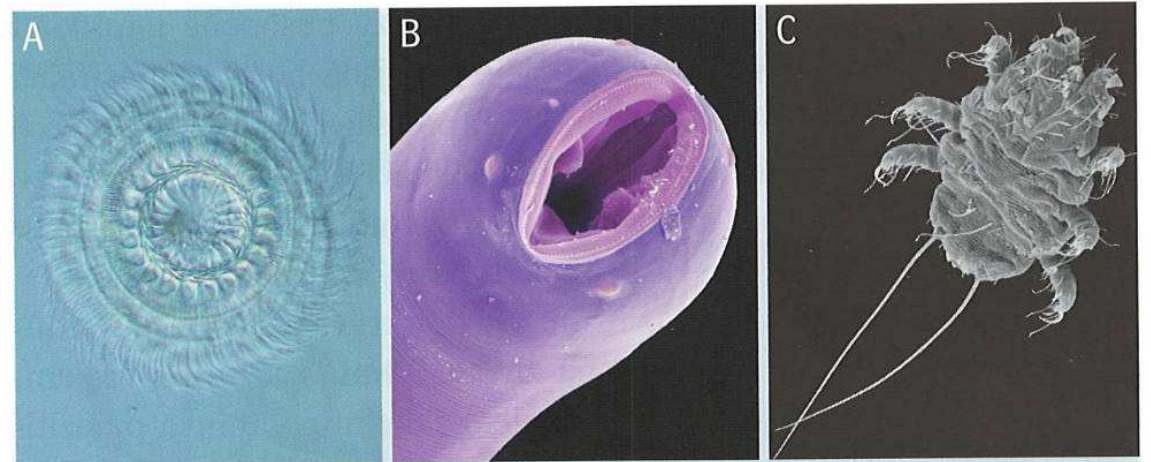
# Parazité - definice

- Organismus, který získává živiny od jednoho hostitele či malého počtu hostitelských jedinců, obvykle je poškozuje, ale nepůsobí bezprostředně smrt.
- Pozor: komensální x parazitické interakce (např. k poškození dochází až při vyšším počtu parazitů či špatné kondici hostitele).
- Míru způsobené škody lze měřit jako snížení růstové rychlosti hostitele (nebo celé populace).
- Existence těsného spojení mezi parazitem a hostitelem.
- Závislost parazita na hostiteli při regulaci prostředí.

# Parazitologie – komplexní vědní disciplína

Tři základní části:  
„Svatá trojice“

- Protozoologie  
(Protistologie)
- Helmintologie
- Arachnoentomologie



## „Svatá Trojice“

Z pohledu klasické, tj. humánní a veterinární parazitologie považujeme za parazity pouze příslušníky následujících tří velkých skupin: prvoků (protist), helmintů (parazitických červů) a členovců. **Brousilka** (*Trichodina*) (A), žijící na povrchu ryb, zastupuje prvoky (správněji protista) a její nápadné a současně nezvyklé kontury inspirovaly podobu znaku Parazitologického ústavu Biologického centra AV ČR (viz logo na str. 238). **Hlístice** *Cucullanus cirratus* (B) je představitelem parazitických červů (tzv. helmintů), vyskytuje se ve střevech mořských ryb a vyznačuje se ústní kapsulou lemovanou drobnými zoubky. Poslední skupinu, parazitické členovce (mezi něž náležejí korýši, roztoči a hmyz), reprezentuje **myší roztoč** rodu *Myobia* (C), který se vyskytuje i u doma chovaných hlodavců. (Zdroj: Jana Bulantová)

# Členění parazitologie jako vědní disciplíny

- Protozoologie
- Helmintologie
- Arachnoentomologie
  
- Humánní parazitologie
- Veterinární parazitologie
- Klinická parazitologie
  
- Environmentální (ekologická) parazitologie
- Evoluční (teoretická) parazitologie

# Parazitologie – komplexní vědecká disciplína

Od 20. století – parazitologie vyhraněná vědní disciplína.  
Čím se parazitologové zabývají ?

## **Vědecké disciplíny:**

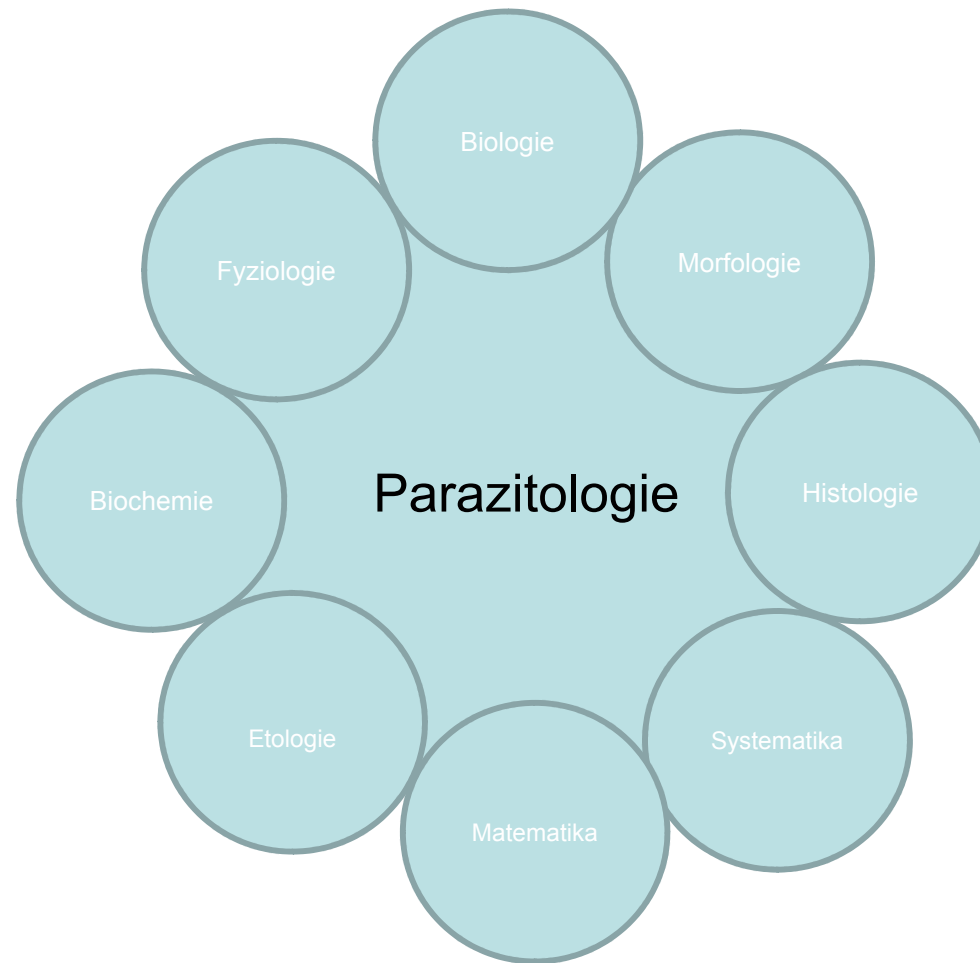
- Fauna cizopasníků, zoologická nomenklatura
- Morfologie, anatomie, taxonomie a systematika
- Životní a vývojové cykly
- Biologie a ekologie
- Fyziologie, biochemie, imunologie
- Epidemiologie a matematické modelování
- Genetika a molekulární biologie
- Evoluční biologie a fylogenetika
- Genomika a transkriptomika

## **Technické obory:**

- Histologie, histochemie, imunohistochemie
- Ultrastruktura a anatomie
- Mikroskopická technika
- SCAN, TEM, CLSM

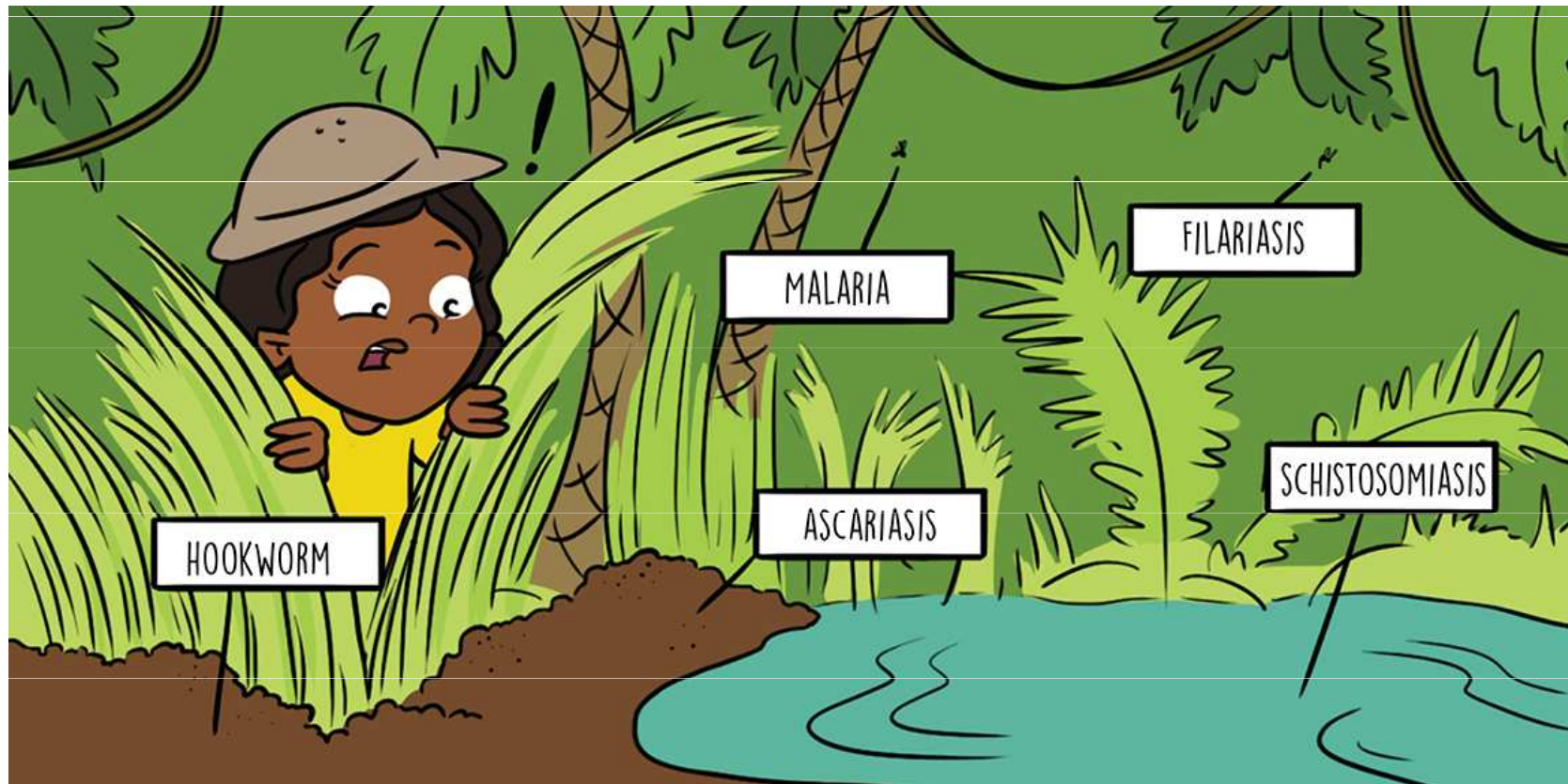


# Parazitologie – spolupracující obory



# Význam parazitů

- Volně žijící organismus, který není hostitelem několika parazitických jedinců různých druhů je raritou.
- Více než polovina známých druhů jsou parazité nebo patogeni (a neznáme zdaleka všechny bakteriální a virové parazity).



# Význam parazitismu pro člověka

Vliv cizopasníků na historii lidstva

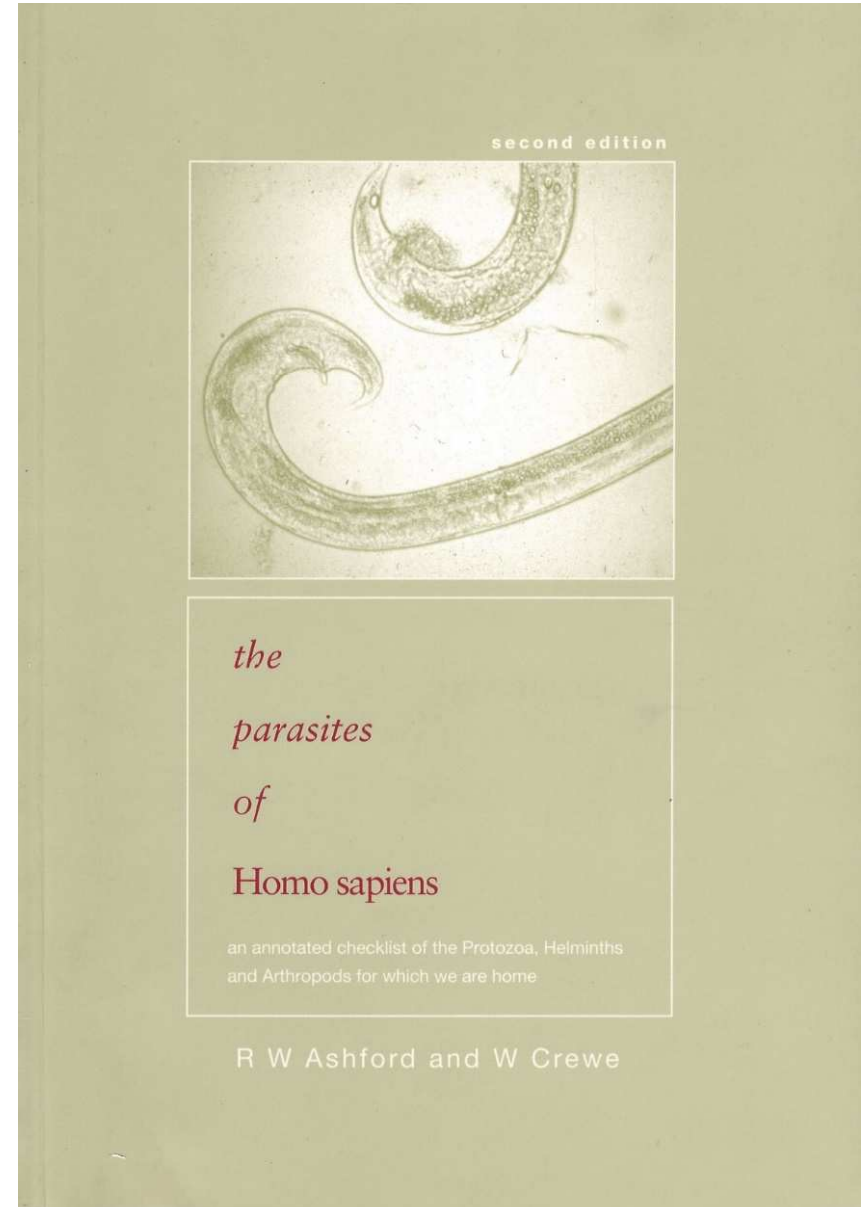
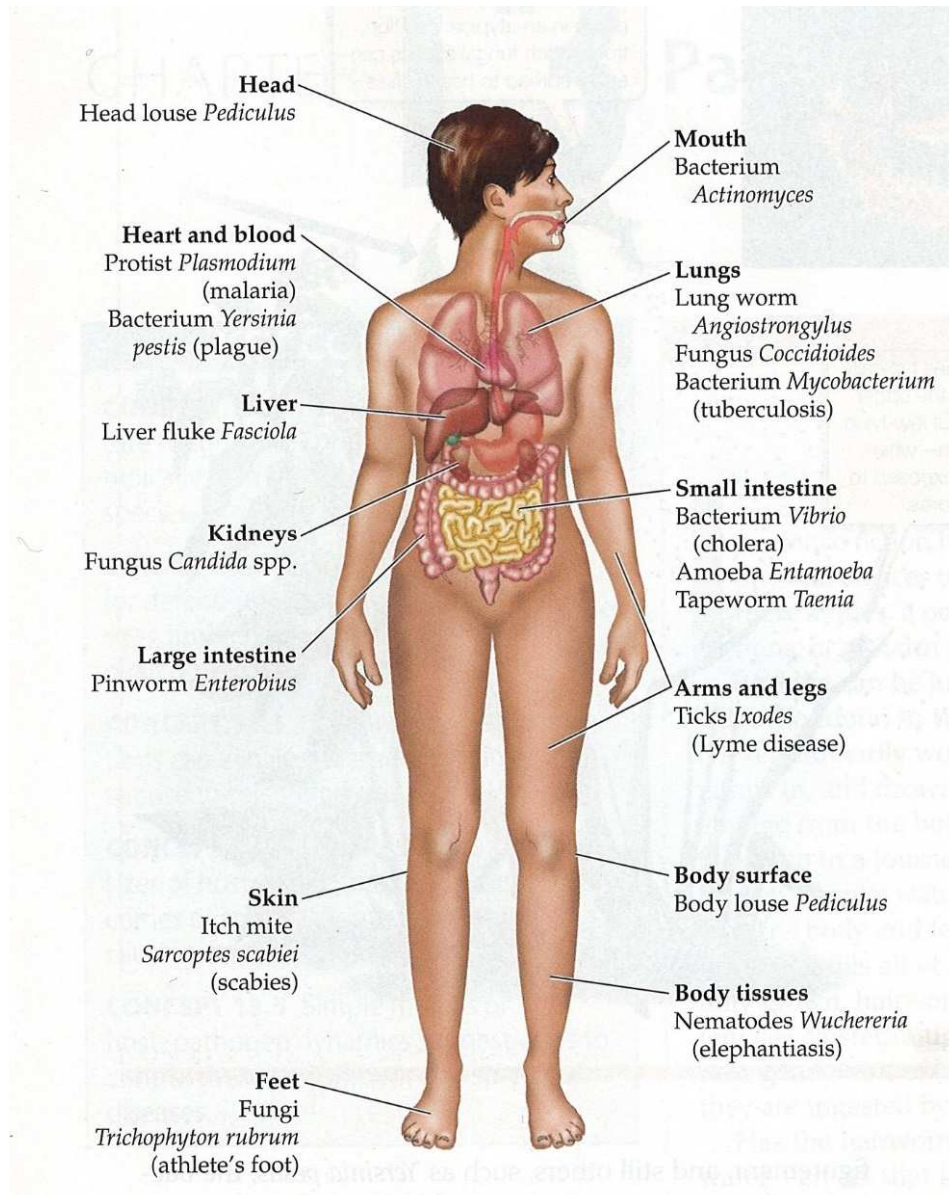
Ekonomický význam pro lidské zdraví

Ekonomický význam pro zdraví  
hospodářských zvířat

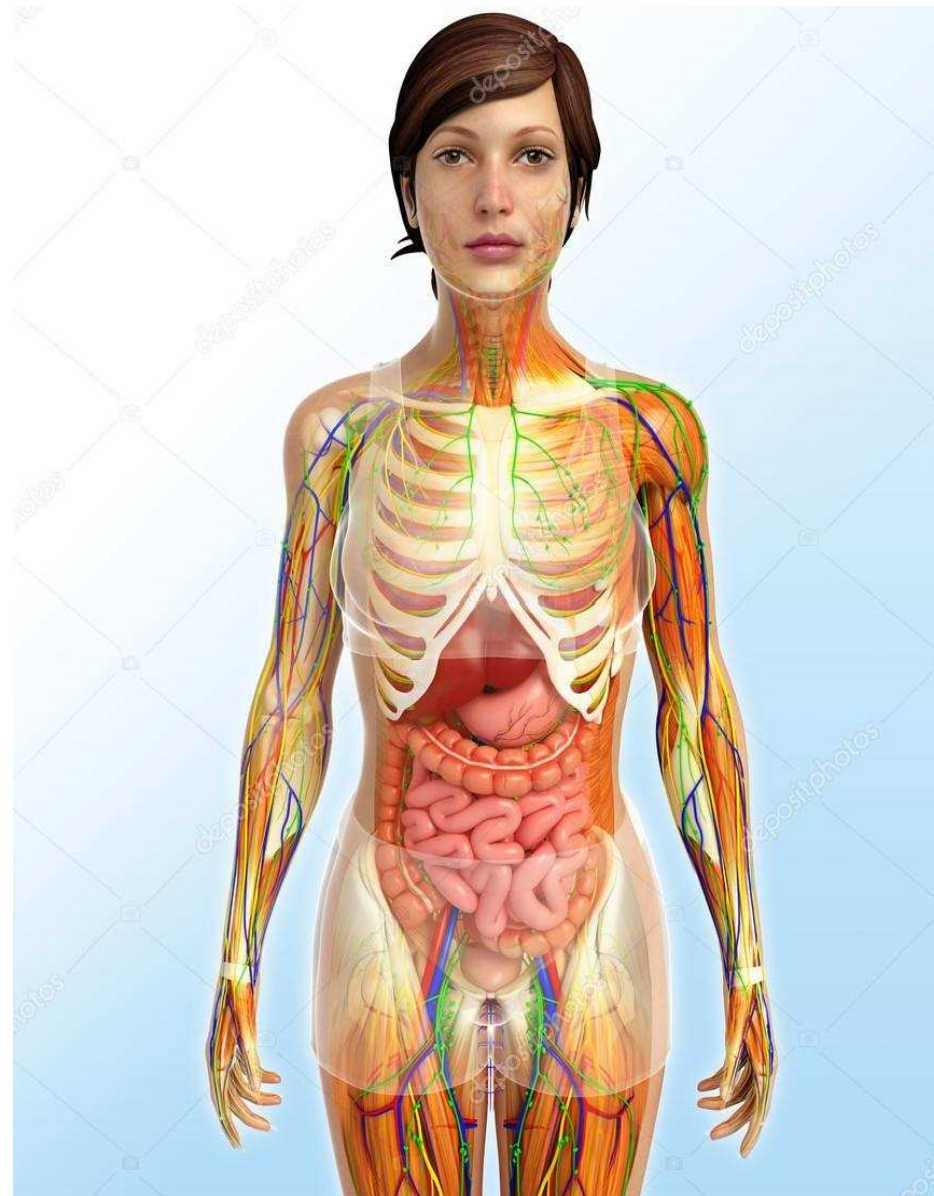
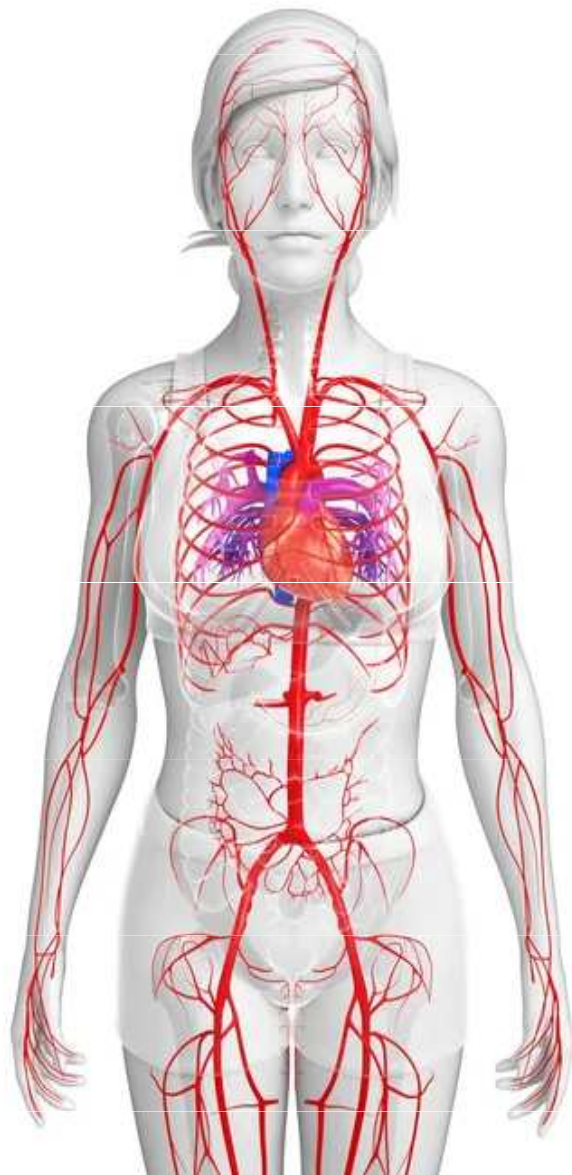


# Lidské tělo jako habitat

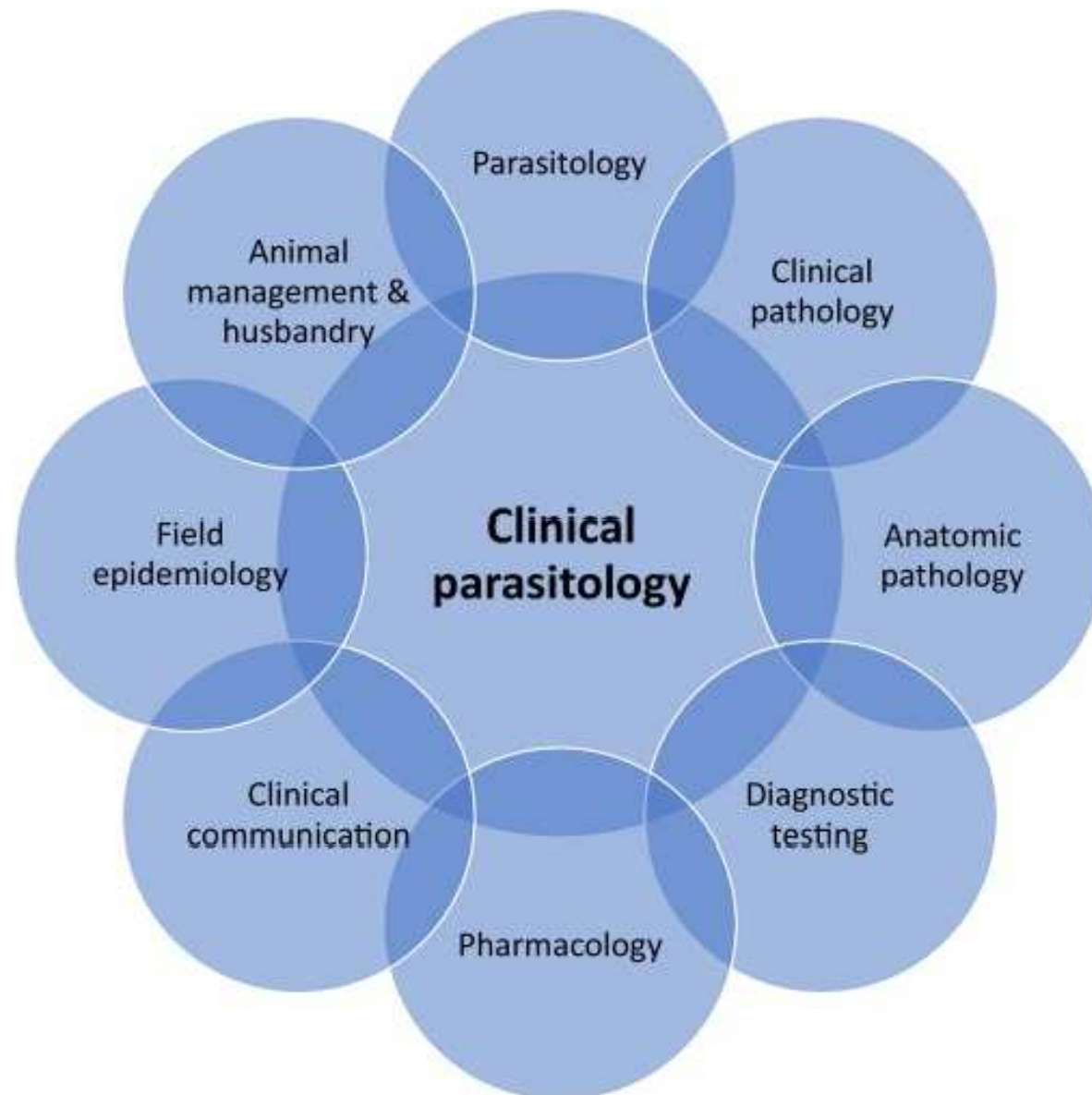
Rozdílné části lidského těla představují vhodné habitaty pro různé druhy cizopasníků



# Anatomie člověka



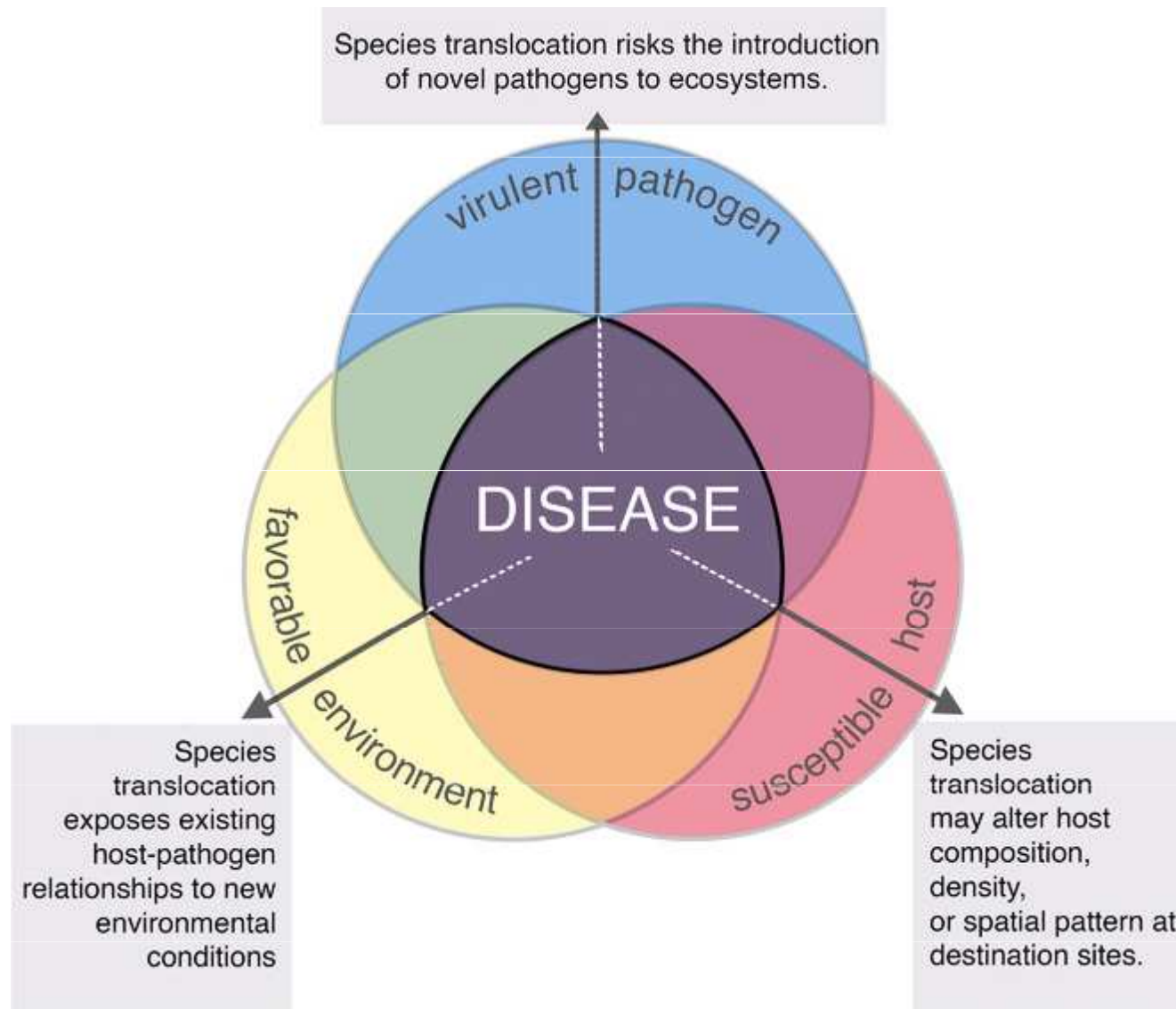
# Klinická parazitologie - význam



# Parazitární nemoci člověka

Helmintózy	4,46 miliard
Ascaris lumbricoides	1221 mil
Ancylostoma	740 mil
Trichuris	795 mil
Filariózy	657 mil
Schistosomy	200 mil
Malárie	298-659 mil
Entamoeba histolytica	50 mil

# Schéma vzniku parazitárního onemocnění





# Výskyt parazitárních onemocnění v ČR

**Tab. 1** Hlášený výskyt vybraných parazitárních a infekčních onemocnění v České republice v letech 2010-2016, včetně importovaných infekcí (malárie aj.). (Zdroj EPIDAT)

Diagnóza / Rok	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
svrab	2 952	3 139	3 336	3 960	4 202	4 277	4 590
enterobióza	1 125	925	1079	1 226	1 241	1 738	1 865
askarióza	48	45	38	21	33	24	24
tenióza	11	13	10	38	18	12	8
toxoplasmóza	259	180	188	155	147	169	147
amébóza	385	361	316	298	240	213	303
giardióza	152	133	135	145	106	81	100
malárie	13	28	27	27	31	29	38
lymeská borelióza	3 597	4 834	3 304	4 646	3 743	2 913	4 694
klíšťová encefalitida	589	861	573	625	410	355	569
plané neštovice	48 270	42 785	42 529	40 413	51 617	47 051	44 089
kampylo-bakteriíza	21 164	18 811	18 412	18 389	20 903	21 102	21 291
salmonelóza	8 622	8 752	10 507	10 280	13 633	12 739	11 912

# Patogen, vektor

**Patogen**, resp. **patogenní agens**:

**choroboplodný zárodek** nebo **původce nemoci**, je biologický faktor (organismus), který může zapříčinit onemocnění hostitele.

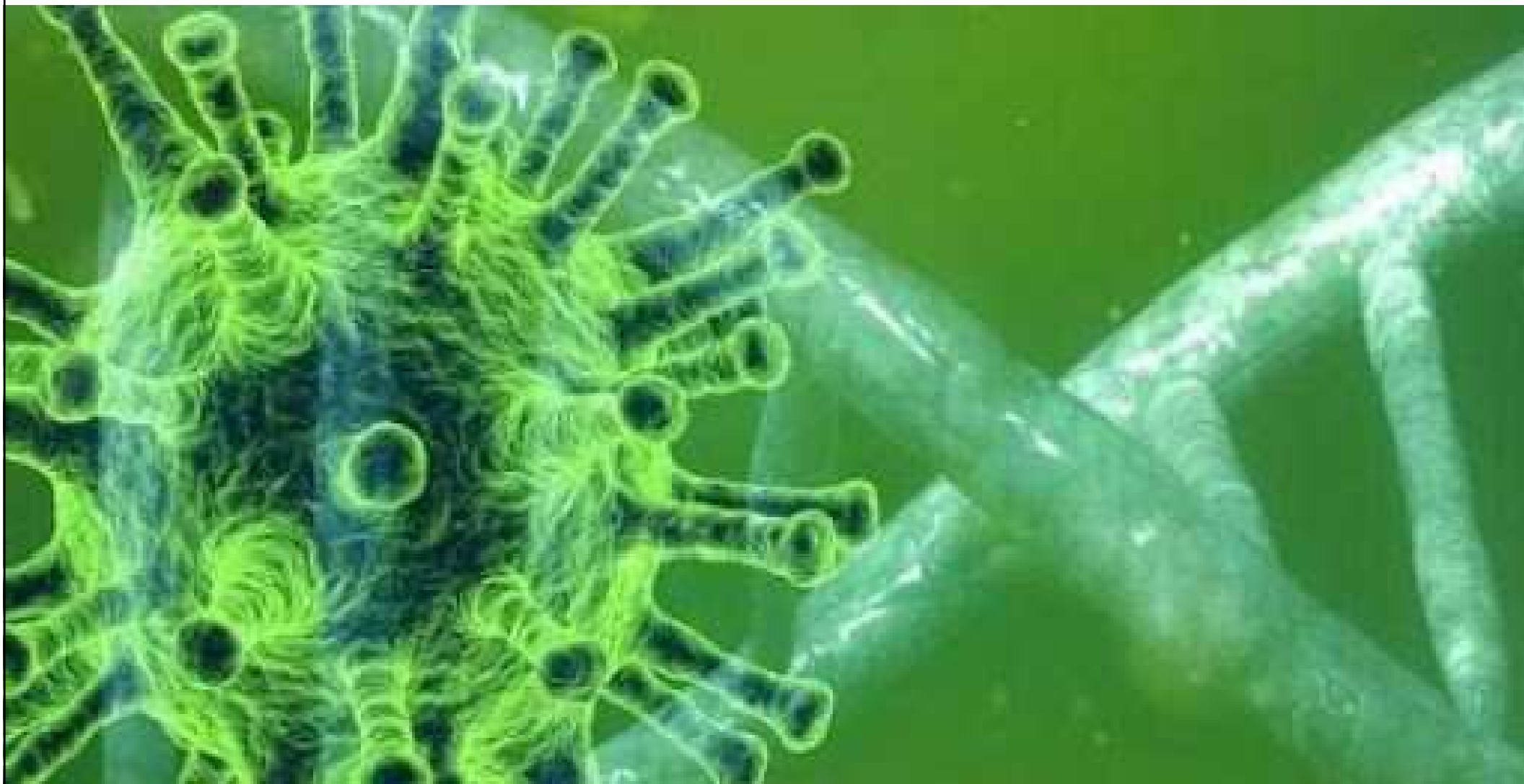
Tento pojem se často používá ve zúženém rozsahu zahrnujícím organismy, které mohou narušit normální fyziologické procesy mnohobuněčných organismů, nicméně v plném významu zahrnuje

**veškeré biologické faktory infikující jakoukoliv součást biologické říše**

Za patogen považujeme všechny organizmy včetně virů, viroidů, které nemůžeme označit za mikroorganizmy.

**přenašeč (vektor)** přenáší na svého hostitele patogena. Takto je patogeny využívána řada parazitických členovců. Přitom se parazit ve vektoru může namnožovat, vyvíjet se v něm, nebo může být přenos pouze mechanický.

# Bez komentáře !



Viry jsou v podstatě obligátní paraziti, bez hostitele nejsou schopni existence !

# Výhody parazitismu

- 1) Po nalezení hostitele nemusí hledat dalšího
- 2) Permanentní dostupnost potravy
- 3) Redukovaná potřeba složitého získávání a zpracovávání potravy
- 4) Ochrana před extrémě vnějším prostředím
- 5) Ochrana před predátory a nemocemi
- 6) Redukovaná potřeba mechanismů šíření (zajišťuje hostitel)
- 7) Větší tělesné proporce pro reprodukční orgány než u volně žijících živočichů

# Nevýhody parazitismu

- 1) Extrémní specičnost zvyšuje riziko vyhynutí
- 2) Nutnost vyhledat optimální místo lokalizace na/v hostiteli
- 3) Nutnost se adaptovat vnitřnímu fyziologickému prostředí hostitele
- 4) Nutnost překonávat imunitní systém hostitele
- 5) Rozšíření je omezeno na geografické rozšíření hostitele
- 6) Přenos je extrémně riskantní a většina potomků cizopasníka zahyne před dosažením vhodného hostitele.

# Faktory zhoršující vliv parazitismu

Chudoba

Nedostatečná hygiena

Podvýživa

Nedostatečná zdravotní infrastruktura

Nezájem vládních garnitur

Korupce

Urbanizace

Sociální konflikty/války

Přesuny vnímavých osob do oblastí s infekcí

Přesuny napadených osob do oblastí bez infekce

Antropogenní poškozování/degradace prostředí

Přírodní katastrofy

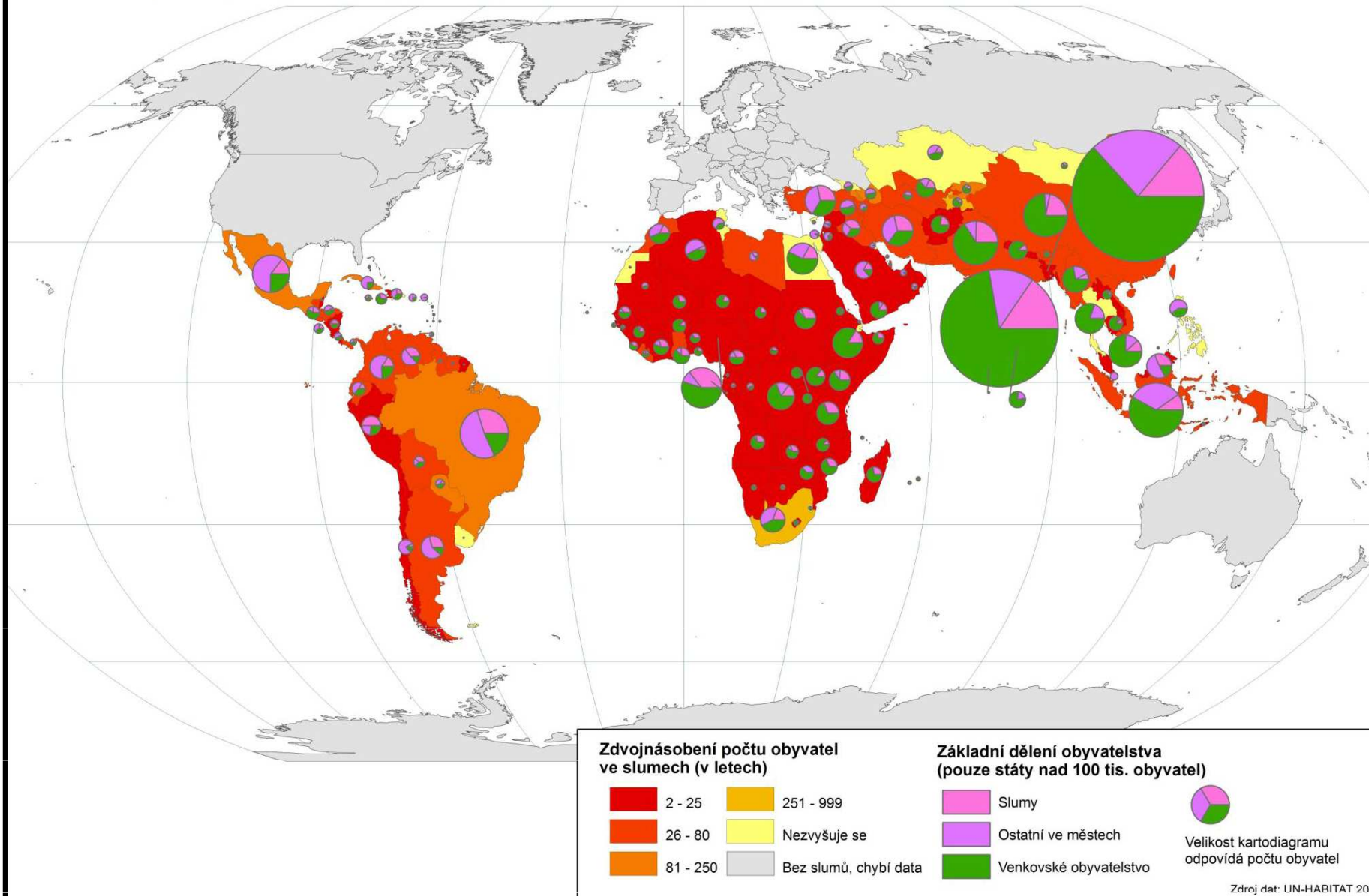
Nedostatek účinných léčiv/rezistence cizopasníků

Růst rezistence vektorů/mezihostitelů



# OBYVATELÉ ŽIJÍCÍ VE SLUMECH

Podíl obyvatel žijících ve slumech podle států (mimo Severní Ameriky a Evropy)

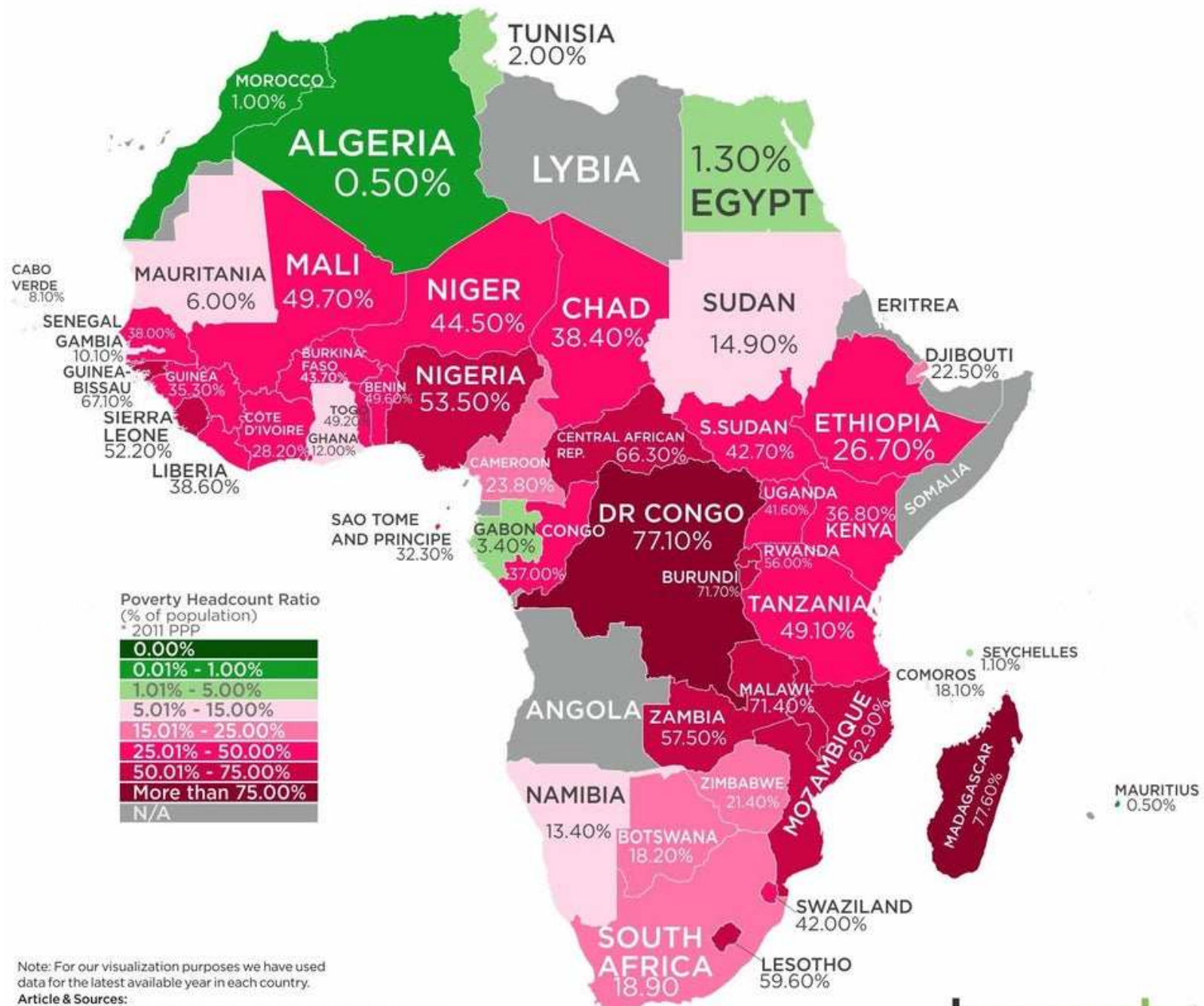






# People Living in Extreme Poverty in Africa

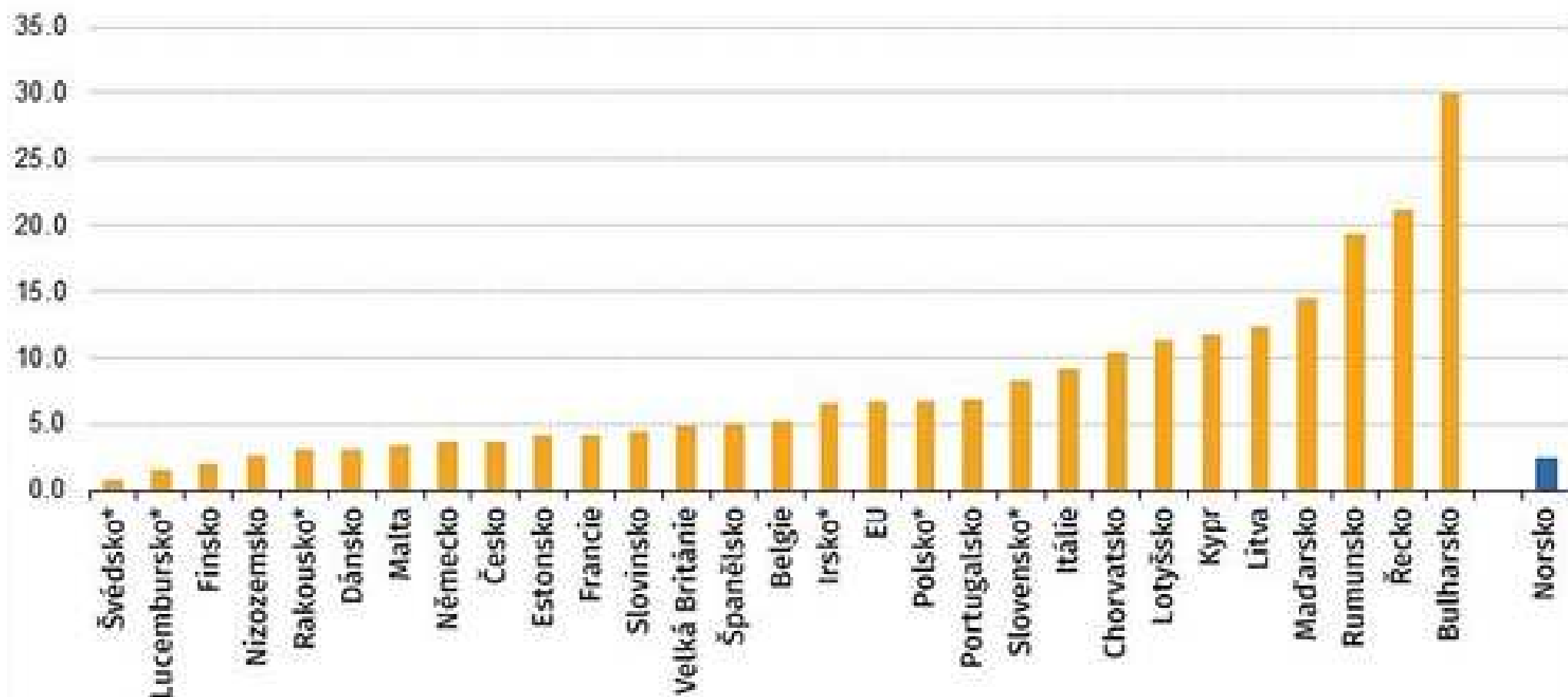
## Percentage of Population Living on less than \$1.90 a day\*



Note: For our visualization purposes we have used data for the latest available year in each country.  
 Article & Sources:  
<https://howmuch.net/articles/people-living-in-extreme-poverty-2018>  
 The World Bank - <http://www.worldbank.org>

# Extrémní chudoba v EU podle zemí

údaje za rok 2017 (procento populace)

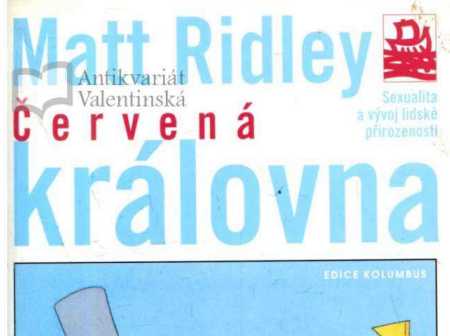


\* údaj za rok 2016

**JAK BLECHA ZAPŘÍČINILA ROZPAD VELKÝCH IMPERIÍ**

# Parazitům vděčíme i za sex

Co v evropských dějinách způsobila blecha? Kdy se parazit stane Robinem Hoodem? Jaký vliv měli cizopasníci na pohlavní rozmnožování? Proč je muňka ohrožený druh? Jak motolice řídí mravence a proč dělá toxoplazmóza z myši sebevraha? „K parazitům je nutné mít za určitých okolností respekt, ale v našich končinách vůbec není důvod bát se jich přespříliš,“ říká doc. RNDr. JAN VOTÝPKA (46), Ph.D., parazitolog z Přírodovědecké fakulty UK, expert na parazitický hmyz a spoluautor knihy *O parazitech a lidech*. Svět cizopasníků v jeho podání je fascinující, i když se při čtení možná budete trochu ošivat.

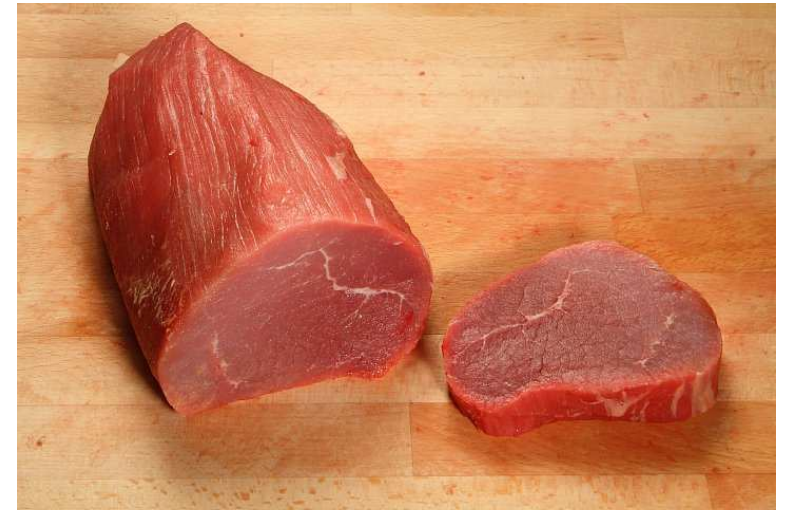


# Význam parazitismu pro člověka

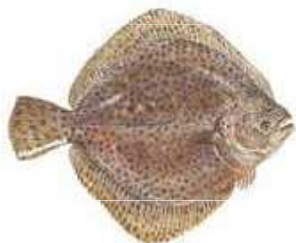
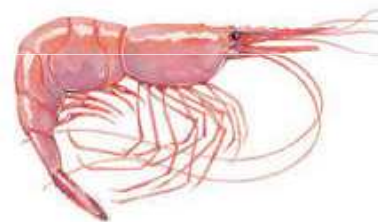
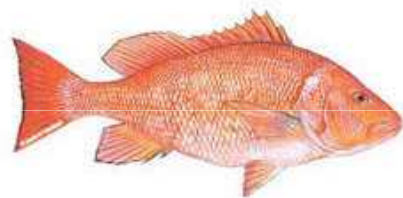
Vliv cizopasníků na historii lidstva

Ekonomický význam pro lidské zdraví

Ekonomický význam pro zdraví  
hospodářských zvířat



# SUCHI FISH MAJÍCÍ PARAZITY

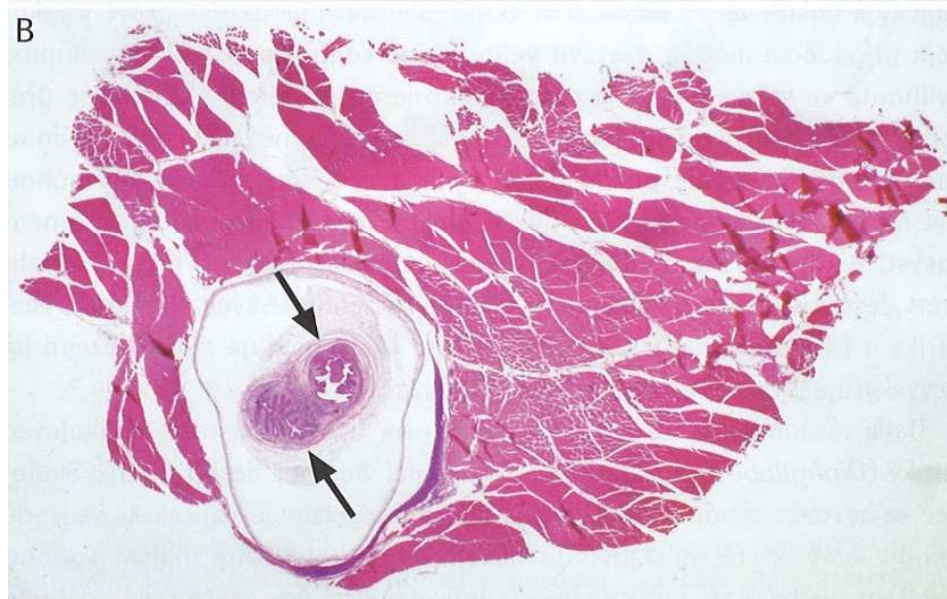
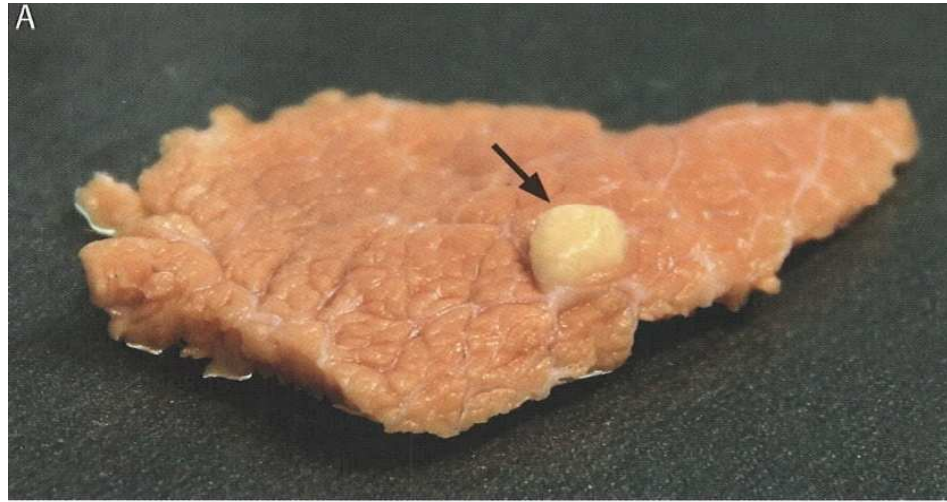




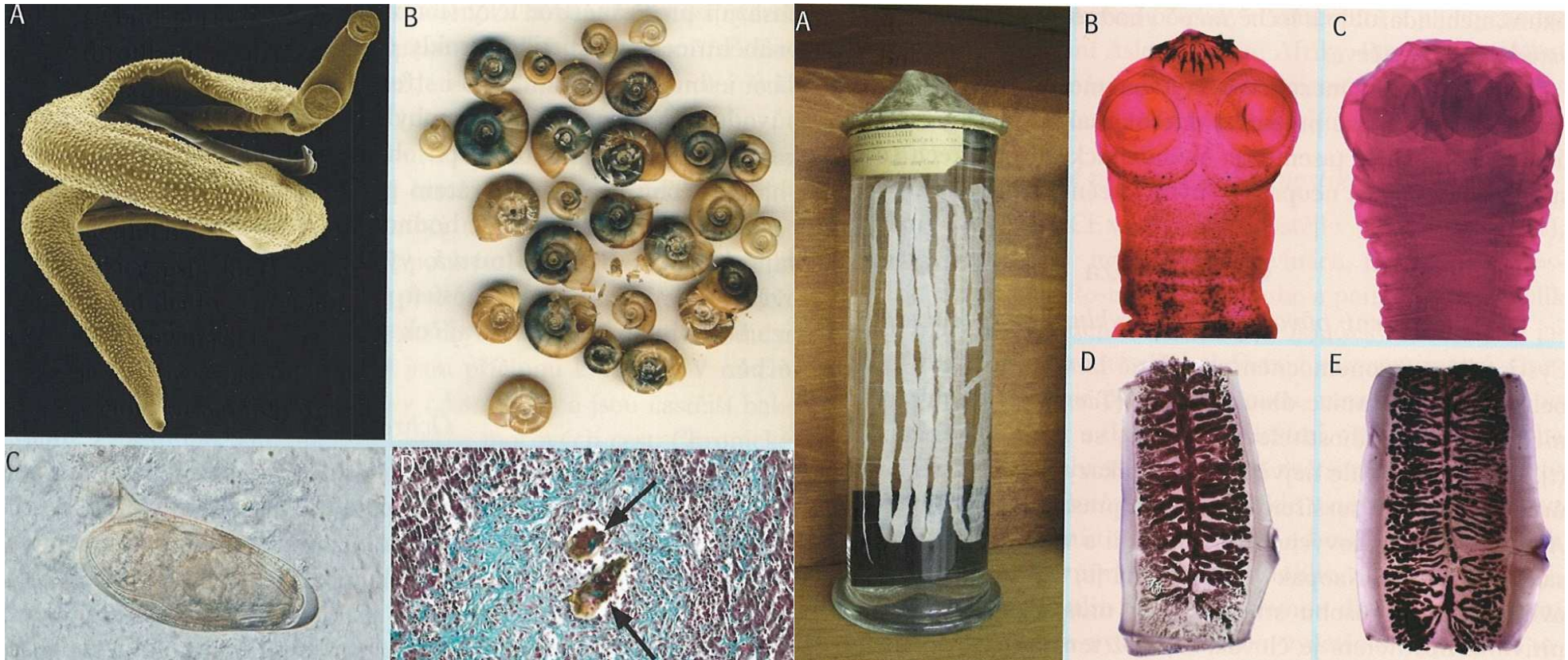




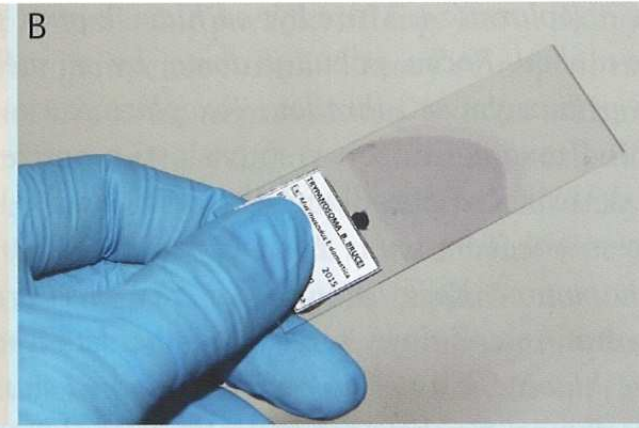
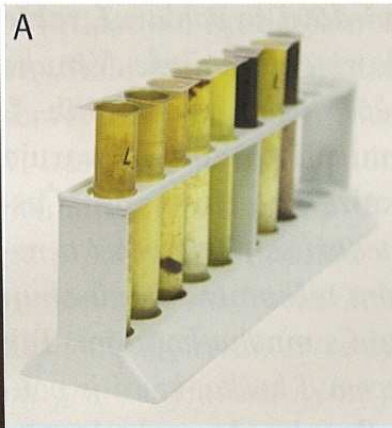
# Vliv parazitů na lidské zdraví



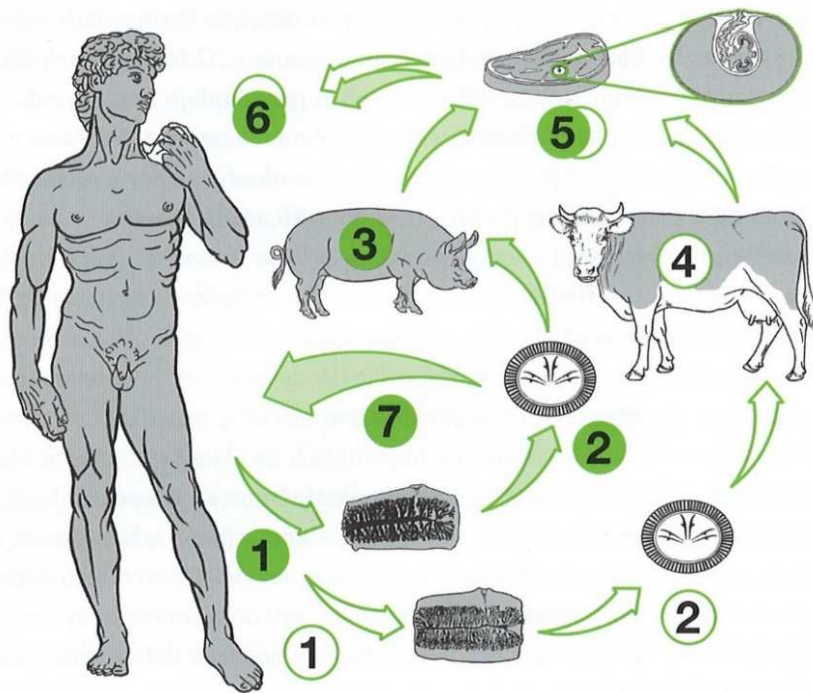
# Co je hlavní úkol parazitologů ?



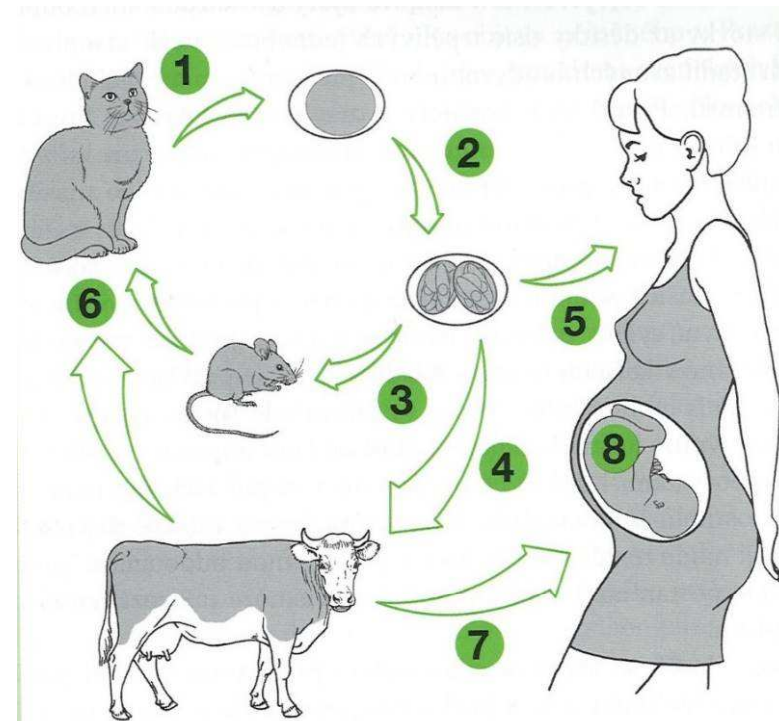
# Profesionální diagnostika původců onemocnění



# Studium životních cyklů – klíčová znalost

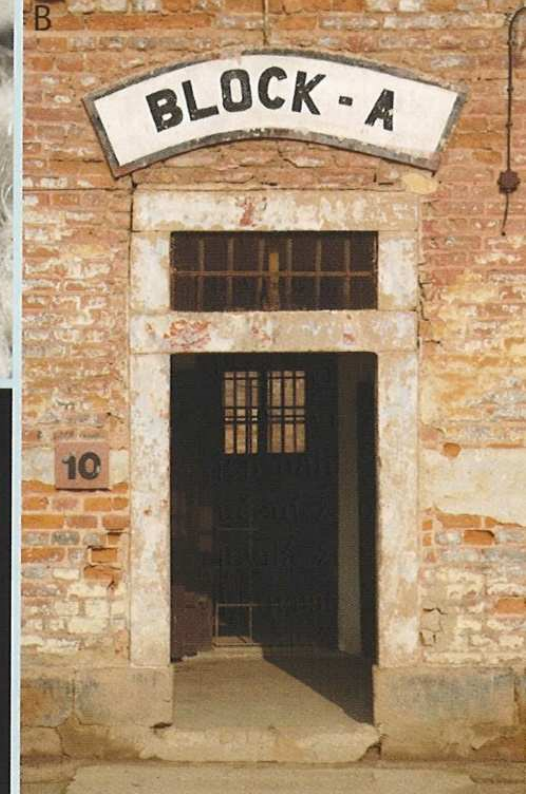
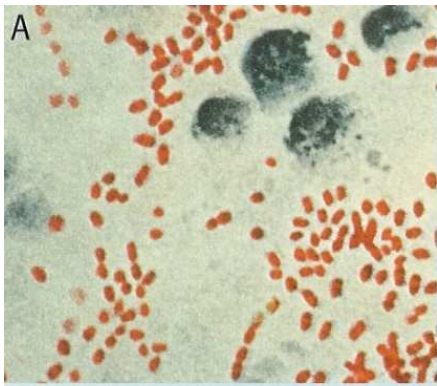


Životní cyklus lidských tasemnic rodu *Taenia*

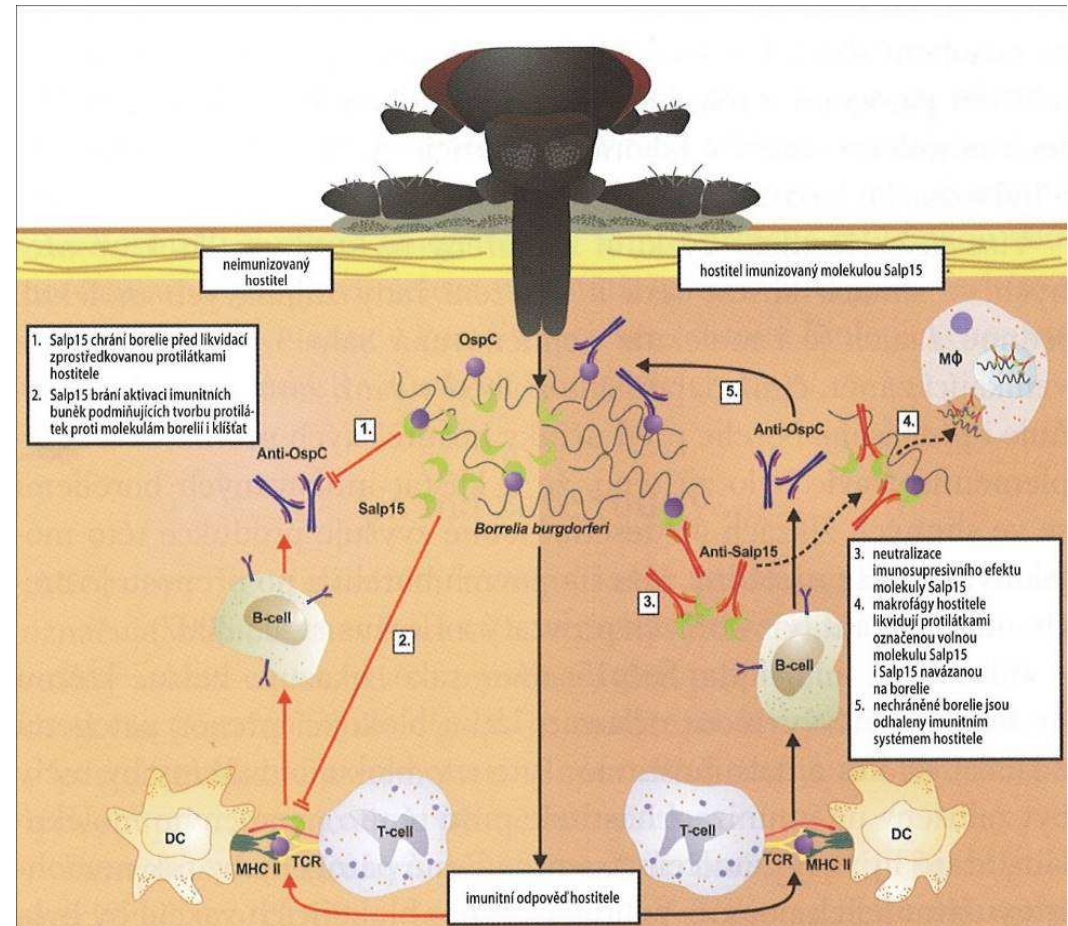
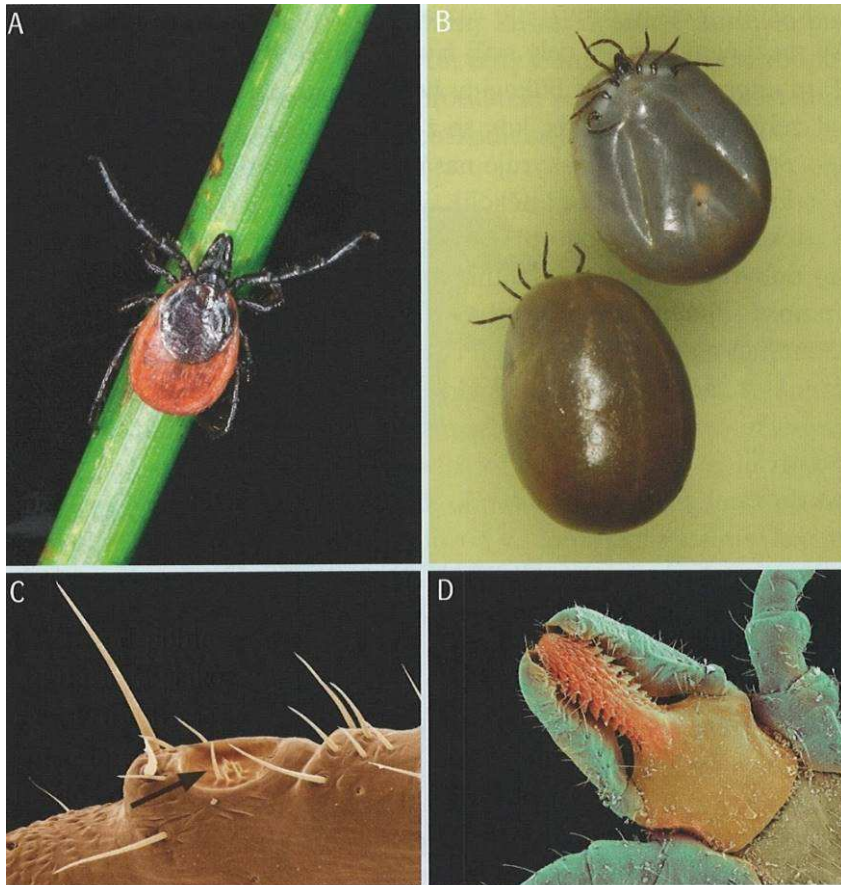


Životní cyklus prvoka *Toxoplasma gondii*

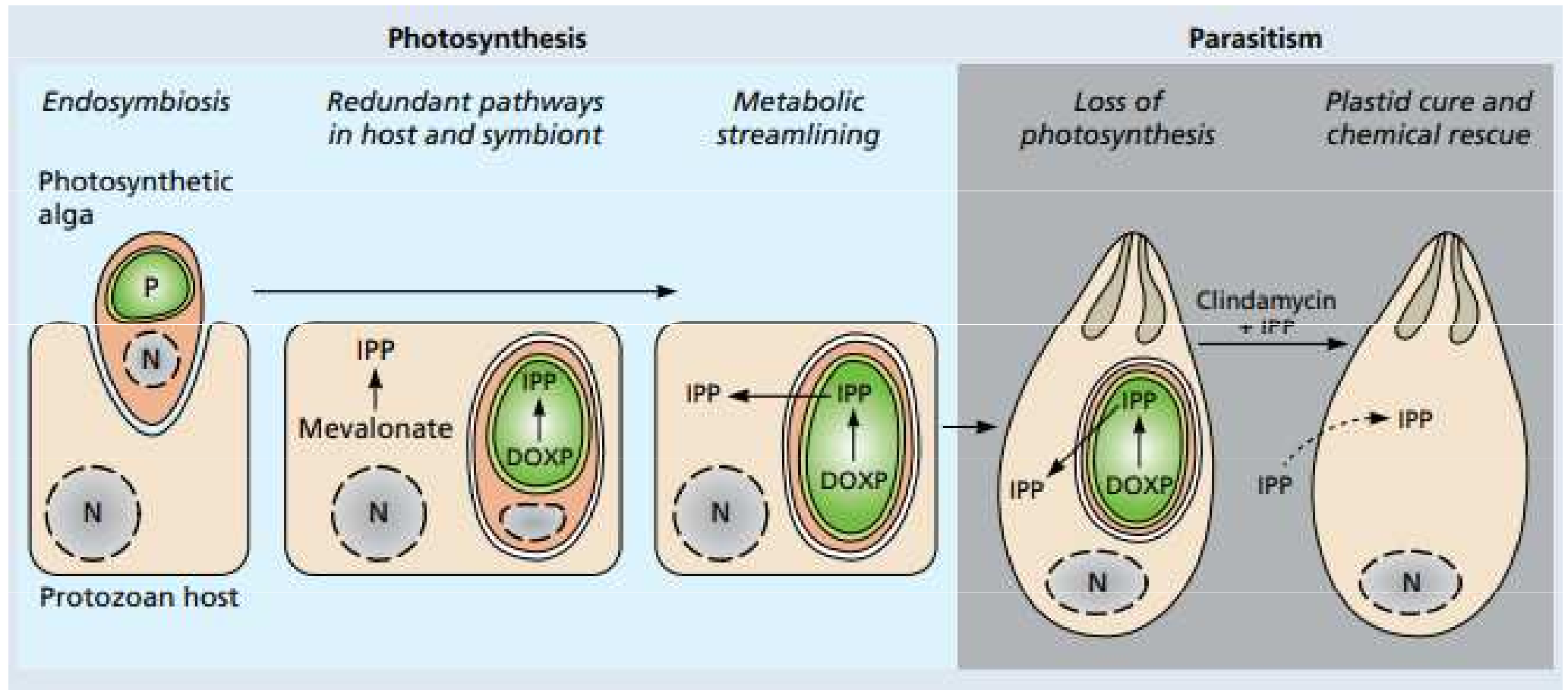
# Studium přenosu a šíření patogenů (často smrtících epidemií)



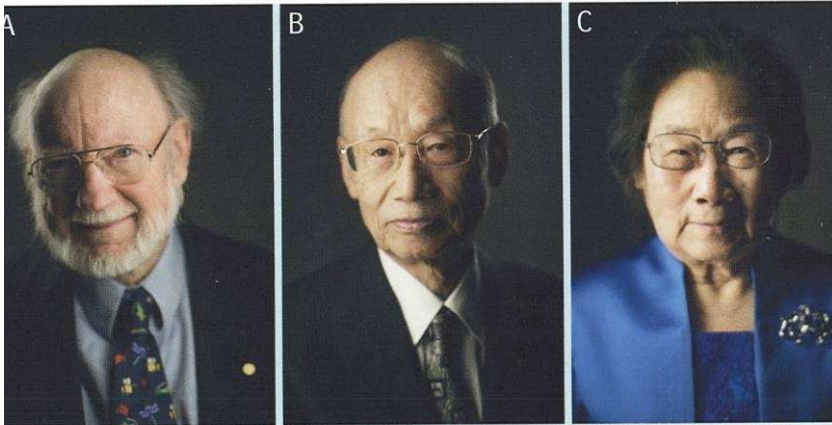
# Aplikace ve zdravotnictví – příprava vakcín



# Apicoplast – potenciální cíl nově vyvíjených terapeutik



# Parazitologické nobelovky



## Parazitologické „Nobelovky“

**Nobelova cena!** Nejvyšší meta, jaké může vědec dosáhnout. Parazitologové získávají toto ocenění nejčastěji v kategorii fyziologie a lékařství. Pro parazitology byl velmi významný rok 2015, kdy byla Nobelova cena udělena **Williamu C. Campbellovi (A)** a **Satoši Omurovi (B)** za lék proti parazitickým hlísticím a **Tchu Jou-jou (C)** za příspěvek k léčbě malárie. Ale nebylo to zdaleka poprvé, kdy parazitologové takto „zabodovali“. Nobelovy ceny se předávají od roku 1901 a hneč



## Patrick Manson

**Sir Patrick Manson (A)**, objevitel přenosu malárie přes komáry rodu *Anopheles* zobrazené zde na poštovních známkách (B), byl skotský lékař, který se narodil 3. října 1844 nedaleko Aberdeenu a zemřel 9. dubna 1922 v Londýně ve věku 77 let. (Zdroj: A, Wikipedia; B, archiv Jana Votýpky)



# Vliv parazitů na umění ☺



## Vši a blechy ve výtvarném umění

Mnohé obrazy, které se nám dochovaly z dob minulých, nezachycovaly nutně samotné parazity, ale spíše procedury a postupy, kterými se lidé těchto obtížných souputníků zbavovali.

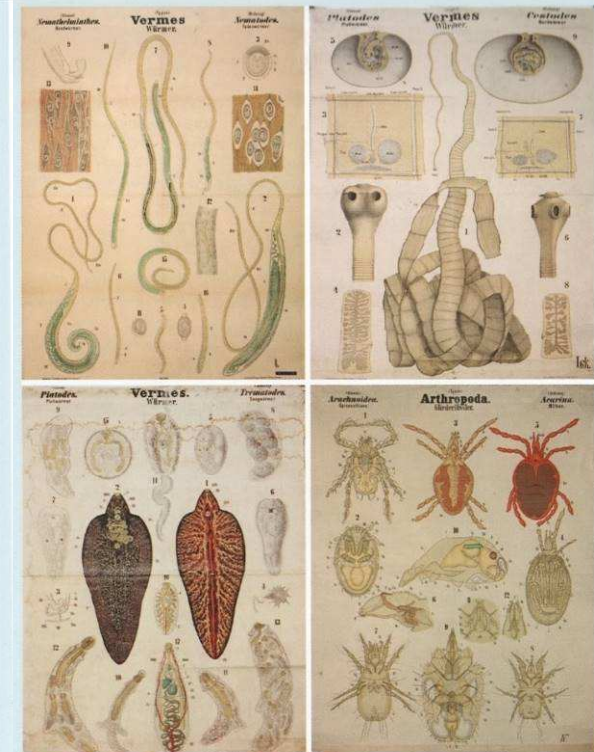
Jan Siberechts (1627–1703) byl vlámský krajinář. Tematiku odvíšivování zpracoval na svých obrazech hned několikrát a tato scéna je mj. součástí obrazu *Dvůr* a pochází z roku 1662 (A). Originál si můžete prohlédnout v Muzeu výtvarného umění v Bruselu.

Španělský barokní malíř Bartolomé Esteban Perez Murillo (1617–1682) se vedle náboženské tematiky věnoval i zachycení každodenního života.



## Slečno, chcete vidět moji sbírku známek?

„No, a že jsem tak smělá, copak sbíráte?“ „Milostivá, já jsem sběratel specialista. Já sbírám vědce! Říkáte si, samej dědek, ale co oni všechno vykonali pro lidstvo! Tady Francouz Eugène Jamot (1879–1937) objevil přenašeče spavé nemoci, Ital Giovanni Battista Grassi (1854–1925) popsal životní cyklus lidského plasmodia. A nevěřila byste, kolik známek se věnuje speciálně komárům anofelům nebo boji proti malárii, jejíž původce tento bodavý hmyz přenáší. Jedna taková pochází dokonce přímo z Česka. Mám tu i dvojici polských známek z roku 1978, oslavující Čtvrtý mezinárodní kongres parazitologů, s motivem anofela a mouchy tse-tse. *Anopheles* se objevil spolu s plasmodiem a chinovníkem i na sérii kubánských známek věnovaných malárii. A vidíte ta nádherná klíšťata na mozambičských známkách z osmdesátých let?“ (Zdroj: archiv autorů)



## Výukové obrazy prof. Leuckarta

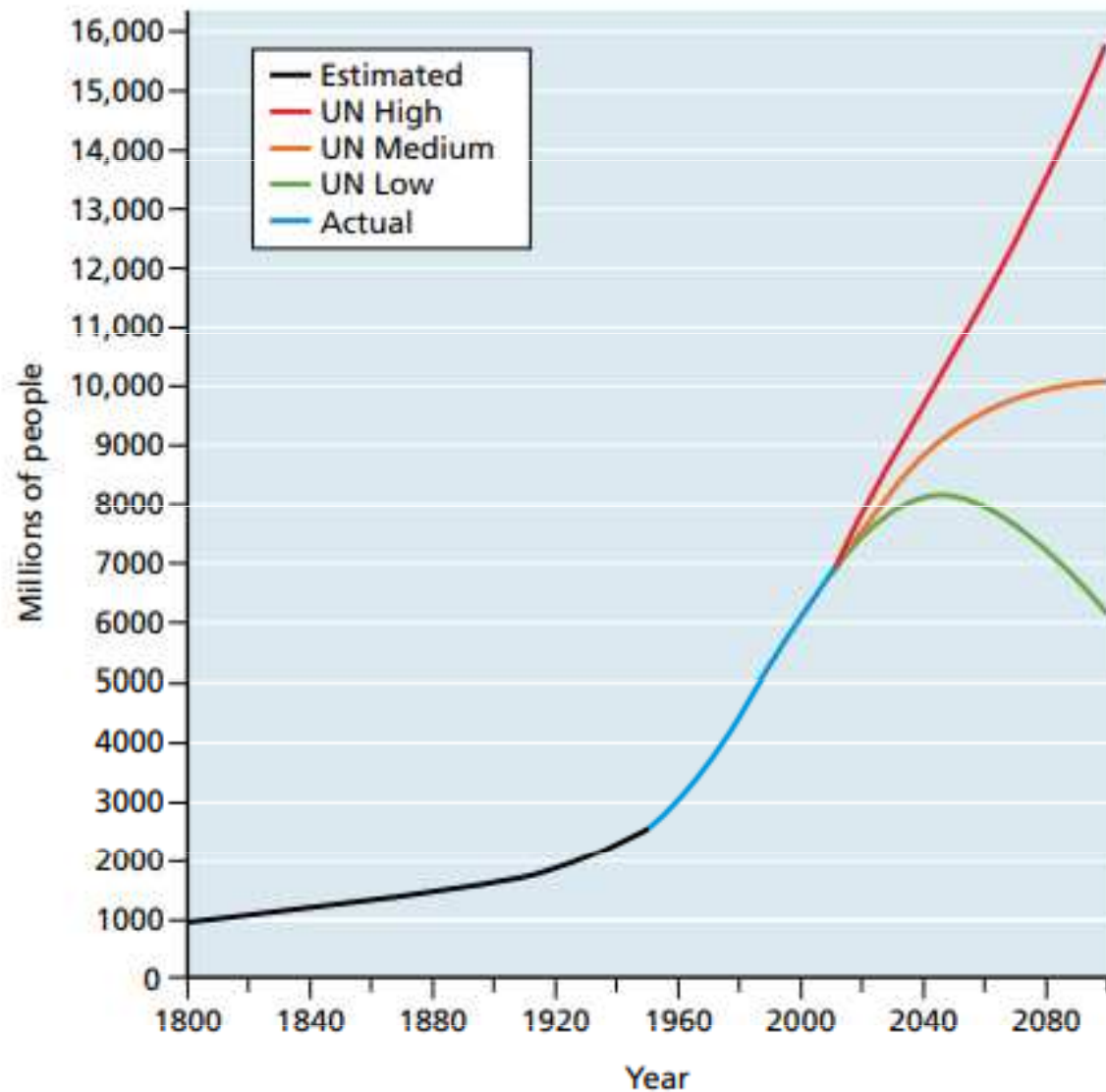
Profesor Karl Georg Friedrich Rudolf Leuckart (1822–1898) byl německý zoolog, který získal vědecký věhlas jako zakladatel německé parazitologie, a proto po něm německá parazitologická společnost pojmenovala i výroční medaili (Rudolf Leuckart Medaille). Věnoval se především výzkumu hlístic svalovců a lidských tasemnic. V letech 1877–1892 vytvořil Leuckart se svými spolupracovníky sérii obrazů pro výuku různých bezobratlých živočichů, včetně těch parazitických. (Zdroj: hpsrepository.asu.edu.)

# Paraziti na poštovních známkách



# Budoucnost parazitologie

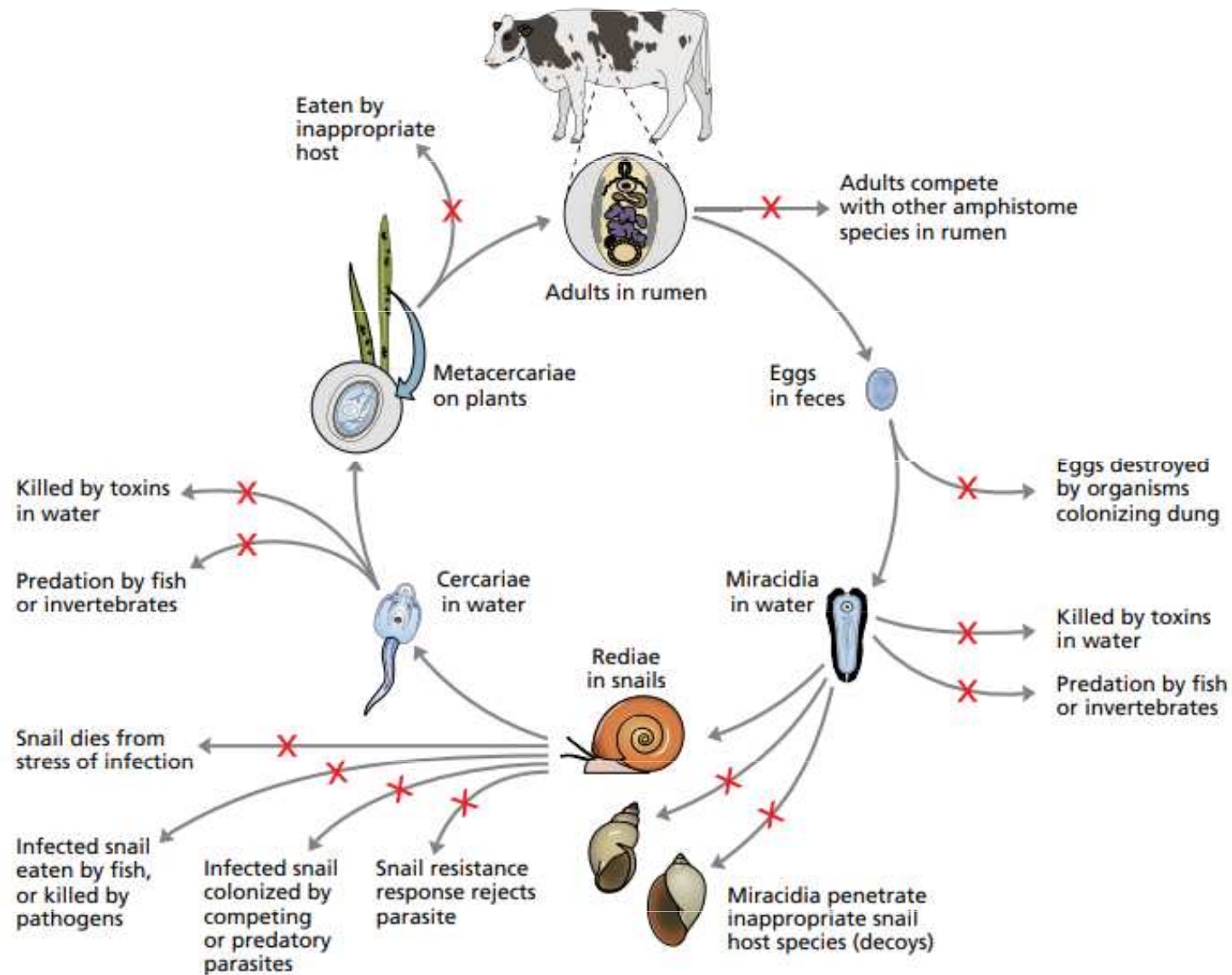
# Demografický vývoj lidstva



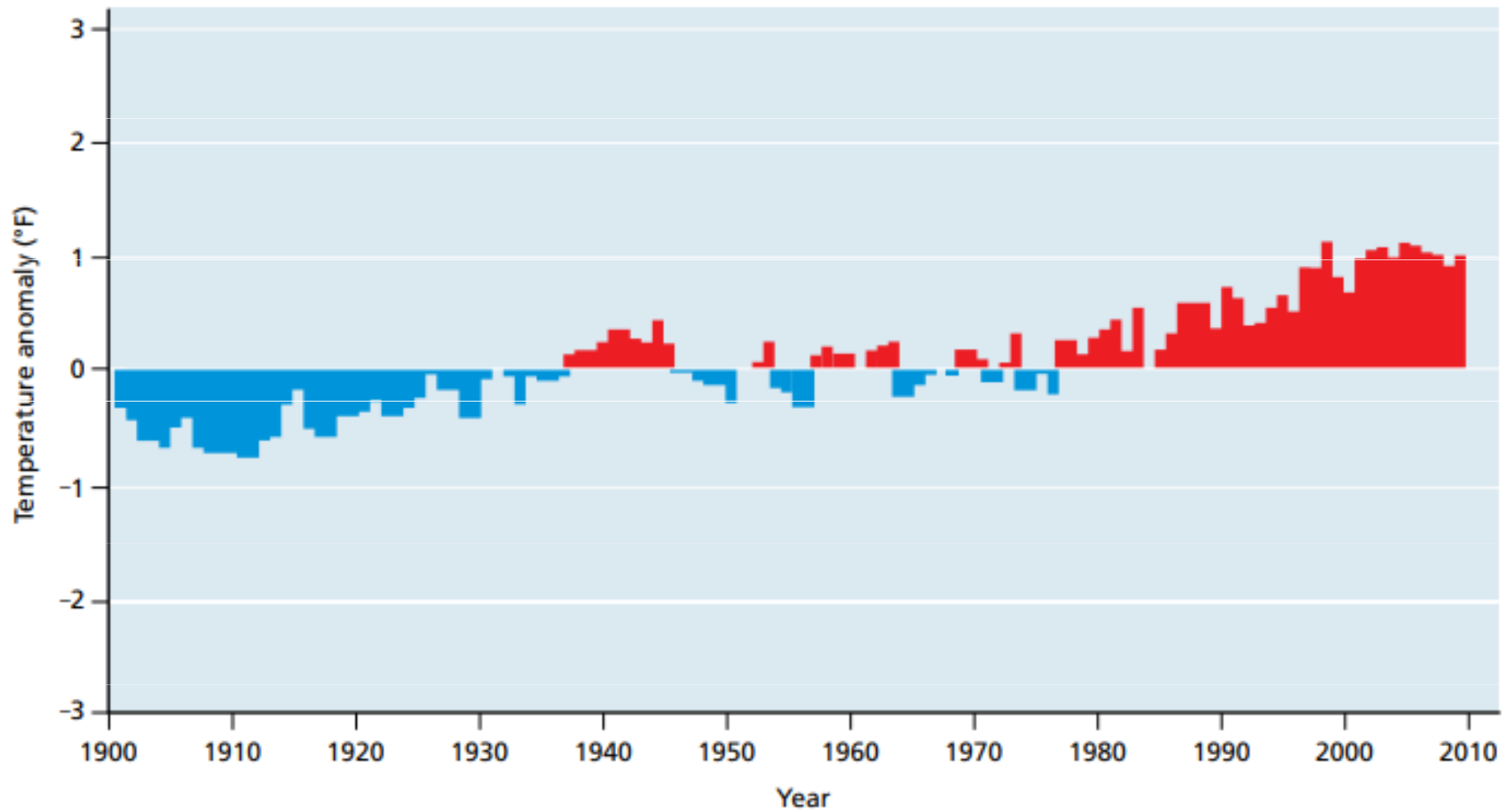
Dva nově popsané druhy: A – tasemnice *Rhodentolepis gnoskei* z hostitele *Suncus varilla*, jezero Mallawi, B – pseudoblecha *Pseudopulex jurasicus* z dinosaura *Pedopenna dauhugouensis* (Mesozoicum) z Číny.



# Komplexní studium interakcí s biotickým a abiotickým prostředím

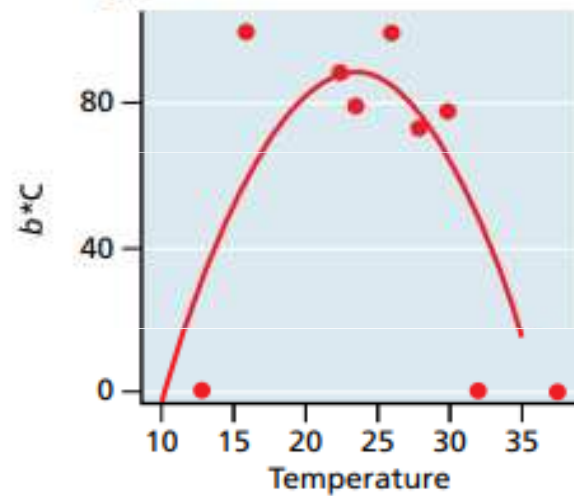


# Vliv oteplování klimatu

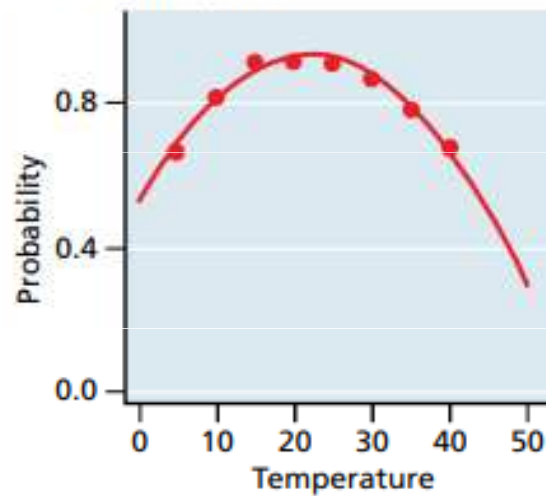


# Vliv stoupající teploty (malárie)

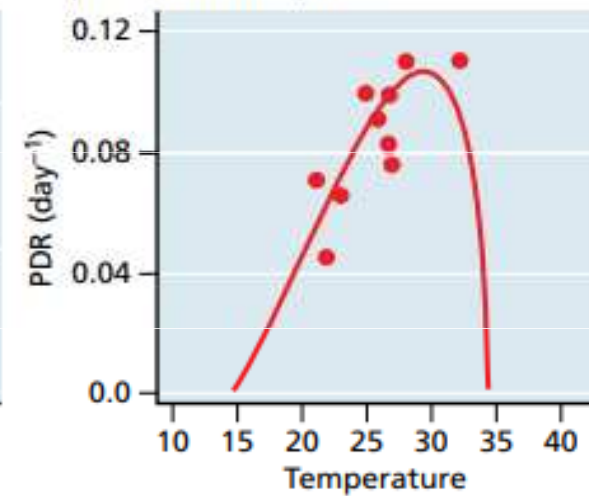
A Competence of vector to carry malaria



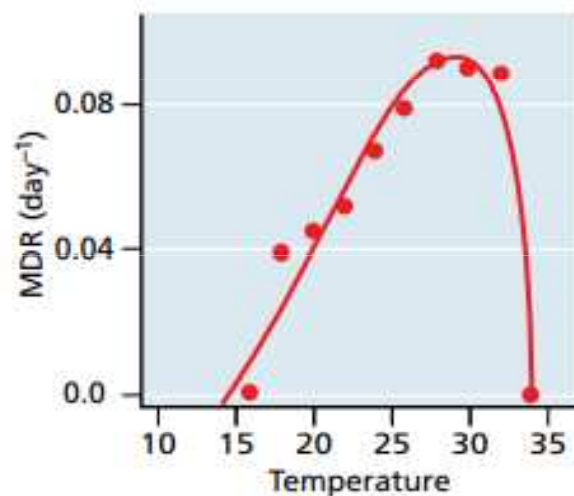
B Daily survival probability of adult mosquito



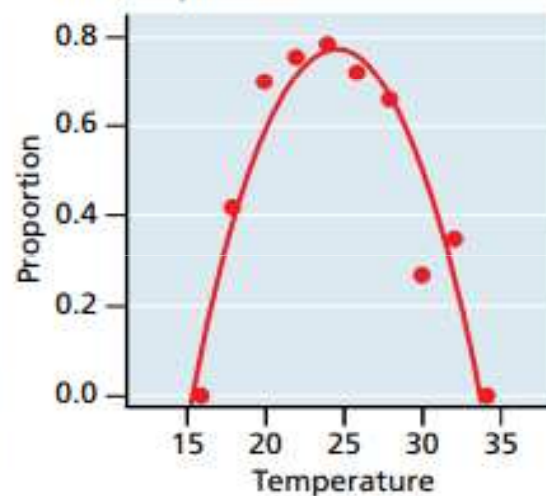
C Development rate of malaria parasite in mosquito



D Mosquito development rate



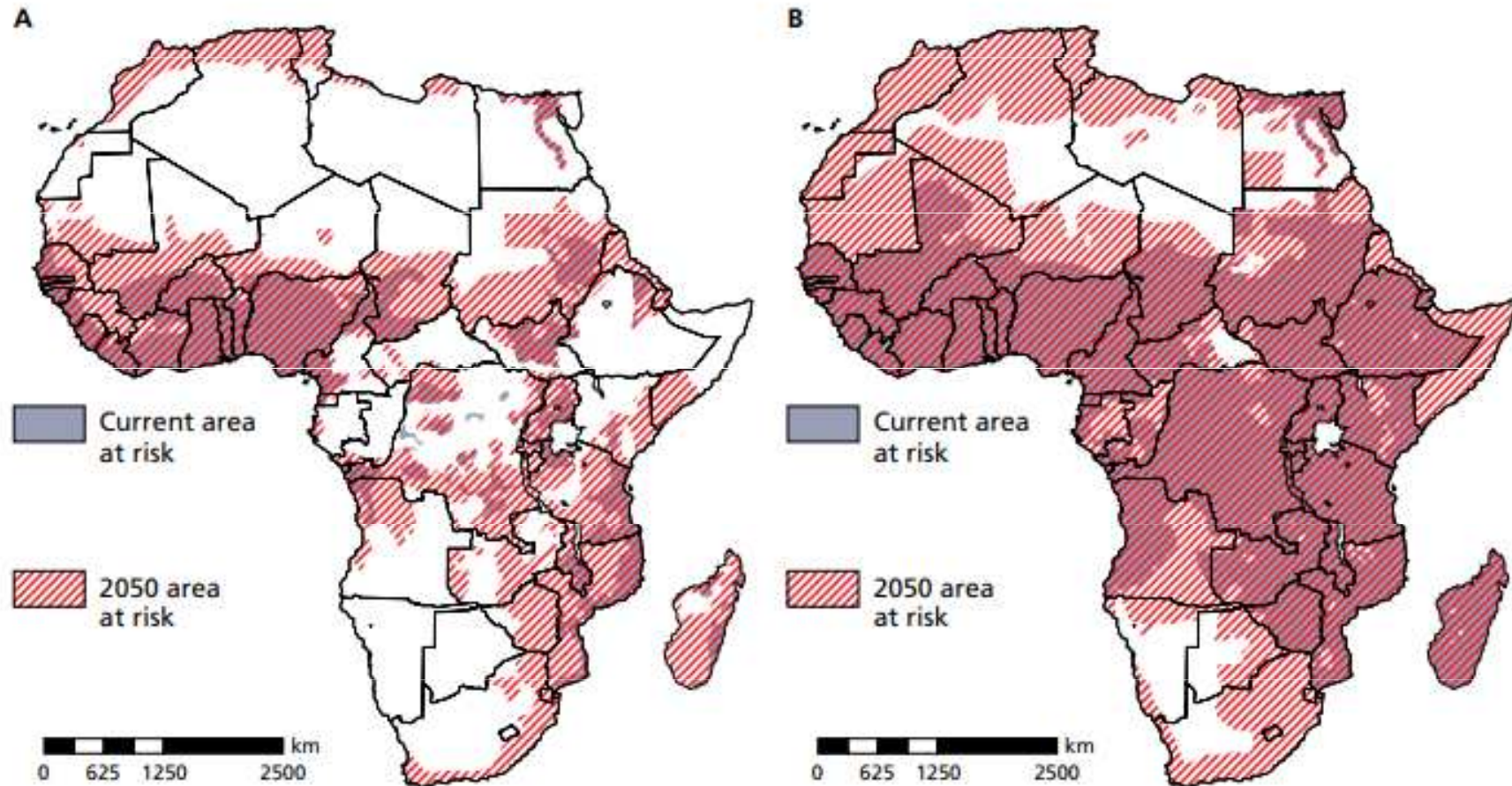
E Egg to adult survivorship for mosquitoes



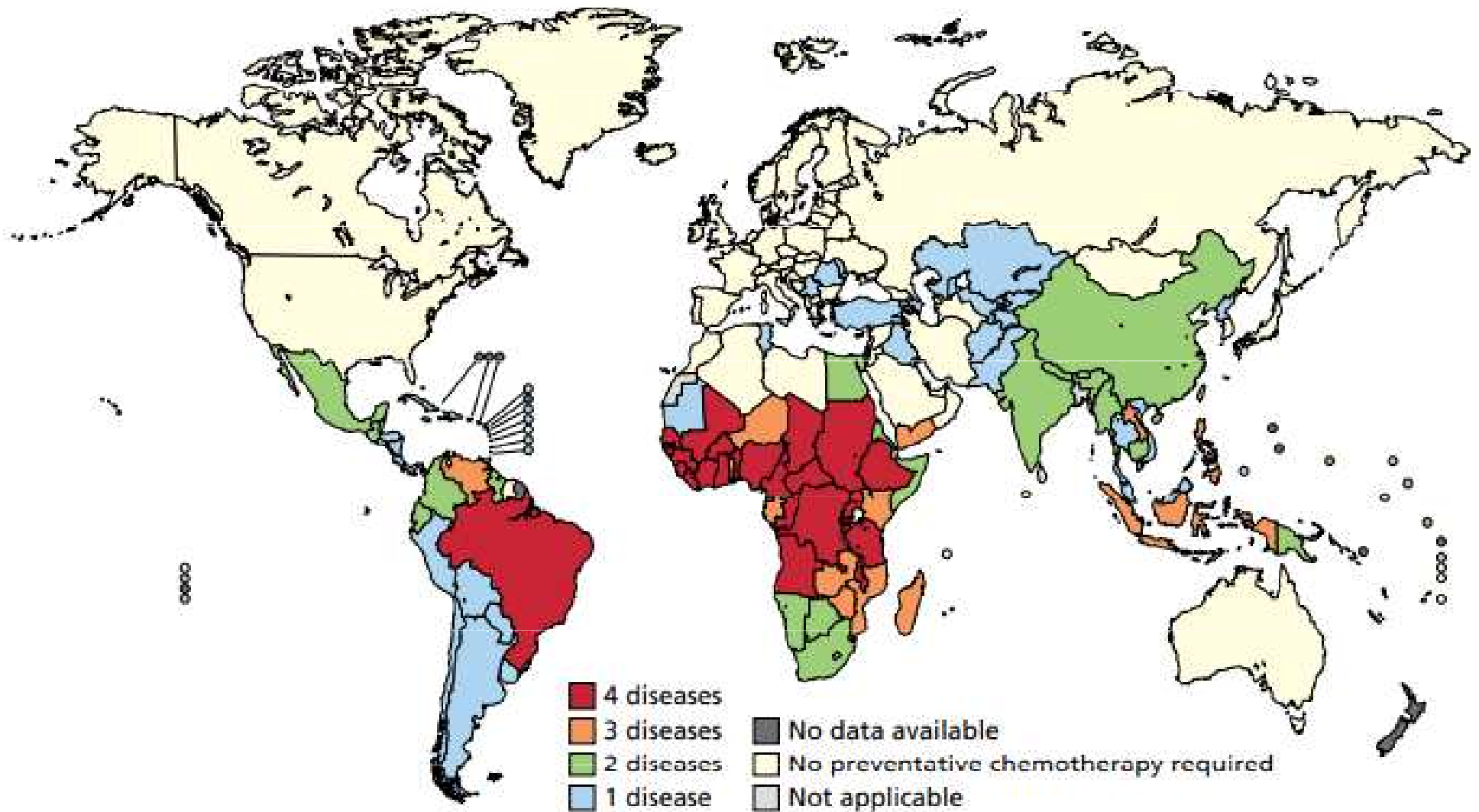
**Figure 10.5 Thermal preference curves for several mosquito and malaria parasite life-history traits that influence the value of  $R_0$  for malaria.** Note that values for many of these parameters do not simply continue to rise in a linear fashion with increasing temperature, but fall sharply at higher temperatures. PDR, Parasite Development Rate; MDR, Mosquito Development Rate;  $b^*C$ , vector competence. (From Mordecai EA et al [2013] *Ecol Lett* 16:22–30. With permission from John Wiley and Sons.)



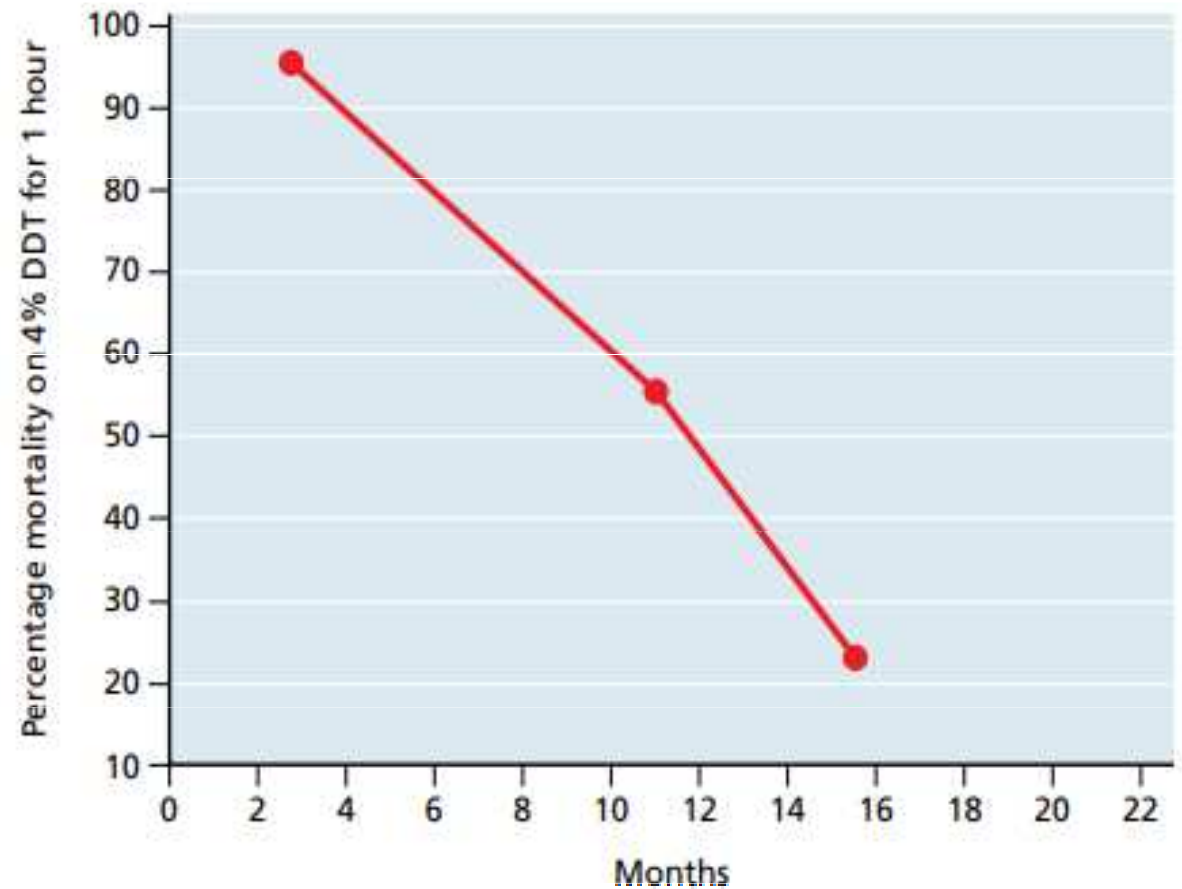
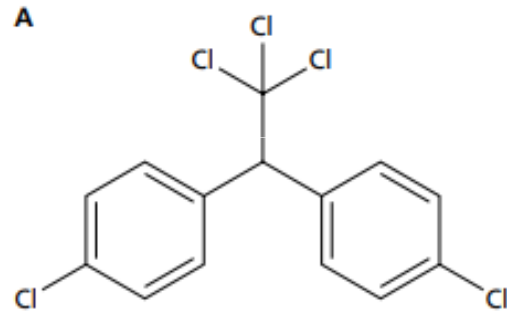
# Aplikace modelování ekologických nik na predikci vlivu působení lymfatické filariózy



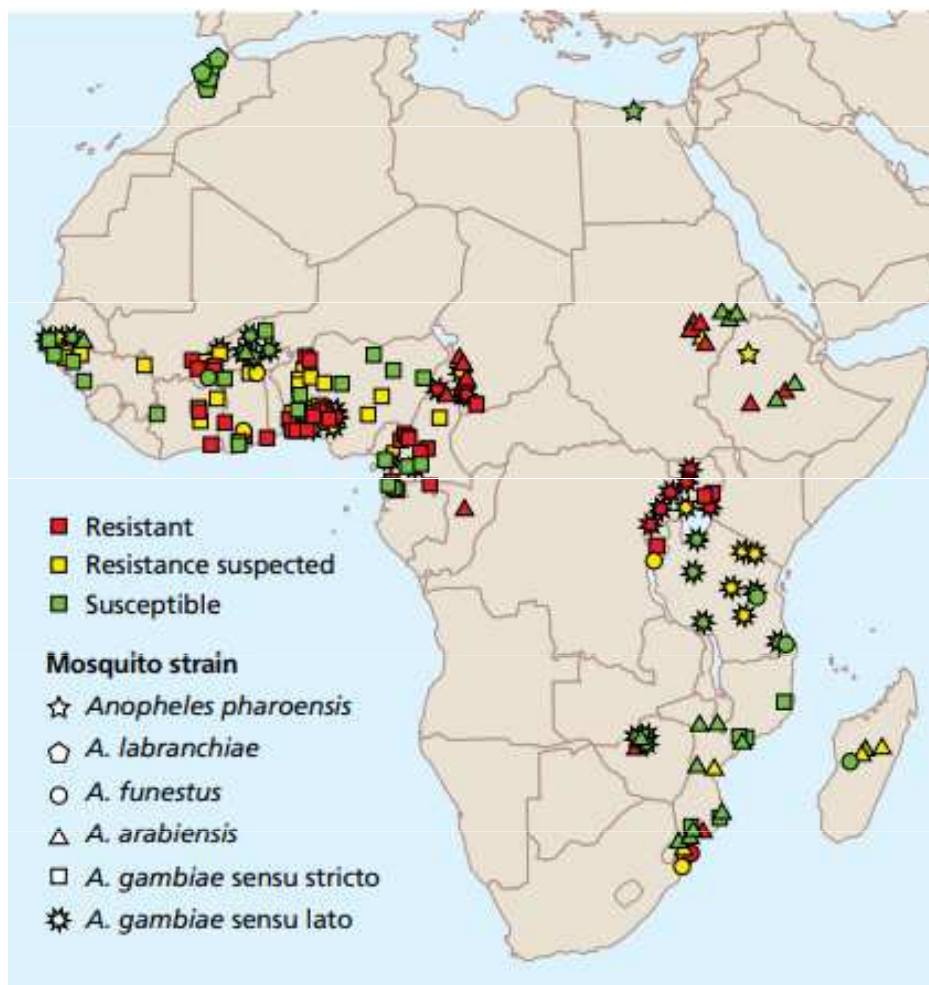
# Země trpící mnohočetnými parazitárními infekcemi



# Struktura a aplikace DDT (vlevo) a rezistence komárů vůči DDT (vpravo)

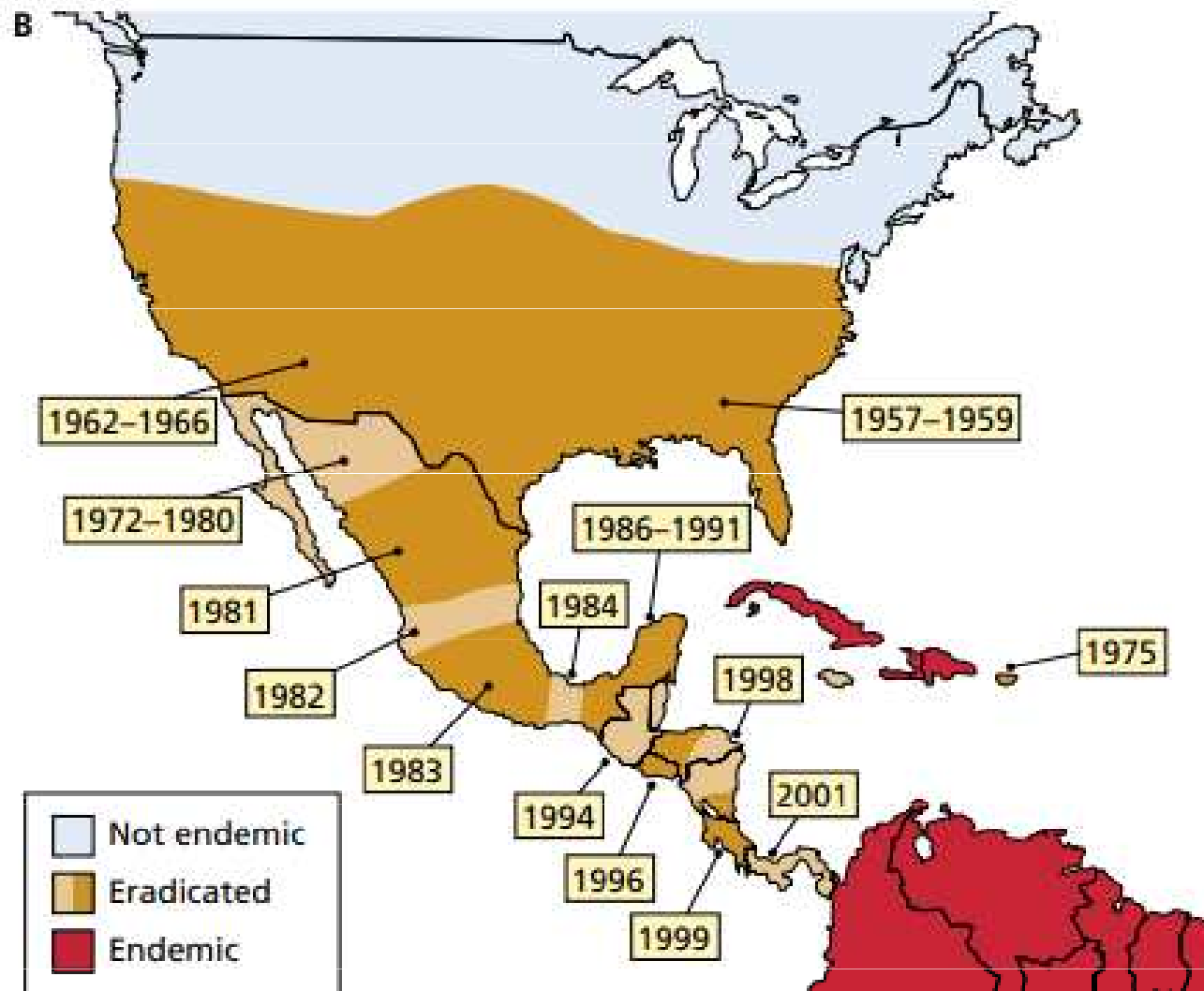


# Rezistence komárů vůči pyretroidům

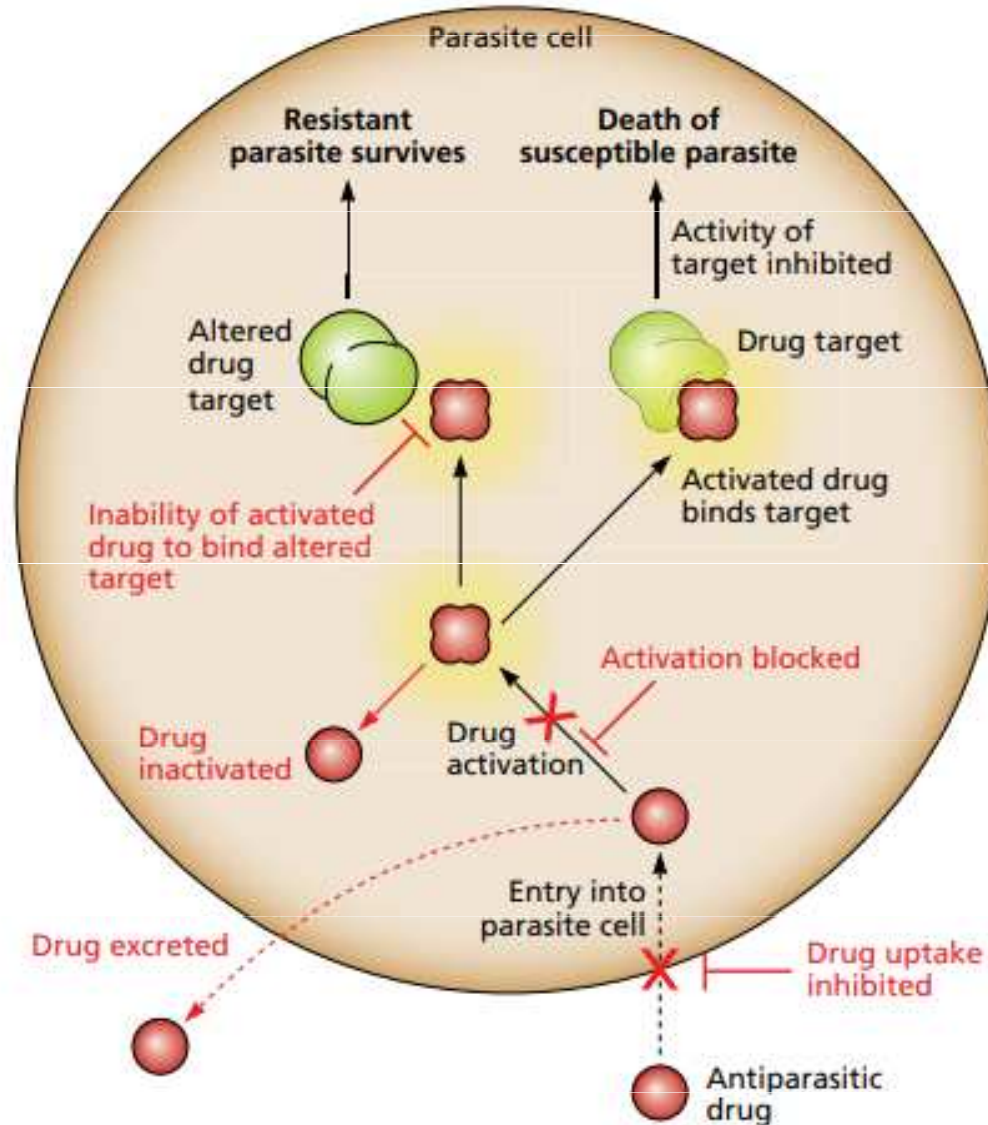


Pomníček rybce *Gambusia affinis*

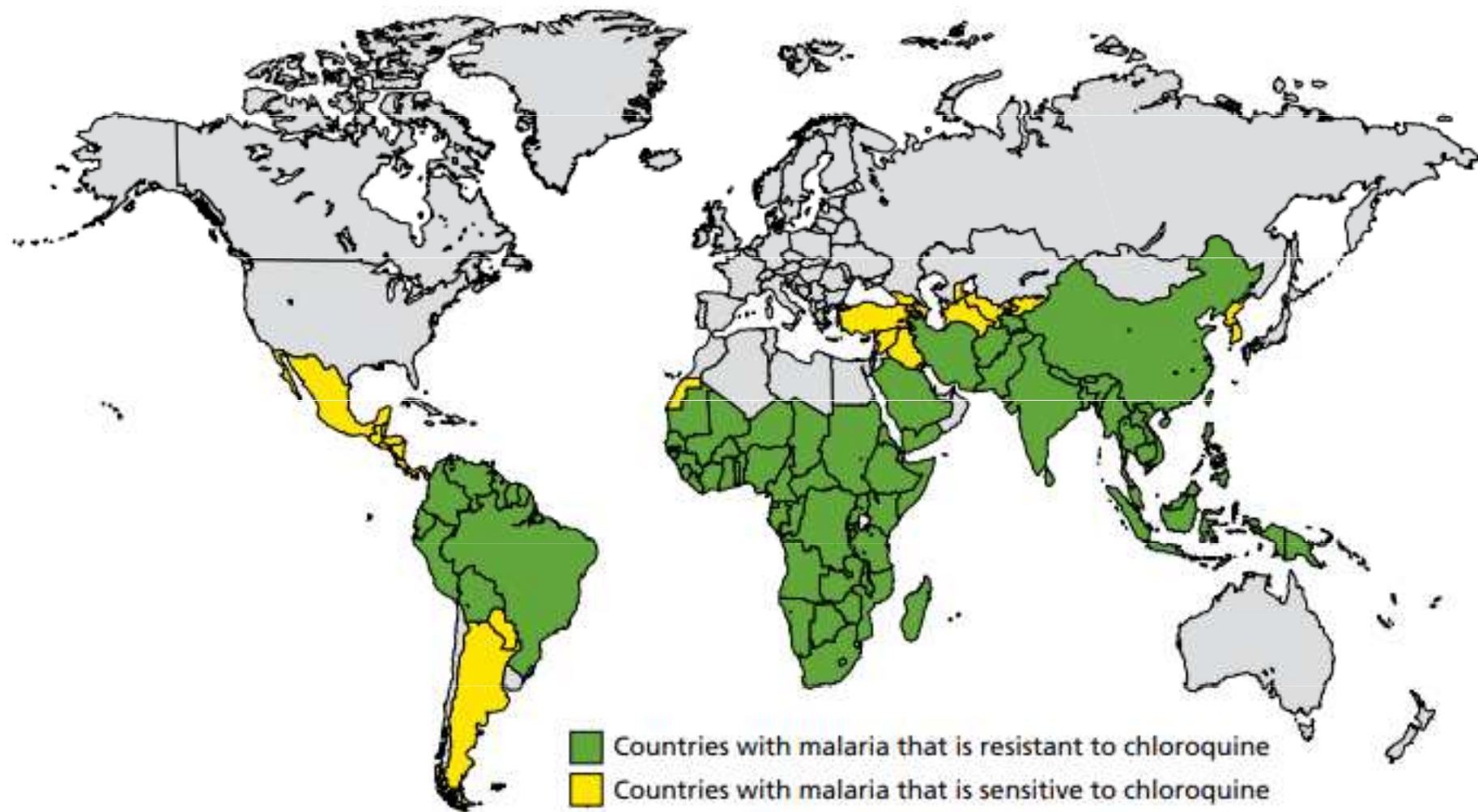
# Eradikace působením sterilních samců ektoparazitické mouchy *Chochliomyia hominivorax*



# Mechanismus vzniku rezistence



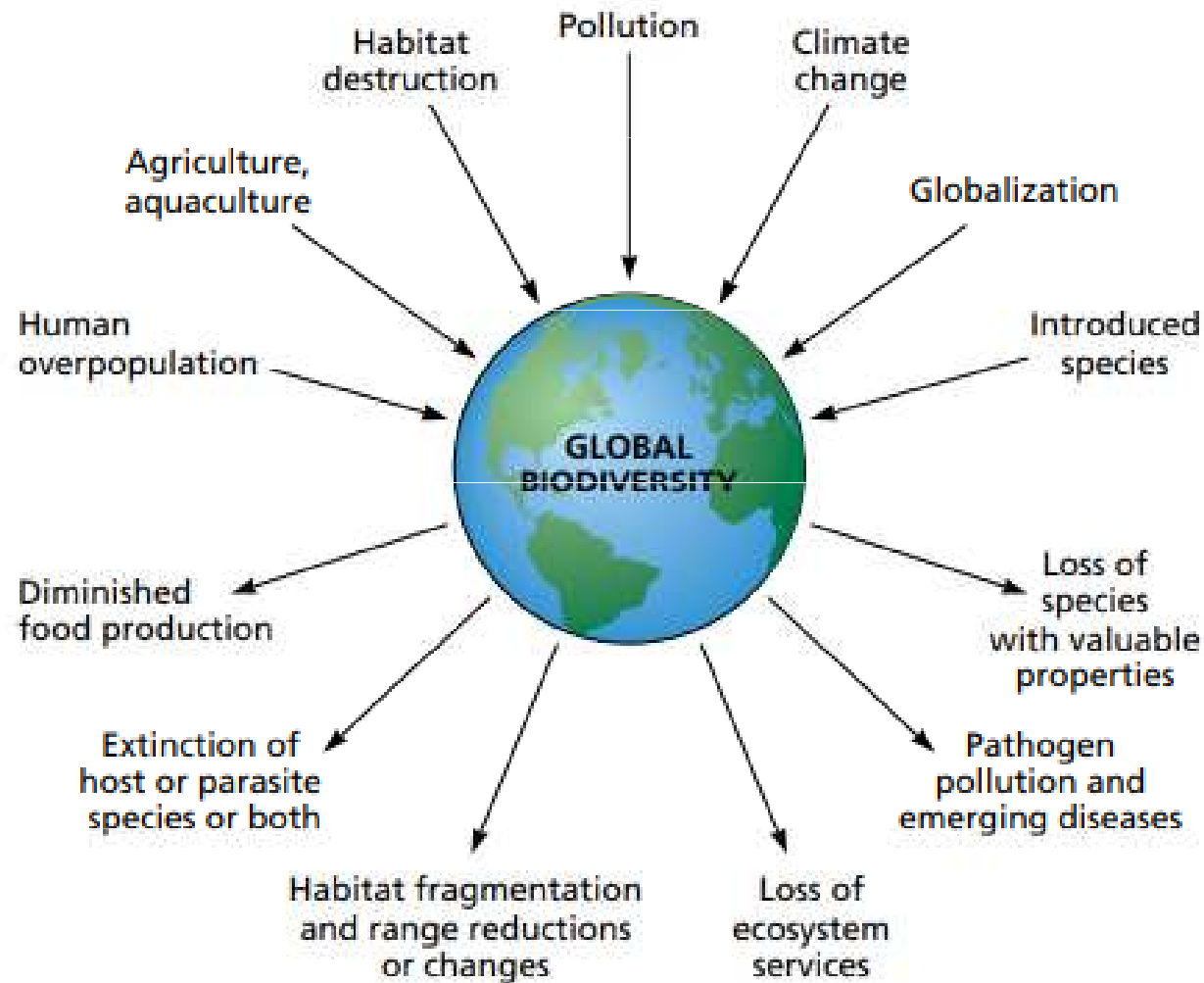
# Rozšíření rezistence komárů vůči chlorochinu



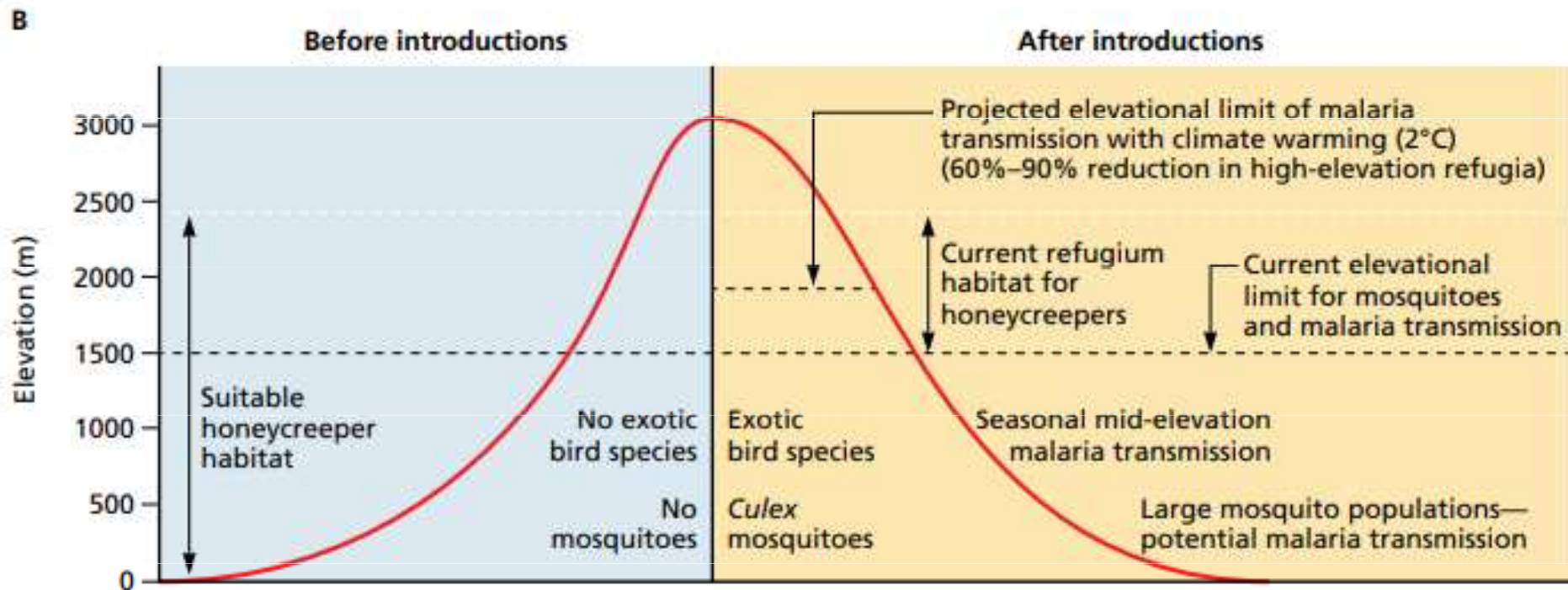
# Paraziti a ochrana životního prostředí



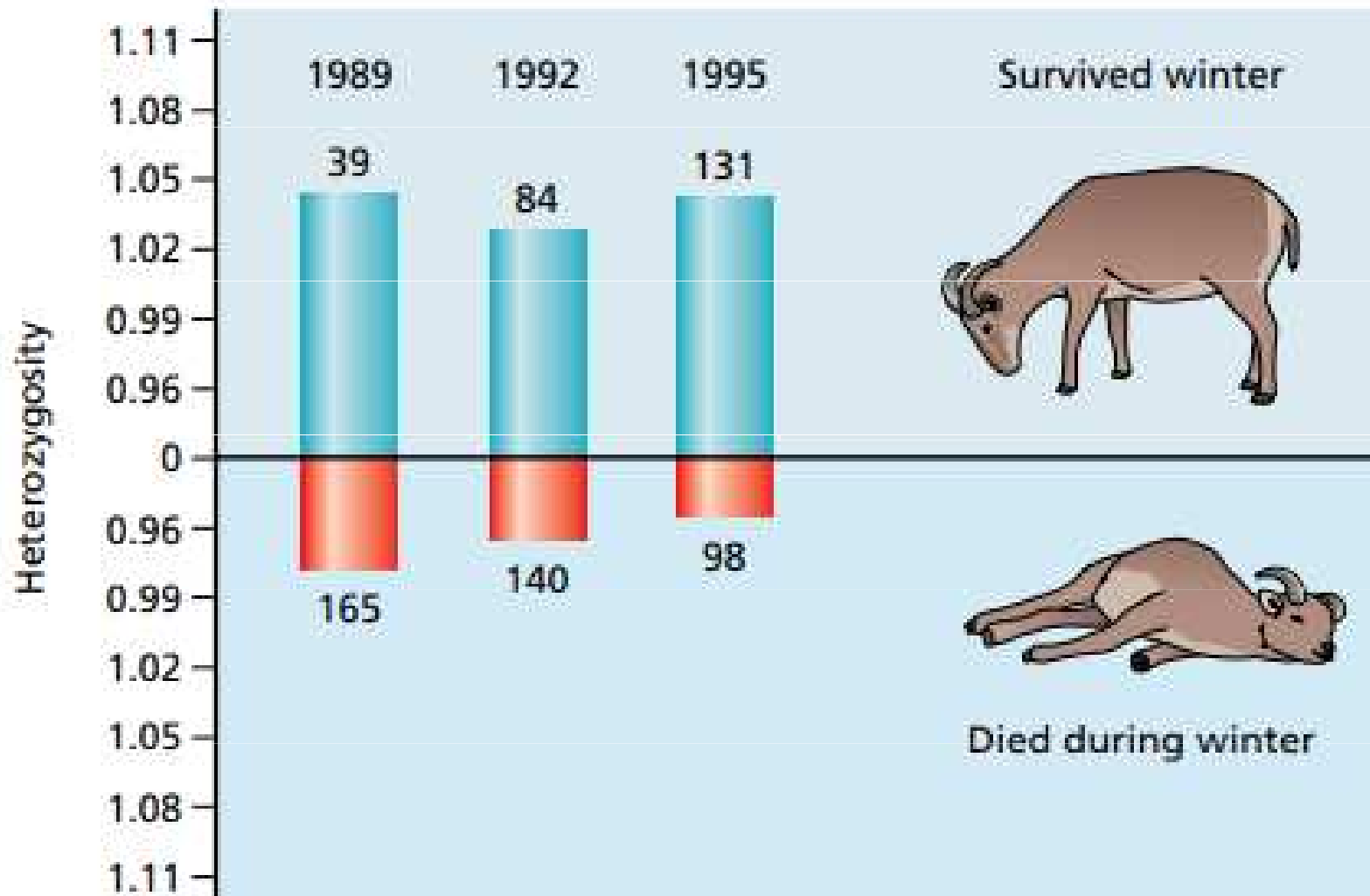
# Přehled faktorů působících na biodiverzitu



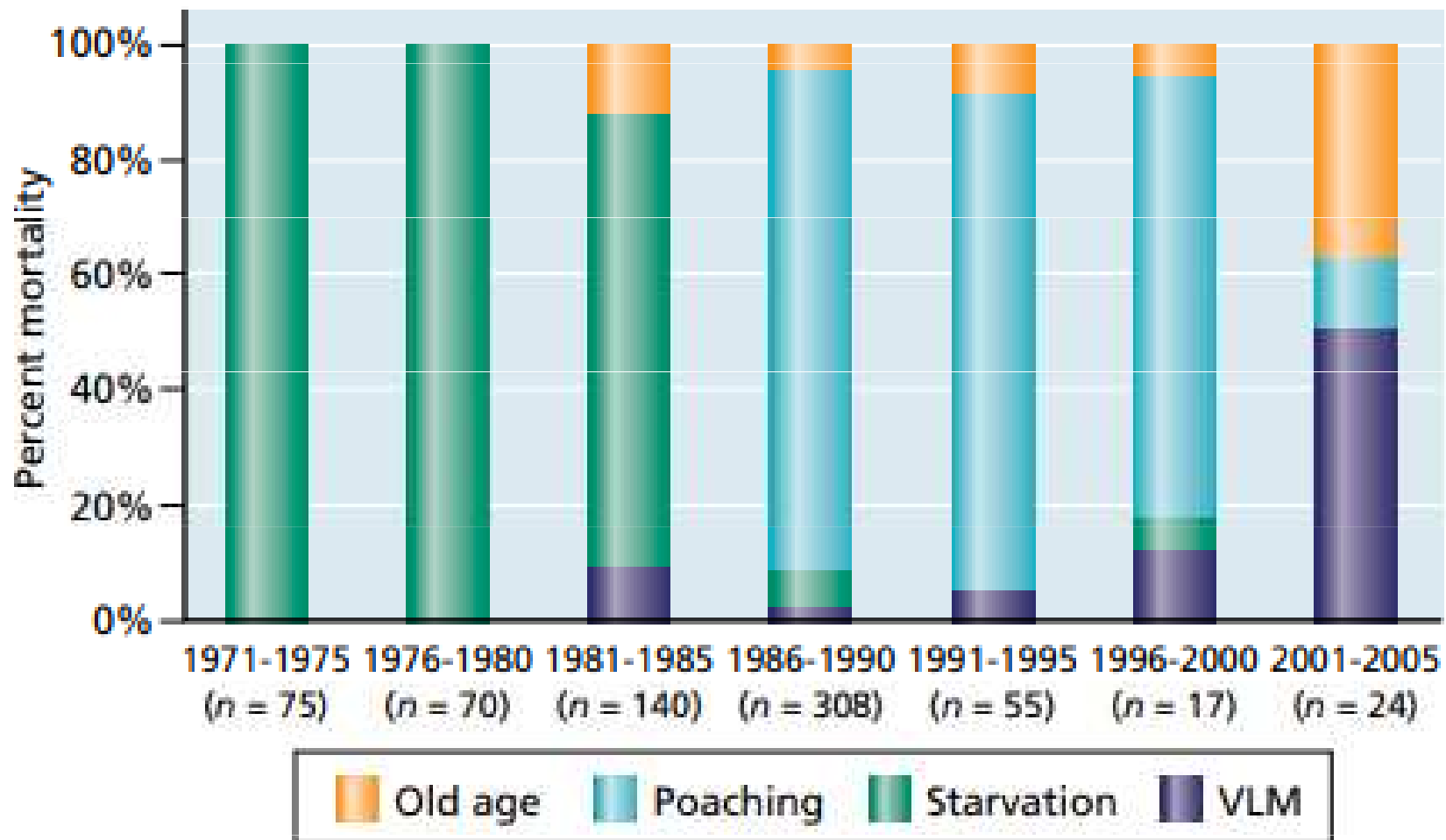
Příklad vyhynulých havajských ptáků druhu *Drepanis pacifica* v důsledku introdukce komára *Culex quinque fasciatus* přenašeče malárie *Plasmodium relictum*.



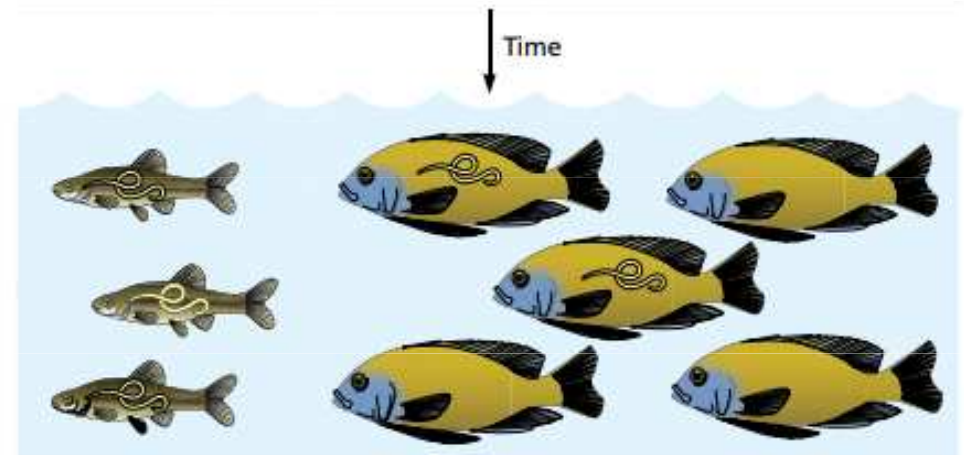
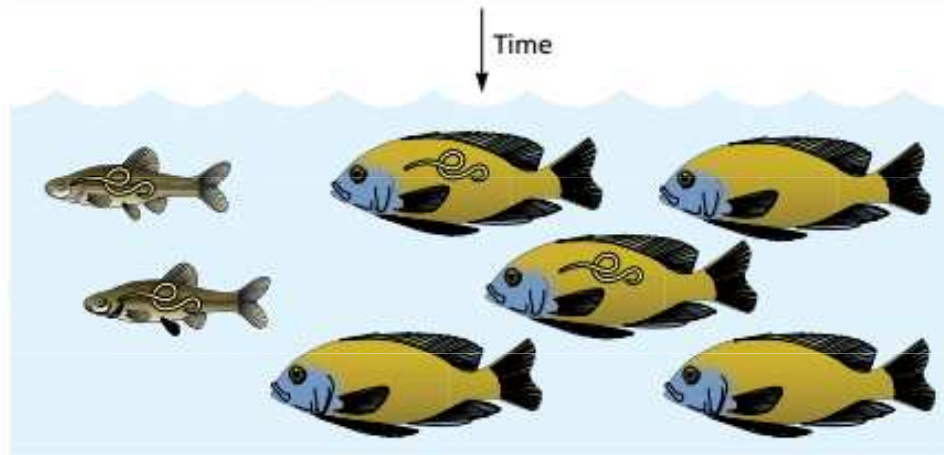
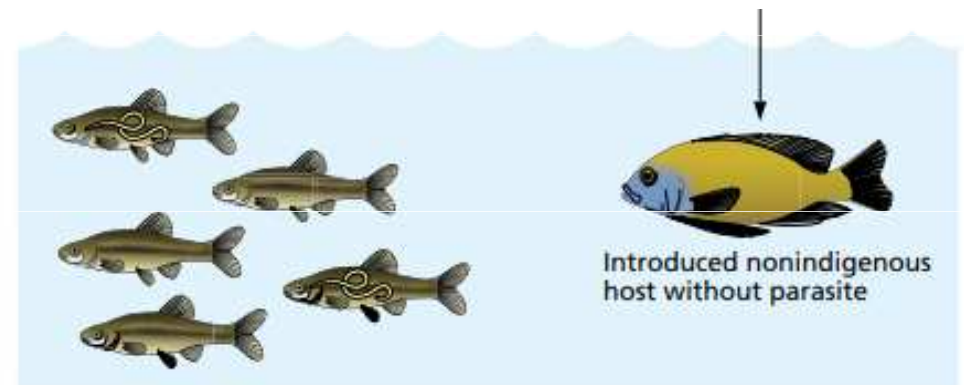
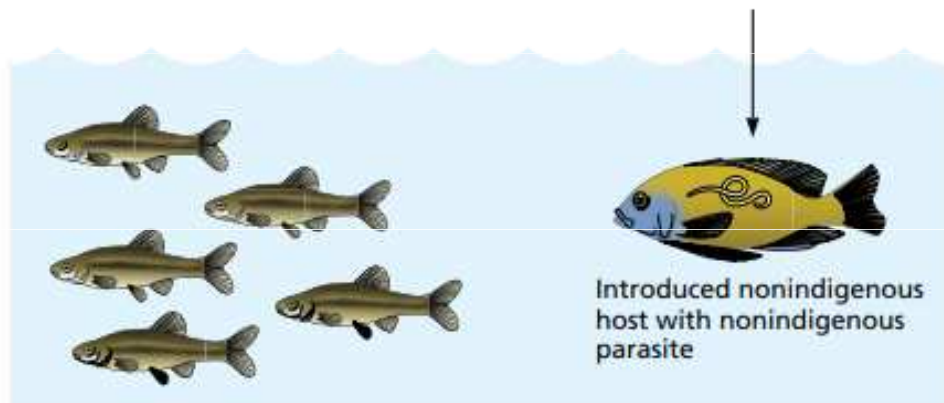
# Genetická heterosigosita hostitele a jeho přežití přes zimu v důsledku působení hlístice *Teladorsarsia circumcircta*



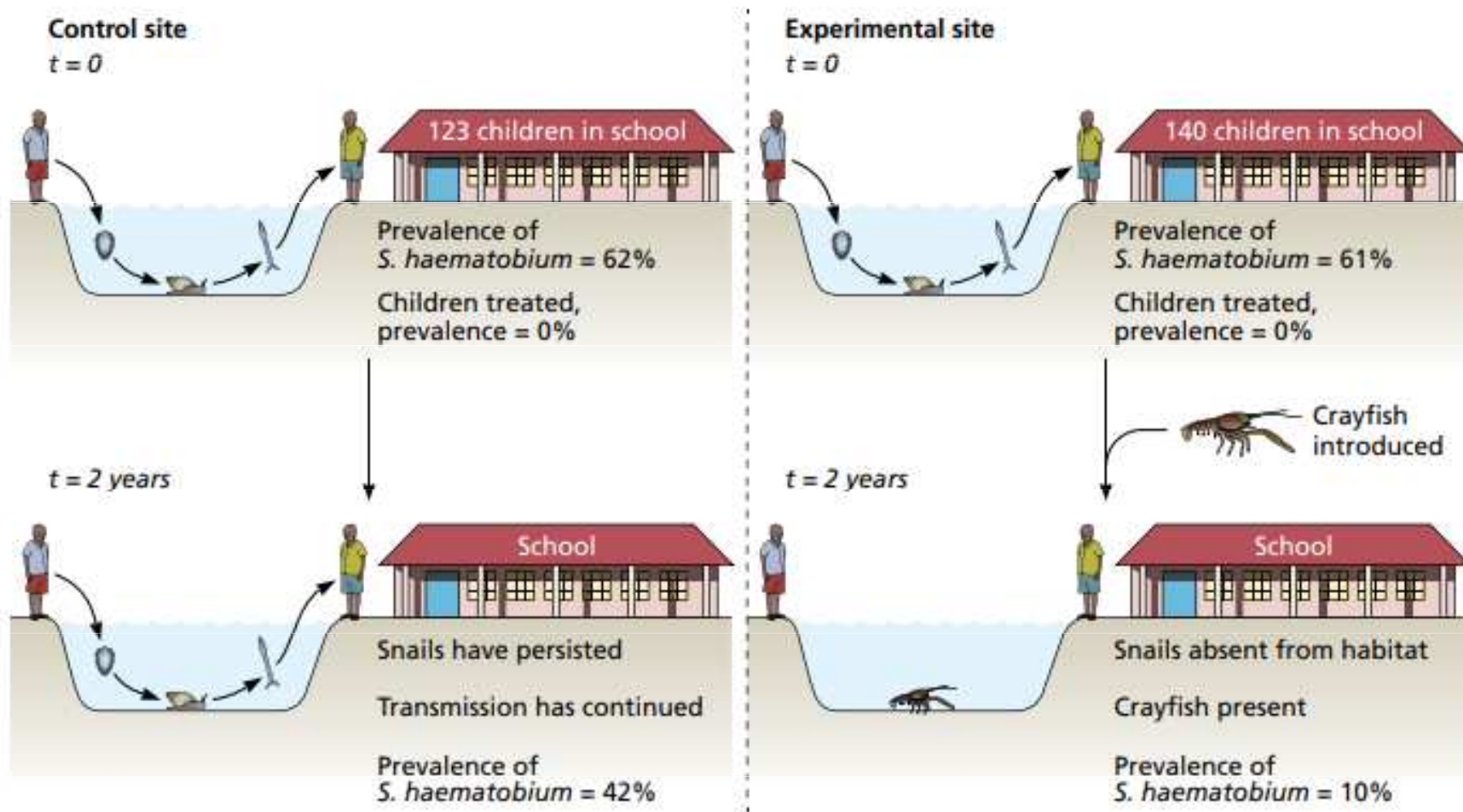
# Rostoucí působení parazitů viscerální larvy migrans (VLM) druhu *Baylis schoederi* na mortalitu Pandy velké



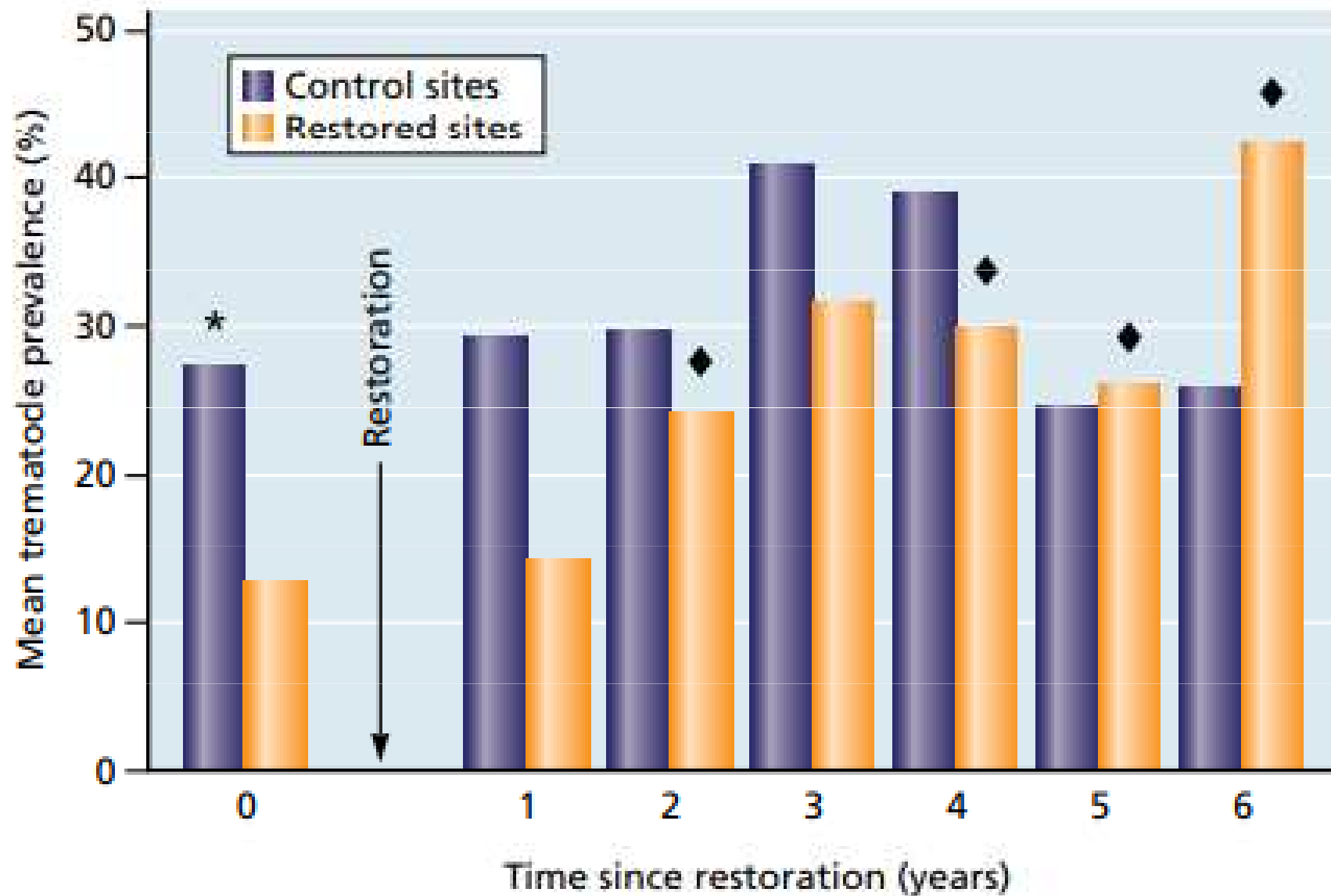
# Vysazení nepůvodního hostitele s nepůvodním parazitem (vlevo) a vysazení nepůvodního hostitele a jeho napadení lokálním parazitem (vpravo)



# Vliv introdukce nehostitelského druhu raka *Procambarus clarki* na přenos *Schistosoma haematobium* (*Bulinus* spp.)

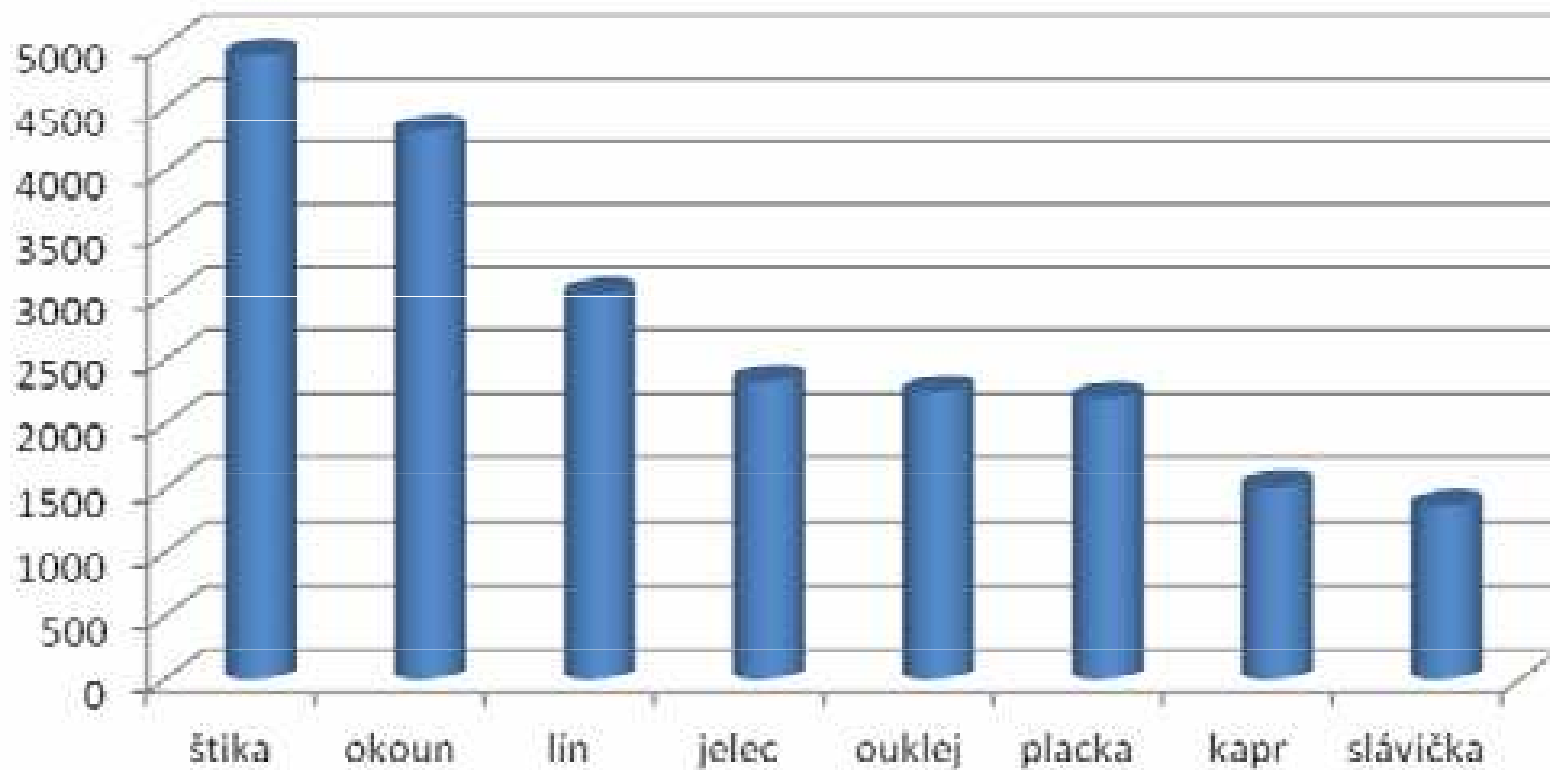


# Využití parazitů jako indikátorů environmentální zátěže ekosystému



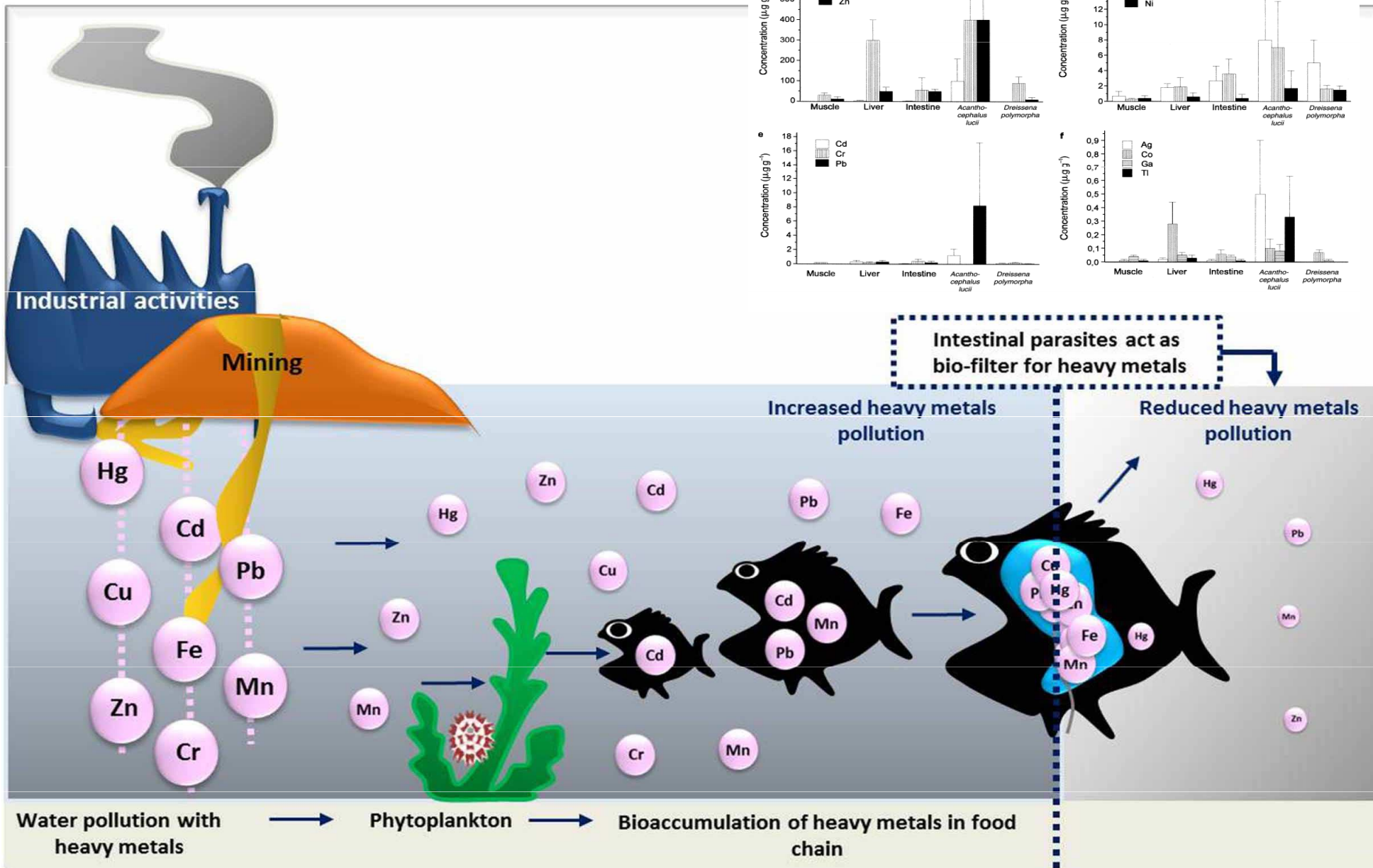
# Graf celkových koncentrací PCB naměřených ve slávičce mnohotvaré a několika druzích ryb

koncentrace PCB [ng/g lipidů]

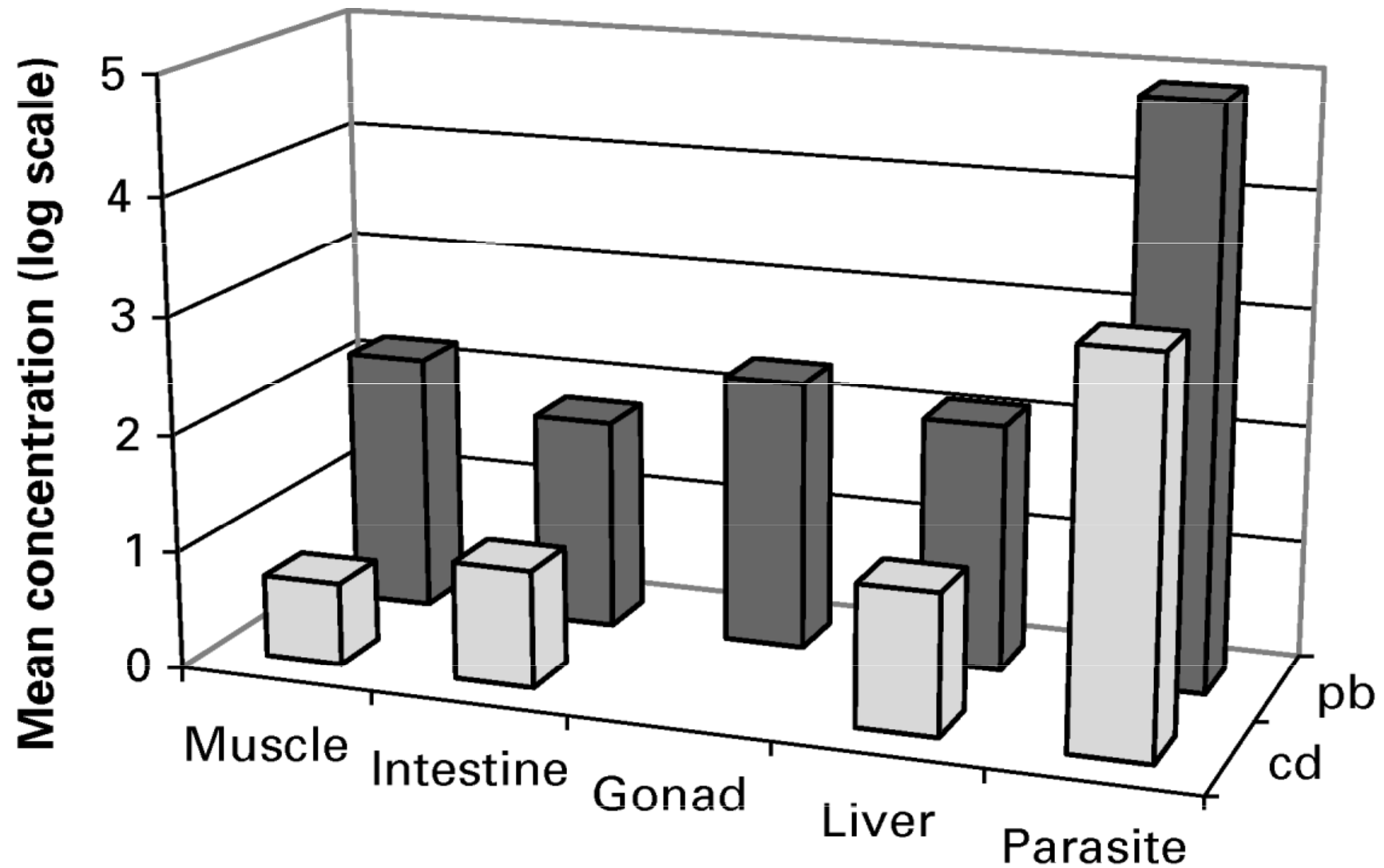




# Akumulace těžkých kovů potravním řetězcem (bioakumulace)



# Paraziti jako indikátoři akumulace těžkých kovů u žraloka *Charcarhinus dussumieri* v Peském zálivu





# Základní parazitologické metody

- Mikroskopické
- Evolučně ekologické
- Koprologické
- Histo-patologické
- Hematologické
- Molekulárně genetické

# Parazitologická laboratoř - UBZ



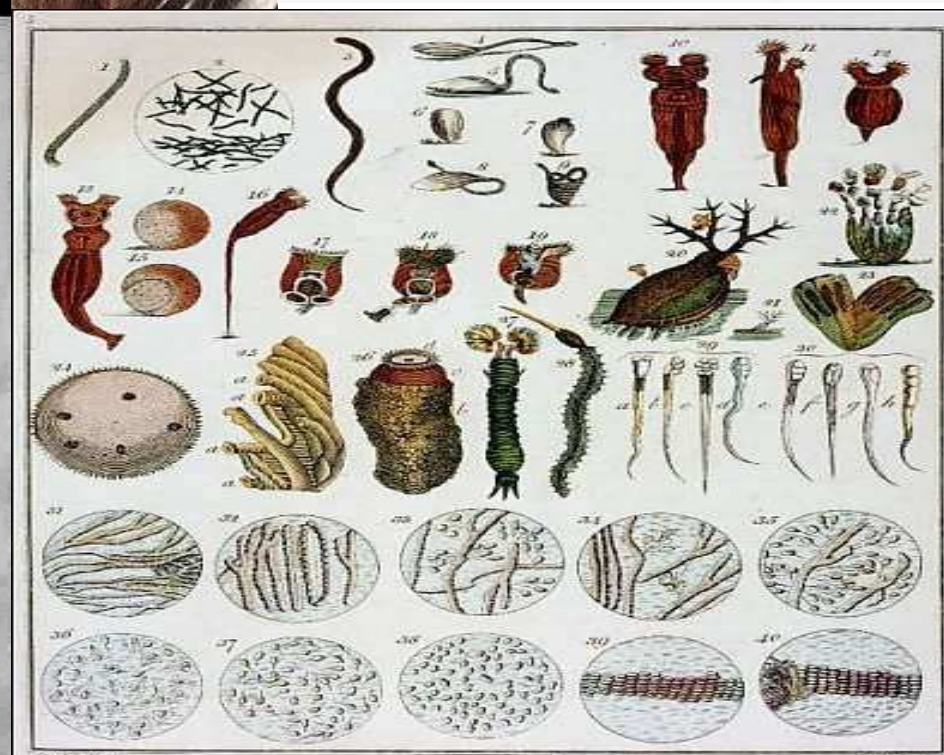
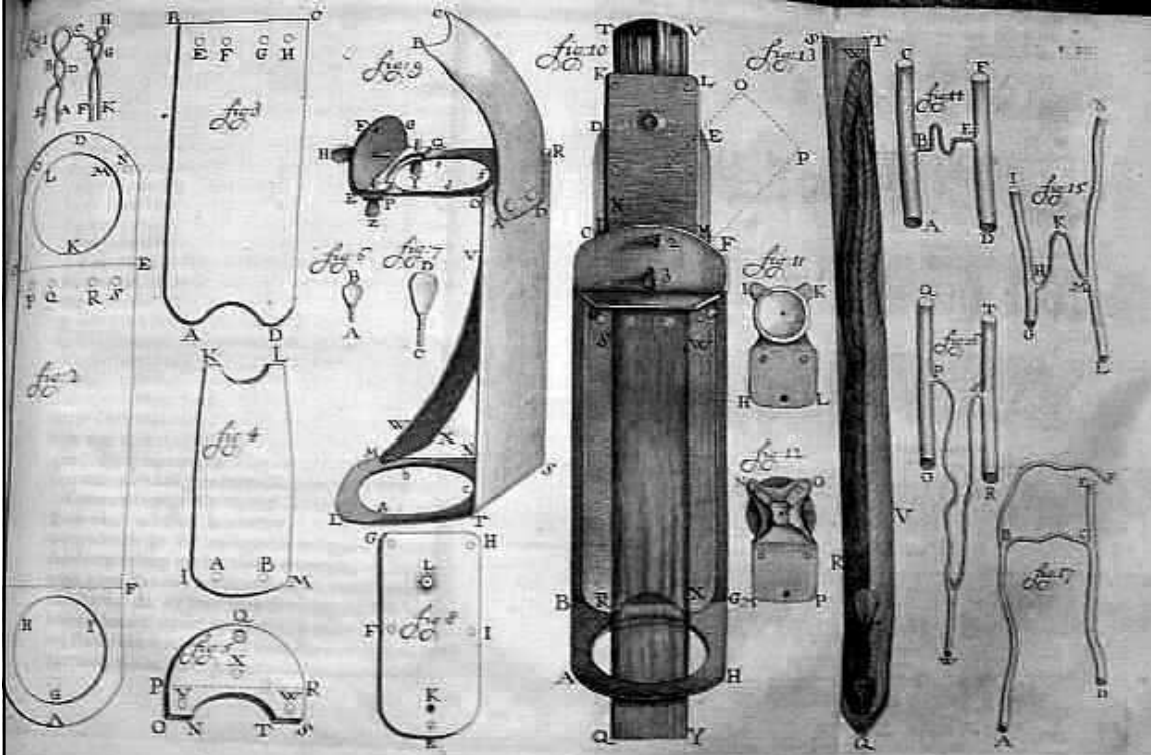
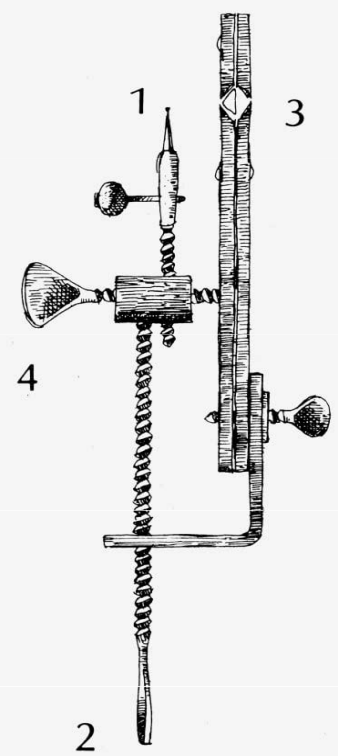
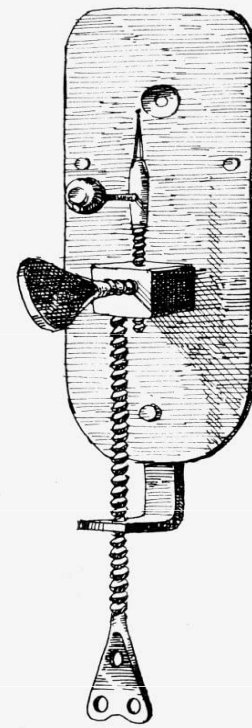
# Moderní parazitologická laboratoř



# Základ – kvalitní mikroskopická technika



Antoni van Leeuwenhoek (1632 – 1723) Holandsko





# Přehled základních mikroskopických technik



Small drop has a nearly perfect spherical shape, and so it can serve as a lens.

17th century - Stephen Gray used a water drop as a lens for a microscope he built

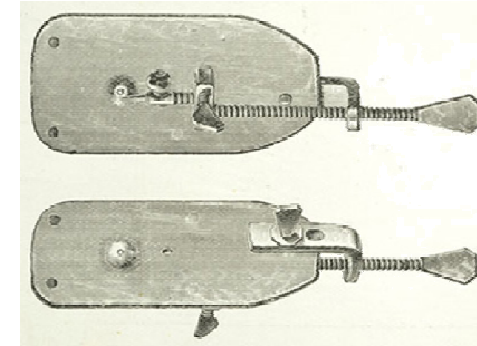


Fig: 4.

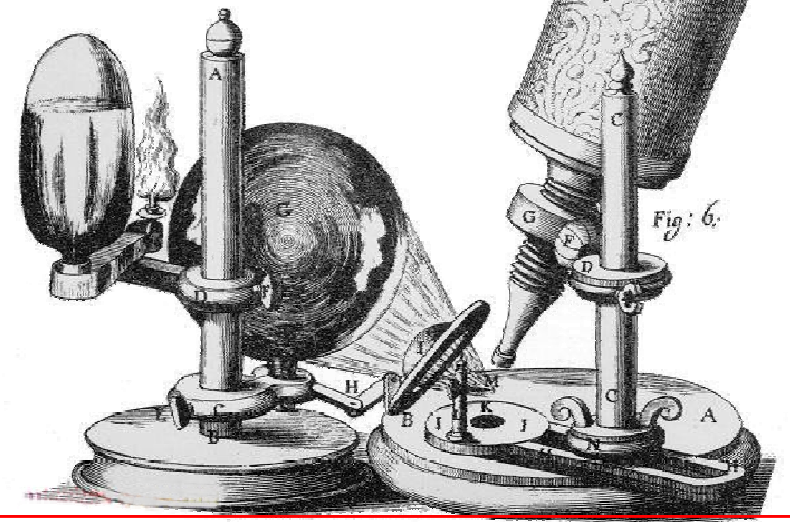
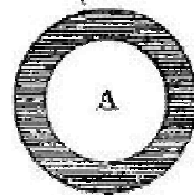
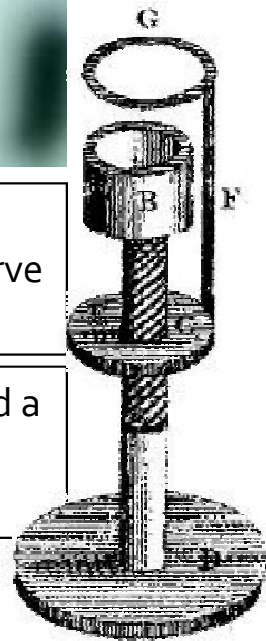
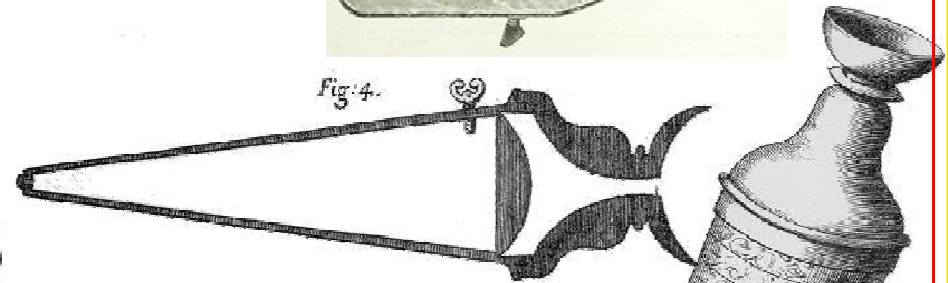


Fig: 6.

# Metody mikroskopické

- Makroskopické pozorování
- Stereomikroskopie
- Světelná mikroskopie
- Temné pole
- Polarizační mikroskopie
- Fázová mikroskopie
- Nomarského DIC kontrast
- Fluorescenční mikroskopie
- Konfokální mikroskopie
- Elektronová mikroskopie

# Mikroskopická technika I



**Galileo  
Microscope  
(circa late 1600s)**



**John Marshall  
Compound  
English  
Microscope  
(circa 1720)**



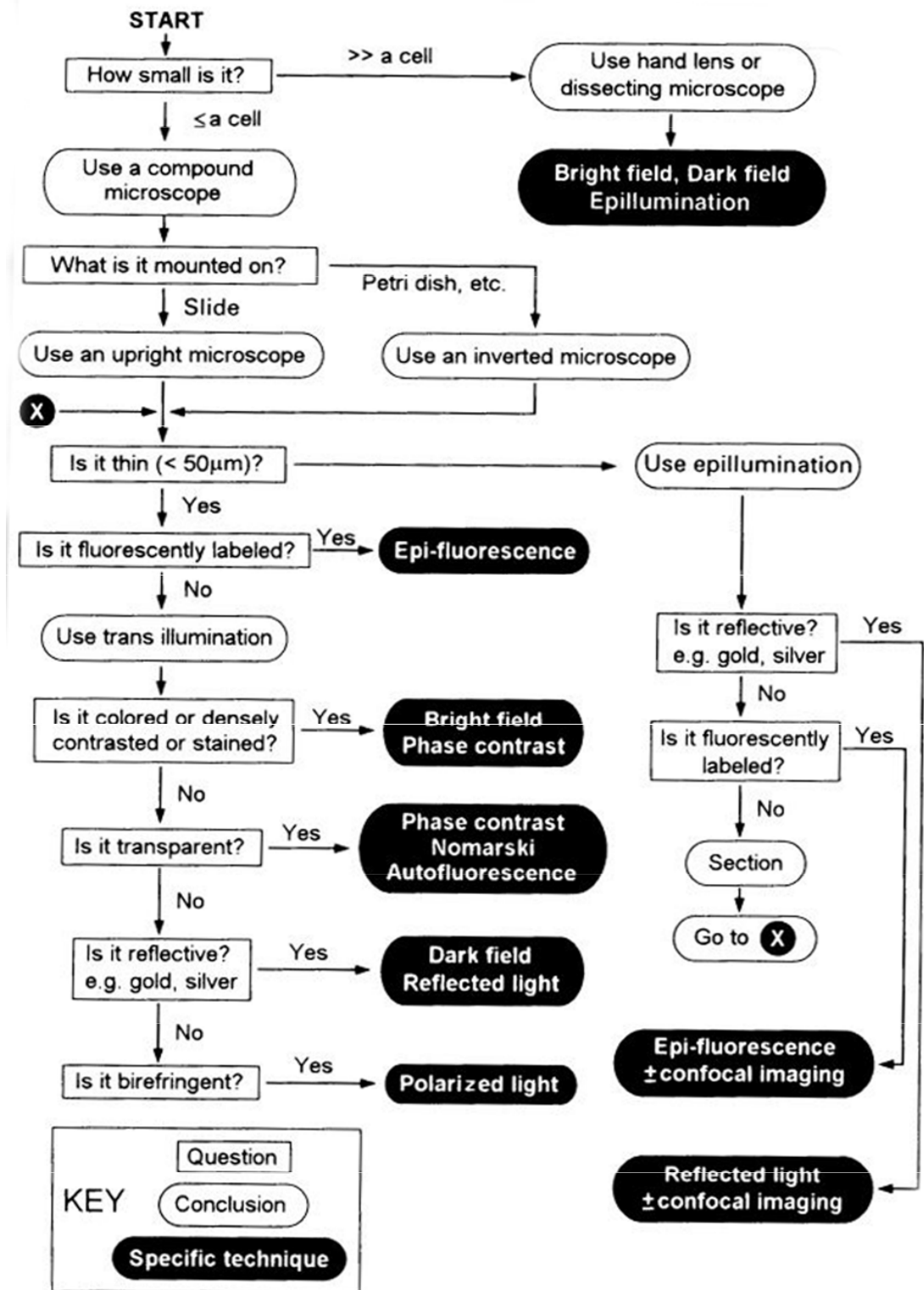
# Mikroskopická technika II



# Mikroskopická technika III



# Jak vybrat správnou mikroskopickou techniku ?



# Makroskopická prohlídka



Makro mikro kdo se v tom má vyznat !





# Preparační stereomikroskopy (dissecting microscope)



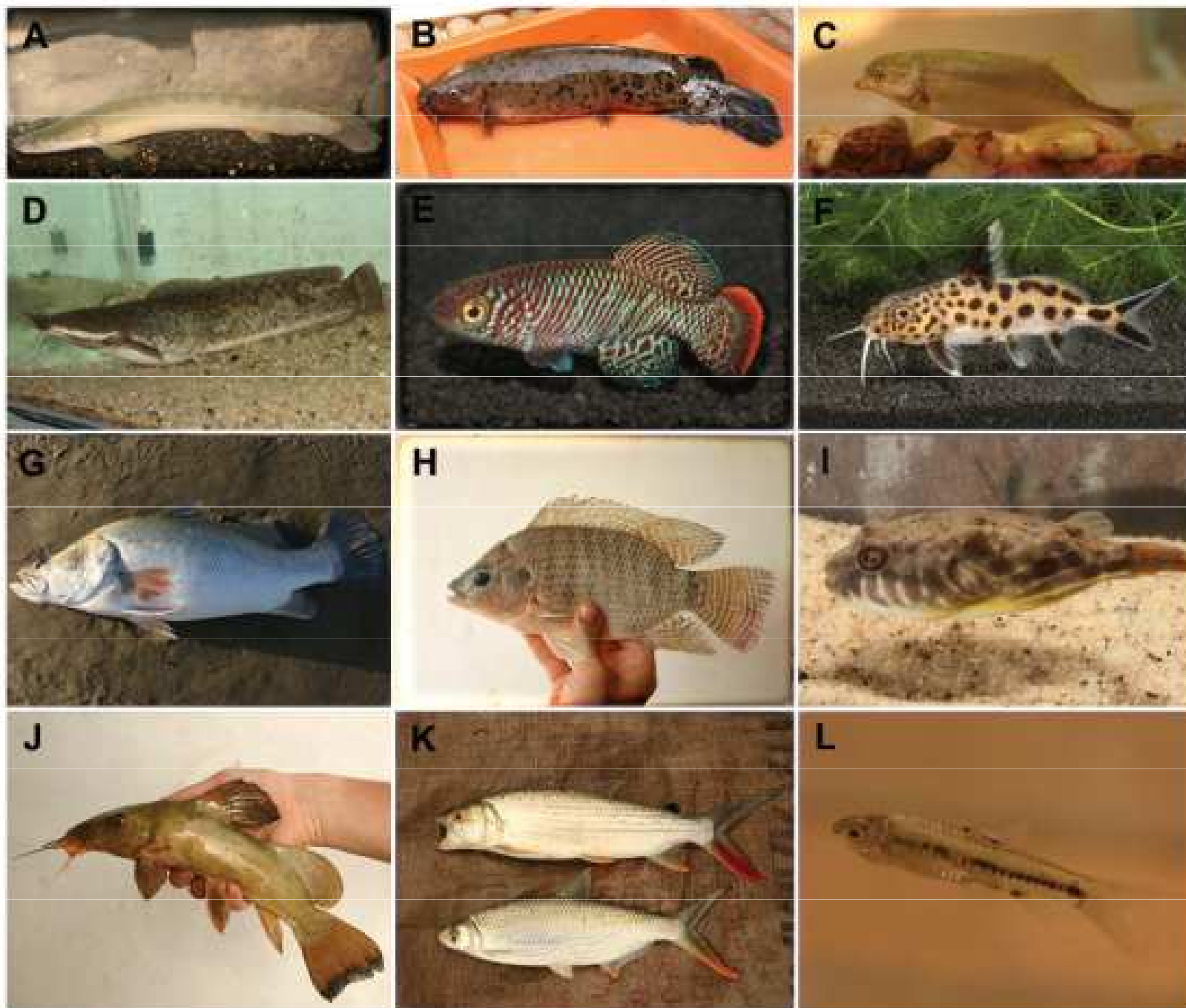
Parasitic crustacea



**ECTOPARASITES**  
Parasitic crustaceans,  
leeches - found  
externally:  
usage of hand lens or  
dissecting microscope

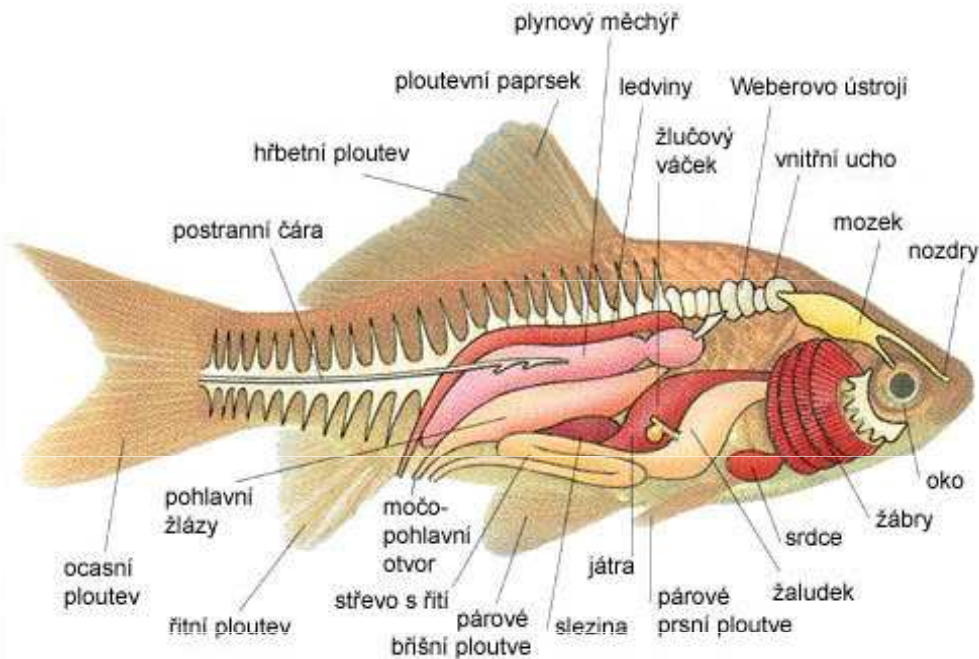


# Lov a správná determinace hostitele



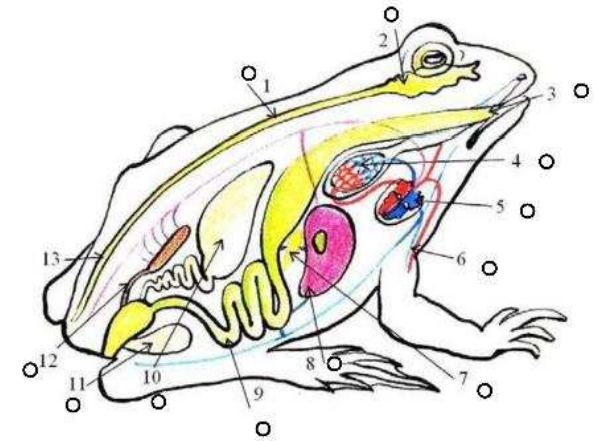
# NEJBĚŽNĚJŠÍ ZPŮSOBY MĚŘENÍ DÉLKY RYBY



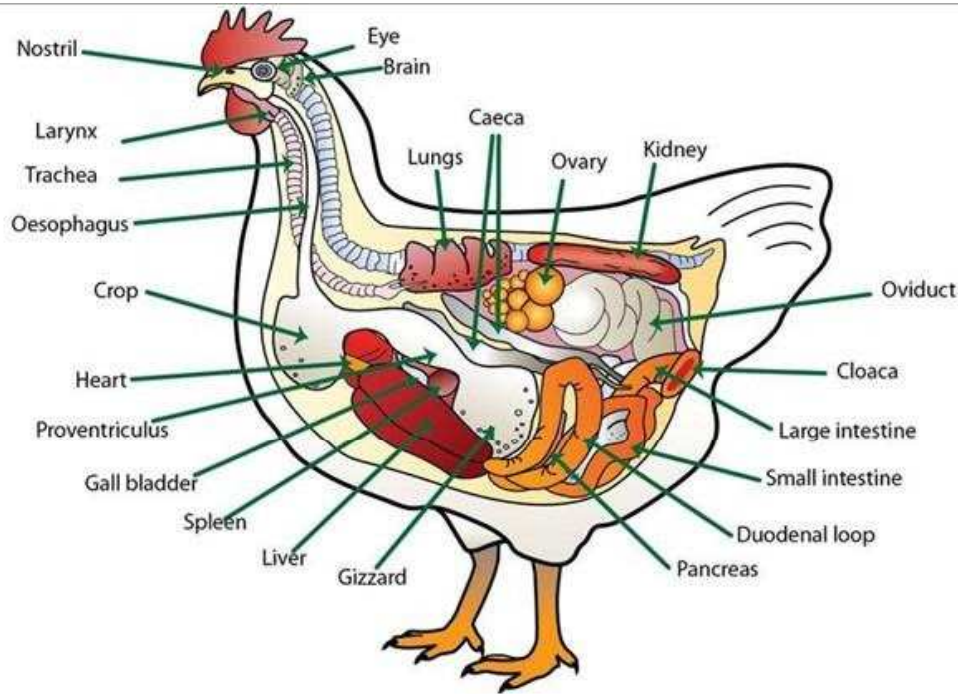


- ledviny
- pľíce
- mícha
- střevo
- cévní soustava
- ústní otvor
- mozek
- pohlavní soustava
- srdce
- játra se žlučníkem
- slinivka břišní
- močový měchýř

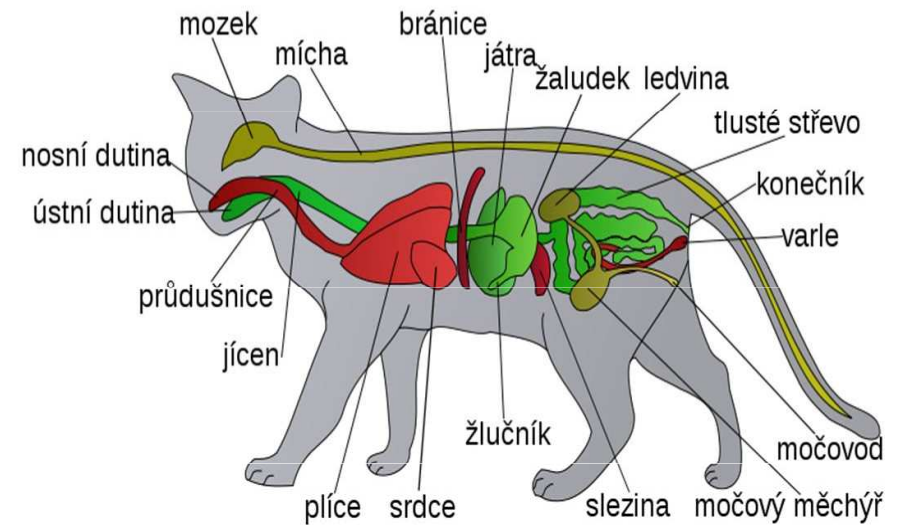
## Anatomie obojživelníků:

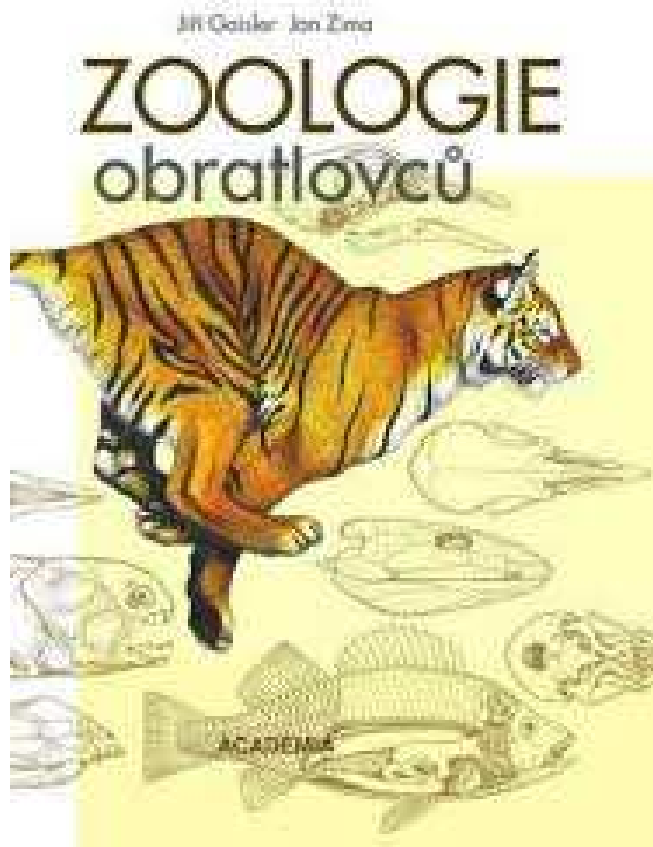


Obr.7



## Vnitřní stavba těla savců

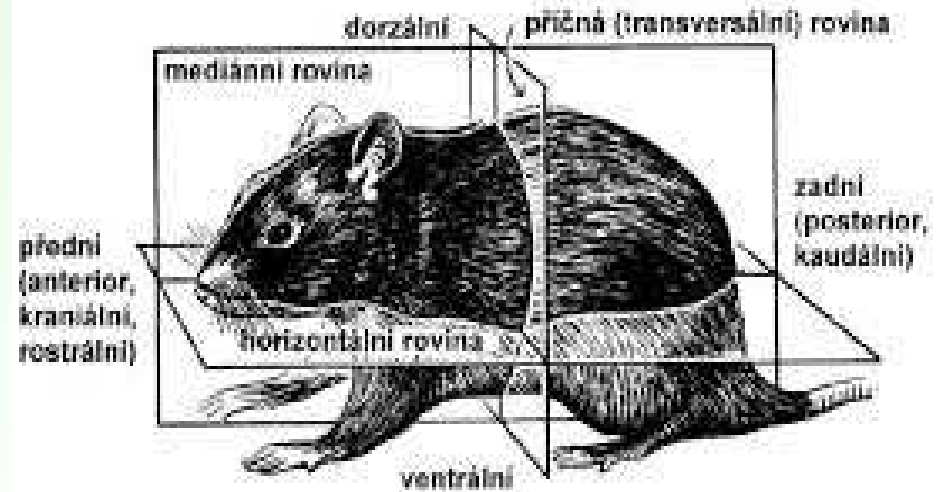
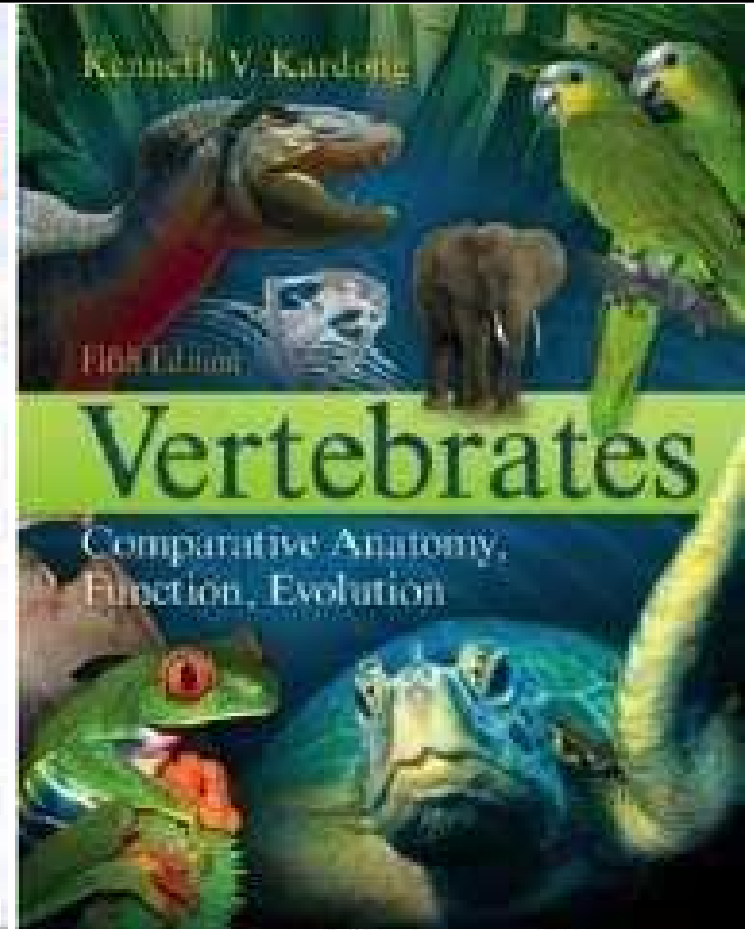




# HISTORIE EVOLUCE, FyLOGENEZE, SYSTÉM

## OBRATLOVCŮ

ZBYNĚK ROČEK • Academia

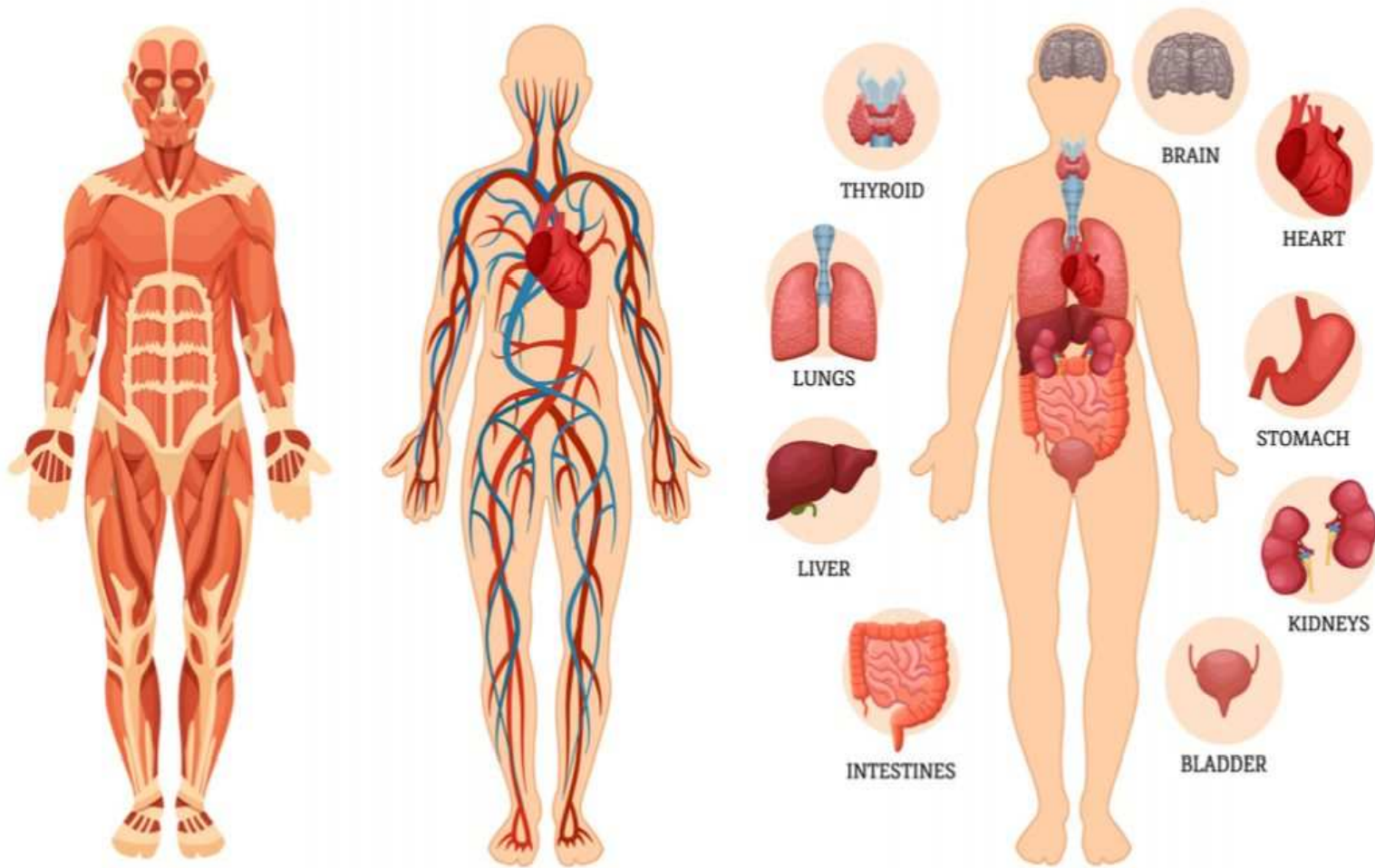


Obr. 2. Označení směrů a rovin na těle suchozemského obratlovce.

# Lidské tělo jako habitat !



# Lidské tělo jako prostředí cizopasníků

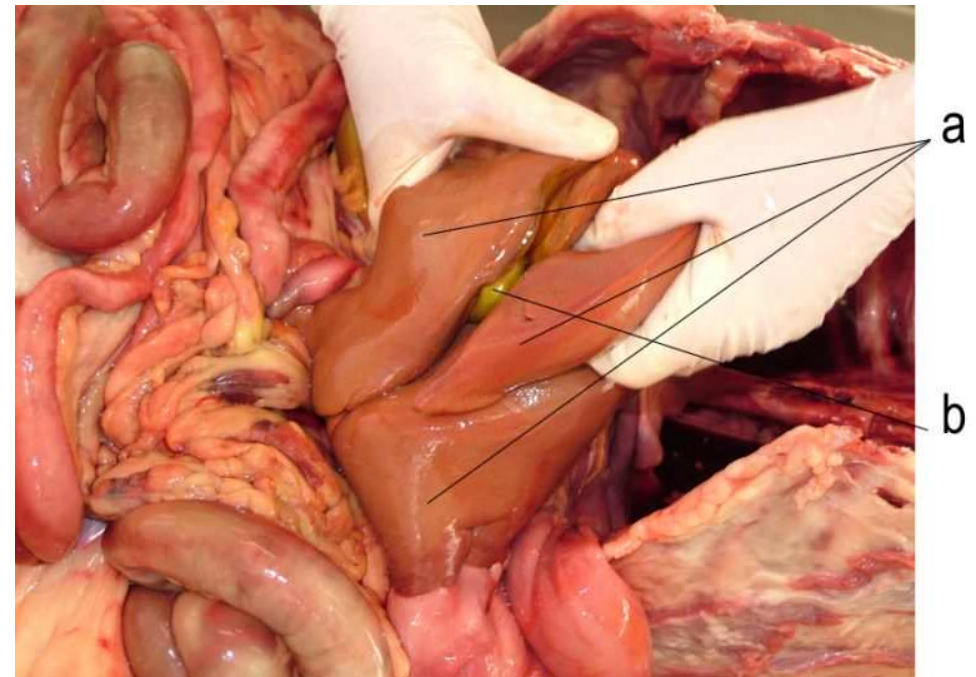
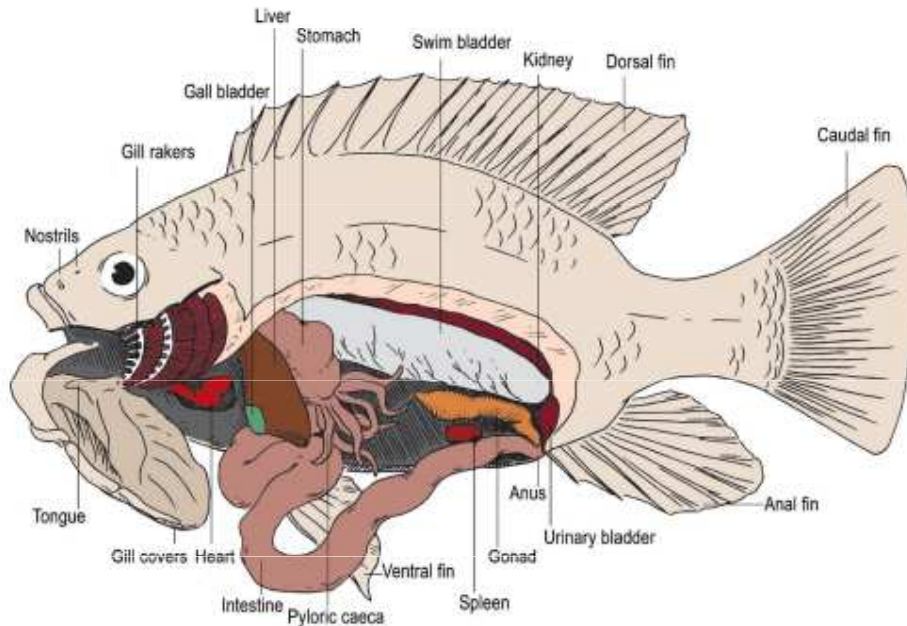
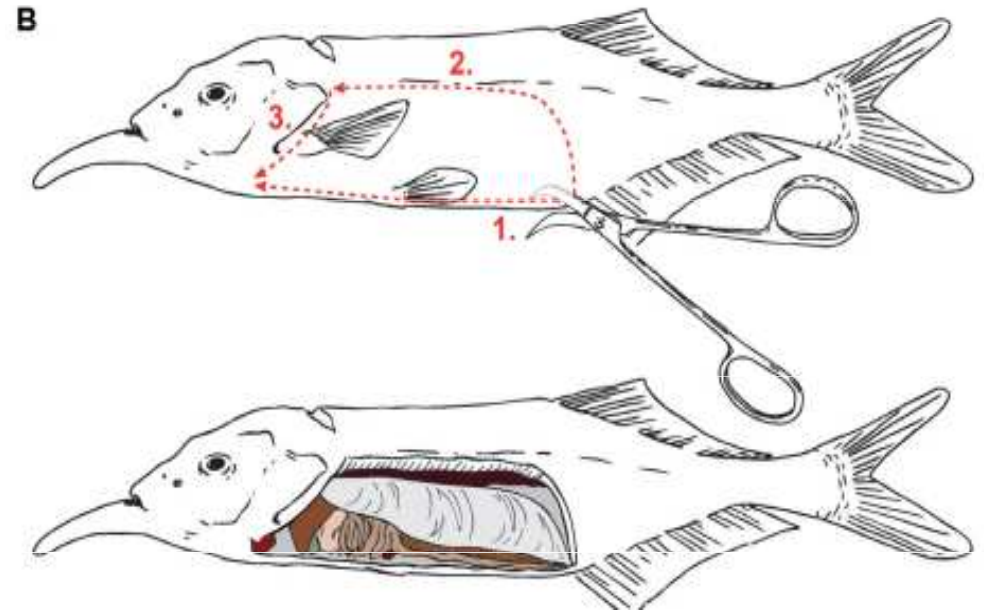




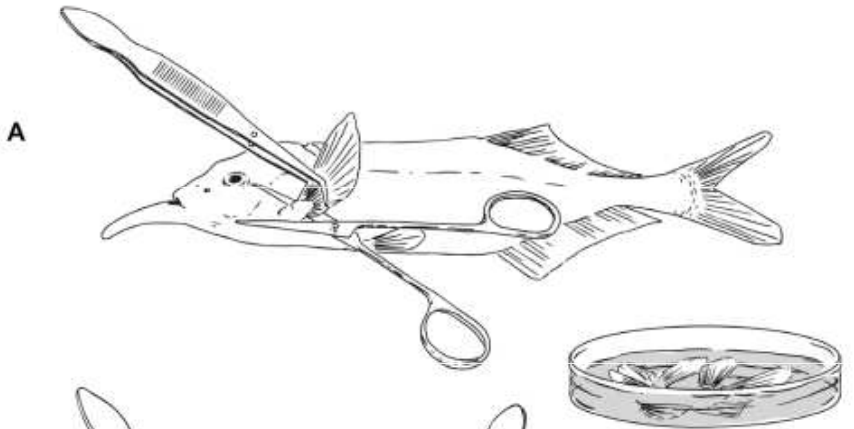
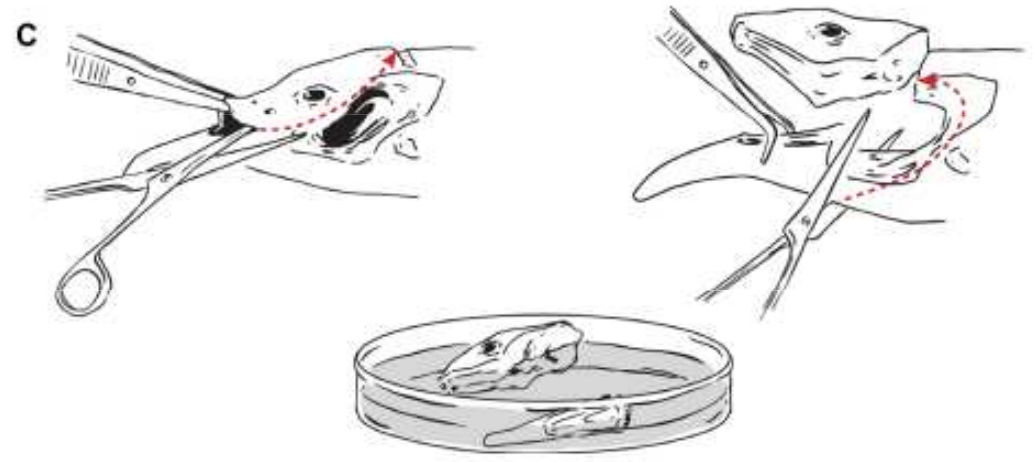
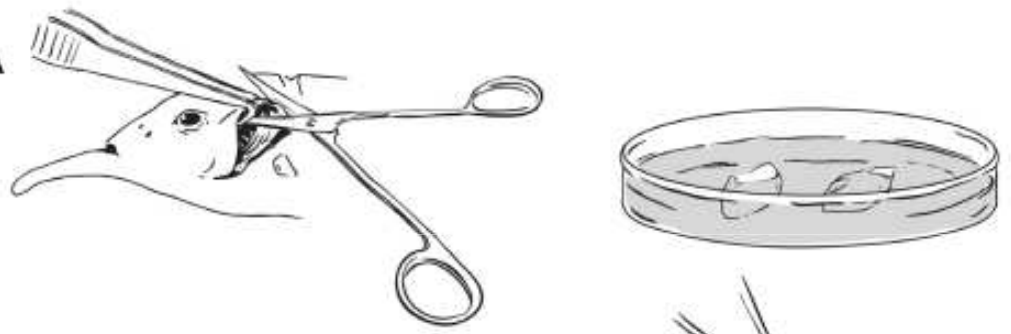
# Postup při parazitologické pitvě

- Získání hostitele (lov, determinace, usmrcení)
- Makroskopická prohlídka povrchu těla
- Vlastní pitva (úplná, orgánová)
- Sběr a fixace parazitologického materiálu
- Sběr vzorků pro histo-patologii
- Sběr vzorků pro molekulární metody
- Příprava materiálu pro determinaci (barvení)
- Zhotovení dočasných nebo trvalých preparátů
- Determinace a dokumentace (kresba, foto)
- Popis nalezeného druhu

# Parazitologická pitva



# Parazitologická pitva <sup>A</sup>



# Parazitologická poiva





## Oddělení parazitologie - infrastruktura

### Laboratoř speciální mikroskopie

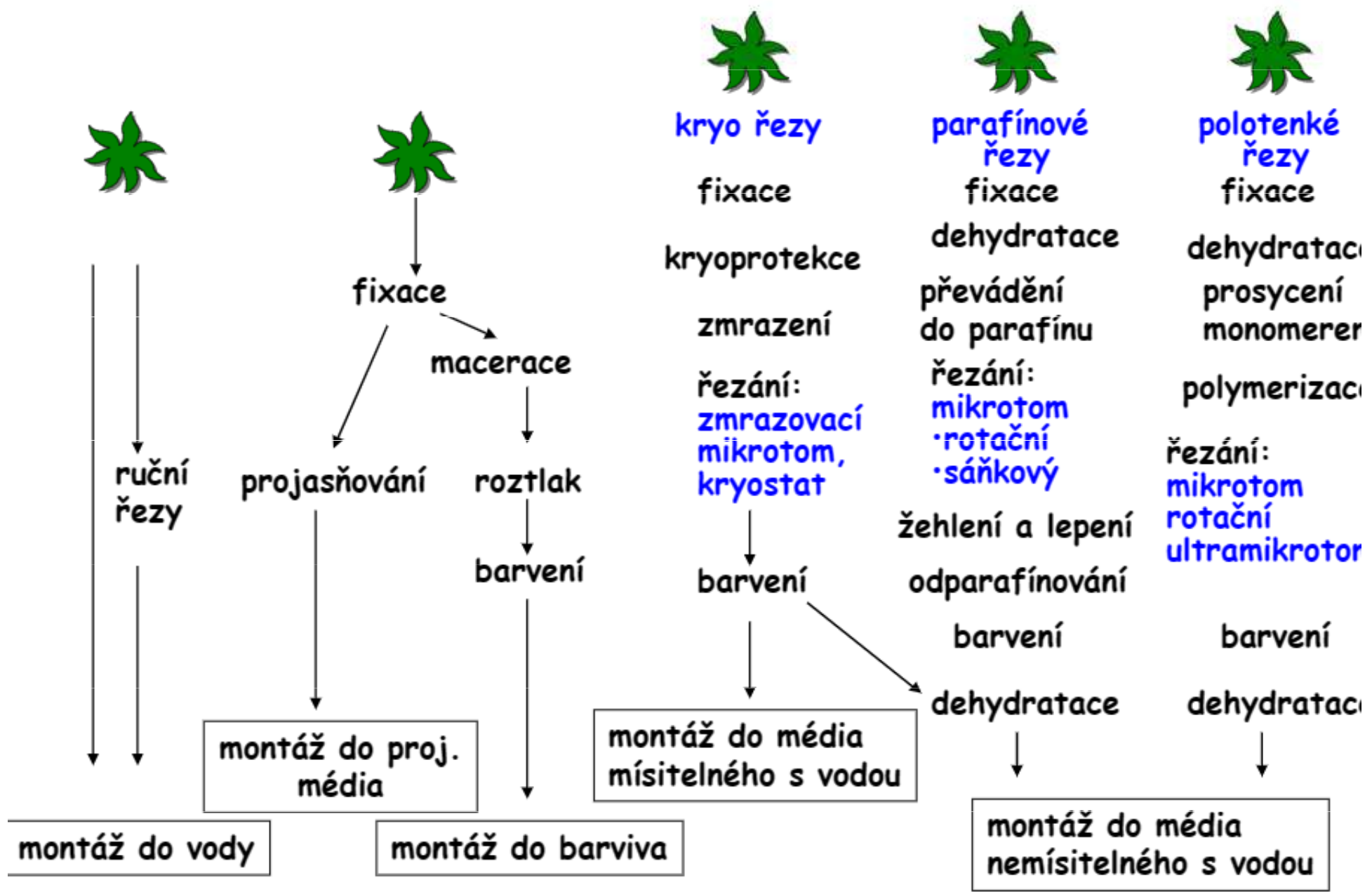


Mikroskop  
Olympus BX51 s fázovým  
kontrastem a analýzou obrazu

# Základ je kvalitní fixace parazitologického materiálu – mikroskopický preparát



# Schéma příprav mikroskopických preparátů

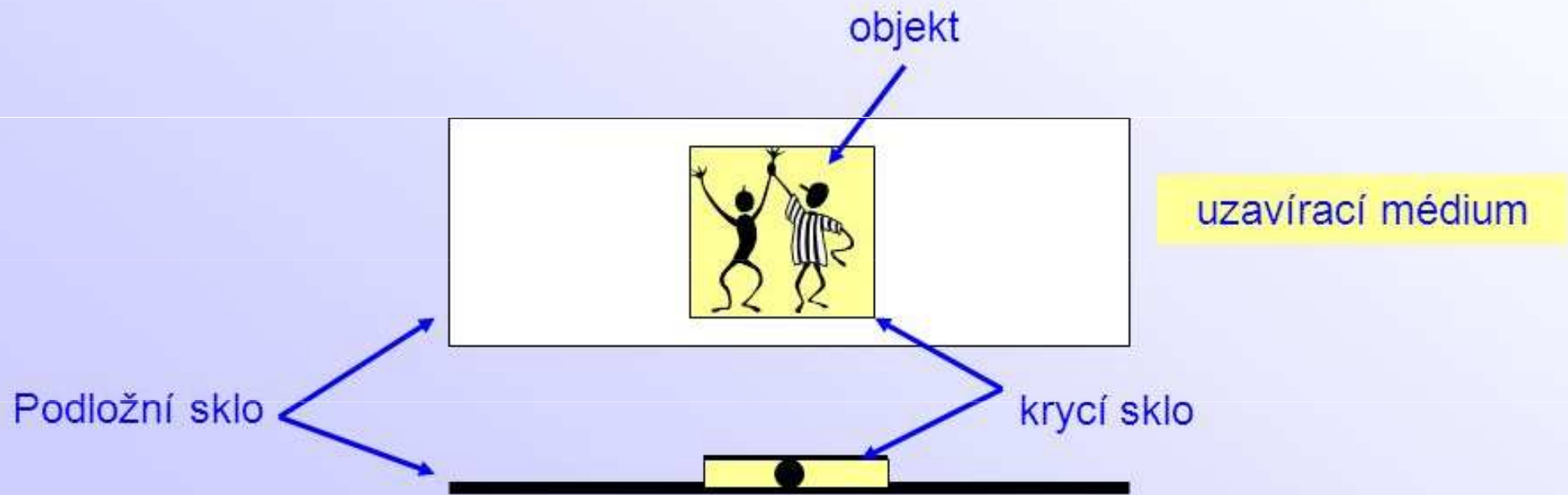




# Příprava mikroskopických preparátů

**zhotovení** - objekt uzavřeme do vhodného média a prohlédneme mezi sklem podložním a krycím

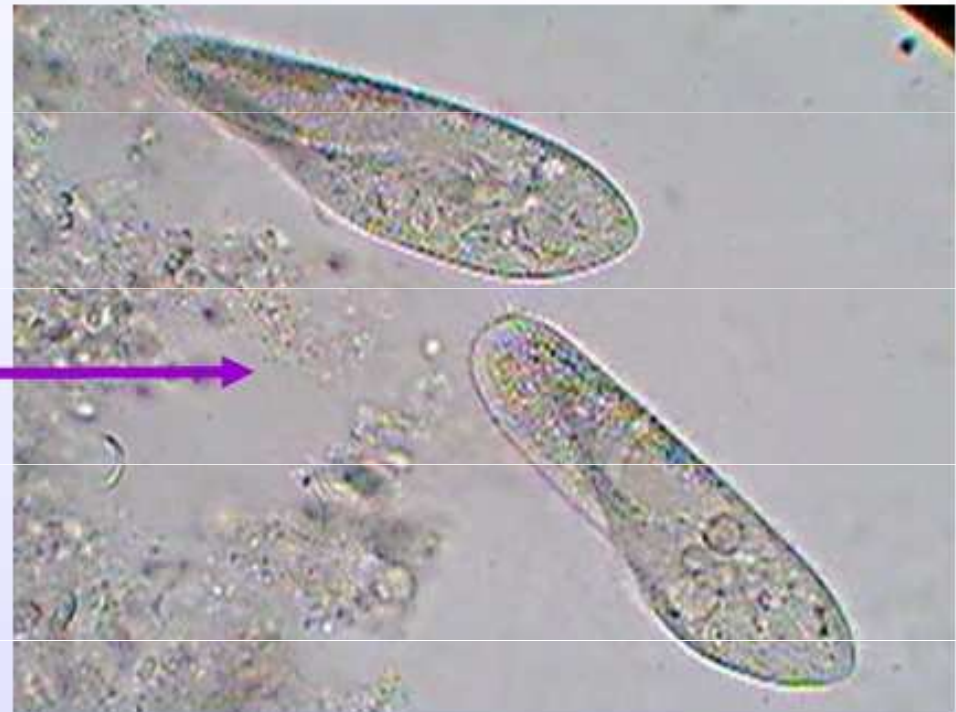
**uzavírací médium** - tekuté nebo tuhnoucí, zřídka vzduch,



# Druhy preparátů

Podle trvanlivosti:

dočasné - nativní, čerstvé  
trvalé



Nativní preparát, vitální barvení

# Nativní preparáty

## studium nativních preparátů - nejstarší metoda v biologii

### **výhody:**

neporušený objekt

možnost pozorovat pohyb buněk

činnost organel - pohyb bičíků, řasinek, kontraktilní vakuoly

### **nevýhody:**

omezený výběr materiálu (velikost, sezóna)

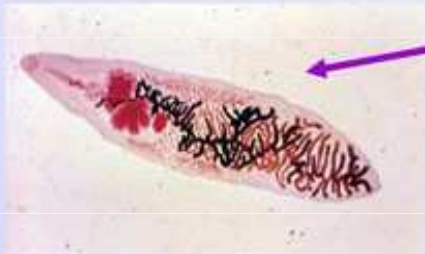
časové omezení

**izolované buňky** (krev, lymfa, leukocyty, roztlačené vazivo, chrupavka na řezech, pozorování buněčného dělení, průkaz vajíček, cyst nebo vegetativních stádií střevních parazitů ve stolici atd.)

**drobné organismy**

# Nativní preparát, vitální barvení

## Podle způsobu přípravy:

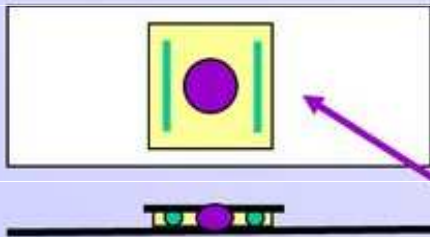
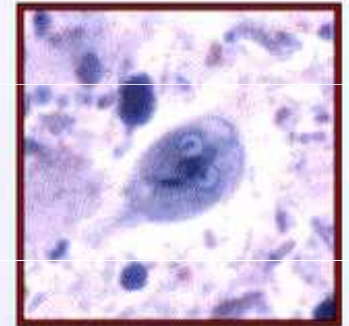
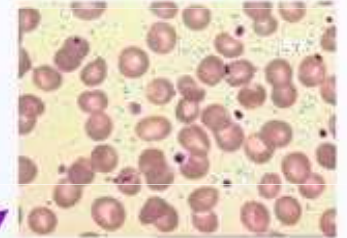


• **totální** (celé objekty - např. motolice)

• **roztěry** (z tekutin, v nichž jsou rozptýleny drobné objekty)

- **suché** (krevní roztěry, spermie)

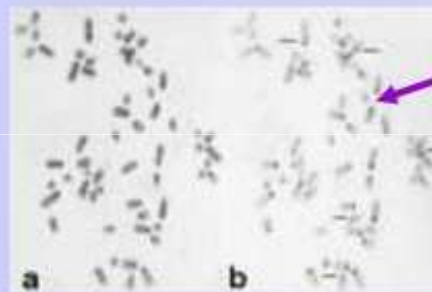
- **vlhké** (střevní prvoci)



• **vlhká komůrka** (visutá kapka s objekty)



• **řezové preparáty** (histologické řezy - polotenké, tenké, tlusté řezy žiletkou)



• **roztlaky** (karyotypy)

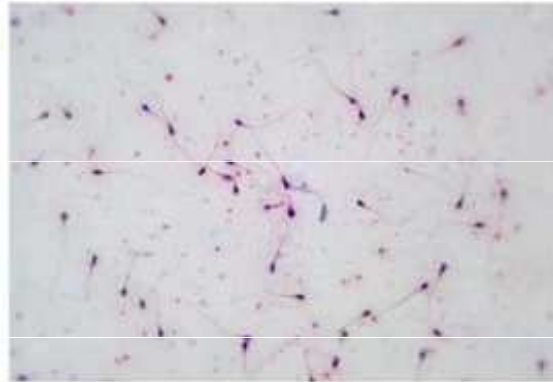
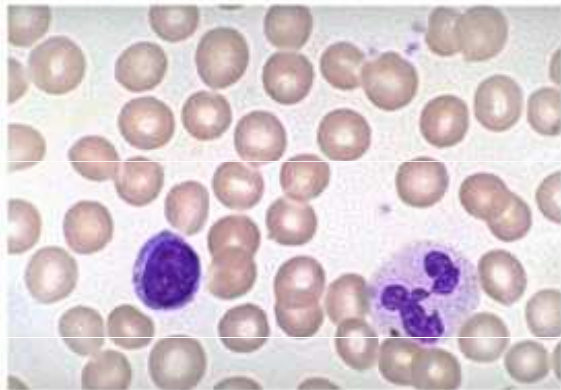
• **výbrusy** (tvrdý materiál - kosti, zuby)



# Druhy preparátů

## Podle způsobu přípravy:

- **roztěry** (z tekutin, v nichž jsou rozptýleny drobné objekty)



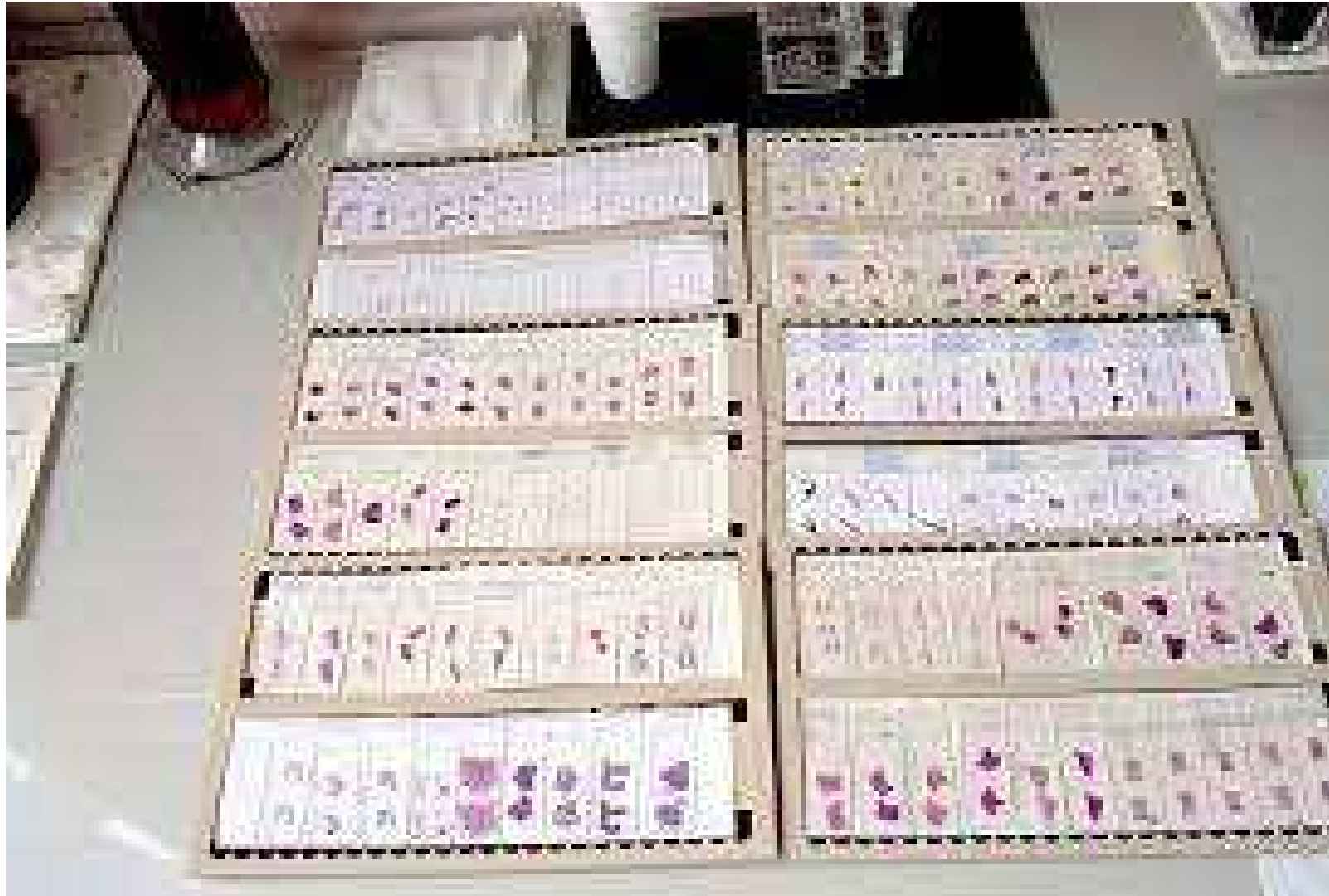
- **suché** (krevní roztěry, spermie)

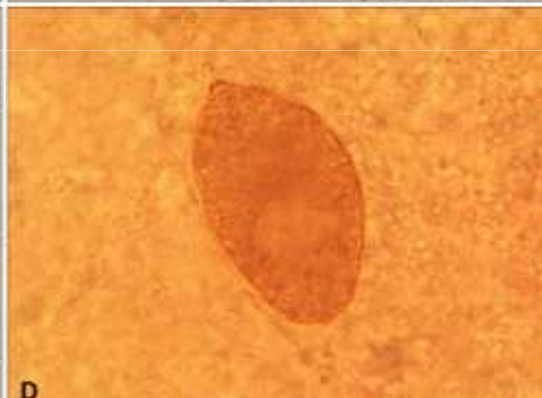
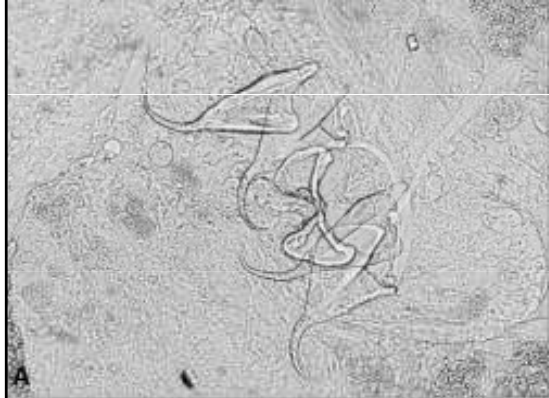
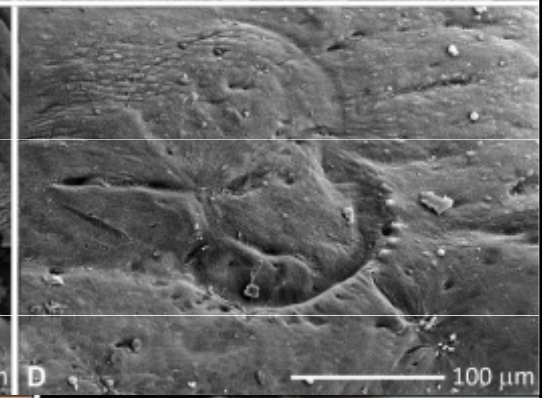
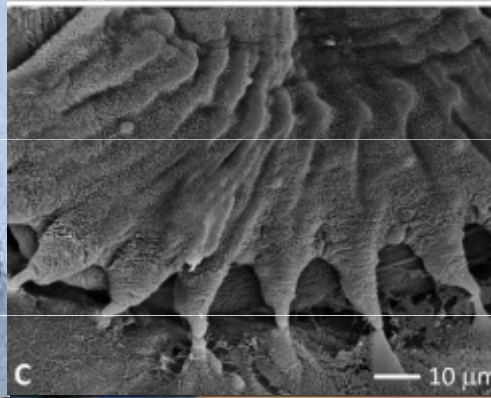
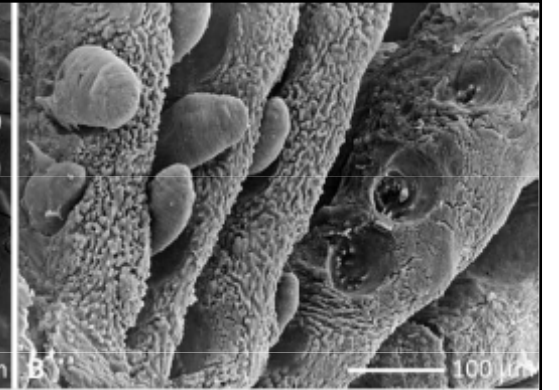
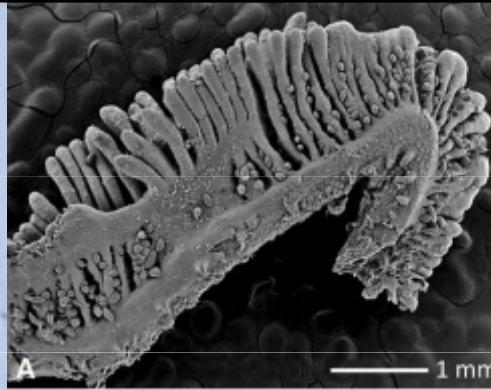


Objekt: *Giardia intestinalis*

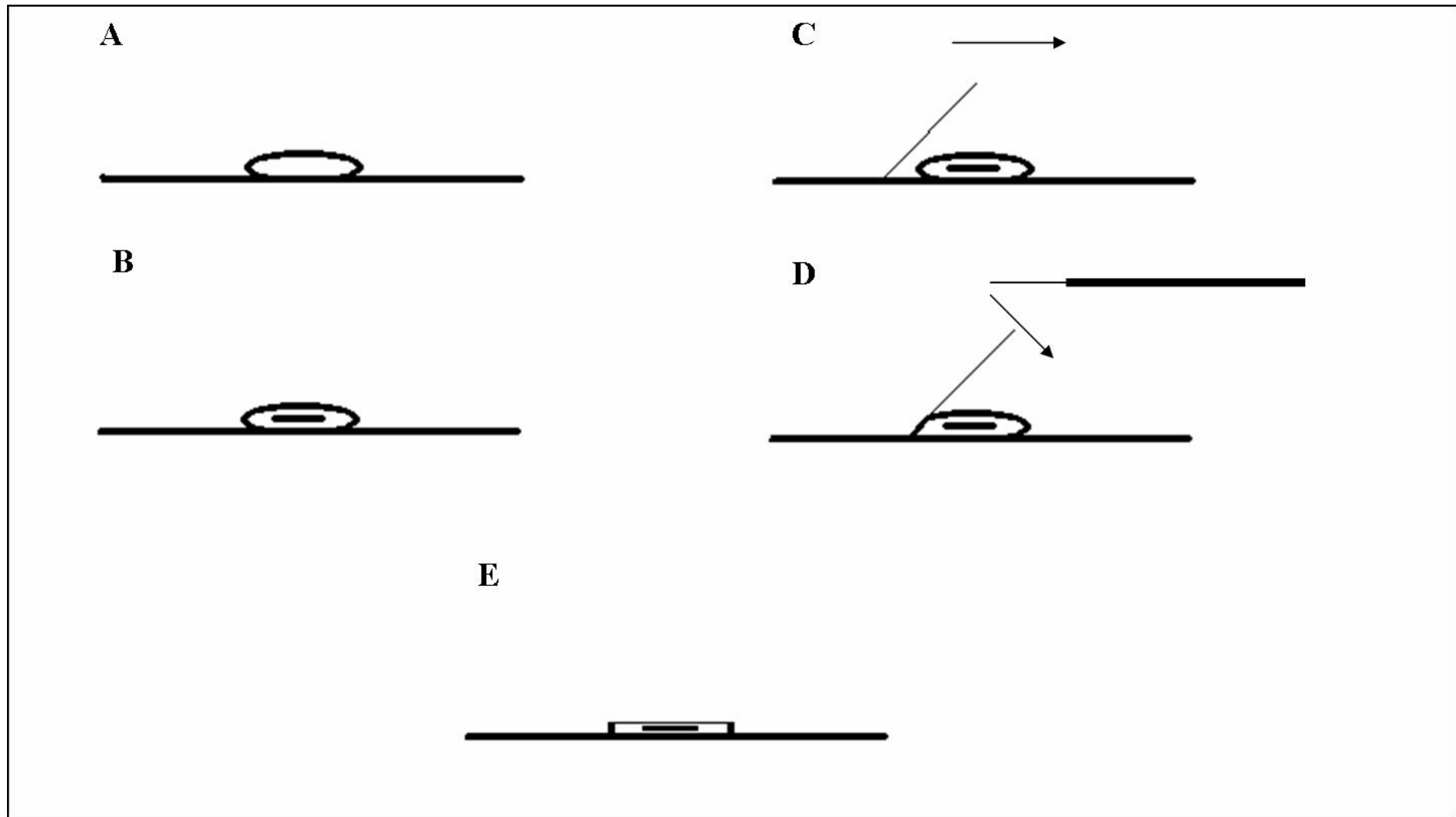
- **vlhké** (střevní prvoci)

# Mikroskopické preparáty



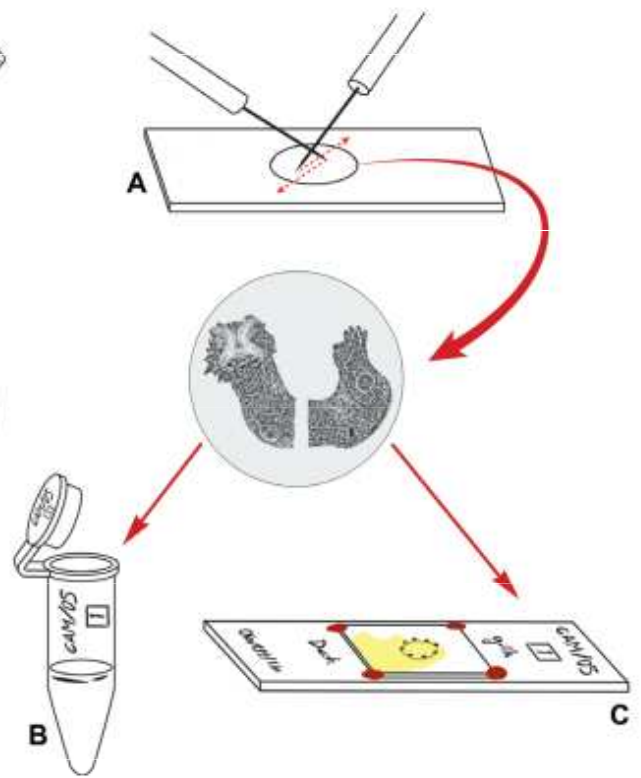
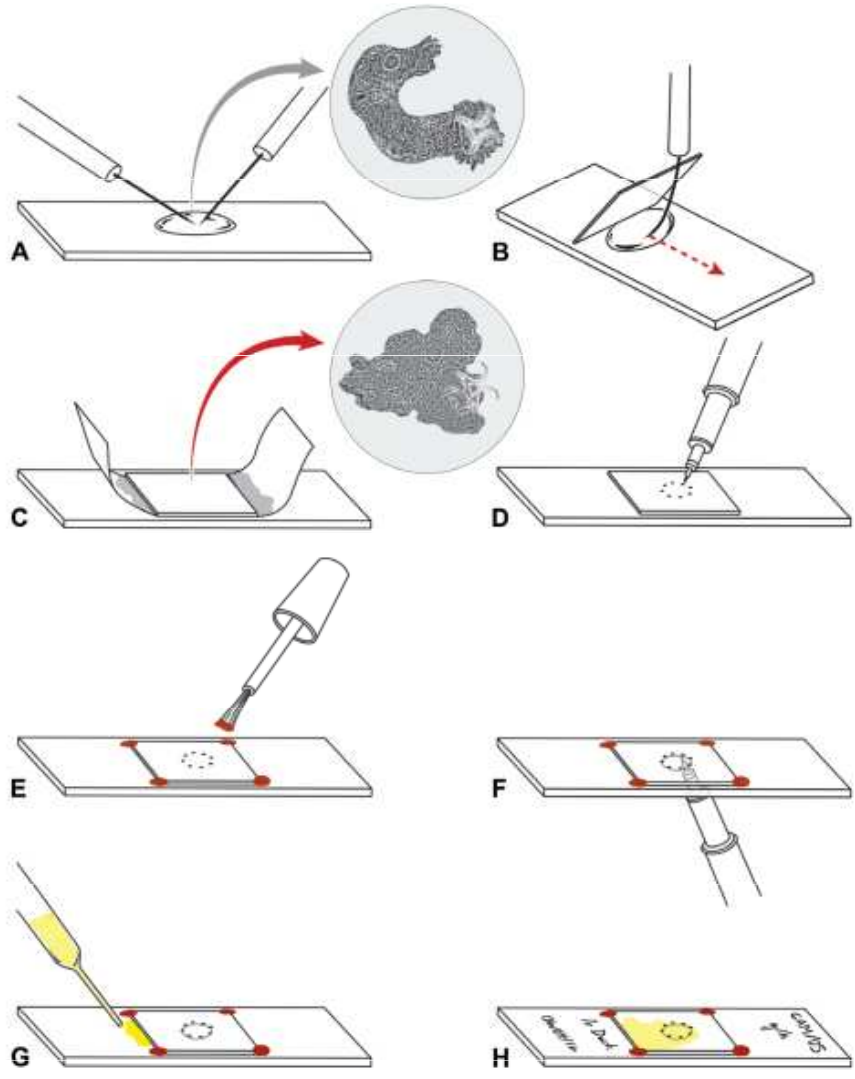


# Zhotovení mikroskopického preparátu

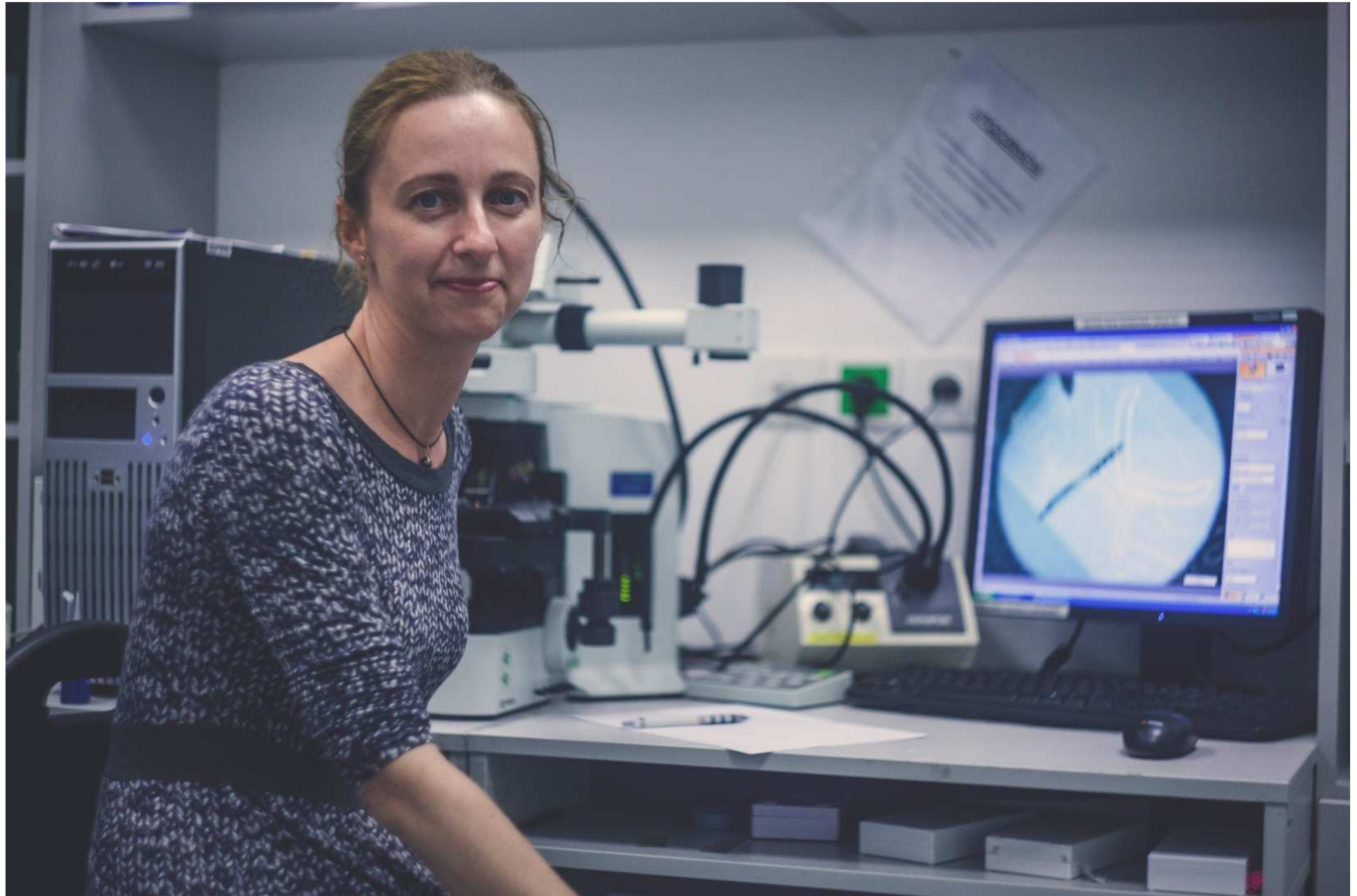




# Zhotovení mikroskopického preparátu



# Diagnostika: systematika a taxonomie parazitů



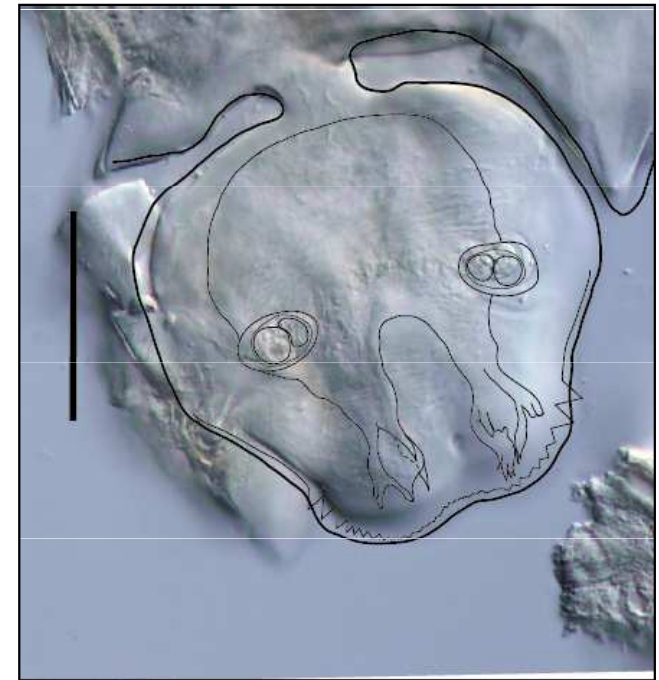
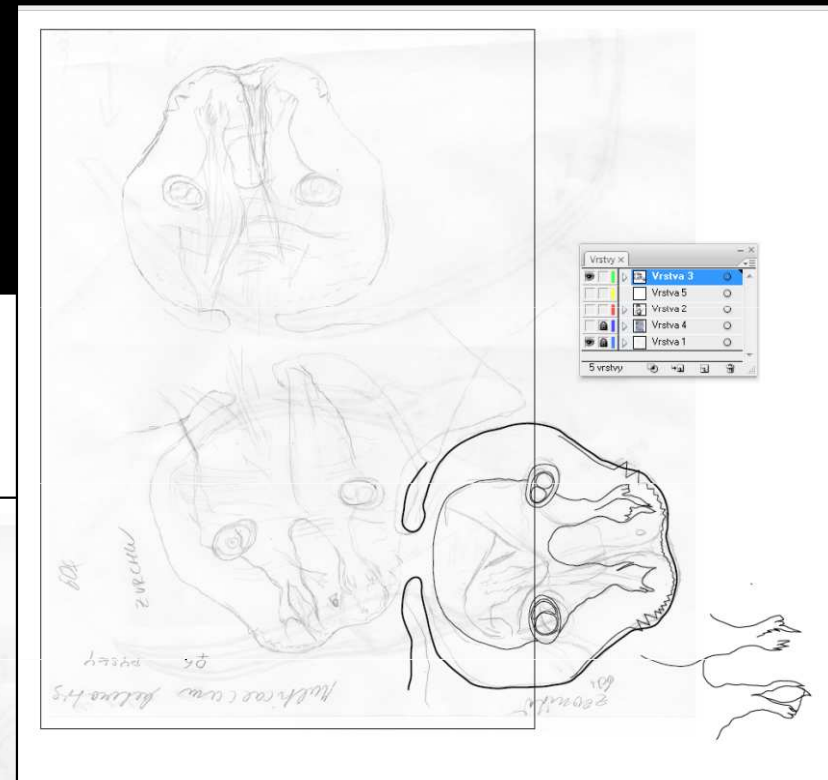
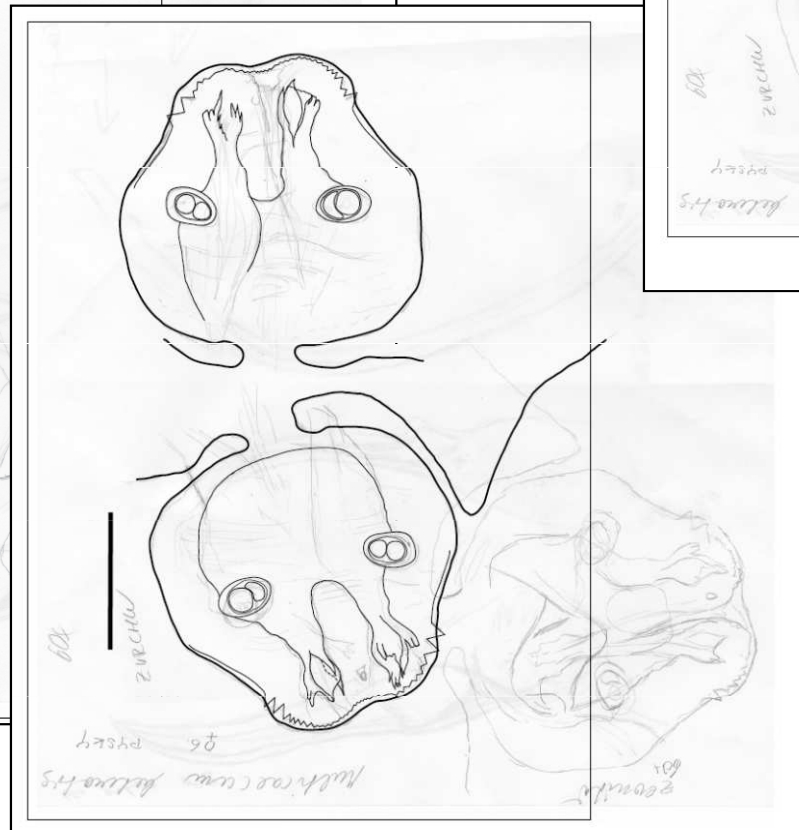
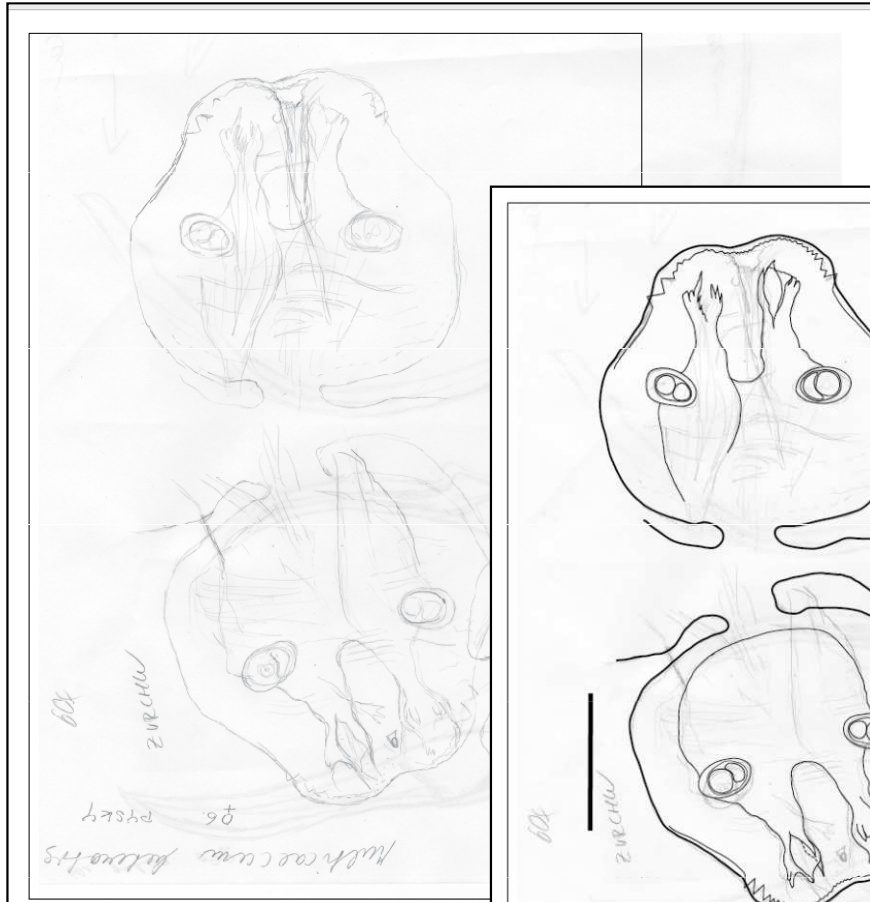
# Line-drawings

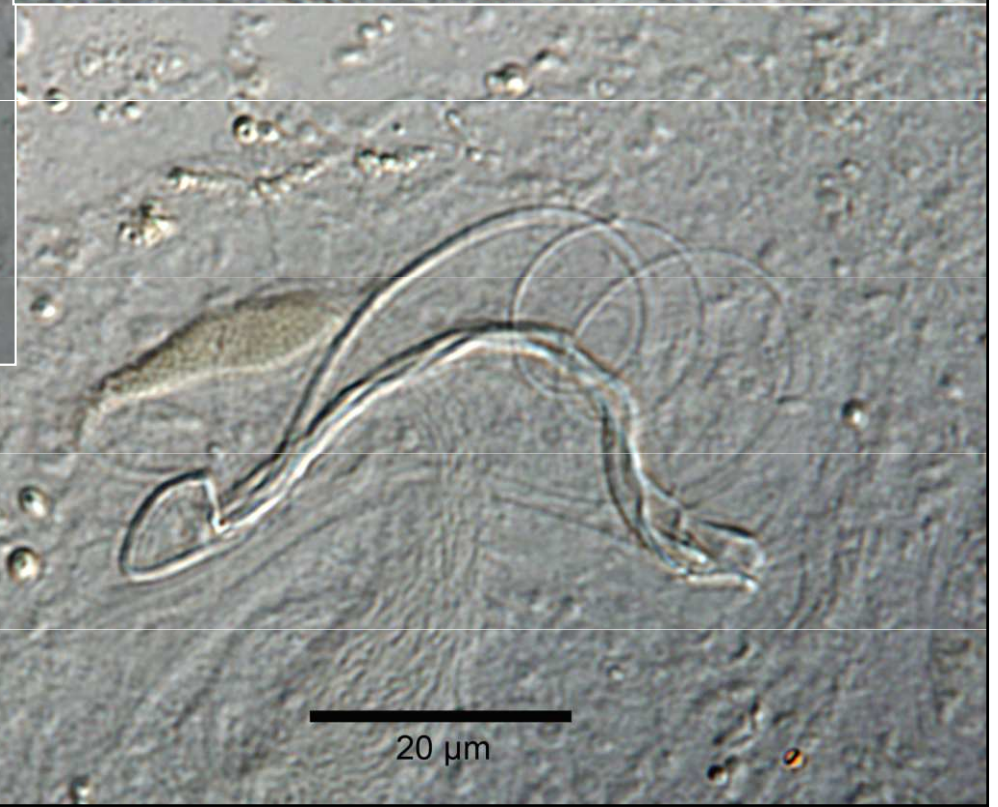
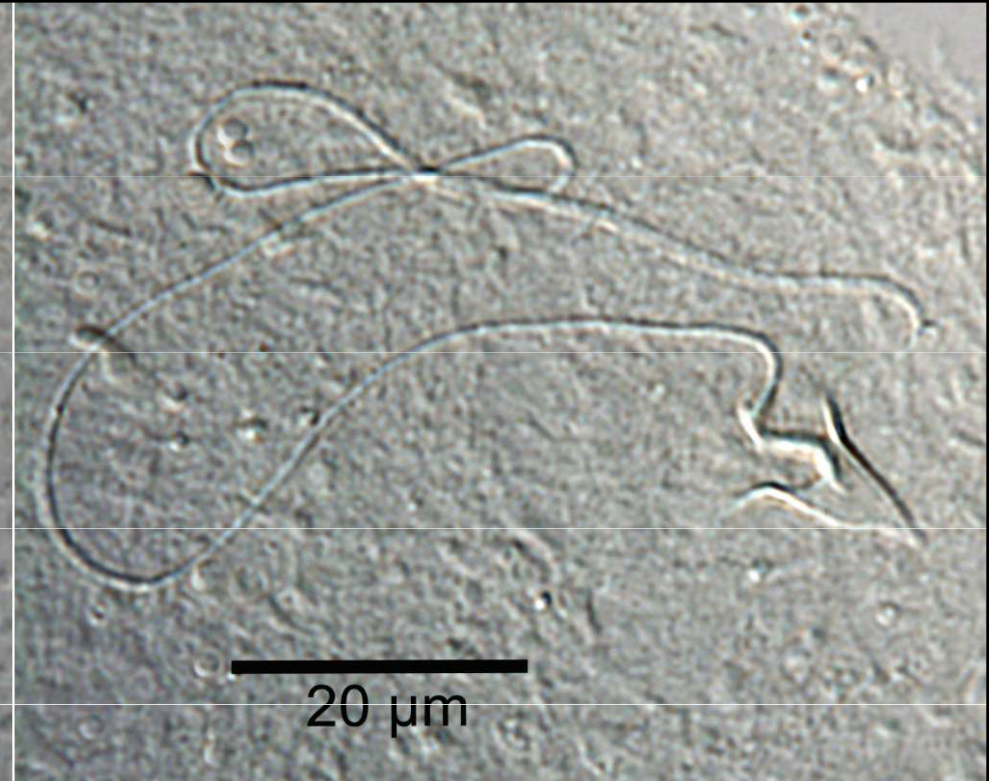
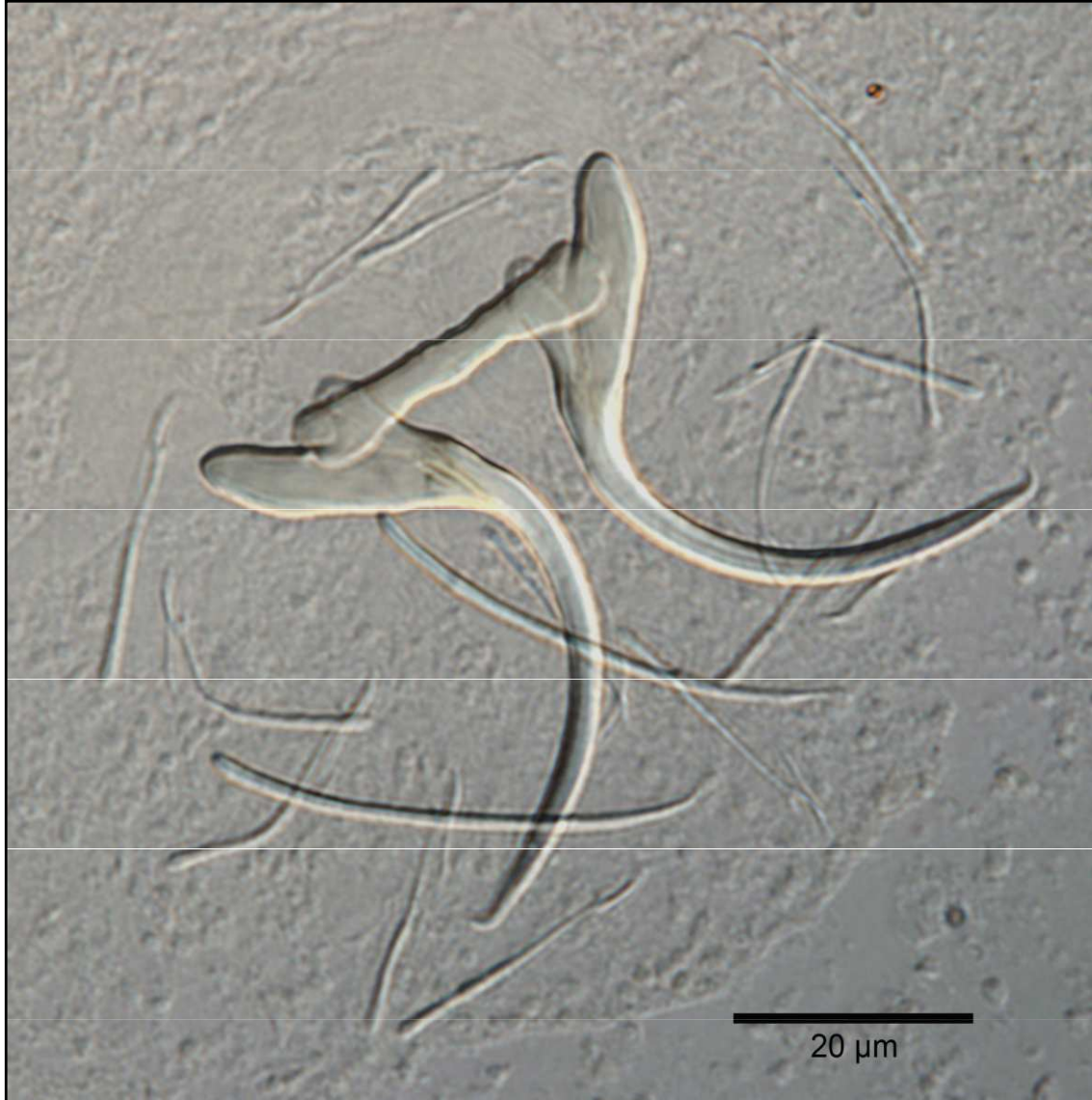


# Kresba morfologických struktur parazitů z mikroskopu a jejich digitalizace



# Line-drawings

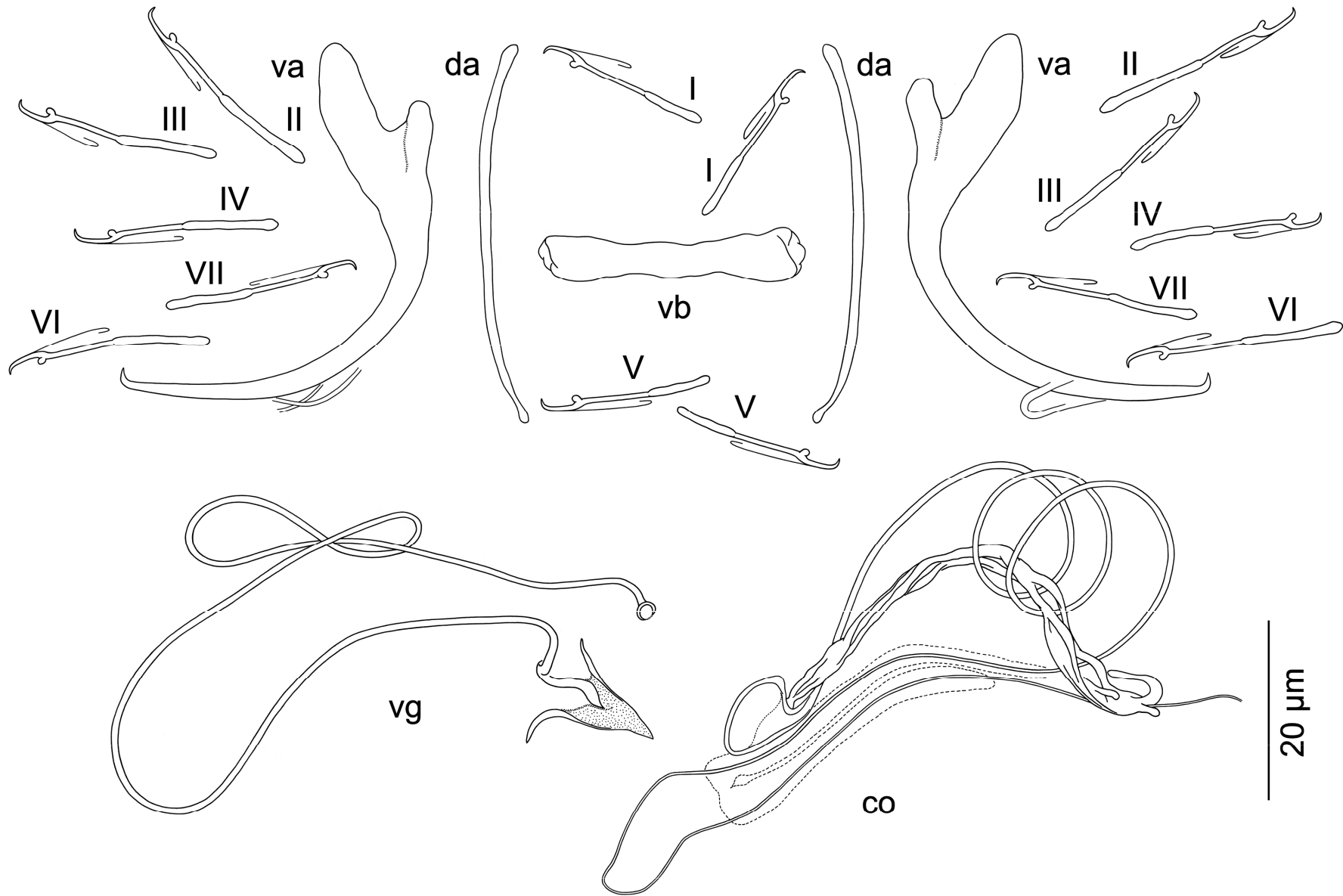




*Nanotrema niokoloensis* n.sp.

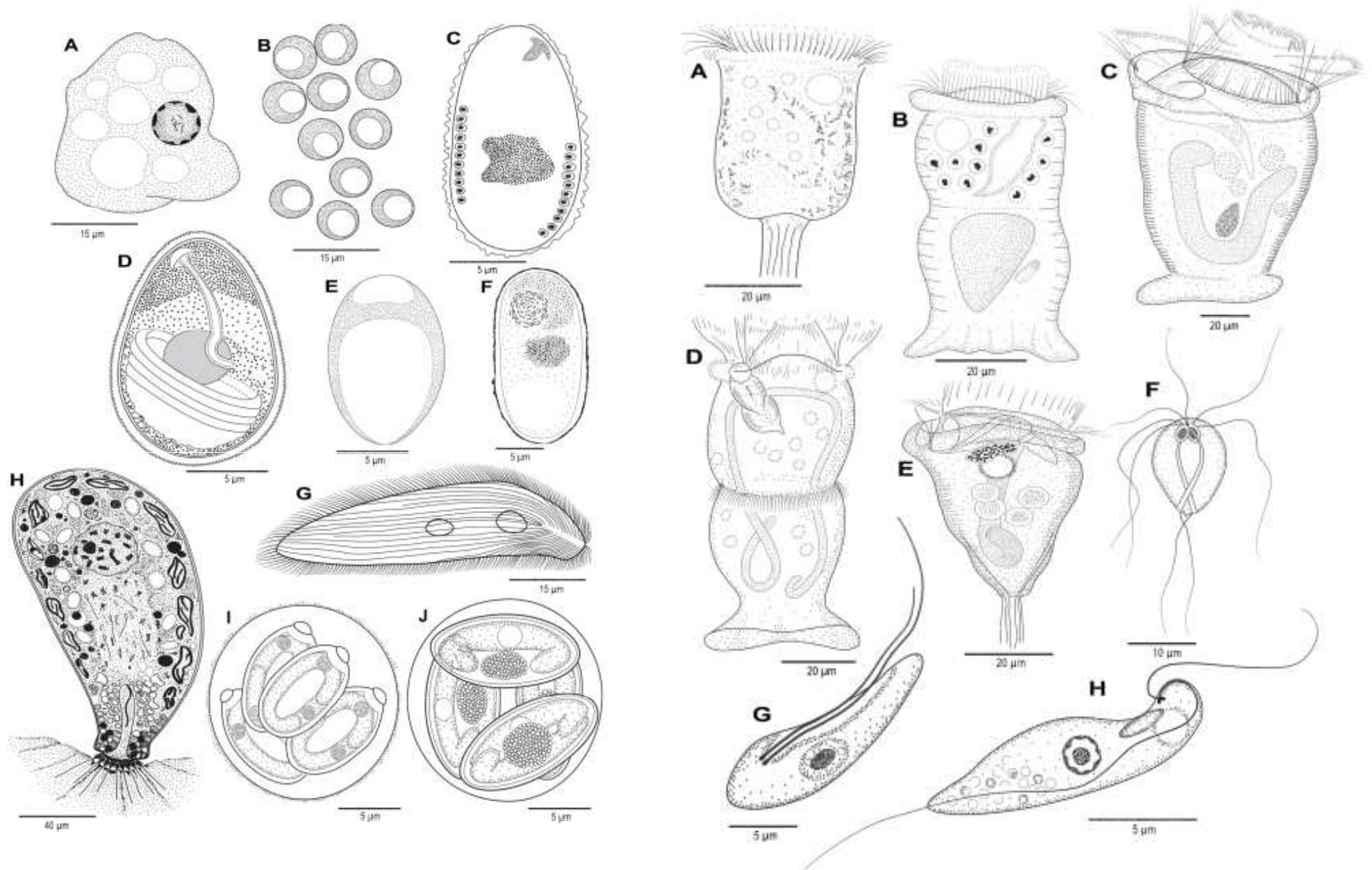
**Host:** *Citharinus citharus citharus*

**Locality:** Niokolo Koba River near Pont Suspendu Niokolo-Koba National Park, Senegal



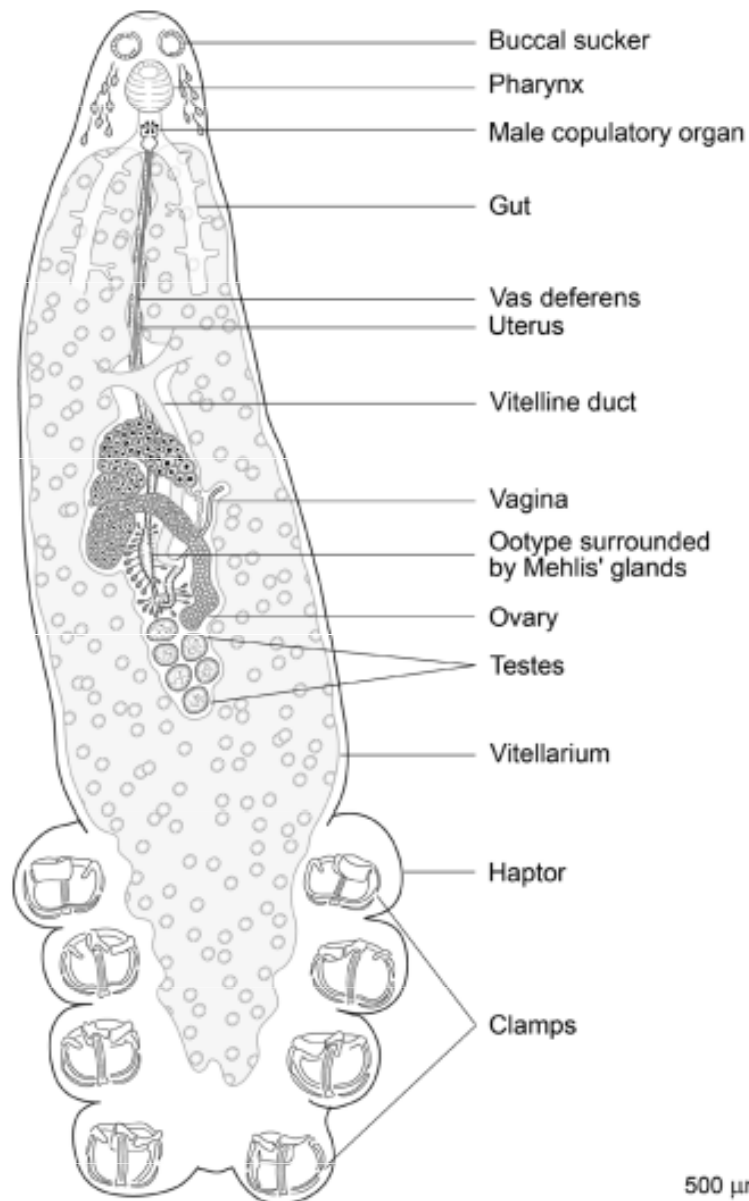
*Sclerotised structures of Nanotrema niokoloensis* sp.nov.: va = ventral anchor, vb = ventral bar, da = dorsal anchor, I-VII = pairs of hooks, co = copulatory organ, vg = vagina

# Parazitická protozoa

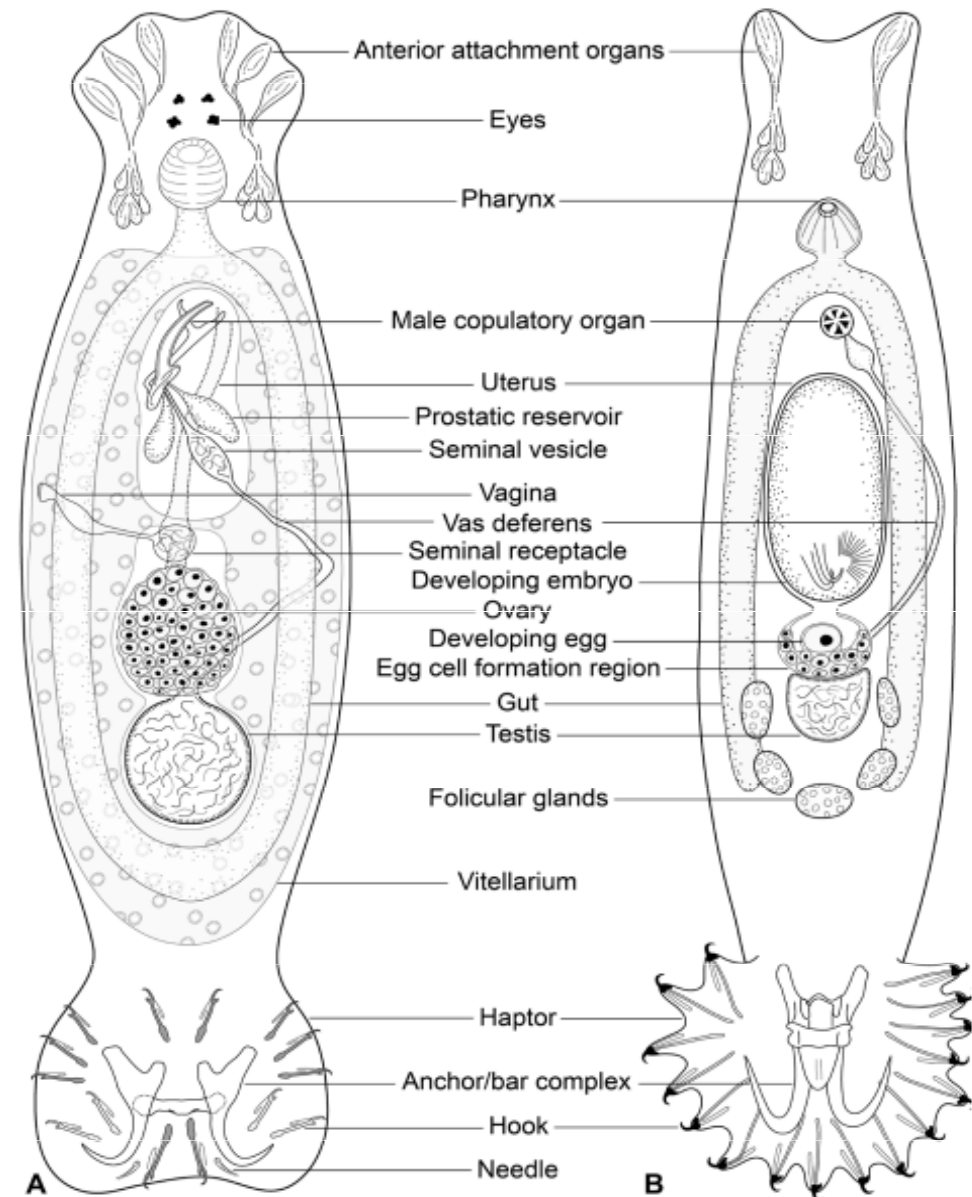




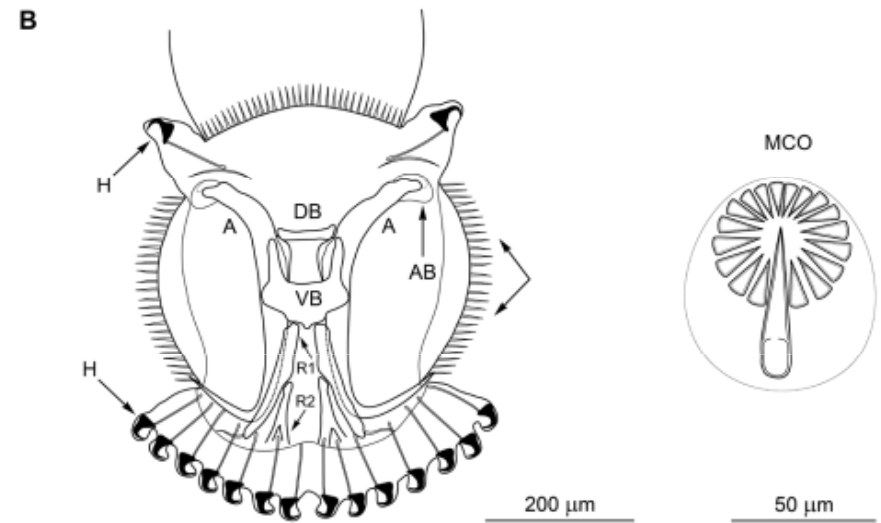
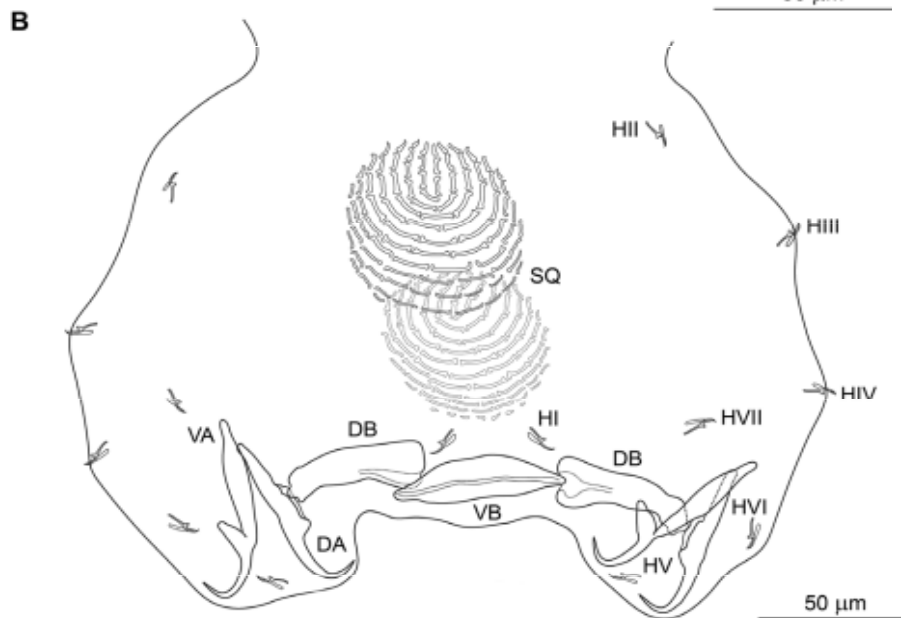
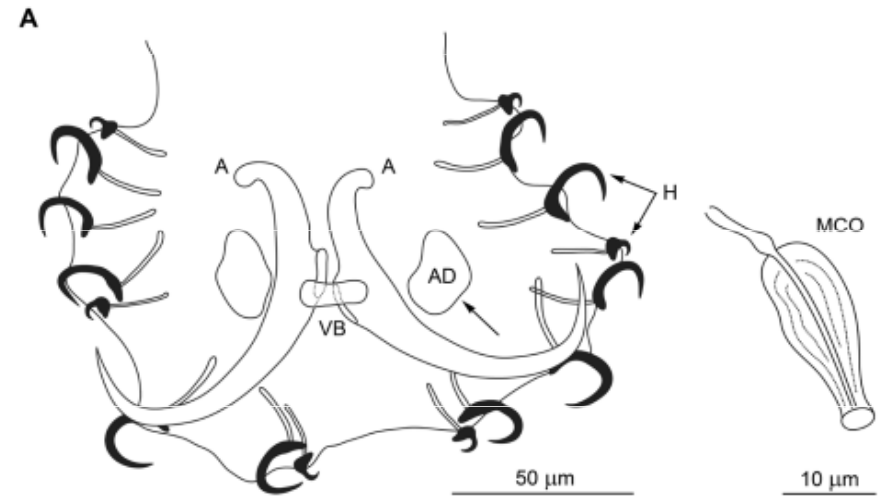
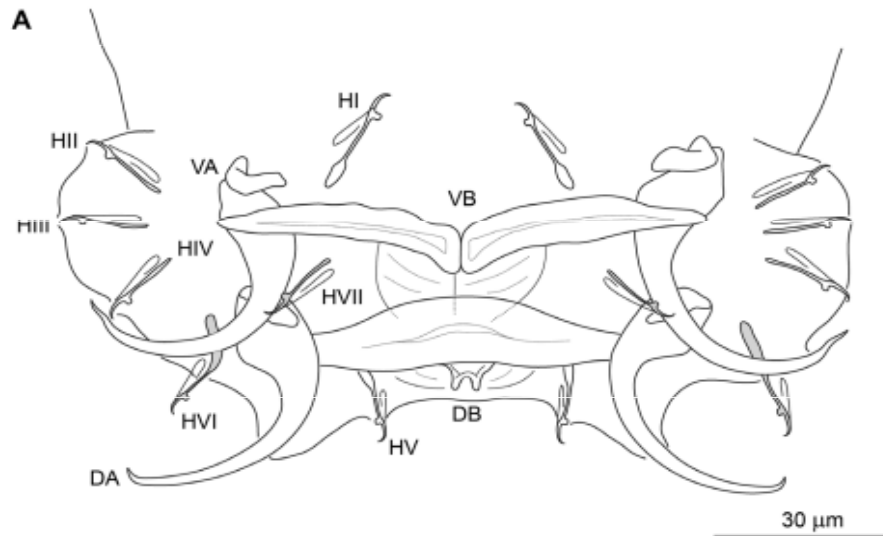
# Zástupci Monogenea



500  $\mu$ m

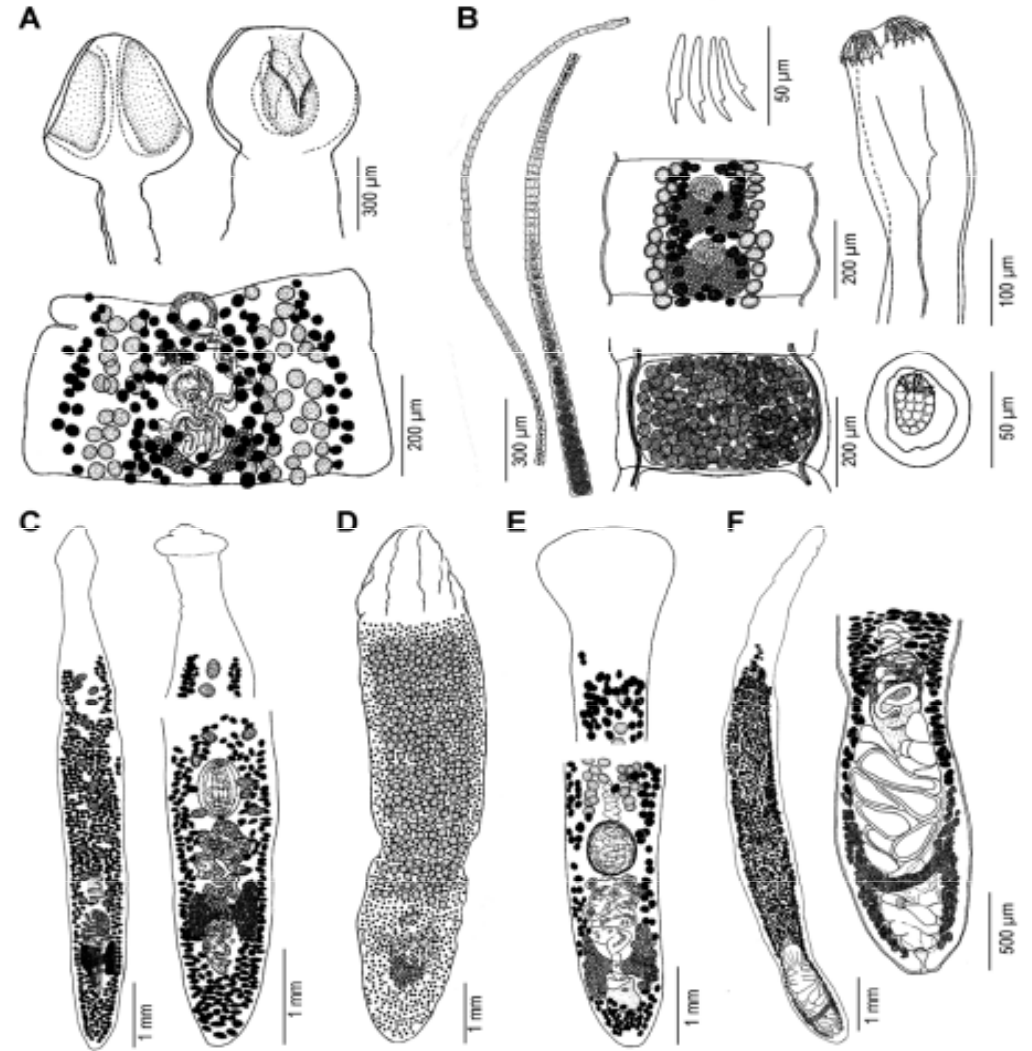
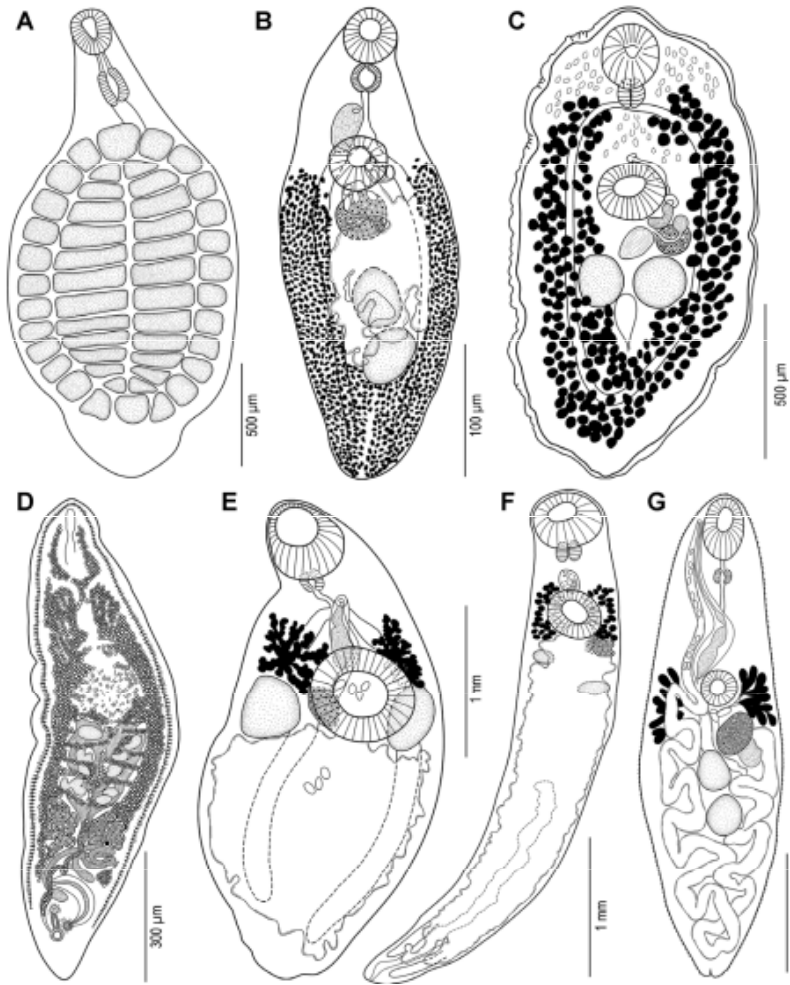


# Přichycovací aparát - opisthaptor

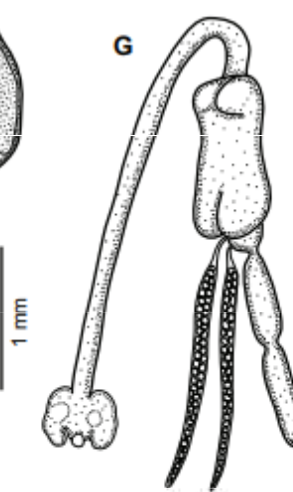
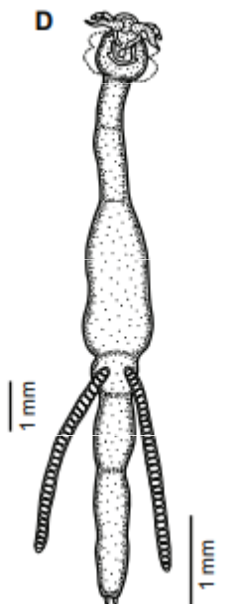
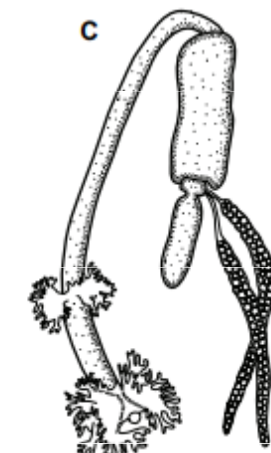
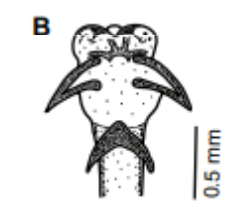
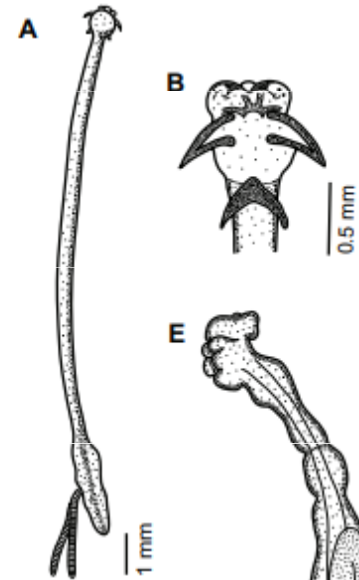
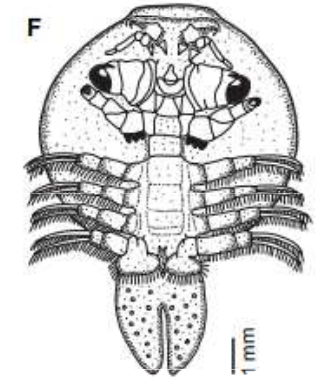
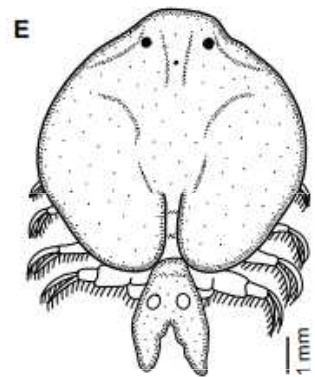
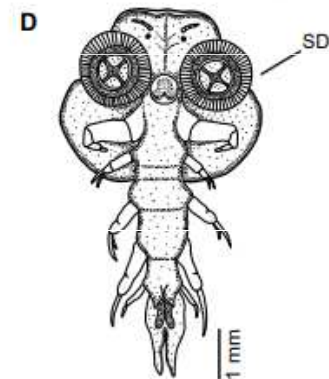
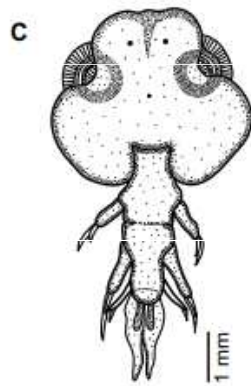
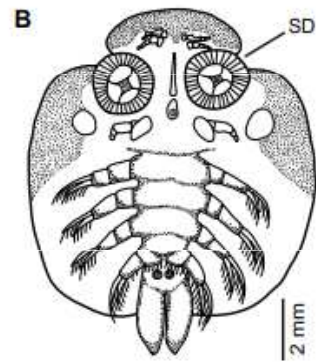
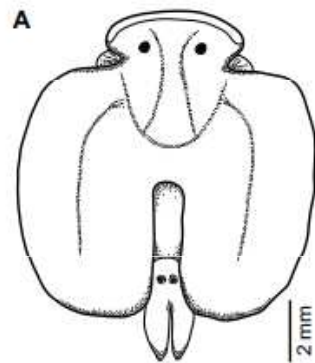


# Motolice

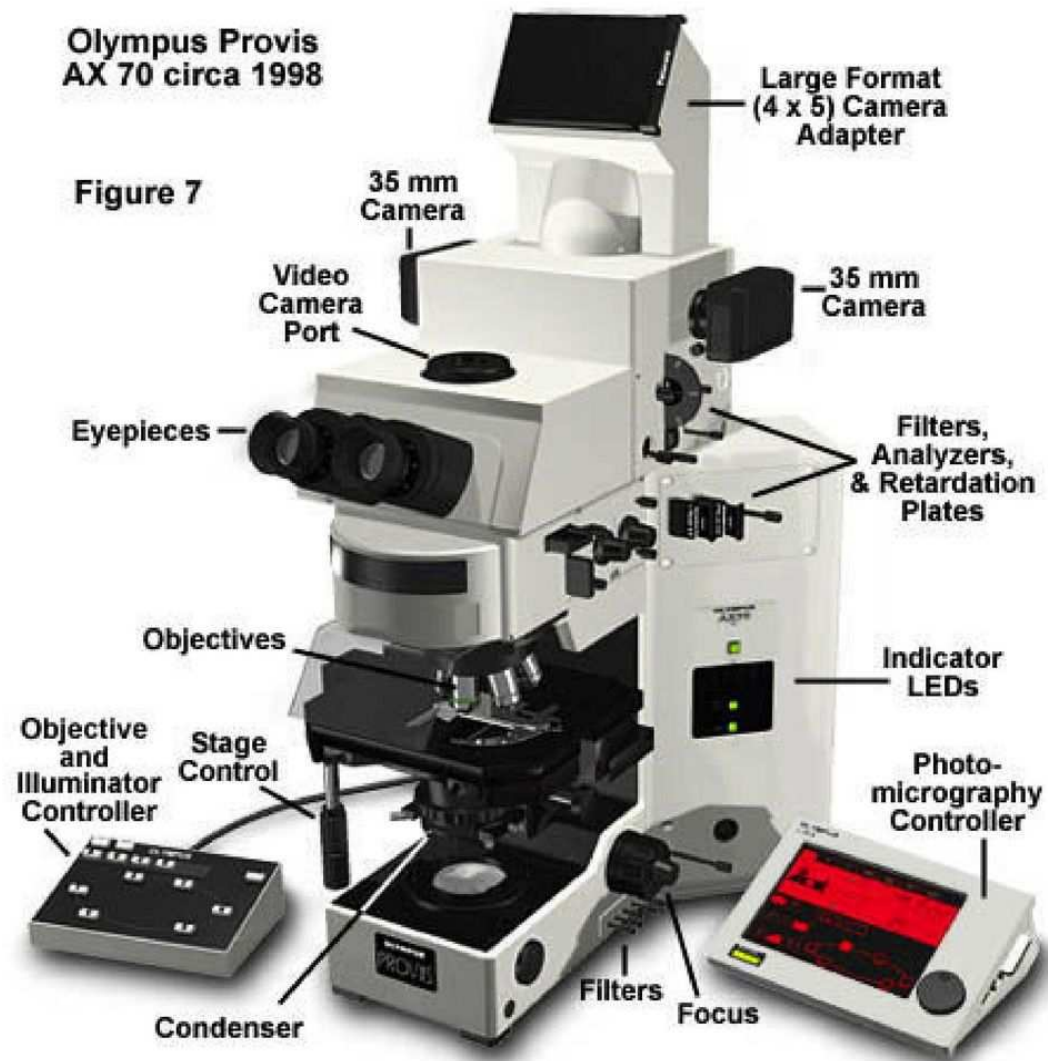
# Tasemnice



# Parazitiční korýši



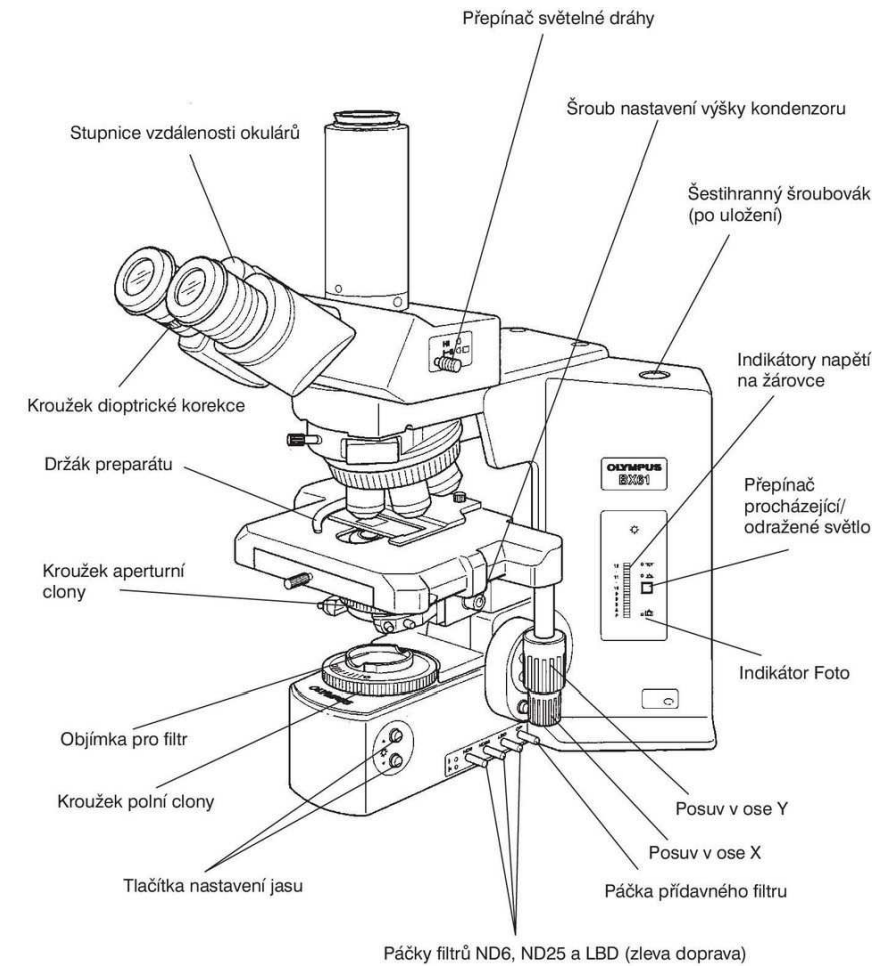
# Velký badatelský mikroskop Olympus AX 70



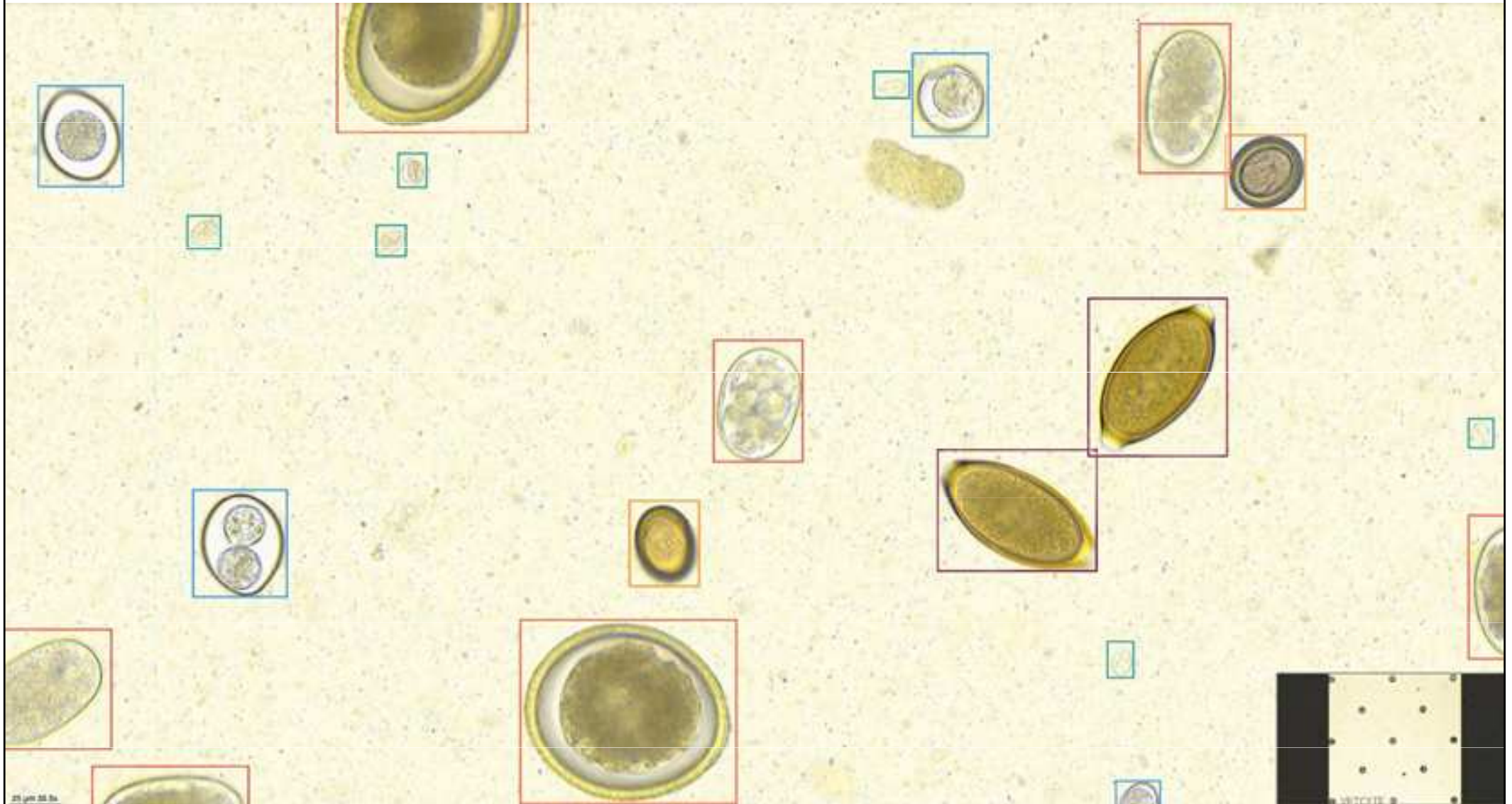
OLYMPUS AX 70

# 1. Popis mikroskopu

Model pro pozorování v procházejícím světle



# Světelný mikroskop – vajíčka helmintů





# Barvení

Neobarvené řezy – nerozlišíme jednotlivé struktury, mají stejný index lomu (prohlížení jen s použitím speciálních optických zařízení – mikroskop s fázovým kontrastem)

Běžná světelná mikroskopie - založena na použití velké palety barvicích metod  
Barviva jsou látky, které absorbují světlo určitých vlnových délek. To, co pak vnímáme jako barevný vjem, jsou neabsorbované vlnové délky.

Různé součásti buněk a tkání váží různá barviva – po obarvení se proto dají od sebe dobře odlišit

Barvení nefixovaných tkání:

**Vitální:** např. tuš, trypanová modř, lithiumkarmín, aplikace do krve či vaziva – vychytávání se sleduje na řezech. Fagocytární aktivita buněk.

**Supravitální:** např. Janusova zeleň – mitochondrie, methylenová modř – nervové bb.



# Vitální barvení

Barvení je biochemická metoda, kterou se přidá k objektu specifická barvicí látka (barvivo) a slouží k prokázání výskytu (kvalifikaci) nebo množství (kvantifikaci) specifické látky ve zkoumaném objektu nebo ke zvýraznění vnitřních struktur.

Barvení (buněk, tkáně) za živa je **vitální barvení**

Do živé buňky pronikají pouze tzv. **vitální barviva**

Potravní vakuoly (ph)

Makronukleus, jádra buněk

Mitochondrie

**Neutrální červeň**

**Kongo červeň**

**metylenová zeleň**

**metylenová modř**

(nervová ukončení, gangliové buňky)

**Bismarkova hněd'**

**Janusova zeleň B**

**Nilská modř**

**Lugolův roztok**

(jádra buněk)

Zásobní roztoky barviv o nízké koncentraci

(zásobní 1%, k použití se silně ředí - až 0,05%

možnost rozpustit ve fyziologických tekutinách)

# Přehled barvicích metod

BARVICÍ METODA	JÁDRO	CYTO PLAZ.	VAZ.	SVALY	ERYT ROC YTY	BARVIVA
H-E						
ŽLUTÝ TRICHOM						šafrán
MODRÝ TRICHOM						hematoxylin, anilinová modř, kyselý fuchsin
ZELENÝ TRICHOM						hematoxylin, kyselý fuchsin, světlá zeleň, oranž G
AZAN (HEIDENHAIN)						<u>azokarmín</u> , oranž G, anilinová modř
WEIGERT VAN GIESON						železitý hematoxylin, <u>pikrofuchsin</u>

# Druhy barvení

**Intravitální** - barví se normální živé buňky, přímo v těle organismu

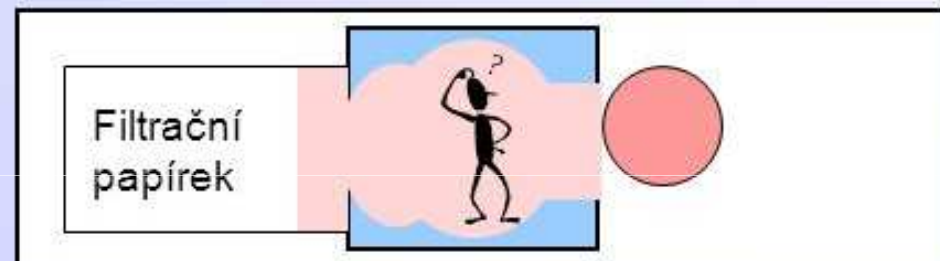
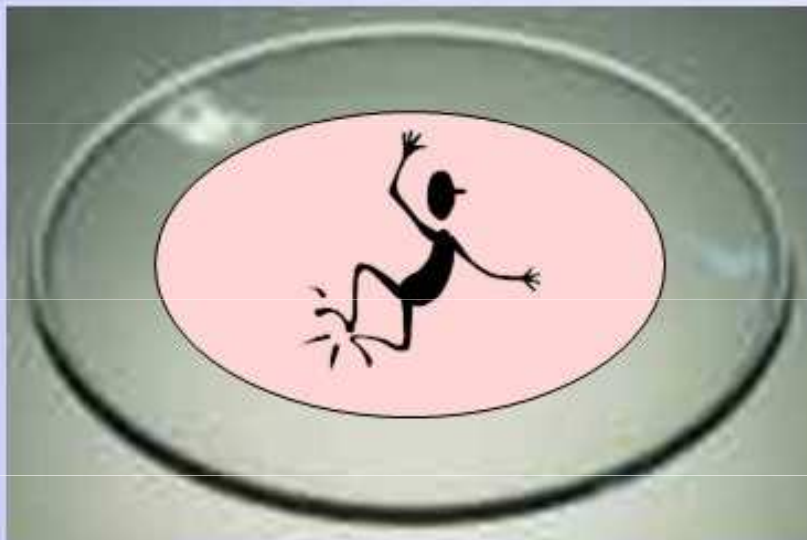
Drobné objekty se **vkládají přímo** do nízkoprocenních roztoků těchto barviv, nebo se **vstříkují** do živého organismu (obratlovci)

nebo tzv. **prosáváním** (bezobratlí)

**Příklad:**

**neutrální červeň - potravní vakuoly prvoků**

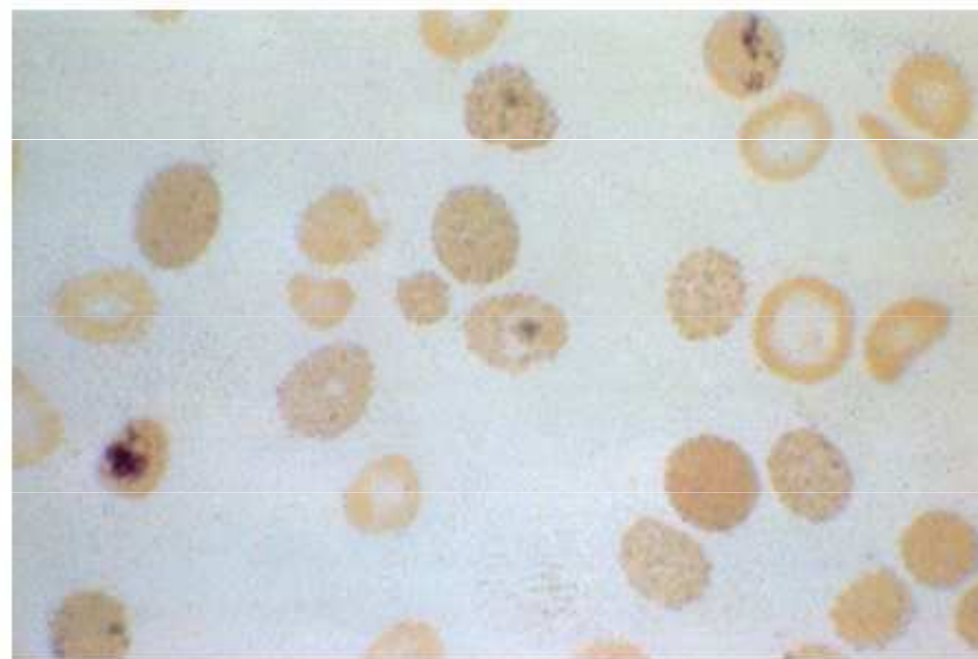
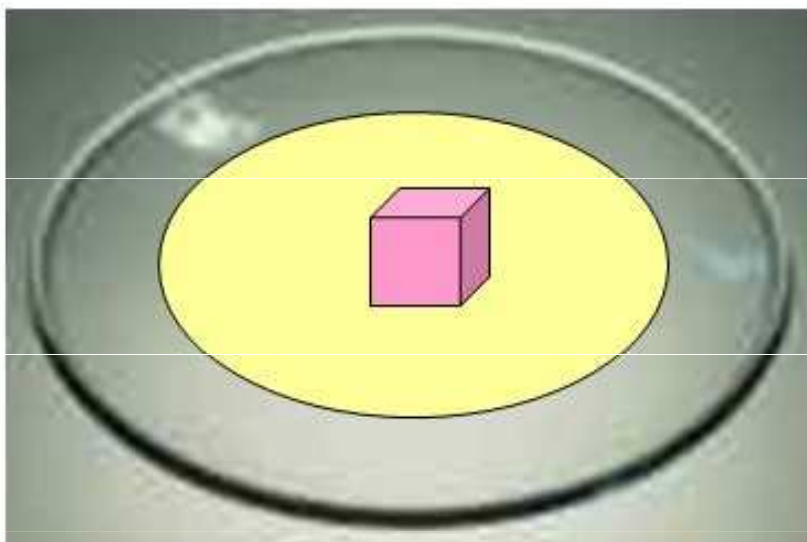
**Janusova zeleň B - mitochondrie v plasmě prvoků**



# Druhy barvení

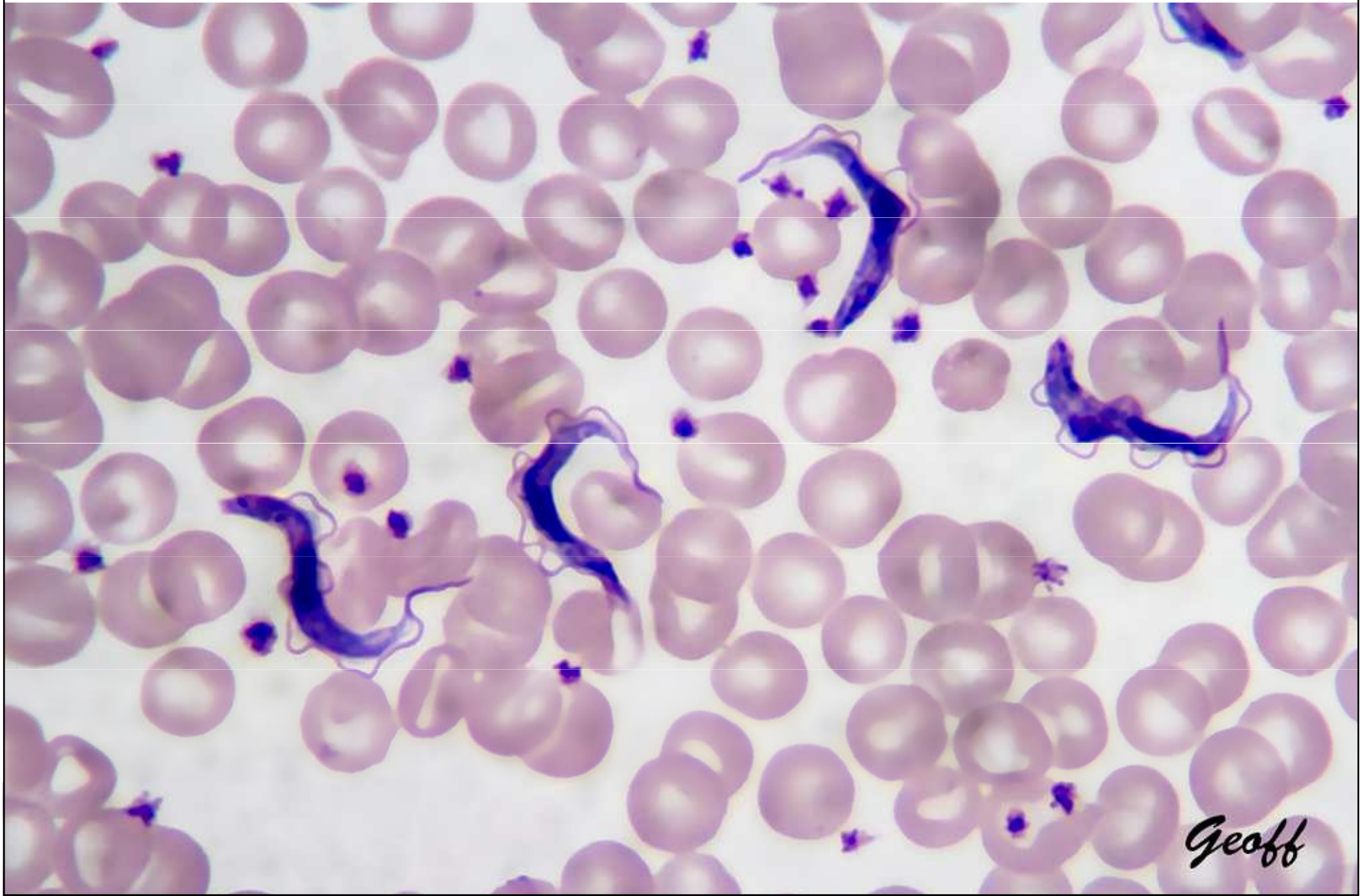
**Supravitální** - barvíme živé buňky vybrané z těla (kousky tkáně)

propustnost membrán je větší u oslabených buněk



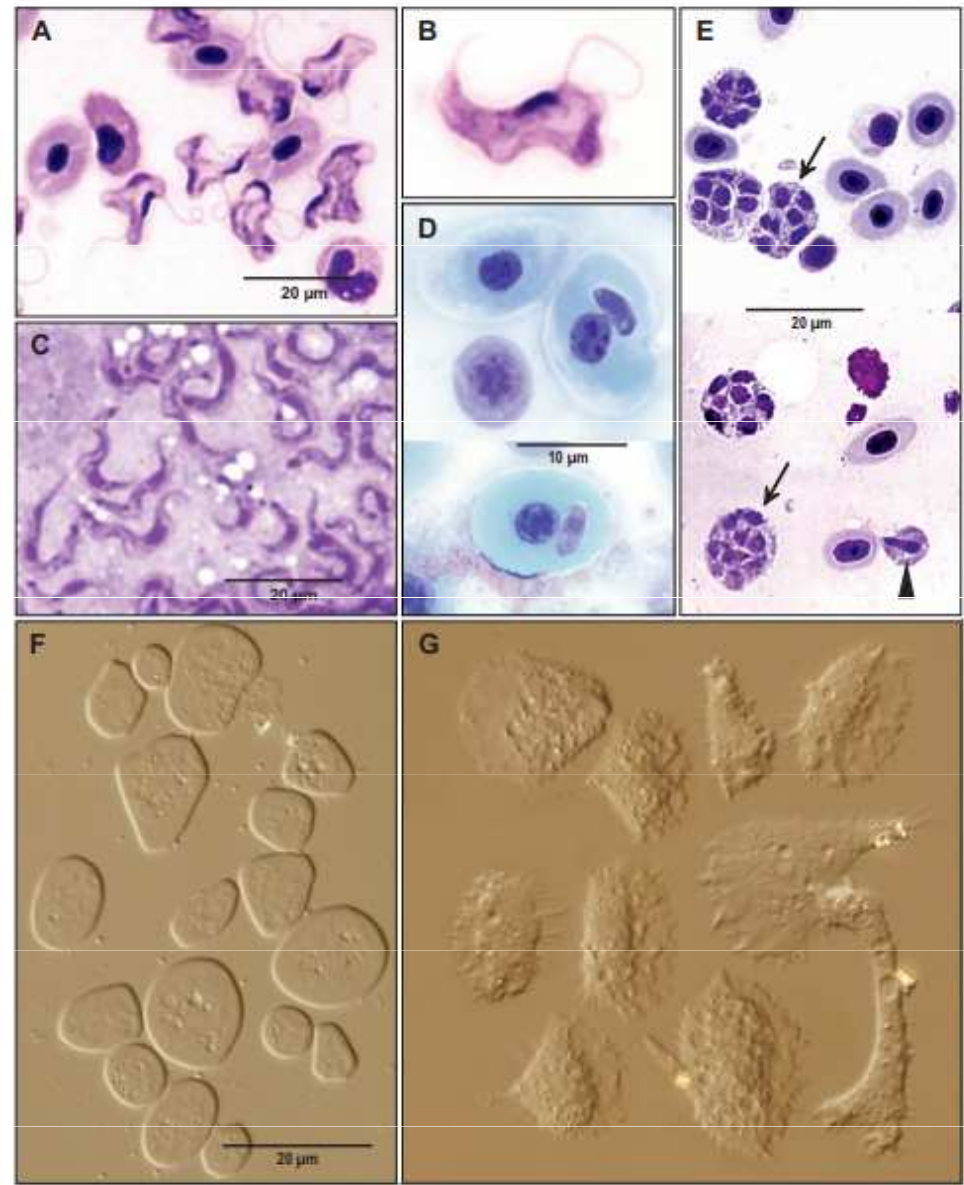
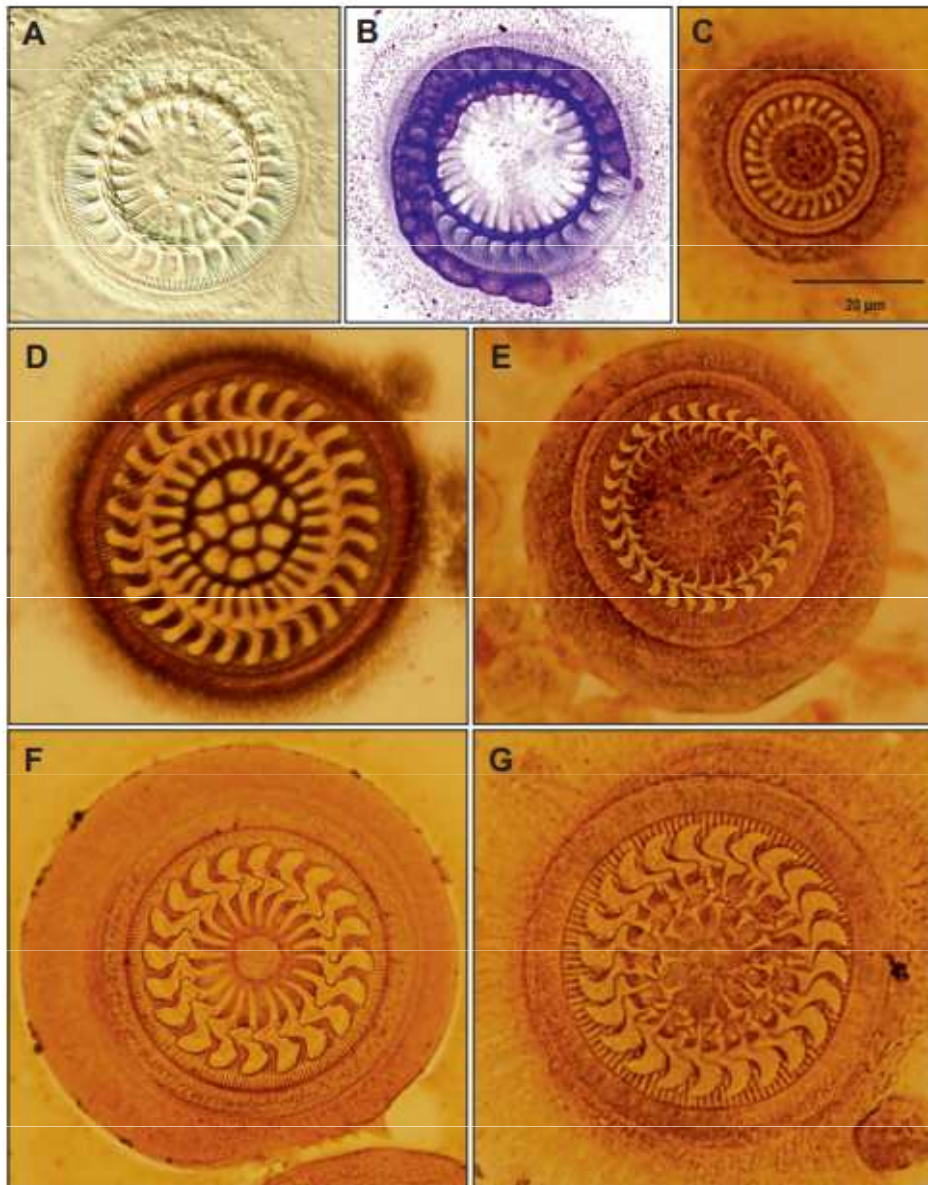
Supra vital stain in hemoglobin H disease that reveals Heinz bodies (golf ball appearance).

# Barvení Giemsou - trypanosomy



*Geoff*

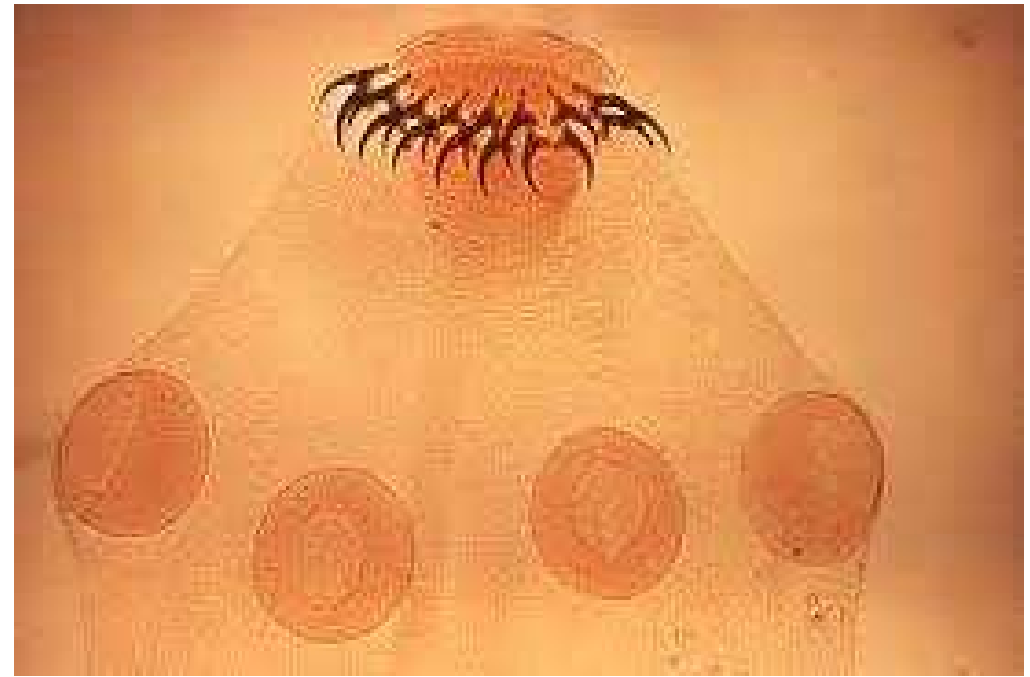
# Barevné preparáty - protozoa



# Barvené preparáty - motolice



# Barvené preparáty tasemnice





# Bright field

*Eudiplozoon nipponicum*



- Acetylcholine visualised with 5-bromo-chloro-indolyl acetate

(Zurawski T.H. et al., 2001)

# Gomori Trichrom Staining

*E. nipponicum*



*P. homoion*



# Sampling of parasite individual

Variety of monogenean body shapes and haptor morphology

Variety of types of scolexes of cestodes

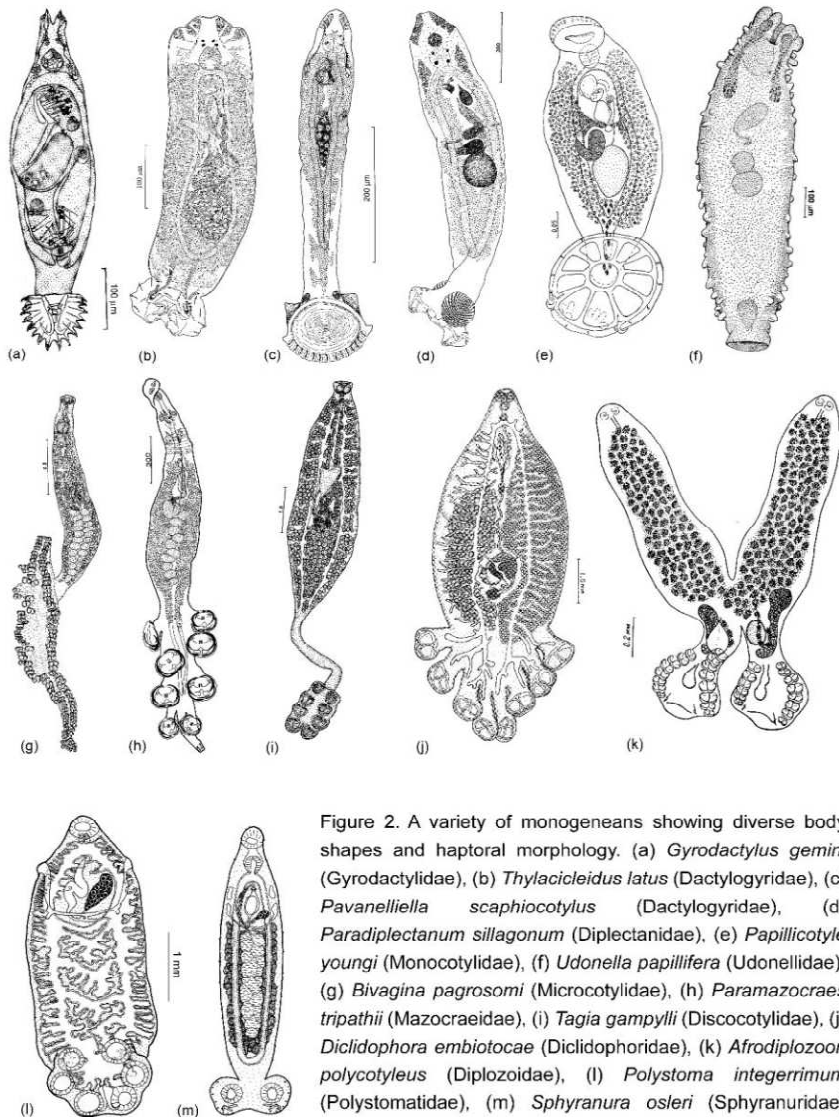
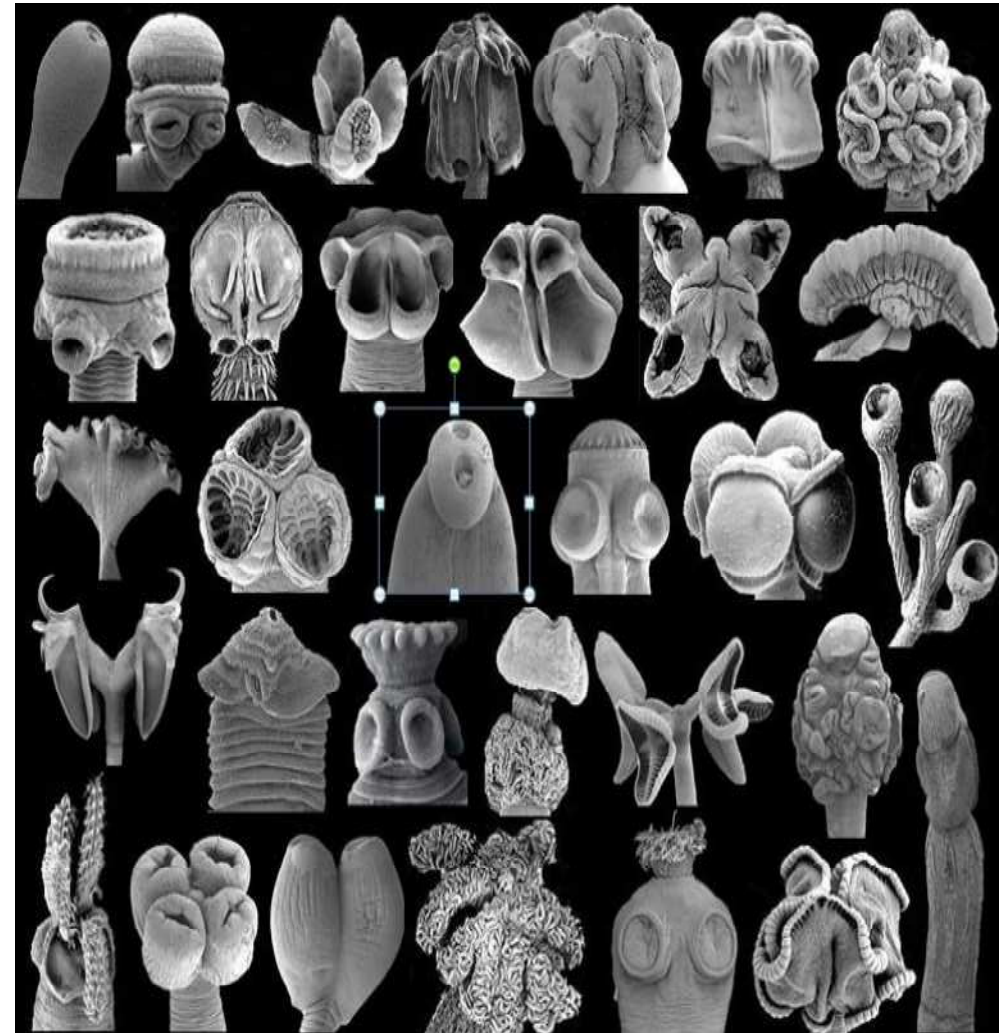
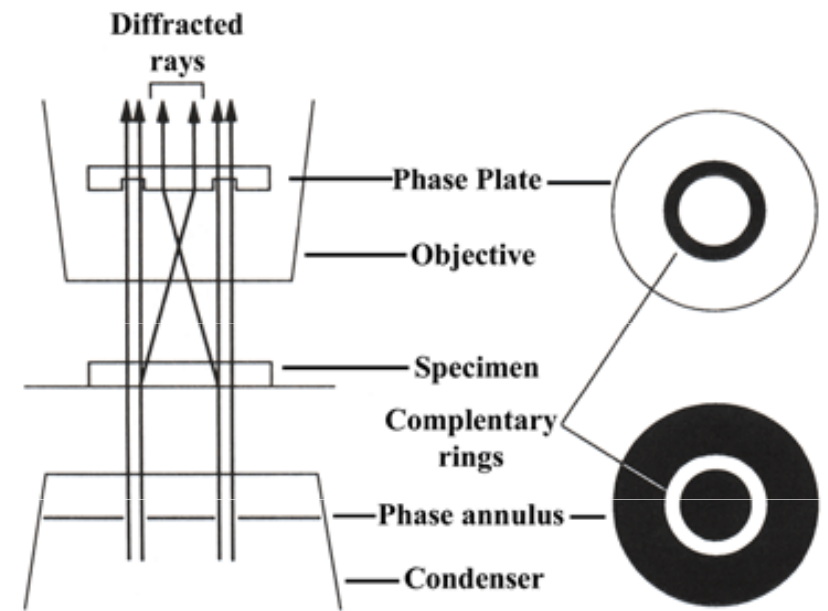


Figure 2. A variety of monogeneans showing diverse body shapes and haptor morphology. (a) *Gyrodactylus gemini* (Gyrodactylidae), (b) *Thylacicleidus latus* (Dactylogyridae), (c) *Pavanelliella scaphiocotylus* (Dactylogyridae), (d) *Paradiplectanum sillagonum* (Diplectanidae), (e) *Papillicotyle youngi* (Monocotylidae), (f) *Udonella papillifera* (Udonellidae), (g) *Bivagina pagrosomi* (Microcotylidae), (h) *Paramazocraes tripathii* (Mazocraeidae), (i) *Tagia gampylli* (Discocotylidae), (j) *Diclidophora embiotocae* (Diclidophoridae), (k) *Afrodiplozoon polycotyleus* (Diplozoidae), (l) *Polystoma integerrimum* (Polystomatidae), (m) *Sphyranura osleri* (Sphyranuridae)



# Phase contrast (PC)

- PC enhances contrasts of transparent and colorless objects by influencing the optical path of light
- Light passing through a transparent part of the specimen travels slower and, due to this is shifted compared to the uninfluenced light
- Difference in phase is not visible to the human eye → change in phase can be increased to half a wavelength by a transparent phase-plate in the microscope and thereby causing a difference in brightness
- Transparent object becomes shining out in contrast to its surroundings

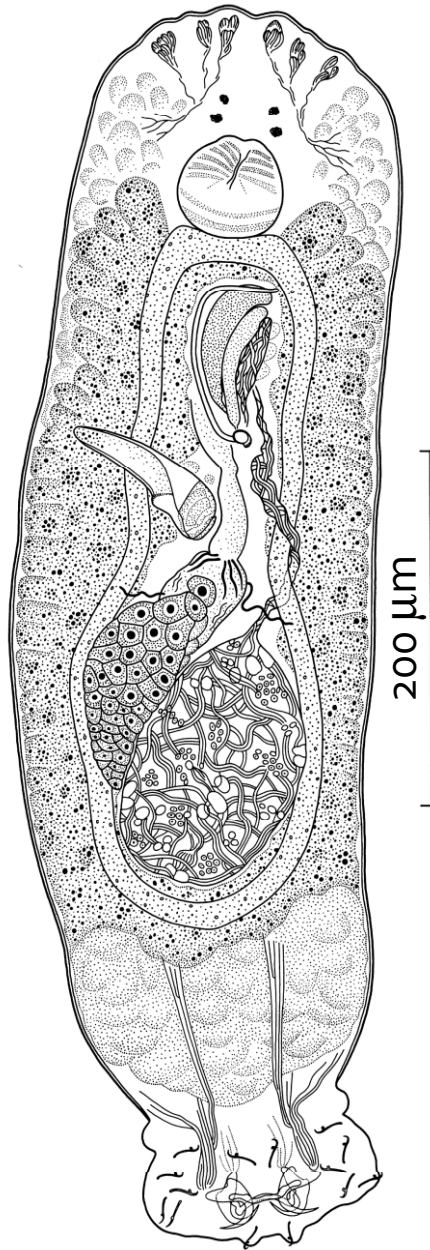


# I. Organismal and structural diversity - species identification

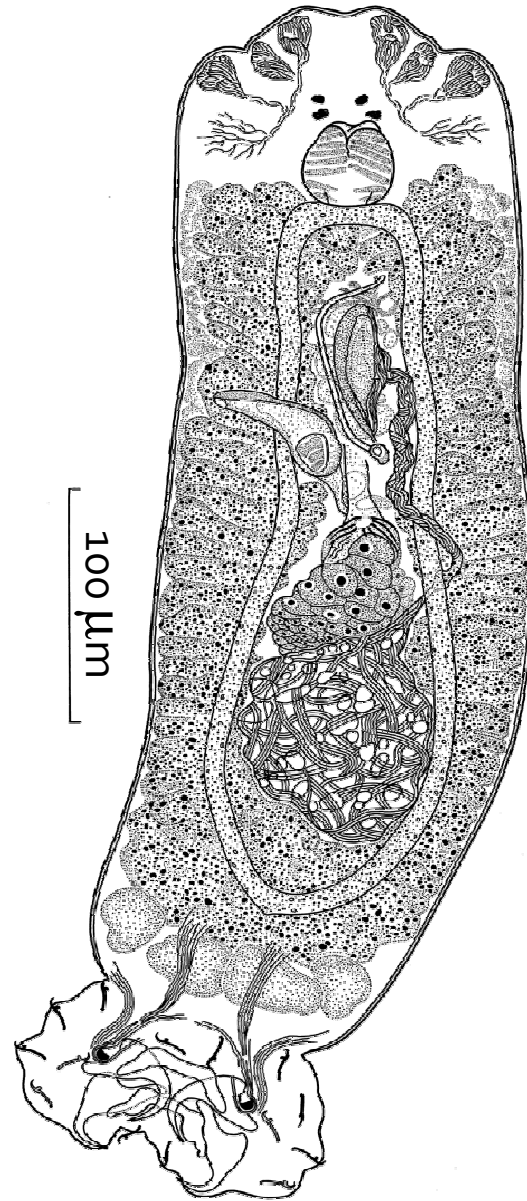


**Drawings:** microscope Olympus BX 50 equipped with a phase contrast optics and drawing tube; **Measurements:** Digital Image Analysis

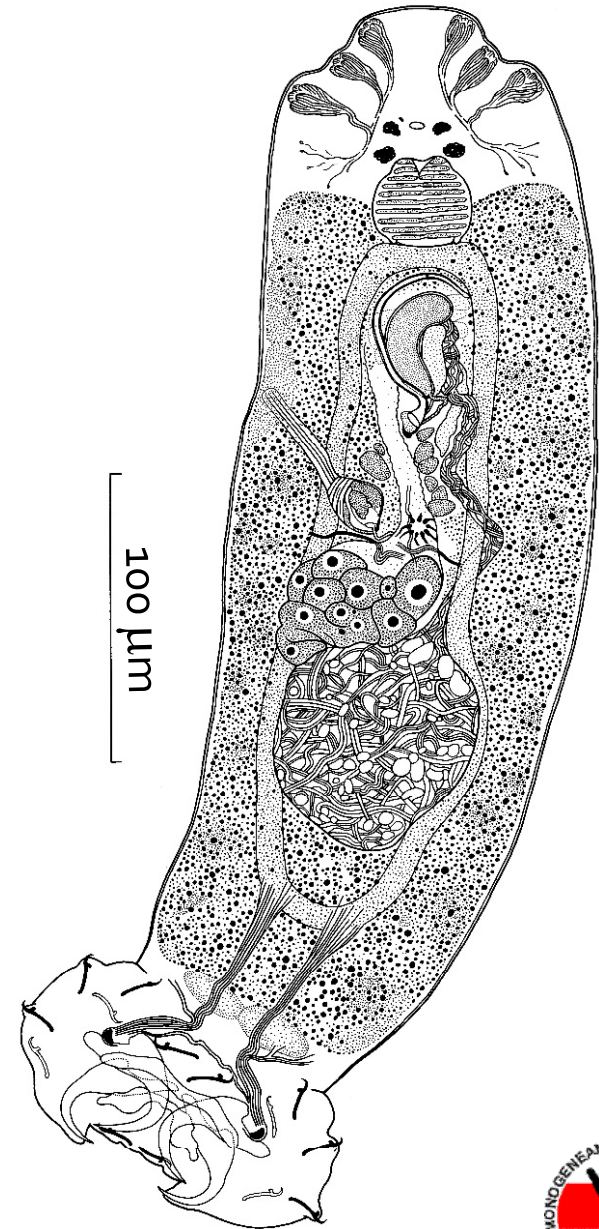
*Thylacicleidus serendipitus*



*Thylacicleidus*  
sp. 1

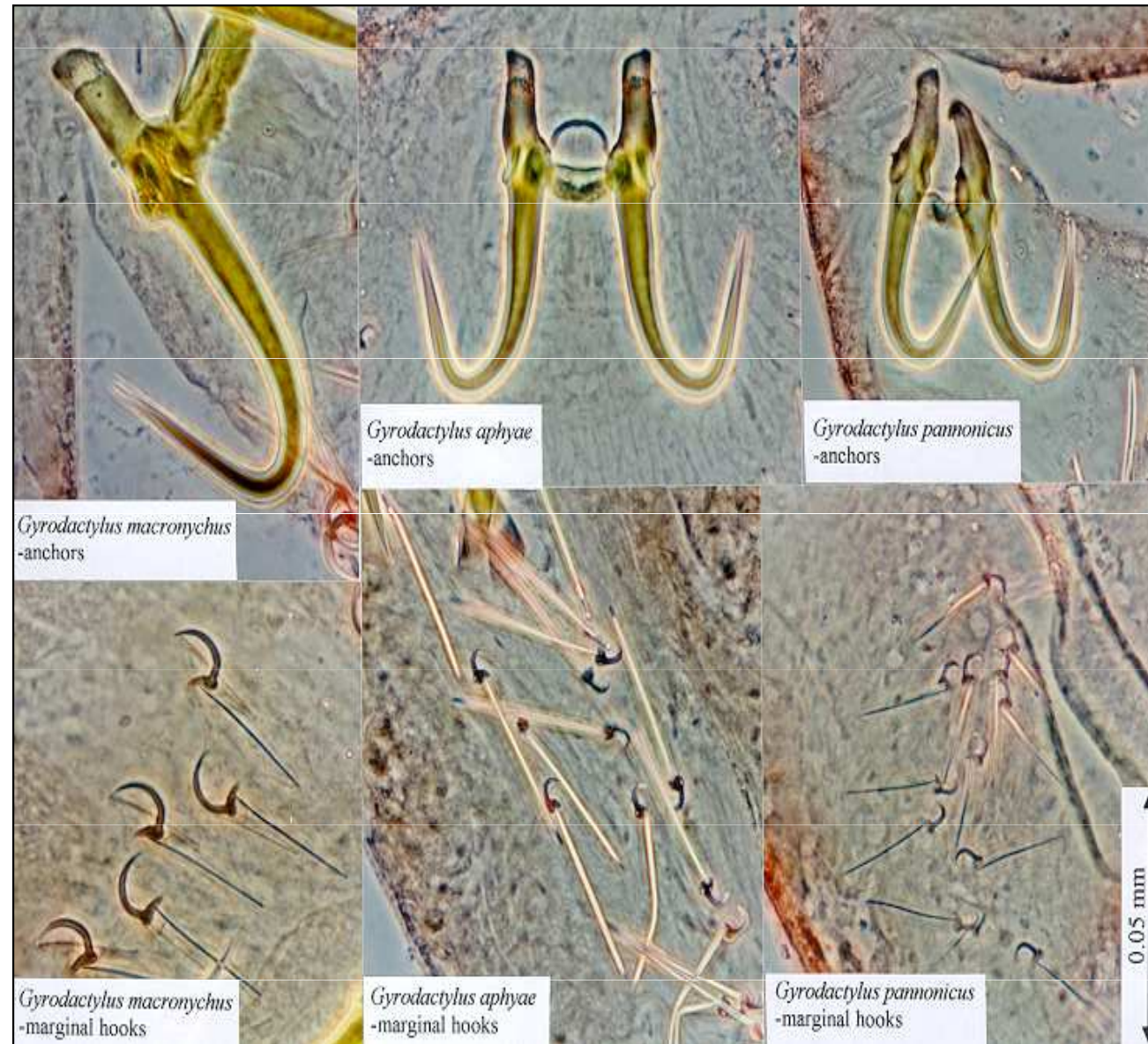


*Thylacicleidus*  
sp. 2



# Laboratoř speciální mikroskopie

## Fázová mikroskopie



**Thylacicleidus  
serendipitus**



**Thylacicleidus  
sp. 1**



**Thylacicleidus  
sp. 2**





# Nomarski differential interference contrast

- DIC Nomarski
- mid-1950s - Georges Nomarski modified the Wollaston prism
- Living or stained specimens, which often yield poor images when viewed in brightfield illumination, are made clearly visible by optical rather than chemical means

Differential Interference Contrast Schematic

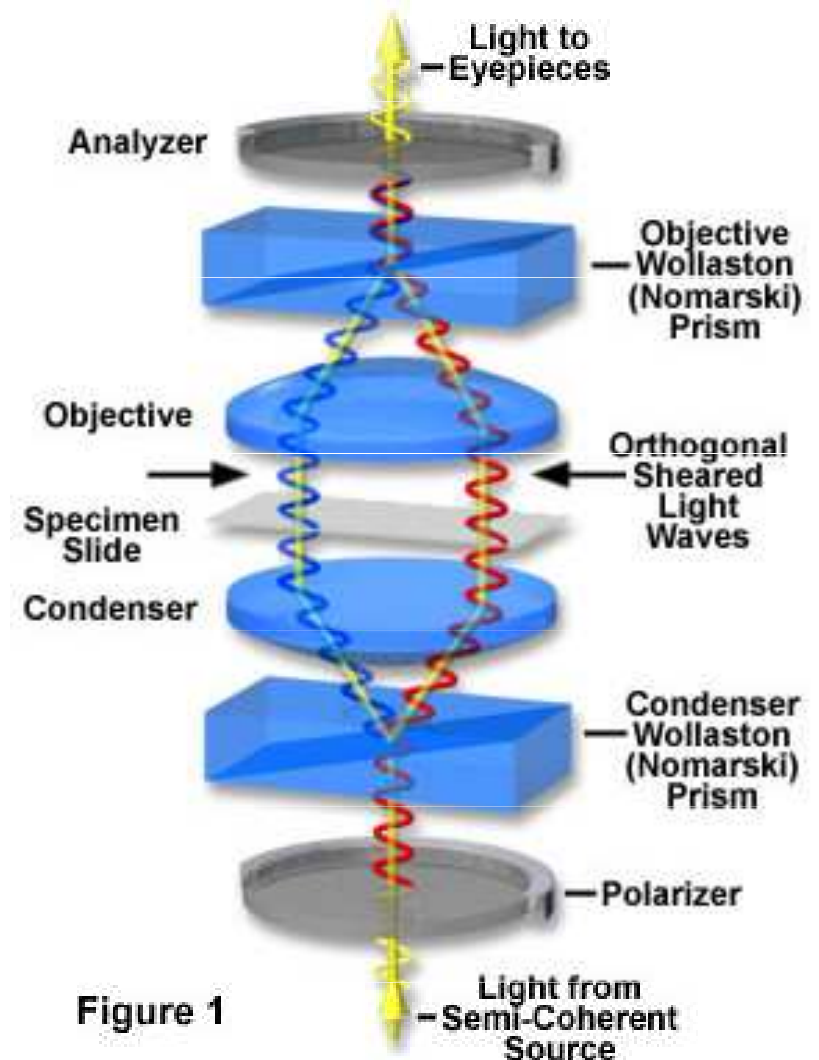
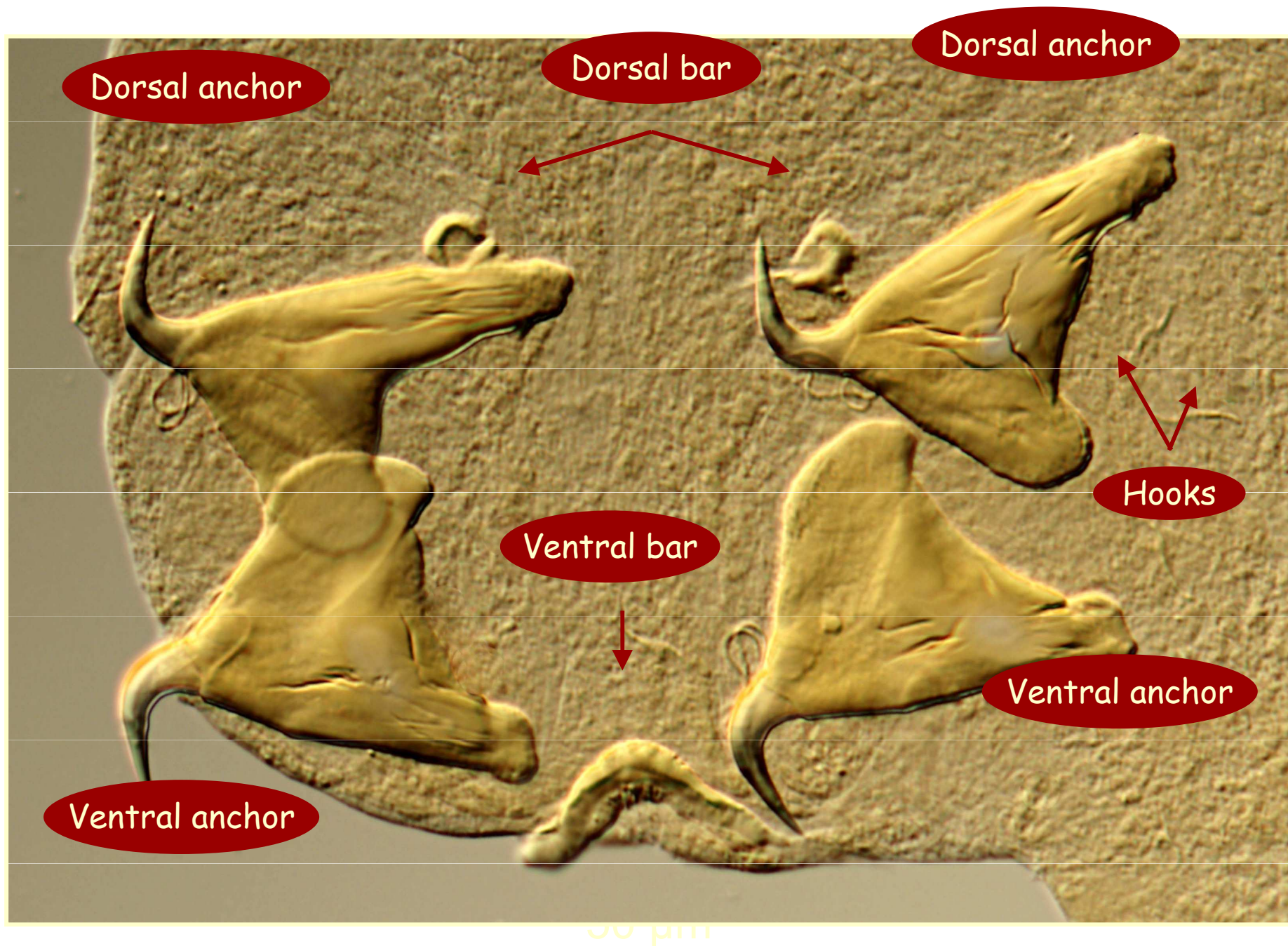
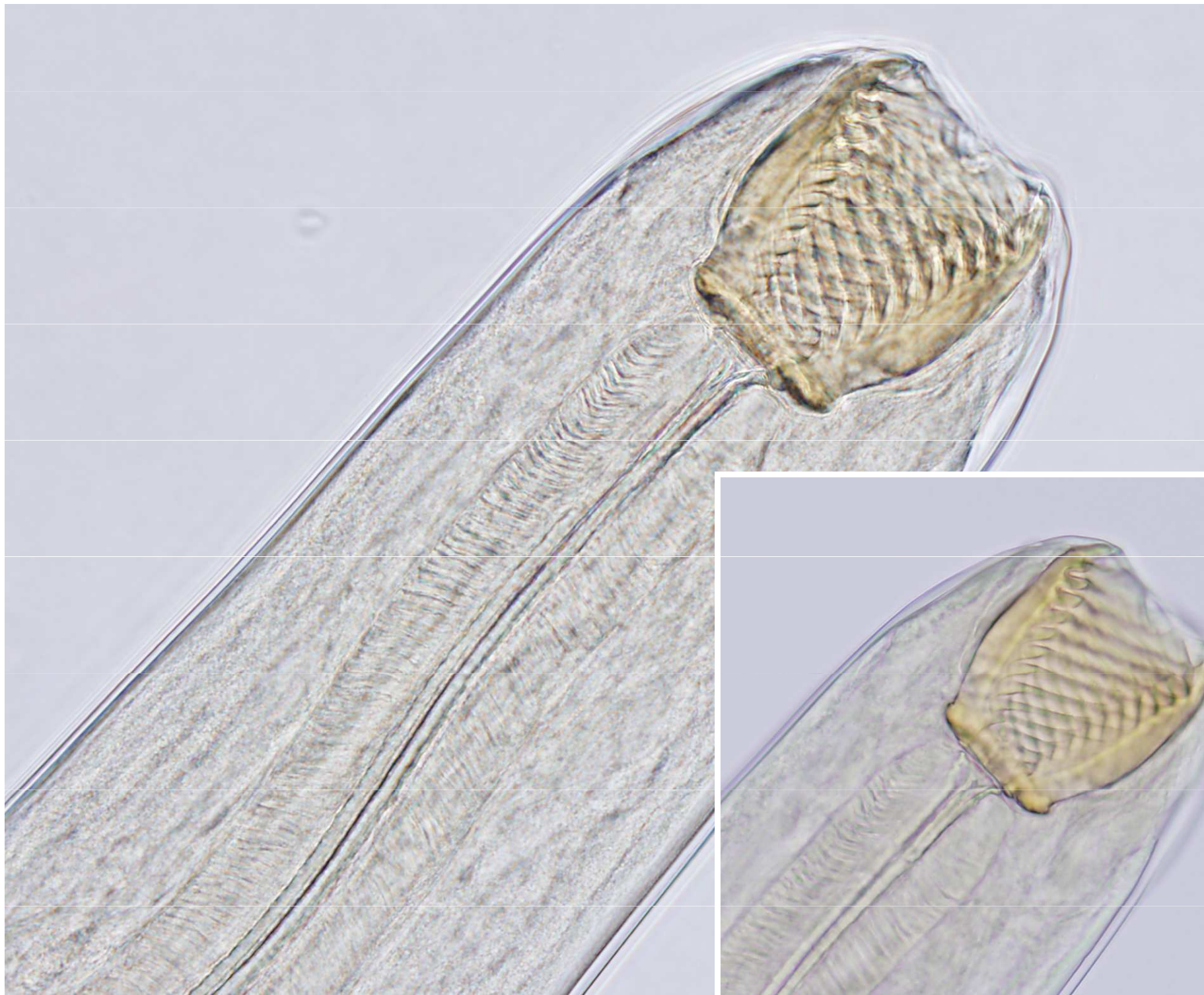


Figure 1

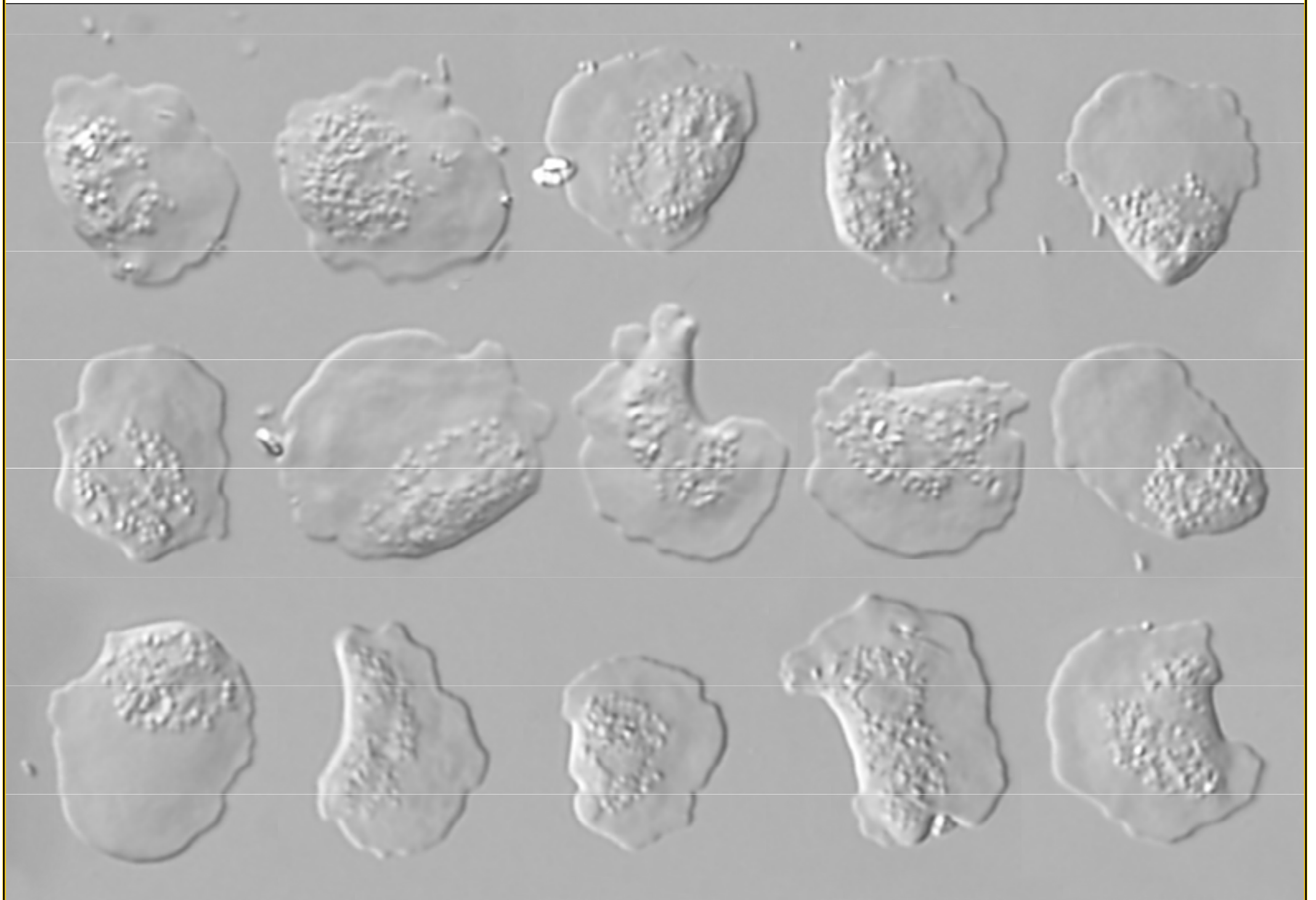
# Laboratoř speciální mikroskopie (DIC Nomarski)





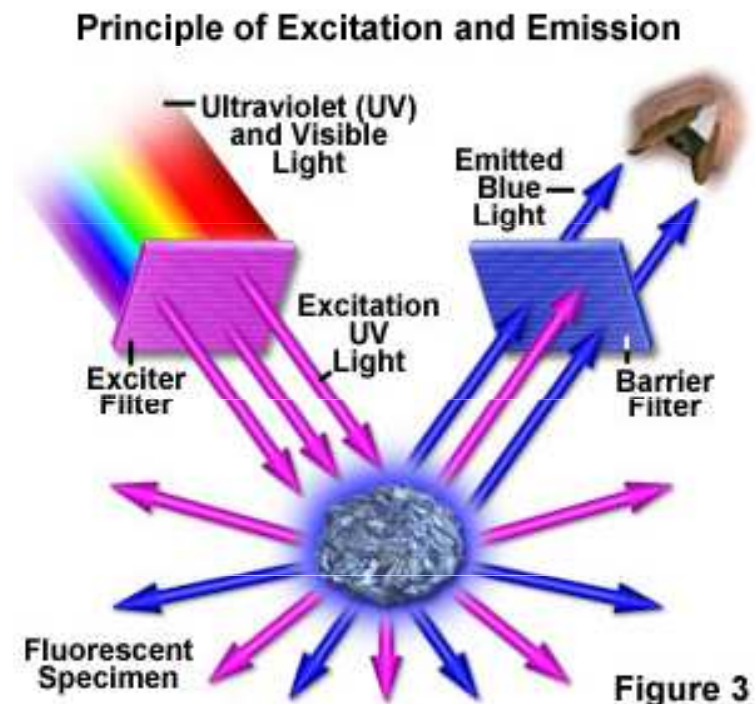


Model parasites group: free living amoebae



# Fluorescent illumination

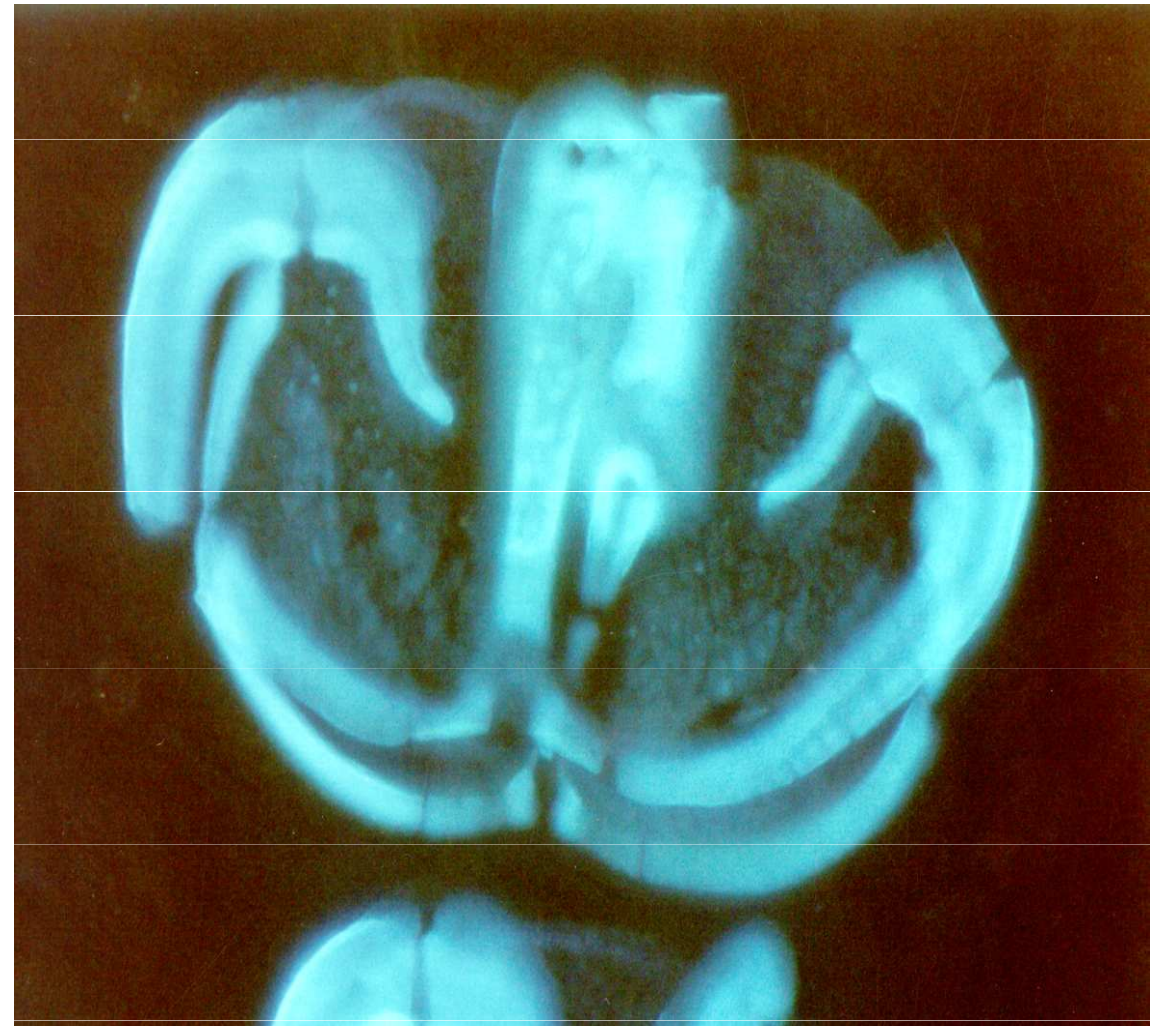
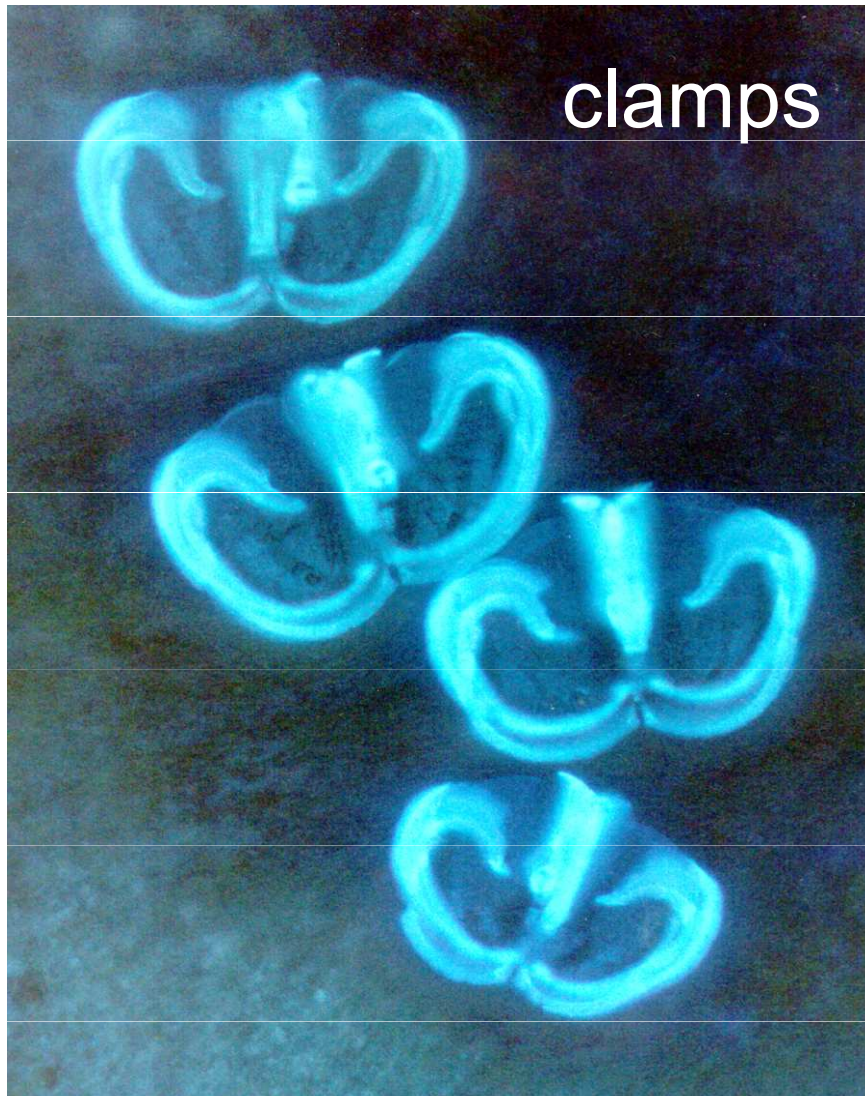
- emission of light by a substance that has absorbed light or other electromagnetic radiation of a different wavelength
- emitted light has:
  - longer wavelength
  - lower energy



# Fluorescenční mikroskopie



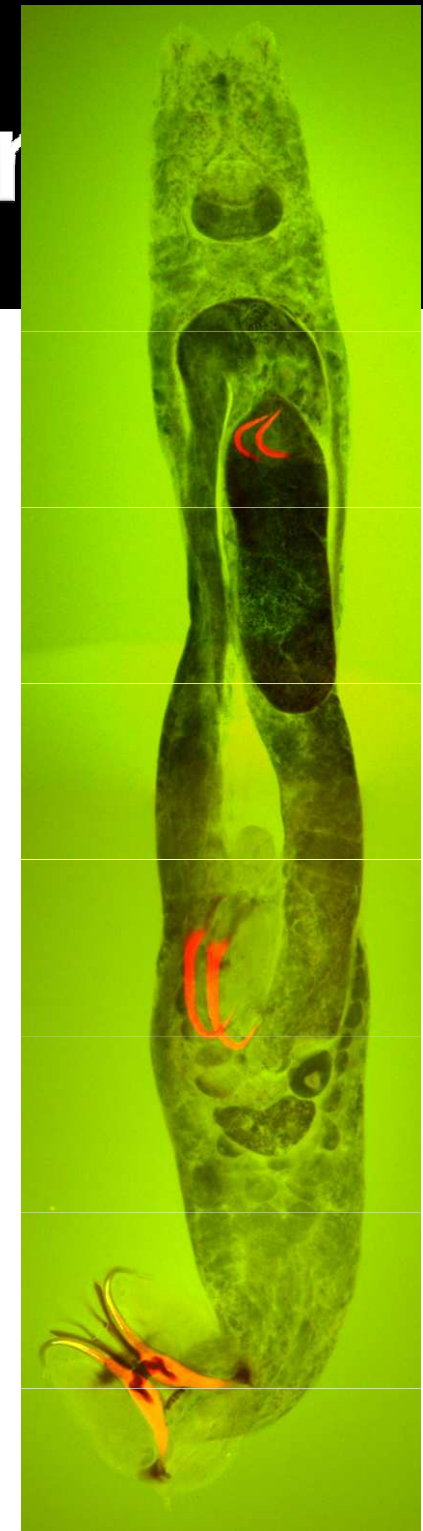
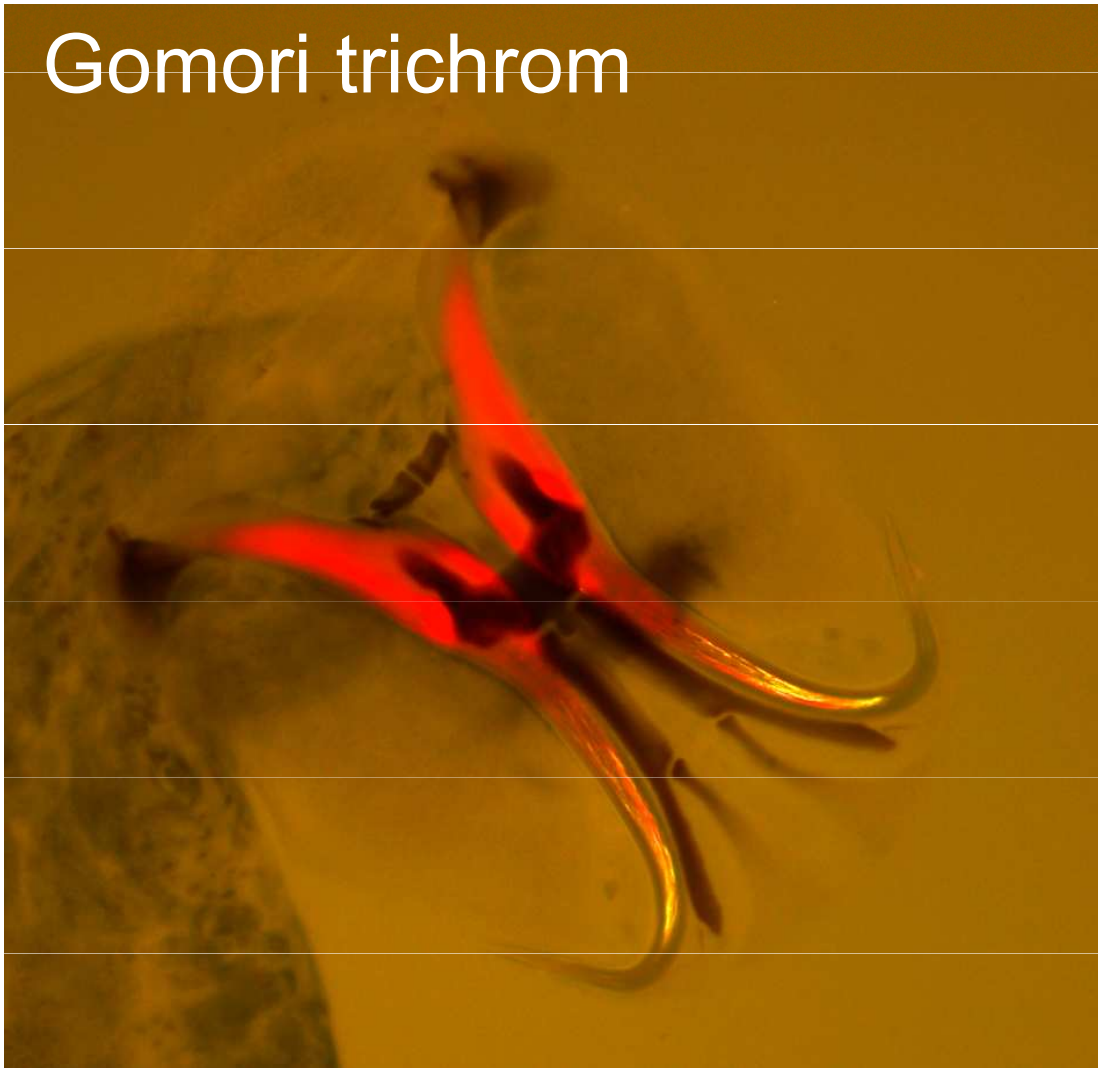
# Fluorescent illumination





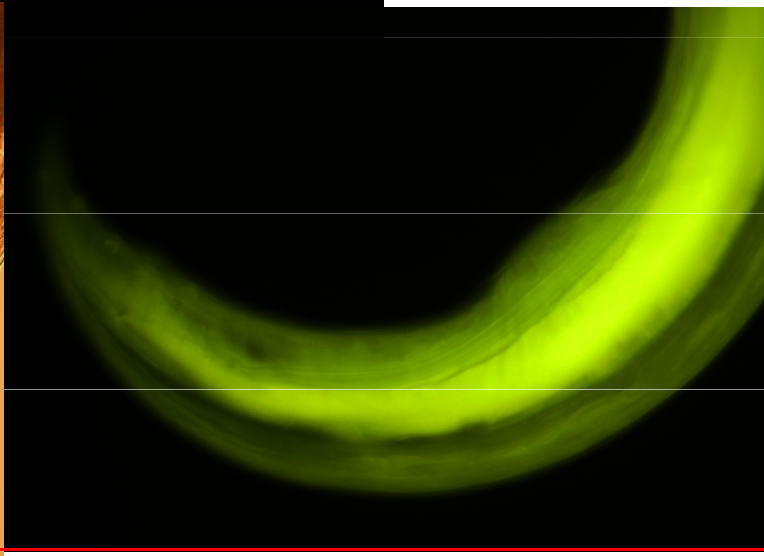
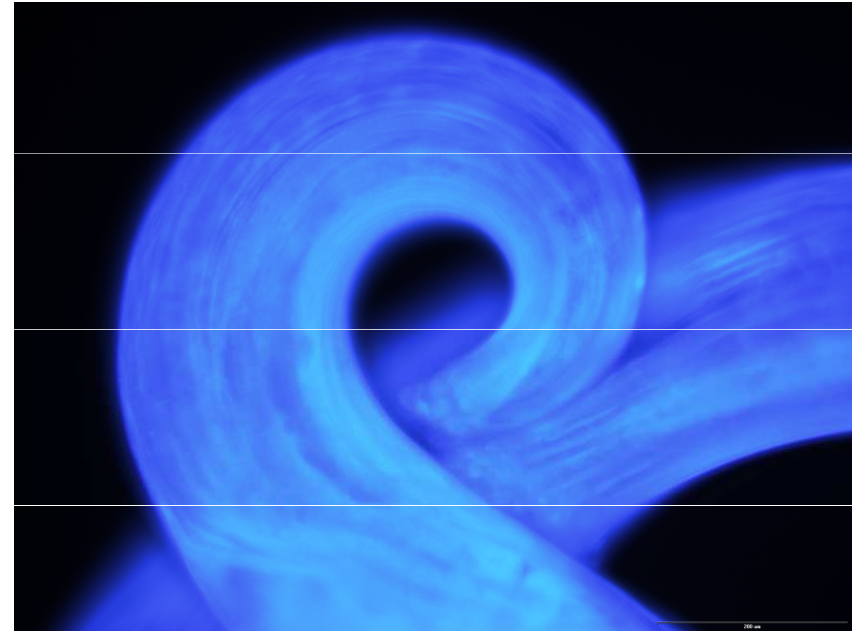
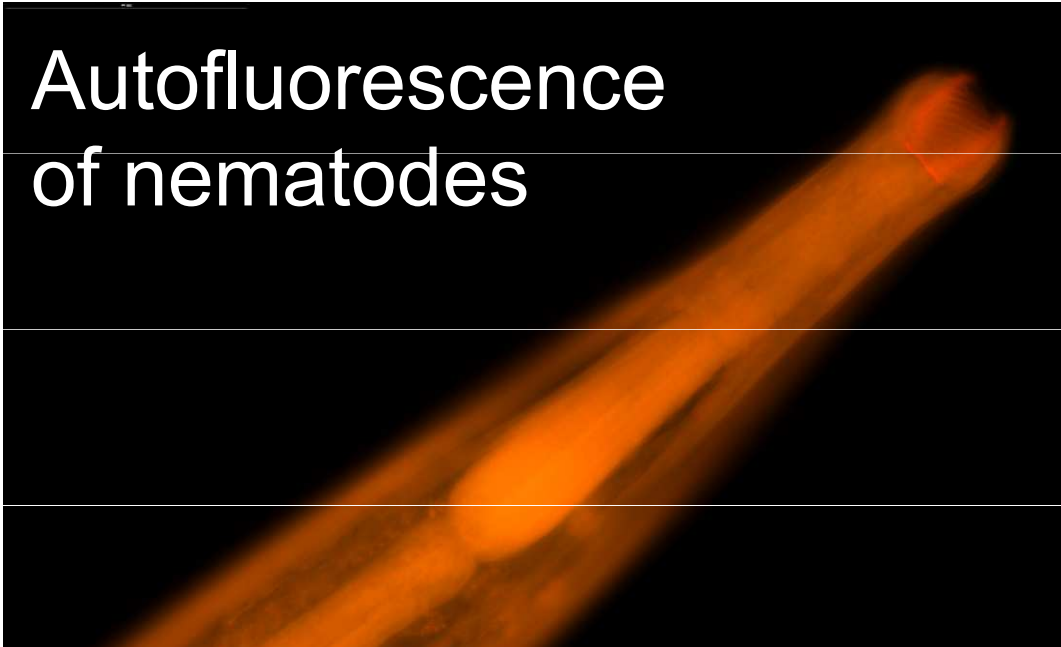
# Fluorescent illumination

Gomori trichrom

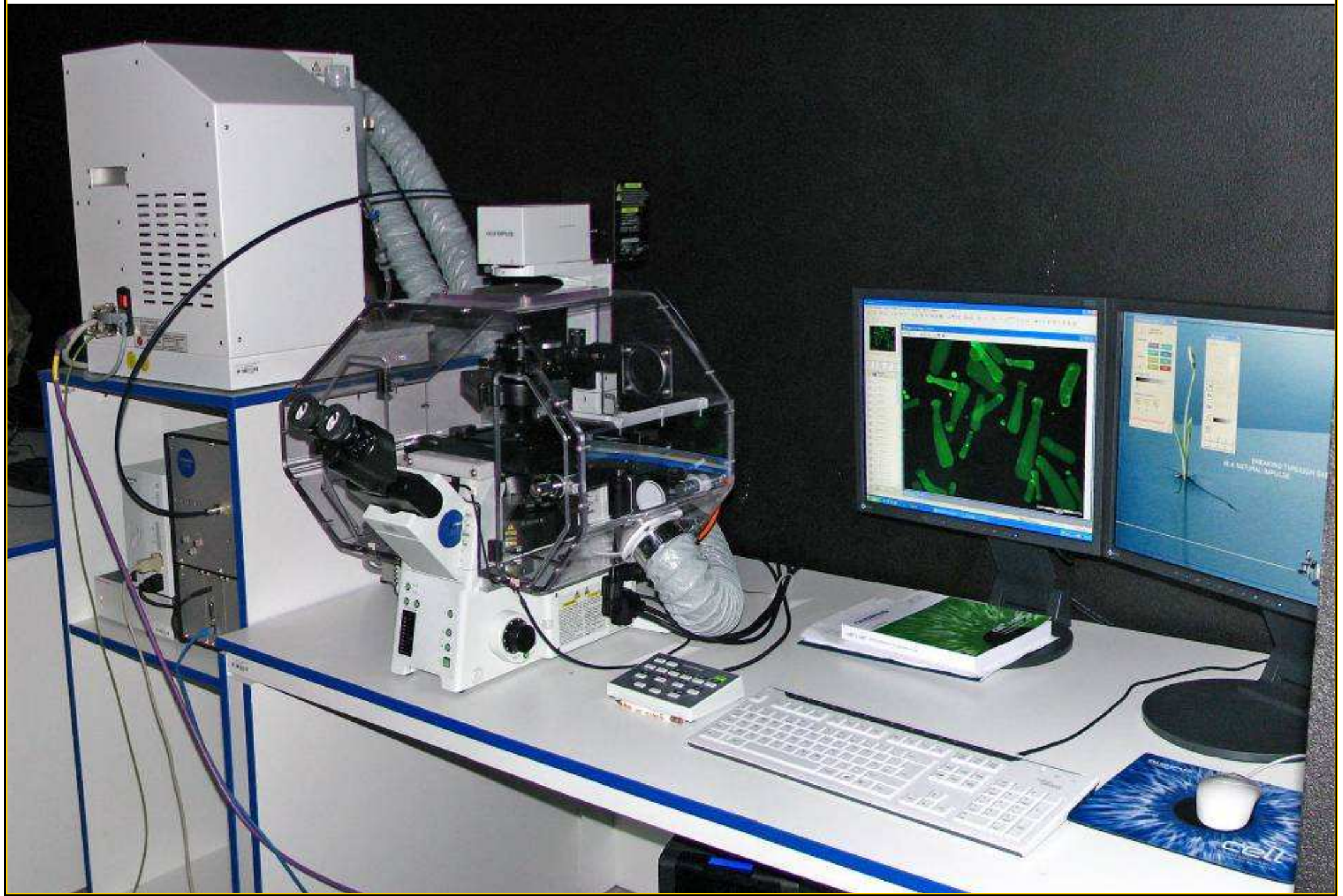


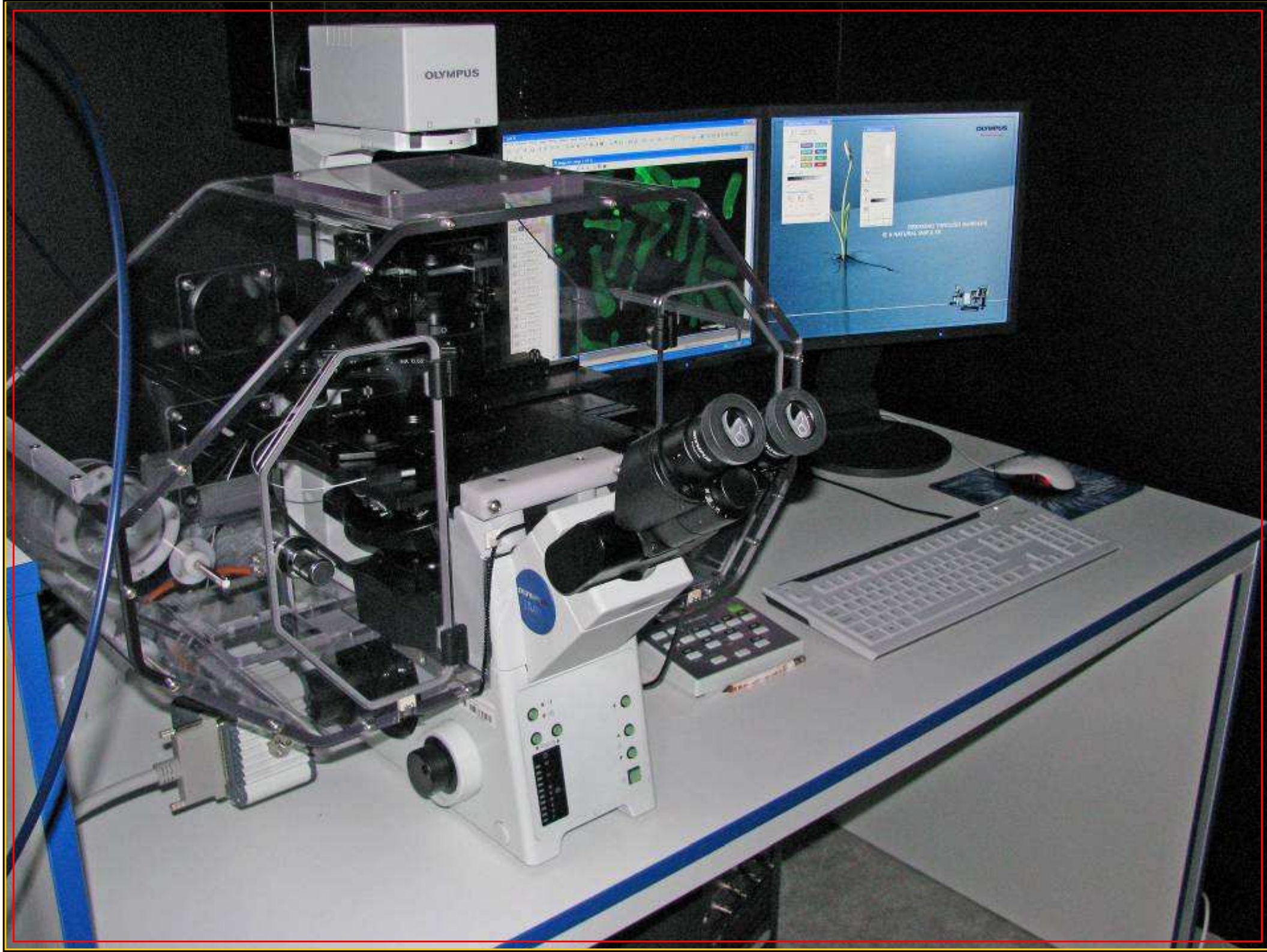
# Fluorescent illumination

Autofluorescence  
of nematodes

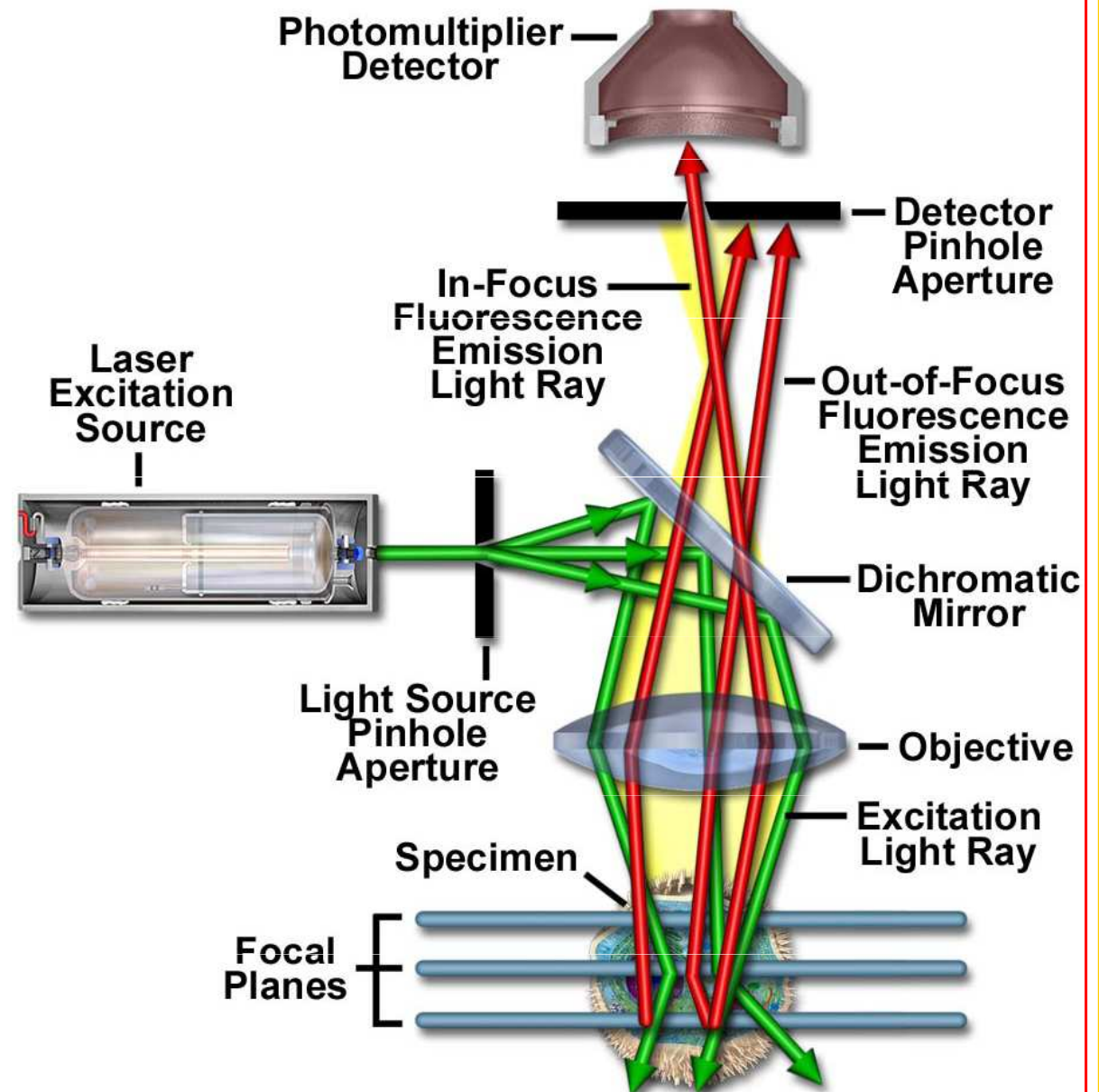
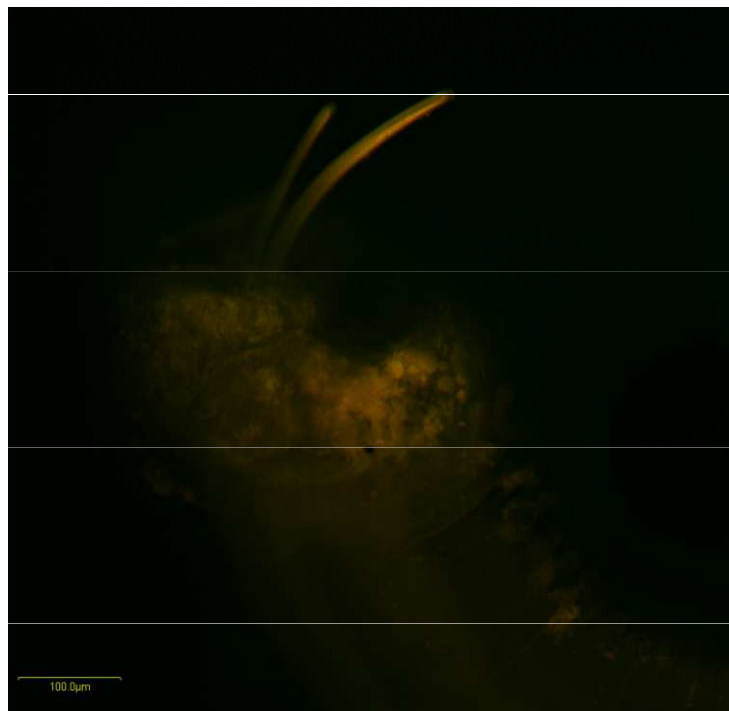


# Olympus Cell<sup>R</sup> - motorizovaný invertovaný mikroskop se systémem rychlé fluorescence pro sledování procesů v živých buňkách





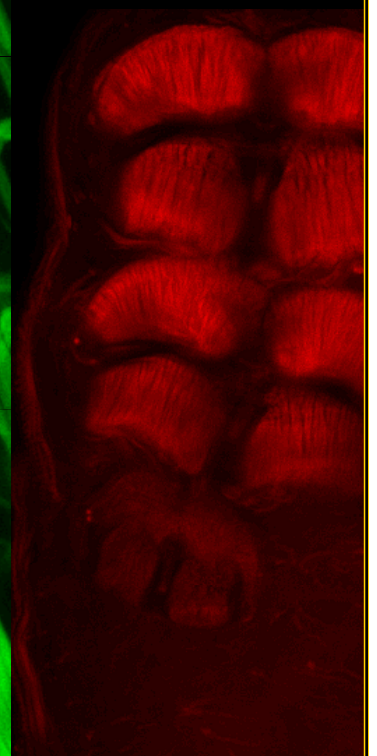
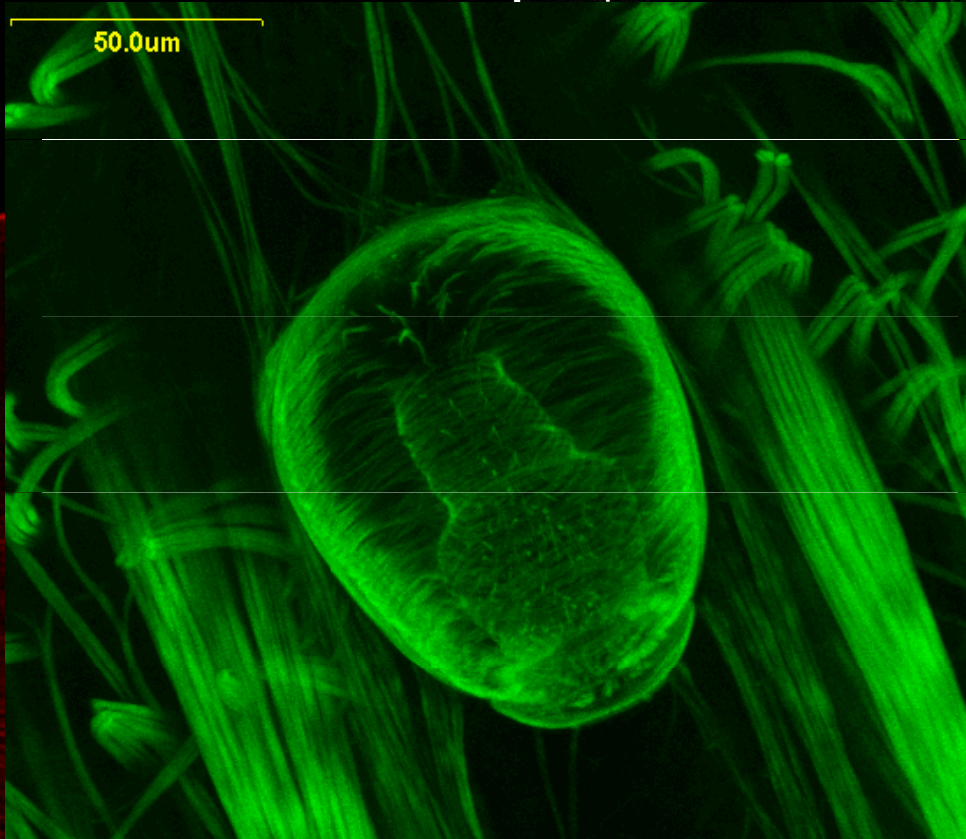
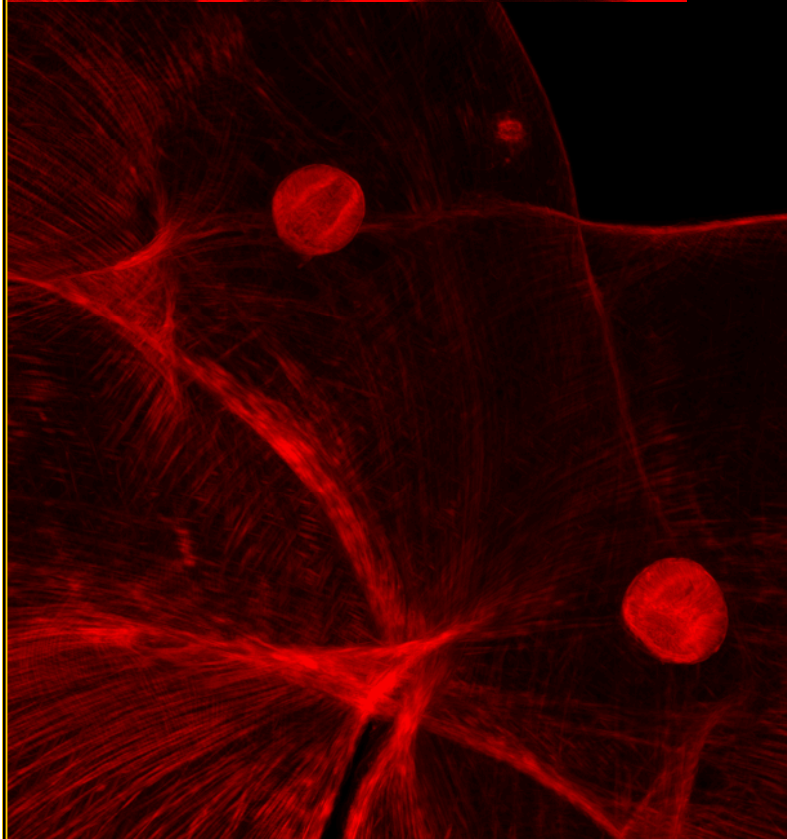
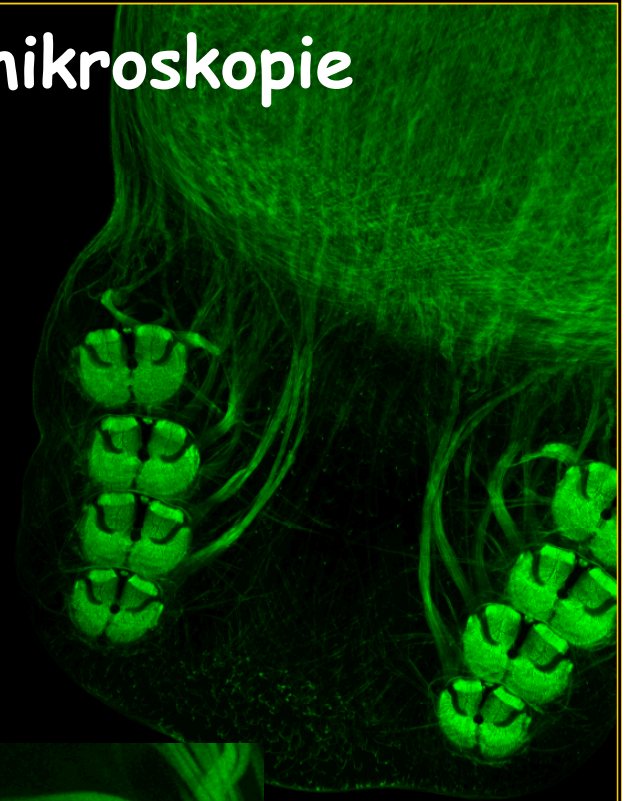
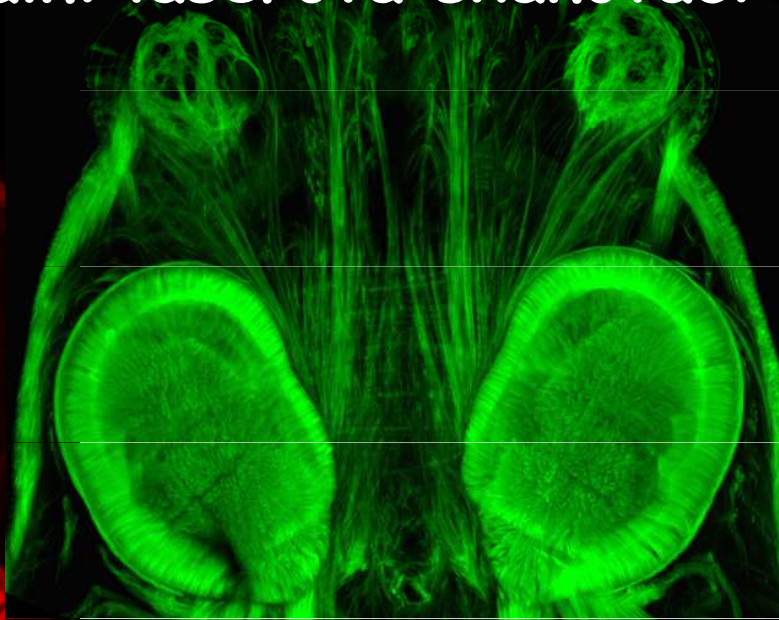
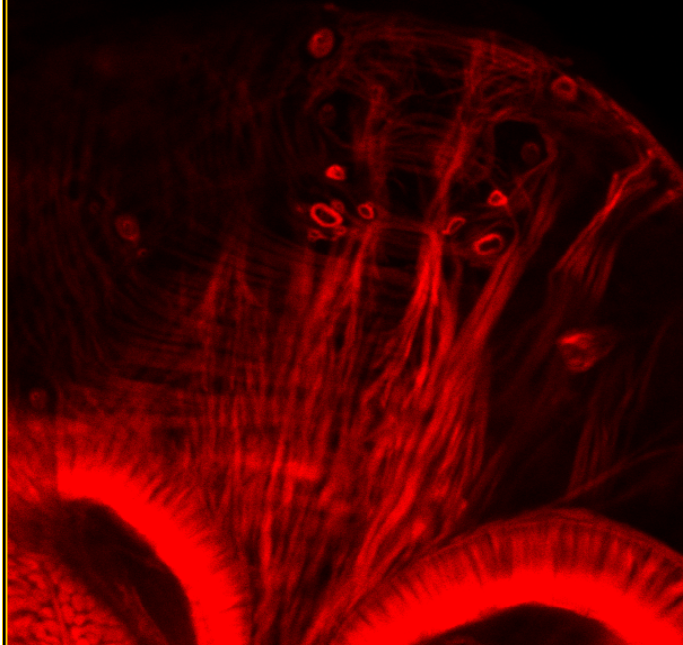
# Confocal Laser Scanning Microscopy



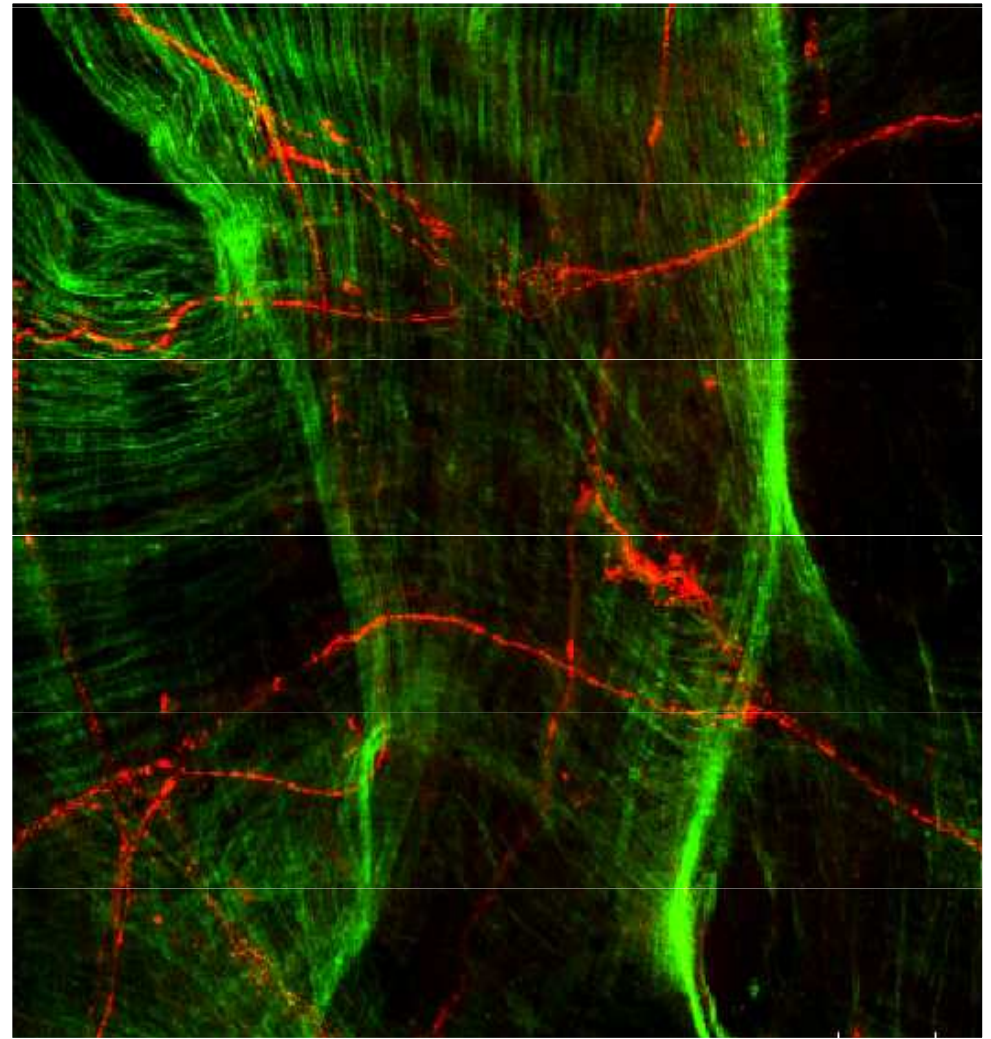
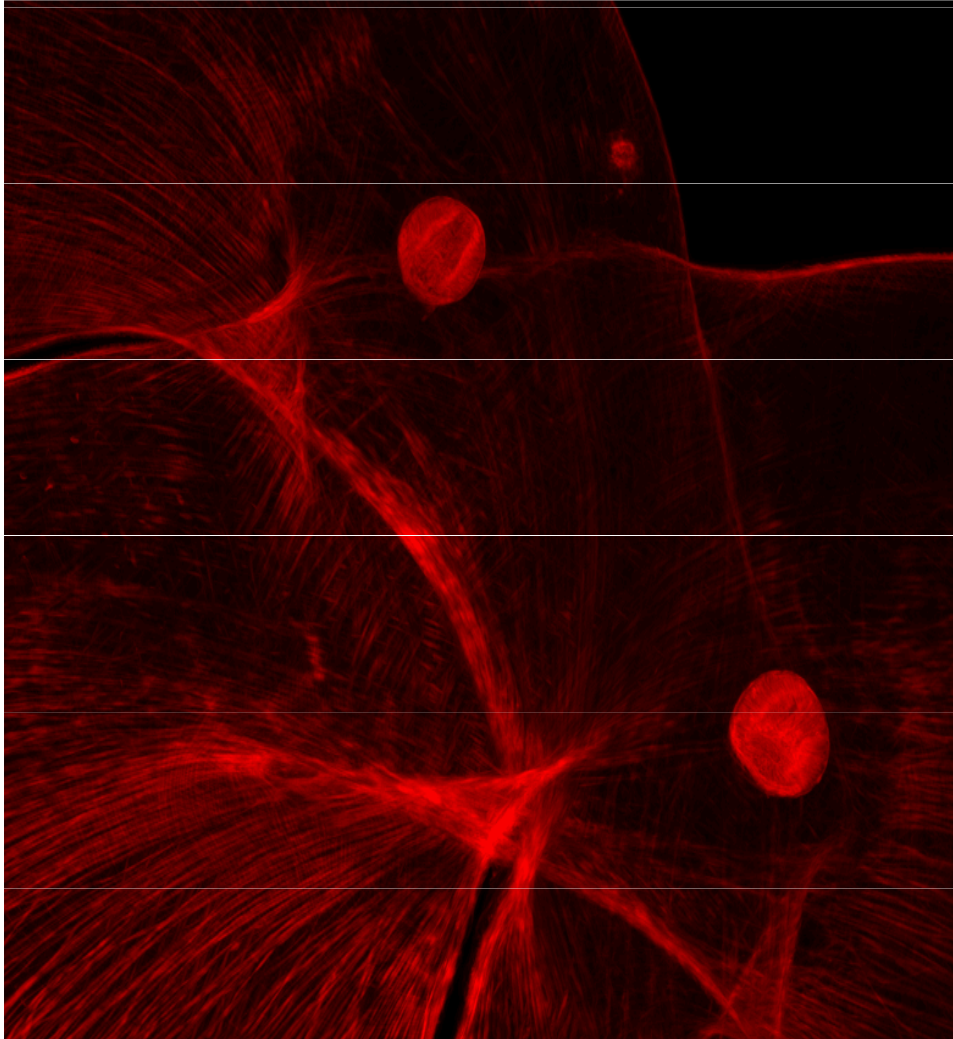
**CLSM**



# CLSM - Konfokální laserová skanovací mikroskopie

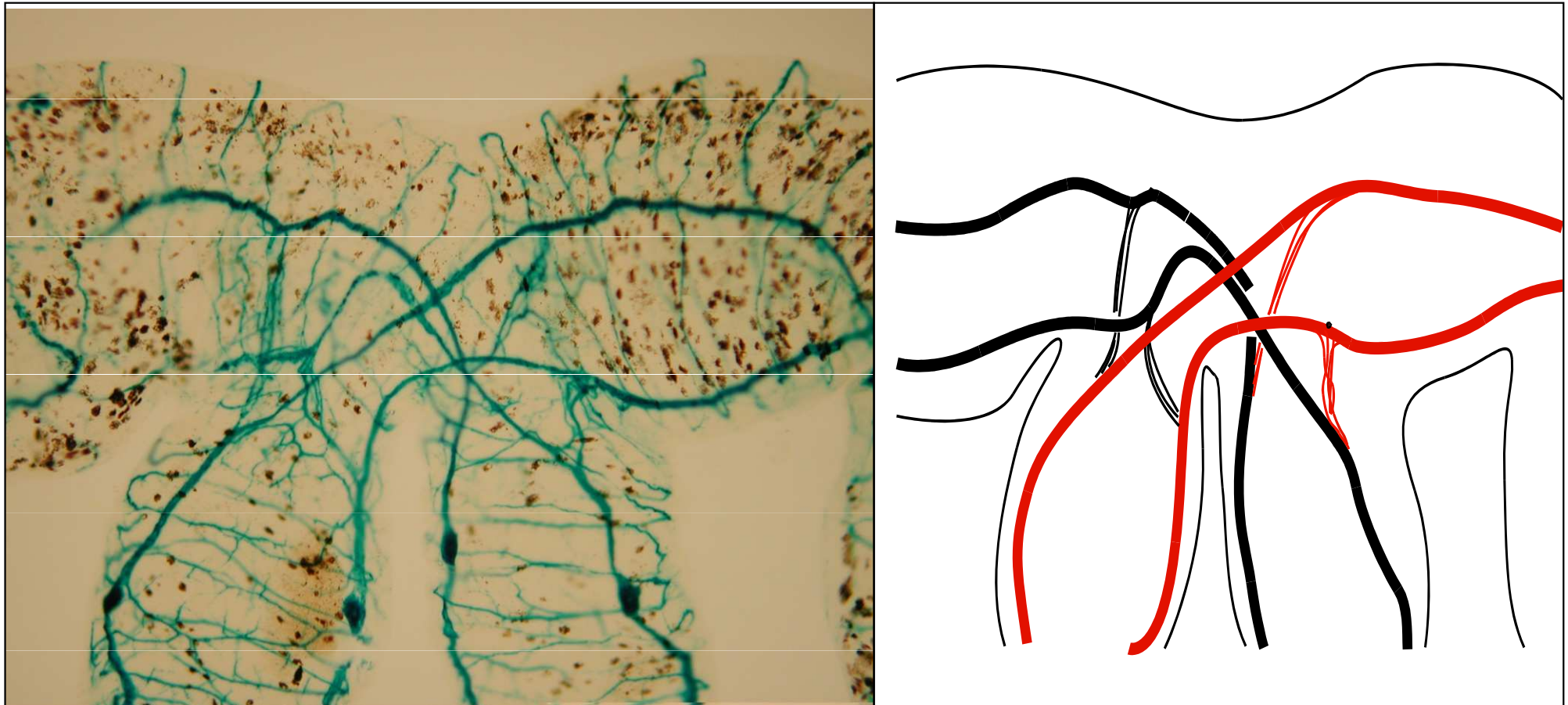


# Možnost kombinace barvicích technik





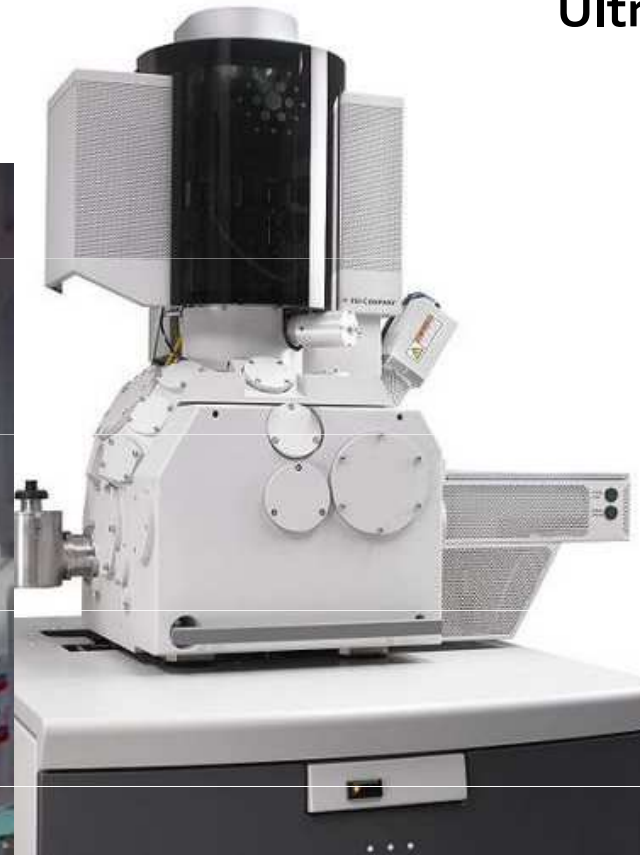
# Schematic illustration of neuronal interspecific connectivity between 2 heterogenic CNS



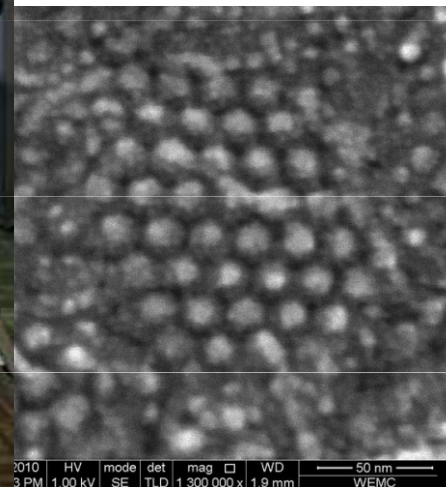
Zurawski T.H. et al., 2003: Microscopic evaluation of neural connectivity between paired stages of *Eudiplozoon nipponicum*. J. Parasitol 89:198-200

# Elektronová mikroskopie

(Transmission Electron  
Aberration-corrected Microscope)



Magellan (FEI).



resolutions  
below one  
nanometer

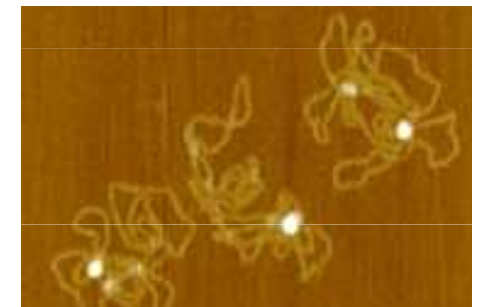
www.fei.com

## Ultra High Resolution SEM

## AFM

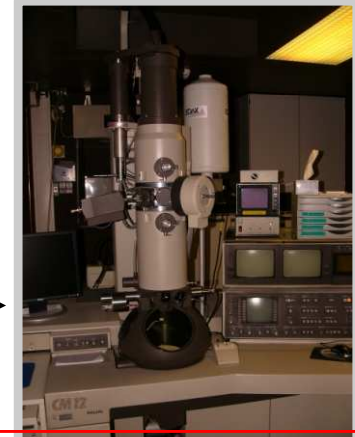
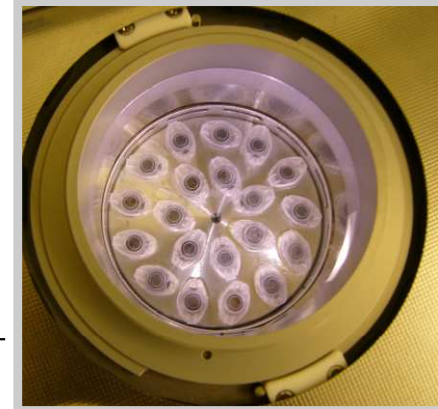
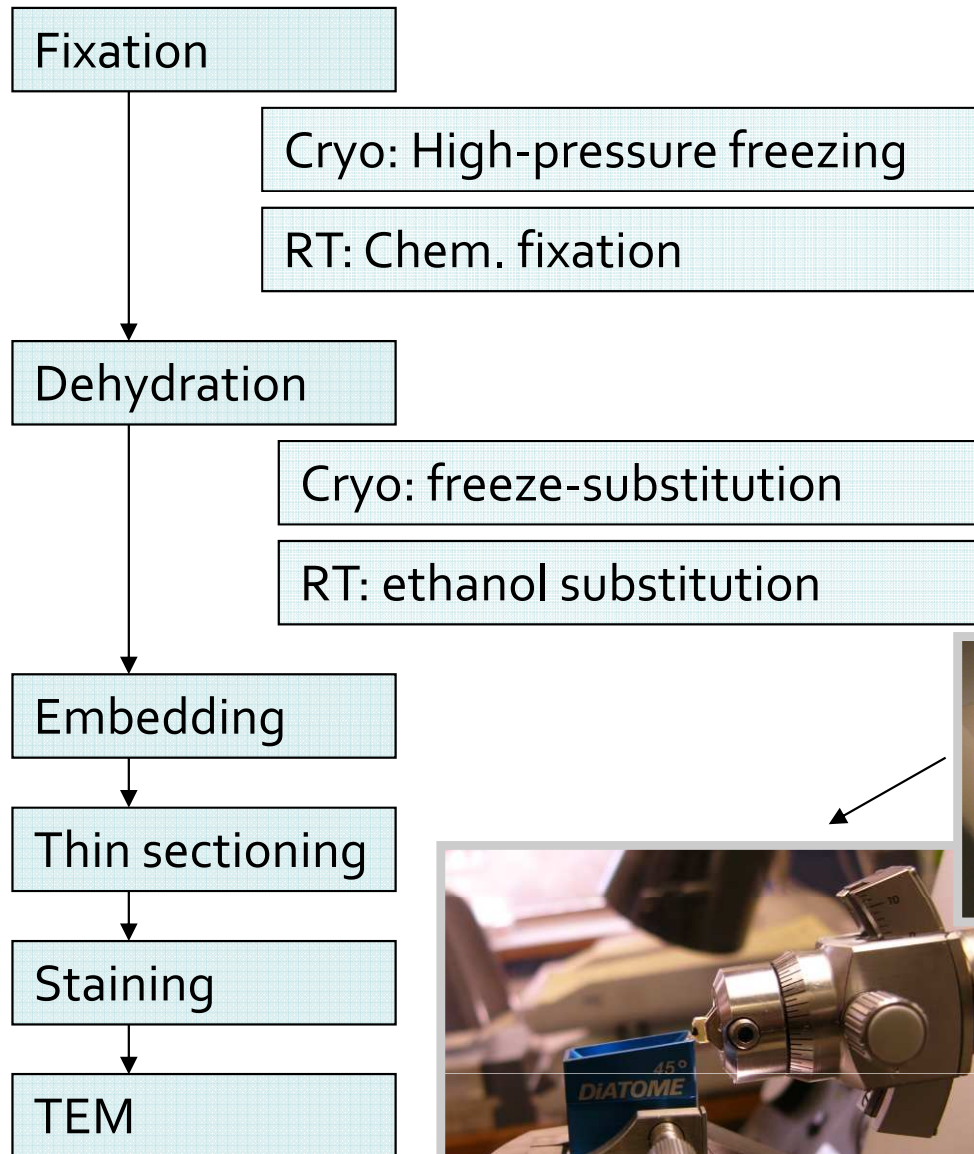


Example of AFM image is shown below where the shape of single DNA and protein molecules are seen. (<http://nano.uib.no/AFM.php>)



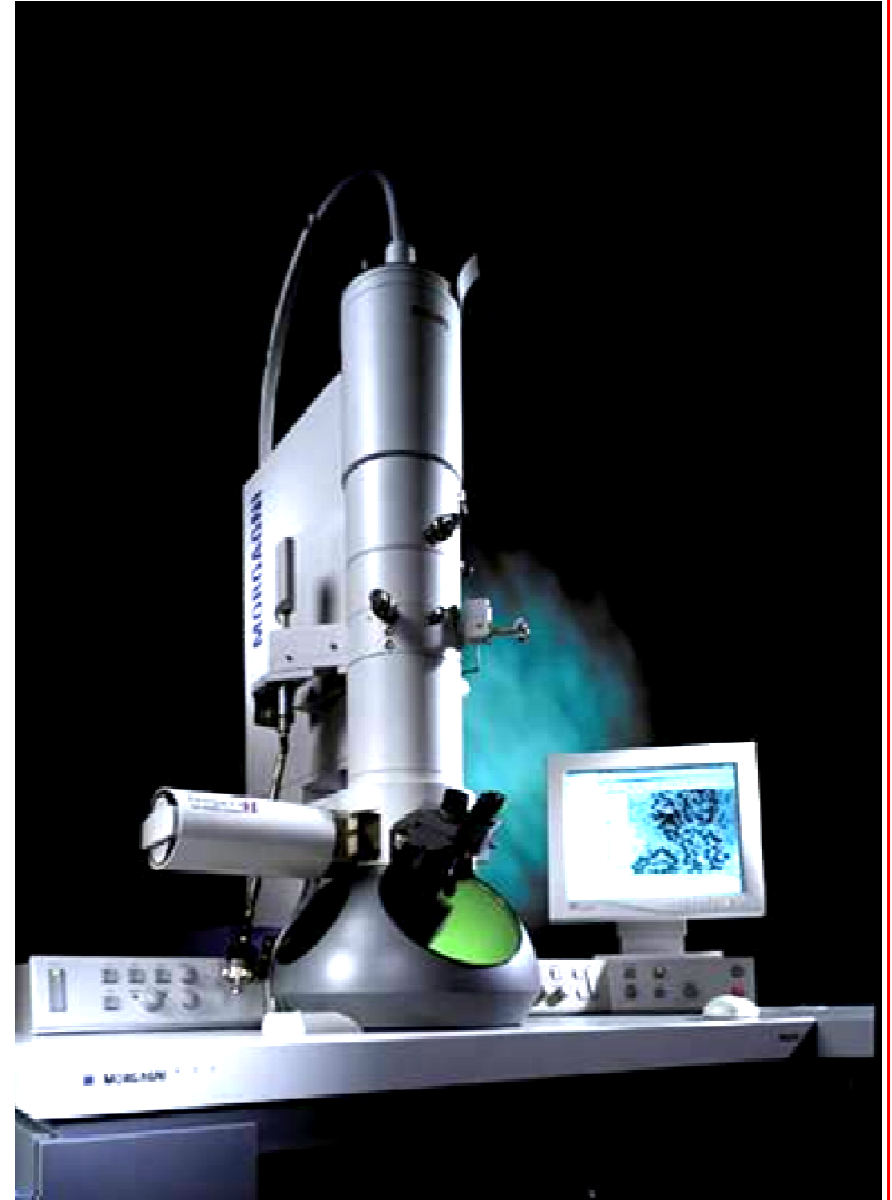
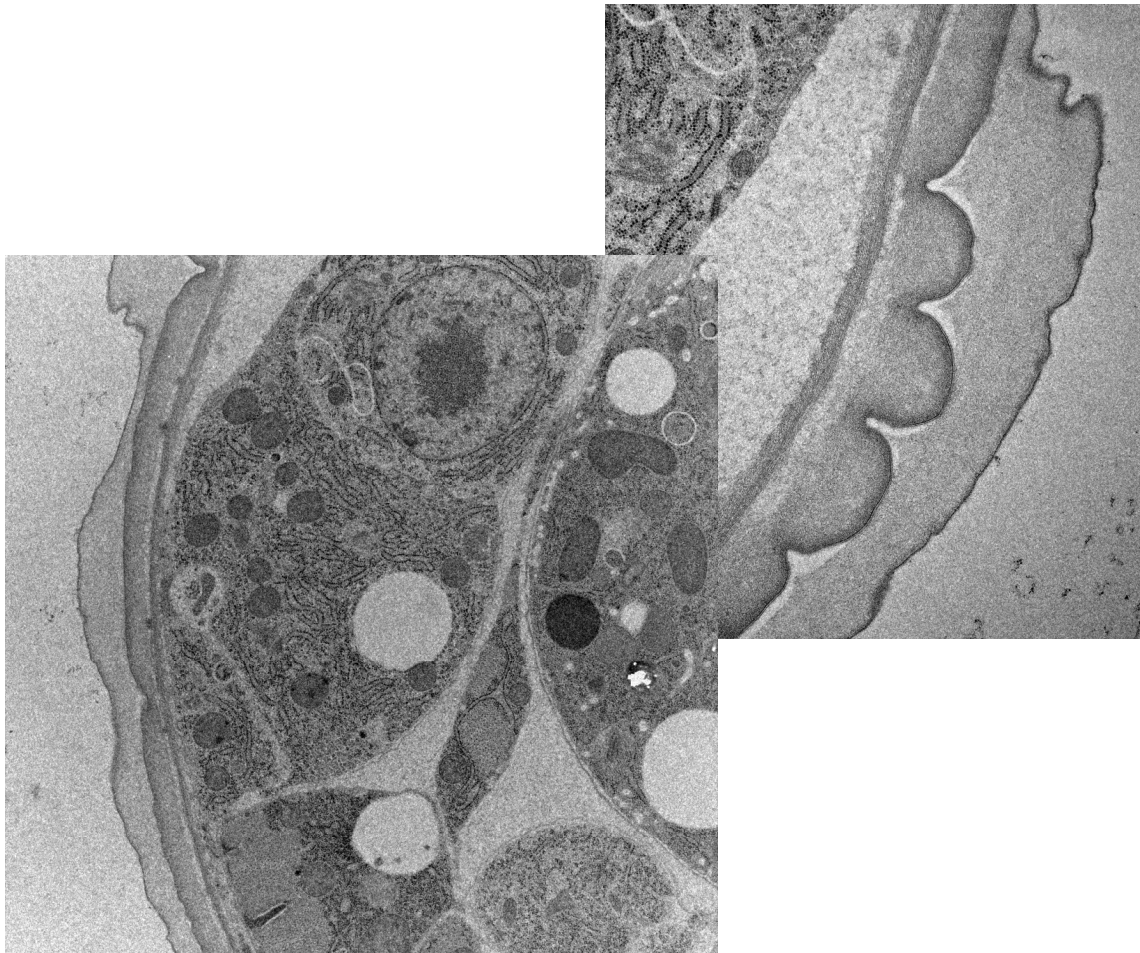
AFM determines the topology of a surface with a resolution down to 0.8 nm.

# TEM - Sample preparation

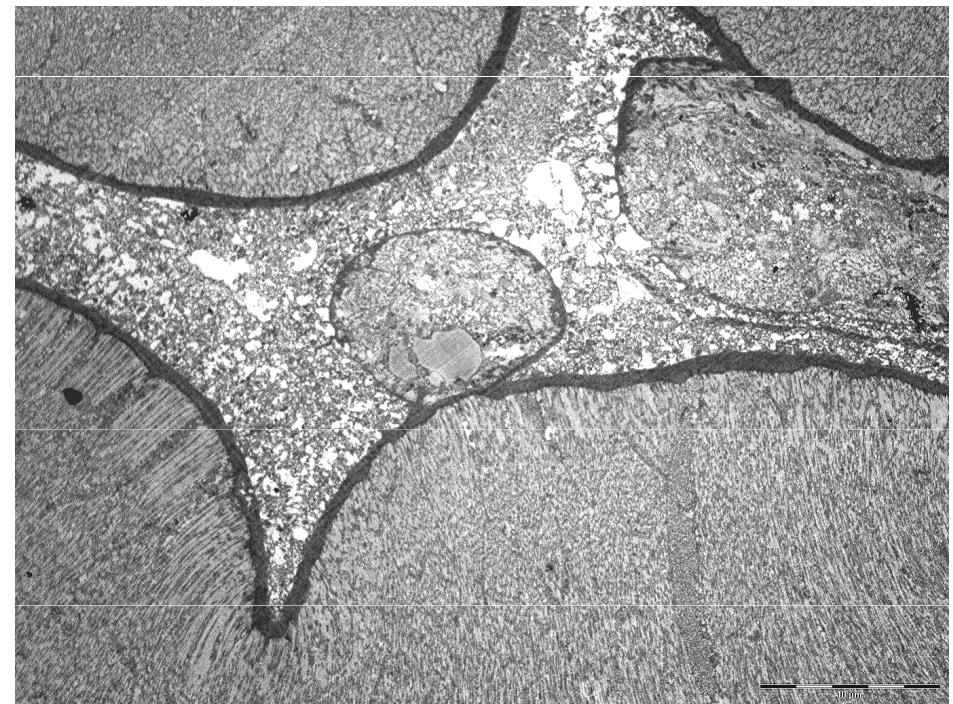
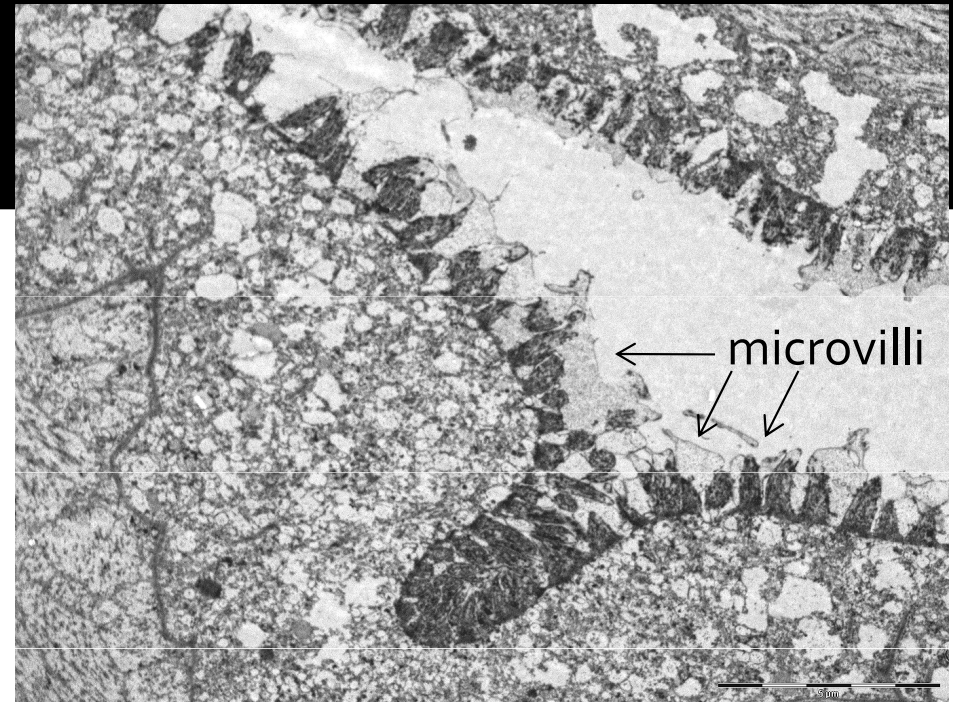
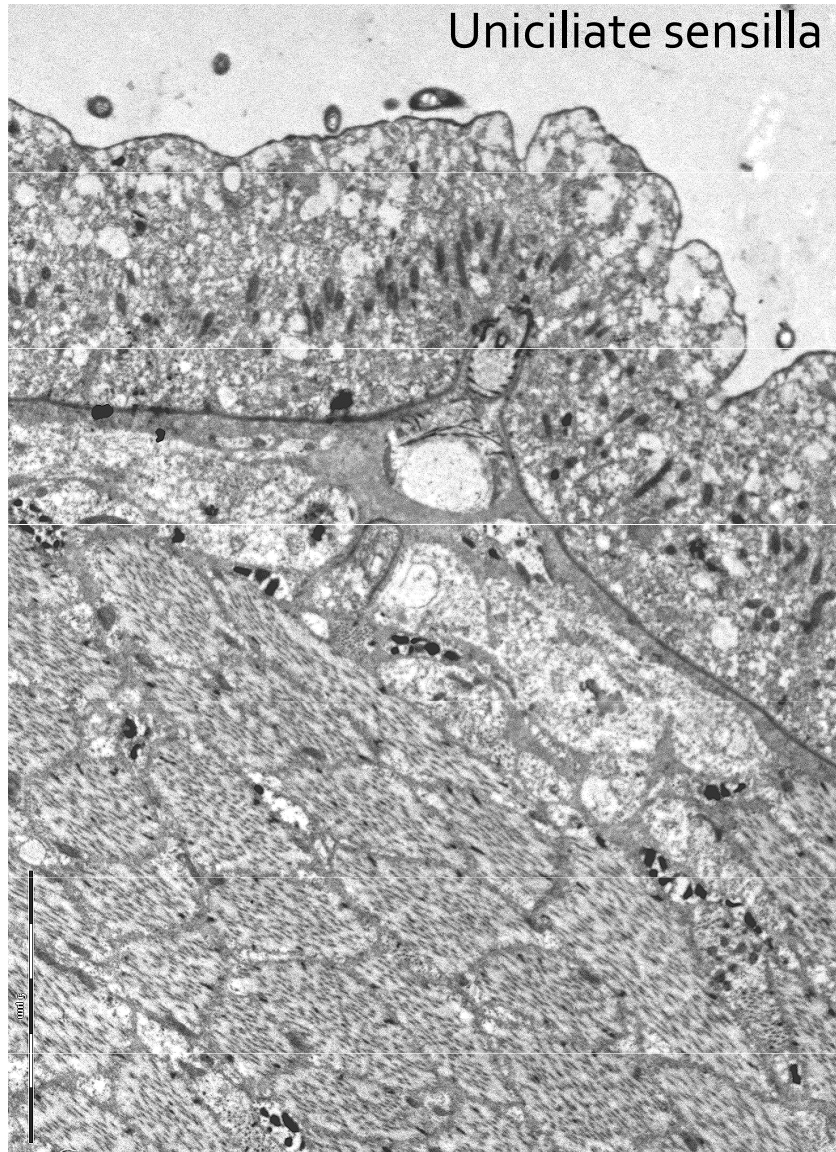


# TEM

- Philips Morgagni



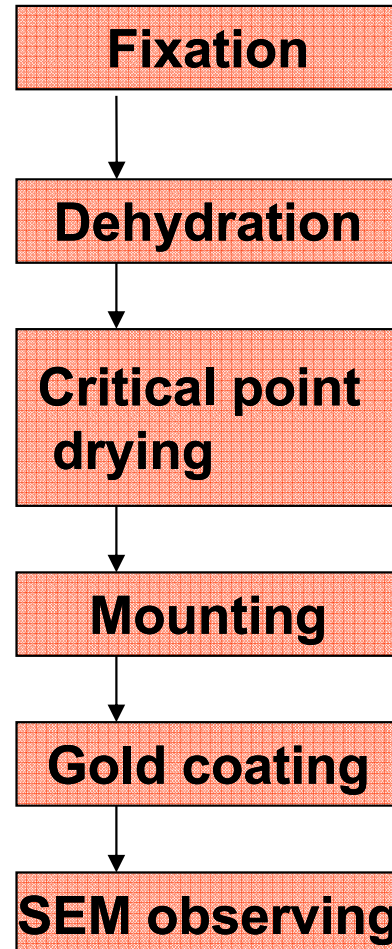
# TEM – *E. nipponicum*



Muscle tissue

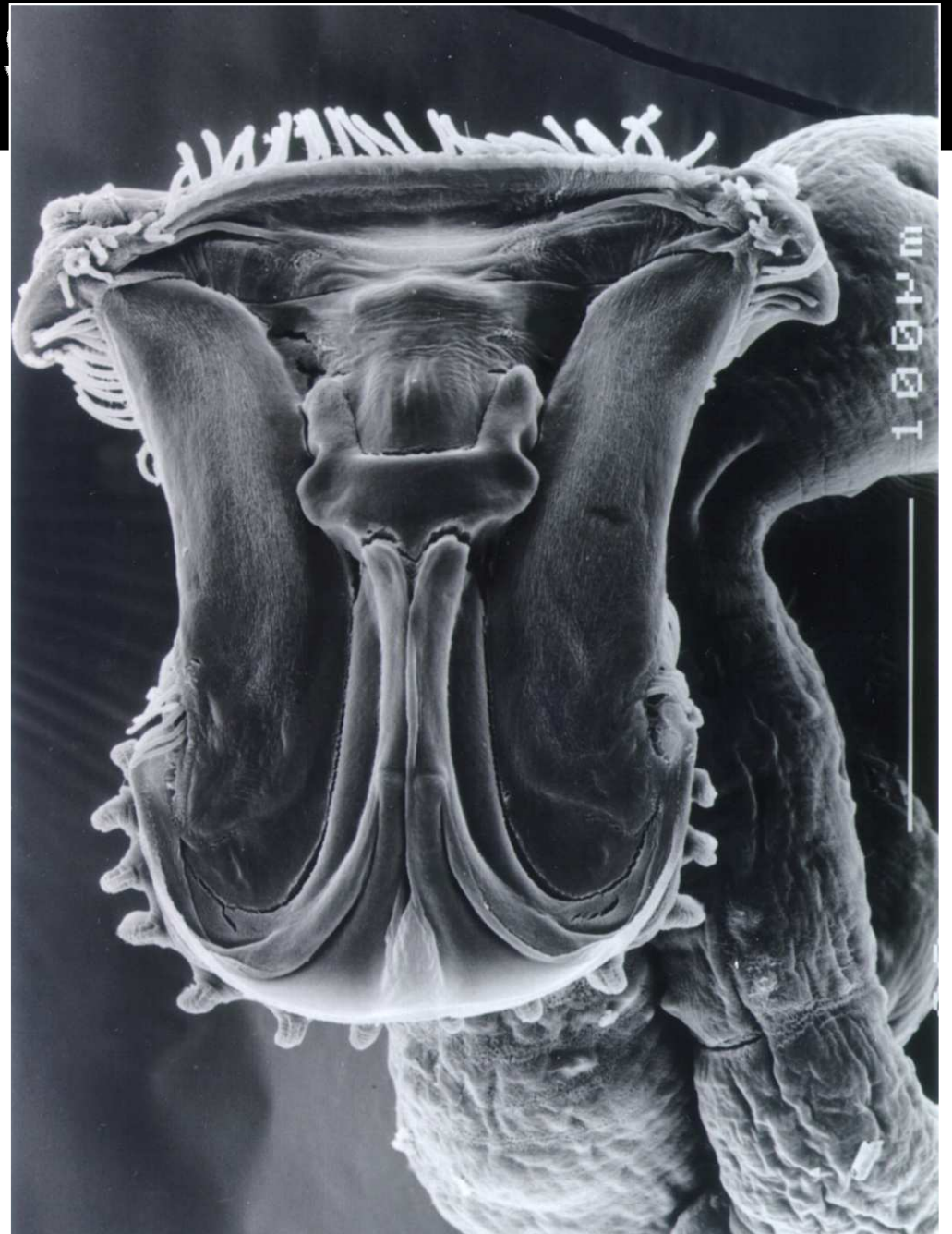
# SEM

- FEI Quanta™ 3D FEG

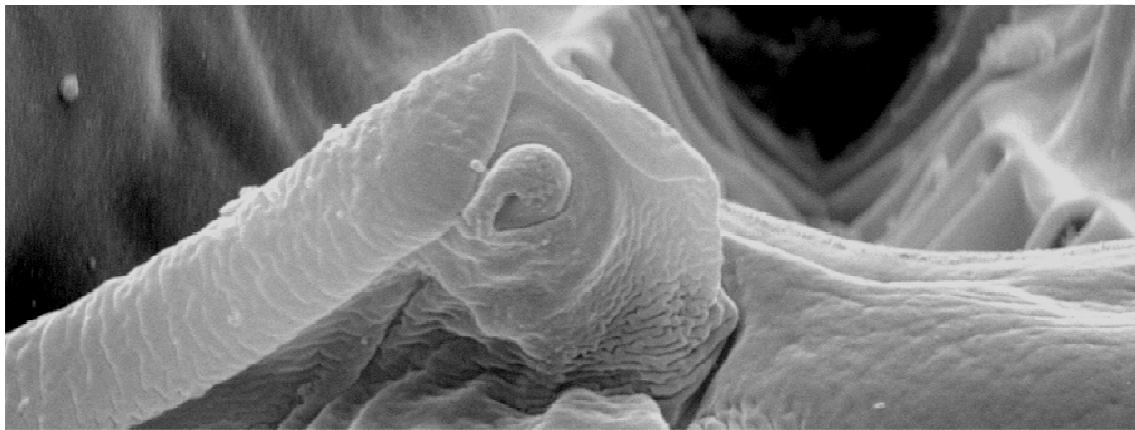
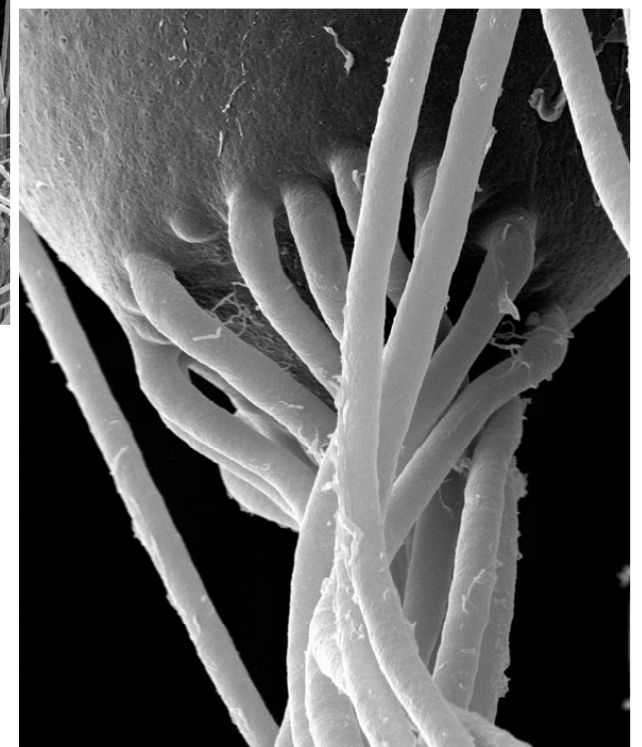
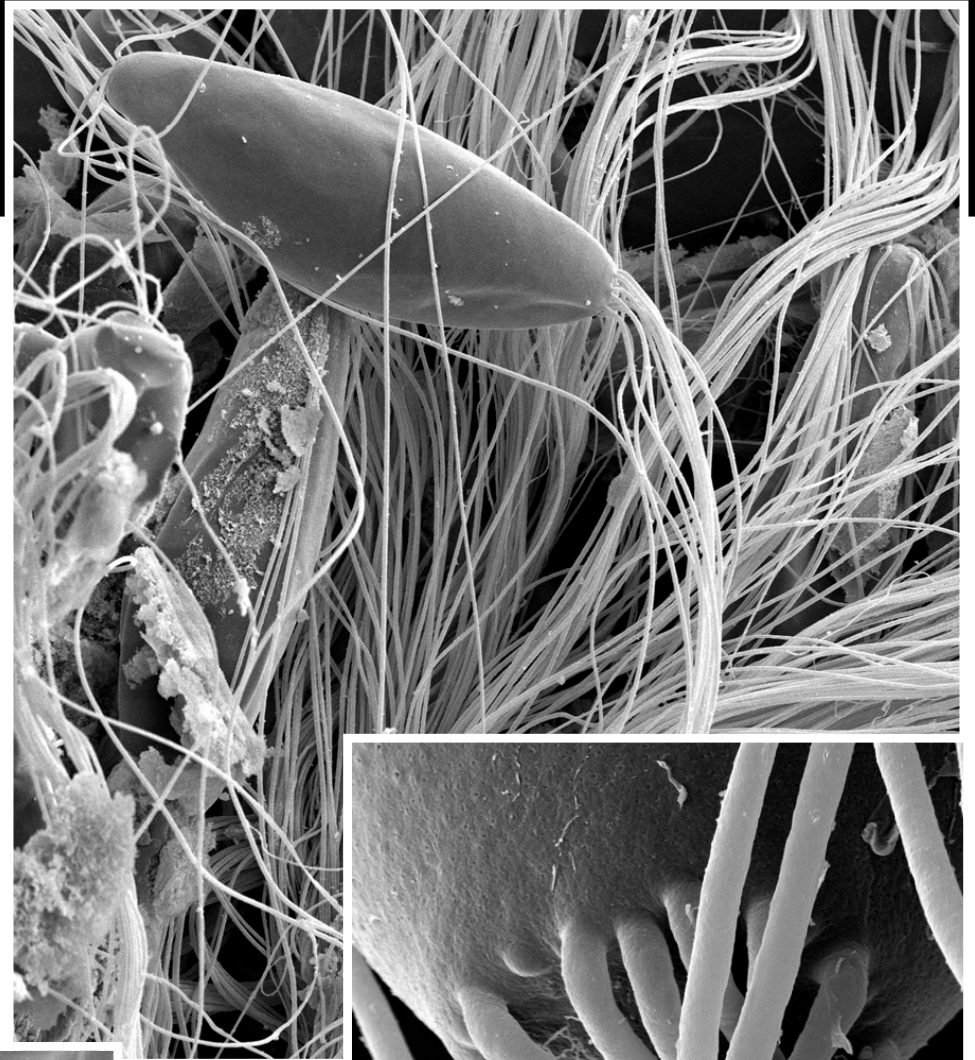
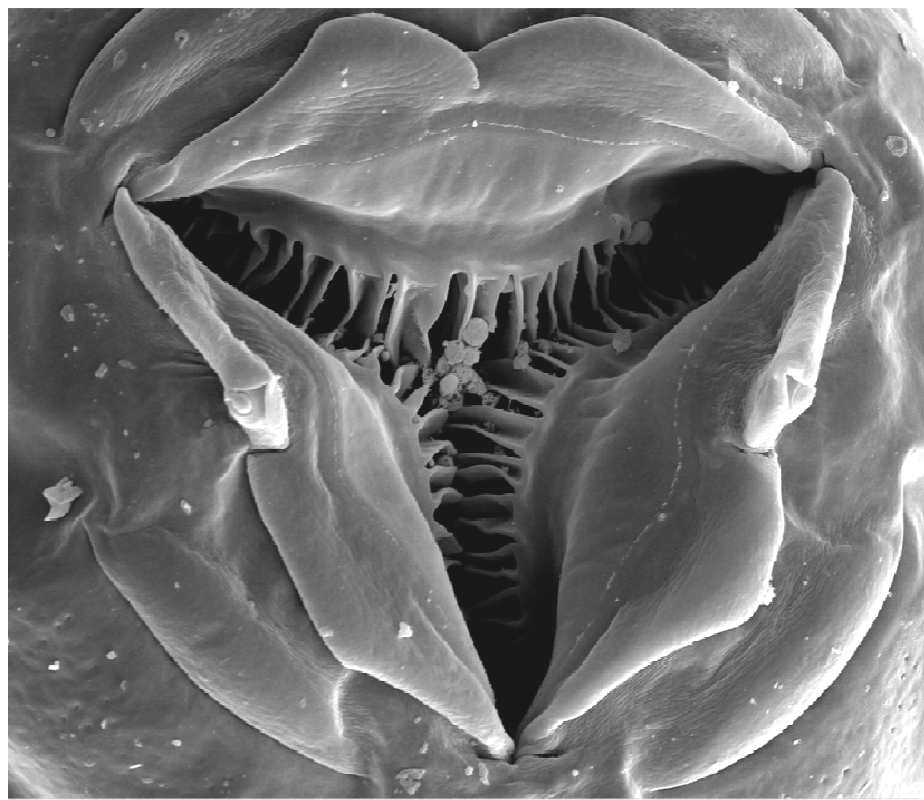


■ Tescan Vega and Mira

# SEM - example

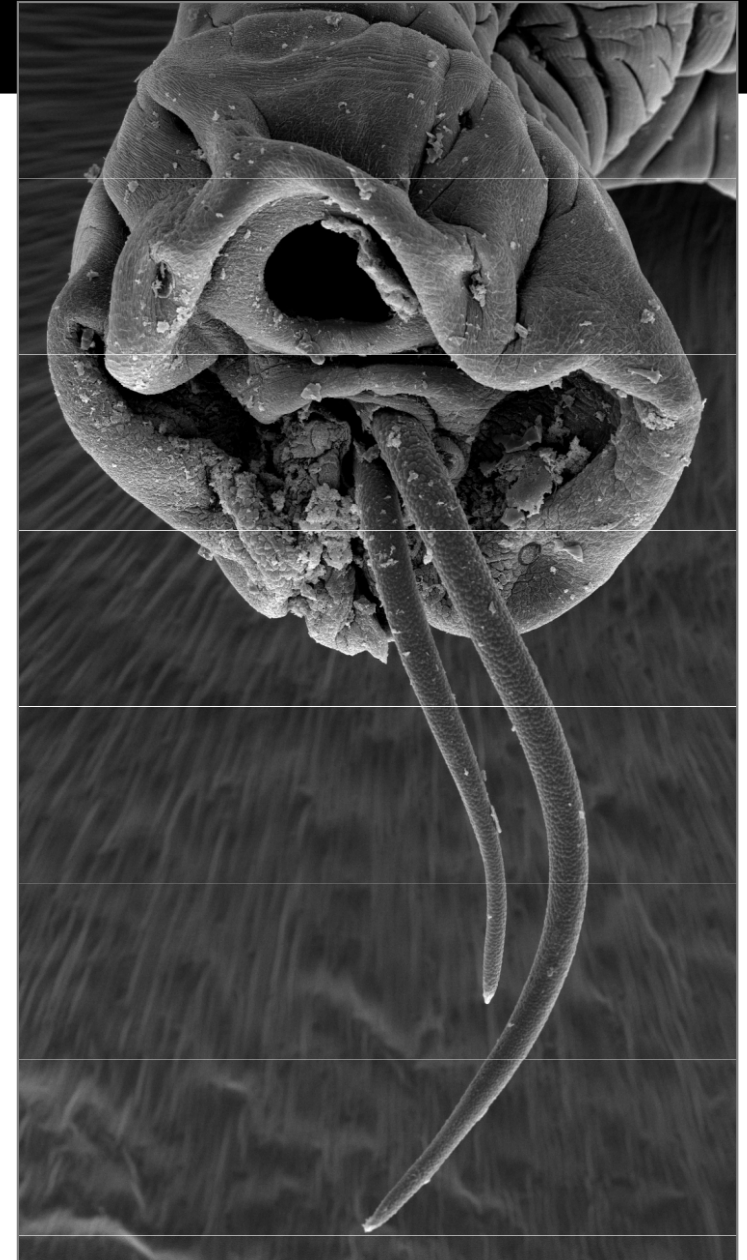
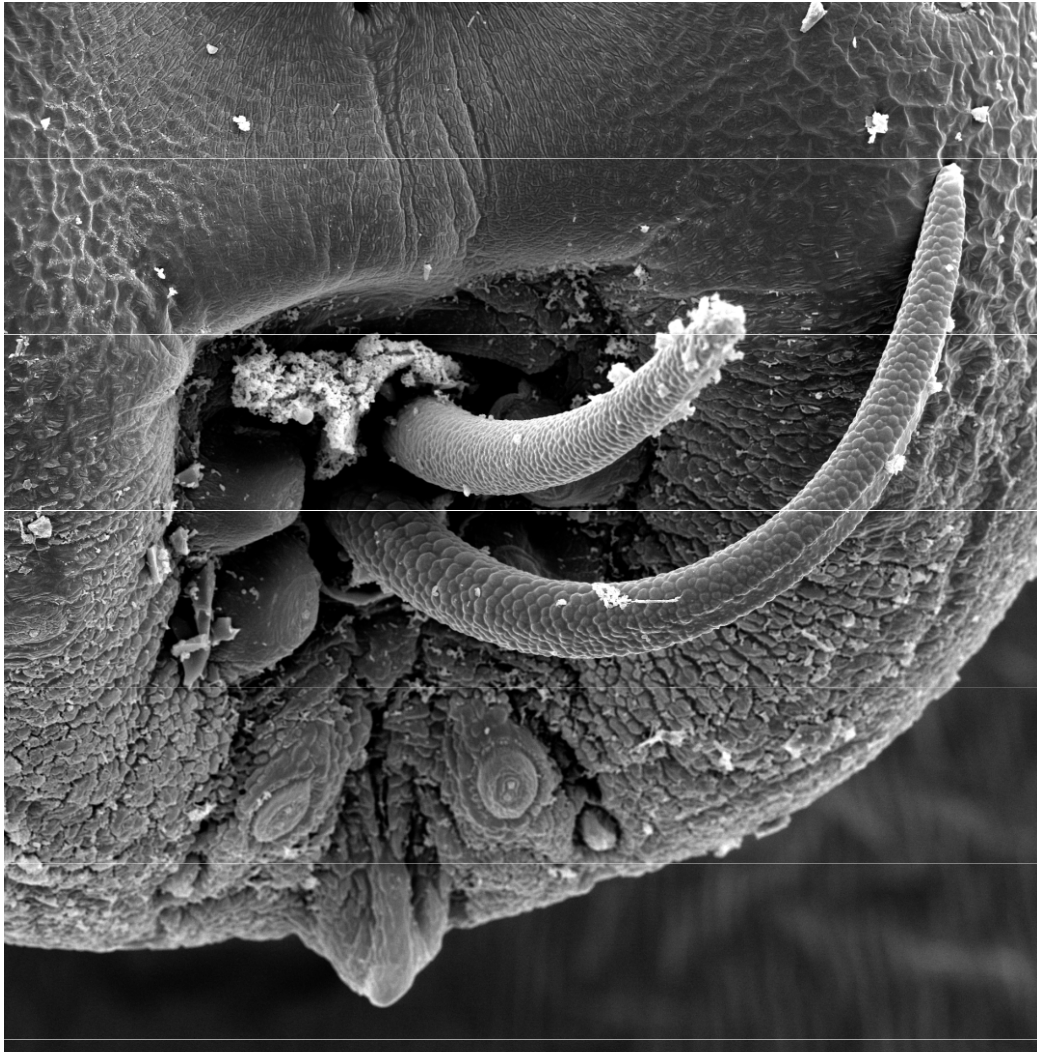


***Cithariniella*  
*khalili***

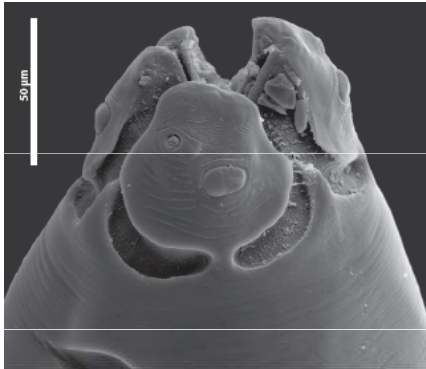




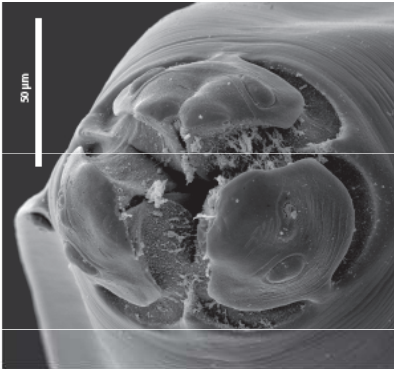
# *Strongyluris brevicaudata*



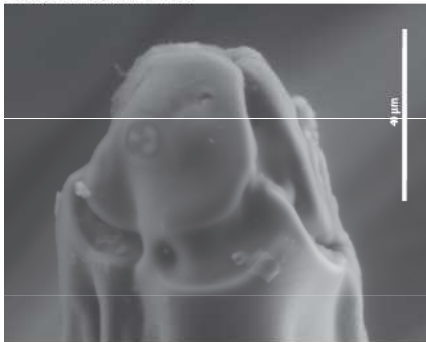
# ESEM



SEM, lateral view, cephalic end



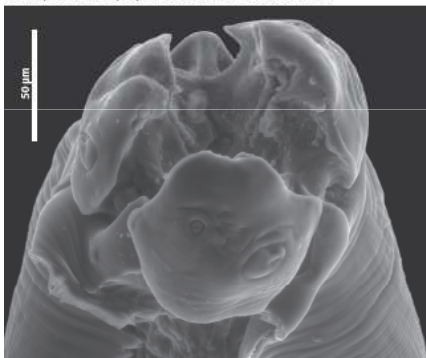
SEM, apical view, cephalic end



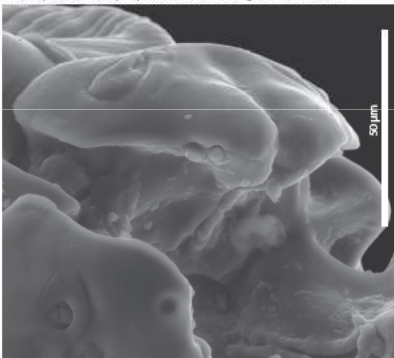
ESEM, lateral view, cephalic end with remains of water



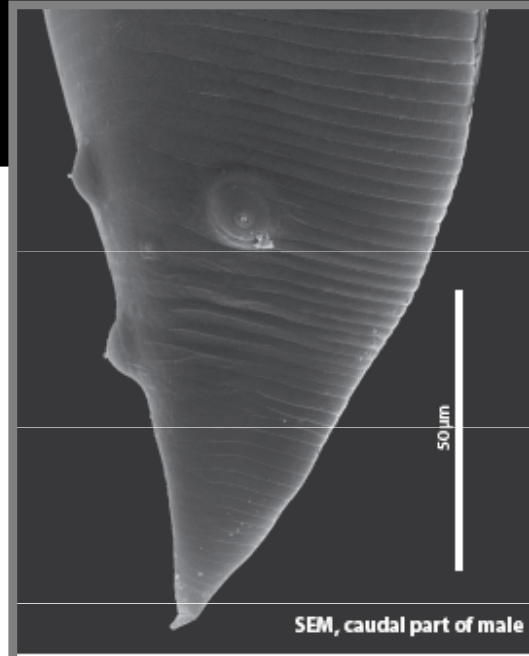
ESEM, lateral view, cephalic end submerged in the water



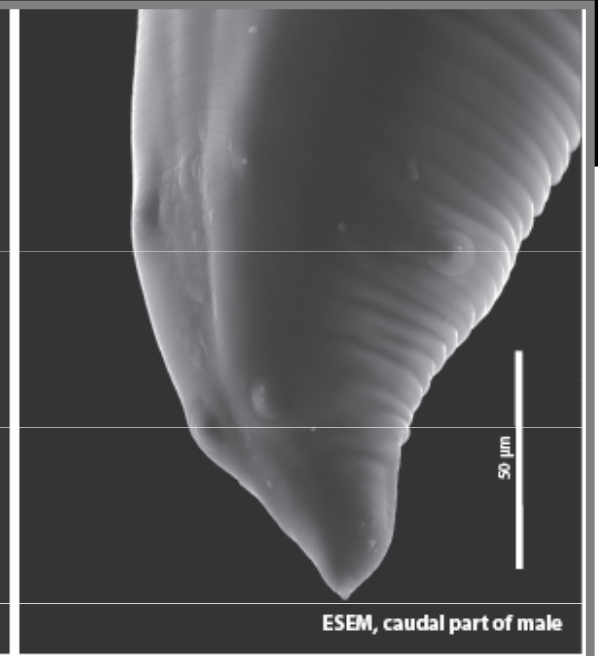
ESEM, cephalic end



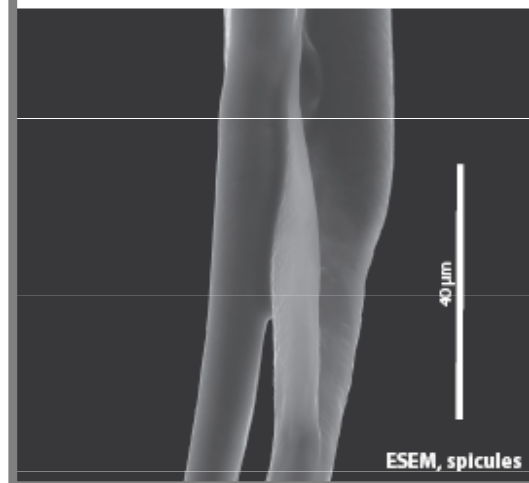
ESEM, dorsal lip with denticles



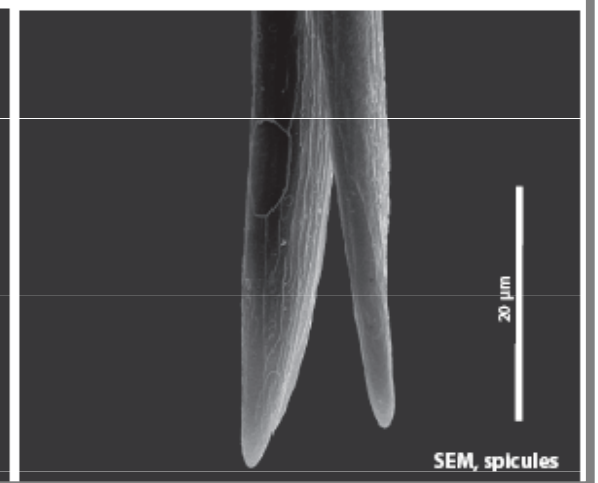
SEM, caudal part of male



ESEM, caudal part of male



ESEM, spicules

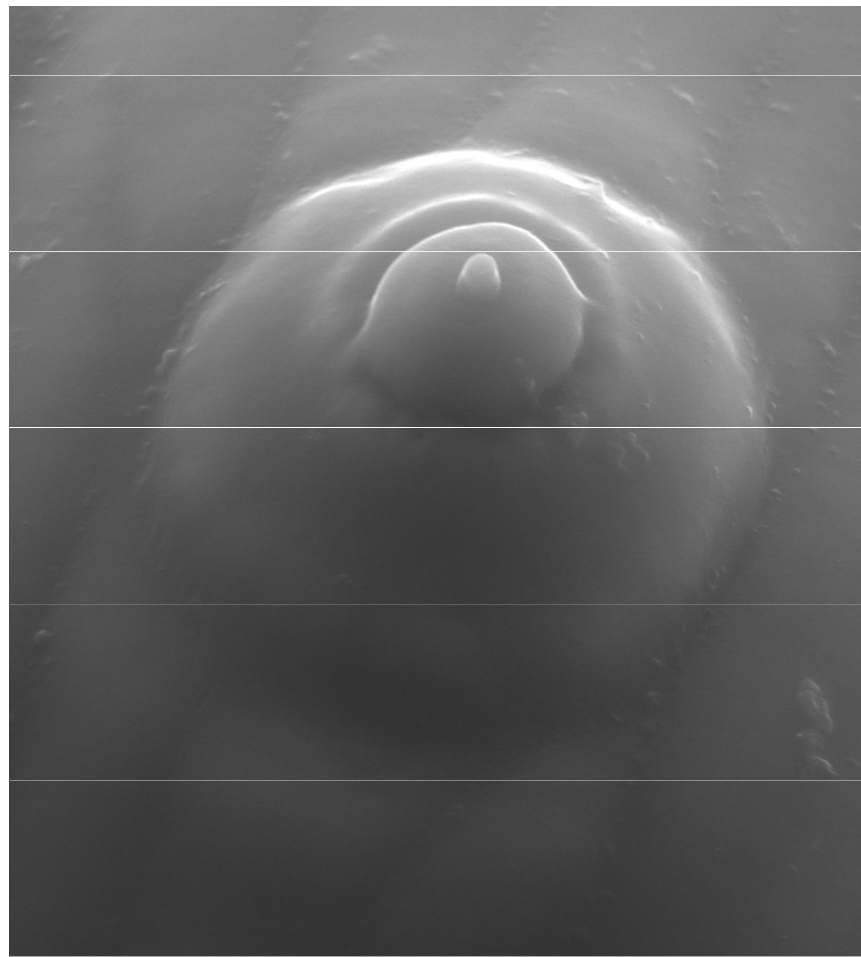
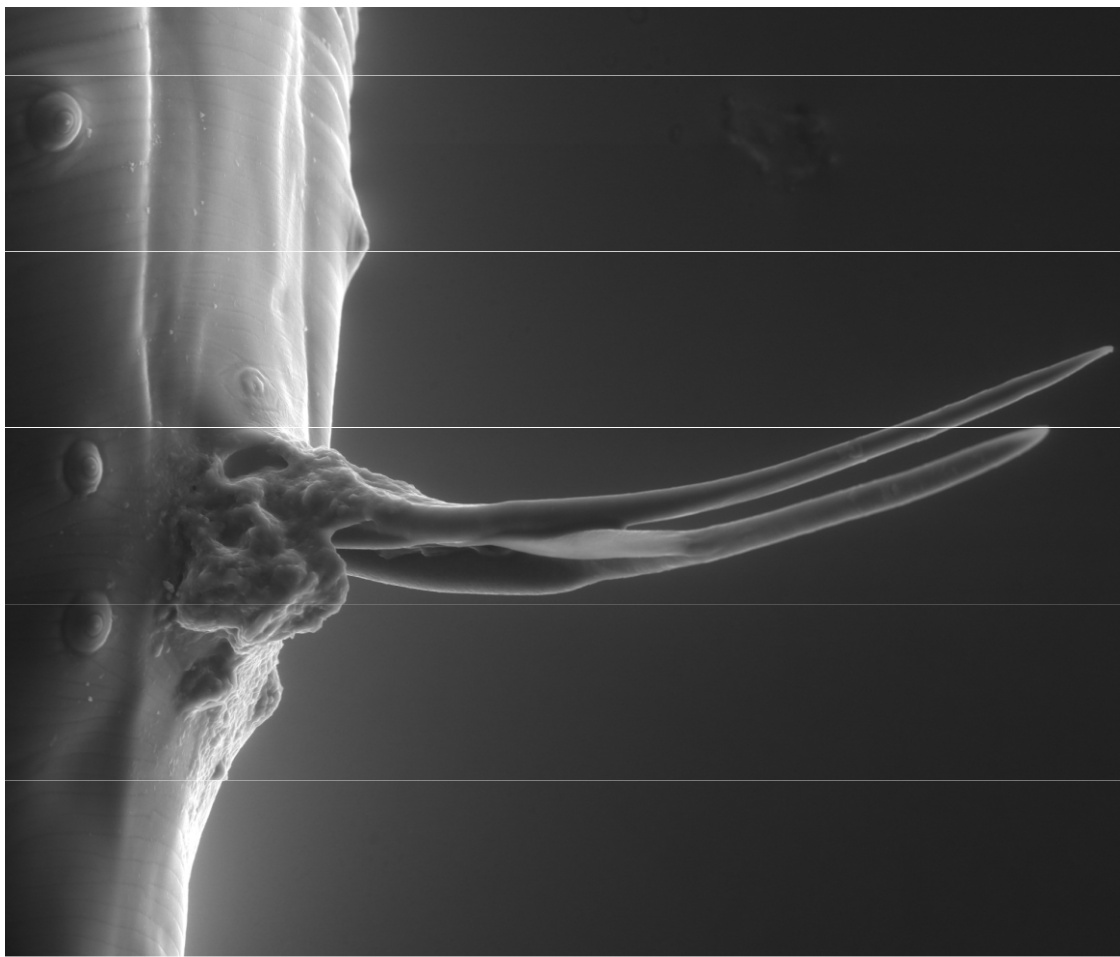


SEM, spicules

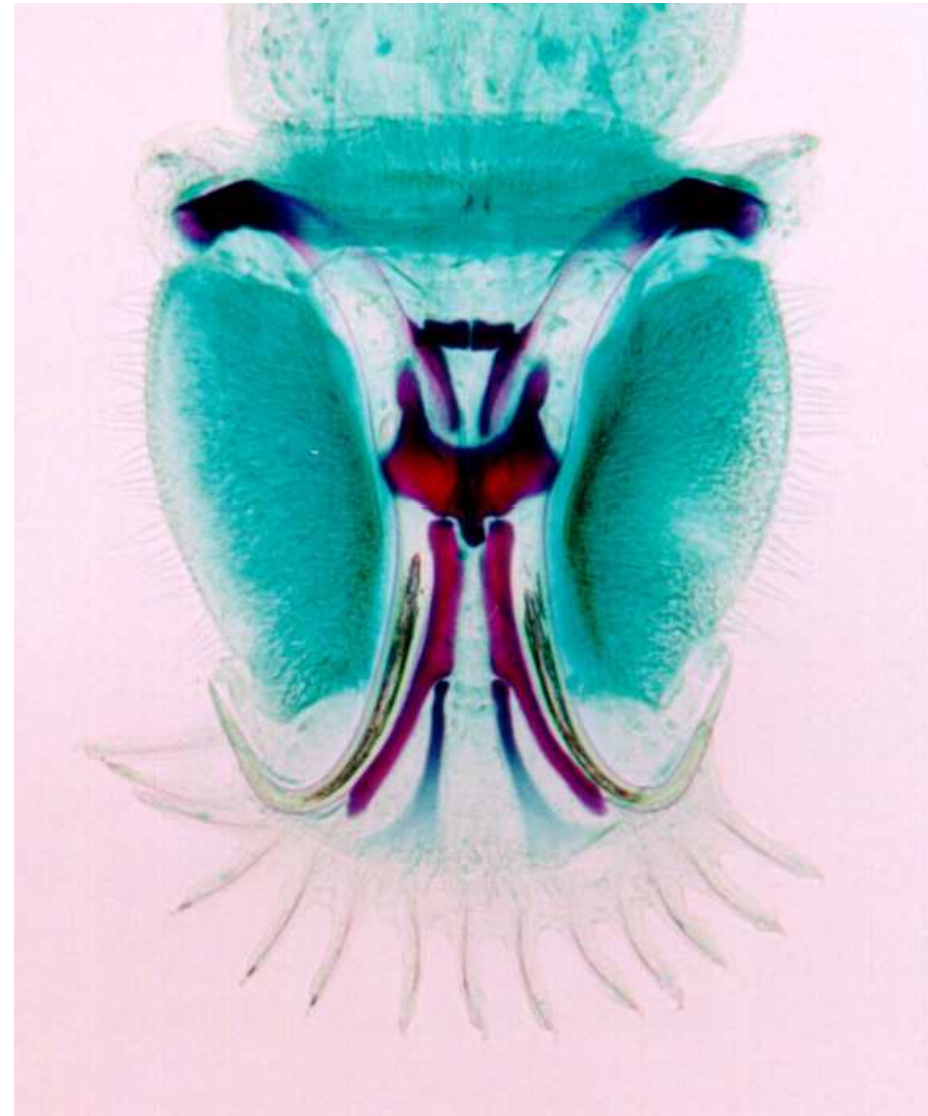
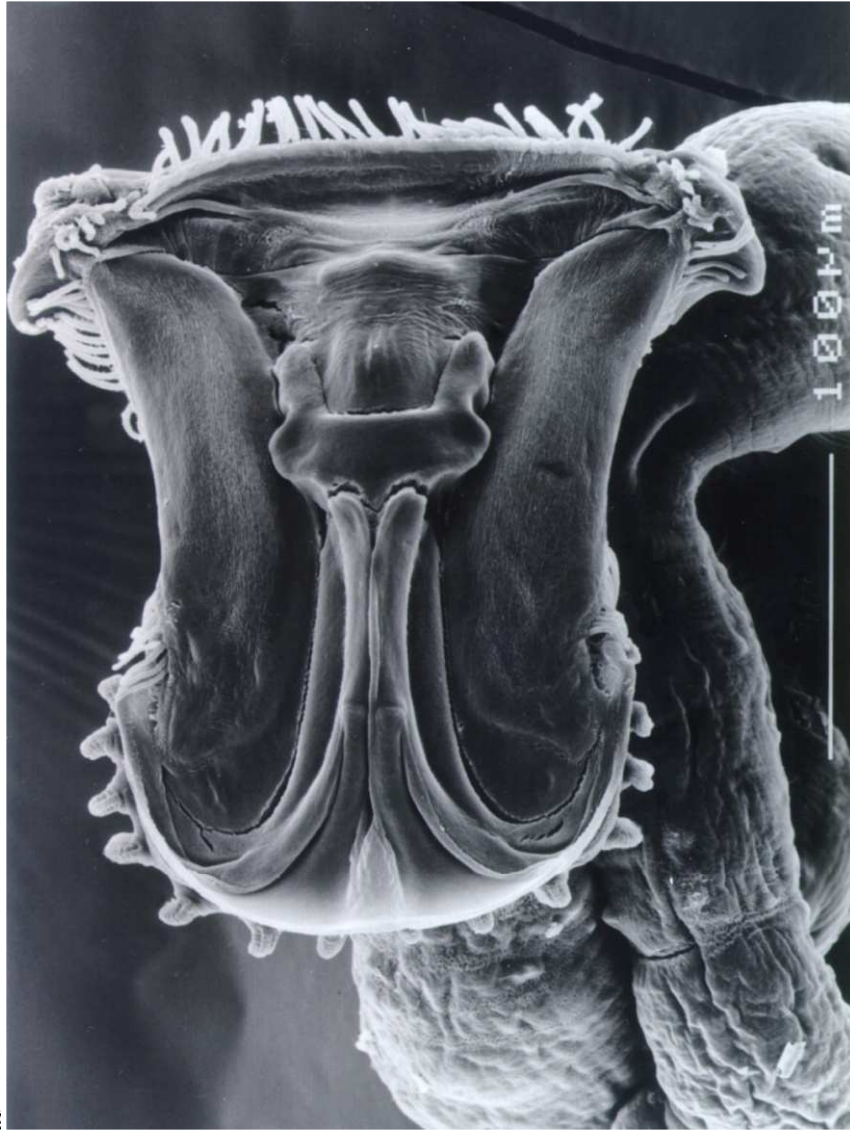
ESEM & SEM  
comparison

***Multicaecum heterotis***

# ESEM -examples



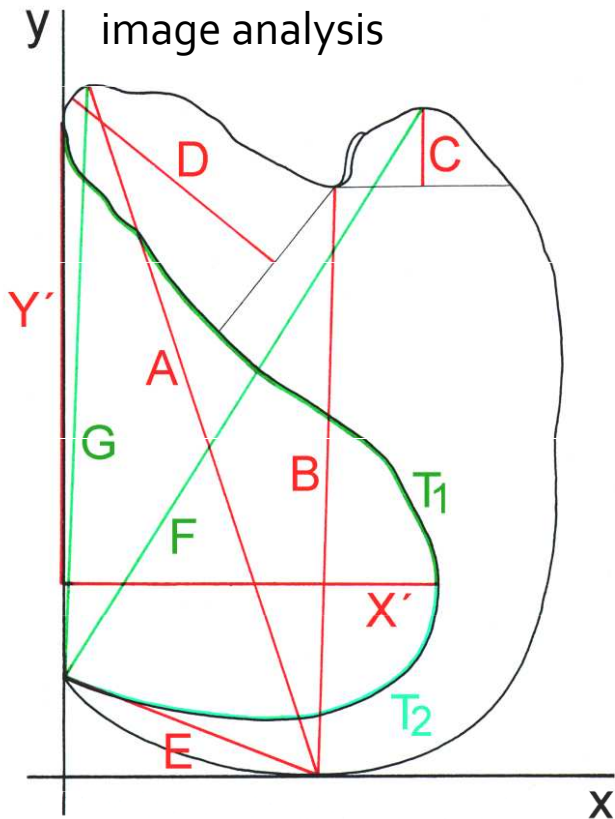
# Combinations of techniques



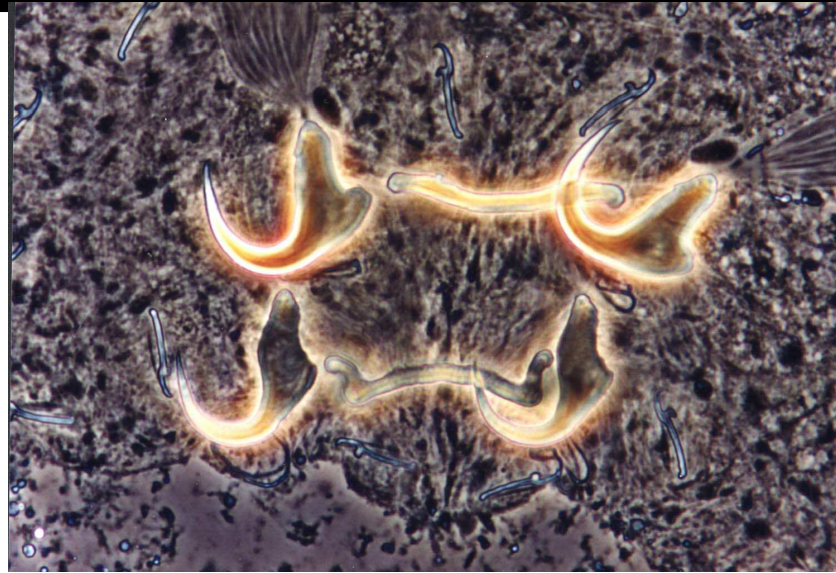
# Dokumentace monogeneí

## Phase contrast

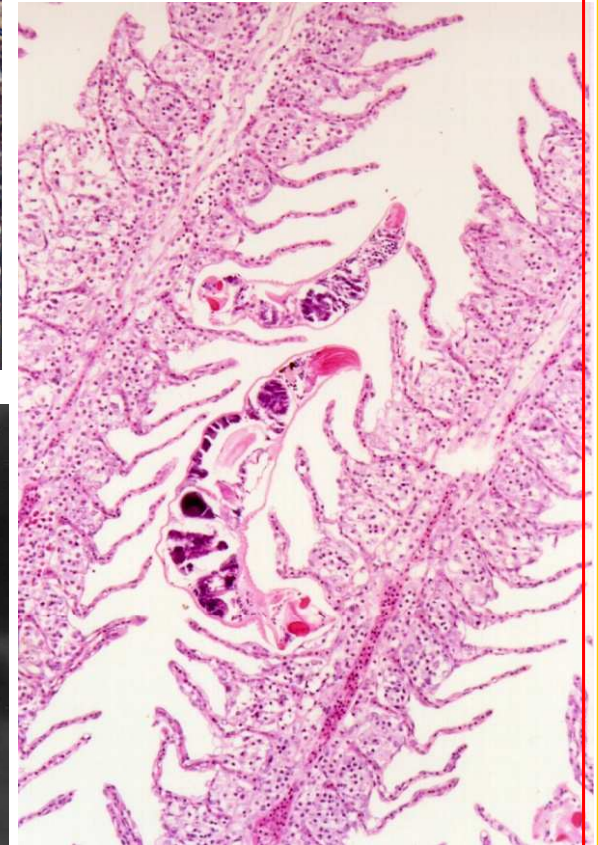
Morphometry- digital  
image analysis

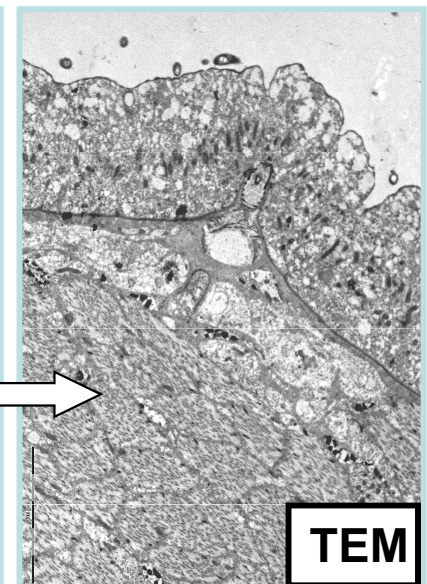
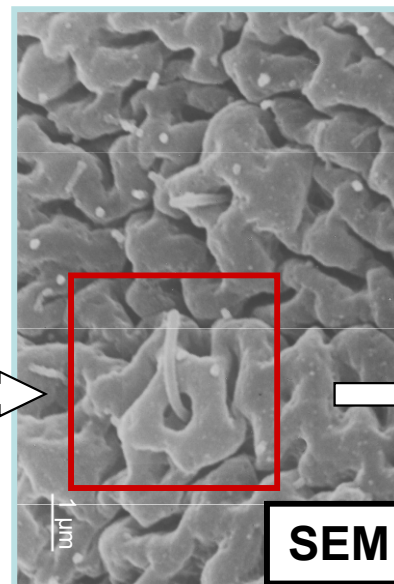
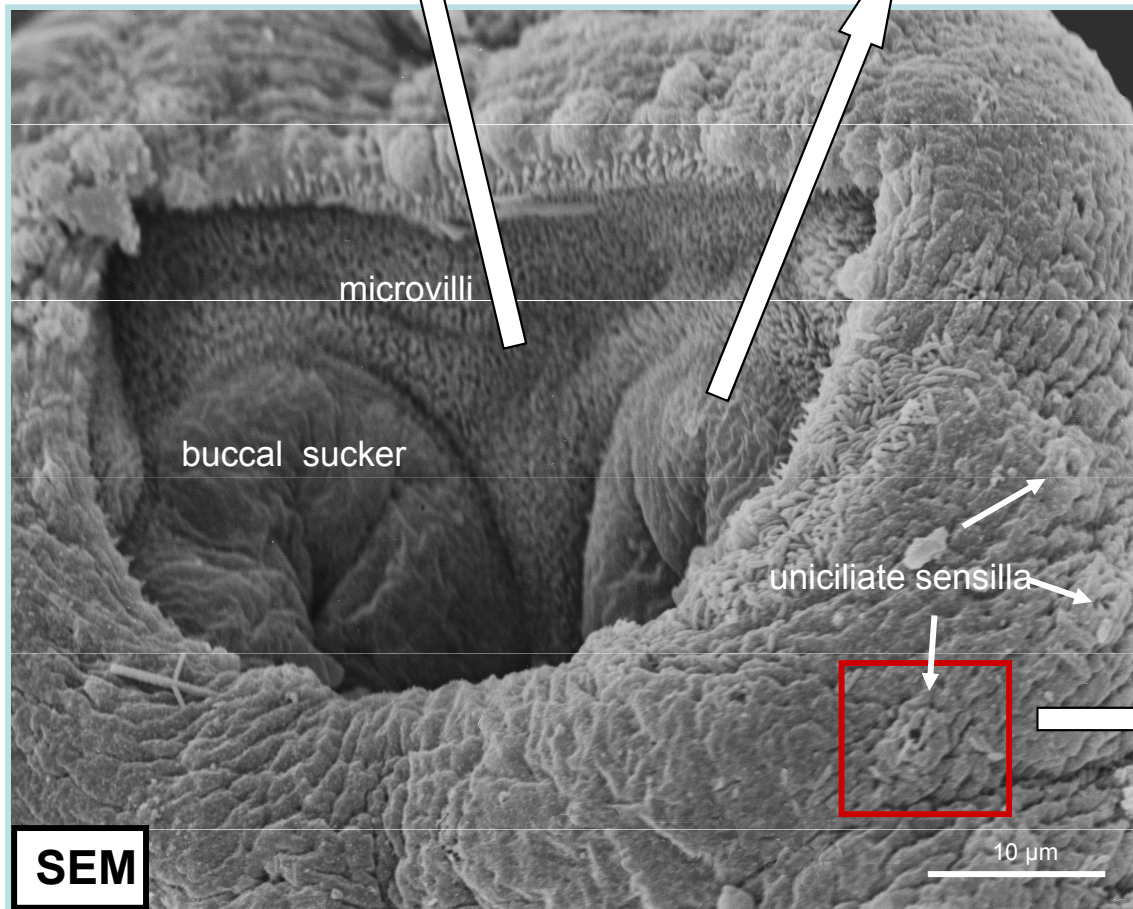
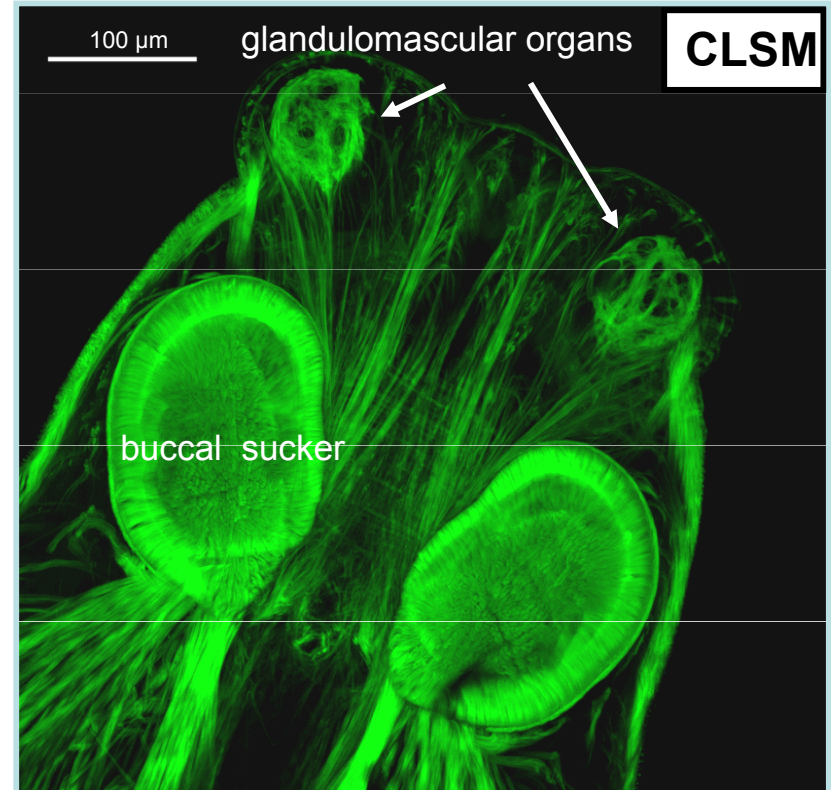
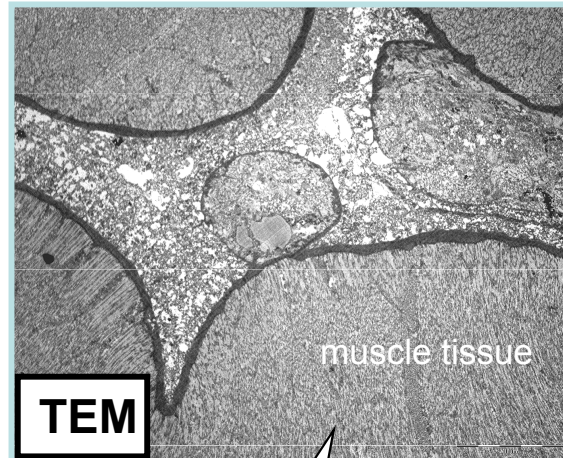
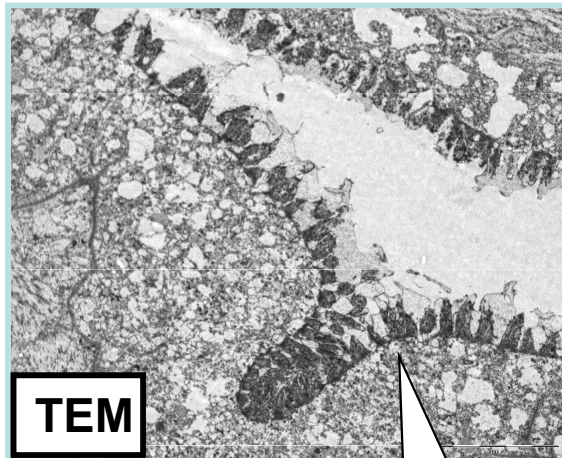


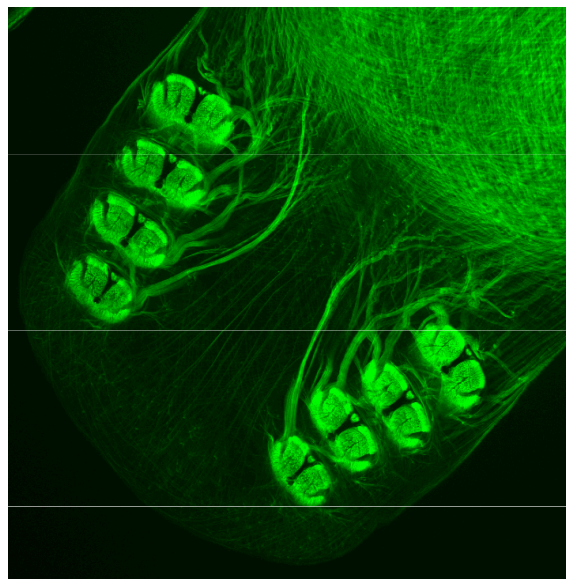
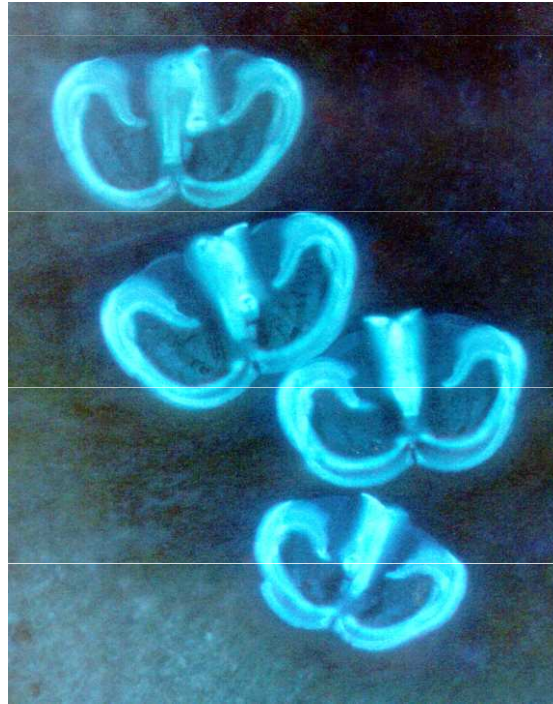
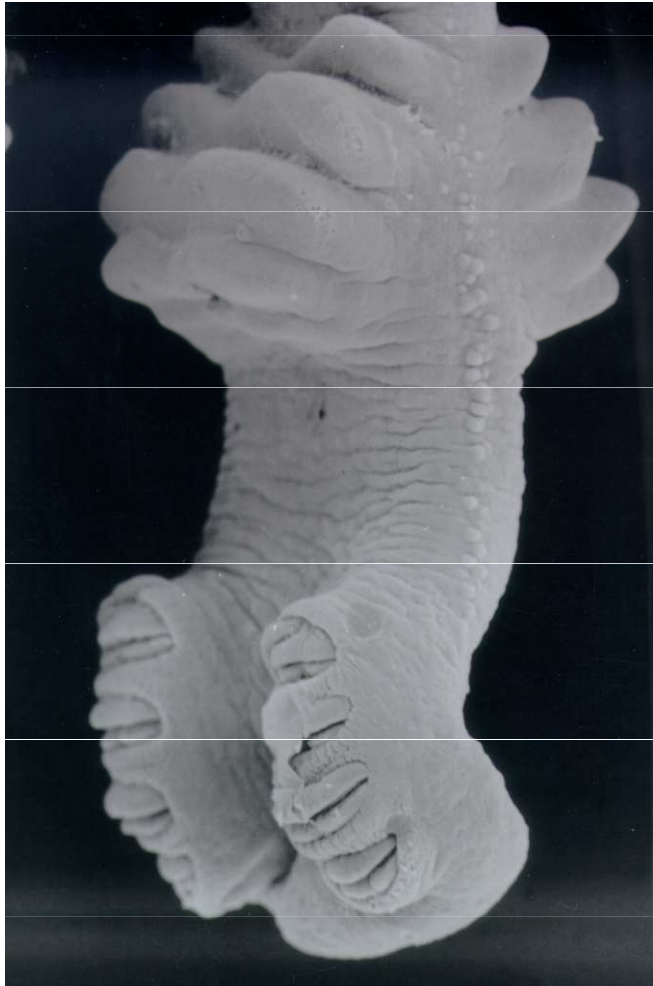
SEM



Histology (BF)







*Eudiplozoon nipponicum*

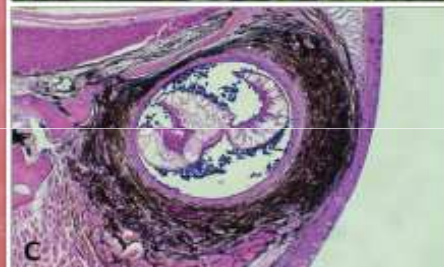
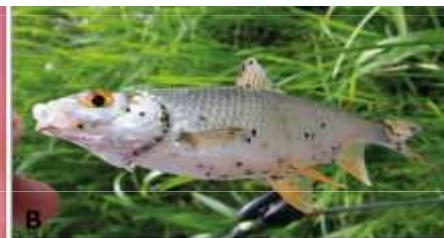
**Ekologické a evoluční metody**

**Evoluční ekologie**

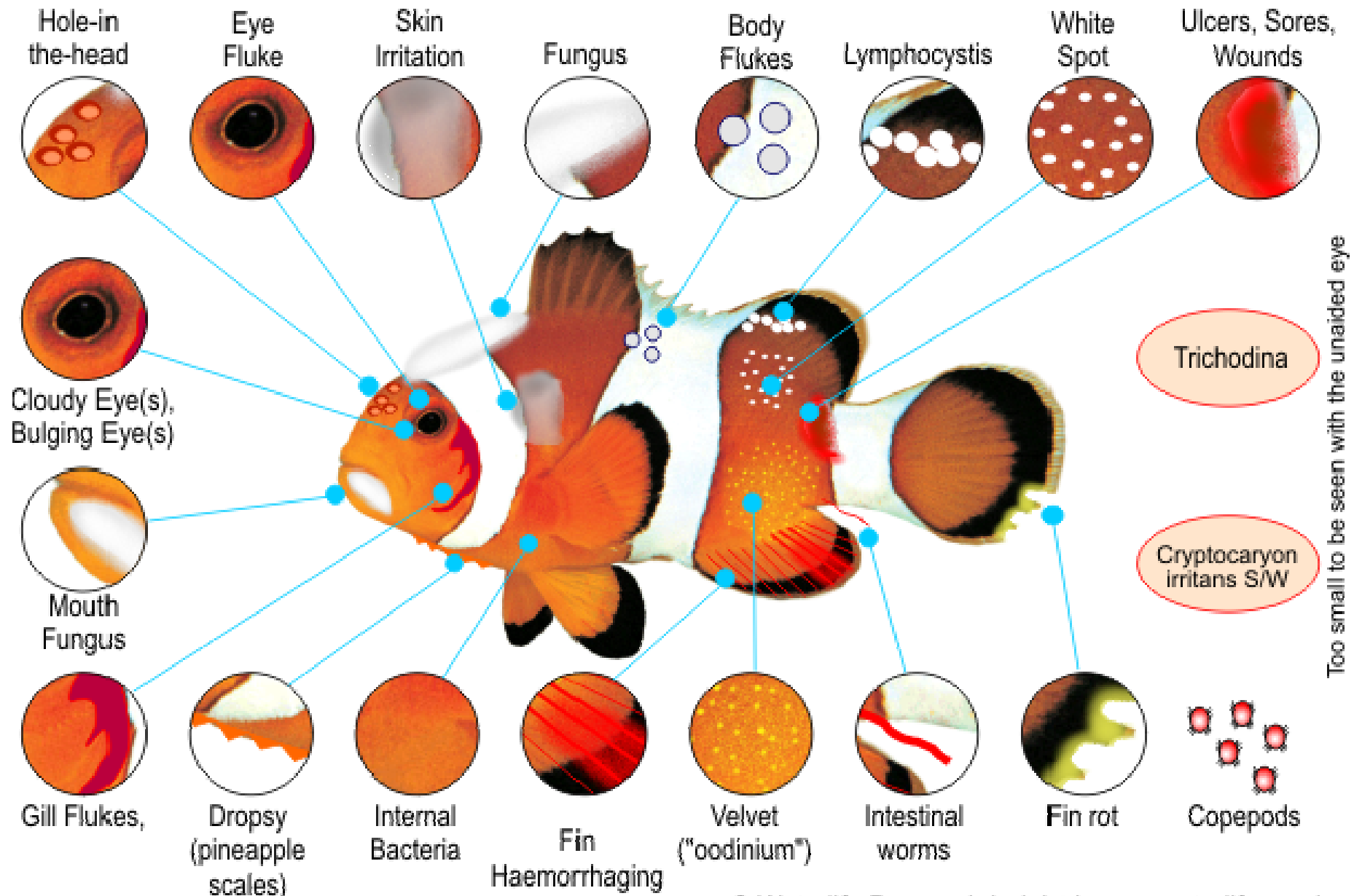
**Evoluční parazitologie**

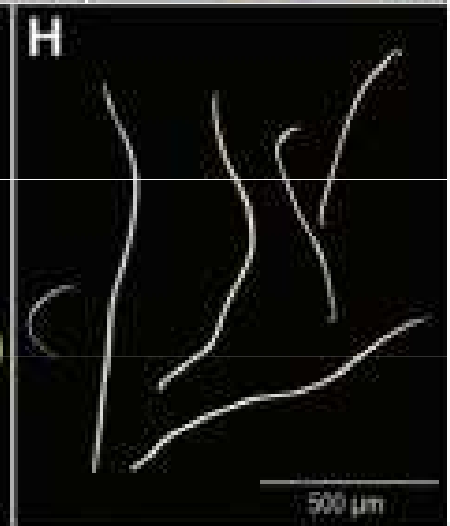
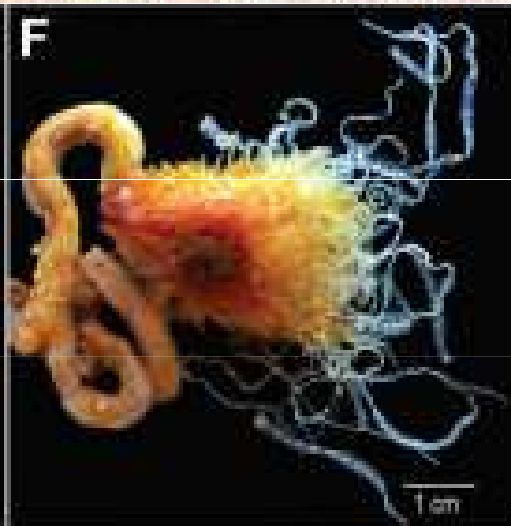
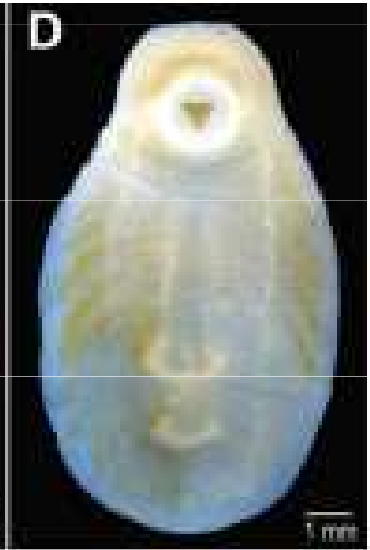
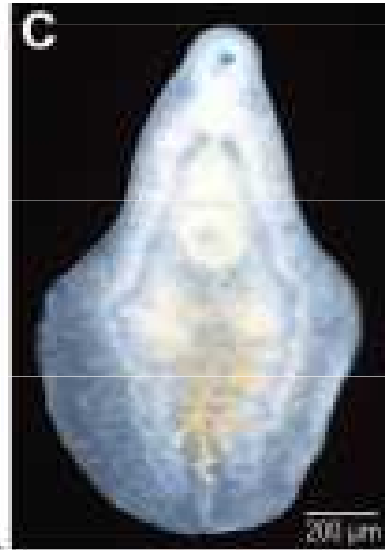


# Ekologické metody



# Orgány a tkáně – ekologické niky parazitů





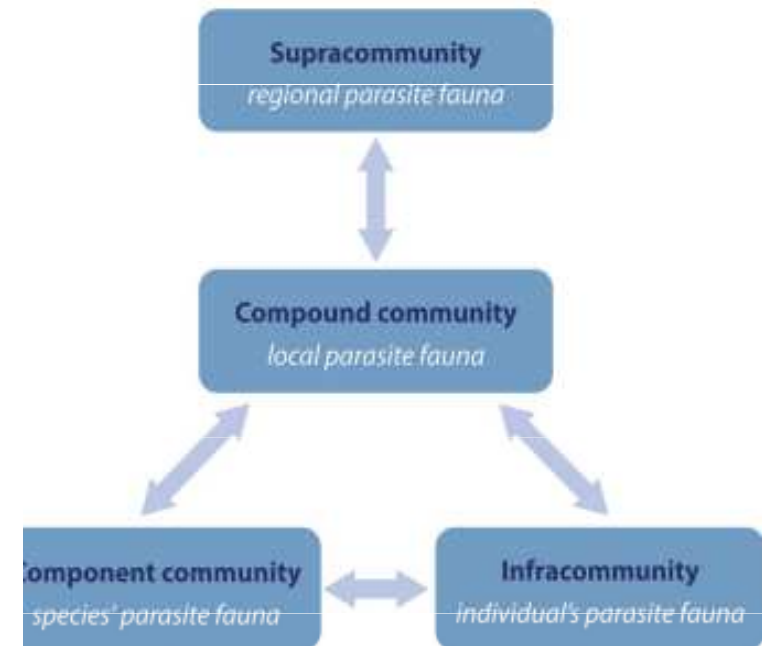
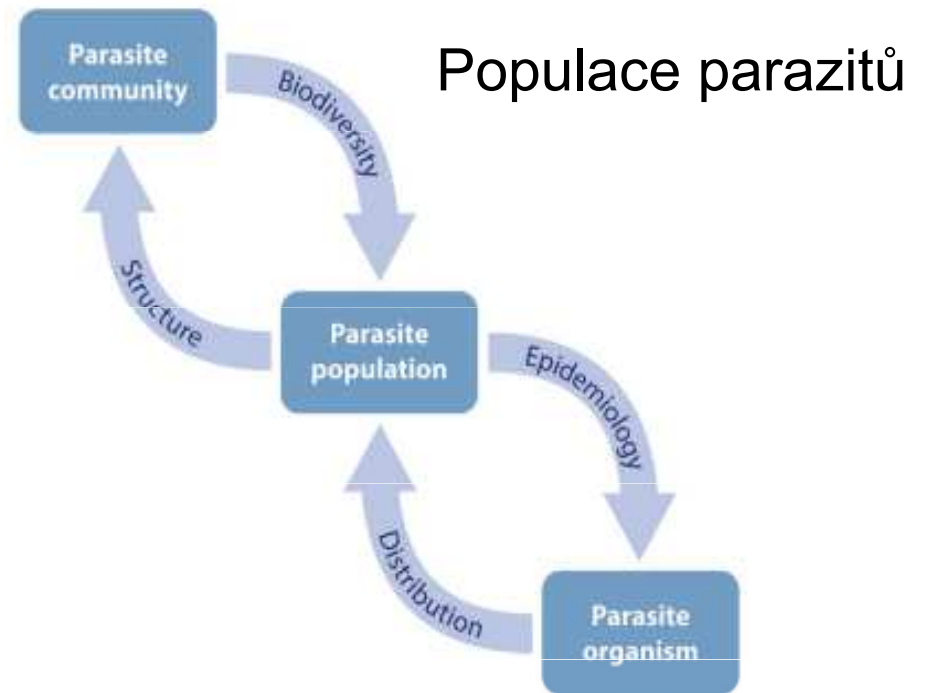
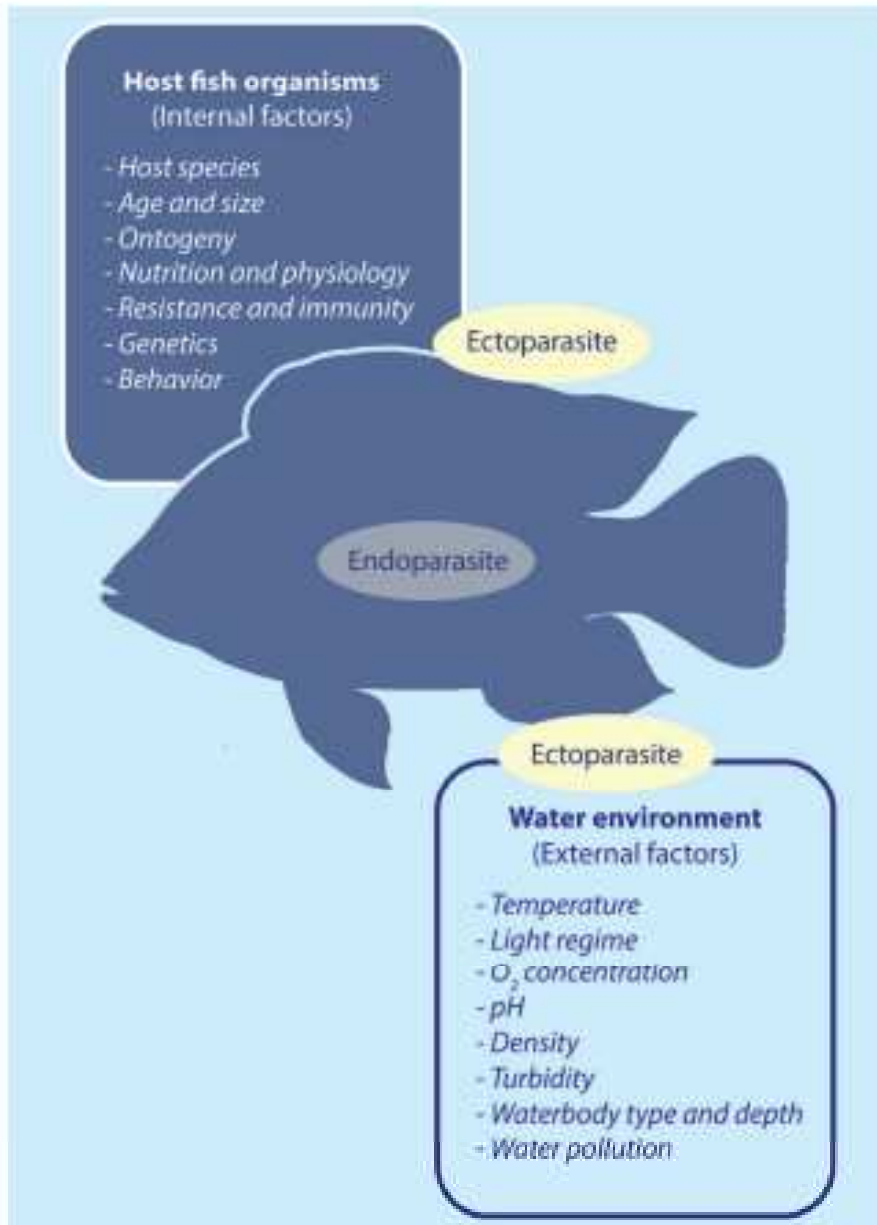
# Vyšetření - endohelminthi



# Charakter lokality



# Ekologické metody



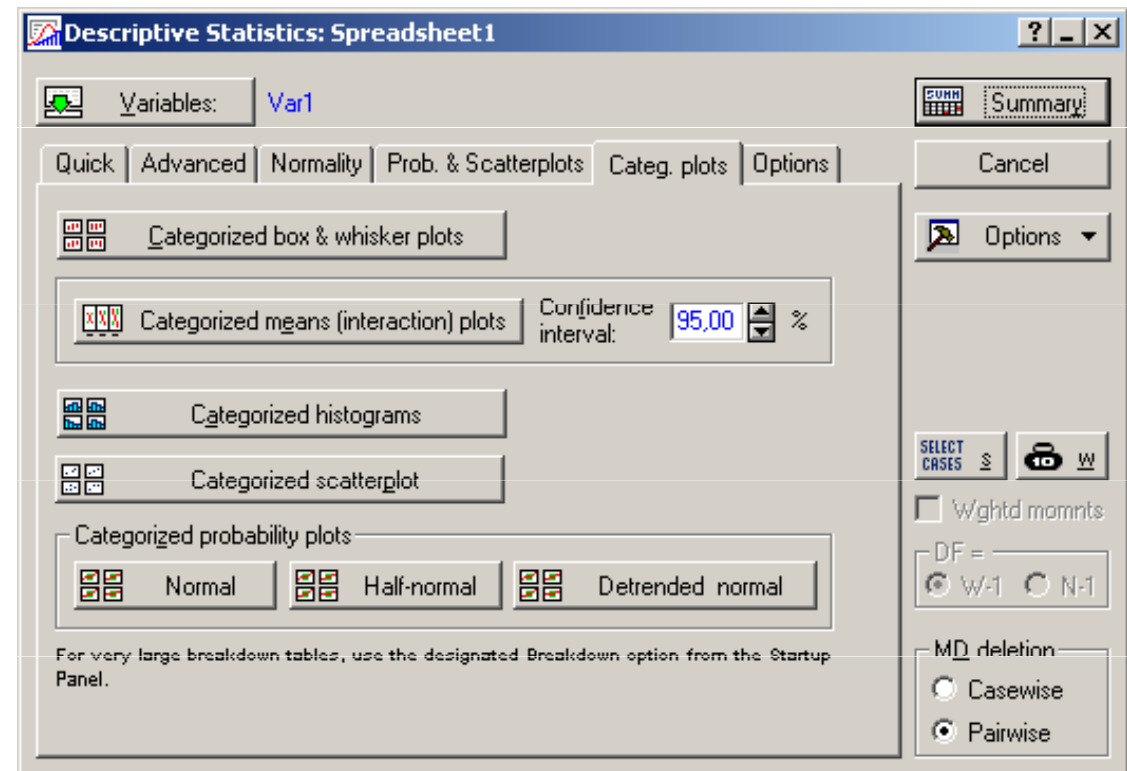
## Společenstva parazitů

# Základní ekologické indexy

Index	Equation	Index	Equation
Margalef index	$D_{Me} = \frac{(S-1)}{\ln N}$	Jaccard similarity coefficient	$S = \frac{a}{a+b+c},$ where $a$ is the number of species occurring at both sites and $b, c$ is the number of species occurring only at one of the sites
Menhinick index	$D_{Me} = \frac{S}{\sqrt{N}}$		
Shannon index	$H' = -\sum p_i \ln p_i, \text{ where } p_i = \frac{n_i}{N}$	Sørensen quantitative coefficient	$C_N = \frac{2jN}{aN + bN},$ where $aN$ and $bN$ are the abundance of species at sites A and B, and $jN$ is the sum of abundances of species occurring at both sites
Brillouin index	$HB = \frac{\ln N! - \sum \ln n_i!}{N}$		
Simpson index	$D = \sum \left( \frac{n_i(n_i-1)}{N(N-1)} \right)$		
Berger-Parker index	$d = \frac{N_{\max}}{N}$ where $N_{\max}$ – abundance of the most abundant species		

# Základní epidemiologické charakteristiky

- Prevalence (%)
- Intenzita invaze (infekce) (p/h)
- Abundance (N)
- Průměrná intenzita invaze ( $\bar{x}$ )
- Směrodatná odchylka (s)





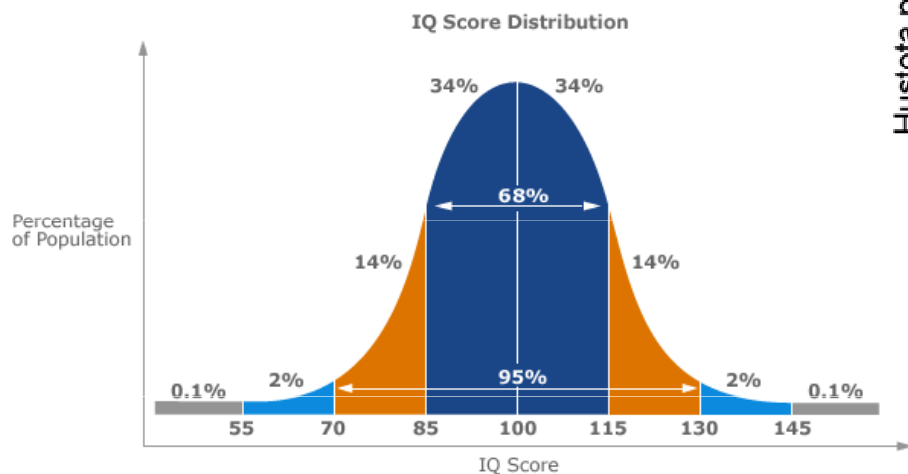
# Směrodatná odchylka

$$s = \sqrt{s^2}$$

Výhoda – charakterizuje variabilitu v týchž jednotkách, v jakých jsou udány hodnoty stat. znaku (kdežto rozptyl v druhých mocninách těchto jednotek)

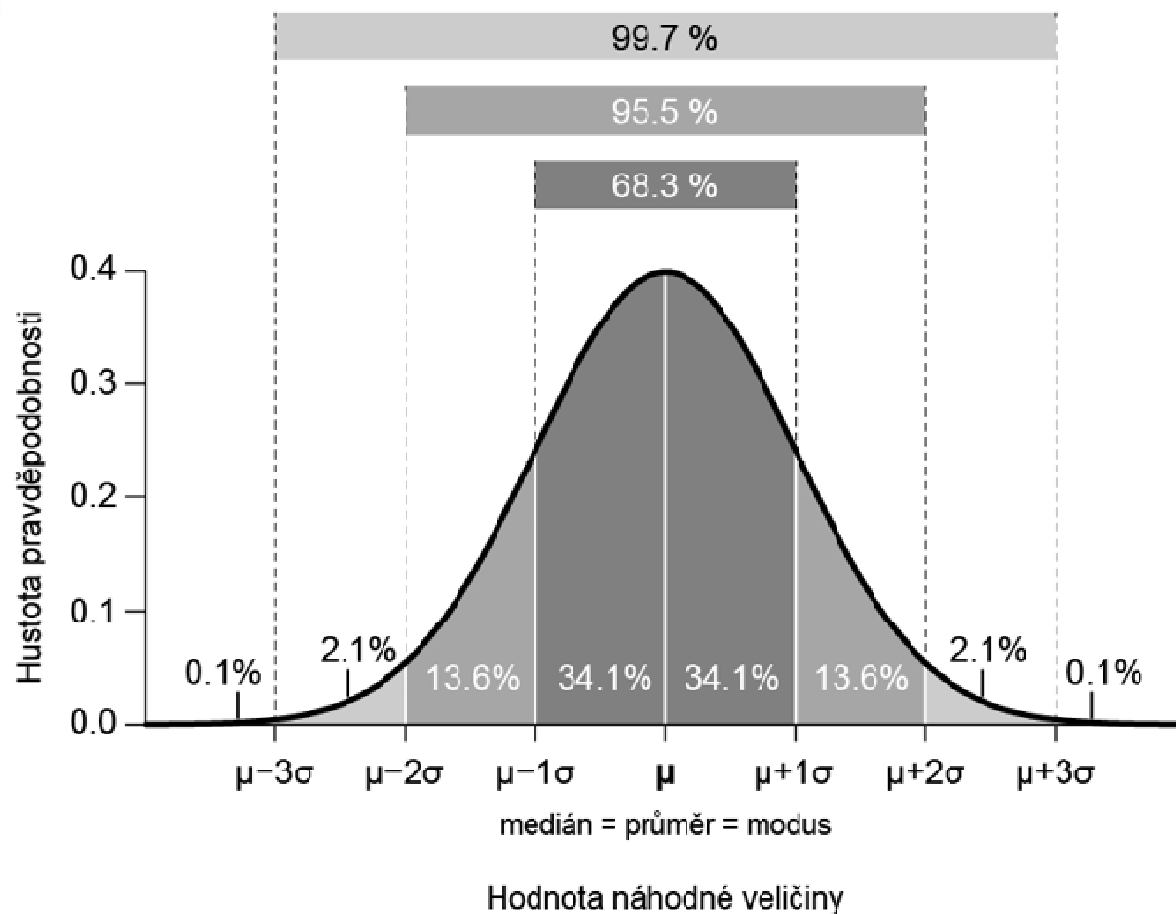
V předchozím příkladě je:

$$s = \sqrt{40,01} = 6,3\text{cm}$$



# Průměr

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$



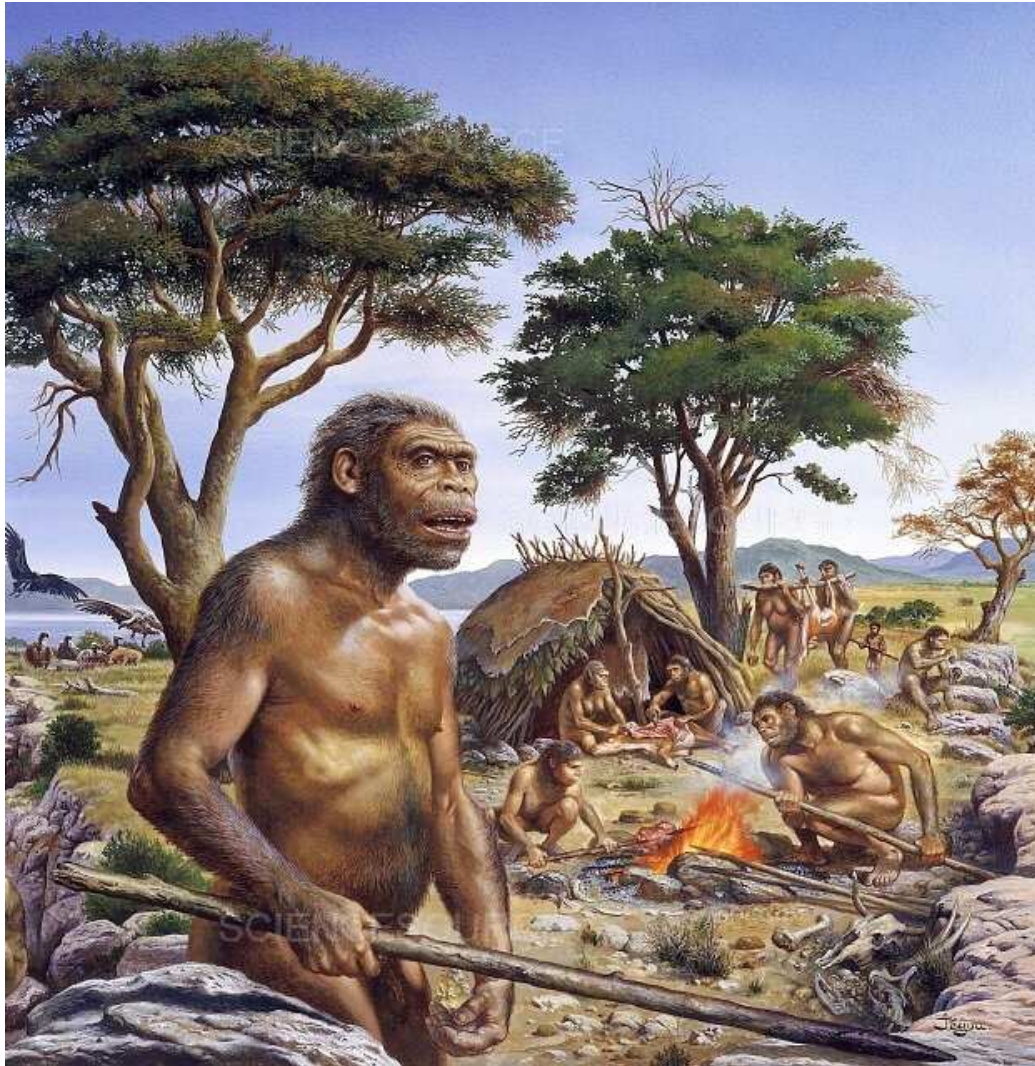
# Sampling: Top 10 rules

- Not everything that can be measured should be.
- Find a problem and state your objective clearly.
- Collect data that will help achieve your objective and make a statistician happy.
- Some ecological questions are impossible to answer at the present time.
- With continuous data, save time and money by deciding on the number of significant Figures in the data before you start field work/an experiment.
- Never report an ecological estimate without some measure of its possible error.
- Be sceptical about the results of statistical tests of significance.
- Never confuse statistical significance with biological significance.
- Code all your ecological data and enter it on a computer in some machine-readable format.
- Garbage in, garbage out.

# Vliv parazitů na evoluci hostitelů !



# Evoluce člověka



Paranthropus



Australopithecus afarensis



Homo habilis



Homo erectus



Homo heidelbergensis



Homo georgicus



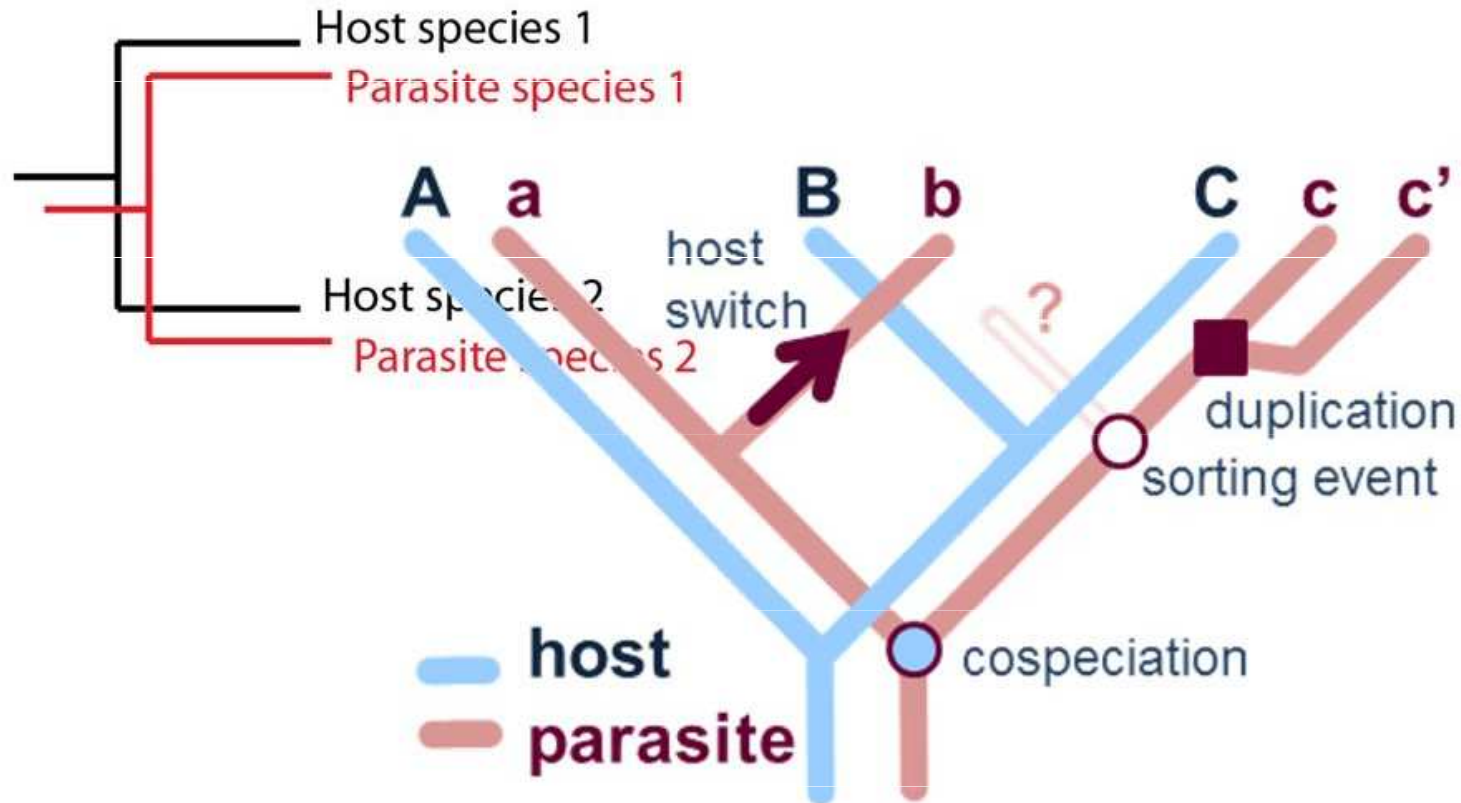
Homo sapiens neanderthalensis



Homo sapiens sapiens

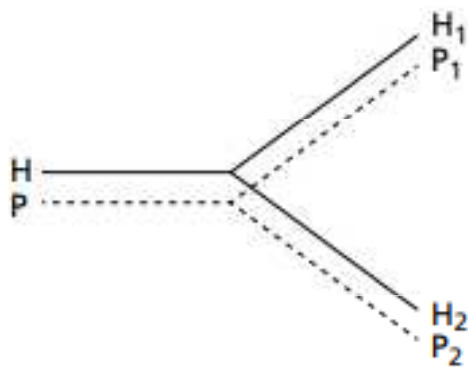
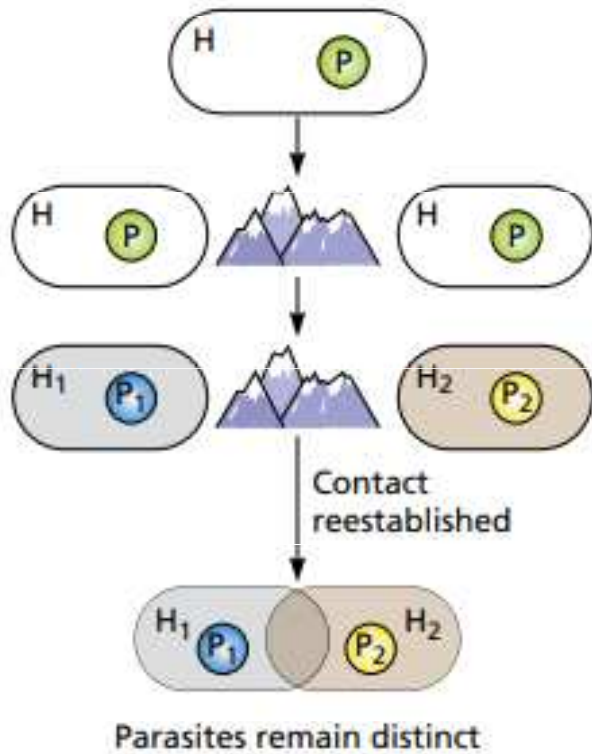
# Mechanismus Ko-evoluere

## The Mechanism of Host-Parasite Coevolution

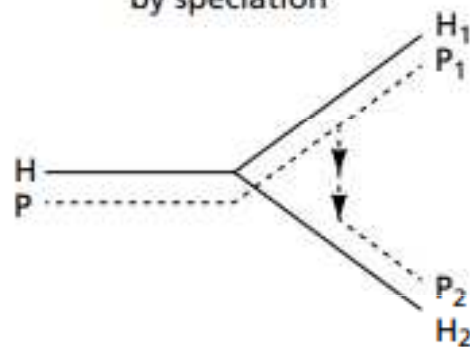
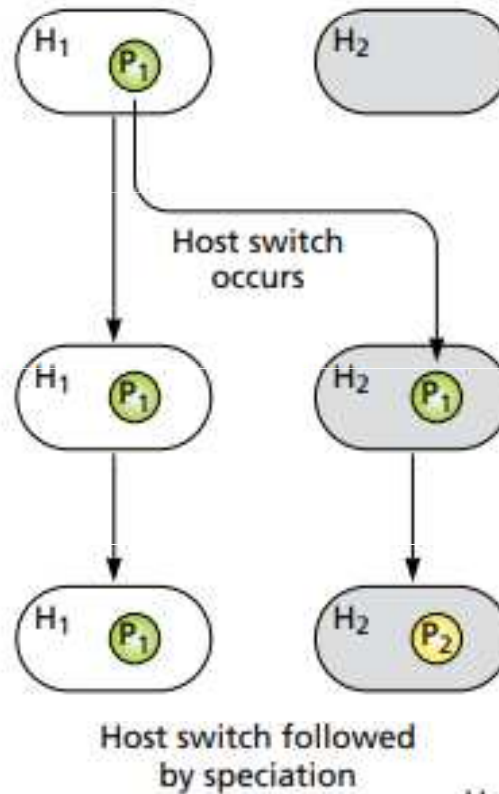


# Tři modely speciace parazitů

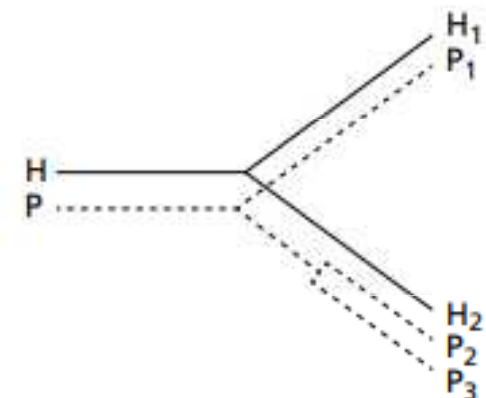
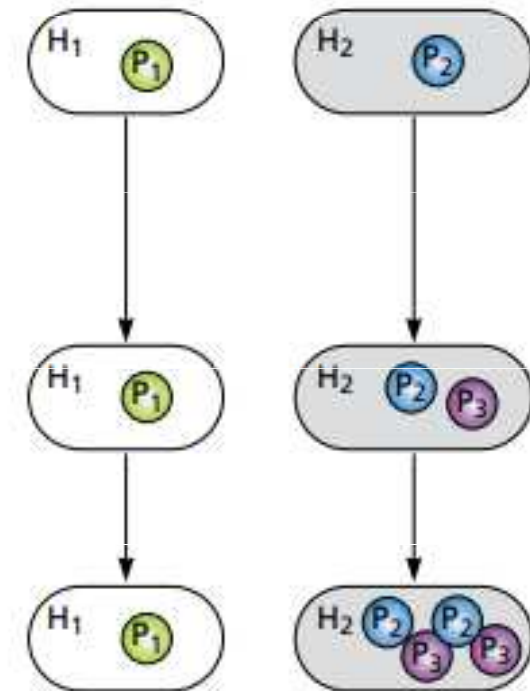
**A** Allopatric speciation by vicariance



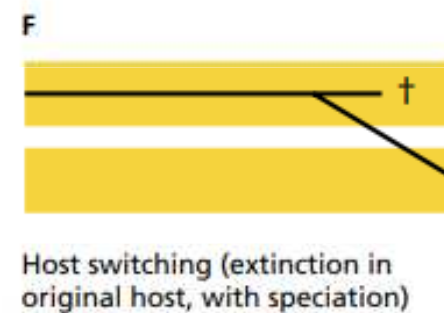
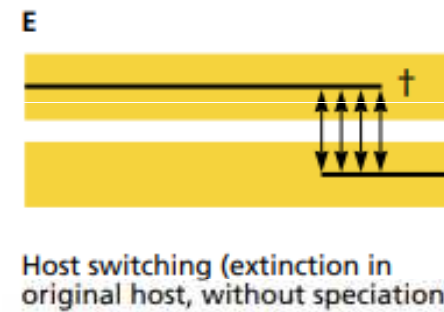
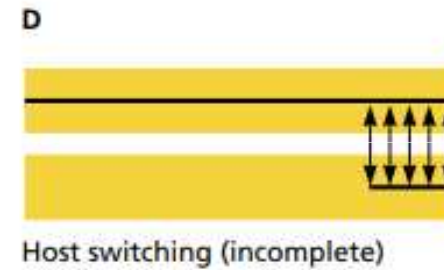
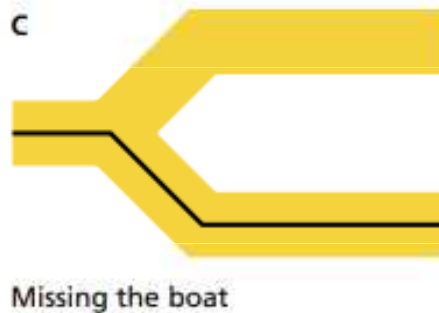
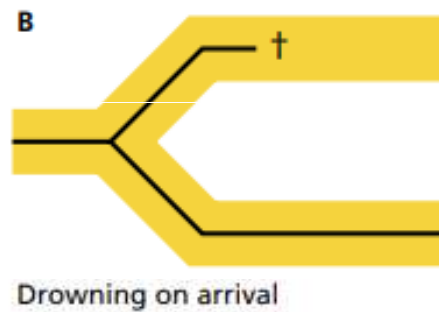
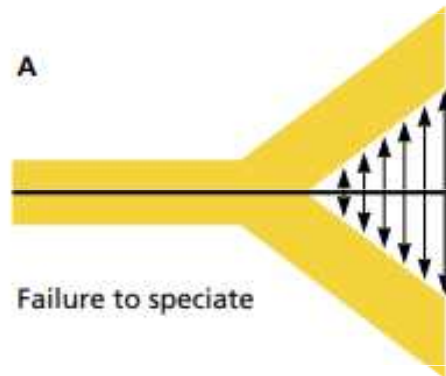
**B** Peripheral isolates speciation



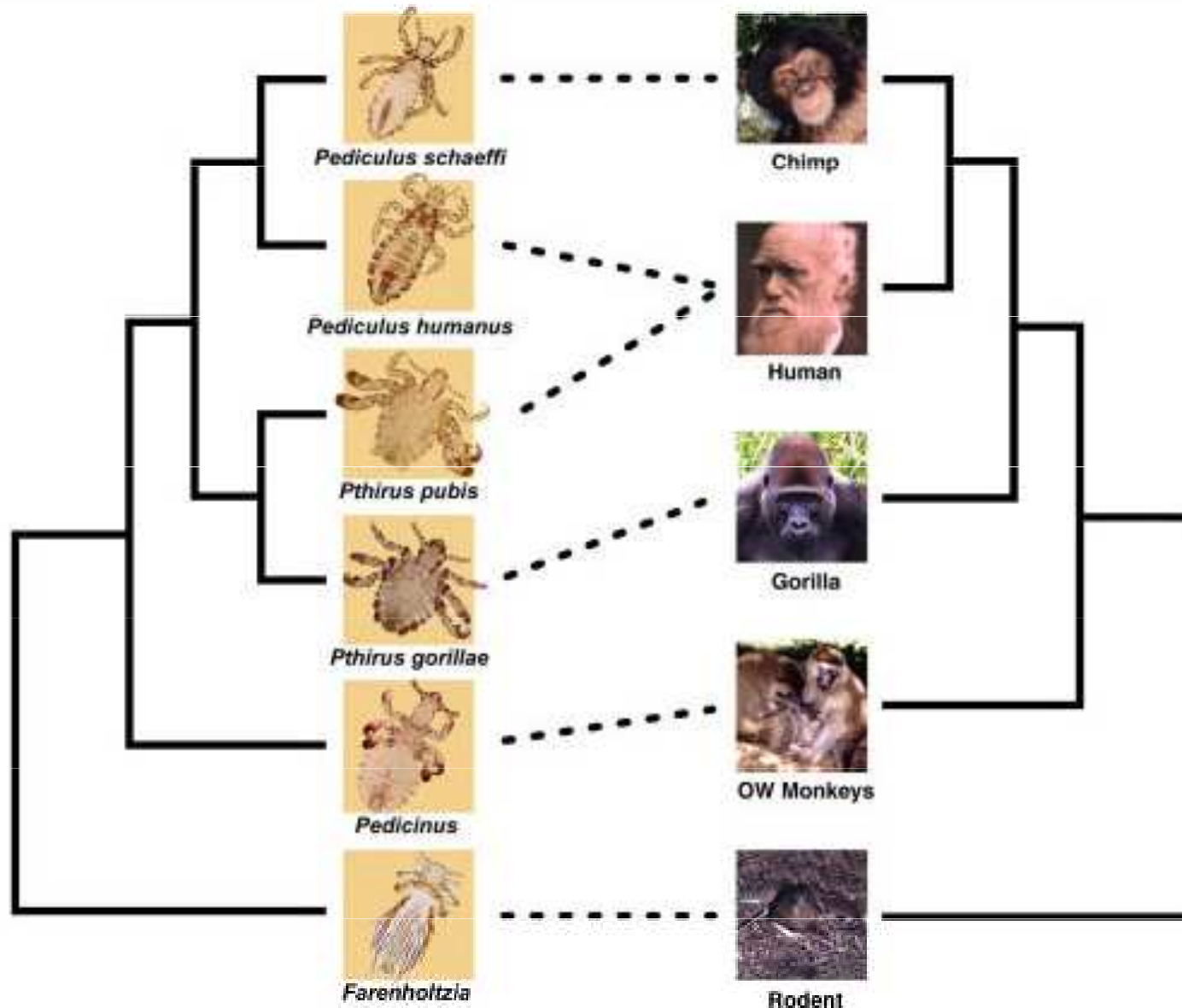
**C** Sympatric speciation



# Evoluční procesy diversifikace parazita a hostitele

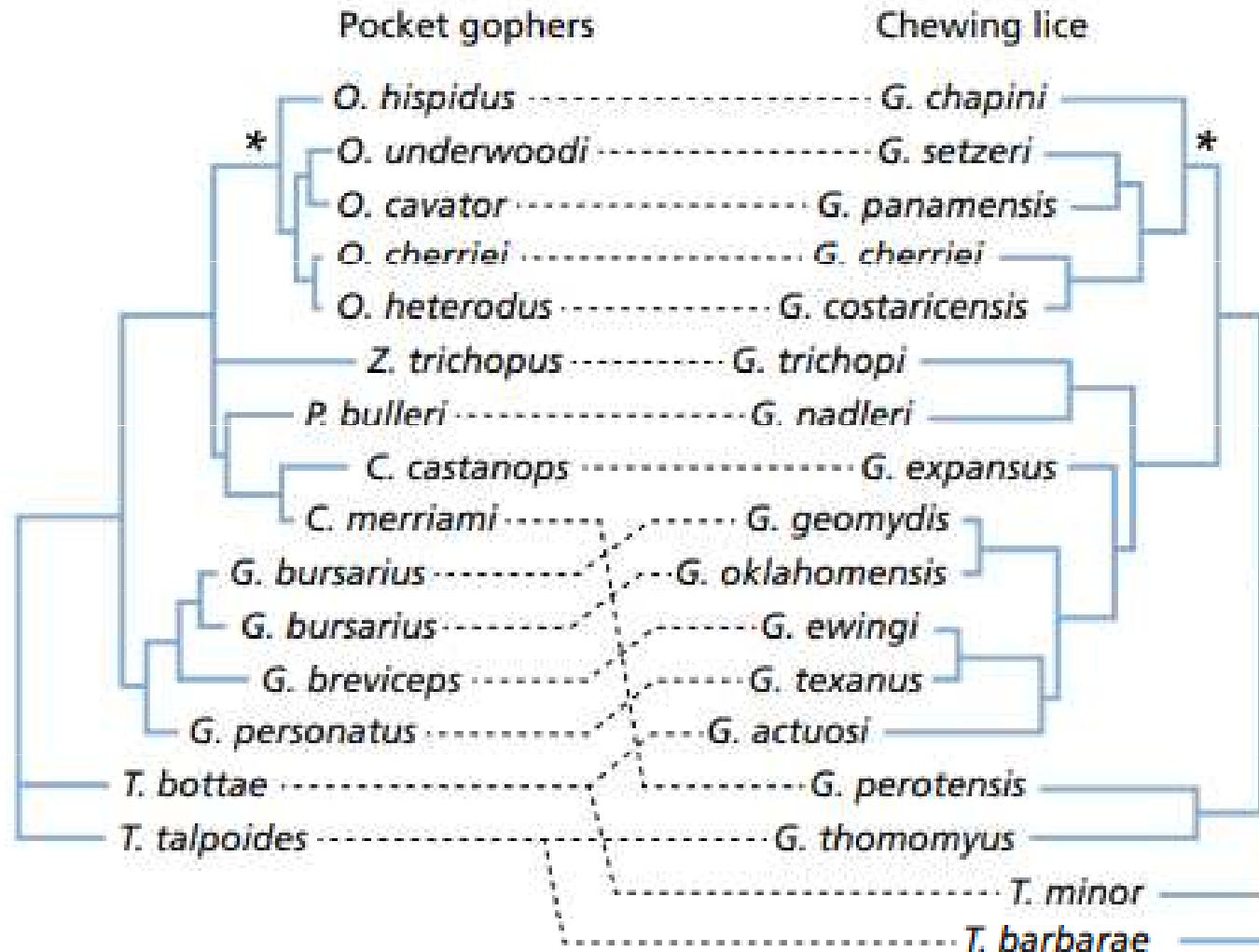


# Koevoluce parazit - hostitel





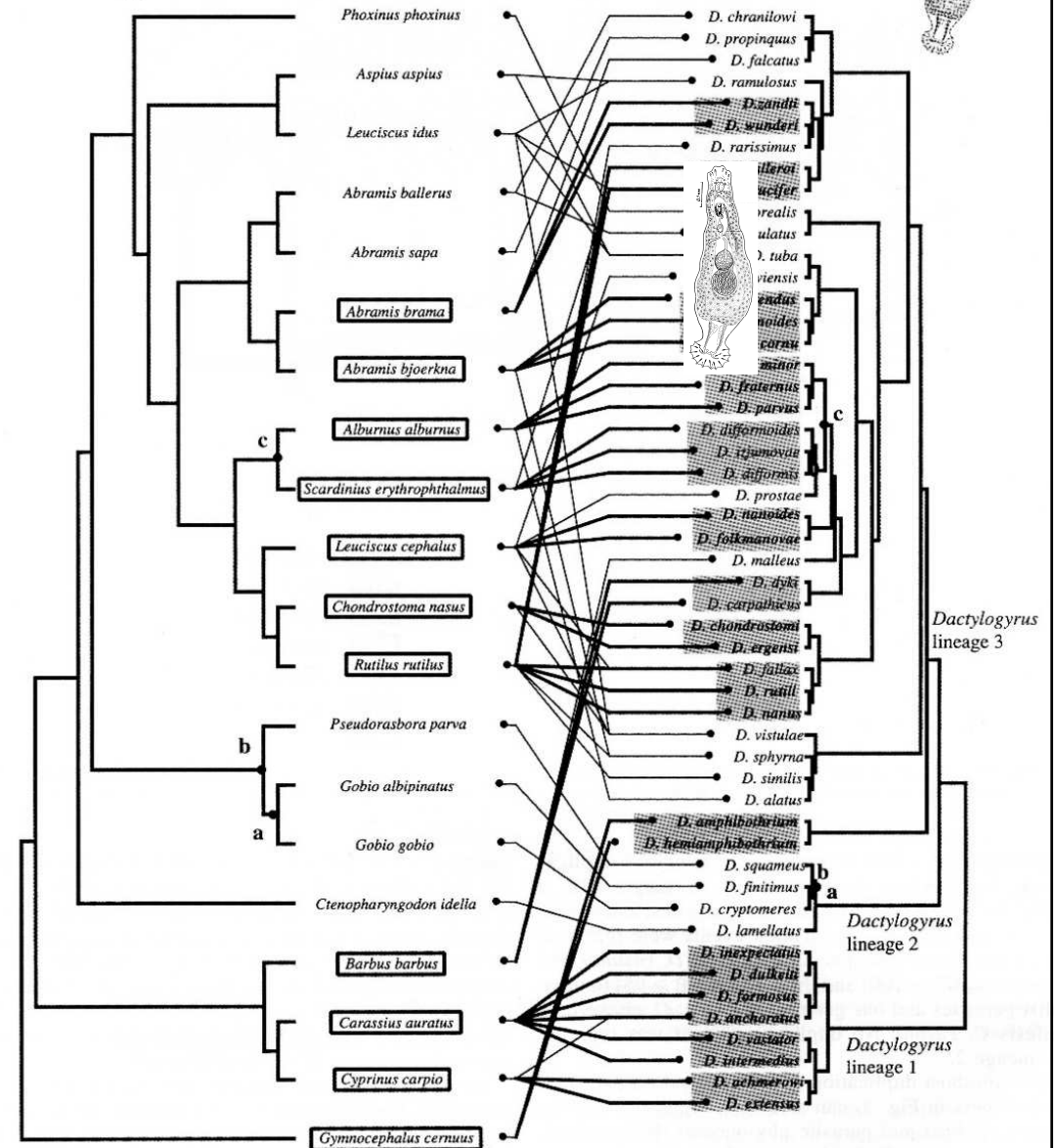
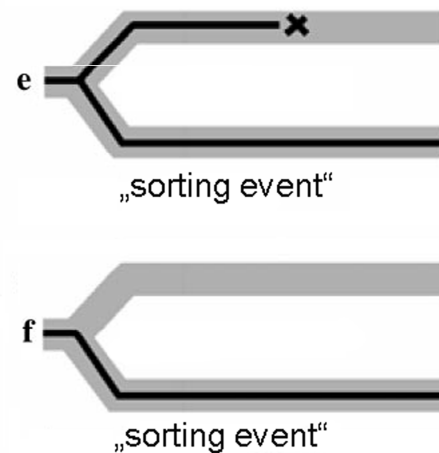
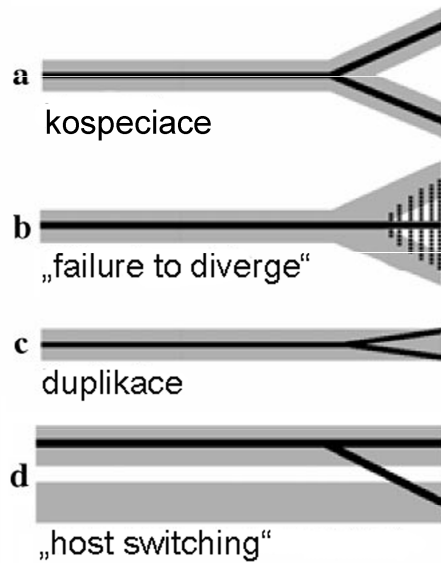
# Kospeciace hostitele a parazita



# Koevoluce v parazito-hostitelském systému

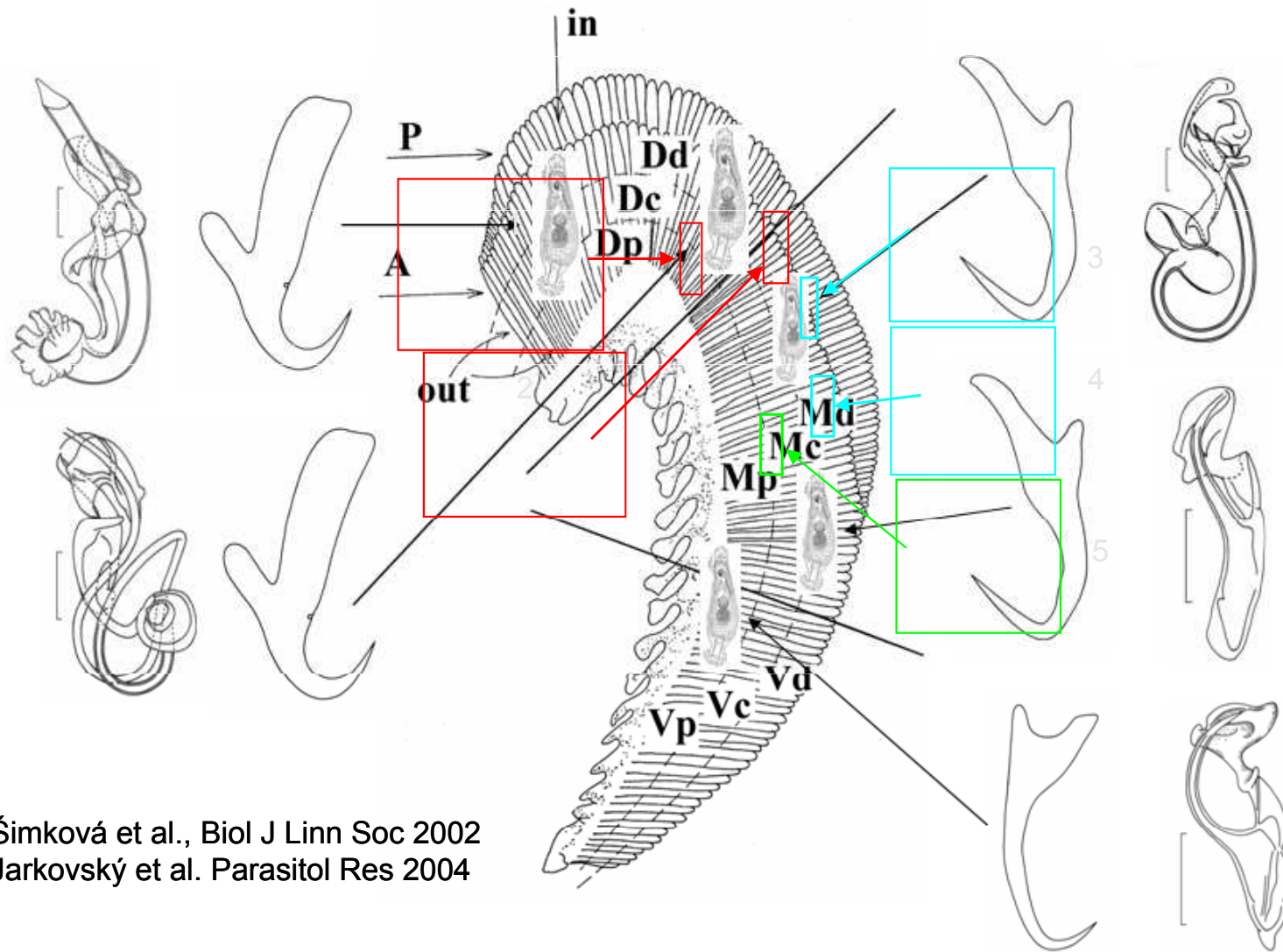


## Host-specific parasites and fish hosts



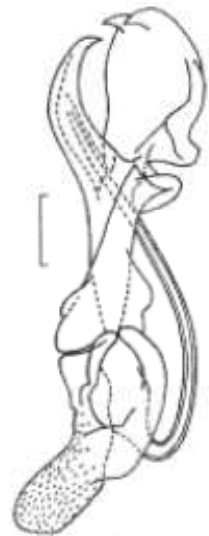
# Studium evolučních mechanismů posilujících koexistenci kongenerických druhů

Specializace niky a reprodukční izolace



Šimková et al., Biol J Linn Soc 2002  
Jarkovský et al. Parasitol Res 2004

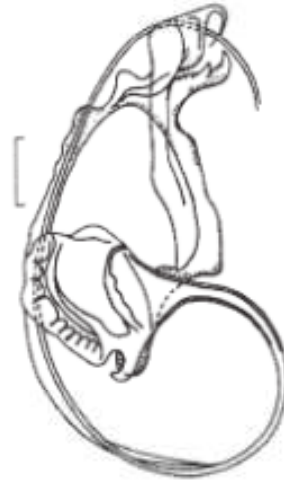
# Reprodukční charakteristiky daktylogyrů koexistujících na jednom hostiteli



*D. caballeroi*



*D. crucifer*



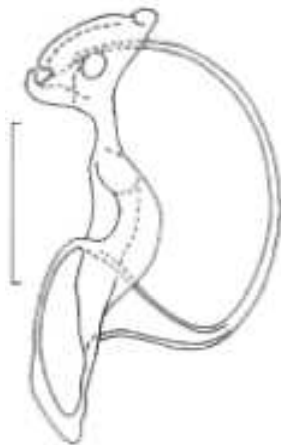
*D. fallax*



*D. nanus*



*D. rarissimus*



*D. rutili*



*D. similis*



*D. sphyrna*



*D. suecicus*

# Agregační model koexistence

## Intraspecifická agregace

$$J_1 = \frac{\sum_{i=1}^P \frac{n_{1i}(n_{1i}-1)}{m_1} - m_1}{m_1} = \frac{V_1 - 1}{m_1}$$

## Interspecifická agregace

$$C_{12} = \frac{\sum_{i=1}^P \frac{n_{1i}n_{2i}}{m_1 m_2} - m_2}{m_2} = \frac{Cov_{12}}{m_1 m_2}$$

## Koexistence druhů

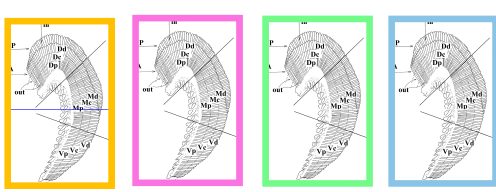
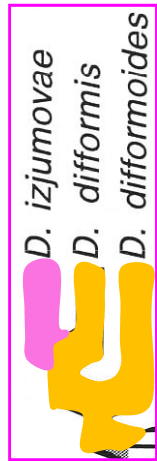
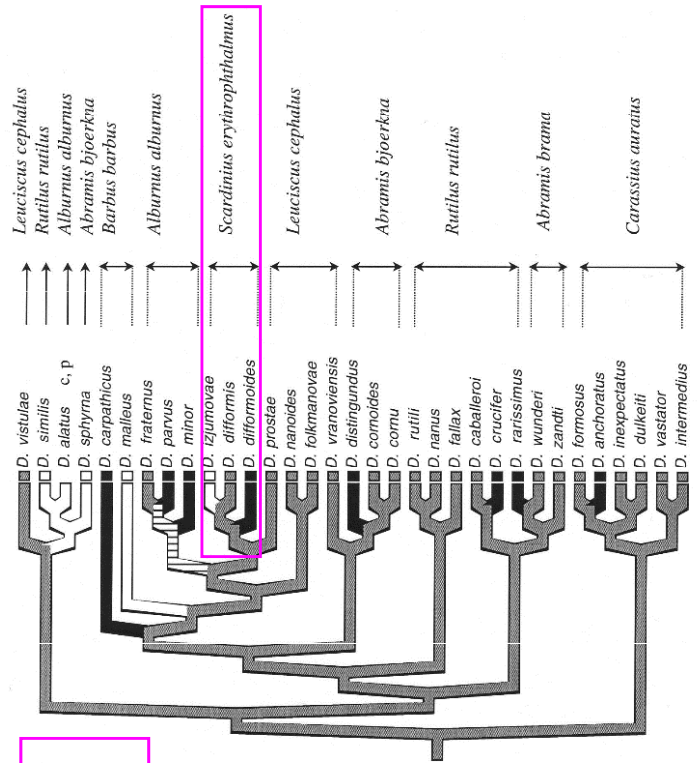
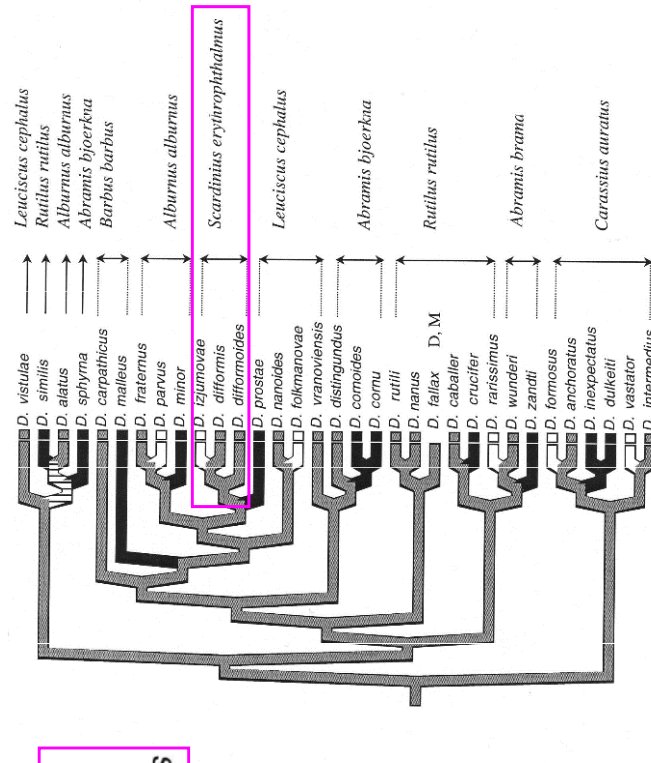
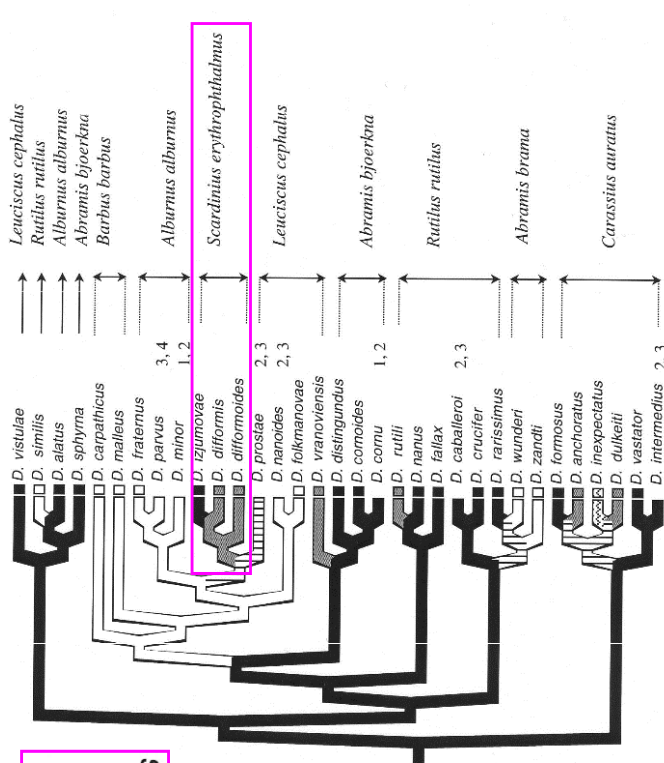
$$A_{12} = \frac{(J_1 + 1)(J_2 + 1)}{(C_{12} + 1)^2}$$

$n_{1i}$ : počet jedinců druhu 1 v sektoru  $i$   
 $m_1$ : průměrný počet druhu 1 na sektor  
 $V_1$ : variance v počtu druhu 1

$n_{1i}, n_{2i}$ : počty jedinců druhu 1 a druhu 2 v sektoru  $i$   
 $m_1, m_2$ : průměrný počet druhu 1 a druhu 2 na sektor  
 $P$ : počet sektorů  
 $Cov$ : kovariance mezi druhy

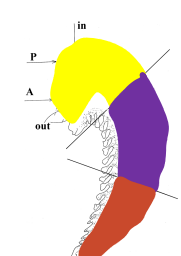
Šimková et al., Int J. Parasitol 2000  
Šimková et al. Parasitology 2001

# Evolve preferované niky



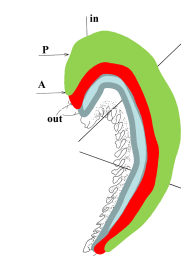
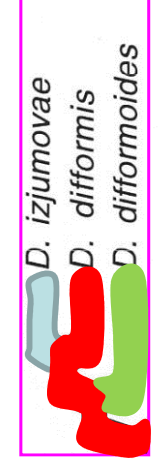
Arch

- 1
- 2
- 3
- 4
- equivocal



Segment

- Dorsal
- Medial
- Ventral
- equivocal

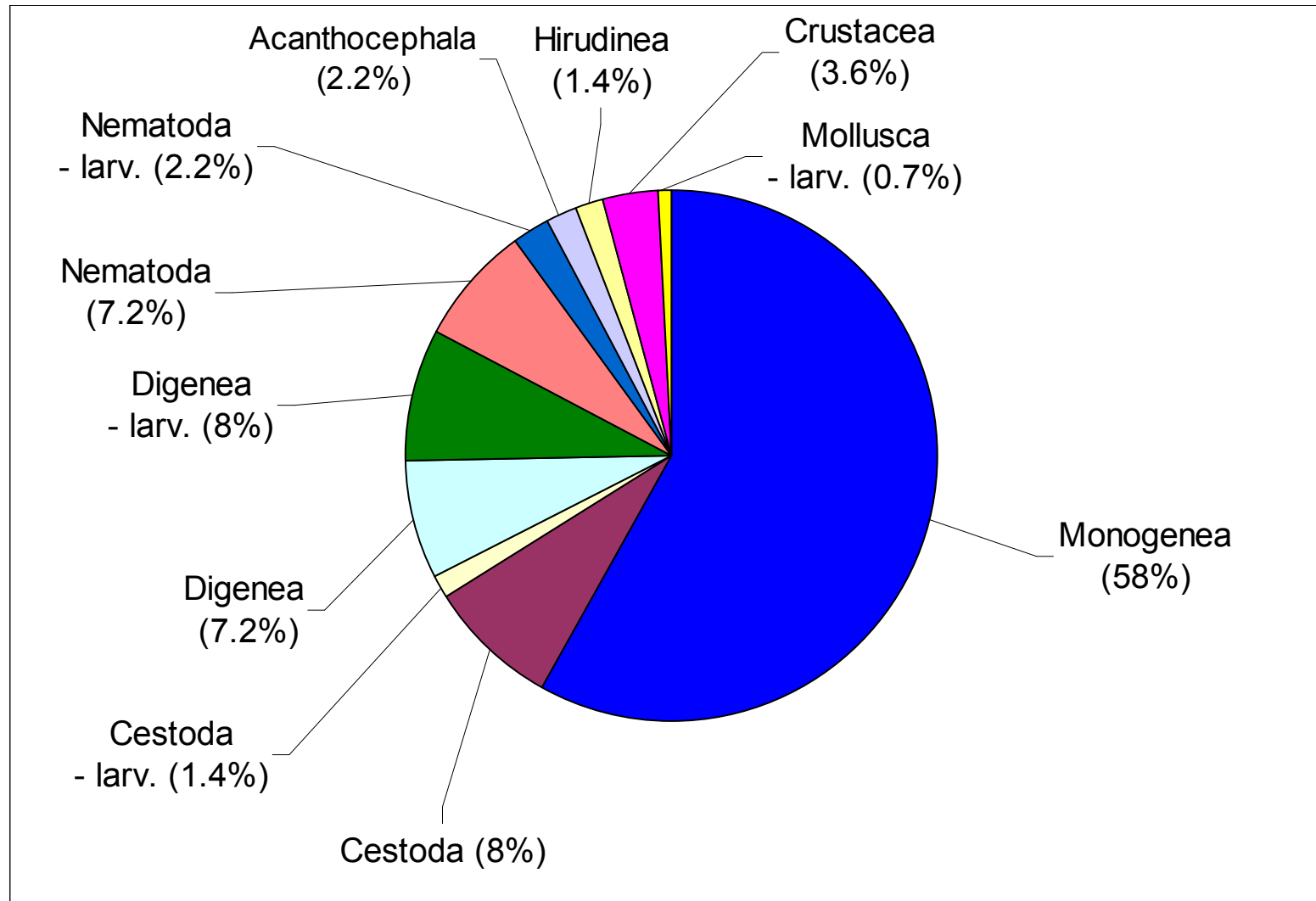


Area

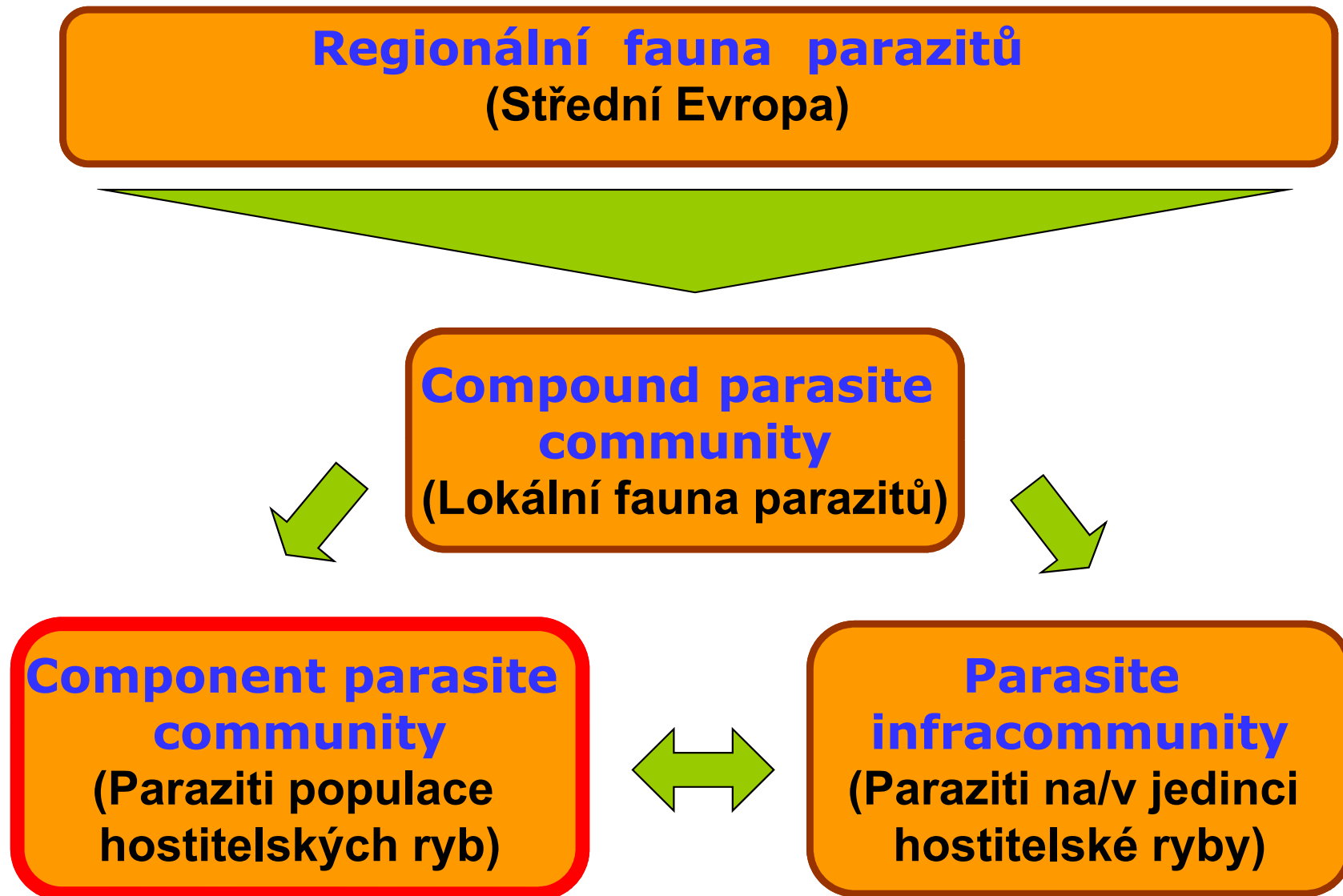
- Distal
- Central
- Proximal
- equivocal

# Regionální fauna cizopasníků

Relativní proporce (v %) metazoárních parazitů náležejících do hlavních systematických skupin

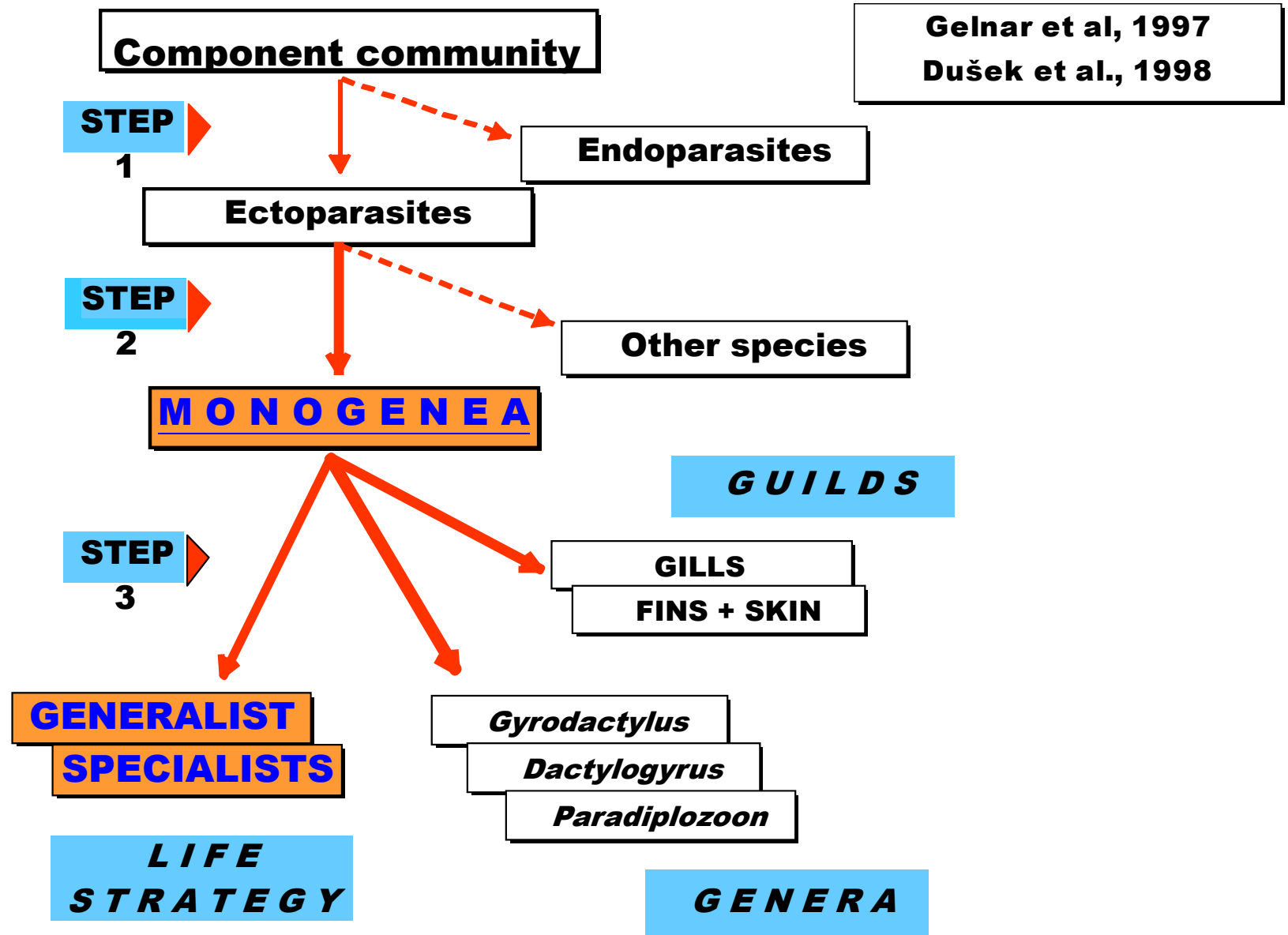


# Koncept společenstev cizopasníků





# Fractionace společenstva cizopasníků



# Příkladová studie: srovnání dvou lokalit A– B

**MONOGENEA**

*Gills, Fins Skin*

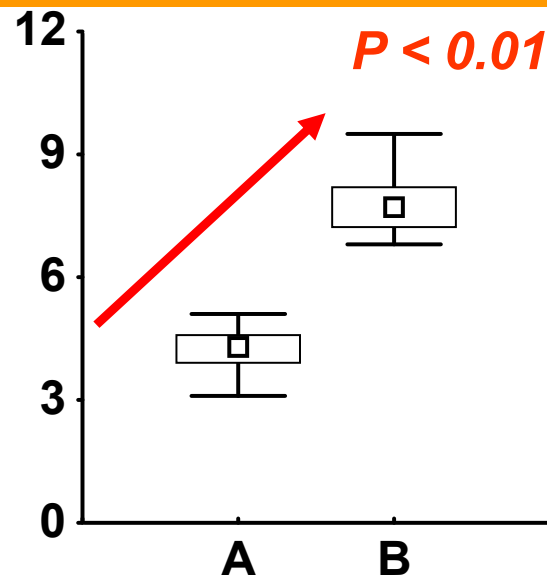
$p = 0.785$

*Gyrodactylus*  
*Dactylogyrus*  
*Paradiplozoon*

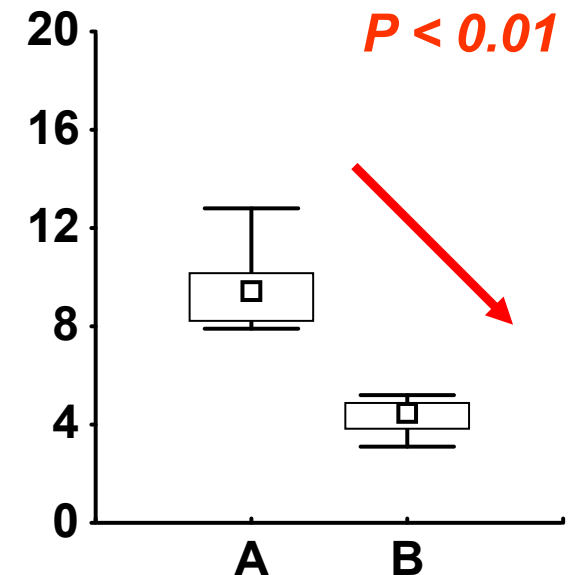
$p = 0.412$

**Life strategy (generalist vs. specialist): Q**

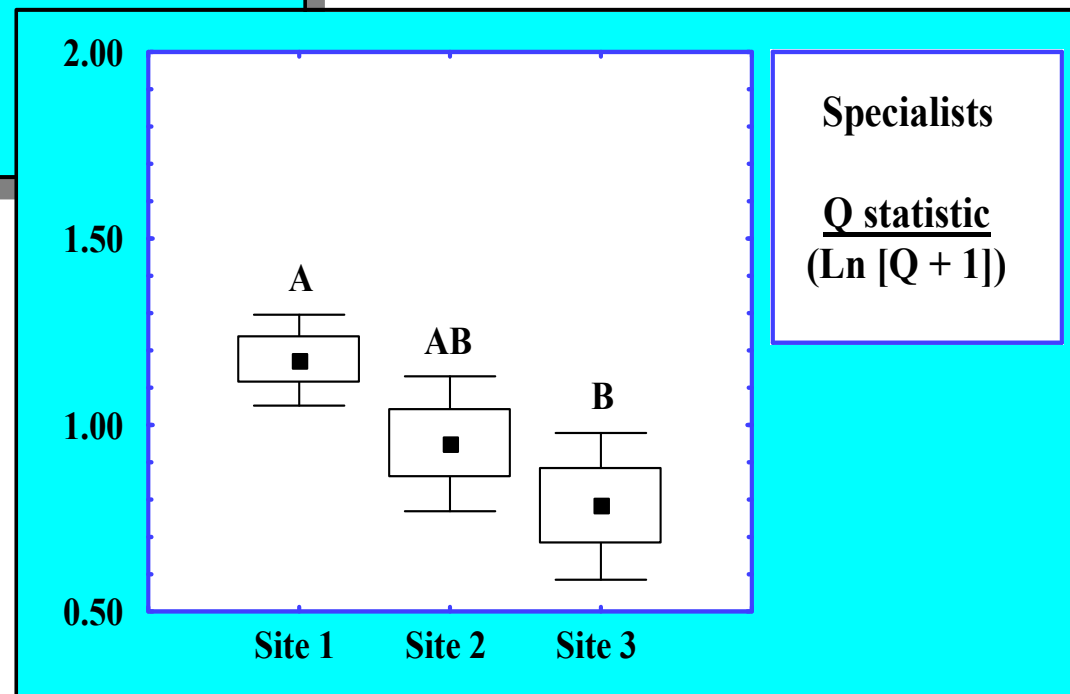
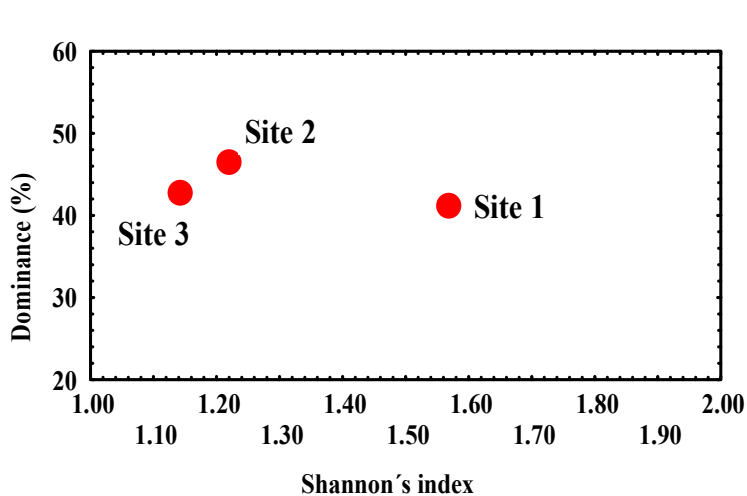
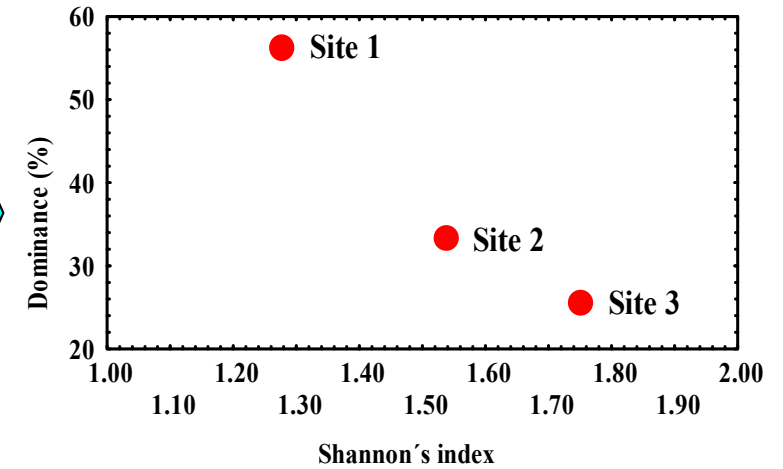
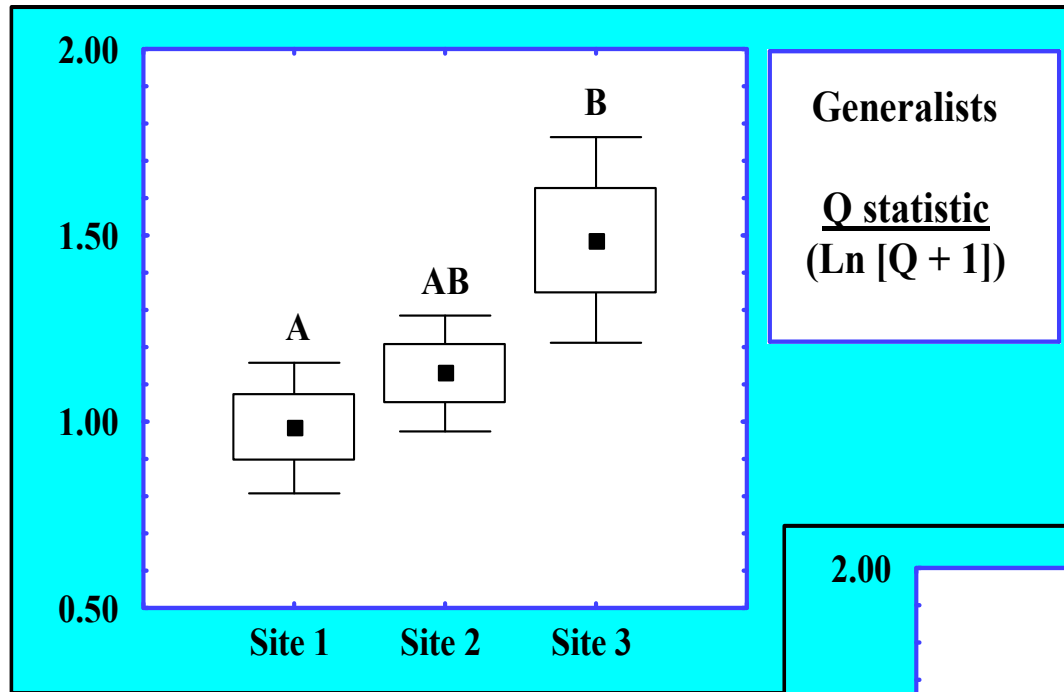
**Generalists**



**Specialists**



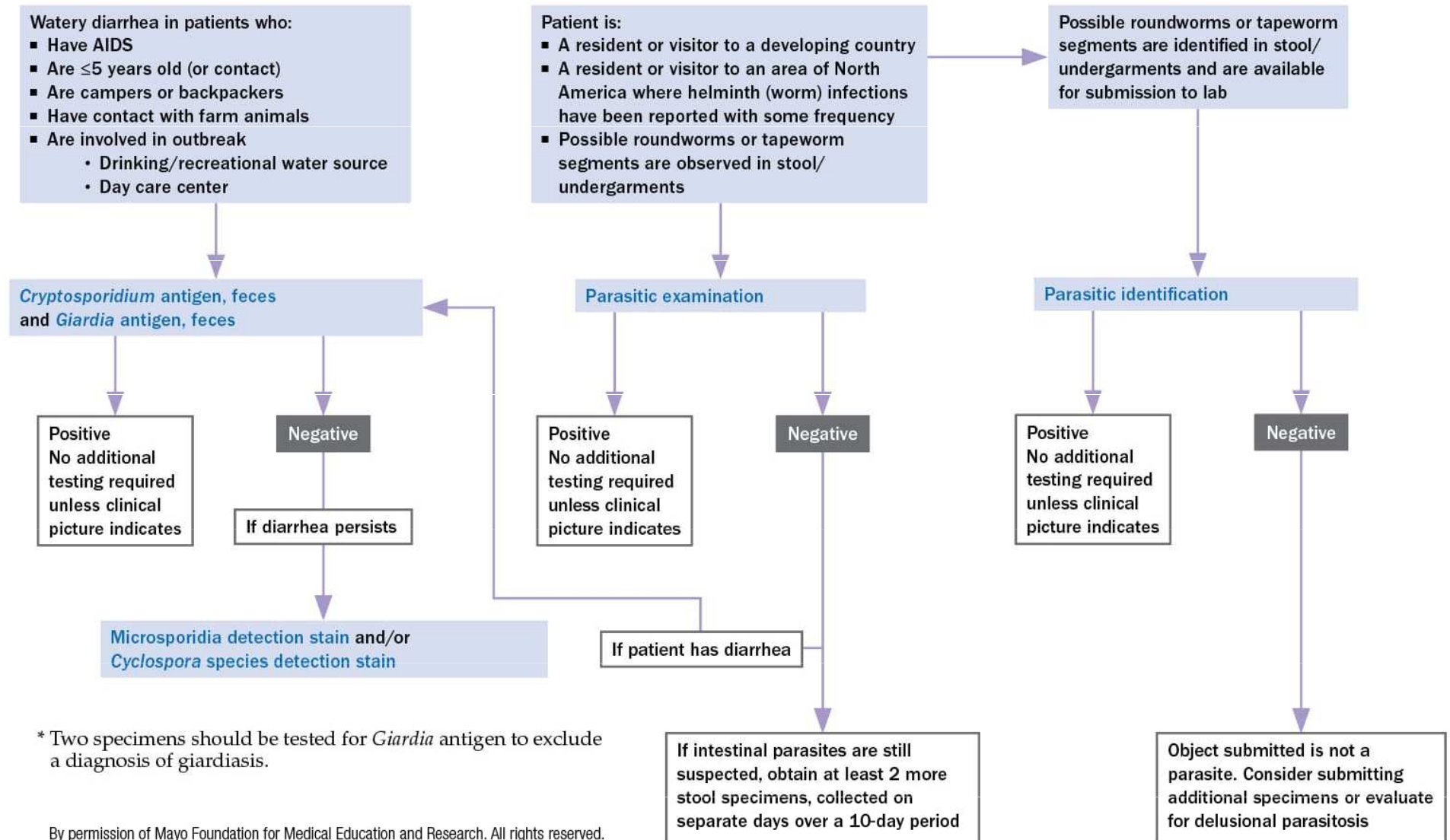
# Příkladová studie - srovnání tří lokalit: Q statistic, Shannon's diversity ( $H'$ ) and dominance (D) Monogenea: specialists vs. generalists



# Koprologické metody

# Příklad – parazitologické vyšetření stolice

## Parasitic investigation of stool specimens



# Koprologické metody

soubor metod používaných v parazitologii k diagnostice parazitárních infekcí z trusu zvířete nebo ze stolice člověka

jedná se o základní, jednoduchou, neinvazivní, časově nenáročnou a velmi efektivní formu diagnostiky (monitorování zdraví u divokých zvířat)

principem je detekce vajíček helmintů, jejich larev či dospělců a exogenních vývojových stádií (oocyst, cyst, spor...) parazitárních protistů ve vzorcích trusu/stolice

přestože u řady parazitů neprobíhá vývojový cyklus v zažívacím traktu hostitele, opouští vývojová stadia tělo parazitovaného jedince trusem/stolicí

# Sběr a uchovávání vzorků

čerstvý fekální materiál (z důvodu možného zkreslení výsledku vzhledem k omezení životaschopnosti trofozoitů parazitických prvoků nebo rychlému vývoji a líhnutí L1 larev některých nematod během několika málo hodin či dnů)

vzorky sbíráme do čistých nádob (sáčků), označíme druhem zvířete, datem odběru, lokalitou, věkem zvířete (důležité pro určování parazita)

optimální množství materiálu je cca 10 g

vzorky ihned zpracováváme nebo uchováme v chladnu či fixujeme (chemické směsi obsahující např. etanol, formaldehyd, k. octovou, k. propionovou, dichroman draselný, glutaraldehyd)

# Nativní preparát

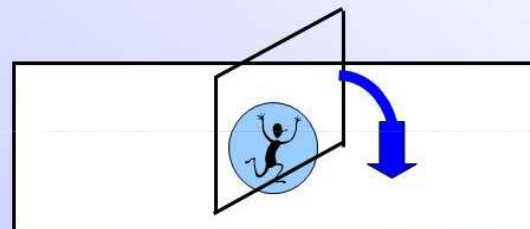
přímá prohlídka stolice v kapce fyziologického roztoku, případně se přidává Lugolův roztok na obarvení cyst prvoků

přítomnost pohyblivých stádií bičíkovců, nálevníků a měňavek  
identifikace na základě velikosti, tvaru, povrchových struktur a typického pohybu

může se nechat zaschnout,  
fixovat a barvit (→ zvýraznění  
bezbarvých parazitů)

## Příprava nativního preparátu

1. kapka média do středu podložního skla (velikost kapky)



2. vložíme objekt (orientace)

3. přikryjeme krycím sklíčkem

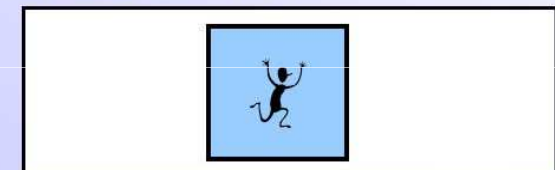
**!!! bubliny !!!**

### Jak položit krycí sklíčko?

- hranou na podložní sklo pod úhlem 45°, podepřít jehlou a přiklopit
- uchopit za hrany do dvou prstů, položit kolmo shora

### Přiměřené množství média

- přikápnout
- odsát





# Makroskopická diagnostika

slouží k detekci dospělců (škrkavek, roupů aj.) nebo jejich částí (článků tasemnic)

zjištění neobvyklého vzhledu, barvy a konzistence, případně příměsí krve a hlenu v trusu může napovědět přítomnost parazitů



# Tlustý roztěr

diagnostika vajíček helmintů

do kapky vody se rozmíchá určité množství stolice;

směs se rozetře na sklíčku (vrstva má být tak silná, aby přes ni nebylo možno číst);

roztěr se nechá zaschnout

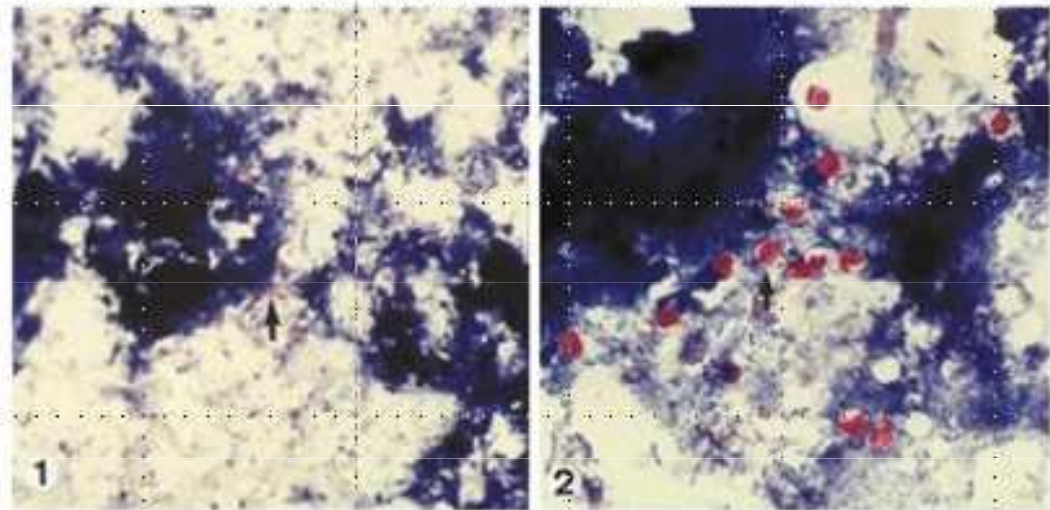


Fig. 1 and 2 - *Cryptosporidium* spp oocysts in fecal smear. Acid-fast staining using alcohol-chloride acid solution (250x and 1000x).

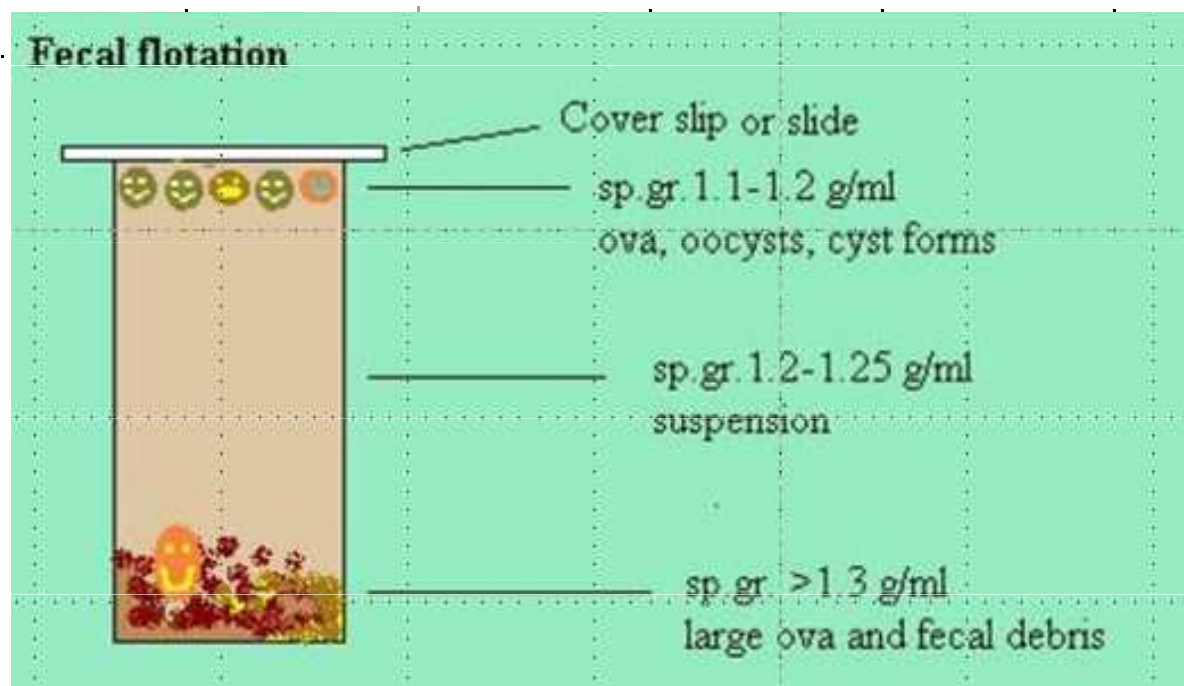
# Koncentrační metody: Flotace

metoda využívající rozdílných hustot parazitárních útvarů a použitého flotačního roztoku (vyšší hustota), takže parazitární útvary vyplavou na hladinu, odkud se sbírají a přenášejí na mikroskopické sklíčko

preparáty se ihned prohlížejí

detekce menších vajíček a larev hlístic, tasemnic a oocyst kokciidií

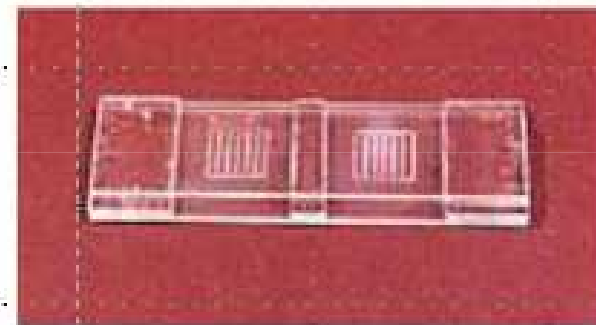
např. Sheatherova metoda



# Koncentrační metody: McMasterova kvantifikační metoda

umožňuje vypočítat intenzitu infekce

navazuje na flotační metodu, tekutina z hladiny se vlije do McMasterovy komůrky, pomocí čtverců v ní obsažených se vypočítá množství vývojových stádií parazitů v gramu trusu



# Koncentrační metody: sedimentace

metody využívající gravitace a hustoty roztoku k tomu, že těžká vajíčka a cysty sedimentují na dno zkumavky

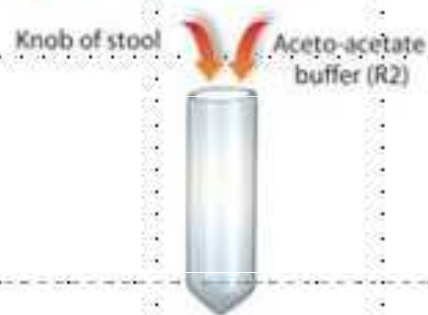
pro zvýšení rychlosti sedimentace se často používá centrifugace za použití různých sedimentačně-koncentračních roztoků (složení použitých směsí umožňuje sedimentaci a čistí koprologický materiál od balastu, který ztěžuje prohlížení)

detekce cyst prvoků a vajíček helmintů (motolic) a některých hlístic

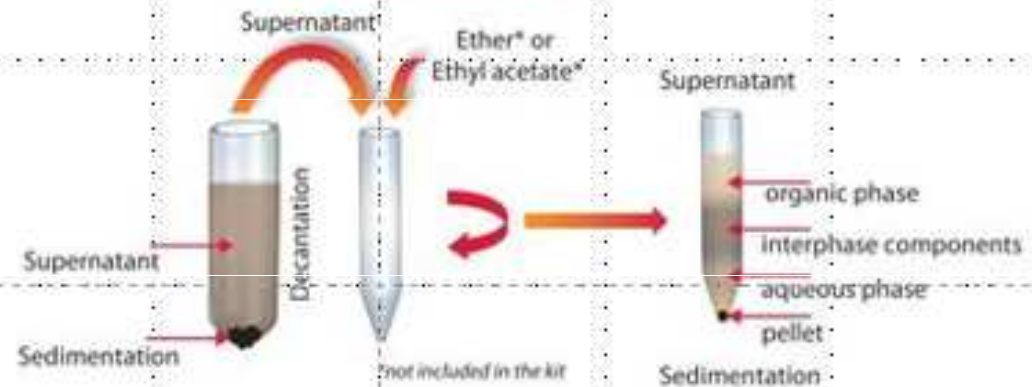
# Schéma sedimentace

## Sedimentace

### STEP 1: Preparation



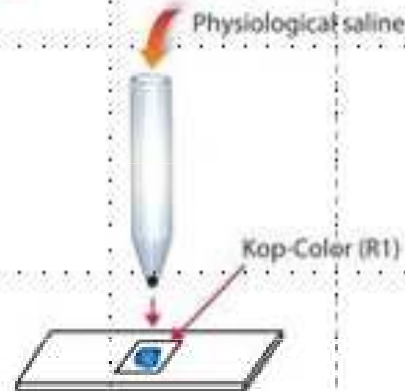
### STEP 2: Centrifugation



### STEP 3: Discard supernatant



### STEP 4: Slide preparation



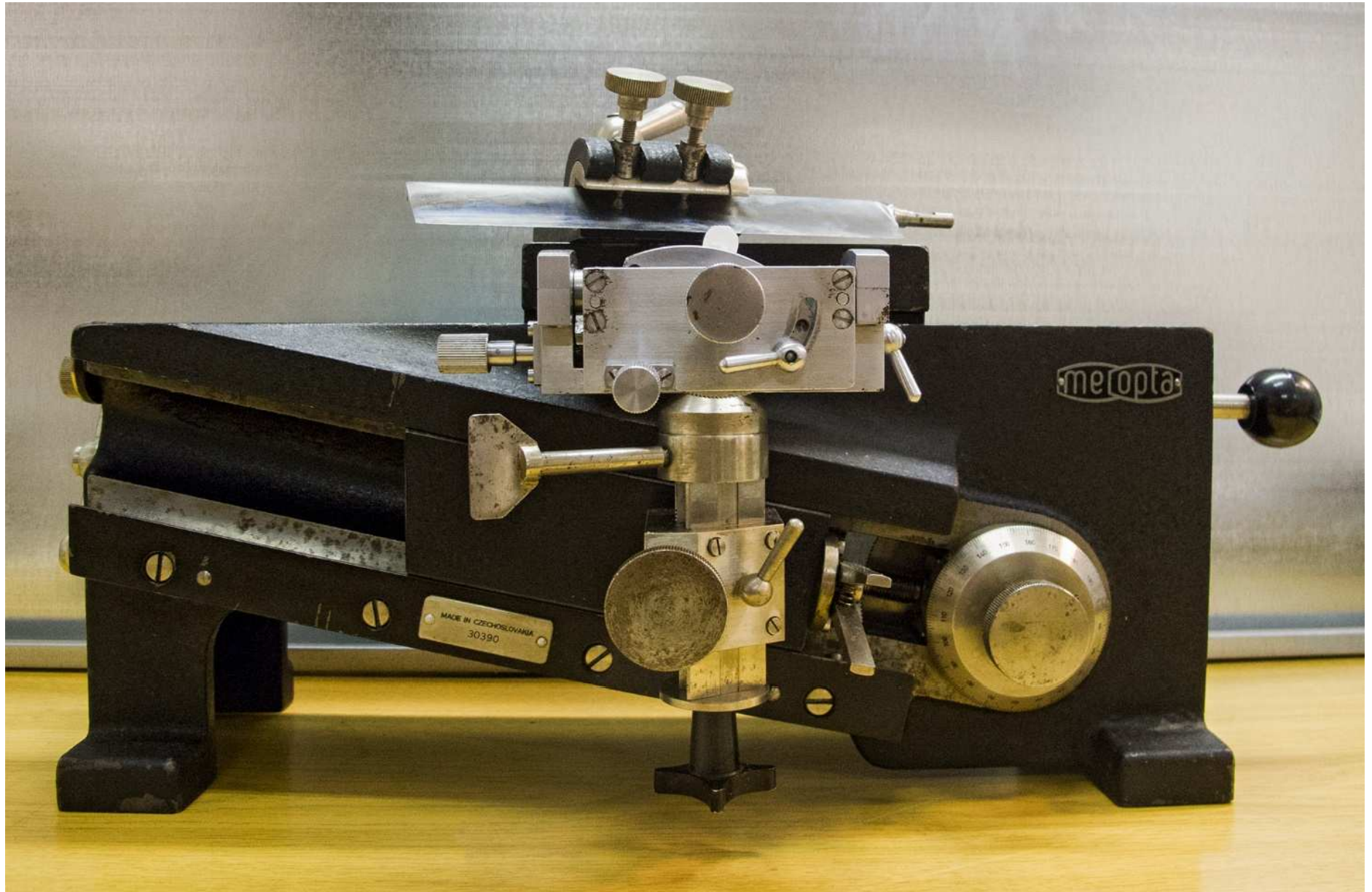
### STEP 5: Microscopic examination with blue filter

Parasites are yellow; yellow-brange or brownish-yellow on a more or less dark blue background



*Entamoeba histolytica*

# Histologické metody



# Rotační mikrotomy

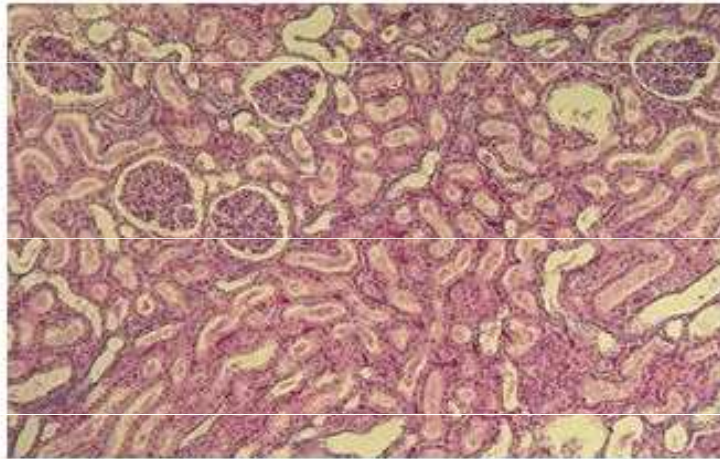




# Druhy preparátů

Podle způsobu přípravy:

**Řezové preparáty (histologické řezy – poloténkové, tenké, tlusté řezy žiletkou)**



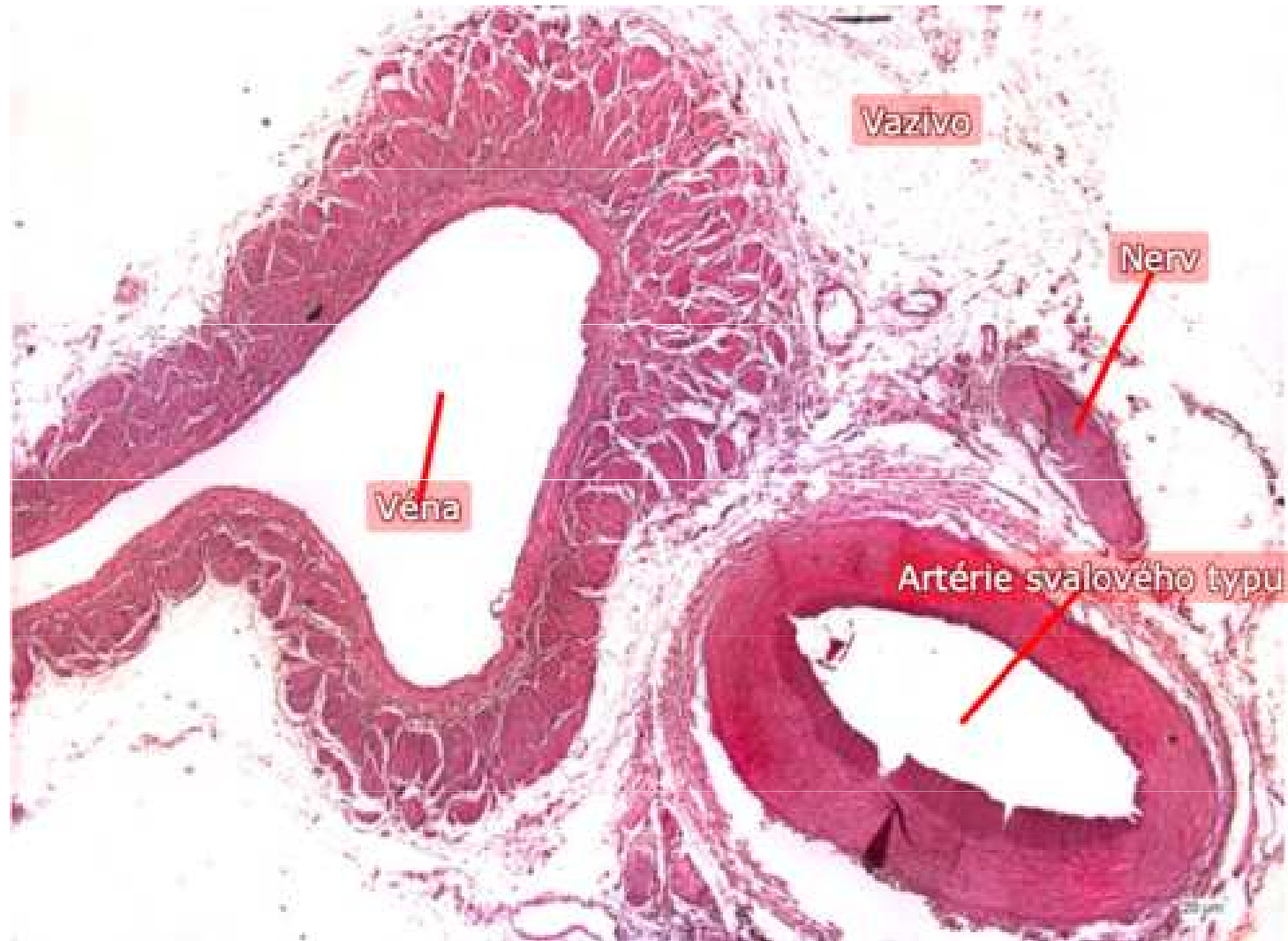
Objekt: ledvina  
savce

**Roztlaky (karyotypy)**

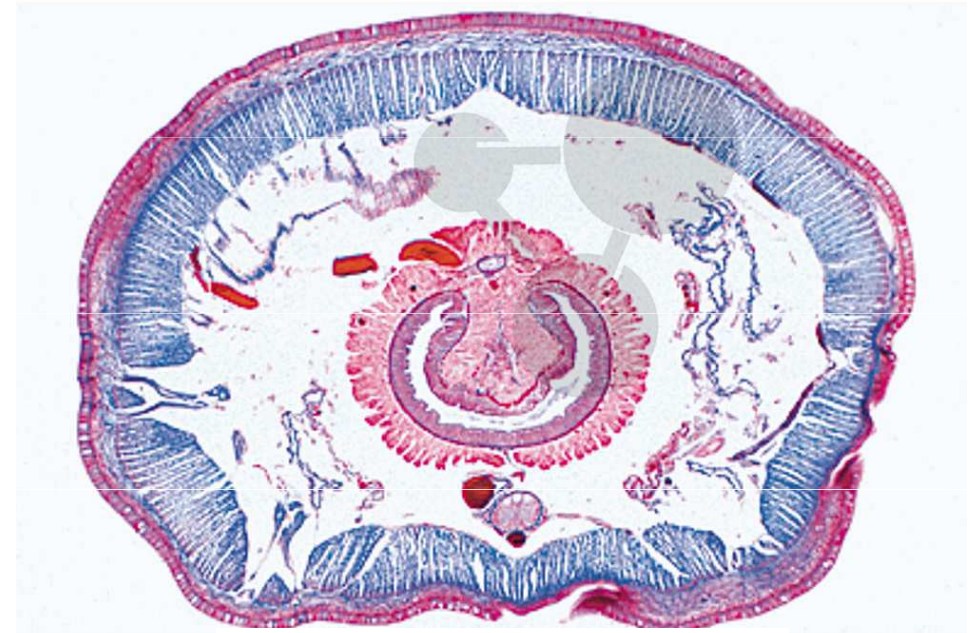
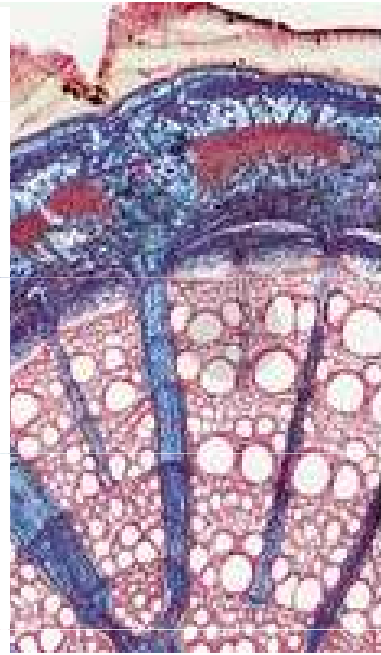
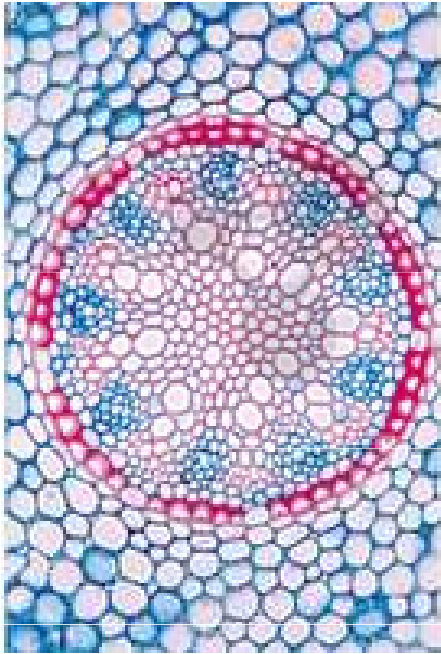


Objekt: obří  
chromozómy,  
slinné žlázy  
larvy pakomára

# Histologický preparát



# Histologické řezy



# Fixační směsi - FAA (FPA)

Formaldehyde - Acetic (Propionic) acid - Aethanol

- 50% nebo 70% ethanol 90 ml
- ledová kyselina octová 5 ml
- 37 - 40% formaldehyd 5 ml

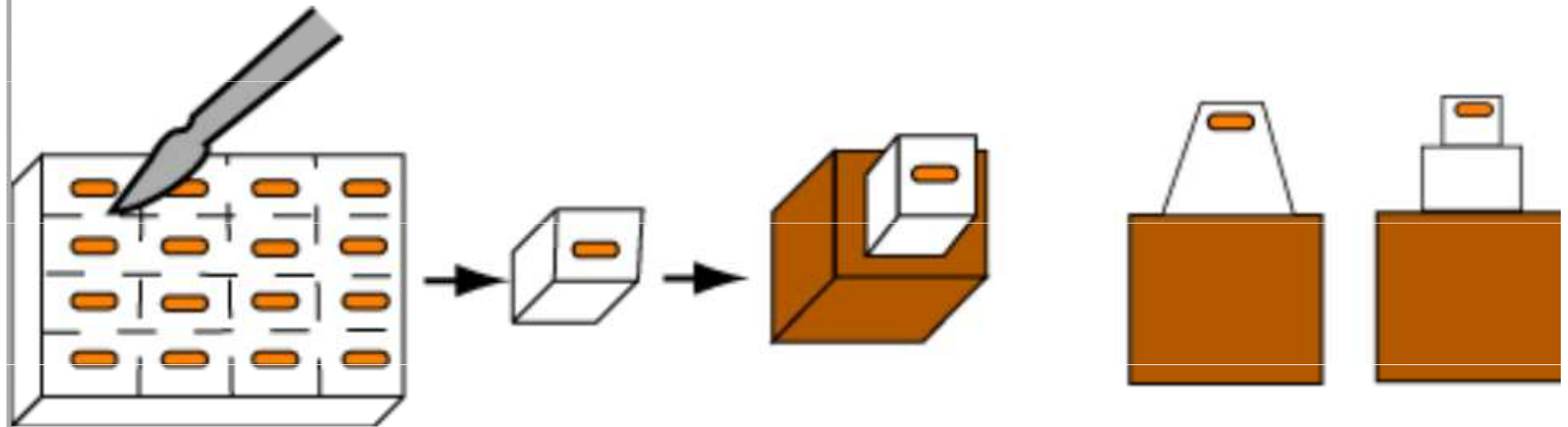
fixáž koagulující

stálá

rychle proniká

pro anatomické účely

# Příprava bločku ke krájení

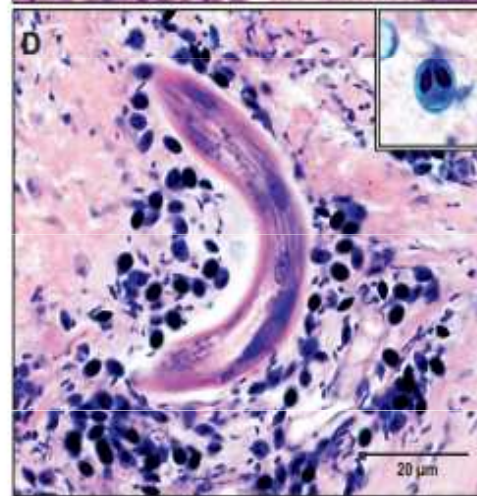
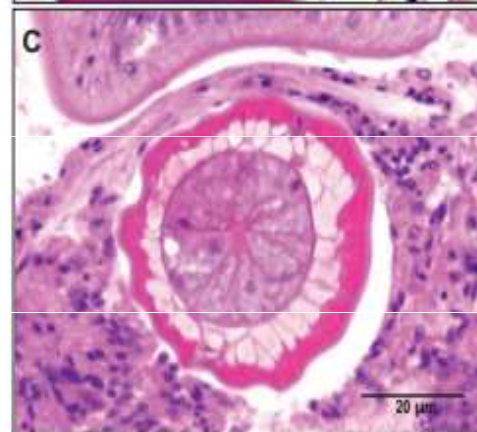
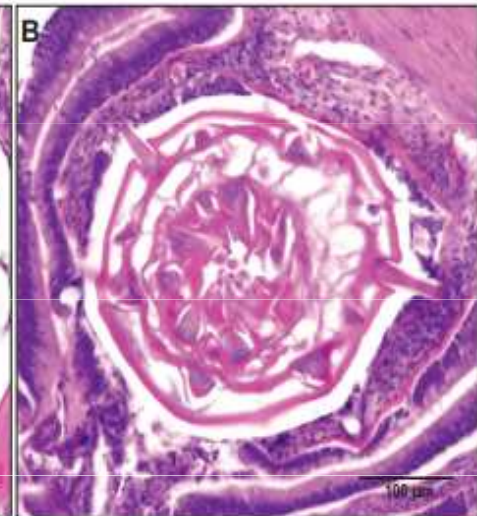
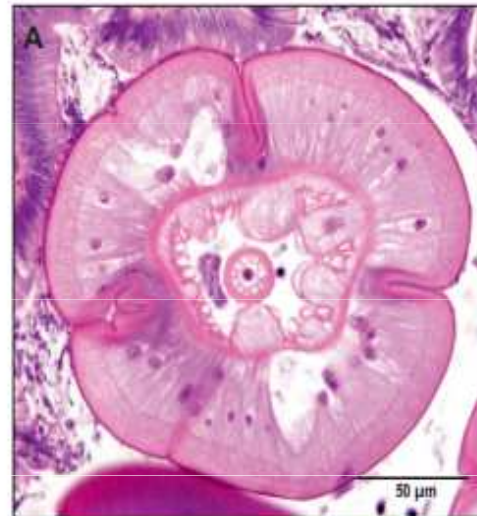
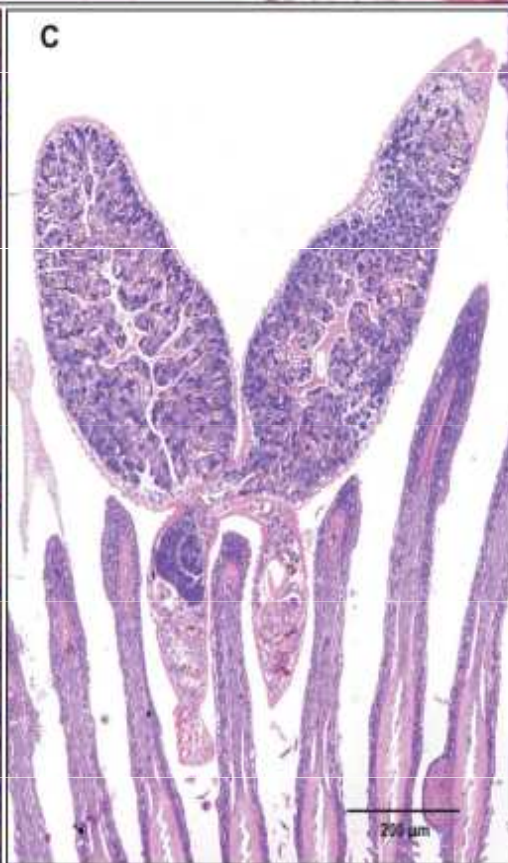
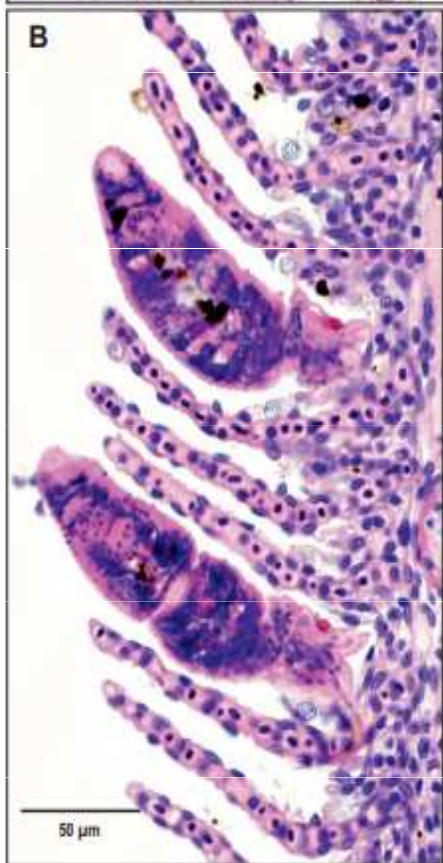


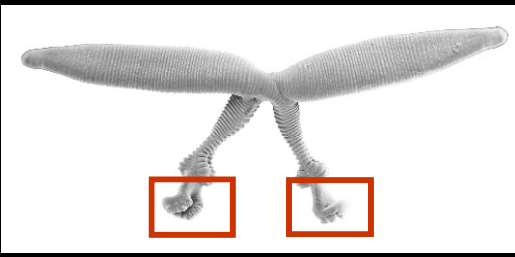
dělení bloku  
parafínu

izolovaný  
bloček  
parafínu

přítavení bločku  
parafínu na  
dřevěný špalík

trimování  
bločku  
parafínu

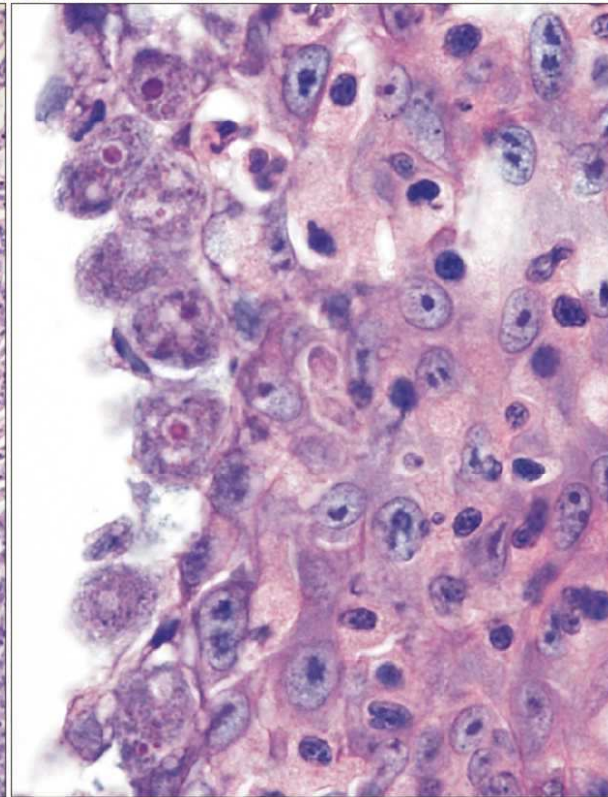
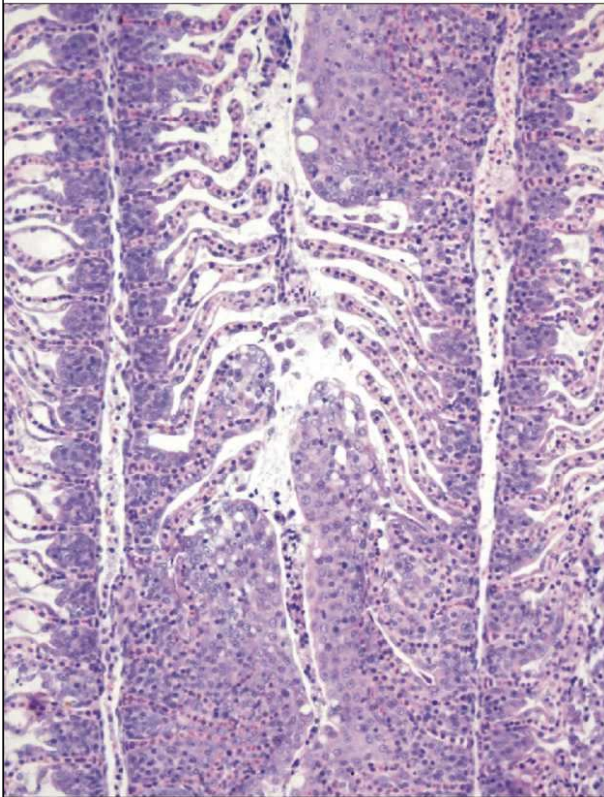
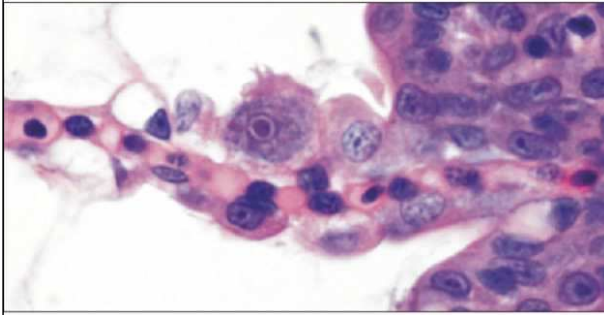
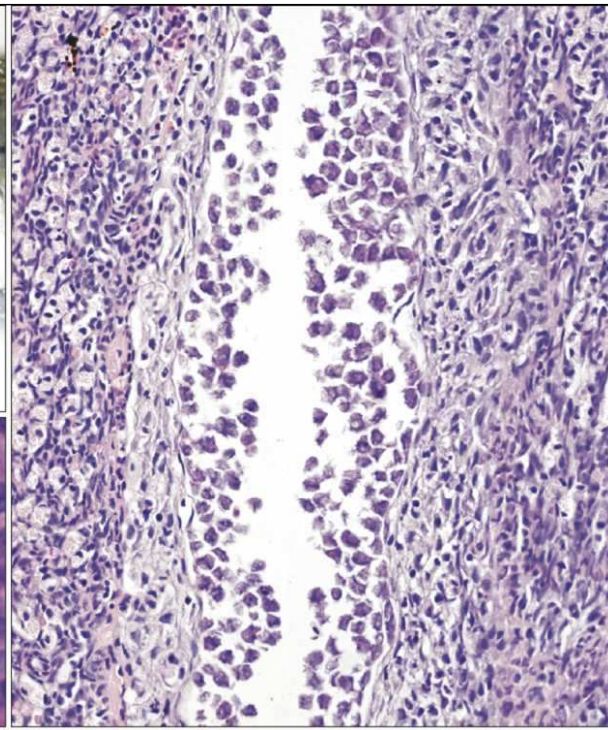
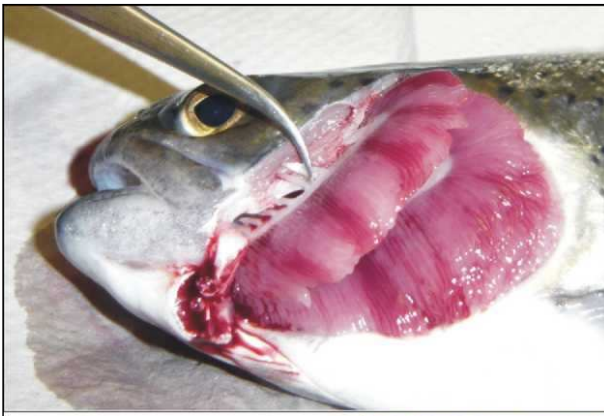




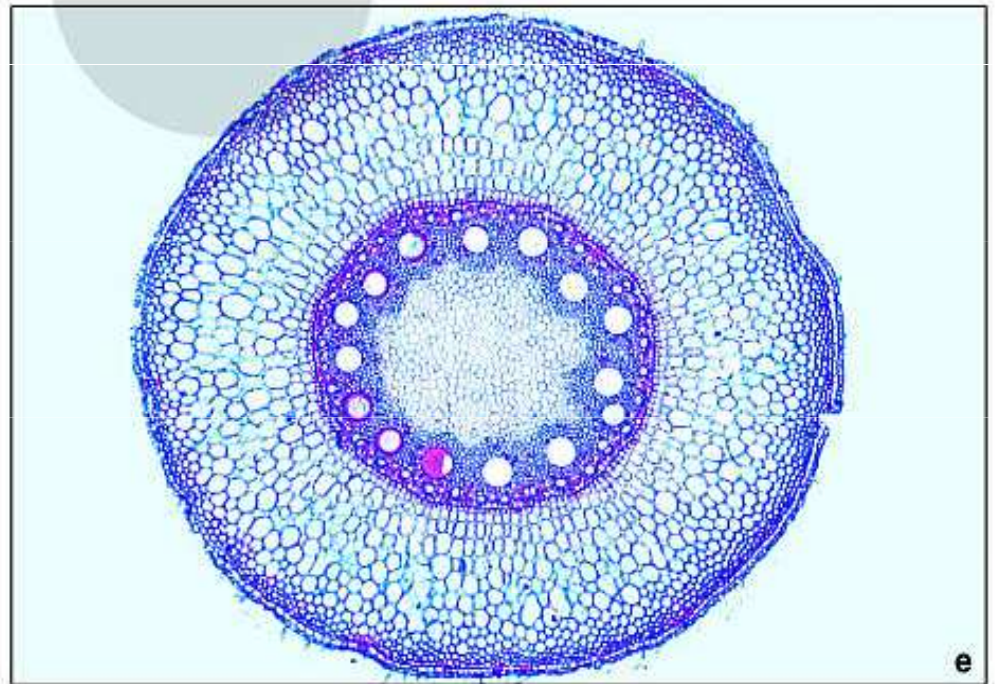
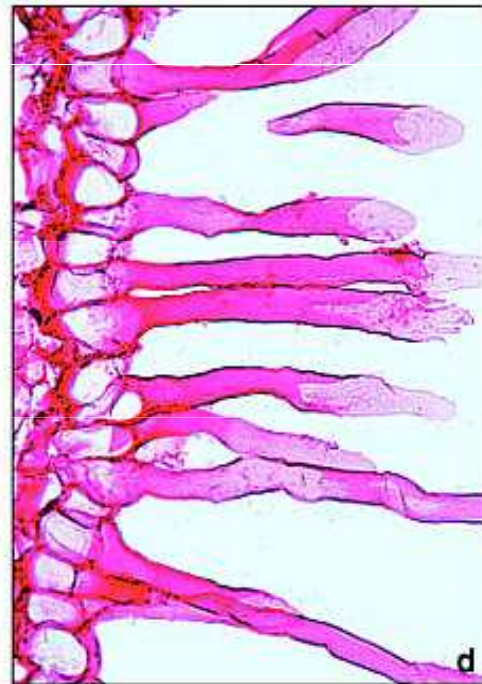
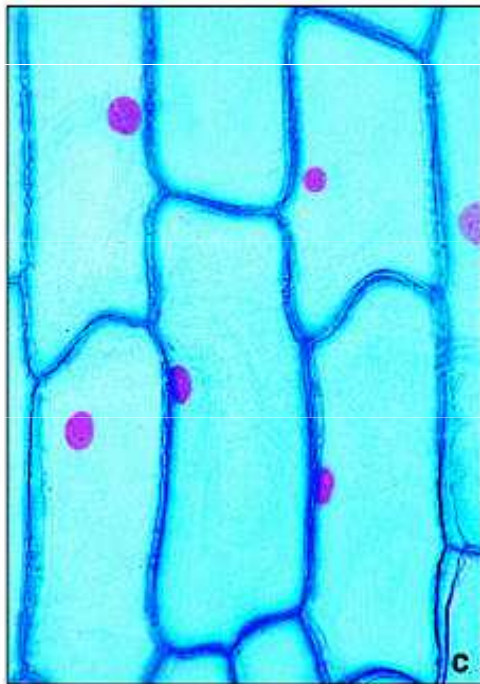
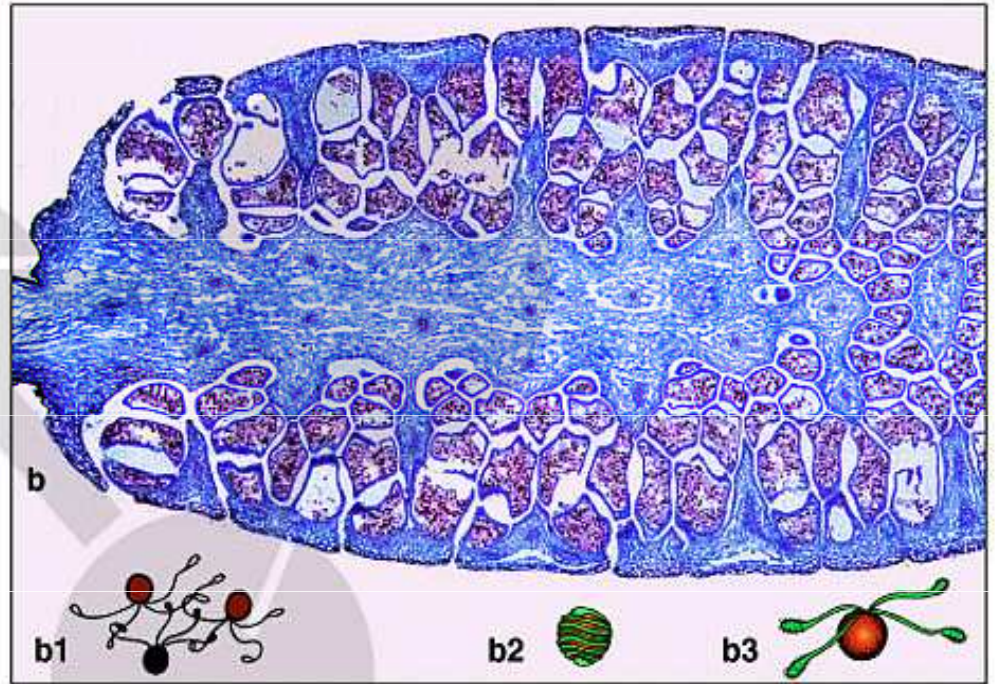
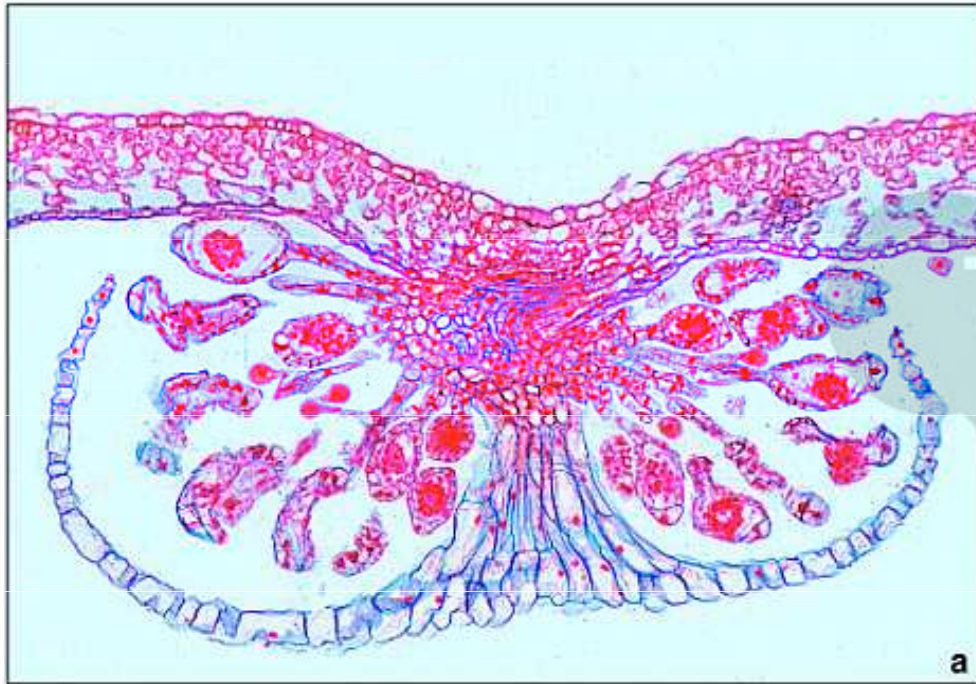
## *E. nipponicum* - histology



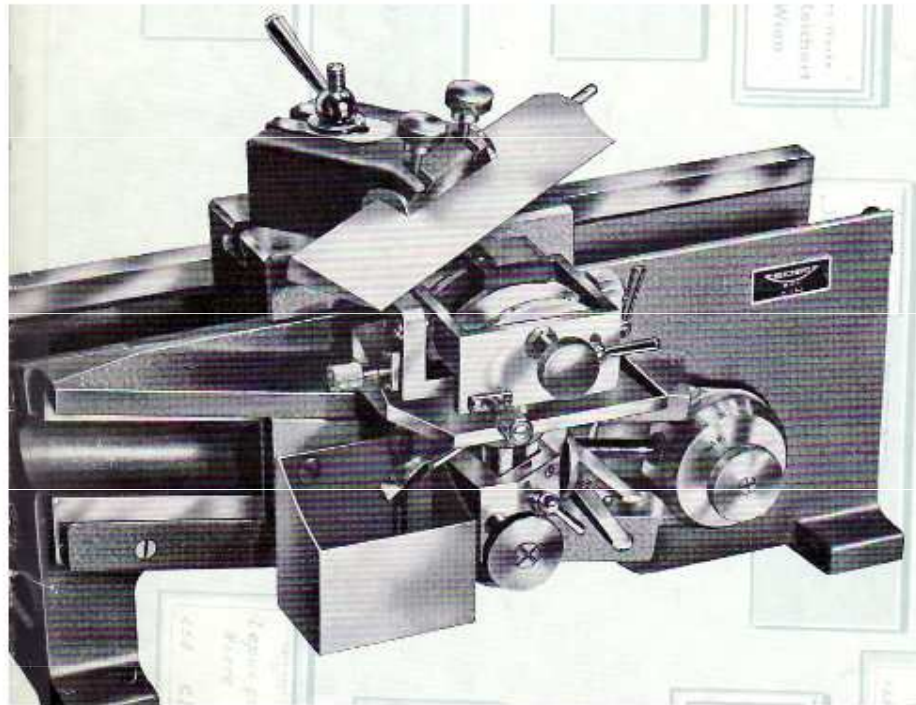
LM (Histological sections, Masson's trichrome)







# Mikrotomy



sáňkový mikrotom Reichert



rotační mikrotom Leitz

# Utramikrotom – poloténkové- řezy



# Skleněné a porcelánové kyvety s víčkem



Hellendahl



Coplin



na 6 skel



Schiefferdecker



Dóza s držákem skel



# Sada plastových kyvet na barvení



skla v držáku se přenášejí z jedné lázně do druhé najednou

# Kryostat



# Manupulace s kryostatem



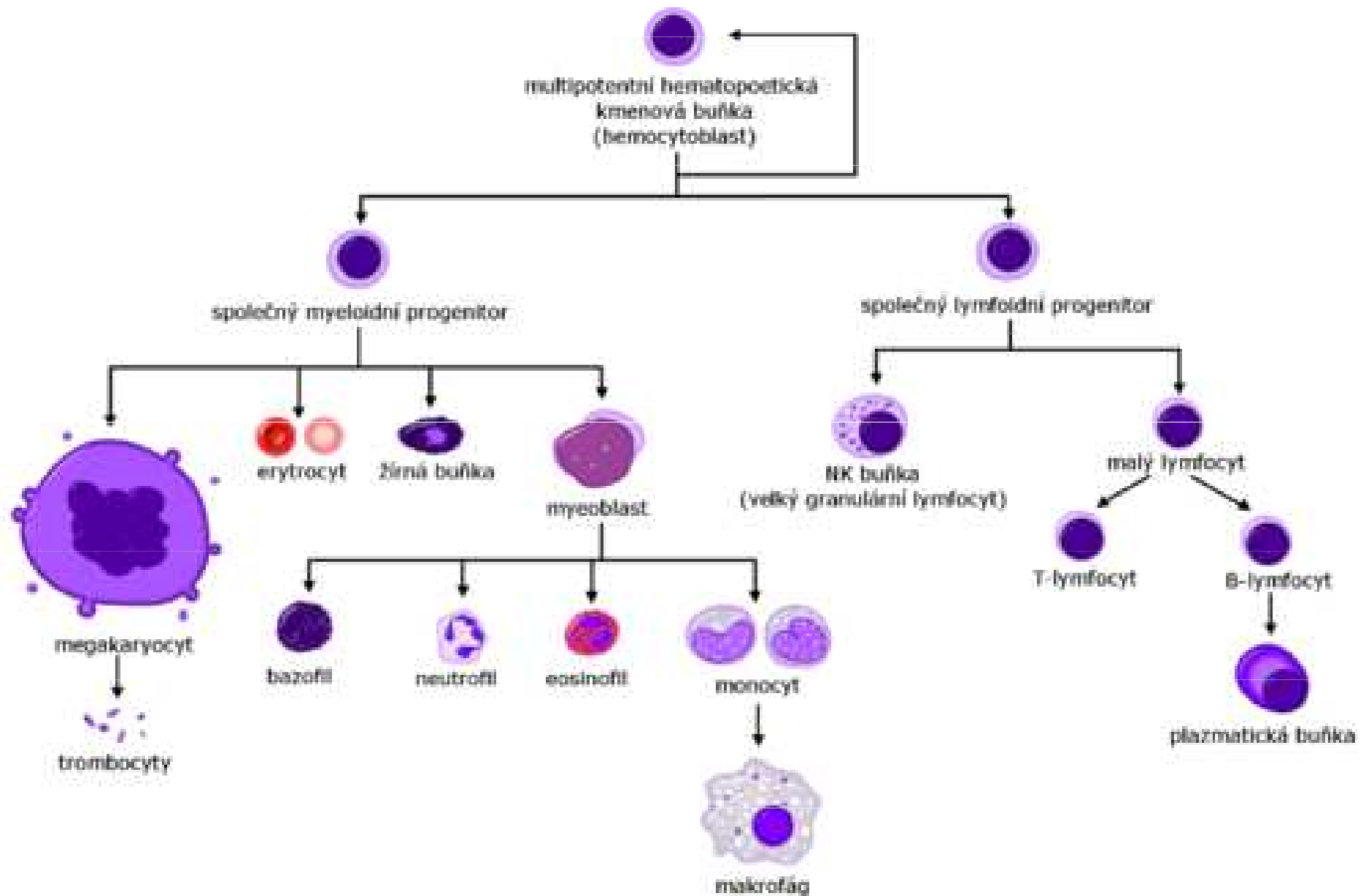
# Kryostat



mikrotom pro přípravu řezů zmrazených objektů



# Hematologické metody



# Hematologická laboratoř



# Metody molekulární parazitologie

# Laboratoře molekulární parazitologie



# Laboratoř PCR



## Polymerázová řetězová

reakce (PCR, [anglicky](#) *polymerase chain reaction*)

je metoda rychlého a snadného zmnožení

úseku [DNA](#) založená na

principu [replikace nukleových kyselin](#). Úseky DNA,

které se mají namnožit (amplifikovat), musí být

ohraničeny na začátku a na konci

tzv. [primery](#) (krátkými oligonukleotidy DNA). PCR

slouží k vytvoření až mnoha milionů exaktních kopií

vzorového fragmentu DNA o maximální délce 10

tisíc [nukleotidů](#) (v některých případech bylo

dosaženo délky až 40 tisíc<sup>[1]</sup>), což umožňuje

provést [analýzu DNA](#) i z velmi malého vzorku. K

syntéze nového vlákna DNA se používá nejčastěji

termostabilní [DNA polymeráza](#) bakterie [Thermus](#)

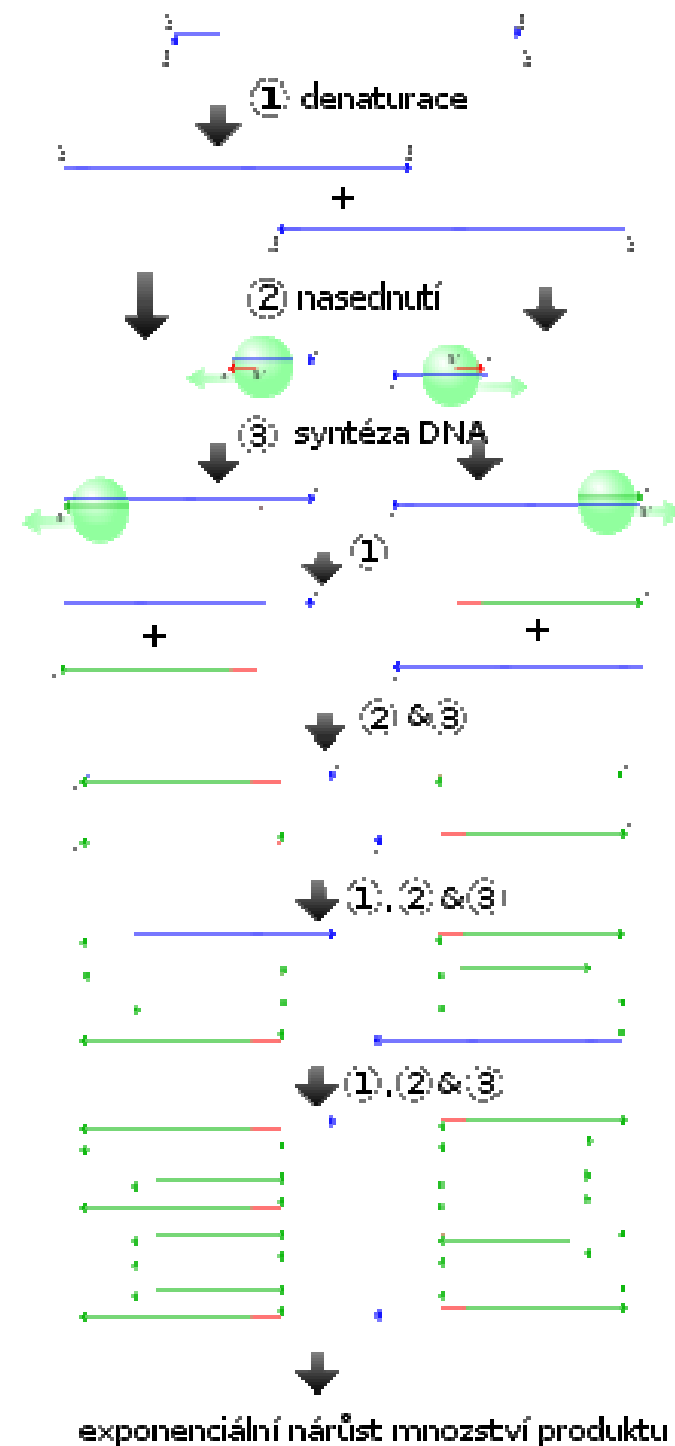
[aquaticus](#), odtud označení [Taq polymeráza](#). PCR

probíhá v zařízení zvaném termocykler, které je

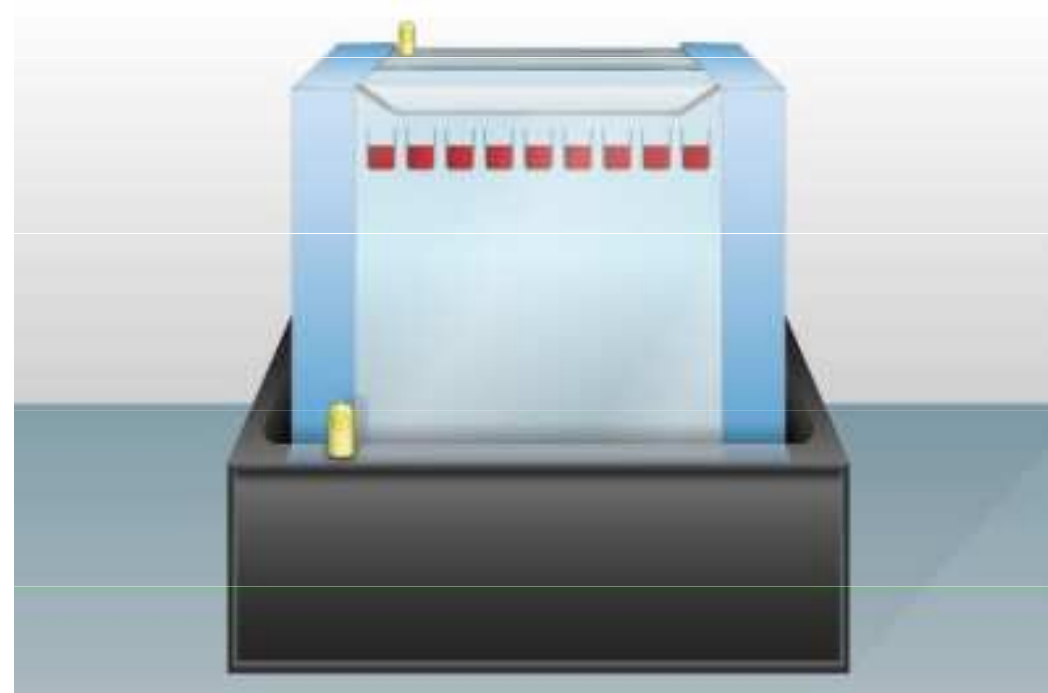
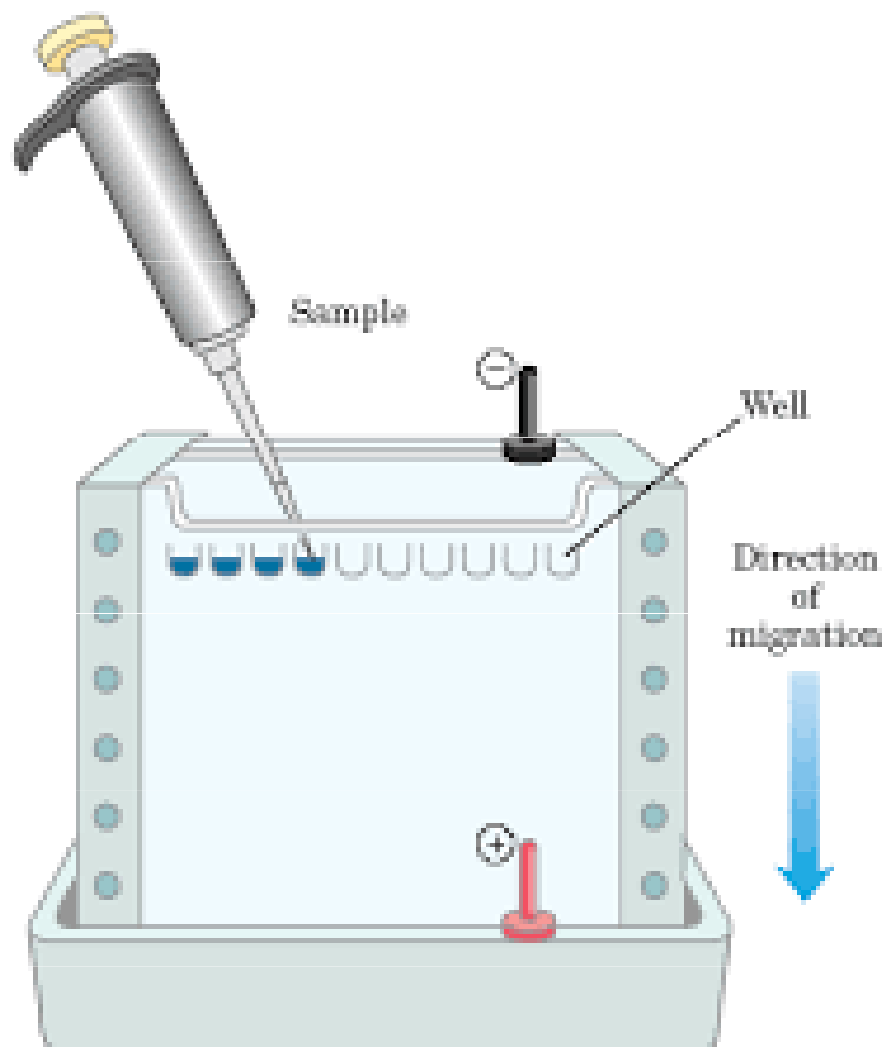
zkonstruováno tak, aby dokázalo během několika

sekund zvýšit nebo snížit [teplotu](#) o několik desítek

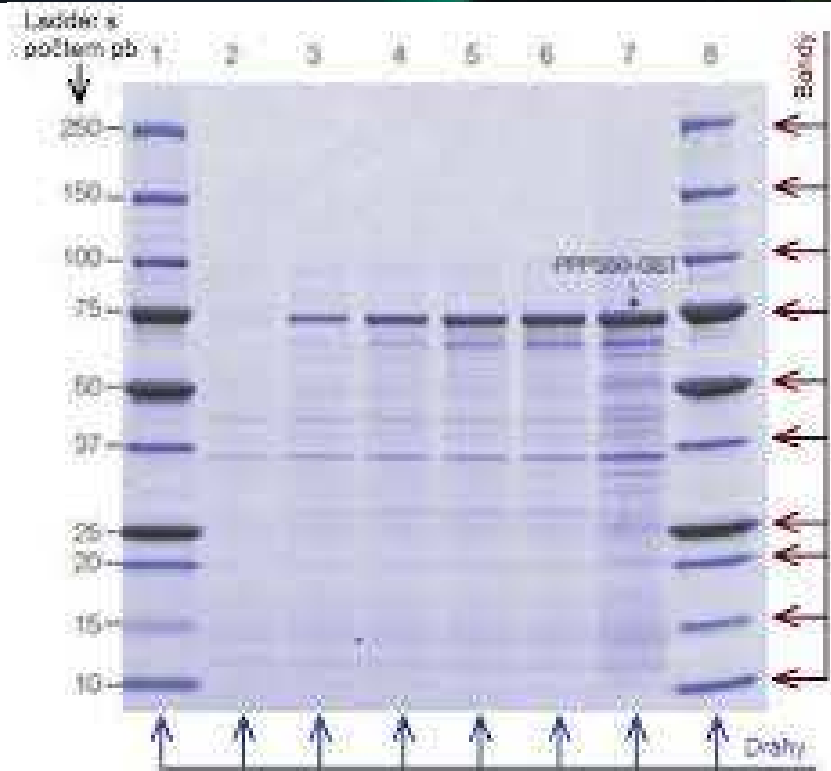
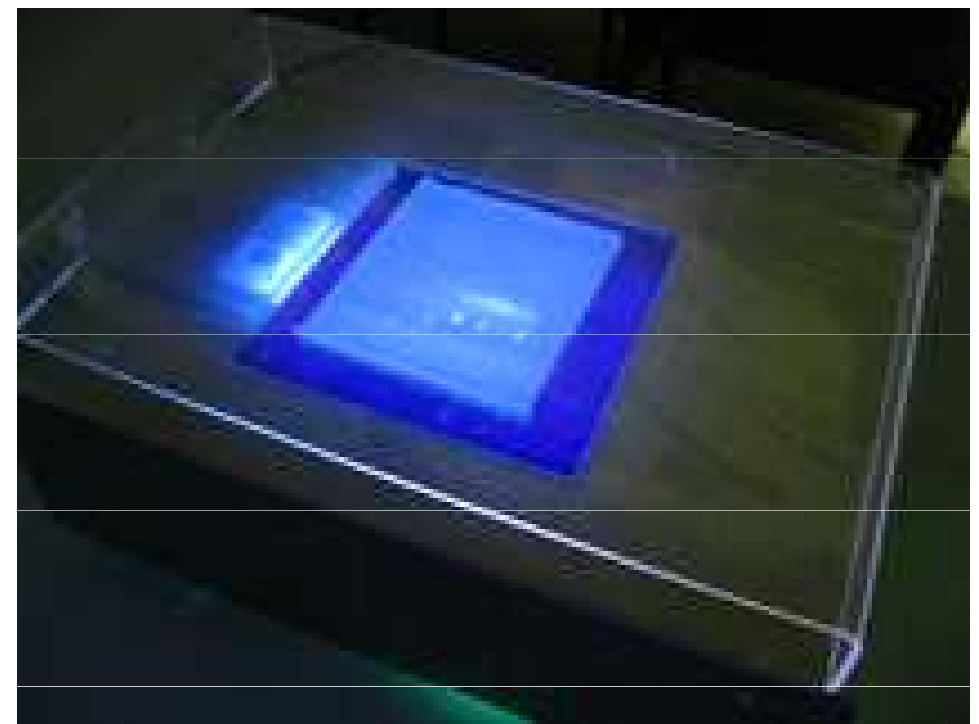
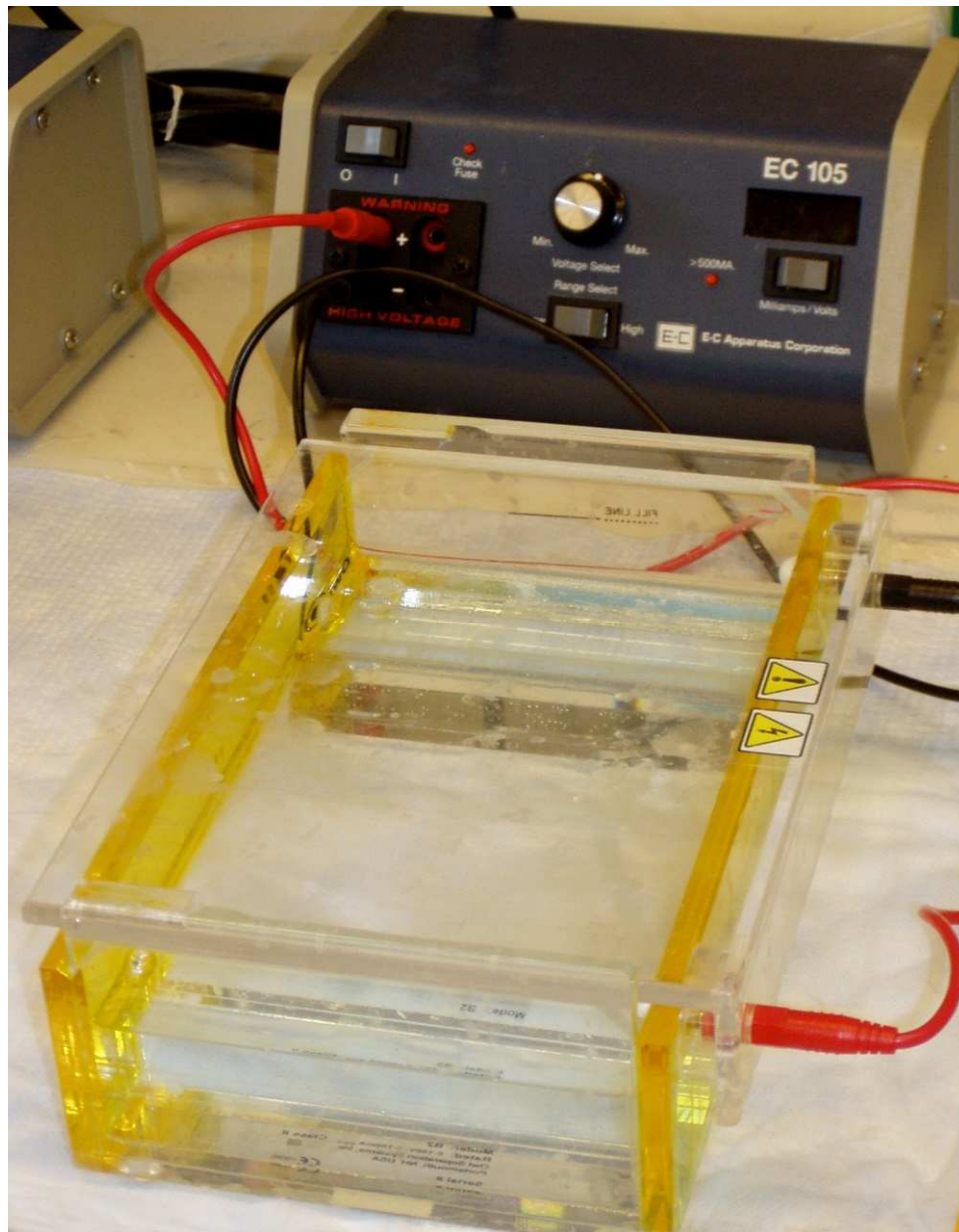
stupňů Celsia.



# Zařízení pro elektroforézu

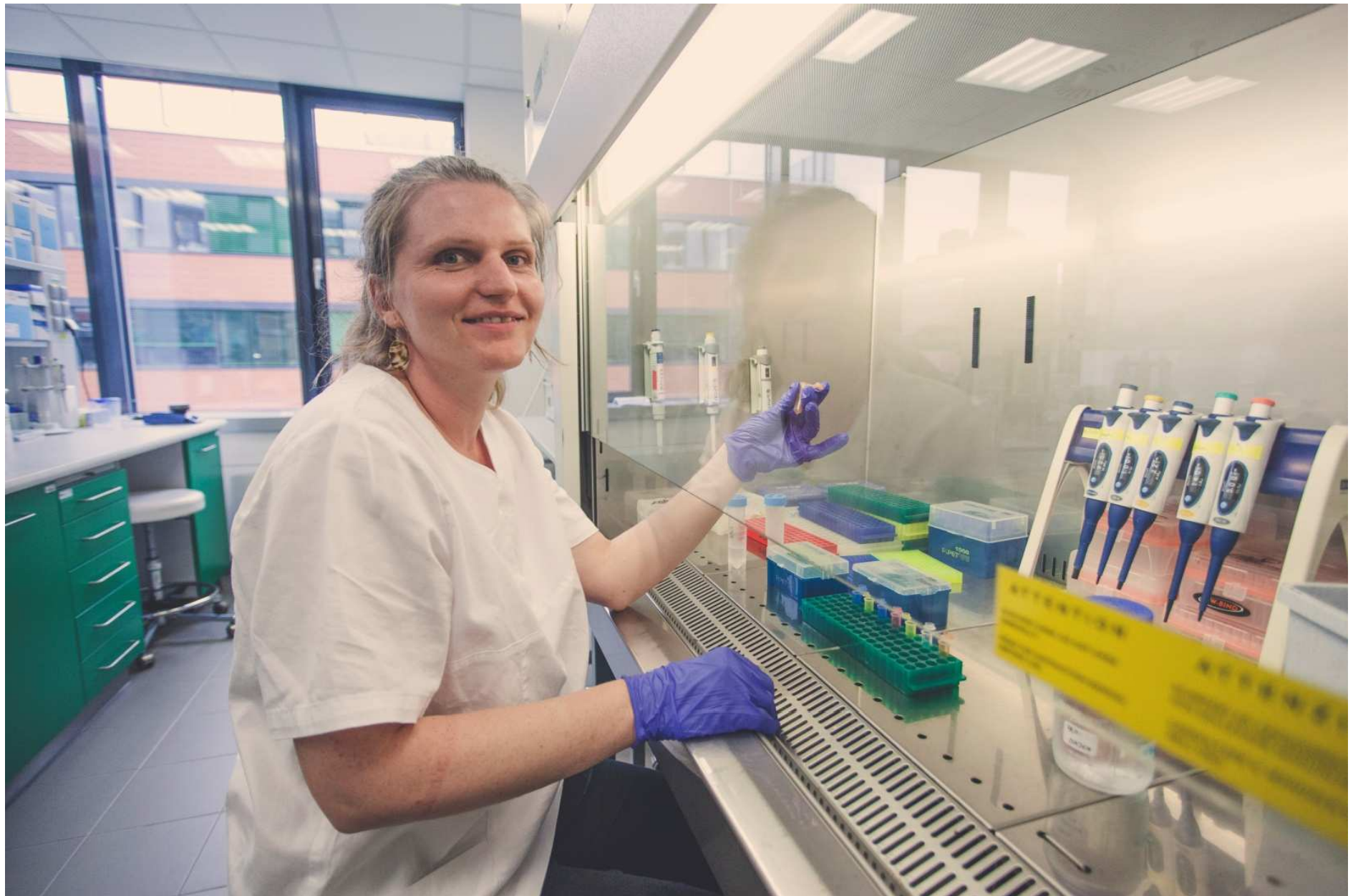


# Gelová elektroforéza





# Laboratoř molekulární parazitologie



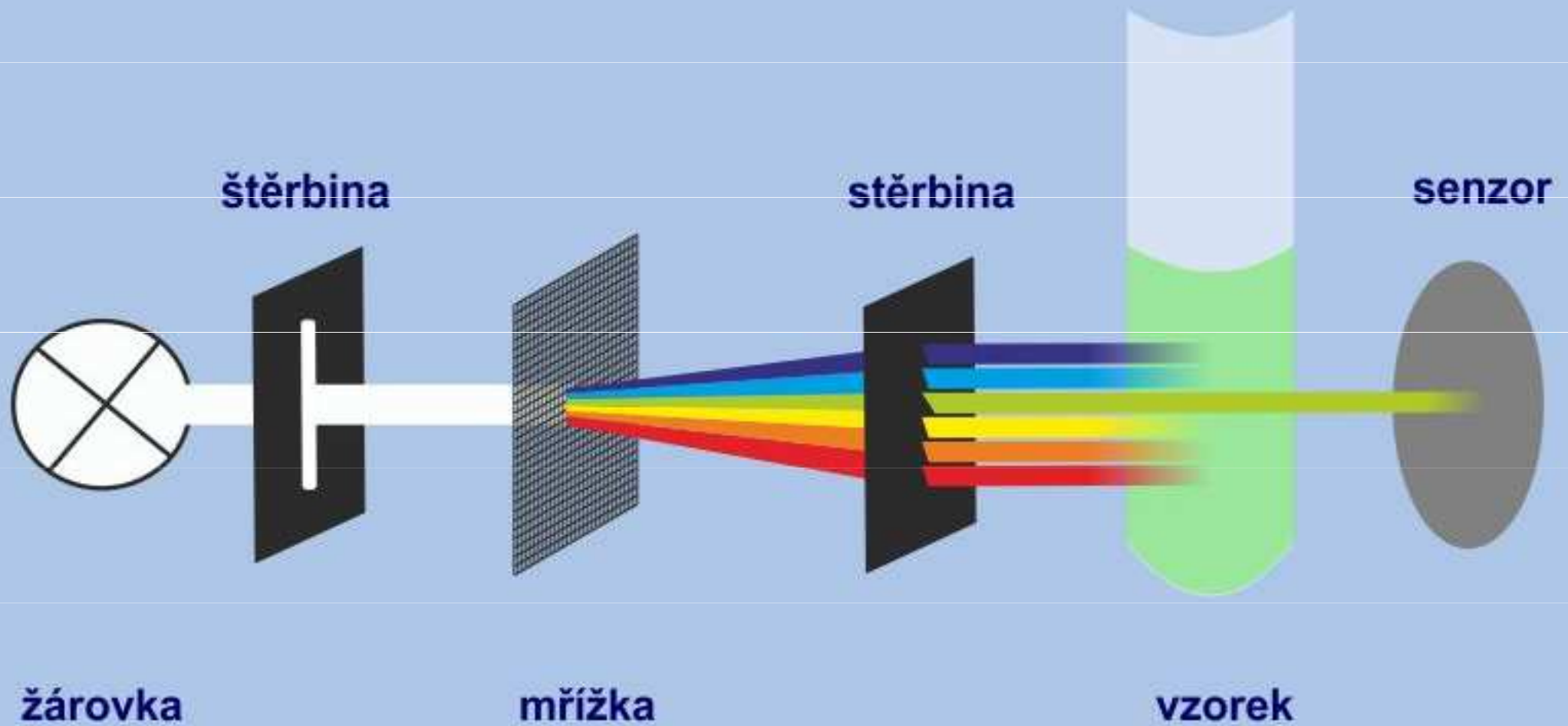
**ELISA** (z angl. **E**nzyme-**L**inked **I**mmuno**S**orbent **A**ssay), někdy také označovaná jako EIA (**E**nzyme **I**mmunoassay) je jednou z nejpoužívanějších imunologických metod sloužících k detekci a stanovení koncentrace [antigenů](#) nebo [protilátek](#). Principem této metody je imunoenzymatické reakce bezbarvého (chromogenního) substrátu, který je hydrolyzován v barevný produkt a lze měřit [spektrofotometricky](#). Intenzita zabarvení koreluje s koncentrací detekovaného antigenu nebo protilátky. ELISA využívá dvou základních vlastností [imunoglobulinů](#). Za prvé je to schopnost vázat se na povrch plastů (např. [polystyrenu](#)) a v druhé řadě pak schopnost vázat enzymy na Fc fragmenty (viz [protilátka](#)) imunoglobulinových molekul.



# Spektrofotometr



# schéma spektrofotometru



# Sekvenátor DNA



# Sekvenování DNA

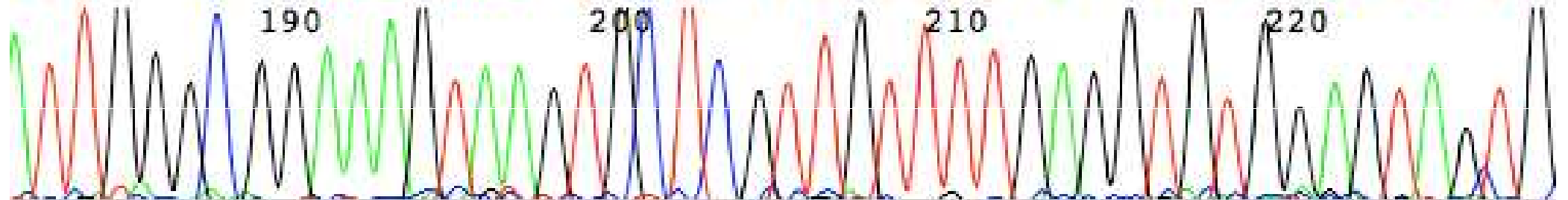
CGATTGATCGCGGTAGGTAGCCGTATGTCCCCCTAATGCCCTA

0 190 200 210 220



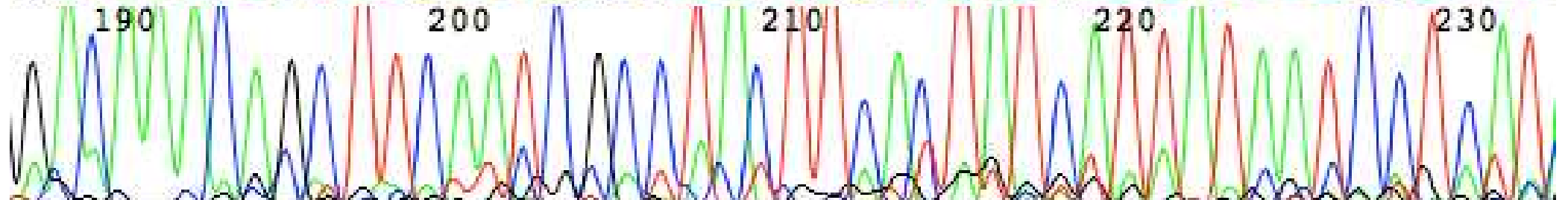
ATTGGGC GGAAAGTAAGTGC TC GTTGT TTTT GAG GT GT GGAGTAGTG

190 200 210 220



GCAACAAGC TTCATC GCCTACTTCACTATCATTAATAATCCTCAT

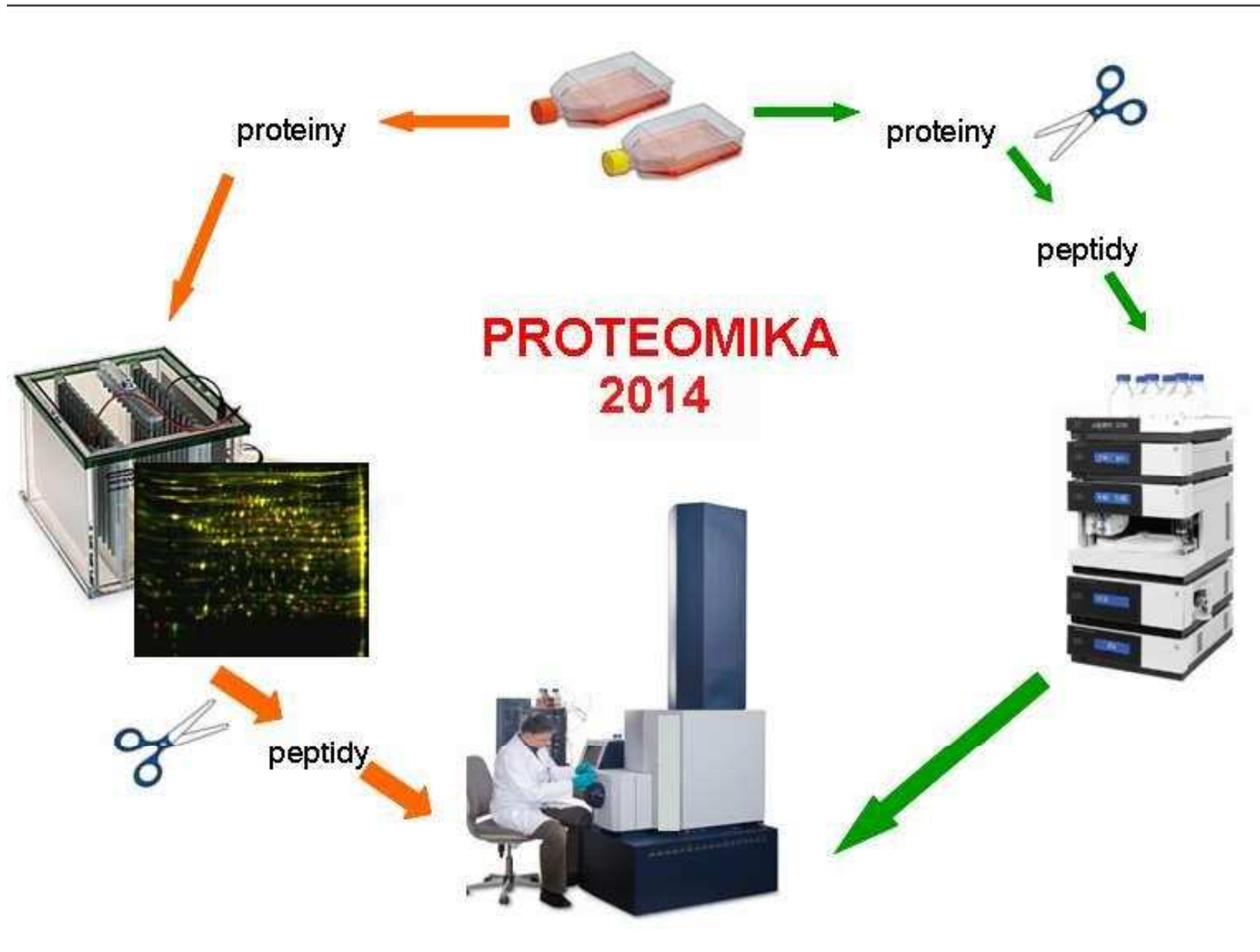
190 200 210 220 230



# Komerční sekvenování



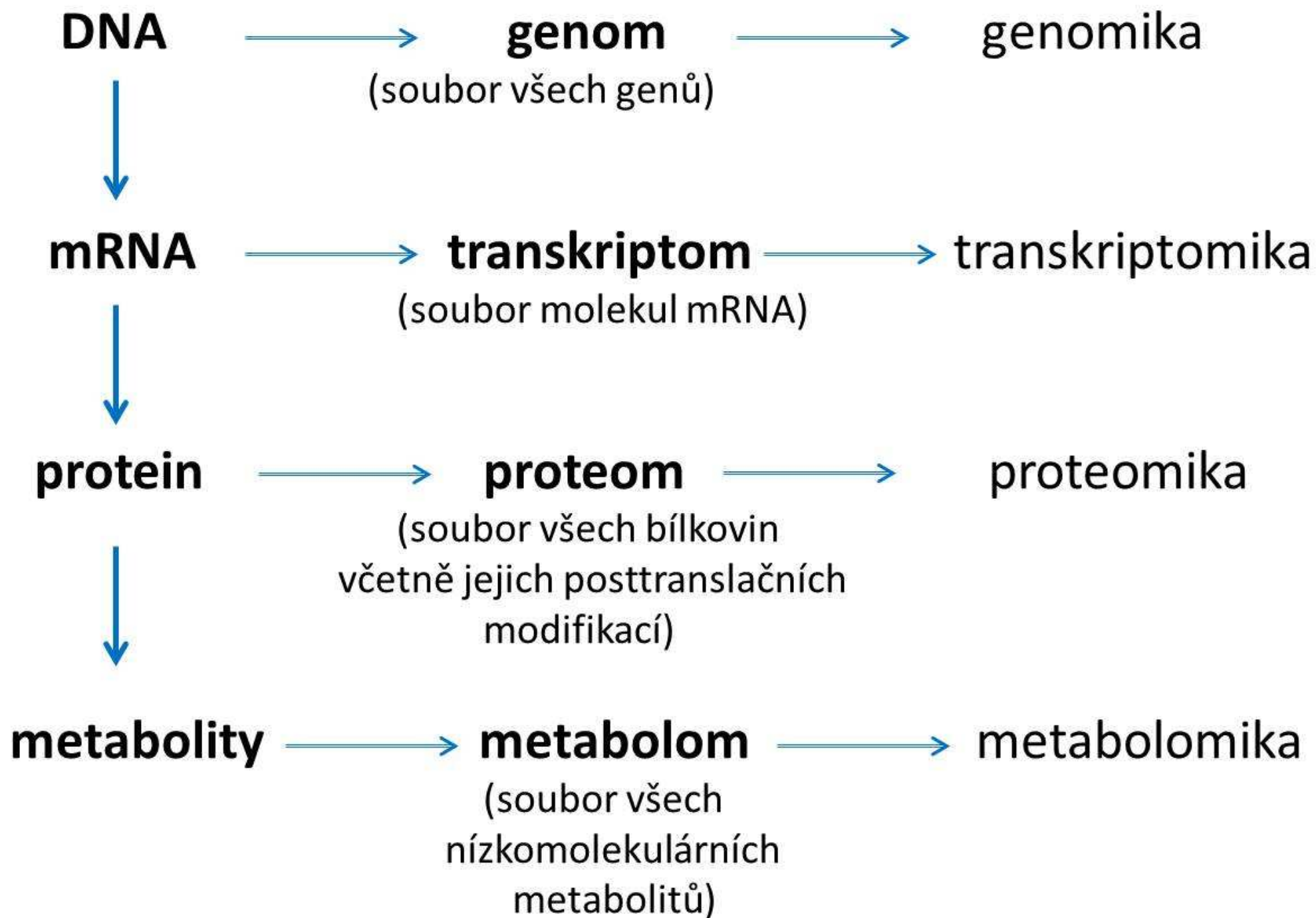
# Moderní molekulární metody





# Proteinový sekvenátor

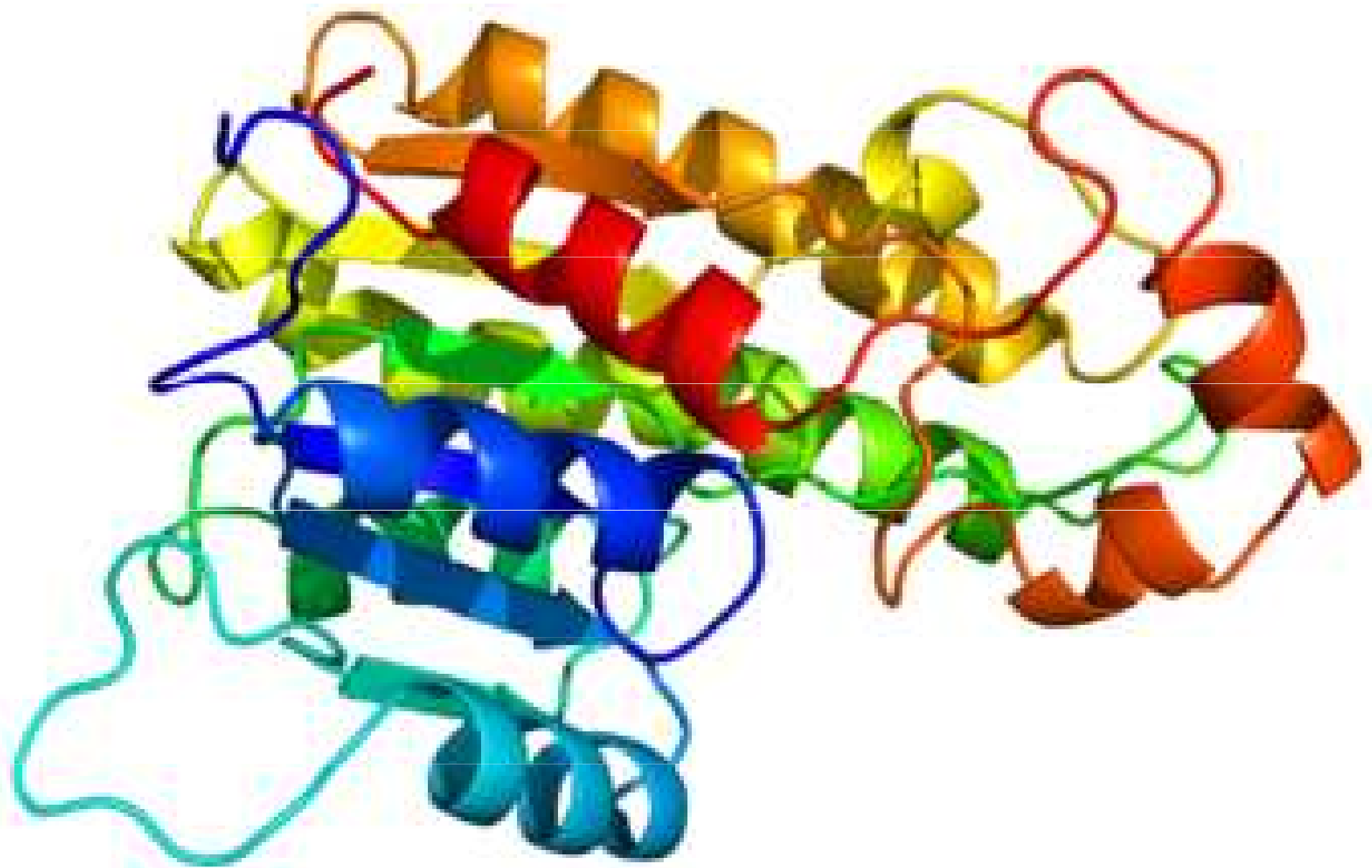




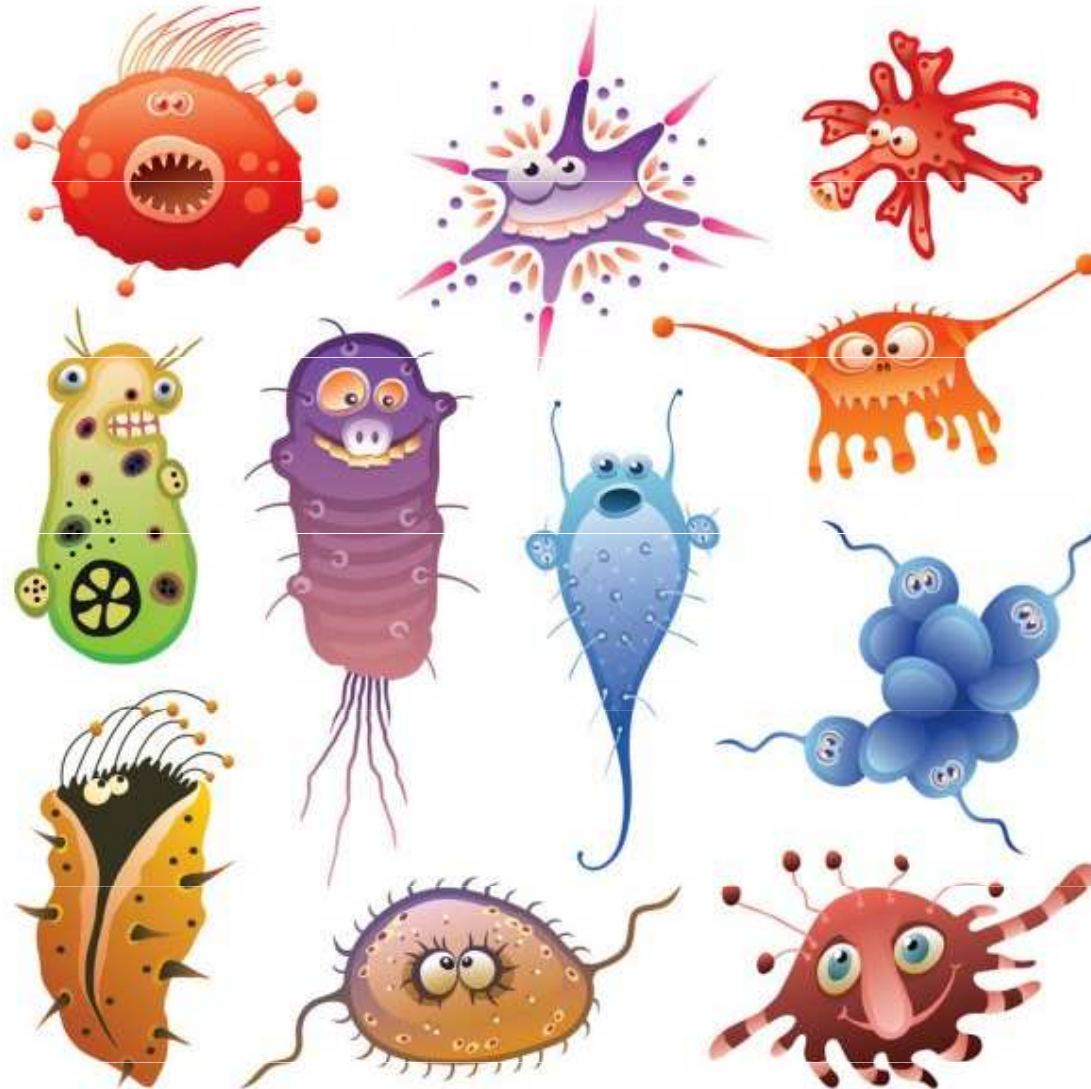
# Proteomická laboratoř







Děkuji za pozornost !



Pokračování – úvod II

Humánní parazitologie

