

Obsah

Vplyv infekcie <i>Echinococcus multilocularis</i> na reprodukciu a imunitnú odpoveď myši	5
<i>D. Antolová, K. Reiterová</i>	
Střevní paraziti středověkého sídlíště v Chrudimi	6
<i>L. Bartošová, O. Ditrich, J. Beneš</i>	
Využitie sekvenčných dat LSU rDNA v PCR diagnostike myxosporeí	7
<i>P. Bartošová, I. Fiala</i>	
Výskyt protilátok proti <i>Toxoplasma gondii</i> u drúbeže v ČR	8
<i>E. Bártová, K. Sedlák, I. Literák</i>	
Životný cyklus <i>Rickettsia slovaca</i> prírodného izolátu z kliešťa <i>Dermacentor marginatus</i>	9
<i>V. Boldiš, J. Štrus, M. Tušek-Znidarič, E. Kocianová, K. Štefanidesová, M. Valovičová, M. Kúdelová, E. Špitálská</i>	
Odčervovací praktiky v chovech koní v ČR	10
<i>M. Borkovcová</i>	
Antigenní diverzita u smíšených izolátů <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato v jižních Čechách	11
<i>L. Bučinská, M. Golovchenko, N. Rudenko, L. Grubhoffer</i>	
Změny v ultrastruktuře ptačích motolic <i>Trichobilharzia regenti</i> (Schistosomatidae) během ontogenetického vývoje	12
<i>J. Bulantová, P. Horák</i>	
Kliešť obyčajný (<i>Ixodes ricinus</i>) vo vyšších nadmorských výškach - nové riziko turistických oblastí na Slovensku?	13
<i>E. Bulíková, M. Lukáš, B. Vichová, V. Majláthová, B. Petko</i>	
Vertikálna distribúcia kliešťa obyčajného (<i>Ixodes ricinus</i>) a kliešťami prenášaných patogénov do vyšších nadmorských výšok v oblasti Turčianskej kotliny	14
<i>I. Ciglerová, V. Taragelová, M. Derdáková, M. Kazimírová</i>	
<i>In vitro</i> a molekulárna analýzy benzimidazol citlivých a rezistentných izolátov <i>Haemonchus contortus</i>	15
<i>P. Čudeková, M. Várady, D. Čerňanská, J. Corba</i>	
Role katepsinu B2 při průniku cercárii ptačí schistosomy <i>Trichobilharzia regenti</i> do kůže definitivního hostitele	16
<i>K. Dolečková, M. Kašný, L. Mikeš, J. Cartwright, A. P. Mountford, P. Horák</i>	
<i>Dermatobia hominis</i> - kazuistika	17
<i>Z. Doležil, L. Lukáčová, D. Vaňková</i>	
Močová schistosomóza – kazuistika	18
<i>Z. Doležil, D. Vaňková, L. Lukáčová</i>	
Zmeny v bunkovej imunite myši po infekcii nízkymi dávkami lariev <i>Trichinella spiralis</i>	19
<i>E. Dvorožňáková, Z. Hurníková, M. Kolodziej-Sobocińska, E. Dziemian</i>	
Myxozoa – současný stav znalostí a aktuální témata výzkumu	20
<i>I. Dyková, J. Lom</i>	
Nový pohled na rouspy (Nematoda: Enterobiinae) parazitující u čeledi Hominidae (Primates)	21
<i>I. Foitová, M. Vyskočilová, V. Baruš, I. Hodová, B. Koubková</i>	
Parazitofauna původní a nepůvodní populace hlaváčů <i>Neogobius kessleri</i> a <i>Neogobius melanostomus</i> na Dunaji	22
<i>K. Francová, M. Ondračková, M. Polačik, P. Jurajda</i>	
Prevalence toxoplazmózy v Irské republice	23
<i>D. Halová, A. Zintl, A. F. Proctor, G. Mulcahy, P. Rafter, T. de Waal</i>	
Štúdium exprese protektívnych antigénov 64P a 4D8 v kliešťovi <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> metódou <i>in situ</i> hybridizácie	24
<i>S. Havlíková, L. Roller, M. Kazimírová, *M. Labuda</i>	
Detekce <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato v klišťeti obecném (<i>Ixodes ricinus</i>)	25
<i>V. Hönig, I. Rudolf, Z. Hubálek</i>	
Identifikace genů kódujících dva ML proteiny a receptor pro boreliární OspA u klišťete <i>Ixodes ricinus</i> a jejich role v interakcích vektor – patogen	26
<i>J. Horáčková, N. Rudenko, M. Golovchenko, L. Grubhoffer</i>	
Životní cykly schistosom z pohledu interakcí parazit-hostitel	27
<i>P. Horák</i>	
Známe skutečně mezihostitele původců cercáriev dermatitidy?	28
<i>K. Huňová, P. Horák</i>	
Cirkulácia trichinelózy v ekologicky špecifických podmienkach Tatranského národného parku	29
<i>Z. Hurníková</i>	
Nízke infekčné dávky <i>Trichinella</i> spp. u myši I.: Porovnanie infekčnosti jednotlivých druhov trichinel	30
<i>Z. Hurníková, K. Reiterová, D. Antolová</i>	

Trapiči z domácností a jejich laboratorní diagnostika	31
<i>Z. Hůzová, J. Votýpka, V. Tolarová</i>	
<i>In vitro</i> transformácia a vývin schistosomul rodu <i>Trichobilharzia</i>	32
<i>M. Chanová, P. Máslo, J. Bulantová, P. Horák</i>	
Napadení volně žijících drobných savců tasemnicemi ve vztahu ke koncentraci těžkých kovů v jejich tkáních	33
<i>I. Jankovská, I. Langrová, J. Valdejších, D. Míhlová, V. Bejček</i>	
Mikrosporidiové infekce exotických ptáků	34
<i>D. Kašíčková, B. Sak, M. Kváč, O. Ditrich</i>	
„Molekulární mikroskop“ - MALDI-MSI v proteomice motolic	35
<i>M. Kašný, L. Mikeš, P. Jedelský</i>	
Kliešte a kliešťami přenášené patogény na Slovensku sledované v rámci projektu EDEN	36
<i>M. Kazimirová, J. Kočí, M. Derdáková, M. Stanko, V. Tarageřová, D. Selyemová, I. Ciglerová, D. Lenčáková, M. Labudat</i>	
Klinické nálezy a diagnostika echinokokózy – aktuálna situácia na Slovensku	37
<i>J. Kinčeková, G. Hřrková, J. Pavlinová, M. Stanislavová, V. Szabadořová, J. Bobeř</i>	
Prevalencia a druhové zastúpenie pľúcnych červov rodu <i>Metastrongylus</i> u diviákej zveri vo vybranej lokalite stredného Slovenska	38
<i>O. Kíš, J. Ciberej, V. Laciak, T. Mihok</i>	
Može mať „toxická“ reakcia akantaméb vplyv na rezistenciu akantamébových infekcií k terapii?	39
<i>J. Klieščiková, E. Nohýnková</i>	
Extraktý slinných žliaz (SGE) rôznych druhov kliešťov inhibujú cytotoxickú aktivitu myšiacich NK buniek	40
<i>P. Kocáková, M. Slovák, Z. Balcerčíková</i>	
Rickettsiálne mikroorganizmy – stúpajúca druhová diverzita alebo dôsledok dokonalejších diagnostických metód?	41
<i>E. Kocianová, E. Špitalská, K. Štefanidesová, V. Boldiš</i>	
Výskyt a význam kuklorodiiek (Pupipara) u raticovej zveri na Slovensku	42
<i>A. Kočířová, P. Lazar, V. Letková, J. Čurlik</i>	
Zhorřuje bezpřiznaková toxoplazmóza vyhlídky HIV-pozitivních pacientů?	43
<i>P. Kodym, M. Malý, L. Machala, M. Staňková, H. Rozsypal, Š. Hrdá</i>	
Národní referenční laboratoř pro tkaňové helmintózy	44
<i>L. Kolářová, P. Kolbeková, M. Leissová</i>	
Účinnost' albendazolu u pieskomila mongolského (<i>Meriones unquiculatus</i>) experimentálne infikovaného <i>Haemonchus contortus</i> a distribúcia zápalových buniek počas infekcie	45
<i>A. Kónigová, G. Hřrková, S. Velebný, M. Várady, J. Čorba</i>	
Prieskum výskytu rezistencie v chovoch oviec na celom území Slovenska	46
<i>A. Kónigová, M. Várady, J. Čorba</i>	
Nové údaje o endoparazitických helmintov inváznych druhov rýb pochádzajúcich z vŕd Slovenska	47
<i>L. Kořuthová, T. Mihok, P. Kořuth, J. Kořčo</i>	
I rby maji svoje roupy	48
<i>B. Kouřková, I. Hodová, V. Baruř</i>	
Současné trendy veterinární parazitologie	49
<i>B. Koudela</i>	
Laboratorní diagnostika malárie ve FN Brno v letech 2005 až 2007	51
<i>P. Kubáčková</i>	
Difylotrióza – stále aktuální helmintóza?	52
<i>R. Kuchta, T. Scholz</i>	
Analýza vztahu imunokompetence a parazitace jelce tlouřtě (<i>Leuciscus cephalus</i>): investice hostitele do reprodukce	53
<i>K. Lamková, A. Šimková, A. Lojek, P. Jurajda, M. Palková</i>	
Pozastavený vývoj strongylidních hlístic ovci: nástup inhibice a pokračování ve vývoji v klimatických podmínkách střední Evropy	54
<i>I. Langrová, K. Makovcová, J. Valdejších, I. Jankovská, M. Petřtýl, J. Fechtner, P. Keil, A. Lytvynets, M. Borkovcová</i>	
Dirofilióza psov - prevalencia a druhové zastúpenie na Slovensku	55
<i>L. Lečová, V. Letková, A. Kočířová, M. Miteřpáková</i>	
Protitlaktková odpoveď savčího hostiteľa vyvolaná antigény <i>Trichobilharzia regenti</i>	56
<i>L. Lichtenbergová, P. Kouřilová, M. Kašný, A. P. Mountford, L. Kolářová</i>	
Druhové a vekové zastúpenie ektoparazitov na jařtericiach v modelových oblastiach strednej Európy	57
<i>I. Majláth, V. Majláthová, M. Hromada, P. Tryjanowski, A. Ekner, G. Földvári, A. Mihalca</i>	

Úloha jašteríc v ekológii <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	58
<i>V. Majláthová, I. Majláth, B. Vichová, M. Hromada, P. Tryjanowski, A. Ekner, E. Bullová, B. Petko</i>	
Analýza ITS-1 úsekov <i>Eimeria colchici</i> pomocou polymerázovej reťazovej reakcie	59
<i>P. Major, R. Herich, M. Goldová, M. Levkut</i>	
Defenzívny kľúčat: sekvenční podobnosť, stadiální a orgánová exprese	60
<i>T. Matějovská, N. Rudenko, M. Golovchenko, L. Grubhoffer</i>	
Možnosti úspešného vývoje kľúčate obecného (<i>Ixodes ricinus</i>) v rôznych nadmořských výškách (650-1550 m) v podmienkach terénneho experimentu: Jakým spôsobom klíma ovplyvňuje jeho súčasné pronikání do vyšších horských poloh?	61
<i>J. Materna, M. Daniel, L. Metelka, M. Procházka, S. Kliegrová, J. Harčarik</i>	
Štēnice domáci (<i>Cimex lectularius</i>) v Českej republike – aktuální problém	62
<i>L. Mazánek, J. Chmela, M. Kenša</i>	
Proteolytické enzymy motolic - možnosti využití v imunodetekci a vakcinaci	63
<i>L. Mikeš, M. Kašný, A. Novobilský</i>	
The role of apoptosis-related factors in the early events of nurse-cell formation in experimental trichinellosis in mice	64
<i>R. Milcheva, P. Janega, P. Dubinský, Z. Hurníková, P. Babál</i>	
Výskyt difilariózy u služobných psov na Slovensku	65
<i>M. Miterpáková, D. Antolová, Z. Hurníková, P. Dubinský, A. Pavlačka, J. Németh</i>	
Daktylogyridi (Platyhelminthes: Monogenea) ze žaber sladkovodních ryb rodu <i>Labeo</i> (Teleostei: Cyprinidae) západní Afriky	66
<i>N. Musilová, E. Rehulková, M. Gelnar</i>	
<i>Toxoplasma gondii</i> a trvanlivé fermentované masné výrobky	67
<i>H. Neumayerová, J. Kameník, L. Steinhäuser, B. Koudela</i>	
Výskyt <i>Anaplasma phagocytophilum</i> a <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato v klieštích <i>Ixodes ricinus</i> z podhorskéj oblasti Liptovskej kotliny	68
<i>M. Nováková, G. Hrkľová, B. Vichová, B. Petko</i>	
Prevalencia pneumohelminťoz u jelenej zveri v Západných Tatrách	69
<i>K. Oberhauserová, J. Ciberej, V. Laciak, J. Krušpan, P. Major</i>	
Genotypizace a variabilita kryptosporidií u přežvýkavců	70
<i>Z. Ondráčková, M. Kváč</i>	
Ďalší prípad humánnej difilariózy u SR	71
<i>F. Ondriška, D. Lengyel, Z. Miterpáková, D. Valentová, V. Beladičová, A. Lengyelová, A. Strehárová, P. Dubinský</i>	
Novšie metódy v diagnostike humánnych parazitóz, systém a kontrola kvality v parazitologickej diagnostike	72
<i>F. Ondriška, G. Vozárová</i>	
Nový pohľad na fylogenetické vzťahy pásomnic radu Caryophyllidea (Eucestoda) odvodené z morfológických znakov	74
<i>M. Oros, V. Hanzelová, T. Scholz, J. S. Mackiewicz</i>	
Imunitní odpověď vůči kokcidioze u sajících králíciat	75
<i>M. Pakandl, L. Hlásková, J. Salát, M. Poplštejn, T. Vodička, V. Chromá</i>	
Asanácia exkrementov psov odpraškami z výroby vápna	76
<i>I. Papajová, P. Juriš, H. Šefčíková, N. Sasáková</i>	
Expresia génov pre p36 v slinných žľazách klieštov <i>Amblyomma variegatum</i> a <i>Dermacentor reticulatus</i>	77
<i>K. Peterková, J. Kočí, L. Roller, M. Kazimírová, M. Slovák, V. Hajnická</i>	
Epidemiologický významné druhy klieštov (Ixodidae) v strednej Európe v podmienkach klimatických zmien	78
<i>B. Petko, M. Derdáková, D. Lenčáková, E. Majláthová, E. Bullová, B. Vichová, M. Nováková, G. Hrkľová, M. Lukáš</i>	
Nástroje ptačích schistosom pro identifikaci a penetraci hostitele: ultrastrukturální studie	79
<i>M. Podhorský, P. Horák</i>	
Akutní toxoplazmóza u pacientů s neobvyklou dynamikou antiToxo protilátek	80
<i>M. Podhorský, J. Kleinerová</i>	
Pár střípků z praxe lékařského parazitologa	81
<i>J. Pomykal</i>	
Laboratorní diagnostika <i>Pneumocystis jiroveci</i>	82
<i>I. Pyšová, E. Nohýnková</i>	
Nízke infekčné dávky <i>Trichinella</i> spp. u myši II.: Dlhodobé sledovanie humorálnej imunitnej odpovede	83
<i>K. Reiterová, D. Antolová, Z. Hurníková</i>	

Srovnání fauny komárů Polabí, dolního Pomoraví/Podyjí a Českomoravské vysočiny	84
<i>F. Rettich, O. Šebesta, K. Imrichová</i>	
Leishmanióza: imunologický pohled na vztah flebotomus-hostitel	85
<i>I. Rohoušová</i>	
Daktylogyridi (Plathelminthes: Monogenea) parazitující na žábách parmice zlatopruhé (<i>Mulloidichthys vanicolensis</i>) z Nové Kaledonie	86
<i>E. Rehulková, J. -L. Justine, M. Gelnar</i>	
Diagnosis of <i>Entamoeba histolytica</i> infections	87
<i>S. Schmidt</i>	
Novinky v taxonomii a klasifikaci tasemnic (Cestoda)	88
<i>T. Scholz</i>	
<i>Notocotylus attenuatus</i> : neobvyklou cestou od vajíčka k dospělci	89
<i>V. Skála, P. Horák</i>	
Larvální stádia motolic v měkkýších střední Evropy	90
<i>M. Soldánová</i>	
Kokcidiozy sokolnických využívaných sokolovitých dravců	91
<i>V. Steinbauer, D. Modrý, S. Kostka, P. Ptáčková, M. Borkovcová</i>	
Parazitologický status ošipaných vo vybraných slovenských a českých chovoch	92
<i>H. Šefčíková, P. Juriš, I. Papajová, D. Rajský, V. Hisira</i>	
Stúdia druhovej skladby trichinel cirkulujúcich na Slovensku a pravdepodobné cesty prenosu <i>Trichinella pseudospiralis</i> do strednej Európy	93
<i>D. Ševcová, V. Šnábel, Z. Hurníková</i>	
Nové poznatky o cirkulácii genotypov <i>Echinococcus granulosus</i> v strednej a východnej Európe	94
<i>V. Šnábel, D. Ševcová, S. D'Amelio, D. Cielecka, R. Salamatin, A. Emets, T. Kuzmina, S.O. Georgescu, P. Dubinský</i>	
Antropogénny vplyv na kvalitatívne a kvantitatívne zloženie parazitologickej významných druhov muškovitých v podmienkach juhozápadného Slovenska	95
<i>A. Štangler, J. Halgoš</i>	
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> a ďalšie kliešťami prenášané baktérie v kliešťoch a divožijúcich zvieratách na strednom Slovensku	96
<i>K. Štefanidesová, E. Špitalská, V. Boldiš, Z. Košťanová, P. Kanka, E. Kocianová</i>	
Vliv extraktu ze slinných žláz (SGE) klišťe <i>Ixodes ricinus</i> na vývoj apoptózy indukované boreliovou infekcí	97
<i>K. Šubrtová, J. Salát, J. Kopecký</i>	
Rezervoároví hostitelia <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato v modelovej oblasti Slovenského krasu	98
<i>V. Tarageľová, J. Kočí, D. Selyemová, I. Ciglerová, V. Majláthová, M. Labuda</i>	
Stěvné parazitozy v České republice v roce 2007	99
<i>V. Tolarová, Z. Hůzová</i>	
Druhové zloženie voľne žijúcich meňaviek izolovaných z bazénovej vody	100
<i>K. Trnková</i>	
<i>Toxoplasma gondii</i> u voľne žijúcich zvierat	101
<i>L. Turčeková, F. Spišák, Z. Hurníková, P. Dubinský</i>	
Anti-chemokinové aktivity extraktov slinných žliaz dospelých kliešťov a ich ným	102
<i>I. Vančová, M. Slovák, V. Hajnická</i>	
Výskyt <i>Eimeria</i> spp. v chovoch králikov na Slovensku	103
<i>Z. Vasilková, A. Lauková, L. Chrastinová, M. Simonová, R. Szabóová, V. Strompfová</i>	
Fytoaditíva a kokcidioza králikov	104
<i>Z. Vasilková, A. Lauková, L. Chrastinová, R. Szabóová, M. Simonová, V. Strompfová, L. Ondruška, R. Jurčík, J. Poráčová</i>	
Mikrosporidie: „stručná historie času“	105
<i>J. Vávra</i>	
Posouzení ectoparazitů s prodlouženou účinností u psů	107
<i>E. Vernerová, M. Davidková, V. Svobodová</i>	
Cirkulácia <i>Anaplasma phagocytophilum</i> v prírodných ohniskách strednej Európy	108
<i>B. Vichová, V. Majláthová, E. Bullová, M. Nováková, J. Čurlík, B. Peťko</i>	
Sliny flebotomu, imunitný systém hostiteľa a leishmanie	109
<i>M. Vilková, J. Hostomská, I. Rohoušová, V. Volfová, P. Volf</i>	
Krevsajci dvoukřídli jako přenašeči infekčních onemocnění	110
<i>J. Voťpka</i>	
Úskalí laboratorní diagnostiky mozkové toxoplazmózy	112
<i>B. Voxová, Z. Čermáková, M. Forstl, L. Plíšková, R. Bolehovská, P. Prášil, S. Plíšek</i>	
Externí hodnocení kvality diagnostické činnosti mikrobiologických laboratoří v ČR (1993-2007)	113
<i>K. Zitek, I. Peter, M. Šlosárek</i>	

Vplyv infekcie *Echinococcus multilocularis* na reprodukciu a imunitnú odpoveď myší

D. Antolová, K. Reiterová

Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

Parazitárna infekcia počas gravidity predstavuje závažný rizikový faktor, nakoľko môže ovplyvniť priebeh gravidity, narušiť vzťah medzi matkou a plodom, zmeniť cytokínovú imunoreguláciu a v konečnom dôsledku aj spôsobiť potrat. Cieľom práce bolo zistiť vplyv sekundárnej infekcie *Echinococcus multilocularis* na reprodukciu myší, medzihostiteľov tohto parazita a sledovať zmeny vybraných imunologických parametrov u nakazených matiek.

Samičky Balb/c myší boli rozdelené do troch skupín. Myši v skupine 1 a 2 boli nakazené 2000 protoskolexami *E. multilocularis* a na 60. deň po infekcii boli myši z 1. skupiny pripustené. Samice zo skupiny 3 neboli infikované a boli pripustené v rovnaký deň ako myši zo skupiny 1. U infikovaných zvierat bola sledovaná hmotnosť larvocýst a u pripustených zvierat počet a početnosť vrhov. V priebehu 170 dní bola sledovaná hladina sérových protilátok IgM, IgG1, IgG2a a IgG2b, hladina sérových cytokínov INF- γ a TNF ako aj zastúpenie slezinových CD4+ a CD8+ T lymfocytov.

Hmotnosť larvocýst *E. multilocularis* bola u oboch skupín podobná do 84. dpi, potom sa rast cýst u matiek po pôrode zvýšil a až na konci experimentu sa ich hmotnosť u oboch sledovaných skupín vyrovnala. U sledovaných matiek nebol zaznamenaný signifikantný rozdiel v počte vrhov, porodilo 88,3% infikovaných a 90% zdravých matiek. Podobne, rozdiel v početnosti vrhov nebol štatisticky významný, obe skupiny mali priemerne 6 – 7 mláďat.

Počas gravidity bola u infikovaných matiek zaznamenaná zvýšená produkcia IgG2b, kým tvorba IgG2a podtriedy bola v porovnaní s nepripustenou kontrolou nižšia. Tvorba IgG1 protilátok, súvisiacich s Th2 odpoveďou, graviditou nebola ovplyvnená, pôrod však spôsobil jej pokles. Produkcia IFN- γ a TNF, zodpovedných za Th1 imunitnú odpoveď, bola počas gravidity znížená v porovnaní s nepripustenými zvieratami. Zastúpenie CD4+ T lymfocytov bolo v skupine pripustených zvierat nižšie až do 112. dpi, kedy sa ich počty vyrovnali. Rovnako, počet CD8+ T lymfocytov bol v skupine 1 nižší a tento trend sa udržal až do konca sledovania.

Infekcia *E. multilocularis* ovplyvnila reprodukciu myší len do malej miery, čo môže byť spôsobené dominanciou Th2 imunitnej odpovede v porovnaní s Th1 odpoveďou. Práve Th2 odpoveď je vo významnej miere zodpovedná za úspešnosť gravidity a jej prepnutie na Th1 odpoveď môže spôsobiť jej predčasné ukončenie.

Práca bola finančne podporovaná Slovenskou grantovou agentúrou VEGA, Grant č. 2/7186/27.

Střevní paraziti středověkého sídliště v Chrudimi

L. Bartošová¹, O. Ditrich^{1,2}, J. Beneš³

¹ Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, ČR

² Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, v. v. i, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

³ Laboratoř archeobotaniky a paleoekologie, Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita, České Budějovice

Paleoparazitologické nálezy sestávají především z vajíček, zřídka larev střevních parazitů nebo chitinových schránek ektoparazitů, jako vši, roztočů a blech. Na rozdíl od jiných biologických objektů, jako např. pylových zrn, která se zachovávají velmi dlouhou dobu v nejrůznějších podmínkách, parazitičtí helminti málokdy tvoří vajíčka se stejnou rezistencí vůči vnějším vlivům. Některé skupiny parazitů však tvoří struktury bránící rychlému rozkladu, jde hlavně o hlístice čeledi Ascaridae, Capillariidae, Trichuridae, Oxyuridae a Cestoda. Tenkostěnná vajíčka (*Enterobius* spp., Strongylidae), stejně jako cysty prvoků, se uchovávají velmi špatně. Doposud jsou v Evropě dokumentovány nálezy helmintů z čeledi Ascaridae, Capillariidae, Trichuridae, Oxyuridae, Diphyllbothriidae, Taeniidae, Schistosomatidae, Dicrocoeliidae a Fasciolidae. Imunologickými metodami se podařilo detekovat *Giardia intestinalis* a *Entamoeba histolytica*.

Náš materiál pochází z archeologických vykopávek v Hradební ulici, Chrudim, z roku 2006. Jde především o deposita z jímek, ze smetištích jam a hrobů. Datace jednotlivých vrstev je od 10. do 18. století. Vzorky byly zpracovány sedimentační metodou AMS III a flotací dle Kozáka a Mágrové a prohlíženy optickým mikroskopem. Antigeny parazitických protozoí byly detekovány komerčně dostupnými ELISA kity.

Z celkového počtu 89 vzorků bylo 57 pozitivních. Ve 30 vzorcích jsme našli jeden druh (*Trichuris trichiura*), ve zbytku dva a více druhů helmintů. Druhově nejpestřejší byl materiál z jímký 938, odkud bylo k dispozici i nejvíce vzorků. Z tohoto objektu jsme prohlédli 31 vzorků a vajíčka parazitů jsme našli v 81% z nich. V jímkce 928 jsme našli 67% pozitivních vzorků, v dalších 2 jímkách 44% resp. 14% pozitivních vzorků. Materiál ze dvou hradištní hrobů byl parazitologicky negativní.

Celkem jsme našli a identifikovali vajíčka *T. trichiura*, *A. lumbricoides* a hlístic čeledi Capillariidae. Ojedinělý byl nález vajíčka připomínajícího měchovce. Další nálezy – *Toxascaris* sp., *E. vermicularis*, operkulátní vajíčko (pravděpodobně *Diphyllorhynchium* sp.) a vajíčko tasemnice (*Hymenolepis* sp.) – jsou sporné, protože nalezené objekty jsou různě poničeny a často s pozměněným obsahem. Jeden vzorek byl pozitivní na antigen *G. intestinalis*. Celkově je lokalita bohatá co do počtu parazitů. Vyplyvá to např. ze srovnání s nalezištěm v Celetné ulici, Praha, kde byly pozitivní 4 vzorky z celkových 12 a nejbohatší nález nepřesáhl 21 vajíček *T. trichiura*/preparát. V našich je nejvyšší počet vajíček/preparát 192 (rovněž *T. trichiura*). Výsledky v kontextu s dalšími prováděnými analýzami (rostlinné a živočišné makrozbytky, pyl) pomohou dotvořit obraz minulosti na dané lokalitě. V materiálu převažovali helminti šířící se fekálně – orálním transportem, kteří jsou dnes u nás poměrně vzácní. Na rozdíl od pražských lokalit se na zkoumané lokalitě vyskytlo minimum vajíček zvířecích helmintů. Zjištěním množství střevních parazitů (a tedy míry fekálního znečištění) lze přispět k poznání účelu jednotlivých objektů i ke způsobu života tehdejší společnosti.

Využitie sekvenčných dat LSU rDNA v PCR diagnostike myxosporeí

P. Bartošová^{1,2}, I. Fiala^{1,2}

¹ Biologické centrum AV ČR, v. v. i., Parazitologický ústav, Oddělení eukaryotických mikroorganismů infikujících ryby, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

² Přírodovědecká fakulta, Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

Svetelná mikroskopia je vo väčšine prípadov postačujúca iba pre detekciu zreých spór a v niektorých prípadoch presporogonických plazmódií. Výhodou diagnostických testov založených na PCR je rýchla identifikácia parazita už počas jeho včasných vývojových štádií využiteľná dokonca aj u ľahkých infekcií.

Na základe známych sekvencií LSU rDNA bol vyvinutý veľmi senzitívny a druhovo špecifický DNA diagnostický test využívajúci polymerázovú reťazcovú reakciu. Test je určený pre detekciu a identifikáciu infekcií spôsobených druhmi *Zschokkella nova* Klokacewa, 1914 a *Chloromyxum cristatum* Leger, 1903 (syn. *C. cyprini* Fujita, 1927), ktoré sú bežnými parazitmi kaprovitých rýb v Eurázii. Infekcie žĺčových mechúrov nebývajú väčšinou sprevádzané vážnymi klinickými prejavmi. Vo vzácných prípadoch však môže dojsť k napadnutiu pečeneňového parenchýmu a následnej atrofii až nekróze tkaniva.

Druhy *Z. nova* a *C. cristatum* sú na základe morfológie spór veľmi dobre odlišiteľné. Vážnou prekážkou pri určovaní uvedených druhov sú vzorky obsahujúce výlučne plazmódiá bez zreých spór a zmiešané infekcie v tejto fáze životného cyklu. Detekcia druhu a presná determinácia *Z. nova* a *C. cristatum* je zárukou pre správnu analýzu populačných vzťahov. Ako vhodný nástroj pre ich identifikáciu je v tomto prípade PCR diagnostický test.

Pre PCR diagnostiku druhov *Z. nova* a *C. cristatum* boli navrhnuté dve sady špecifických primerov. Tieto primery boli dizajnované do variabilných oblastí LSU rDNA, konkrétne forwardové primery (NLF-ZschokNova a NLF-Chloromyxum) do D1 oblasti a rewerzné primery (NLR-ZschokNova a NLR-Chloromyxum) do D3 oblasti LSU rDNA. Amplifikovaný úsek zahŕňa D1-D3 oblasť LSU rDNA. PCR produkt druhu *Z. nova* sa nachádza vo výške odpovedajúcej 687 bp a u druhu *C. cristatum* 807 bp. Amplikóny sa od seba líšia o 120 bp, pričom tento rozdiel je dobre pozorovateľný na rozbehnutom agarózovom geli. Primery boli vyskúšané na DNA izolovanej zo spór nájdených v žĺčových mechúroch rôznych druhov kaprovitých rýb aj na DNA zo vzoriek, kde sa vyskytovali výlučne plazmódiá. Pre overenie špecifity primerov boli niektoré PCR produkty vyzisované a osekvenované. Pre kontrolu boli použité aj DNA rôznych fylogeneticky príbuzných druhov myxosporeí.

Test umožňuje špecificky preukázať prítomnosť *Z. nova* a *C. cristatum* vo vzorkách žĺče na základe prevedenej PCR diagnostiky. Metóda je účinná aj pri nízkom stupni infekcie, respektíve pri nízkej koncentrácii DNA vo vzorke. Špecificky navrhnuté primery do variabilných oblastí D1 a D3 LSU rDNA amplifikujú úsek génu, ktorý je svojím charakterom vhodný pre PCR diagnostiku uvedených druhov. Možno predpokladať jeho využitie aj pri diagnostike ostatných druhov myxosporeí.

Výskyt protilátek proti *Toxoplasma gondii* u drůbeže v ČR

E. Bártová¹, K. Sedlák², I. Literák¹

¹ Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1/3, 61242, Brno, ČR

² Státní veterinární ústav Praha, Sídlíštní 136/24, 16503 Praha 6, ČR

Metodou nepřímé imunofluorescence bylo vyšetřeno 538 sér vodní drůbeže (husa domácí, kachna domácí) a 570 sér hrabavé drůbeže (kur domácí, krocan domácí) na přítomnost protilátek proti *Toxoplasma gondii*. Husy pocházely z 5 chovů ve 3 okresech, kachny z 10 chovů v pěti okresech, brojleři kura domácího z 29 chovů v 19 okresech, slepice ze 14 chovů v 10 okresech a krocani z 6 chovů v 6 okresech.

U vodní drůbeže byla zjištěna 24% séroprevalence. Protilátky proti *T. gondii* byly prokázány u 43% (77/178) hus s titry 1:40 u 32 hus, 1:320 u 37 hus a 1:1280 u 8 hus. U kachen byla zjištěna 14% (52/360) séroprevalence. Titry 1:40 byly u 46 kachen a 1:320 u 6 kachen. U kura domácího byl pozitivní pouze jeden brojler (n=293) s titrem 1:40; séra slepic (n=217) a krocanů (n=60) byla negativní.

Prevalence protilátek proti *T. gondii* je výrazně vyšší u vodní drůbeže než u hrabavé drůbeže. Vodní prostředí hraje významnou roli v šíření *T. gondii*.

Tato studie vznikla za podpory grantu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (MSM6215712402).

Životný cyklus *Rickettsia slovaca* prírodného izolátu z kliešťa *Dermacentor marginatus*

V. Boldiš¹, J. Štrus², M. Tušek-Žnidarič², E. Kocianová¹, K. Štefanidesová¹,
M. Valovičová¹, M. Kúdelová¹, E. Špitalská¹

¹ Virologický ústav SAV, Dúbravska cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovensko

² Univerzita Ljubljana, Biotehnologická Fakulta, Oddelenie Biológie,
Vecna pot 111, SI-1000 Ljubljana, Slovinsko

Rickettsia slovaca jeden zo zástupcov skupiny purpurových horúčok (PH), bol prvýkrát izolovaný na Slovensku v roku 1968 z kliešťa *Dermacentor marginatus*. Rickettsie PH sú obligátne intracelulárne baktérie, schopné rasti v cytoplazme eukaryotických hostiteľských buniek, príležitostne v ich jadrách. Vnútrobunkový pohyb rickettsií je zabezpečený polymerizáciou aktínu hostiteľských buniek.

Kliešte *D. marginatus* zozbierané z vegetácie (Veľký Lom - orografický celok Krupinská planina), boli vyšetrené na prítomnosť rickettsií pomocou PCR použitím špecifických primerov odvodených z génov *gltA* a *ompA*. Sledované baktérie sa izolovali z hemolymfy kliešťov v L929 bunkách.

Šestnásť kliešťov bolo PCR pozitívnych na rickettsie. V bunkovej línii sa podarilo izolovať a pomnožiť rickettsie z 8 kliešťov, čo bolo PCR potvrdené. Jeden izolát bol vybraný pre analýzu rastovej krivky použitím real time SYBR Green PCR a sledovanie morfofenetických zmien počas životného cyklu v L929 bunkách transmisnou elektrónovou mikroskopiou (TEM).

Sekvenované časti génov *ompA* a *gltA* vybraného izolátu boli identické s *R. slovaca* (Acc. No. AY129301 a U43808, 100%). Maximálne množstvo sledovaných mikroorganizmov počas statickej kultivácie bolo detegované na druhý deň po infekcii čo predstavuje 24 násobný nárast počtu inokula použitého na infikovanie L929 buniek.

Štúdium morfofenetických zmien potvrdilo, že prvý deň po infekcii bol charakteristický pre inváziu baktérií do cytoplazmy eukaryotických hostiteľských buniek procesom fagocytózy. Po lýze membrány fagozómov sa rickettsie vyskytovali voľne v cytoplazme. Niektoré rickettsie dosahovali veľkosť väčšiu ako 2 µm. Binárne delenie bolo pozorované už v prvý deň po infekcii. Predpokladaný pohyb rickettsií v cytoplazme bol zabezpečený polymerizáciou aktínu hostiteľských buniek, čo im umožnilo prienik cez jadrovú membránu a existenciu v jadre. Počas tretieho dňa sa cytoplazma infikovaných hostiteľských buniek husto vakuolizovala a nukleárny chromatín kondenzoval. Strata integrity membrán eukaryotických buniek a deštrukcia cytoplazmy a jadra viedli k bunkovej lýze, čo bolo sledované na 4. deň po infekcii.

Naše štúdie smerujú k vysvetleniu možných princípov patogenity a virulencie *R. slovaca* a k objasneniu interakcií patogén - hostiteľ.

Práca bola finančne podporená projektami: VEGA 2/7020, APVV 51-009205.

Odčervovací praktiky v chovech koní v ČR

M. Borkovcová

Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, AF MZLU, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ČR

V roce 2006 byla v České republice provedena dotazníková akce s cílem získat údaje o strategiích odčervování a pastevním managementu chovatelů a majitelů koní. Celkem bylo vyhodnoceno osmdesát dotazníků.

82,5% chovatelů tvrdí, že jsou sami zodpovědní za odčervování. Všichni chovatelé provádí odčervení u všech koní zároveň. Výsledky ukázaly, že u ustájených koní je odčervování prováděno v intervalu dvou až čtyř měsíců. 55% provádí odčervování v dubnu. 91,25% střídá odčervovací přípravky. Nejčastěji užívaným odčervovadlem je Panacur. Výpočet potřebné dávky provádí 47,5% respondentů podle váhy koně. 86,25% koně pase, 52,2% střídá pastviny, 53,6% je čistí.

32,5% provádí kontrolu exkrementů na přítomnost parazitů, ale žádný z nich nevyužívá výsledky k následné změně odčervovací strategie nebo pastevního managementu. 70% respondentů volá v případě výskytu komplikací veterináře. 17,5% chovatelů se již setkalo s rezistencí na odčervovadla a 36,25% považuje tuto rezistenci za problém. 72,5% provádí odčervování podle pokynů veterináře. 85% je přesvědčeno, že jejich strategie boje s parazity je dostačující.

Z výsledků této práce ve srovnání s výsledky v Irsku, Dánsku a v Anglii je zřejmé, že přístup jak veterinárních lékařů tak chovatelů k problematice endoparazitóz je prakticky shodný ve sledovaných zemích.

Rovněž ve způsobech odčervování a pastevním managementu nebyly shledány zásadní odlišnosti. Významnější rozdíly se vyskytly v intervalech odčervení. Jako nejrizikovější faktor pro vznik rezistentních kmenů endoparazitů se jeví především nízká informovanost chovatelů o této problematice a z ní vyplývající podceňování tohoto nebezpečí. Následkem toho je pak věnována malá pozornost všem ostatním aspektům, především pak střídání léčiv.

Antigenní diverzita u smíšených izolátů *Borrelia burgdorferi* sensu lato v jižních Čechách

L. Bučinská^{1,2}, M. Golovchenko^{1,2}, N. Rudenko^{1,2}, L. Grubhoffer^{1,2}

¹ Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

² Laboratoř molekulární biologie vektorů a patogenů, Biologické centrum AVČR, v. v. i., Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

Spirochěty *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s. l.) jsou původci závažného onemocnění člověka Lymeské boreliózy. Interakce mezi vektorem a patogenem a mechanismy přenosu spirochěty do hostitelského organismu jsou předmětem bádání již více než dvacet let.

Během posledních let bylo uznáno 13 druhů *B. burgdorferi*, z toho 3 druhy prokazatelně způsobují Lymfskou boreliózu. Jsou to *B. burgdorferi* sensu stricto (s. s.), *B. garinii* a *B. afzelii*. Ve střední Evropě jsou nejrozšířenější druhy *B. garinii* a *B. afzelii*, dále se zde objevuje *B. burgdorferi* s. s. a *B. valaisiana*, naopak *B. lusitanae* a *B. bissettii* patří k poněkud vzácnějším. Dva druhy *B. bissettii* a *B. spielmanii* již byly kultivovány z klinických vzorků pacientů v Portugalsku, Německu, Holandsku, Slovinsku, Maďarsku a České republice. Druhy *B. burgdorferi* s. s., *B. garinii* a *B. afzelii* jsou těsně spojené s určitými odlišnými klinickými projevy Lymfské boreliózy, v případě *B. bissettii* a *B. spielmanii* se ještě neobjevily další specifické projevy nemoci. Jednotlivé druhy se odlišují svým geografickým rozšířením, vektory přenosu, hostiteli a projevy při onemocnění, a proto se předpokládá, že se odlišují antigenním profilem zastoupených strukturálních složek a jejich funkční aktivitou.

V této práci byly zkoumány izoláty, které byly kultivované z klišťat sesbíraných v okolí Českých Budějovic, na přítomnost čtyř druhů spirochét: *B. burgdorferi* s. s., *B. garinii*, *B. afzelii* a *B. valaisiana*. Po kultivaci izolátů v BSK-H kompletním médiu molekulárními metodami bylo určeno zastoupení těchto druhů v jednotlivých izolátech. Koinfekce dvou druhů byla prokázána ve čtyřech vzorcích (*B. burgdorferi* s. s. a *B. garinii*, *B. garinii* a *B. afzelii*, *B. garinii* a *B. valaisiana*) a ve dvou případech byla prokázána koinfekce tří druhů (*B. burgdorferi* s. s., *B. garinii* a *B. valaisiana*). Pouze ve dvou izolátech byl zastoupen jen jeden druh (*B. burgdorferi* s. s. a *B. valaisiana*).

Izolované totální proteiny byly použity k porovnání proteinového profilu pomocí SDS-PAGE. V izolátech obsahující stejné druhy borélií byl patrný velmi podobný vzorec zastoupených proteinů. V izolátech obsahující druh *B. valaisiana* byla zaznamenána velmi silná exprese proteinu o přibližné velikosti 30-32 kDa. Tento protein by mohl odpovídat povrchovému proteinu OspA (31 kDa), který se vyskytuje na povrchu borélie například ve stěvě nenasátého klišťete. V izolátech obsahujících kromě druhu *B. valaisiana* také druh *B. burgdorferi* s. s. a *B. garinii* se objevuje další protein o velikosti přibližně 33-34 kDa. Izolát obsahující *B. valaisianu* a *B. afzelii* se odlišuje velmi silnou expresí zmíněného proteinu od izolátů obsahující druhy *B. garinii* a *B. valaisiana*, které vykazují jen jeho slabou expresi. Daný protein svojí velikostí odpovídá OspB (34 kDa). Všechny studované proteinové profily jednotlivých izolátů měly značně zastoupený protein o velikosti okolo 40 kDa, čemuž odpovídá flagelinový protein (41 kDa), a protein okolo 60 kDa. Další proteiny mezi 55 a 170 kDa se lišily pouze silou exprese těchto proteinů. Tyto proteiny jsou charakteristické pro komplex *B. burgdorferi* s. l. Zde uváděné rozdíly byly patrné ve vzájemném porovnávání na akrylamidových gelech, avšak pro jednoznačnější určení rozdílů by bylo potřeba provést i další analýzy jako například značení membrány specifickými protilátkami proti známým proteinům, zejména proti povrchovým proteinům (Osp).

Změny v ultrastruktuře ptačích motolic *Trichobilharzia regenti* (Schistosomatidae) během ontogenetického vývoje

J. Bulantová, P. Horák

Katedra parazitologie, Přírodovědecká fakulta UK v Praze, Česká republika

Ptačí schistosomy rodu *Trichobilharzia* je možné udržovat v laboratorních podmínkách po celou dobu jejich vývojového cyklu, a získávat tak parazity téměř v jakémkoli stadiu jejich vývoje. Jako hostitelé jsou používáni kachna domácí (*Anas platyrhynchos* f. *domestica*) a vodní plži rodu *Radix*.

Během vývojového cyklu jsou různá stadia parazita střídavě vystavována dimetralně odlišným podmínkám prostředí. Nepříznivé vlivy osmotických změn a imunity hostitele se odráží především ve specifických změnách povrchových struktur, které tvoří vnější ochrannou bariéru parazita. Nejvíce jsou tyto změny pozorovatelné při porovnání volně žijících (miracidium, cercárie) a parazitických (sporocysta, schistosomulum, dospělec) stadií.

Nejvhodnější metodou pro sledování změn povrchových struktur se ukázala být elektronová mikroskopie (EM). Pomocí skenovací EM (SEM) se nám podařilo zmapovat povrchové struktury od vajíčka, přes miracidium, sporocysty, cercárie, raná i pozdní schistosomula až k dospělcům. Zaměřili jsme se přitom především na morfologické procesy probíhající během počáteční fáze infekce hostitelského organismu (odhazování ciliárních destiček miracidii, zdvojení povrchovým membrán schistosomul po penetraci cercárie). Stejně procesy byly poté sledovány i metodou transmisní EM (TEM), která umožnila zaznamenat i pochody probíhající uvnitř těla parazita. Současně s povrchem byly pomocí TEM pozorovány i změny dalších orgánů nebo struktur měnících se během vývoje parazita (trávicí a exkrece-sekrece soustava, spermiogeneze).

Kliešť obyčajný (*Ixodes ricinus*) vo vyšších nadmorských výškach - nové riziko turistických oblastí na Slovensku?

E. Bullová¹, M. Lukáš², B. Víchová¹, V. Majláthová¹, B. Petko¹

¹ Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika

² Výskumný ústav vysokohorskej biológie Žilinskej univerzity, 059 56 Tatranská Javorina 7, Slovenská republika

Kliešť obyčajný (*Ixodes ricinus* Linnaeus, 1758) patrí medzi najrozšírenejšie kliešte v Európe a je zároveň vektorom širokého spektra patogénov. V posledných rokoch bol v oblastiach mierneho podnebného pásma zaznamenaný posun hranice vertikálneho rozšírenia tohto kliešťa. Predpokladali sme, že podobná situácia nastala aj na území Slovenska.

Výskyt kliešťov *I. ricinus* bol monitorovaný na viacerých turisticky atraktívnych lokalitách Vnútrotných Západných (Strážovské vrchy, Veľká Fatra, Chočské vrchy) a Východných Karpát (Vihorlatské vrchy) v rôznych nadmorských výškach. Najvyššia zistená hranica výskytu kliešťa obyčajného bola 1230 m n. m. na lokalite v Chočských vrchoch. Výskyt všetkých vývinových štádií bol potvrdený v nadmorskej výške 1100-1150 m. V ekosystémoch nad 1300 m n. m., ktoré sú tvorené smrekovými lesmi čučoriedkovými sme ich prítomnosť v biotope nezaznamenali.

Výsledky zberov jednoznačne potvrdili zmenu v distribúcii kliešťov a ich posun do vyšších nadmorských výšok na všetkých sledovaných modelových lokalitách. Tieto zmeny pravdepodobne súvisia z globálnym otepľovaním, ktoré môže vytvárať podmienky pre vznik nových prírodných ohnísk a šírenie sa kliešťami prenášaných nákaz do nových, najmä podhorských a horských oblastí, ktoré nie sú síce husto osídlené, ale turisticky atraktívne. Zároveň vyvstáva otázka vzniku nových parazitohostiteľských vzťahov. Živočíchy, ktoré obývajú horské oblasti a nie sú typickými hostiteľmi kliešťa obyčajného sa vznikom stálych populácií kliešťov v týchto oblastiach môžu zapájať do cirkulácie patogénov a vytvárať tak nové prírodné ohniská zoonóz.

Práca bola finančne podporená grantom APVV-0108-06 a grantom VEGA 2/6163/26.

Vertikálna distribúcia kliešťa obyčajného (*Ixodes ricinus*) a kliešťami prenášaných patogénov do vyšších nadmorských výšok v oblasti Turčianskej kotliny

L. Cíglerová¹, V. Tarageľová¹, M. Derdáková^{1,2}, M. Kazimírová¹

¹ Ústav zoológie Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 06, Bratislava, SR

² Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, Hlinkova 3, 040 01, Košice, SR

Kliešťami prenášané patogény, ktoré vyvolávajú závažné choroby najmä v trópoch a subtropoch, predstavujú v súčasnosti zvyšujúce sa riziko aj v miernych podnebných pásmach. Žijeme v období globálnych zmien klimatických (globálne otepľovanie), hospodárskych (úpravy pôdy) i spoločenských, dôsledkom ktorých je i výrazné rozširovanie a (novo) objavovanie sa niektorých významných vektormi prenášaných ochorení aj do vyšších nadmorských výšok. Predovšetkým klimatické zmeny ovplyvňujú geografické rozšírenie a denzitu kliešťov a nimi prenášaných patogénov. Kliešť obyčajný (*Ixodes ricinus*) je najvýznamnejším vektorom kliešťami prenášaných ochorení v Európe zahŕňajúc kliešťovú encefalitídu, lymfskú boreliózu, anaplazmózu/ehrlichiozu, rickettsiozu a babeziózu. Výskum kliešťov na strednom Slovensku a zvlášť v severných oblastiach ako je Turčianska kotlina v súvislosti s kliešťami prenášanými ochoreniami bol doposiaľ ojedinelý. Kmety a kol. (1990) vykonal orientačný prieskum zaklieštenosti vo všetkých okresoch Slovenska v rokoch 1985 – 1989, ale novšie údaje o výskyte kliešťov vo vyšších podhorských a horských polohách sú veľmi stručné. Práve z tohto dôvodu sa naša štúdia zameriava na problematiku vertikálnej distribúcie kliešťov a nimi prenášaných patogénov. Cieľom práce je zistenie šírenia a denzity kliešťov v podhorských a horských polohách a zistenie výskytu a genetickej variability kliešťami prenášaných patogénov v kliešťoch *Ixodes ricinus* vo vyšších nadmorských výškach. Kliešte boli zbierané od roku 2004 metódou vľajkovania v rôznych nadmorských výškach. Na izoláciu genomickej DNA z kliešťov bola použitá metóda alkalického hydrolyzy. Metódou PCR bude zisťovaná pozitivita vzoriek na prítomnosť borélii komplexu *Borrelia burgdorferi* sensu lato a *Anaplasma phagocytophilum*. V pozitívnych vzorkách borélií bude následne metódou RFLP (analýza dĺžky reštrikčných fragmentov) určená prítomnosť jednotlivých genospecies.

In vitro a molekulárna analýzy benzimidazol citlivých a rezistentných izolátov *Haemonchus contortus*

P. Čudeková, M. Várady, D. Čerňanská, J. Čorba

Parazitologický ústav, Slovenská akadémia vied, Hlinkova 3, Košice, Slovenská republika

Parazity malých prežúvavcov zapríčiňujú zníženú úžitkovosť, chorobnosť a niekedy aj úhyn infikovaných zvierat. V súčasnosti sa na prevenciu a terapiu parazitárnych ochorení používajú tri skupiny širokospektrálnych antihelmintík, pričom najčastejšie používanou skupinou sú benzimidazolove (BZ) liečivá. Mechanizmus účinku BZ spočíva v zabránení polymerizácii mikrotubulov. BZ antihelmintík sa viažu na β -tubulín parazita, čím zabraňujú naviazaniu ďalších jednotiek α -tubulínu na β -tubulín.

Častým a nekontrolovaným používaním BZ vznikla u nematódov oviec a kôz (predovšetkým u druhov *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* a *Trichostrongylus colubriformis*) voči tejto skupine liečiv rezistencia. Za hlavný mechanizmus rezistencie voči BZ je považovaná mutácia v kodóne 200 v izotype 1 β -tubulínového génu (substitúcia jedného nukleotidu v triplete TTC - u citlivých jedincov na TAC - u rezistentných jedincov), ktorá spôsobuje konverziu aminokyseliny fenyalanín (Phe) na aminokyselinu tyrozín (Tyr) v štruktúre bielkoviny β -tubulínu. Z toho dôvodu cieľom našej práce bolo zistiť frekvenciu mutácie v pozícii 200 izotypu 1 beta-tubulínu u deviatich izolátov *H. contortus*, ktoré sa líšili mierou rezistencie voči BZ.

Na detekciu BZ rezistencie sme použili *in vitro* testy (test liahnutia vajčiek a test vývoja lariev) a molekulárny test, tzv. alel-špecifickú polymerázovú reťazovú reakciu (AS-PCR). Pomocou *in vitro* testov sme zistili fenotypické zastúpenie rezistentných alebo citlivých jedincov v populácii, kým AS-PCR rozlišuje homozygotných (dominantných a recesívnych) a heterozygotných jedincov. Zistili sme, že rezistentné izoláty mali zvýšenú frekvenciu alel s TAC v pozícii 200 izotypu 1 beta-tubulínu. Percentuálne zastúpenie rezistentnej alely bolo u rezistentných izolátov v rozmedzí od 93 do 95% a u citlivých izolátov od 4 do 9%. Heterozygotná alela bola zastúpená u rezistentných izolátov v 5 - 7 percentách, u citlivých izolátov v 12 - 33 percentách. U citlivých izolátov frekvencia citlivej alely bola v rozmedzí 58 až 80%. Citlivá alela nebola u rezistentných izolátov detegovaná. Výsledky z *in vitro* testov boli porovnané s AS-PCR.

Táto štúdia bola podporovaná grantom APVV – RPEU – 009 – 06.

Role katepsinu B2 při průniku cercárií ptačí schistosomy *Trichobilharzia regenti* do kůže definitivního hostitele

K. Dolečková¹, M. Kašný¹, L. Mikeš¹, J. Cartwright², A. P. Mountford², P. Horák¹

¹ Katedra parazitologie PřF UK, Viničná 7, 128 44 Praha 2, Česká Republika;

² Department of Biology (Area 5), The University of York, YO10 5YW York, UK.

Ptačí schistosoma *Trichobilharzia regenti* je blízkce příbuzná medicínsky významným krevničkám rodu *Schistosoma*. Její invazní larvy (cercárie), které žijí ve vodním prostředí, způsobují u lidí cercariální dermatitidu. Tento druh je zvláštní tím, že na rozdíl od běžných schistosom, které využívají k migraci krevní řečiště, vyhledává *T. regenti* po proniknutí kůží periferní nervový systém a postupuje dál míchou až do nosní dutiny definitivního hostitele, kde červi dospívají, páří se a kladou vejce.

Do kůže definitivního hostitele se invazní larvy dostávají díky aktivní penetraci. K tomu jim slouží penetrační žlázy, jejichž obsah začnou cercárie po kontaktu s kůží hostitele vyprazdňovat. Až dosud se předpokládalo, že na aktivním průniku do hostitele se hlavní měrou podílí zejména serinové peptidázy, známé také jako „cercariální elastázy“. Toto platí u nejvíce studovaného druhu, *Schistosoma mansoni*. U ostatních druhů, např. u *S. japonicum*, však existence těchto enzymů nebyla potvrzena jak na úrovni proteinů, tak na genové úrovni. V současné době byla hypotéza cercariální elastázy jako hlavního histolytického enzymu zodpovědného za průnik do kůže hostitele pozměněna. Do popředí zájmu se tak dostaly cysteinové peptidázy, jejichž přítomnost a vysoká aktivita v penetračních žlázách cercárií byla naopak mnoha autory potvrzena.

V této práci jsme identifikovali, funkčně exprimovali a charakterizovali novou cysteinovou peptidázu katepsin B2 z cercárií ptačí schistosomy *T. regenti*. Imuno-histochemické metody nám umožnily lokalizovat katepsin B2 v penetračních žlázách cercárií. Bylo také zjištěno, že rekombinantní katepsin B2 je *in vitro* schopen štěpit složky kůže a nervové tkáně (např. kolagen, elastin, keratin a myelin basic protein). Z toho vyplývá, že peptidáza by mohla hrát důležitou roli jak při průniku do kůže hostitele, tak v další migraci nervovou tkání.

***Dermatobia hominis*- kazuistika**

Z. Doležil¹, L. Lukáčová², D. Vaňková¹

¹ Zdravotní ústav Ostrava

² Klinika infekčního lékařství FN Ostrava

Žena roč. 1963 pobývala od 11. 9. do 7. 10. 2007 v Peru, Chile, nejdéle pak v Bolívii.

Za pobytu v tropech byla opakovaně pobodána hmyzem, koncem září si všimla vředu na pravém lýtku, vytlačila trochu hnisu a tekutiny z rány. Zarudnutí kolem se zvětšovalo, bylo ploché, později spíše vystouplé, teploty neměla. 14. 10. si pomocí lupy všimla, že v ráně, která se nezaceluje, se něco pohybuje, zejména, když na ránu naleje vodu, jakoby se něco dusilo a vylézalo ven. 15. 10. 2007 vyšetřena na ambulanci infekční kliniky s objektivním nálezem: na levém lýtku zarudnutí s průměrem 2 cm, celé lehce vyvýšené, v centru malý černý otvor. Stanovena dg: susp. myi óza- susp. larva mouchy *Dermatobia hominis*.

Doporučení: v den vyšetření- 15. 10. 2007 byla pac. odeslána na chirurg. amb. FN k odstranění larvy. Dále byl doporučen Augmentin á 1g co 12hod. 1 tbl. týden- pro hnisavou superinfekci.

Tentýž den byla pac. vyšetřena na chirurgii- provedena incize s exkochleací detritu v kavitě 0, 5x1cm, materiál zaslán na parazitologii- výsledek negativní, dále stěr z rány na bakter. vyš. - Staph. aureus. Pacientka byla následně ještě 2x ošetřena na chirurgii, vždy tvrdili, že tam nic není. Později pacientka nafilmovala pohyb larvy na kameru- zřetelně byl vidět pohyb bílého distálního konce. 30. 10. se jí podařilo pod lupou po nalití vody vytáhnout pinzetou larvu. Larva uložená v neznámé tekutině (pravděpodobně v alkoholu) byla doručena na parazitologické oddělení. Ztvrdlá larva délky asi 8mm byla zcela maskována krustou z kožního mazu nebo hnisu, což bylo odstraněno preparačními jehlami. Potvrzena dg. kožní myi óza - *Dermatobia hominis*.

Močová schistosomóza – kazuistika

Z. Doležil¹, D. Vaňková¹, L. Lukáčová²

¹ Zdravotní ústav Ostrava

² Klinika infekčního lékařství FN Ostrava

Muž z Ghany, věk 25 až 30 let, pobyt v utečeneckém táboře ve Vyšních Lhotách od února 2007, rodiče a bratr údajně zdraví, on sám prodělal v 18 letech malárii a neznámo kdy syfilis a hepatitidu B, operace neměl. Od února měl Pacient hematurii, od 21. 2. 07 dysurické potíže, léčen chinolonovým antibiotikem (Zanocin) pro suspektní cystitidu. Ke konci léčby znovu hematurie. 5. 3. vyšetření na urologii, dle UZ ledvin a močového měchýře bez patologického nálezu. Pacient byl přijat na urologii dne 3. 4., dne 4. 4. provedena uretrocystoskopie, v moč. měchýři nalezena 2 ulcerózní ložiska ve vertexu a trigonu, provedena biopsie, histologicky prokázán chron. zánět, v kapilárách drobná ložiska vajíček *Schistosoma hematobium*. V došavdním přístupu k pacientovi byla zcela pominuta epidemiologická anamnéza.

Od 11. 4. Pacient předán na inf. kliniku, obj. dobře komponovaný, břicho měkké, hepar ani lien nehmatné.

Odběry z 11. 4. : Hb 173g/l, Ht 0.49, leu 5.2 tis., trombo 200 tis., eosinofily 13.7%, biochemie- Na, K, Cl, urea, kreatinin, CRP- v normě, vysoké IgE- 1388 IU/ml. Sérologie na schistosomózu: pozit

Dne 25. 4. 2007 byl po zajištění praziquantelu (Cesol) znovu vyšetřen na ambulanci infekční kliniky a léčen 15 tbl. Cesolu á 150mg v jedné dávce (40mg/kg při váze 57 kg). Teprve na infekční klinice byl před podáním Cesolu odebrán vzorek moče cca 7 ml, vyšetřeno na parazitologickém oddělení, v sedimentu několik desítek vajíček *S. hematobium*. Další osud pacienta pro změnu bytu neznáme.

Zmeny v bunkovej imunite myši po infekcii nízkymi dávkami lariev *Trichinella spiralis*

E. Dvorožňáková¹, Z. Humíková¹, M. Kolodziej-Sobocińska², E. Dziemian²

¹Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

²Institute of Parasitology PAS, Twarda str 51/55, 00 818 Warsaw, Poland

Nízka infekčná dávka 10 lariev *Trichinella spiralis* v našom experimente simulovala prirodzené podmienky infekcie hlodavcov, významných rezervoárov trichinelózy. V práci bola preskúmaná úloha lymfocytov a makrofágov v imunitnej odpovedi myši infikovaných nízkou (10L) a vysokou dávkou (400L) lariev *T. spiralis*.

Pri infekcii nízkou dávkou parazita bola pozorovaná stimulácia proliferácie splenických T lymfocytov len počas črevnej fázy infekcie, t.j. od 5 do 15. dňa po infekcii (d.p.i.). Naopak, vysoká infekčná dávka indukovala najvyššie hodnoty proliferácie odpovede T buniek od 20. do 30. dňa p.i., počas migrácie novouliahnutých lariev. Proliferačná odpoveď B buniek v oboch infikovaných skupinách sa nelíšila do 15. d.p.i., po ktorom nasledovala výrazná stimulácia B buniek pri vysokej infekcii až do konca experimentu, t.j. 60 deň p.i. Pri nízkej infekcii boli zistené zvýšené hodnoty proliferácie aktivity B buniek až od 45. dňa p.i.

Pri sledovaní subpopulácií pomocných CD4 a cytotoxických CD8 lymfocytov bolo porovnané ich percentuálne zastúpenie v slezine infikovaných myši z dôvodu rozdielnej splenomegálie pri rôznych infekciách. Na rozdiel od vysokej infekcie myši, ktorá nespôsobila výrazné zmeny v percentuálnom podiele CD4 T lymfocytov oproti kontrole, nízka infekcia myši signifikantne zvýšila podiel týchto buniek v slezine na 5. a 10. d.p.i. V CD8 T bunkovej subpopulácii neboli zistené rozdiely v závislosti od infekčnej dávky, v oboch infikovaných skupinách stúpali hodnoty relatívneho percenta do 15. d.p.i. a zotrvali zvýšené do 30. d.p.i.

V črevnej fáze trichinelózy je dôležitá aktivácia Th2 buniek v obrane hostiteľa. Pri nízkej infekcii bola najvyššia *in vitro* produkcia Th2 cytokínu IL-5 už na 5. d.p.i., avšak nedosiahla ani polovicu maximálnej produkcie IL-5 na 10. d. p.i. myši s vysokou infekčnou dávkou. Pri vysokej infekcii bola vysoká produkcia IL-5 v celom priebehu experimentu. U myši s nízkou infekciou bol prechodný pokles IL-5 od 10. do 20. d. p.i. Prozápalová Th1 odpoveď nebola výrazne aktivovaná pri nízkej infekcii, produkcia IFN- γ bola porovnateľná s kontrolou až do konca experimentu. Pri vysokej infekcii bol stimulovaná produkcia IFN- γ od 10. do 45. d.p.i., čo môže byť spojené s migráciou novouliahnutých lariev.

Metabolická aktivita peritoneálnych makrofágov bola hodnotená *in vitro* produkciou superoxidového aniónu O₂⁻. Tento metabolit bol výrazne inhibovaný na 5. d. p.i. pri vysokej infekčnej dávke a jeho stimulácia bola zistená až od 30. do 60. dňa p.i. Naopak, nízka infekcia zvýšila produkciu O₂⁻ už od 10. do 30. d. p.i., pričom s výnimkou 15. a 30. d.p.i. neboli zistené výrazne rozdiely oproti kontrolným zdravým myšiam.

Myši infikované nízkou dávkou lariev *T. spiralis* absolútne eliminovali parazita zo svojho čreva do 15. d.p.i., ale pri vysokej infekcii pretrvávali adulty v čreve myši do 30. d.p.i., pričom záchyt parazita v hostiteľovi bol porovnateľný pri oboch infekciách (65,0-76,13% z infekčnej dávky). Pri svalovej fáze infekcie sa index reprodukčnej kapacity tiež nelíšil od veľkosti infekčnej dávky (306,0-325.13).

Výsledky naznačujú, že nízke infekčné dávky *T. spiralis* stimulujú bunkovú imunitnú odpoveď myši v 1. až 3. týždni infekcie, pričom aktivácia CD4T lymfocytov a makrofágov je dostatočná na elimináciu parazita z čreva, ale nezabránia migrácii novouliahnutých lariev do svalov. Larvy však predstavujú slabý antigénny stimul a nenarušia imunologickú rovnováhu v hostiteľovi.

Táto práca bola podporovaná Slovenskou grantovou agentúrou VEGA 2/0071/08.

Myxozoa – současný stav znalostí a aktuální témata výzkumu

I. Dyková^{1, 2}, J. Lom¹

¹ Biologické centrum AV ČR, v. v. i., Parazitologický ústav, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

² Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

Ve velmi dlouhé historii výzkumu parazitů, řazených do kmene Myxozoa Grassé, 1970 je řada významných milníků. Výsledkem výzkumu, v minulosti zaměřeného především na parazity ryb, je mj. popis více než 2000 druhů myxosporidií zařazených do 65 rodů. V současné době se zájem soustřeďuje zejména na druhy patogenní pro ryby v intenzivních chovech. K moderní etapě výzkumu patří zrušení třídy Actinosporea, která zahrnovala organizmy, o nichž víme, že představují pouze fázi životního cyklu myxosporeí, odehrávající se v bezobratlých. Středění hostitelů je dnes již prokázáno u více než 30 druhů myxosporeí a určuje současné výzkumné trendy. Devadesátá léta se do vývoje poznatků o myxozoích zapsala redeskripcí vermiformního organismu *Buddenbrockia plumatellae* žijícího v mechovkách a zjištěním, že patří k myxozoím. To umožnilo definitivně zařadit Myxozoa mezi Metazoa. Stalo se tak po více než 100 letech, kdy byly myxosporidie považovány za prvky a o jejich příbuznosti s mnohobuněčnými organismy se pouze spekulovalo. Rozdělení kmene Myxozoa na dvě třídy, Malacosporea Canning, Curry, Feist, Longshow et Okamura, 2000 a Myxosporea Buetschli, 1881, popis dalšího druhu rodu *Buddenbrockia* (*B. allmani*) a molekulární analýzy, které prokázaly příbuznost myxozoí a žahavce, odstartovaly další fascinující etapu výzkumu. Poznání etiologie proliferativního onemocnění ledvin, které působí značné ztráty v chovech lososovitých ryb a zařazení původce (*Tetracapsuloides bryosalmonae*) do třídy Malacosporea obrátilo pozornost k mechovkám jako hostitelům těchto organismů. Zatím známe alternaci dvou hostitelů (mechovka a ryba) pouze v životním cyklu *T. bryosalmonae*. Mnohem větší pozornost je věnována biologii a životním cyklům myxosporeí. Množí se práce, které prezentují aktinosporeová stadia vývoje myxosporidií v bezobratlých hostitelích (Oligochaeta, Polychaeta, Sipunculida). Actinosporea považovaná dříve za samostatnou skupinu organismů byla zařazena do 19 skupin s více než 200 morfologickými typy. K nevysvětleným jevům patří skutečnost, že tytéž morfologické typy byly prokázány v životních cyklech myxosporeí patřících do různých rodů, a u druhů patřících do téhož rodu známe až tři různá aktinosporeová stadia. Počet popsáných životních cyklů je stále vzhledem k počtu popsáných druhů myxosporidií minimální. Přesto lze předpokládat, že jde o obecný jev a jen výsledky experimentů zaměřených na životní cykly některých druhů (*Enteromyxum* spp., *Ceratomyxa shasta*) svědčí pro možnost přímého šíření myxosporeových infekcí z ryby na rybu prostřednictvím vegetativních stadií. Nálezy myxosporidií u jiných obratlovců než ryb, jako u mihulí, obojživelníků a plazů jsou vzácné, nové nálezy u kachen, stejně jako ojedinělé nálezy u bezobratlých jsou provokující. Ještě větší výzvou k objasnění životních cyklů jsou pak nálezy u suchozemských savců. Recentní objev druhu *Soricimyxum fegati*, které se od plasmodia po zralé spory vyvíjí v játrech rejsků obecných má zatím největší význam. Z 12 dřívějších klasifikací myxosporidií přežívá nyní Shulmanova klasifikace v modifikaci Loma a Nobleho z r. 1984. Fylogenetické vztahy odvozené ze sekvencí SSU rDNA, používaných jako univerzální molekulární markery přístupné v genových databázích, neodpovídají současnému systému morfologicky definovaných rodů. K vytvoření přirozené klasifikace je třeba uvést v soulad molekulární analýzy, morfologii a zvláštnosti životních cyklů včetně tkáňových preferencí. Pevratné změny systému jsou proto teprve před námi.

Nový pohled na roupy (Nematoda: Enterobiinae) parazitující u čeledi Hominidae (Primates)

I. Foitová¹, M. Vyskočilová¹, V. Baruš², I. Hodová¹, B. Koubková¹

¹ Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno, ČR

² Parazitologický ústav AV ČR, v. v. i., Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Roupi (Nematoda: Oxyuridae) reprezentují skupinu parazitů, vyskytující se u většiny čeledí a rodů primátů. Podčeleď Enterobiinae zahrnuje 47 druhů ve 12 rodech nebo podrodech. U hostitelů z čeledi Hominidae a Cercopithecidae bylo dosud zjištěno 7 specializovaných druhů z rodu *Enterobius* (podrodu *Enterobius*). U čeledi Hominidae: *E. vermicularis* u člověka (Homininae), *E. anthropopitheci* u šimpanzů (Homininae), *E. lerouxi* u goril (Gorillinae), *E. buckleyi* u orangutanů (Ponginae); u afrických opic čeledi Cercopithecidae: *E. bipapillatus* a *E. brevicaudata*, a u asijských opic *E. macaci*. Fylogeneze a kospeciace roupů velmi dobře koreluje s fylogenezí hominidů (Hominidae). U každého rodu hostitelů cizopasí jeden druh z podrodu *Enterobius*; druh *E. gregorii* cizopasíci u člověka, považovaný za „sibling species“, je aktuálně hodnocen také molekulárně genetickými metodami jako synonymum *E. vermicularis*.

Kolekce roupů pocházejících ze Sumatránského orangutana (*Pongo abelii*) byla studována za použití morfometrických metod, skanovací elektronové mikroskopie a molekulárně-genetických metod. Byly identifikovány 3 druhů roupů (morfometrické druhové a rodové difference ve tvaru hlavového konce a ústního otvoru, tvaru jícnu dokumentujeme): *E. buckleyi*, *Pongobius hugoti* (popsaný 2007) a druh označený termínem „species-in-waiting“ příslušející do podrodu *Protenterobius* (s dosud jediným popsáním druhem *P. nycticebi* u hostitele z čeledi Lorisidae). Molekulárně genetické parametry prokazují samostatnost těchto taxonů a naznačují fylogenetické vztahy v podčeledi Enterobiinae, které byly dosud studovány pouze kladistickou analýzou.

Tato studie byla podpořena Výzkumným záměrem MU č. 0021622416.

Parazitofauna původní a nepůvodní populace hlaváčů *Neogobius kessleri* a *Neogobius melanostomus* na Dunaji

K. Francová², M. Ondračková^{1,2}, M. Polačik¹, P. Jurajda¹

¹Ústav biologie obratlovců, Akademie věd ČR, Květná 8, 603 65 Brno

²Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno

Hlaváči *Neogobius kessleri* a *Neogobius melanostomus* (Perciformes, Gobiidae) patří mezi ponto-kaspické druhy ryb, jejichž oblast přirozeného rozšíření zahrnuje také bulharský úsek Dunaje. Výsledkem introdukce těchto druhů v 90. letech je přítomnost jejich nepůvodních populací na středním toku řeky.

Z parazitologického hlediska může introdukce hostitele do nového prostředí znamenat různé změny v parazito-hostitelských vztazích. Introdukovaný hostitel může některé své parazity „ztratit“, může do oblastí zavléci nové parazity a může být sám infikován pro něj novými parazity. Slabší parazitace je považována za faktor podporující životaschopnost hostitele v novém prostředí.

Parazitofauna *N. kessleri* a *N. melanostomus* byla studována v roce 2005 na Dunaji v Bulharsku, Chorvatsku, na Slovensku a v Rakousku. Nebyla zjištěna introdukce žádného specifického parazita hlaváčů do nového prostředí. Nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v abundanci ani počtu druhů parazitů mezi původní a nepůvodní populací v rámci jednoho druhu ryby. Statisticky významně se však lišily introdukované populace mezi jednotlivými druhy: *N. kessleri* byl parazitován vyšším počtem parazitů a vyšším počtem druhů parazitů než *N. melanostomus*, což mohlo přispět k pozorované vyšší abundanci a lepšímu šíření *N. melanostomus* v nových oblastech.

Prevalence toxoplazmózy v Irské republice

D. Halová¹, A. Zintl¹, A. F. Proctor¹, G. Mulcahy¹, P. Rafter², T. de Waal¹

¹ Veterinary Science Centre, School of Agriculture, Food Science and Veterinary Medicine, University College Dublin, Irská republika

² Central Meat Control laboratory, Backweston, Co. Kildare, Irská republika

Toxoplasma gondii patří mezi zoonotická protozoa s celosvětovým rozšířením. Pro zdravé jedince je *T. gondii* nepatogenní, avšak u imunodeficitních jedinců a při kongenitálním přenosu je morbidita a mortalita vysoká. Za hlavní zdroj infekce lidí je považována konzumace nedostatečně tepelně opracovaného masa.

Během uplynulých 3 let bylo v Irské republice evidováno 124 případů humánní toxoplazmózy (Health Protection Surveillance Centre), ale jen velmi málo je známo o prevalenci *T. gondii* u potravinových zvířat.

Během roku 2007 jsme z náhodně vybraných jatek v Irsku získali krevní séra a údaje o věku, pohlaví a původu zvířat od 292 ovcí, 317 prasat, 301 kusů kura domácího a 348 kusů zvěře (jelen evropský, jelen sika a daněk skvrnitý). Séra byla vyšetřena na přítomnost protilátek proti *T. gondii* komerčním kitem na principu semi-kvantitativní latexové aglutinace.

T. gondii protilátky (titr $\geq 1:64$) byly zjištěny u 35,5% (103/292) ovcí; 4,7% (15/317) prasat; 1% (3/301) kura; 6,6% (20/301) zvěře z farmových chovů a 6,4% (3/47) vzorků zvěře z volné přírody. Nejvyšší zjištěné titry byly 1:4096 u ovcí a 1:1024 u kura, zatímco nejvyšší titry u prasat byly jen 1:512 a 1:128 u vysoké zvěře.

Signifikantně vyšší ($P < 0.05$) počet *T. gondii* pozitivních zvířat byl zjištěn u dospělých ovcí ve srovnání s mladými.

Tato studie dokazuje, že značné procento vyšetřených irských potravinových zvířat, má vytvořeny protilátky proti *T. gondii*, a proto může představovat zdravotní riziko pro osoby, které konzumují, případně manipulují se syrovým nebo nedostatečně tepelně opracovaným masem z těchto zvířat.

Štúdium expresie protektívnych antigénov 64P a 4D8 v kliešťovi *Rhipicephalus appendiculatus* metódou *in situ* hybridizácie

S. Havlíková¹, L. Roller², M. Kazimírová², †M. Labuda²

¹ Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, SR

² Ústav zoológie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava, SR

Kliešte sú z medicínskeho, ale i veterinárneho hľadiska dôležitými vektormi infekčných agensov spôsobujúcich mnohé závažné ochorenia najmä človeka, ale aj hospodárskych a voľne žijúcich zvierat. V slinných žľazách kliešťov dochádza počas cicania k sekrécii rozličných farmakologicky aktívnych látok blokujúcich imunitný systém hostiteľa na všetkých úrovniach. V poslednom období sa pozornosť sústreďuje na vývoj tzv. „transblok“ vakcín, namierených nielen voči samotnému vektoru, ale aj prenosu patogénov. Významným prínosom v tejto problematike je práve identifikácia protektívnych antigénov a štúdium ich expresie v slinných žľazách kliešťov.

K antigénom s potenciálnym ochranným účinkom patria aj cementový proteín 64P z kliešťa *R. appendiculatus* (64P) a subolesin (4D8), konzervatívny proteín pochádzajúci z embryonálnych buniek *I. scapularis*. Expresia oboch proteínov zatiaľ nebola u *R. appendiculatus* študovaná, či už na úrovni RNA alebo proteínu. V našej práci sme sa zamerali na expresný profil proteínov 64P a 4D8 v rôznych tkanivách kliešťa *R. appendiculatus* na úrovni mRNA použitím citlivej metódy – *in situ* hybridizácie.

Transkripty 64P sme lokalizovali pomocou DNA próby značenej digoxigenínom. Pri príprave hybridizačnej próby klonovaním 64P cDNA sme zaznamenali dva nové varianty cementového proteínu. Jednotlivé varianty sa líšili najmä inzerciami/deléciami repetícií GlyGlyTyr v C-koncovej oblasti proteínu. 64P je produkovaný bunkami *d* a *e* v acinoch typu III a jeho expresia varíruje počas cicania. Najsilnejší signál sme pozorovali v slinných žľazách kliešťov cicajúcich jeden deň. Produkcia 64P mRNA klesla na 3 dňa cicania. V slinných žľazách kliešťov, ktoré nezačnú cicat' na hostiteľovi alebo naopak sú plne nacicané a odpadnú, nedochádza k transkripcii génu pre 64P. Expresiu sa nám nepodarilo zaznamenať v iných tkanivách akými sú slinné žľazy.

Silnú produkciu 4D8 mRNA sme zaznamenali v ováriách počas cicania na rozdiel od slinných žľaz, kde k detekovateľnému signálu dochádza u nenacicaných jedincov u oboch pohlaví. V slinných žľazách bola zistená zreteľná expresia 4D8 v acinoch typu II a III.

Detekce *Borrelia burgdorferi* sensu lato v klíštěti obecném (*Ixodes ricinus*)

V. Höhnig¹, I. Rudolf², Z. Hubálek^{1,2}

¹ Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU, Kotlářská 2, 602 00 Brno, ČR

² Oddělení medicínské zoologie, Ústav biologie obratlovců Akademie věd ČR, Klášterní 2, 691 42 Valtice, ČR

Lymská borrelióza (LB) je nejrozšířenějším klíšťatou přenosným onemocněním na severní polokouli. V České republice dosáhla v letech 1990-2006 průměrná roční nemocnost 32 případů na 100 000 obyv. (rozsah 14 až 61) (<http://data.euro.who.int/cisid>).

Původce LB, spirochéta *Borrelia burgdorferi*, byl poprvé izolován v roce 1981 v USA. V následujících letech byla získána řada dalších izolátů z různých biologických zdrojů a různého geografického původu. Podrobnější analýzy prokázaly jejich značnou genetickou a biologickou heterogenitu. Dnes je popsáno již 12 genomických druhů (označovaných také jako genospecies, genomospecies apod.), které se navzájem liší ekologicky, epidemiologicky i schopností vyvolávat různé klinické formy onemocnění. Za prokazatelně patogenní pro člověka jsou dnes považovány tři genomické druhy: *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii* a *B. garinii*. Jedním z ukazatelů umožňujících odhad rizika LB pro člověka v přírodních ohniscích je sledování prevalence jejího původce ve vektorech – klíštětech.

Klíšťata *Ixodes ricinus*, hlavní vektor spirochét LB v Evropě, byla sbírána vlnovitě v měsíčních intervalech od května do listopadu 2006 a v březnu 2007 na třech lokalitách jižní Moravy (Brněnská přehrada, Vranovská přehrada, Valtice). Všechny tři lokality jsou vyhledávanými rekreačními oblastmi. Celkem 414 jedinců *I. ricinus* (125 dospělců, 289 nymf) bylo na přítomnost *Borrelia burgdorferi* s. l. vyšetřeno pomocí mikroskopie v zástinu (MZ). Sto dospělců bylo vyšetřeno paralelně pomocí MZ a PCR s primery specifickými pro komplex *Borrelia burgdorferi* s. l., pro přímé srovnání metod detekce. Vzorky pozitivní v PCR byly podrobeny druhově specifické PCR s cílem identifikovat patogenní genomospecies: *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, *B. garinii*.

Populační hustota klíšťat od jara k podzimu postupně klesala. Maxima (až 189 ex./100 m²) dosahovala v květnu až červnu, minima (3 ex./100 m²) v srpnu až říjnu. Na všech lokalitách denzita nymf průkazně ($P < 0,03$; Wilcoxonův párový test) převyšovala denzitu dospělců.

Prevalence borrelií byla statisticky průkazně vyšší u dospělců *I. ricinus* (18,4%) než u nymf (9,7%) ($P < 0,02$; χ^2 test). Nebyly zjištěny průkazné rozdíly v prevalenci mezi pohlavími klíšťat a ani mezi lokalitami.

V přímém srovnání mikroskopie v zástinu a PCR nebyl nalezen průkazný rozdíl v prevalenci (18% MZ a 23% PCR). U 12% vzorků byl získán pozitivní výsledek oběma metodami, 71% vzorků bylo v obou metodách negativní, 11% vzorků bylo pozitivní pomocí PCR a negativní v MZ, 6% vzorků bylo negativní v PCR a pozitivní v MZ.

Z celkového počtu 31 vzorků pozitivních v PCR byla u 25 vzorků identifikována jedna z patogenních genomospecies. Převažovaly *B. afzelii* (44,1%) a *B. garinii* (41,2%), *B. burgdorferi* s. s. (14,7%) byla zastoupena méně.

Mezi celkovou denzitou klíšťat a prevalencí *B. burgdorferi* s. l. byla nalezena negativní korelace ($P < 0,03$; Pearsonův test; $r = -0,810$. $P < 0,05$; Kendallův $\tau = -0,905$ a Spearmanův test $p = -0,964$). Zatímco mezi celkovou denzitou klíšťat a denzitou infikovaných klíšťat byla nalezena silná pozitivní korelace ($P < 0,01$; Pearsonův test; $R^2 = 0,946$). Mezi prevalencí borrelií a denzitou infikovaných klíšťat žádný průkazný vztah nalezen nebyl.

Studie byla podpořena grantem EU GOCE-2003-010184 EDEN.

Identifikace genů kódujících dva ML proteiny a receptor pro boreliární OspA u klíštěte *Ixodes ricinus* a jejich role v interakcích vektor – patogen

J. Horáčková^{1,2}, N. Rudenko^{1,2}, M. Golovchenko^{1,2}, L. Grubhoffer^{1,2}

¹ Biologické centrum AV ČR, Parazitologický ústav, Branišovská 31, 37005 České Budějovice, ČR

² Přírodovědecká fakulta JU, Branišovská 31, 37005 České Budějovice, ČR

Klíště obecné (*Ixodes ricinus*) je v současnosti jedním z významných přenašečů různých patogenů, z nichž nejznámější jsou spirochéta *Borrelia burgdorferi* a virus klíšťové encefalitidy, původci dvou infekčních onemocnění člověka ve střední Evropě. V ontogenezi klíštěte je podnětem zásadního významu sání krve na hostiteli a její příjem do trávicího traktu. Následuje zapnutí celé řady genů, jejich exprese a syntéza příslušných molekul konstitutivních a zejména indukibilních proteinů.

K těmto genům patří také ty, které kódují proteiny účastnící se interakcí vektor-patogen, a to mimo jiných i představitelé rodiny proteinů s ML doménou (také "MD-2-related lipid recognition" doména). Tato proteinová rodina zahrnuje proteiny nalezené u rostlin, živočichů a hub. ML proteiny obsahují charakteristickou doménu se šesti cysteinovými zbytky v konzervovaných pozicích a signální sekvenci na N-konci, což potvrzuje to, že se jedná o sekretované proteiny. Jejich funkce není přesně známa, ale pravděpodobně jsou tyto proteiny zapojeny v přirozené imunitě, v rozpoznávání lipidů a regulaci jejich metabolismu. Geny kódující dva proteiny s ML doménou - "ML-domain containing protein" a "Der-p2-like allergen" byly nalezeny u klíštěte *I. ricinus*. Exprese obou sledovaných klíštěcích genů je ovlivněna sáním klíštěte. V genomových sekvencích obou genů nebyly nalezeny introny. Produkty obou genů patří do skupiny II proteinové rodiny (mezi alergeny roztočů, Npc2 proteiny a proteiny s ML doménou *Drosophila melanogaster* a *Caenorhabditis elegans*).

Mezi geny kódující proteiny zapojené do interakcí s boreliemi, patří gen kódující klíštěcí receptor pro povrchový lipoprotein OspA *B. burgdorferi* (TROSPA = Tick Receptor for OspA), který byl poprvé nalezen u severoamerického klíštěte *I. scapularis*. U klíštěte *I. scapularis* je proteinový produkt tohoto genu důležitý pro kolonizaci střeva klíštěte boreliemi a jejich přežívání. Gen pro receptor klíštěte *I. ricinus* pro OspA borélií byl izolován z cDNA nasátých klíšťat. Gen kódující TROSPA vykazuje 96% shodu s genem *I. scapularis*. Oba geny také obsahují intron v obdobných pozicích.

Životní cykly schistosom z pohledu interakcí parazit-hostitel

P. Horák

Katedra parazitologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze,
Viničná 7, 128 44 Praha 2, ČR

V rámci motolic mají schistosomy poměrně jednoduché životní cykly, neboť využívají pouze dva typy hostitelů – mezihostitelské plže a definitivní hostitele (ptáky, savce) - a k nákaze každého z nich dochází penetrací infekčních larev povrchovými epitely. Jelikož je možno alespoň v některých případech chovat uvedené hostitele v laboratorních podmínkách, lze také experimentálně studovat detaily životních cyklů schistosom, a to od molekulárních strategií až po morfologické adaptace k parazitismu.

Volně žijící infekční larvy (miracidia, cercarie) jsou schopny reagovat na různé fyzikální a chemické podněty z okolí (např. glykoproteiny vylučované plži, L-arginin a mastné kyseliny uvolňované z obratlovce), což přispívá k nalezení vhodného hostitele. Také rozpoznání obratlovce a vlastní penetrace jeho kůže jsou stimulovány některými látkami (L-arginin, ceramidy, cholesterol, mastné kyseliny). Následná orientace schistosomul migrujících ve tkáních pod povrchem těla je pak závislá na monitorování koncentrací L-argininu a D-glukózy. Většina schistosom proniká do krevního řečiště a podniká cestu tělem hostitele do cílových orgánů. Toto cestování krevním řečištěm může probíhat několika způsoby; existují však i schistosomy, které migrují jinými tkáněmi (nervová soustava) či krevní řečiště na omezenou dobu opouštějí. Migrace tělem je pravděpodobně ovlivňována/regulována signály mezi migrujícím parazitem a tkání hostitele, přičemž existují hypotézy zdůrazňující zejména význam povrchových sacharidů schistosom (O-glykanů mucinového typu včetně např. Lewis-X antigenu) a receptorů (např. lektinů) v orgánech/tkáních hostitele.

Dokonalé využití vhodného hostitele pro vývoj a reprodukci schistosom je umožněno četnými adaptacemi těchto parazitů na úrovni morfologické/strukturální, ale i buněčné a molekulární. Dospělé schistosomy mají zvláštně utvářený povrch těla (členitý povrch krytý dvojitou cytoplasmatickou membránou), jehož obměna i molekulové složení zajišťuje schistosomám únik před imunitním systémem hostitele. Důležitá je např. produkce lysofosfatidylcholinu podléajícího se na lyzi membrán hostitelských buněk a jejich začlenění do povrchu schistosom, či exprese povrchových receptorů pro Fc konce imunoglobulinů, regulační protein DAF nebo antigeny krevních skupin. Přítomnost parazita ovlivňuje nejen imunitní systém hostitele (imunosuprese, imunomodulace), ale také systém hormonální a nervový. To lze sledovat např. u mezihostitelských plžů, kde produkce tzv. schistosominu vede k útlumu reprodukce a gigantickému růstu infikovaných plžů.

Detailní znalost životních cyklů schistosom i jejich interakcí s jednotlivými hostiteli může přispět k boji proti schistosomóze, a to např. znalostí metod/způsobů přerušování cyklu ve fázi vývoje parazita v mezihostiteli či hostiteli. Na úrovni definitivního hostitele lze zmínit nejen možnost přeléčení infikovaného obyvatelstva endemických zemí, ale i testování či zavádění nejrůznějších preventivních opatření (hygienická opatření, pokračující výzkum vakcín či již vyzkoušená aplikace krému na kůži s obsahem antiparazitárních látek). Tyto snahy vedoucí k eradikaci schistosomózy budou zřejmě podpořeny i probíhajícím bojem s jinými infekcemi, zejména virovými (HIV, HCV, HBV). Ukazuje se totiž, že zásadním problémem současné i budoucí vakcinace mohou být souběžné infekce jednoho hostitele, při kterých virová infekce stimuluje Th1 imunitní odpověď a schistosomy (případně další helminti) navozují „konkurenční“ Th2 polarizaci imunity.

Známe skutečně meziphostitele původců cercáriové dermatitidy?

K. Huňová, P. Horák

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, katedra parazitologie,
Viničná 7, Praha 2, 12844

Plži rodu *Radix* (čeleď Lymnaeidae) jsou významní meziphostitelé motolic, mimo jiné i ptačích schistosom rodu *Trichobilharzia* (v ČR *T. regenti* a *T. franki*). Druhá determinace těchto plžů je problematická. Současné zmatky v názvosloví a validitě jednotlivých druhů vedou i k nejasnostem v meziphostitelské specifitě motolic. V minulosti se jednotlivé druhy radixů rozlišovaly zejména na základě morfologie ulity, popřípadě anatomie orgánů pohlavní soustavy. Moderní přístupy jsou založené na sekvenaci jaderné a mitochondriální DNA. Dosud však žádná práce nepřinesla srovnání výsledků těchto metod.

V naší práci jsme se snažili zjistit, zda determinace založená na morfologických a anatomických datech odpovídá druhovému určení na základě sekvencí ITS2. Celkem jsme změřili, vypitvali a osekvenovali 160 plžů ze 42 lokalit (všechny lokality se nacházejí v České republice). Na základě pitev jsme plže rozdělili do čtyř skupin, které se lišily tvarem, umístěním a délkou vývodu kopulační burzy. Jednotlivé skupiny pravděpodobně odpovídají druhům *Radix auricularia*, *R. lagotis*, *R. labiata* a *R. balthica*. V rámci přednášky budou srovnány jednotlivé metody s ohledem na jejich praktickou použitelnost a vzájemnou zastupitelnost.

Cirkulácia trichinelózy v ekologicky špecifických podmienkach Tatranského národného parku

Z. Hurníková

Ústav zoológie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava, Slovenská republika.

Na území Slovenska vďaka jeho geografickej polohe cirkulujú viaceré závažné parazitozoonózy, predstavujúce potenciálne riziko pre človeka. K takýmto ochoreniam, ktoré sa trvalo udržujú v prírode, patrí aj trichinelóza, ktorú spôsobujú nematódy z rodu *Trichinella*.

V sylvatickom cykle sa trichinelóza udržiava predovšetkým v mäsožravcoch s kanibalistickým a zdochliožravým potravným správaním (Kapel, 2000). Vo väčšine krajín Európy sú špecifickým rezervoárovým zvieratom parazita líšky hrdzavé (*Vulpes vulpes*), žijúce v oblastiach s nadmorskou výškou 400 – 500 m. n. m., alebo v chránených a odľahlých oblastiach s minimálne narušeným ekosystémom. (Pozio, 2007). Úloha iných druhov mäsožravcov v udržiavaní sylvatického cyklu sa kvôli nízkym populačným stavom považuje za sekundárnu.

Rozsiahly epizootologický výskum uskutočňovaný na Slovensku od r. 200 preukázal významný nárast prevalencie trichinelózy u líšok (zo 4,9% v r. 2000 na 20,1% v r. 2007) a vznik nových endemických lokalít s výskytom parazita. Cieľom našej práce bolo študovať výskyt parazita u mäsožravcov z ekologicky špecifickej chránenej oblasti Tatranského národného parku a zistiť úlohu jednotlivých druhov predátorov v jeho udržiavaní v prírode.

Tráviacou metódou bola na prítomnosť trichinel vyšetrená svalovina 76 líšok hrdzavých, 6 vlkov dravých (*Canis lupus*), 9 kún skalných (*Martes foina*), 6 kún lesných (*Martes martes*) 5 jazvecov lesných (*Meles meles*), 5 tchorov tmavých (*Mustela putorius*), 4 vydier riečnych (*Lutra lutra*), 8 lasíc obyčajných (*Mustela nivalis*), 3 lasíc hranostajov (*Mustela erminea*) and 2 medvedov hnedých (*Ursus arctos*), pochádzajúcich z územia TANAPu. Druhá identifikácia lariev získaných z nakazených zvierat sa uskutočnila s použitím multiplex PCR metódy podľa Zarlengu a kol. (1999).

Výsledky preukázali prítomnosť lariev *Trichinella* spp. u 19,7% líšok hrdzavých, 40,0% kún skalných, 33,3% kún lesných, 33,3% tchorov tmavých a u jedného z dvoch vyšetrených medvedov hnedých. Výsledky molekulových analýz preukázali výlučnú prítomnosť sylvatického druhu *T. britovi*.

Z výsledkov vyplýva, že na území TANAPu je najvýznamnejším rezervoárom líška, vďaka vysokej populačnej hustote a vysokej premorenosti populácie. Veľmi významné je však zistenie vysokého percenta nakazených kunovitých šeliem (37,5% u kún; 19,0% v čeľadi Mustelidae), ktoré poukazujú na skutočnosť, že líška nie je jediným predátorom, ktorý je začlenený do udržiavania sylvatického cyklu trichinelózy.

Naše zistenia nasvedčujú tomu, že v epizootologickom reťazci zohrávajú významnú úlohu aj infikované mäsožravce z čeľade Lasicovité. Toto zistenie významné najmä s ohľadom na synantropný spôsob ich správania, ktorý je článkom medzi sylvatickým a domovým cyklom a predstavuje tak riziko nakazenia domových zvierat, prípadne ľudí.

Práca bola financovaná Európskou úniou v rámci projektu ESF č. JPD 3BA 2005/1-031.

Nízke infekčné dávky *Trichinella* spp. u myší I.: Porovnanie infekčnosti jednotlivých druhov trichinel

Z. Hurníková, K. Reiterová, D. Antolová

Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika.

Charakteristika druhov rodu *Trichinella* je založená na biologických, biochemických a genetických kritériách. Z biologických parametrov je významná druhová variácia v infekčnosti a imunogénnosti. Mnoho experimentov preukázalo významné rozdiely v infekčnosti doteraz známych druhov z rodu *Trichinella* a závislosť úspechu infekcie od veľkosti infekčnej dávky, výsledky infekcie hlodavcov nízkymi dávkami svalových lariev, ktoré sa najviac približujú prirodzeným podmienkam v sylvatickom a synantropnom cykle cirkulácie parazita, však nie sú dostatočne preskúmané.

Preto boli s cieľom simulovať prirodzené podmienky infekcie hlodavcov, významných rezervoárov trichinelózy, experimentálne použité nízke infekčné dávky parazita (5 lariev) u myší kmeňa Balb/c a boli sledované rozdiely v infekčnosti troch druhov trichinel (*Trichinella spiralis*, *T. britovi*, *T. pseudospiralis*), ktoré sa vyskytujú na území Slovenska. Infekčnosť jednotlivých kapsulotvorných a nekapsulotvorných druhov trichinel bola determinovaná biologickými parametrami - podľa záchytu dospelých červov v čreve hostiteľa a vyhodnotením indexu reprodukčnej kapacity v priebehu svalovej fázy infekcie. Počas experimentu bola zároveň vyhodnotená dynamika tvorby cirkulujúcich protilátok.

Získané výsledky potvrdzujú, že infekciu je schopná vyvolať aj nízka infekčná dávka lariev všetkých troch druhov zahrnutých do experimentu. Dospelé larvy v čreve pretrvávali u *T. pseudospiralis* do 25. dpi, u *T. britovi* do 20. dpi a u *T. spiralis* len do 13. dpi. Prvé svalové larvy boli u všetkých druhov detegované na 20. deň po infekcii a pretrvávali až do 120. dňa experimentu. Najvyšší celkový počet svalových lariev bol u *T. pseudospiralis* na 70. – 80. deň po infekcii a u *T. britovi* a *T. spiralis* výrazne skôr, na 25. – 30. deň. Index reprodukčnej kapacity bol na vrchole infekcie najvyšší u *T. spiralis* (970) ako u druhov *T. pseudospiralis* (230) a *T. britovi* (84).

Naše výsledky nasvedčujú tomu, že aj pri infekciách nízkymi dávkami sa v hlodavcoch lepšie uplatňujú domové druhy, ako sylvatický druh *T. britovi*. Zároveň poukazujú na dôležitosť hlodavcov v epidemiologickom reťazci cirkulácie parazita, predovšetkým s ohľadom na riziko jeho prenosu zo synantropného do domového cyklu.

Práca bola financovaná z projektu APVV-51-02760.

Trapiči z domácností a jejich laboratorní diagnostika

Z. Hůzová¹, J. Votýpka², V. Tolarová¹

¹ Zdravotní ústav se sídlem v Praze, oddělení parazitologie, Rajmonova 1199/4, 182 00 Praha 8

² Katedra parazitologie PřF UK, Viničná 7, 128 44 Praha 2

Oddělení parazitologie ZÚ Praha i katedru parazitologie PřF UK stále častěji navštěvují klienti a pacienti se stížnostmi na obtěžování (krevsajícím) hmyzem a dalšími členovci v domácnostech. Protože konzultace založené pouze na ústním sdělení nemají vypovídací hodnotu, přinášejí často viníky přímo s sebou „ve sklenici“, a umožňují tak jejich přesnou determinaci.

Nejběžnějším ektoparazitem je samozřejmě veš dětská (*Pediculus capitis*), jejíž populace v posledních letech značně vzrostla díky rezistenci na dostupné přípravky založené na bázi melathionu, permethrinu či d-phenothrinu. Hubení vši se tak stalo v letech 2006–2007 opravdovým problémem a řada lidí se přiklonila ke „starým“ praktikám založených na petroleji apod. U nového přípravku Difusil H forte, jehož účinnou látkou je carbaryl, není zatím rezistence pozorována.

V posledních letech se stále častěji objevuje parazit, který byl v minulých desetiletích považován „za již vyřešený problém“. Jedná se o štěnicí *Cimex lectularius*, sociální hmyz s noční aktivitou, vybírající si k sání obnažené části spícího hostitele. Paradoxně se často jedná o výskyt u klientů z velmi dobře situovaných rodin, a o to těžší je pro ně akceptovat skutečnost, že se tento nepříjemný trapič zabydlel právě v jejich ložnici. Ačkoliv přesné určení zdroje štěnic je poměrně obtížné, na základě našich pohovorů s postiženými se zdá, že se ve většině případů jednalo o zavlčení „černého pasažéra“ v nějakém zavazadle z cest. Celosvětově jsou štěnice v posledních letech stále vážnějším problémem a rozhodně nejsou výsadou bytů s nízkou hygienickou úrovní. Také DDD firmy potvrzují vzestup případů v ČR za posledních pět let. Všechny vyšetřované vzorky jsme určili jako druh *C. lectularius*.

Dalším, často jen velmi obtížně naležitelným trapičem, je klíšťák holubí (*Argas reflexus*), který je nejčastěji přinášen obyvateli nových bytů v půdních vestavbách, ale i studentských kolejí ve staré zástavbě nebo panelákových bytů. V případech obou hnízdních trapičů (štěnic a klíšťáků) narážíme na právní povinnosti spojené s likvidací parazitů v domě. Majitel budovy je sice povinen jejich odstranění zajistit, nikoliv však zaplatit, jak se nájemníci a obyvatelé často mylně domnívají.

Méně obvyklé nálezy typu *Eristalis tenax* (pestřenka trubcová), *Melophagus ovinus* (kloš ovčí), *Pthirus pubis* (veš muňka), *Dermatobia hominis*, různé druhy pisivek s atypickou lokalizací a další domácí škůdci jsou milým zpestřením mnohdy rutinní práce. Samostatnou skupinu tvoří klienti trpící parazitofobií, kteří naše laboratoře zásobují nejrůznějšími „parazity“ od úlomků domácích škůdců, přes semínka máku až po žířaly nalezené v záchodové míse.

In vitro* transformácia a vývin schistosomul rodu *Trichobilharzia

M. Chanová, P. Máslo, J. Bulantová, P. Horák

Katedra parazitologie, Přírodovědecká fakulta UK, Viničná 7, 128 44 Praha 2, ČR

Cerkárie vtáčích schistozóm (*Trichobilharzia szidati* a *T. regenti*) boli *in vitro* transformované na schistosomuly a kultivované v médiu s pridaním vtáčích erytrocytov a/alebo zhomogenizovanej CNS. Kultivácia prebiehala v CO₂ inkubátore pri 37°C a 5% CO₂, médium bol vymieňané po 48-72 hodinách.

Kultúry boli po stanovenej dobe sledované a bolo zaznamenávané prežívanie schistosomul. Časť červov bola spracovávaná pre potreby merania (fixácia horúcim formalínom), klasickej histológie a lektínového značenia (fixácia Bouinovým roztokom, zalievanie do JB4 média), skenovej elektrónovej mikroskopie (fixácia horúcim formalínom, dehydratácia, pozlacovanie) a transmisnej elektrónovej mikroskopie (TEM, fixácia 2.5% glutaraldehydom, postfixácia 1% OsO₄, zalievanie do Poly/Bed 812/Araldite 502).

Využitím metód svetelnej a elektrónovej mikroskopie bola sledovaná transformácia povrchu a jeho ďalšie zmeny v priebehu kultivácie, príjem potravy, vývin tráviacej sústavy a rast schistosomul v podmienkach *in vitro*.

Práca bola finančne podporovaná grantmi GAČR 206/06/0777, MSM 0021620828 a MSM LC06009.

Napadení volně žijících drobných savců tasemnicemi ve vztahu ke koncentraci těžkých kovů v jejich tkáních

L. Jankovská¹, I. Langrová¹, J. Valdejch¹, D. Miholová², V. Bejček³

¹ Katedra zoologie a rybářství, FAPPZ,

² Katedra chemie, FAPPZ,

³ Katedra ekologie, FŽP, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchdol

Informace o parazitech obratlovců žijících v suchozemských ekosystémech jako sentinelech pro zatížení prostředí těžkými kovy jsou vzácné. Fenomén silné akumulace těžkých kovů parazitickými helminty a jeho využití jak při environmentálním monitoringu v daném ekosystému + vztah mezi zatížením těžkými kovy u hostitele majícím ve střevech parazity (především tasemnice) a hostitelem bez parazitů (tasemnic) byly předmětem této práce. Cílem bylo 1, zjistit napadení drobných savců (odchycených ve vrcholových partiích Krušných hor) parazitickými helminty; 2, analýza těžkých kovů v játrech a ledvinách helmintologicky pozitivních ve srovnání s helmintologicky negativními jedinci; 3, analýza těžkých kovů v parazitických helmintech (tasemnicích) nalezených u helmintologicky pozitivních jedinců.

Vyšetřeno bylo 57 drobných savců (20 *Apodemus flavicolis*, 17 *Clethrionomys glareolus*, 20 *Microtus agrestis*) a jejich paraziti (především tasemnice). Odchycení hlodavci byli vloženi do igelitových sáčků a zmrazeni při -20°C do dalšího zpracování. Po rozmrazení byla provedena helmintologická pitva a získaní helminti spolu s játry a ledvinami byli analyzováni na přítomnost Cd, Cr, Cu, Pb, Mn, Ni a Zn pomocí atomové absorpční spektrometrie. Vzorky tkáně byly zlyofilizovány a rozloženy v přístroji APION v superoxidační atmosféře kyslíku, ozonu a oxidů dusíku na suché cestě zuhelnatěním a zpopelněním v teplotním rozmezí 130-400°C po dobu 18h. Získaný bílý popel byl rozpuštěn v 1,5% HNO₃.

V tkáních hlodavců bylo zjištěno Pb – od 0.036 do 3.34 mg/kg, Cd - od 0.053 do 18.32 mg/kg, Cr – od 0.002 do 0.641 mg/kg, Cu – od 11.0 do 31.35 mg/kg, Mn – od 4.88 do 22.04 mg/kg, Ni – od 0.035 do 1.01 mg/kg a Zn – od 58.9 do 156 mg/kg. V tasemnicích to bylo: Pb – od 1.13 do 89.6 mg/kg, Cd – od 0.123 do 6.51 mg/kg, Cr – od 0.040 do 0.100 mg/kg, Cu – od 6.33 do 42.32 mg/kg, Mn – od 10.95 do 314 mg/kg, Ni – od 0.465 do 0.700 mg/kg a Zn – od 90.7 do 201 mg/kg.

Koncentrace Pb, Mn a Zn byly v tasemnicích vždy mnohem vyšší, než v játrech a ledvinách jejich hostitelů. Koncentrace Cr, Cu a Ni v parazitech se příliš neliší od těch v tkáních hostitele. Parazitologicky pozitivní hlodavci měli v játrech a ledvinách nižší koncentrace vybraných těžkých kovů ve srovnání s tkáněmi neparazitovaných hlodavců. Konkrétně parazitovaní hraboši (*Microtus agrestis*) měli méně Pb, Cr a Ni; norníci (*Clethrionomys glareolus*) měli méně Cd, Cr, Mn, Ni a myšice (*Apodemus flavicolis*) měli méně Cu v játrech a ledvinách oproti neparazitovaným jedincům

Mikrosporidiové infekce exotických ptáků

D. Kašičková¹, B. Sak², M. Kváč², O. Ditrich^{1,2}

¹ Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, ČR

² Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, v. v. i, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

Vzorky trusu různých druhů exotických ptáků chovaných v zajetí byly za pomoci molekulárních metod (PCR) vyšetřovány na mikrosporidie. Bylo vyšetřeno celkem 189 vzorků trusu ptáků pocházejících ze soukromých chovů, zverimexů, výstav a ZOO Monkey Town (Afrika – RJA). Pozitivních bylo 9 vzorků trusu pocházejících ze zverimexu a třech soukromých chovů, přičemž celková prevalence činila 5% (9 ze 189). Byly identifikovány 2 druhy mikrosporidií, *Encephalitozoon hellem* v prevalenci 3% (5 ze 189) a *Encephalitozoon cuniculi* v prevalenci 2% (4 ze 189). Ve zverimexu byl zachycen pouze druh *E. hellem*, ve dvou soukromých chovech pouze druh *E. cuniculi* a v jednom soukromém chovu byly detekovány oba druhy – *E. hellem* i *E. cuniculi*. Druh *E. hellem* byl zaznamenán u rýžovníka šedého (*Padda oryzivora*), rosely pestré (*Platycercus eximius*), zebřičky pestré (*Taeniopygia guttata*), agapornise škraboškového (*Agapornis personata*) a andulky vlnkované (*Melopsittacus undulatus*), přičemž první tři jmenované druhy jsou novými, doposud nezaznamenanými druhy ptačích hostitelů pro tuto mikrosporidii. *Encephalitozoon cuniculi* byl nalezen u papouška šedého (*Psittacus erithacus*), rozely žlutobřiché (*Platycercus caledonicus*), alexandra malého (*Psittacula krameri*) a holoubka diamantového (*Geopelia cuneata*) a tyto druhy jsou pro *E. cuniculi* opět nově zaznamenanými druhy hostitelů. Tři z *E. cuniculi* pozitivních vzorků byly identifikovány jako genotyp III (původně izolovaný ze psa) a jeden vzorek (z alexandra malého) jako genotyp I (původně izolovaný z králíka).

Na území ČR byl zaznamenán výskyt mikrosporidií u exotických ptáků chovaných v zajetí. Byly detekovány 2 druhy mikrosporidií a *E. cuniculi* byl u ptáků poprvé detekován ve srovnatelné prevalenci jako *E. hellem*. Vlastní zdroje i literární údaje podporují hypotézu o roli ptáků jako zdrojů infekce mikrosporidií rodu *Encephalitozoon*, reálné riziko představují exotičtí ptáci chovaní v zajetí.

„Molekulární mikroskop“ - MALDI-MSI v proteomice motolic

M. Kašný¹, L. Mikeš¹, P. Jedelský^{2,3}

¹ Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra parazitologie, Viničná 7, Praha 12844, ČR.

² Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra buněčné biologie, Viničná 7, Praha 12844, ČR.

³ Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Laboratoř hmotnostní spektrometrie, Viničná 7, Praha 12844, ČR.

Nově získaná data z probíhajících genomových projektů, do nichž jsou zahrnuty i významné druhy motolic (např. *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *Fasciola hepatica*), nabízejí ve spojení s analytickými metodami hmotnostní spektrometrie široké využití nejen při identifikaci, ale i při lokalizaci vytipovaných proteinů.

Progresivní metodou je na tomto poli MALDI-MSI (Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric imaging). Tato metoda umožňuje dvourozměrné zobrazení distribuce vytipovaných proteinů (biomarkerů) přímo na řezech biologických vzorků. Široké uplatnění proto MALDI-MSI nalézá zejména v diagnostice nádorových onemocnění.

Experimentální výzkum v naší laboratoři je mimo jiné zaměřen na proteomickou charakterizaci proteolytických enzymů (peptidáz) z exkrečně-sekrečních produktů cercárií ptačích motolic *Trichobilharzia regenti*, *T. szidati* a dospělců jaterní motolice *Fascioloides magna*. S využitím hmotnostně spektrometrických metod (MALDI TOF-TOF) a molekulárních metod (PCR) byly získány sekvence tří peptidázových genů – cathepsinů B1/B2 (*Trichobilharzia regenti*, *T. szidati*) a cathepsinu L1 (*F. magna*). Na základě sekvenčních dat a s pomocí MALDI-MSI je možné na řezech motolic determinovat oblasti transkripce některých z těchto genů a vyhnout se tak časově náročným imuno-lokalizačním studiím.

Kliešte a kliešťami prenášané patogény na Slovensku sledované v rámci projektu EDEN

M. Kazimírová¹, J. Kočí², M. Derdáková³, M. Stanko¹, V. Tarageťová¹,
D. Selyemová¹, I. Cíglerová¹, D. Lenčáková³, M. Labuda¹

¹ Ústav zoológie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava, SR

² Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 842 45 Bratislava, SR

³ Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

Zmeny v hustote a geografickom rozšírení kliešťov v dôsledku globálneho otepľovania v Európe sa odrážajú v posune endemických oblastí výskytu kliešťami prenášaných chorôb. V rámci projektu EDEN (Emerging Diseases in a changing European eNvironment) sledujeme na území Slovenska zmeny v heterogenite kliešťami prenášaných chorôb v čase a priestore v spojitosti s meniacimi sa klimatickými a socio-economickými podmienkami. Na šiestich vybraných lokalitách: Malacky, Devín (juhozápadné Slovensko), Topoľčianky, Medné (severozápadné Slovensko), Rozhanovce a Zádiel (juhovýchodné Slovensko) sme v rokoch 2006-2007 zbierali kliešte z vegetácie v pravidelných mesačných intervaloch (marec-október) na ploche 100 m². Na lokalitách Topoľčianky a Rozhanovce sme odchyťovali aj drobné zemné cicavce 4-krát ročne (apríl - október) a sledovali sme ich parazitáciu.

V roku 2006 sme z vegetácie odchytili 3644 kliešťov, v roku 2007 1682 kliešťov. V zberoch dominoval kliešť obyčajný (*Ixodes ricinus*) (79,4-100%). V roku 2006, v závislosti od lokality, percento lariev sa pohybovalo medzi 0,5-32,5%, nýmfm medzi 55-87% a dospelých kliešťov medzi 5,4-28,3%. Najvyššia priemerná hustota kliešťov bola na lokalite Malacky (252 ind. /100m²), najnižšia v Zádieli (3,7 ind. /100m²). Maximálnu hustotu populácie kliešťov sme počas sezóny zaznamenali v máji okrem lokality Devín, kde bola hustota najvyššia v júli. V roku 2007, v závislosti od lokality, percento lariev sa pohybovalo medzi 0-36,5%, nýmfm medzi 42,4-82,8% a dospelých kliešťov medzi 3,2-57,6%. Najvyššia priemerná hustota kliešťov bola na lokalite Malacky (81 ind. /100m²), najnižšia v Zádieli (3 ind. /100m²). Najvyššiu hustotu populácie kliešťov sme počas sezóny zaznamenali na juhovýchodnom Slovensku a v Topoľčiankach už v apríli, na ostatných lokalitách v máji

Parazitácia odchytených hlodavcov bola v roku 2006 nasledovná: Rozhanovce *Apodemus agrarius* (38%), *A. flavicollis* (51,8%), *Clethrionomys glareolus* (0%). Na lokalite Topoľčianky sme odchytili iba 10 hlodavcov, z toho boli parazitované iba *A. flavicollis* (71,4%). V roku 2007 bola parazitácia dominantných hlodavcov na lokalite Rozhanovce nasledovná: *A. agrarius* (27%), *A. flavicollis* (61,5%), *C. glareolus* (1%); na lokalite Topoľčianky: *A. flavicollis* (65,3%), *C. glareolus* (12,5%). Medzi kliešťami, ktoré cicalí na hlodavcoch, dominovali larvy *I. ricinus*.

Predbežné výsledky molekulovej diagnostiky patogénov v *I. ricinus* zozbieraných na lokalite Malacky v roku 2006 poukazujú na prítomnosť niektorých kliešťami prenášaných patogénov. *Anaplasma phagocytophilum* sme potvrdili u 5,6% kliešťov (29 pozitívnych poolov kliešťov/511), zatiaľ čo *Borrelia burgdorferi* s. l. sa nachádzala v 19% kliešťov (23 pozitívnych kliešťov/121). Okrem toho sme v kliešťoch na tejto lokalite zaznamenali aj prítomnosť *Babesia* spp. v 4,1% kliešťov (21 pozitívnych poolov kliešťov/511). Výskyt vírusu kliešťovej encefalitídy nebol potvrdený.

Klinické nálezy a diagnostika echinokokózy – aktuálna situácia na Slovensku

J. Kinčeková¹, G. Hrčková¹, J. Pavlinová¹, M. Stanislavová², V. Szabadošová³, J. Bober⁴

¹ Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

² Radiodiagnostické oddelenie FNŠP J. A. Reimana, Prešov, SR

³ Infekčné oddelenie DFN, 040 01 Košice, SR

⁴ I. Chirurgická klinika L. Pasteura, LF UK, SNP 1, 041 90 Košice, SR

Echinokokóza (hydatidóza) je parazitárne ochorenie sporadicky sa vyskytujúce u ľudí a zvierat aj na Slovensku. Poznáme dve formy larválnej echinokokózy a to cystickú a alveolárnu. Vyvolávateľom cystickej formy echinokokózy (CE) je larválne štádium pásomnice *Echinococcus granulosus*. Prenos parazita sa uskutočňuje najmä v domovom cykle, kde je úzky kontakt hostiteľov a medzihostiteľov (pes – ovca, pes – ošípaná). Vyvolávateľom alveolárnej formy ochorenia (AE) u ľudí je metacestód *Echinococcus multilocularis* a jeho najdôležitejším hostiteľom v Európe je líška hrdzavá.

Klinický obraz pri CE závisí od lokalizácie a mechanického pôsobenia na okolité orgány. Larvocysta komunikuje s hostiteľským organizmom a okrem toho, že vstrebáva látky potrebné pre svoj rast, dochádza tiež k vylučovaniu látok. Tu sa organizmus bráni imunitnou reakciou (alergický syndróm). Výskyt CE je v mnohých endemických oblastiach vysoký avšak na Slovensku zaznamenávame len ojedinelé, sporadicky sa vyskytujúce prípady.

AE postihuje primárne pečeň a je charakterizovaná infiltratívnym rastom. Vytvára ložisko podobné nádoru spočiatku s malými zmenami, neskôr útvar infiltruje pečeň (15-20 cm v priemere) alebo metastázuje do rôznych orgánov (kosti, mozog).

V súčasnosti sa v sérologickej diagnostike využívajú veľmi citlivé komerčne dostupné testy ELISA a Western blot, ktoré však v niektorých prípadoch majú obmedzenú využiteľnosť.

Autori prezentujú najzaujímavejšie prípady u ľudí s cystickou aj alveolárnou formou echinokokózy, kde porovnávajú laboratórne, USG a CT nálezy až po operačný zákrok (14 ročné dievča).

Poukazujú na využitie a citlivosť diagnostických metód v rôznych štádiách parazitárneho ochorenia. Pri bioptickom vyšetrení materiálu z lézií je diagnostika doplnená molekulárnymi metódami.

Práca bola financovaná grantovým projektom VEGA č. 2/7186/27 a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja č. APVV-51-027605.

Prevalencia a druhové zastúpenie pľúcnych červov rodu *Metastrongylus* u diviačej zveri vo vybranej lokalite stredného Slovenska

O. Kiš¹, J. Ciberej¹, V. Laciak², T. Mihok¹

¹ Ústav pre chov a choroby voľne žijúcej zveri a rýb, Katedra výživy, dietiky a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 04181, Košice.

² Ústav parazitológie, Katedra epizootológie a parazititológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 04181, Košice

U diviačej zveri sa z parazitárnych ochorení najčastejšie vyskytuje metastrongylóza – pľúcna červivosť. Je to ochorenie domácich ošípaných a diviačej zveri spôsobené nematódami rodu *Metastrongylus* z čeľade *Metastrongylidae*. Je charakterizované bronchitídou, peribronchitídou a pneumóniou. Hoci má metastrongylóza väčšinou latentný priebeh, je okrem trofických podmienok jedným z limitujúcich faktorov výšky prírastku. Veľmi napadnutá diviačia zver môže byť tiež vhodným zdrojom pre infekciu klasického moru ošípaných, ale aj mnohé iné ochorenia rôzne etiológie. V súčasnosti sú na našom území u diviakov známe tieto druhy: *Metastrongylus pudendotectus*, *Metastrongylus elongatus*, *Metastrongylus salmi* a *Metastrongylus confusus*.

Metastrongylóza je rozšírená najmä vo zvernicových chovoch diviačej zveri, ale aj vo voľných poľovných revíroch dosahuje vysoké percento prevalence. Napriek tomu, že sa vyskytuje u všetkých vekových skupín, najčastejšie a najsilnejšie invázie sú zisťované u mladých jedincov. Najvnmavejšie sú diviačatá vo veku 2 – 5 mesiacov. Invadovanosť diviakov je rôzna aj v jednotlivých rokoch a lokalitách a zodpovedá hustote zazverenia, geografickej polohe, výskytu medzihostiteľov (dážďoviek), klimatickým podmienkam a veku postihnutých jedincov.

V priebehu rokov 2004–2007 sme na našom pracovisku neúplnou helmintologickou pitvou vyšetrili 31 kusov pľúc diviakov ulovených v poľovnom revíri Háj Padarovce v okrese Rimavská Sobota. Na základe výsledkov sme zistili 100% celkovú prevalenciu, s najvyššou intenzitou invázie v kategórii diviačat. Najviac zastúpenými druhmi boli *M. pudendotectus* a *M. elongatus*. *M. confusus* sa v daných vzorkách nevyskytoval.

Kvôli upresneniu výsledkov by bolo vhodné v budúcnosti vo vyšetreniach pokračovať v širšom súbore, nakoľko metastrongylóza je najčastejšou endoparazitózou u diviačej zveri s vysokou prevalenciou a má veľký význam v patogenéze mnohých ochorení.

Može mať „toxická“ reakcia akantaméb vplyv na rezistenciu akantamébových infekcií k terapii?

J. Klieščiková, E. Nohýnková

Oddelení tropické medicíny, III. klinika infekčních a tropických nemocí,
1. lékařská fakulta UK v Praze, Studničkova 7, 128 00 Praha 2

Do skupiny voľne žijúcich améb patogénnych pre človeka patria taktiež akantaméby, ktoré sú známe ako povodcovia granulomatóznej amébovej encefalitídy a keratitídy. Encefalitída je takmer vždy smrteľným ochorením; keratitída je síce liečiteľná, ale liečba je obtiažna a zlyháva – častokrát je nutné, aby postihnutí pacienti podstúpili transplantáciu rohovky. Jedným z dôvodov neúspechu terapeutickú intervenciu je existencia cýst ako dormantných, extrémne rezistentných štádií, ktoré sa tvoria aj v tkanivách postihnutých orgánov. Priebeh encystácie je relatívne pomalý – trvá minimálne 24 hodín, než sa akantaméba diferencuje na zrelú cystu, ktorá obsahuje obe cystové steny – exo- i endocystu.

Expozícia akantaméb organickým rozpúšťadlám (metanol, DMSO) vedie in vitro k rýchlemu zagufateniu sa organizmu za vzniku pseudocysty („toxická“ reakcia). Tvorba pseudocysty ale nespočívá len v úľakovej reakcii (zagufatení sa trofozoita). Počas tohto procesu, ktorý na rozdiel od encystácie trvá len 2 hodiny, sa na plazmatickej membráne pseudocysty vytvorí súvislý povrchový plášť, ktorý svojou ultraštruktúrou pripomína glykokalyx. Povrchový plášť pseudocysty sa líši nielen karbohydrátovým zastúpením, detekovaným pomocou fluorescenčne značených lektínov, ale aj metabolickými dráhami zapojenými do jeho tvorby, od oboch vrstiev pravej cystovej steny. Napriek tomu bunke poskytuje ochranu: pseudocysty sú odolné voči alkalickému pH (8-11) a vysokej teplote (55°C/10 min). Na rozdiel od cýst je zároveň proces excystácie výrazne rýchlejší: pseudocysty sa v priaznivom prostredí diferencujú späť na trofozoita v priebehu 2 hodín. Rýchlosť, akou akantaméba reaguje na možnosť poškodenia plazmatickej membrány a tým pádom deštrukcie organizmu, môže činiť túto reakciu pro akantaméby minimálne rovnako dôležitú ako encystácia. Táto pohotovostná obranná reakcia, ktorá predstavuje diferenciáciu na tretie štádium akantaméb (okrem trofozoita a cysty), sa ešte môže teoreticky uplatňovať jednak v prírodných ekosystémoch (pri styku s odpadnými látkami alebo s metabolickými produktami iných buniek), a zároveň by mohla mať podiel na odolnosti akantaméb voči liekom, ktoré narušujú plazmatickú membránu

Štúdiá vznikla za podpory grantami GA UK 199907 a GA ČR 310/05/H533.

Extraktly slinných žliaz (SGE) rôznych druhov kliešťov inhibujú cytotoxickú aktivitu myšacích NK buniek

P. Kocáková¹, M. Slovák², Z. Balcerčíková³

¹ Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, SR

² Ústav zoológie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava, SR

³ Katedra mikrobiológie a virológie, Prírodovedská fakulta UK v Bratislave, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, SR

Kliešte sú obligátne krvcicajúce ektoparazity suchozemských stavovcov, ktoré prenášajú rôzne skupiny patogénov. Parazitujú na hostiteľoch veľmi dlhú dobu, čo im umožňuje látky produkované v ich slinných žľazách. Tento „kokteil“ farmakologicky aktívnych látok ovplyvňuje hemostázu svojho hostiteľského organizmu a potláča jeho zápalové a imunitné reakcie. Imunosuprimované miesto cicania kliešťov využívajú mnohé parazity, ktoré spôsobujú závažné ochorenia ľudí a zvierat a sú príčinou každoročných vysokých ekonomických strát. Identifikácia komponentov slín kliešťov zodpovedných za tieto aktivity ako aj porozumenie mechanizmu ich účinkov má veľký význam v boji proti takýmto významným vektorom závažných ochorení.

Jednou z dôležitých zložiek vrodenej imunity sú prirodzené zabijáče, t. j. NK (natural killer) bunky, ktoré majú schopnosť usmrčovať celé spektrum nádorových aj vírusmi infikovaných buniek a podieľajú sa na regulácii imunitnej odpovede. Bolo dokázané, že extraktly slinných žliaz (SGE) z rôznych druhov kliešťov inhibujú cytotoxickú aktivitu NK-buniek v ľudskom systéme.

Cieľom tejto práce bolo sledovať vplyv SGE na NK aktivitu počas cicania dospelých kliešťov oboch pohlaví v myšacom systéme. Na stanovenie NK aktivity sme použili štandardný test uvoľňovania chrómu (⁵¹Cr) z naznačených cieľových buniek. V pokusoch sme použili rovnakú koncentráciu proteínov SGE (10µg/ml). Porovnávali sme SGE 6 druhov kliešťov – *Amblyomma variegatum*, *Dermacentor reticulatus*, *Ixodes ricinus*, *Haemaphysalis inermis*, *Rhipicephalus appendiculatus* a *Rhipicephalus pulchellus*. Pri 4 testovaných druhov – *I. ricinus*, *H. inermis*, *R. appendiculatus* a *R. pulchellus* sme nezistili žiadnu inhibíciu NK aktivity ani v prípade použitia 2- až 4-násobne vyššieho množstva SGE. U ďalších 2 druhov, *D. reticulatus* a *A. variegatum*, sme nedokázali inhibíciu cytotoxickéj aktivity myšacích NK buniek v SGE pripravených z necicajúcich kliešťov. Zistili sme však, že inhibičný účinok NK aktivity narastá počas cicania. Maximum tohto účinku sme u kliešťov *D. reticulatus* detegovali medzi 3-5 dňom u samcov a medzi 5-7 dňom u samíc, zatiaľ čo v prípade kliešťov *A. variegatum*, ktoré cicajú podstatne dlhšie, sme maximum inhibície pozorovali medzi 10-12 dňom rovnako u oboch pohlaví. Rovnaké výsledky sme získali pri použití ekvivalentnej časti SGE kliešťov *D. reticulatus* nezávislej od množstva proteínov.

Táto práca bola finančne podporovaná projektami VEGA 2/7157/27 a APVV-51-004505.

Rickettsiálne mikroorganizmy – stúpajúca druhová diverzita alebo dôsledok dokonalejších diagnostických metód?

E. Kocianová, E. Špitalská, K. Štefanidesová, V. Boldiš

Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, SR

Od objavenia bakteriálneho pôvodcu Lymskej boreliózy, *B. burgdorferi* s. l. v r. 1980 v USA, bolo vo svete popísaných minimálne 15 nových druhov baktérií (viac ako polovica sú rickettsie a ehrlichie), na cirkulácii ktorých sa podieľajú kliešte čeľade Ixodidae. Kliešte sú prirodzenými vektormi a niekedy aj jedinými rezervoármi mnohých druhov mikrobiálnych agens. Niektoré sú časom uznané ako patogény, u iných je ich patogenita dlhé roky neznáma alebo patria medzi symbionty (*Candidatus* *Mitochondria* *mitochondrii*).

Porovnávaním genómu a zavedením metód molekulárnej biológie bolo okrem popisu nových druhov zreorganizované aj fylogenetické a taxonomické postavenie niektorých druhov rickettsií. Aj keď ich klasifikácia je predmetom diskusie, rickettsie patria do podskupiny α - Proteobacteria, rad Rickettsiales, s rodmi Rickettsia, Ehrlichia, Anaplasma Orientia, Wohlbachia a ďalšie. Medzi tieto druhy už nepatrí *Coxiella burnetii*, ktorá je zaradená do radu Legionellales. Avšak jej cirkulácia v prírode, hlavne virulentných kmeňov, je závislá na prítomnosti rôznych druhov kliešťov, takže podľa ekologických predpokladov ju zaraďujeme medzi kliešťami prenášané nákazy.

Na základe senzitivných a špecifických na PCR založených metódach bolo navrhnuté rozčlenenie pôvodnej skupiny rickettsií purpurových horúčok (PH) do niekoľkých genomických skupín. Najviac študovanými sú najmä patogénne druhy, detegované u vektorov a / alebo u rezervoárových zvierat: skupina *R. rickettsii* (*R. conori*, *R. sibirica*, *R. slovaca*, *R. africae*, *R. rickettsii*), skupina *R. helvetica* (*R. helvetica*) alebo nie jednoznačne definovaná skupina z hľadiska patogenity, skupina *R. massiliae* (*R. massiliae*, *R. aeschlimannii*, *R. rhipicephali*, *R. monacensis*). S mnohými rickettsiami sa stretávame len vo forme protilátkovej odpovede u vertebrát, pričom chorobné prejavy sú asymptomatické, prípadne splyvajú s prejavmi iného kliešťami prenášaného ochorenia, ako je napr. Lymská borelióza.

U nás bola dlhé roky jediným zástupcom rickettsií, dokazovaným vo vektoroch aj v hostiteľoch - *R. slovaca*. Pôvodne bol tento druh izolovaný z kliešťov *D. marginatus* z niekoľkých lokalít na strednom Slovensku (v r. 1968), kde sa dodnes vyskytuje. Postupne bol detegovaný aj v ďalších krajinách strednej a západnej Európy a často zodpovedal za ochorenie nazývané „Tibola“, resp. „Debonel“. *R. helvetica*, pôvodne detegovaná v kliešťoch *I. ricinus* vo Švajčiarsku, sa s postupom času dokazuje aj v ďalších európskych krajinách, vrátane Slovenska (r. 2006). Detegujú sa aj druhy s neznámou patogenitou (*R. raoultii*), a nezaradené a nepomenované druhy (IRS3 a IRS4), ktoré však na základe porovnania konzervatívnych génov 16SrRNA, *gltA* a *ompA* sú pravdepodobne ďalším členom rickettsií skupiny PH. V kliešťoch a hlodavcoch zistená *E. muris*, pôvodne známa z Japonska, bola dokázaná aj v našich prírodných podmienkach. Pôvodca humánnej anaplazmózy, *A. phagocytophilum* (prvýkrát na Slovensku dokázaná u *I. ricinus*, 2002) má vysokú prevalenciu u jeleňov a srncov aj na Slovensku, ktoré sa javia ako primárne rezervoáre v prírodných ohniskách.

Nastoluje sa otázka: je stúpajúci počet rickettsií dokazovaný v kliešťoch ako aj v ich hostiteľoch dôsledkom používania stále dokonalejších metód, v súčasnosti molekulárnej biológie (PCR, RLB, sekvenovanie) alebo je dôsledkom ekologických zmien v prírode?

Práca je finančne podporovaná grantami VEGA 2/7020, 1/4281 a APVV 51-009205.

Výskyt a význam kuklorodiiek (Pupipara) u raticovej zveri na Slovensku

A. Kočišová¹, P. Lazar², V. Letková¹, J. Čurlík²

¹ Ústav Parazitológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice, Slovenská republika

² Klinika vtákov, exotických a voľne žijúcich zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice, Slovenská republika

Čeľaď kuklorodiiek (*Hippoboscidae*) tvorí asi 200 druhov hematofágneho hmyzu, ktorý parazituje na cicavcoch a vtákoch, a je rozdelená do troch podčeľadí – *Ornithomyiinae*, *Melophaginae* (*Lipopteninae*) a *Hippoboscidae*. Na raticovej zveri parazitujú zástupcovia podčeľade *Melophaginae*, ktorá zahŕňa 30 druhov. Z nich na Slovensku na jelenej a srnčej zveri parazitujú dva druhy kuklorodiiek, a to: *Lipoptena cervi* (Lojnica jelena) a *L. fortisetosa* (Lojnica srnčia). Význam kuklorodiiek spočíva predovšetkým v znepokojovaní zvierat cicaním krvi, čo sa v konečnom dôsledku môže prejavovať znížením telesnej hmotnosti. Hoci sa všeobecne kuklorodky nepovažujú za vektora chorôb ľudí a zvierat, správy z okolitých štátov naznačujú, že sa významne podieľajú na prenose baktérií rodu *Bartonella*.

V období od júla 2005 do decembra 2007 boli zbierané lojnice z odchytenej, odlovenej, resp. uhynutej jelenej a srnčej zveri na východnom a strednom Slovensku, vo zvernici v Rozhanovciach, v oblasti Zlatej Idky, Prešova a Vranova nad Topľou a Brezna. V sledovanom období bolo celkovo vyšetrených 57 zvierat s 59,6% prevalenciou lojníc a priemernou infestáciou 21,8 (2-196) kusov na zviera. Najviac lojníc bolo odchytených každoročne v letnom a jesennom období, od 15. augusta do 15. októbra. Z hľadiska sezónnosti v roku 2005 prvé lojnice vylietavali v treťom augustovom týždni, v roku 2006 to už bolo v prvom augustovom týždni a v roku 2007 prvé lojnice boli zachytené v poslednom júlovom týždni (25. 7. 2007), čo bolo o 18 dní skôr než v roku 2005. Vo vzťahu k teplote vzduchu – priemerná teplota v júli 2007 (21,5°C) bola o 1,5-3,5°C vyššia oproti rokom 2006-2005, a zároveň v tomto období spadlo omnoho menej zrážok než v rokoch 2006-2005.

Celkovo bolo odchytených 742 lojníc, z toho bolo 193 samcov (26%) a 549 samíc (74%). Čo sa týka lokalizácie, lojnice boli ukryté predovšetkým v ušniciach (55,2%) a na lopatke (16,4%). Na krku bolo lokalizovaných 13,4%, na bruchu to bolo 10,5% lojníc a 4,5% lojníc bolo z bedier.

Mikrobiologickým vyšetrením sme zistili, že priemerné počty mikroorganizmov na povrchu sa pohybovali v rozsahu od $1 \cdot 10^7$ - $1 \cdot 10^8$. Z hľadiska druhového zástupenia mikroorganizmov sme zaznamenali predovšetkým mikroorganizmy bežne sa vyskytujúce v prostredí a na koži zvierat. K najpočetnejším patrili: *Enterococcus* spp., *Proteus vulgaris*, *Streptococcus* spp., *Bacillus cereus*, *B. subtilis* a *Escherichia coli*.

Z hľadiska druhovej skladby 99,2% tvorila *Lipoptena cervi* a 0,8% *Lipoptena fortisetosa*. *L. fortisetosa* pôvodne parazituje predovšetkým na jeleňovi sika na ďalekom východe, na Slovensku bola odchytená z dvoch srncov, v počte 6 ks, z toho boli 4 samice a 2 samce.

Práca vznikla v rámci riešenia grantovej úlohy VEGA č. 1/3490/06.

Zhoršuje bezpříznaková toxoplasmóza vyhlídky HIV-positivních pacientů?

P. Kodým¹, M. Malý², L. Machala³, M. Staňková³, H. Rozsypal³, Š. Hrdá¹

¹Národní referenční laboratoř pro toxoplasmózu, Státní zdravotní ústav, CeM, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

²Oddělení biostatistiky a informatiky, Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

³AIDS centrum, Fakultní nemocnice Na Bulovce, Budínova 2, 180 81 Praha 8

Toxoplasmóza, infekce působená parazitickým prvokem *Toxoplasma gondii*, je jednou z nejvýznamnějších oportunních infekcí. V České republice je toxoplasmózou infikováno 42,8% nositelů infekce HIV; naše výsledky ukazují, že pravaleance toxoplasmózy dlouhodobě neklesá. Více než 90% pacientů se infikuje toxoplasmózou před infekcí HIV; incidence pozdější infekce *Toxoplasma gondii* je 0,0032 případů na osobu (anti-Toxoplasma negativní) a rok. Po odeznění akutní infekce, která může být spojena s více nebo méně závažnými klinickými příznaky, přechází obvykle toxoplasmóza do latentní fáze. Infekce zpravidla přetrvává do konce života a nikterak se klinicky neprojevuje. Pokud dojde, například s progradující infekcí HIV, k fatálnímu oslabení imunity, může se toxoplasmóza reaktivovat. Naše i literární údaje však ukazují, že potenciální reaktivace není jediným rizikem, kterým *Toxoplasma gondii* ohrožuje svého hostitele.

Cílem naší práce bylo zjistit, zdali dlouhodobá inaparentní infekce *Toxoplasma gondii* může mít za následek pokles hladin CD4⁺T lymfocytů a také zkrácení doby života pacientů. Vzcházeli jsme z údajů cca. 70% českých HIV pozitivních pacientů, kteří jsou dlouhodobě sledováni v AIDS centru a již od roku 1988 opakovaně vyšetřováni na toxoplasmózu.

Jelikož počty CD4⁺ T lymfocytů v průběhu dlouhodobého sledování pacientů neustále kolísají, porovnali jsme geometrické průměry ze vzorků odebraných od 330 anti-*Toxoplasma* negativních a 254 anti-*Toxoplasma* pozitivních pacientů (467 mužů a 117 žen). Počty CD4⁺ T lymfocytů jsou u jedinců infikovaných *Toxoplasma gondii* nižší (361; 95% interval spolehlivosti: 351, 26928-371, 76343) než u osob *Toxoplasma* negativních (378; 95% CI: 368,75228-388,45370); tento rozdíl je statisticky významný. Rozdíl není způsoben odlišnou antiretrovirovou terapií či antiparazitární profylaxí.

Z našich výsledků vyplývá, že zatímco osob neinfikovaných *Toxoplasma gondii* zemřelo v průběhu studie 16, 2%, byla u infikovaných zaznamenána mortalita 21,6%. Doba přežívání ode dne diagnózy HIV positivity je u TOXO⁺ osob o více než 4 měsíce (přesněji: 127 dní) delší než u TOXO⁺osob. Relativní riziko úmrtí je u TOXO⁺ osob oproti negativním 1, 407602 (95% CI: 0,9611005-2,061537) avšak žádný z těchto rozdílů není nad hranicí statistické významnosti.

Naše předběžné výsledky naznačují, že dlouhodobá bezpříznaková toxoplasmóza může snižovat hladiny CD4⁺ T lymfocytů (které u imunodeficientních osob platí za nejvýznamnějším marker imunitního stavu a také za rozhodující prognostický faktor) a také zkracovat dobu přežití infikovaných jedinců. Potvrzení těchto závěrů bude předmětem dalších analýz.

Národní referenční laboratoř pro tkáňové helmintózy

L. Kolářová, P. Kolbeková, M. Leissová

NRL pro tkáňové helmintózy, IPVZ, Ruská 85, 100 05 Praha 10

Národní referenční laboratoř pro tkáňové helmintózy (NRL) je samostatným pracovištěm Institutu postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví (IPVZ). Hlavní činnost laboratoře je zaměřena na diagnostiku tkáňových helmintóz, konfirmaci výsledků získaných v jiných laboratořích a přípravu vzorků pro systém externího hodnocení kvality (EHK) v okruhu *sérologická diagnostika larvální toxokarózy*. Laboratoř vyšetřuje nejen vzorky pacientů z ČR (tuzemci, cizinci a imigranti), ale i materiál zasláný ze sousedních zemí. Do činnosti laboratoře spadá i pedagogická činnost v oboru parazitologie, která je koordinována s katedrou mikrobiologie IPVZ.

V rámci diagnostické činnosti NRL vyšetřila v období 2006-2007 různý klinický materiál (krev/sérum, sklivec, mozkomíšní mok, tkáňová biopsie, apod.) pocházející od celkem 4003 pacientů z ČR. Většinu vzorků představovala séra, která byla vyšetřena na přítomnost protilátek proti různým helmintárním agens. V uvedeném období byla nejčastěji diagnostikována larvální toxokaróza, přičemž ve 202 případech viscerální a v 1 oční forma onemocnění; v drtivé většině případů se jednalo o nákazy autochtonního charakteru. Z dalších nákaz bylo prokázáno 5 trichinelóz, 10 cystických hydatidóz, 3 alveolární hydatidózy, 4 cysticercózy, 8 schistosomóz a 7 filarióz; s výjimkou 1 případu trichinelózy a 1 případu alveolární hydatidózy byly tyto infekce do ČR importovány. V některých případech (schistosomóza, cystická a alveolární hydatidóza) byla konečná diagnóza potvrzena detekcí parazitárních agens v biotických vzorcích.

Pro EHK – larvální toxokaróza NRL připravila sérii 5 vzorků/laboratoř pro 43 (rok 2006) a 42 (rok 2007) pracovišť. V obou kolech EHK měly laboratoře zaslat nejen správný výsledek získaný sérologickým vyšetřením, ale s ohledem na poskytnuté anamnestické a klinické údaje i správnou interpretaci získaných výsledků. Zatímco v roce 2006 výsledky zaslaly 42 laboratoře, z nichž maximálního počtu bodů dosáhlo 11, tj. 26,2% pracovišť, v roce následném poskytlo své výsledky 40 laboratoří, ze kterých 17, tj. 42,5% získalo maximální počet bodů.

V rámci pedagogické činnosti NRL organizuje vedle specializačních odborných stáží a odborných stáží určených pro predatestační přípravu v oborech *Vyšetřovací metody v parazitologii* a *Lékařská mikrobiologie*, i kurzy určené pro celoživotní formu vzdělávání. Cílem těchto kurzů je předávat nejnovější informace v oblastech diagnostiky, kliniky a terapie humánních parazitárních infekcí, ale i poskytovat nejnovější informace z oblasti veterinární parazitologie. Na pedagogické činnosti NRL se významně podílejí i odborníci z jiných pracovišť, kteří se zabývají diagnostikou a výzkumem jiných než helmintárních agens.

Aktuální informace o všech pedagogických aktivitách NRL jsou dostupné na webových stránkách IPVZ (www.ipvz.cz – vzdělávací akce).

Účinnosť albendazolu u pieskomila mongolského (*Meriones unquiculatus*) experimentálne infikovaného *Haemonchus contortus* a distribúcia zápalových buniek počas infekcie

A. Königová, G. Hrčková, S. Velebný, M. Várady, J. Čorba

Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

Haemonchus contortus patrí k najpatogénnejším nematódom gastro-intestinálneho traktu malých prežúvavcov. Najviac je študovaný v súvislosti s rezistenciou na benzimidazolovú skupinu antihelmintík, pretože sú najčastejšie používaným liečivom pri terapii hemonchózy. Pri experimentálnej infekcii *H. contortus* je vhodným laboratórnym modelom pieskomil mongolský (*Meriones unquiculatus*).

Po orálnej infekcii lariev tretieho vývinového štádia citlivého a rezistentného kmeňa *H. contortus* sme sledovali účinnosť albendazolu na vyvíjajúce sa larvy a vplyv experimentálnej infekcie *H. contortus* na slizničnú imunitu hostiteľa, dynamiku zápalových buniek: mastocytov, eozinofilov na 4., 7., 10. a 14. deň po infekcii. Účinnosť albendazolu (%) bola signifikantne nižšia u benzimidazol-rezistentných lariev tretieho a štvrtého larválneho štádia na 10 deň po infekcii. Percento účinnosti albendazolu na benzimidazol-citlivé larvy *H. contortus* bolo v rozpätí 86,4-100%. Infekcia vyvolala silnú zápalovú reakciu v mukóze aj submukóze žalúdka hostiteľov. Najvyšší počet mukozálnych mastocytov bol zaznamenaný v *lamina propria mucosae* na 7. deň po infekcii u pieskomilov infikovaných benzimidazol-citlivým kmeňom. Signifikantne najnižší počet tkanivových mastocytov sme zaznamenali len v submukóze u pieskomilov liečených albendazolom na 14. deň po infekcii. Nezaznamenali sme žiadne zmeny v dynamike výskytu eozinofilov pred a po terapii.

Na základe poznatkov, že koncentrácia niektorých larvami vylučovaných látok (acetylcholinesteráza) je značne odlišná u benzimidazol-citlivých a benzimidazol-rezistentných lariev, predpokladáme že tieto biochemické procesy mohli ovplyvniť rozdielnu intenzitu imunitnej odpovede a dynamiku mastocytov v žalúdku pieskomilov mongolských. Vhodné ovplyvnenie imunitnej odpovede po infekcii by mohlo prispieť k účinnejšej terapii infekcií vyvolaných rezistentnými kmeňmi nematódov.

Práca bola financovaná grantom VEGA 2/7189/27, VEGA 2/7188/27 a Agentúrou pre vedu a výskum SR RPEU-009-06.

Prieskum výskytu rezistencie v chovoch oviec na celom území Slovenska

A. Königová, M. Várady, J. Čorba

Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

Pri plošnom prieskume výskytu antihelmintickej rezistencie gastro-intestinálnych nematódov oviec bolo *in vitro* testom larválneho vývoja vyšetrených 25 chovov. Anaeróbne uskladnené vzorky boli zasielané veterinárnymi lekármi z chovov nachádzajúcich sa v rôznych oblastiach Slovenska. Pomocou *in vitro* testu bola zisťovaná účinnosť benzimidazolových a ivermektínových antihelmintík. Nematódy rezistentné na benzimidazolové antihelmintiká sme zistili v troch chovoch. Rezistencia na antihelmintiká zo skupiny makrocyclických laktónov nebola zaznamenaná. Vo všetkých vzorkách bol zistený nález vajíčok gastro-intestinálnych nematódov. Intenzita infekcie (počet vajíčok na gram trusu) bola vo väčšine chovov na nízkej resp. stredne vysokej úrovni. Diferenciálna diagnostika infekčných larií poukázala na infekciu viacerými rodmi/druhmi parazitov. V priemere sa v každej vzorke zistil nález 4-6 druhov/rodov gastro-intestinálnych nematódov. Najčastejšie zastúpené boli *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp. a *Chabertia ovina* ktoré sa vyskytovali v 90 až 100% chovov oviec. Menej boli zastúpené druhy/rody *Haemonchus contortus*, *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp., *Nematodirus* spp., *Strongyloides papillosus* a *Bunostomum* spp. Tieto výsledky poukazujú na nepriaznivú situáciu v chovoch oviec.

V stádach kde bol potvrdený výskyt rezistentných kmeňov nematódov sme navrhli zmenu efektívneho liečiva s rozdielnym mechanizmom účinnosti použitého pri liečbe helmintózy a odporučili sme najvhodnejšie metódy prevencie a vzniku rezistencie u parazitov na konkrétnych farmách.

Práca bola financovaná grantom VEGA 2/7189/27 a Agentúrou pre vedu a výskum SR RPEU-009-06.

Nové údaje o endoparazitických helmintov invázných druhov rýb pochádzajúcich z vôd Slovenska

L. Košuthová¹, T. Mihok¹, P. Košuth¹, J. Koščo²,

¹ Katedra výživy, dietiky a chovu zvierat, Ústav pre chov a choroby zveri a rýb, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

² Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied Prešovskej univerzity v Prešove, Ul. 17. novembra, 080 16 Prešov

Predložená práca prezentuje výsledky parazitologických vyšetrení endohelmin-
tov šiestich invázných druhov rýb zo slovenskej časti povodia rieky Tisa (*Carassius auratus*, *Ameiurus nebulosus*, *Pseudorasbora parva*, *Lepomis gibbosus*, *Perccottus glenii* a *Ameiurus melas*) a troch druhov býčkov z rieky Dunaj (*Neogobius melanostomus*, *N. fluviatilis* a *N. kessleri*). Nálezy potvrdili ďalšiu expanziu exotického druhu – *Nippotaenia mogurndae* (syn. *Amurotaenia perccotti*), ktorá bola introdukovaná do Európy inváznym hosťiteľom – býčkovcom amurským. Zistili sa nové parazito-
hostiteľské vzťahy medzi slnečnicou pestrou (*Lepomis gibbosus*) a cestódou *Proteocephalus percae* a tiež bola prvý krát zaznamenaná prítomnosť plerocerkoidov pásomnice *Triaenophorus nodulosus*.

I ryby mají svoje roupy

B. Koubková¹, I. Hodová¹, V. Baruš²

¹Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita Kotlářská 2, 611 37 Brno, ČR

²Ústav biologie obratlovců, AV ČR, Květná 8, 603 65 Brno, ČR

Při výzkumu parazitů ryb z lokalit Národního parku Niokolo Koba, Senegal (Mare de Simenti, řeka Gambie) byla zaznamenána silná infekce hlístic u čtyř druhů ryb - *Synodontis ocellifer* a *Synodontis batensoda* (Mochokidae: Siluriformes), *Citharinus citharus* a *Paradistichodus dimidiatus* (Citharinidae: Characiformes). V nasbíraném materiálu byly determinovány tři druhy hlístic náležející do rodu *Cithariniella* Khalil, 1964 (Pharyngodonidae) - *C. citharini* Khalil, 1964 (hostitel: *Citharinus citharus*); *C. khalili* Petter, Vassiliades et Troncy, 1972 (hostitel: *Synodontis ocellifer*, *S. batensoda*); and *C. gonzalesi* (hostitel: *Paradistichodus dimidiatus*). Morfometrické znaky těchto drobných druhů hlístic jsou velmi podobné a ve světelném mikroskopu těžko rozlišitelné. Proto byla jejich morfologie studována rovněž pomocí skanovacího elektronového mikroskopu, kde byly zjištěny nové validní morfologické charakteristiky jako např. tvar ústního orvoru a cefalických papil, přítomnost nebo absence laterálních křídel, distribuce a tvar kloakálních papil, jednoduché nebo párové kaudální papily u samců, vajíčka s dlouhými filamenti. Tyto charakteristiky korespondují s rodovou diagnózou a zároveň prezentují mezidruhové rozdíly. Nález druhu *C. gonzalesi* je prvním na území Senegalu a *P. dimidiatus* je novým druhem hostitele.

Tato studie byla podpořena grantem č. IAA6093404 Grantové Agentury Akademie Věd ČR a Výzkumným záměrem MU č. MSM 0021622416.

Současné trendy veterinární parazitologie

B. Koudela^{1,2}

¹ Ústav parazitologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1-3, 612 42 Brno

² Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Otevřená internetová encyklopedie Wikipedia charakterizuje veterinární parazitologii jako obor, který „studuje parazity, kteří ovlivňují zdravotní stav hospodářských zvířat, zvířat v zájmových chovech, jakož i volně žijících zvířat. Zabývá se vztahy mezi zvířaty a parazitem, jejich vzájemném ovlivňování. Veterinární parazitologie zkoumá taxonomické znaky, morfologii, funkce, vývoj a životní podmínky parazitů v přírodě a v živém hostitelském organismu. Je zaměřena zejména na vznik, průběh a zánik parazitóz u zvířat, jakož i na diagnostiku, klinické projevy, patologickomorfologické změny v hostiteli, terapii a prevenci. Hlavním cílem je ochrana zdraví zvířat“. Tato definice vychází z tradičního pojetí veterinární parazitologie a měla platnost na přelomu tisíciletí. V současnosti prochází veterinární parazitologie výraznými koncepčními změnami a snahou tohoto příspěvku je pokus o charakteristiku těchto změn.

Koncem roku 2000 byla publikována v prestižním časopisu *Parasitology Today* (dnes *Trends in Parasitology*) práce s názvem „Proč by se veterináři měli více zabývat o parazitologii“, ve které autoři konstatovali pokles významu veterinární parazitologie. Ke sníženému významu veterinární parazitologie podle autorů přispěly tři důležité faktory: (i) nedostatek nových zásadních výsledků v základním výzkumu, (ii) pokles rozsahu výuky veterinární parazitologie v rámci veterinárního vzdělávání a (iii) vnímání nedůležitosti parazitů v současně veterinární klinické praxi. Pro zvýšení významu navrhuji autoři příspěvku (i) prokázat ekonomický význam parazitů a přesvědčit o něm praktické veterináře, (ii) znovu oživit výuku veterinární parazitologie na všech úrovních, (iii) věnovat více pozornosti inovaci programů zaměřených na zdůraznění ekonomického významu parazitů a (iv) zlepšit vyhlídky pro financování veterinární parazitologie formulováním výzkumných priorit (*Parasitol. Today* 16: 504- 06, 2000). Tento příspěvek nezůstal bez odezvy mezi veterinárními parazitology. Většina z nich vytykala autorům příliš úzký pohled na oblast, ve které se může uplatnit veterinární parazitologie. V reakcích na tento příspěvek nejčastěji zazníval názor, že pohled autorů publikace na veterinární parazitologie je tradiční a že v současnosti veterinární parazitologie zahrnuje nejen problematiku spojenou se zdravím a ochranou zvířat – viz definice oboru v otevřené internetové encyklopedii Wikipedia.

Již v následujícím roce bylo v časopisu *Veterinary Parasitology* věnováno celé číslo směřování veterinární parazitologie a obsahovalo také výsledky debaty o budoucnosti veterinární parazitologie, která proběhla na plenárním zasedání 18. konferenci Světové asociace pro rozvoj veterinární parazitologie (WAAVP) v italském městě Stresa. Součástí tohoto čísla časopisu *Veterinary Parasitology* je také publikace s názvem „Budoucnost veterinární parazitologie“ (*Vet. Parasitol.* 98: 31-39, 2001), ve které je vyjmenováno sedm priorit, na které by se měla zaměřit veterinární parazitologie v 21. století: (i) nová léčiva, (ii) opatření při rezistenci na antiparazitika, (iii) rozvoj vakcín proti parazitům, (iv) chov plemen hospodářských zvířat rezistentních k parazitárním infekcím, (v) zlepšení diagnostických metod, (vi) zoonózy parazitárního původu a (vii) globální oteplování a šíření parazitů.

V minulém roce se uskutečnila v belgickém Gentu 21. konference WAAVP pod názvem „From EPG to Genes“ (EPG je zkratka Eggs per gram – počet vajíček na

gram trusu). Program konference byl rozdělen do 10 symposií, jejichž názvy odpovídaly až na dvě výjimky jednotlivým prioritám formulovaným na 18. konferenci WAAVP v italské Strese.

Přibylo dalších pět okruhů zaměřených na (i) molekulární systematiku a molekulární diagnostiku parazitů, (ii) využití molekulárních metod při epidemiologii parazitóz, (iii) matematické modelování parazitárních infekcí, (iv) alternativní opatření při parazitózách a (v) imunologie parazitárních infekcí. Parazitární zoonózy a problematika šíření parazitů a globálního oteplování byly řešeny v rámci samostatných workshopů. Zaměření loňské konference WAAVP tak prokázalo, že se veterinární parazitologie rozvíjí v široce pojatý obor zahrnující nejenom zdraví zvířat, který je schopen reagovat na potřeby společnosti.

Aktuální zaměření oboru veterinární parazitologie je v Evropě také významně ovlivněno rozvojem EU. Rozšiřování EU a s ním spojená legislativa zahrnuje také problematiku veterinární parazitologie. V roce 2003 byla přijata legislativní úprava o sledování zoonóz a jejich původců (99/2003/ES), která rozděluje původce zoonóz do několika kategorií. Např. do kategorií původců zoonóz, kteří jsou povinně sledováni, jsou zahrnuti také původci trichinelózy a echinokokózy. Trichinelóza má také svoji evropskou směrnici (2075/2005/ES), kterou se stanovují zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase. Evropský parlament a Evropská komise také přijaly směrnici, (776/2006/ES), na jejímž základě byla ustanovena referenční laboratoř Společenství pro parazity (CRLP) s vlastním rozpočtem. Tato laboratoř koordinuje především oblast zoonotických parazitů v potravinách (*Trichinella* spp., *Echinococcus* spp., *Anisakis* spp.).

Také výuka veterinární parazitologie dostává evropský rámec. V roce 2003 byla založena European Veterinary Parasitology College (EVPC), která si klade za cíl vedle podpory výzkumu připravit standardní kritéria pro výuku odborníků v oblasti veterinární parazitologie zemích EU.

Současné směřování veterinární parazitologie nenaplnilo obavy o rozvoji oboru z přelomu tisíciletí. Veterinární parazitologie je perspektivní obor, jehož odborníci najdou uplatnění v řadě oborů základního i aplikovaného výzkumu, v soukromé i státní sféře.

Laboratorní diagnostika malárie ve FN Brno v letech 2005 až 2007

P. Kubáčková

Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno, Jihlavská 20, 635 00 Brno

Malárie je jednou z nejčastěji importovaných parazitárních infekcí. Může ohrozit život pacienta a je proto nezbytné včasné a přesné stanovení původce onemocnění, aby bylo možné zahájit účinnou terapii. Pro člověka jsou patogenní čtyři druhy plasmodií (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* a *P. malariae*). V ojedinělých případech může infikovat člověka druh obvykle napadající primáty (*Plasmodium knowlesi*). Podle údajů Národní referenční laboratoře pro diagnostiku tropických parazitárních infekcí je ročně diagnostikováno a léčeno 20 až 25 případů, podíl jednotlivých druhů na případech malárie importované do ČR je *P. falciparum* (50%), *P. vivax* (37%), *P. ovale* (9%) a *P. malariae* (4%). Tyto údaje jsou srovnatelné s našimi výsledky, přestože se jedná o malý soubor pacientů. S tímto zjištěním velmi úzce souvisí počty a rozložení navštívených oblastí, protože v různých oblastech převažují různé druhy plasmodií.

Soubor tvořili pacienti hospitalizovaní na Klinice infekčních nemocí (KICH) FN Brno pro podezření na malárii po návratu z endemické oblasti. Od 1. 3. 2005 do 31. 5. 2007 bylo vyšetřeno celkem 23 pacientů (21 občanů ČR a 2 cizinky), 14 mužů a 9 žen ve věku od 22 do 74 let. Délka pobytu v endemické oblasti se pohybovala od 10 dnů do tří let.

K určení druhu parazita a stanovení výše parazitémie bylo použito mikroskopické vyšetření periferní krve metodou tlusté kapky a tenkého roztěru.

Ve sledovaném období (1. 3. 2005 – 31. 5. 2007) bylo na KICH FN Brno hospitalizováno 21 občanů ČR a 2 cizinky s podezřením na malárii po návratu z malarické oblasti. Jednalo se o 14 mužů a 7 žen ve věku 22 – 74 let. V sedmi případech byla malárie potvrzena (33%), v 6 případech diagnostikováno akutní respirační onemocnění virové etiologie (28%), uroinfekce ve 3 (14%) a po 1 případě akutní respirační onemocnění bakteriální etiologie (5%), akutní virová hepatitida B (5%), myiáza (5%), sepse (5%) a infekční mononukleóza (5%). Pro podezření na malárii byly vyšetřeny také 2 cizinky. U pacientky původem z Filipín byl zjištěn břišní tyfus a pacientka z Angoly měla diagnostikovánu malárii v jiné laboratoři (malárie nespecifikovaná), naše laboratoř již plasmodium neprokázala.

Nejčastěji navštívenou malarickou oblastí byla Asie (10x), následovaná Afrikou (9x) a jižní Amerikou (2x), ostatní oblasti pouze sporadicky.

Diagnostikováno bylo shodně *P. vivax* (3x) a *P. falciparum* (3x), z toho 1x ve smíšené infekci s *P. malariae*. Jedenkrát byla zachycena nespecifikovaná malárie (terciána).

Malárie se může snadno stát nevíтанým suvenýrem z exotické dovolené a je proto nutné, aby na ni bylo pomýšleno v diferenciální diagnostice horečnatého onemocnění po návratu z endemických oblastí výskytu tohoto onemocnění.

Difylobotrióza – stále aktuální helmintóza?

R. Kuchta, T. Scholz

Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR a Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

Tasemnice (Platyhelminthes: Cestoda) jsou významnými cizopasníky člověka. Onemocnění způsobené škulovci (rod *Diphyllobothrium* řádu Diphyllbothriidea, dříve Pseudophyllidea), zvané difylobotrióza, je nejdůležitější endemická cestodóza spojená s konzumací syrových nebo polosyrových ryb, s 9 milióny odhadovaným případů lidské nákazy na celém světě. Na rozdíl od ostatních helmintóz se difylobotrióza vyskytuje běžně i v rozvinutých zemích. V Evropě byly endemické oblasti s převažujícím výskytem nejběžnějšího druhu *Diphyllobothrium latum* zejména kolem Baltského moře (především Finsko) a v Karélii, kde prevalence nákaz člověka dosahovala v 50. letech až 30% (dnes se však pohybuje kolem 1%). Naopak nárůst případů byl v posledních letech zaznamenán v oblasti alpských jezer, zvláště v Itálii a Švýcarsku. V České republice nebyl dosud potvrzen žádný autochtonní případ, ale téměř každoročně se vyskytují importované případy nákazy lidí. Podrobněji jsou v recentní literatuře popsány 2 případy – jeden s nákazou ve Finsku (Ječný 2003), druhý importovaný z Kanady (Wichtová a kol. 2008).

Nákazy člověka škulovcem jsou nejčastější v Japonsku, kde je ročně uváděno kolem 100 případů. Tento vysoký počet souvisí s oblibou konzumace tradičních japonských jídel ze syrových nebo polosyrových ryb (sushi nebo sashimi). V posledních letech stoupá obliba těchto i podobných pokrmů z tepelně nedostatečně upravených ryb (carpaccio, ceviche), včetně tichomořských lososů rodu *Oncorhynchus*, i v zemích západní Evropy a Severní a Jižní Ameriky, díky čemuž stoupá počet případů lidských nákaz.

U člověka se kromě druhu *D. latum* může vyskytovat dalších 15 druhů tasemnic rodu *Diphyllobothrium* a také zástupce mořského rodu *Diplogonoporus*, *D. balanopterae*, jež však patrně patří také do rodu *Diphyllobothrium*. Zmíněný druh byl popsán z velryb, ale z Japonska existují údaje o 200 případech nákazy lidí; kromě Japonska byla tato tasemnice nalezena jen jednou v Koreji a jednou ve Španělsku. Dalšími druhy rodu *Diphyllobothrium*, které se častěji vyskytují u člověka, jsou *D. alascense* (Aljaška), *D. cordatum* (Grónsko), *D. dalliae* (Aljaška), *D. dendriticum* (cirkumpolární rozšíření včetně Evropy), *D. lanceolatum* (Aljaška), *D. stemmacephalum* (Japonsko) a *D. ursi* (Aljaška). Vzácně byl v Japonsku u člověka zaznamenán výskyt druhů *D. cameroni*, *D. hians*, *D. orcini* a *D. scoticum*.

Analýza vztahu imunokompetence a parazitace jelce tlouště (*Leuciscus cephalus*): investice hostitele do reprodukce

K. Lamková¹, A. Šimková¹, A. Lojek², P. Jurajda³, M. Palíková⁴

¹ Ústav botaniky a zoologie, Oddělení parazitologie, Přírodovědecká fakulta MU, Kottlářská 2, 611 37 Brno

² Biofyzikální ústav, Akademie Věd ČR, Královopolská 135, 612 65 Brno

³ Ústav biologie obratlovců, Akademie Věd ČR, Květná 8, 603 65 Brno

⁴ Ústav veterinární ekologie a ochrany životního prostředí, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1/3, 612 42 Brno

Teorie kompromisu (trade-off) vychází z předpokladu, že každý organismus má limitované množství energie, které investuje do různých životních funkcí - tj. přežívání a udržování organismu (včetně imunity), růstu a reprodukce. V souvislosti s touto teorií lze předpokládat, že jedinci v reprodukčním období mohou využít svoji energii ke zvýšení úspěšnosti reprodukce na úkor jiných životně důležitých funkcí např. snížení obranyschopnosti. Každý potenciální hostitel může být parazitován širokým spektrem parazitů, jež mohou negativně ovlivňovat jeho životaschopnost. Hostitel se proto snaží vyvinout dostatečně silnou imunitní odpověď, aby zredukoval ztráty způsobené parazitizmem a zvýšil svoji rezistenci vůči těmto parazitům.

Na základě těchto předpokladů byl testován potenciální vztah mezi imunokompetencí a infekcí mnohobuněčnými parazity v podmínkách různé investice do reprodukce u samců jelce tlouště (*Leuciscus cephalus*). V roce 2005 byly analyzovány jedinci jelce tlouště ze tří různých period ve vztahu k samotné reprodukci: 1) pre-reprodukční období (před třením) – začátek května, 2) reprodukční (tření) – konec května, 3) postreprodukční (po tření) – začátek června. Odlovy byly provedeny na vybrané lokalitě na řece Svitavě (jižní Morava). Ryby byly vyšetřeny na přítomnost mnohobuněčných parazitů a dále byly měřeny vybrané imunitní a fyziologické parametry. Na základě hodnot abundance a prevalence byly Monogenea a Digenea zaznamenány jako dominantní skupiny mnohobuněčných parazitů. Statisticky významné rozdíly byly zjištěny při analýze gonado-somatického indexu, kondičního faktoru, oxidativního vzplanutí, hematokritu, počtu erytrocytů a leukocytů. Průměrné hodnoty jednotlivých druhů bílých krvinek dosahovaly konstantních hodnot, ale zjištěny byly rozdíly v procentuálním zastoupení jednotlivých vývojových stadií neutrofilních granulocytů. Výsledky dále potvrzují korelace mezi jednotlivými fyziologickými, imunitními parametry a parazitací mnohobuněčnými cizopasníky, která se liší mezi jednotlivými odběry.

Pozastavený vývoj strongylidních hlístic ovcí: nástup inhibice a pokračování ve vývoji v klimatických podmínkách střední Evropy

I. Langrová¹, K. Makovcová¹, J. Vadlejch¹, I. Jankovská¹, M. Petrtýl¹, J. Fechtner¹, P. Keil², A. Lytvynets³, M. Borkovcová⁴

¹ Department of Zoology and Fisheries, Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 957, 165 21 Prague 6 – Suchbát, Czech Republic

² Department of Ecology, Faculty of Science, Charles University, Viničná 7, 128 00 Prague 2, Czech Republic

³ Department of Laboratory Animals Breeding and Hygiene, Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4, Czech Republic

⁴ Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

Mezi srpnem 2004 a dubnem 2007 byly na ekologické farmě v západních Čechách provedeny dva experimenty. První byl uskutečněn během pastevního období v létě a na podzim (nástup inhibice vývoje larev), druhý probíhal na jaře (pokračování inhibovaných larev ve vývoji).

V rámci prvního experimentu podíl hlístic zadržujících svůj endogenní vývoj během zimních měsíců dosáhl hodnot 87.7% u *Teladorsagia circumcincta*, 66.7% u *Haemonchus contortus*, 89.9% u *Nematodirus filicollis*, 21.6% u *Trichostrongylus axei* a 23.9% společně u *Trichostrongylus vitrinus* a *Trichostrongylus colubriformis*. Inhibované larvy nebyly pozorovány u druhů *Cooperia curticei*, *Nematodirus battus* a *Oesophagostomum venulosum*.

Během druhého experimentu byl zjištěn významný nárůst dospělých hlístic v únoru u *Trichostrongylus* spp. a v březnu u *Teladorsagia circumcincta* a *Nematodirus filicollis*.

RDA a GLM analýzy potvrdily, že podmínky prostředí hrají významnou roli v hypobioze strongylidních hlístic u ovcí v České republice. Analýzy vlivů různých činitelů prostředí ukázaly, že počet zadržovaných larev byl negativně ovlivněn délkou světelného dne a délkou slunečního svitu ($p < 0.01$).

Dirofilarióza psov - prevalencia a druhové zastúpenie na Slovensku

L. Lecová¹, V. Letková¹, A. Kočišová¹, M. Miterpáková²

¹ Ústav parazitológie, Katedra epizootológie a parazitológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, SR

² Parazitologický ústav SAV, Oddelenie parazitozoonóz, Hlinkova 3, 040 01, Košice, SR

Dirofilarióza je ochorenie psov, zriedkavejšie mačiek a iných mäsožravcov, ktoré je vyvolávané zoonóznymi druhmi rodu *Dirofilaria*. *Dirofilaria immitis* parazitujúca v pľúcnych artériách, v pravej srdcovej komore a predsieni spôsobuje vážne kardiovaskulárne ochorenia. Menej patogénna *Dirofilaria repens* parazituje v koži a podkoží. Experimentálne štúdie dokázali, že nematódy z rodu *Dirofilaria* sa dokážu vyvíjať úplne, alebo neúplne v mnohých článkonožcoch, avšak komáre patria k najdôležitejším vektorom pri ich šírení. Zástupcovia čelade *Culicidae* patria do základnej skupiny prenášačov týchto patogénov.

Ochorenie je bežne diagnostikované v južnej Európe, predovšetkým v oblasti Stredozemného mora. Avšak klimatické zmeny, globálne otepľovanie, zvýšená abundancia vektorov v dôsledku častých záplav a zvyšujúceho sa priemerného úhrnu zrážok a v neposlednom rade aj nárast cestovania majiteľov so zvieratami bez profylaxie, vedie k šíreniu ochorenia z endemických oblastí Európy severným smerom. Na Slovensku bolo toto ochorenie prvýkrát diagnostikované v roku 2005. Závažná je skutočnosť, že v roku 2007 bola dirofilarióza na Slovensku diagnostikovaná aj v 4 prípadoch u ľudí, s podkožnou lokalizáciou a prestupom do rôznych vnútorných orgánov.

Od októbra 2007 sme doposiaľ celkovo vyšetrili 83 psov z rôznych oblastí Slovenska. Ako rýchlu diagnostickú metódu sme použili modifikovaný Knottov test a na odlíšenie jednotlivých druhov sme použili komerčne vyrábaný farbivací set Leucognost SP® (Merck). Ako veľmi špecifickú metódu vhodnú k detekcii pôvodcu, ale aj k druhovej diferenciacii sme použili PCR analýzu.

Z celkovo 83 vyšetrených psov bola *D. repens* zistená u 4 jedincov, čo predstavuje 4,8% prevalenciu. Z toho traja pacienti sú pôvodom zo západného Slovenska a jeden je importovaný z Maďarska. V ďalšom období v rámci systematického štúdia plánujeme zistiť výskyt a druhové zastúpenie jednotlivých druhov filárií na území Slovenska.

Práca je riešená v rámci grantovej úlohy VEGA č. 1/3490/06.

Protilátková odpověď savčího hostitele vyvolaná antigeny *Trichobilharzia regenti*

L. Lichtenbergová^{1,2}, P. Kouřilová², M. Kašný², A. P. Mountford³, L. Kolářová⁴

¹ Oddělení mikrobiologie, 3. lékařská fakulta UK, Ruská 87, 100 00 Praha 10, ČR

² Katedra parazitologie, Přírodovědecká fakulta UK, Viničná 7, 128 44 Praha 2, ČR

³ Department of Biology, University of York, YO10 5YW York, UK

⁴ Národní referenční laboratoř pro tkáňové helmintózy, IPVZ, Ruská 85, 100 05 Praha 10, ČR

Ptačí schistosoma druhu *Trichobilharzia regenti* patří mezi významné původce cercáriové dermatitidy, kožního alergického onemocnění. Ačkoliv se jedná o onemocnění vyskytující se kosmopolitně v mírném pásmu, mechanismus imunitní reakce nebyl zatím zcela objasněn. Cercáriová dermatitida vzniká jako zánětlivá reakce na průnik larválních stádií (cercárií) do kůže hostitele a byla charakterizována jako časný typ I hypersenzitivní reakce následovaný pozdní fází kožní zánětlivé reakce, přičemž obě reakce jsou spojovány s Th2-typem imunitní odpovědi a s produkcí imunoglobulinu E (IgE).

Pro studium vývoje imunitní odpovědi savců na nákazu cercáriemi *T. regenti* byly myši kmene C57BL/6 opakovaně vystaveny cercáriím *T. regenti* (4 infekce s intervalem 10 dnů). Vždy před každou infekcí a následně 10, 20, 30, 40, 60 a 120 dní po poslední infekci byla myším odebrána krev. Pomocí ELISA reakce a metody Western blot byla sledována protilátková odpověď (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgM) na dva typy antigenů – na homogenát cercárií (TrH) a na exkrečně/sekreceční produkty cercárií (TrE/S).

Zjištěna byla dominance IgG1 odpovědi proti TrH a TrE/S antigenům. Signifikantní zvýšení hladiny IgG1 protilátek bylo zaznamenáno 10 dní po 2. infekci, nejvyšší hodnoty byly naměřeny v sérech myší 10 dní po 4. infekci a i 120 dní po poslední infekci zůstávala hladina protilátek zvýšená. Podobně jako v případě IgG1 se hladina IgG2b protilátek zvyšovala po 2. infekci, dosáhla vrcholu po 3. infekci a dále následoval pozvolný pokles. Infekce vedla také ke zvýšení celkového IgE. Nejvyšší hladina IgE byla naměřena 10 dní po 4. infekci a až do konce experimentu zůstávala zvýšená přibližně na úrovni sedmapůlkrát vyšší než u zdravých myší. Zvýšení hladiny IgG1 a IgG2b po prvních infekcích svědčí pro rozvoj smíšené Th1/Th2 imunitní odpovědi, po které nastupuje Th2 imunitní odpověď, což dokládá dominance IgG1 protilátek a zvýšená hladina celkového IgE po opakovaných infekcích. Blokaci karbohydrátových epitopů na glykoproteinech pomocí jodistanu sodného došlo k redukci vazby IgG1 a IgG2b protilátek přibližně o 30%, což dokazuje, že část protilátkové odpovědi je namířená právě proti karbohydrátovým epitopům.

Pomocí Western blotů jak s TrH tak s TrE/S antigenem bylo zjištěno, že antigen-specifické IgG1 a IgE protilátky ze sér myší rozpoznávají antigen o 34 kDa. Dále byla pozorovaná slabší vazba IgG1 protilátek na proteiny o velikosti 28 a 50 kDa. Intenzita vazby protilátek se podobně jako u ELISA reakcí zvyšovala s počtem reinfekcí. Vazba IgG1 protilátek na 34 kDa antigen byla potvrzena také pomocí 2D blotů. V současné době je známa částečná aminokyselinná sekvence 34 kDa proteinu a pracuje se na jeho kompletní identifikaci.

Projekt vznikl za podpory Wellcome Trust Collaborative Research Initiative Grant no. 072255 a grantu č. 206/07/0233 Grantové agentury České republiky.

Druhové a vekové zastúpenie ektoparazitov na jaštericiach v modelových oblastiach strednej Európy

L. Majláth¹, V. Majláthová², M. Hromada³, P. Tryjanowski⁴, A. Ekner⁴, G. Földvári⁵, A. Mihalca⁶

¹ Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta, ÚBEV, Moyzesova 11, Košice, Slovensko;

² Parazitologický Ústav SAV, Hlinkova 3, Košice, Slovensko

³ Jihočeská univerzita, Přírodovědecká fakulta, Katedra zoologie, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika

⁴ Department of Avian Biology and Ecology, Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland

⁵ Szent István University, Faculty of Veterinary science, Budapest, 1078 Budapest, István u. 2., Hungary

⁶ Universitatea de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara Cluj-Napoca, Calea Manastur nr. 3-5, Romania

V 7 modelových oblastiach 4 krajín strednej Európy bolo odchytených 450 jedincov šiestich druhov jašteríc, z ktorých bolo odobratých 1362 kliešťov čeľade Ixodidae. Na jaštericiach boli zaznamenávané aj miesta prichytenia kliešťov. Taktisto bola stanovená závislosť medzi dĺžkou tela a počtom ekoparazitov.

Na území Slovenska boli jašterice odchyťované v 2 lokalitách, a to Slovenský kras, kde bolo odchytených 222 jedincov druhu *Lacerta viridis*, z ktorých bolo odobratých 692 kliešťov v rôznych vývinových štádiách (344 lariev L-49,7% a 348 ným N-50,3%). Druhou modelovou lokalitou bola oblasť Martinské hole kde sme odchytili a odorali 11 jedincov druhu *Lacerta agilis* (152 kliešťov) a 5 jedincov druhu *Lacerta / Zootoca vivipara* (24 kliešťov). Z celkového počtu 176 kliešťov bolo L=75 (42,6%) a N=101 (57,4%).

Na území Poľska boli jašterice odchyťované z 1 lokality a to z oblasti Wielkopolska – Odolanow, kde bolo odchytených 48 jedincov druhu *Lacerta agilis* (187 kliešťov) a 74 *Lacerta / Zootoca vivipara* (376 kliešťov). Z celkového počtu 563 kliešťov bolo L=183 (32,5%) a N=380 (67,5%).

Na území Maďarska boli jašterice odchyťované taktiež z 1 lokality a to z oblasti Gödöllő – 31 jedincov druhu *Lacerta viridis* (56 kliešťov z toho L=54 (96,4%) a N=2 (3,6%)).

Na území Rumunska boli jašterice odchyťované v 3 modelových lokalitách, a to Delta Dunaja (Sfantu Gheorghe) – 28 *Lacerta agilis ssp. chersonensis* (97 kliešťov L=97 (100%) 2 *Eremias arguta* bez kliešťov. Druhou lokalitou bol Babadag 6 jedincov druhu *Lacerta trilineata* (6 kliešťov L=6 (100%)) a 2 jedince druhu *Lacerta viridis* (0). Poslednou lokalitou bola Histria kde sme odchytili 21 jedincov druhu *Podarcis taurica* na ktorých však v tom čase kliešte nájdené neboli. Na jaštericiach boli nájdené dva druhy kliešťov *Ixodes ricinus* (99%) a *Hyalomma aegyptium* (1%) v prvých dvoch vývinových štádiách (larvy a nymfy).

Zistili sme že kliešte preferujú hlavne axilárnu a krčnú oblasť. S opatnosťou sa dá konštatovať, že v celkovom priemere s rastúcou dĺžkou tela sa zvyšuje aj počet ektoparazitov na tele.

Práca bola finančne podporená grantom VEGA č. 1/0139/08, VVGS-UPJS-57/07-08, grantom Ministertva vedy v Poľsku NN303 3174 33 a MSM 6007665801.

Úloha jašteríc v ekológii *Borrelia burgdorferi* sensu lato

V. Majláthová¹, I. Majláth², B. Víchová¹, M. Hromada³, P. Tryjanowski⁴, A. Ekner⁴,
E. Bullová¹, B. Peťko¹

¹ Parazitologický Ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika

² Univerzita P. J. Šafárika, Ústav biologických a ekologických vied, Moyzesova 11,
040 01 Košice, Slovenská republika

³ Jihočeská univerzita, Přírodovědecká fakulta, Katedra zoologie, Branišovská 31
370 05 České Budějovice, Česká republika

⁴ Department of Avian Biology and Ecology, Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť asociáciu jašteríc s kliešťami *Ixodes ricinus* a spirochétami z komplexu *Borrelia burgdorferi* s. l. a zistiť ich úlohu v transmisnom cykle borélií.

Počas rokov 2004-2006 bolo na štyroch geograficky a klimaticky odlišných lokalitách Európy (Slovensko: Slovenský Kras, Martinské Hole; Poľsko: oblasť Wielkopolska; Rumunsko: delta Dunaja) odchytených 419 jašteríc patriacich do 6 druhov čeľade Lacertidae (*Lacerta viridis*, *L. agilis*, *L. vivipara*, *L. trilineata*, *Podarcis taurica* a *Eremias arguta*). Celkovo bolo zo všetkých odchytených jašteríc odobratých 1306 nedospelých kliešťov *I. ricinus* a spolu s kožnými biopsiami z kolárnych štítkov (N=299) a chvostíkov (N=53) vyšetrených na prítomnosť *B. burgdorferi* s. l.

Prítomnosť borélií bola zisťovaná PCR metódou a genotypizácia RFLP metódou. Prevalencia borélií v nedospelých štádiách kliešťa obyčajného, ktorý bol jediným druhom kliešťa nájdeným na jaštericiach sa pohybovala v rozmedzí 21,1% (v kliešťoch cicajúcich na jašterici krátkohlavej na Martinských Holiach) a 3,7% (v kliešťoch cicajúcich na jašterici živorodej v Poľsku), dominantným druhom bola *Borrelia lusitaniae*. Prítomnosť *B. lusitaniae* sme zistili aj v kožných vzorkách odobratých z krčnej oblasti jašteríc. Prevalencia tejto borélie sa pohybovala v rozmedzí 57,1% (*L. agilis* subsp. *chersonensis* v Delte Dunaja) a 0% (*L. agilis* a *L. vivipara* v Poľsku). Získané výsledky poukazujú na úlohu jašteríc ako špecifického selektívneho rezervoárového hostiteľa pre druh *Borrelia lusitaniae*.

Práca bola finančne podporená grantom APVV 51-009205, VEGA 1/0139/08, VVGS-UPJS-57/07-08, grantom Ministertva vedy v Poľsku NN303 3174 33 a MSM 6007665801.

Analýza ITS–1 úsekov *Eimeria colchici* pomocou polymerázovej reťazovej reakcie

P. Major¹, R. Herich², M. Goldová¹, M. Levkut²

¹ Ústav parazitológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81, Košice, SR

² Ústav patologickej anatómie, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81, Košice, SR

Kokcidióza predstavuje aj v súčasnosti aktuálny problém v intenzívnych farmových chovoch bažantov napriek všetkým opatreniam veterinárnej a zoohygienickej služby. *Eimeria colchici*, ktorá patrí medzi najpatogénnejšie druhy kokciíí spôsobuje kokcidiózu slepých vakov.

Tradičné diagnostické metódy založené na porovnávaní morfológie oocýst a biologických vlastnostiach eimérií sú pre dôkladnú druhovú identifikáciu často nepostačujúce. Moderné diagnostické trendy založené na PCR využívajúce genetické markery jadrovej ribozómovej DNA poskytujú rýchle a spoľahlivé analytické nástroje. Polymorfne ITS–1 (Internal Transcribed Spacer) regióny v rámci eimeriálneho genómu sú ideálne pre presnú druhovú diagnostiku.

V predkladanej práci boli použité dva izoláty zo slepých vakov: *E. colchici* (bažant) a čistá línia *E. tenella* (kurča), ktorá slúžila ako kontrola. Po izolácii DNA z parazitov komerčne dostupným kítom boli na amplifikáciu ITS–1 regiónov použité 3 sady rodovo špecifických primerov (BSEF–BSER, WW1–WW3r, BSEF–EEr). Získané fragmenty boli po purifikácii zaslané na sekvenovanie. Výsledné sekvencie vykazovali po vzájomnom porovnaní zhodu v ITS–1 regiónoch u oboch izolátov *E. colchici*. V prípade *E. tenella* sa výsledná sekvencia zhodovala s publikovanými údajmi.

Defensiny klíšťat: sekvenční podobnost, stadiální a orgánová exprese

T. Matějovská^{1,2}, N. Rudenko^{1,2}, M. Golovchenko^{1,2}, L. Grubhoffer^{1,2}

¹ Laboratoř molekulární biologie vektorů a patogenů, Biologické centrum, v. v. i – Parazitologický ústav, Branišovská 31, České Budějovice 370 05, ČR

² Přírodovědecká fakulta JU, Branišovská 31, České Budějovice 370 05, ČR

Klíšťata, stejně jako ostatní členovci, mají jen přirozenou, paměť postrádající imunitu. Ta obsahuje 2 složky: buněčnou a humorální, které jsou v těsném vzájemném vztahu. Buněčná část je zastoupena hemocyty, které mohou vnikající patogeny fagocytovat, nodulovat či enkapsulovat. Zároveň jsou i místem syntézy mnoha molekul, které jsou zastoupeny v humorální imunitě. Těmi mohou být antimikrobiální peptidy, opsonizační faktory či ROS (reactive oxygen species) systém, koagulace a fenol-oxidáza (melanizace). Identifikované antimikrobiální molekuly je možno rozdělit do několika skupin: lysozomy, defensiny, lektiny, serpiny, cekropiny a transferiny. Tyto proteiny jsou po stimulaci patogeny produkovány různými tkáněmi, především hemocyty, ale i tukovým tělesem a stěvnými buňkami a následně sekretovány do hemolymfy.

Defensiny či defensinům podobné peptidy (defensin-like) byly popsány u améb, hmyzu, klíšťat, škorpiónů, měkkýšů, savců a rostlin. Přestože defensiny obratlovců a bezobratlých živočichů mají stejné působení, nevykazují žádnou strukturální či sekvenční podobnost.

Defensiny členovců se exprimují jako prepropeptidy. Po odštěpnutí signální sekvence a propeptidu se z nich stávají zralé (mature) funkční molekuly. Jedná se většinou o kationické peptidy o velikosti přibližně 40 aminokyselin s 6 cysteinovými residui uvnitř molekuly, které se párují (cys1-cys4; cys2-cys5; cys3-cys6) za vzniku intra-molekulárních S-S můstků. Ty dávají molekule defensinu správnou 3-D strukturu důležitou pro její funkci. Defensiny se vyznačují antimikrobiální aktivitou především proti G+ bakteriím, některé isoformy inhibují i G- bakterie, houby a protozoa.

Expresí klíšťecích defensinů je u různých druhů lokalizována v různých tkáních a je většinou ovlivněna sáním, zraněním či infekcí organismu. Do dnešního dne byly tyto peptidy nalezeny u několika druhů klíšťat: *Amblyomma americanum* (1 isoforma), *A. hebraeum* (2 iz.), *Boophilus microplus* (1 iz.), *Dermacentor variabilis* (2 iz.), *Haemaphysalis longicornis* (2 iz.), *Ixodes scapularis* (1 iz.), *I. ricinus* (2 iz.), *Ornithodoros moubata* (4 iz.). Námi bylo zatím osekvenováno několik izoform defensinů z klíšťat: *D. reticulatus* (1 iz.), *D. marginatus* (1 iz.), *O. tartakovskyi* (1 iz.), *O. papillipes* (2 iz.), *O. puertoricensis* (2 iz.) a *O. rastratus* (2 iz.). Srovnáním aminokyselinových (aa) sekvencí izoform defensinů těchto klíšťat ukázalo, že aa sekvence zralých peptidů jsou velmi podobné, prepro část peptidů je naopak dosti variabilní. Sekvence, ve které se odštěpuje propeptid od zralého funkčního peptidu je pro všechny dosud známé defensiny klíšťat stejná (Arg-Arg).

U evropského klíšťete *I. ricinus*, který přenáší původce významných lidských onemocnění (např. lymfskou boreliózu a klíšťovou encefalitidu), byly nalezeny 2 isoformy defensinů. Expresí obou peptidů je indukována sáním (a to u všech životních stádií). Defensin 1 je exprimován především ve stěvních buňkách, částečně i v malpigičích trubicích, defensin 2 byl navíc nalezen i ve slinných žlázách a ováriích. Podrobné zkoumání těchto izoform nám může říci více o imunitě klíšťete *I. ricinus* a jeho schopnosti zamezit či nezamezit přenosu infekčních patogenů na hostitele.

**Možnosti úspěšného vývoje klíštěte obecného (*Ixodes ricinus*)
v různých nadmořských výškách (650–1550 m) v podmínkách
terénního experimentu:
Jakým způsobem klima ovlivňuje jeho současné pronikání do
vyšších horských poloh?**

J. Materna¹, M. Daniel², L. Metelka³, M. Procházka⁴, S. Kliegrová³, J. Harčarik¹

¹ Správa Krkonošského národního parku, Dobrovského 3, 543 01 Vrchlabí

² Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Ruská 85, 100 05 Praha 10

³ Český hydrometeorologický ústav, Dvorská 410, 503 11 Hradec Králové

⁴ Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

Za horní hranici rozšíření klíštěte obecného byla na území ČR historicky považována nadmořská výška 700–800 m. Její výrazný posun byl poprvé publikován v roce 2003 ze Šumavy. V Krkonoších byla na základě šestiletého monitoringu hostitele hledajících klíšťat pomocí vlnkování (2002–2007) opakovaně a početně zjištěna všechna stádia až do nadmořské výšky 1100 m. Nymfy byly jednotlivě avšak pravidelně nacházeny až k horní hranici lesa (1250 m n. m.). Pravděpodobný důvod změn naznačila analýza dlouhodobých klimatologických dat (1961–2005). Ta ukázala systematický nárůst průměrné roční teploty nejméně o 1,4°C v nadmořské výšce 1000 m. Její největší nárůst (v měsíčním průměru o 1,5–3,5°C) byl zjištěn v období květen– říjen, které je klíčové z hlediska vývoje klíštěte a i pro nalezení hostitelů. Zároveň nebyly nalezeny žádné výrazné změny ve spektru vhodných klíštěcích biotopů i hostitelů. To vedlo k domněnce, že právě změny průběhu klimatu podminily změny ve výškovém rozšíření klíštěte. Pro její potvrzení a experimentální ověření životaschopnosti jeho populací ve vyšších horských polohách, byl v roce 2006 a 2007 proveden terénní pokus, jehož cílem bylo zjistit možnosti úspěšného vývoje jednotlivých stádií klíštěte v různých nadmořských výškách. Bylo vybráno 10 pokusných ploch na výškovém transektu 650 – 1550 m n. m. Plochy byly umístěny na ekotonu louka – les. Velmi se podobaly svojí expozicí i reliéfem, lišily se však mikroklimatickými podmínkami.

Experiment potvrdil silnou závislost mezi úspěšností a délkou vývoje jednotlivých stádií a charakterem mikroklimatu v různých nadmořských výškách. Nasáté samice se úspěšně vykladly na všech plochách. Také k úspěšnému líhnutí vajíček došlo prakticky podél celého výškového transektu. I metamorfóza nasátých larev a nymf proběhla úspěšně v obou sledovaných letech u více než 90% vysazených jedinců až do nadmořské výšky 920 m. Nad touto hranicí byla však silně ovlivněna průběhem klimatu v jednotlivých sledovaných letech a to především u nymf, u kterých je doba metamorfózy delší než u larev. Zatímco k úspěšnému svlékání alespoň poloviny nasátých nymf došlo v teplotně výrazně nadnormálním roce 2006 až do nadmořské výšky 1250 m n. m., v roce 2007, který byl teplotně normální, pak pouze do výšky 1070 m n. m. Přestože většina nasátých nymf, která započala svoji metamorfózu v roce nasátí, ale nestihla ji do podzimu dokončit, přezimovala, u žádné z nich již nedošlo k úspěšnému svlékání v dalším roce a všechny během příštího léta zahynuly. Tento mechanismus se dle našich dosavadních výsledků jeví být přímo odpovědný za úspěšný vývoj nasátých larev a nymf ve vyšších polohách a rozhoduje, kromě dalších faktorů, o životaschopnosti zde založených populací. Na základě zjištěných dat jsou dále diskutovány možnosti dalšího vývoje populací klíštěte v horských polohách.

Štěnice domácí (*Cimex lectularius*) v České republice – aktuální problém

L. Mazánek, J. Chmela, M. Kenša

Oddělení dezinfekce, dezinfekce a deratizace, Krajská hygienická stanice Olomouckého kraje se sídlem v Olomouci, Wolkerova 6, 779 11 Olomouc, ČR

Štěnice (Cimicidae) jsou jednou z mála krevsajících skupin řádu ploštic (Heteroptera). Dosud nebylo prokázáno, že by se štěnice přirozeně podílely na přenosu nějakého lidského infekčního onemocnění. Jejich význam spočívá pouze v samotném obtěžování člověka.

Po zavedení aplikace chlorovaných uhlovodíků ve druhé polovině minulého století byl výskyt štěnice domácí v České republice po dlouhou dobu ojedinělý, podobně jako v jiných rozvinutých zemích světa. Povědomí o existenci a schopnostech tohoto ektoparazita se z veřejného života společnosti postupně vytrácelo spolu s návyky jak předcházet jeho šíření. Poslední dobou však dochází k expanzi štěnice domácí (*Cimex lectularius*) ve vyspělých zemích světa. Šíření a hubení štěnice domácí začíná být vážným problémem i v České republice.

Ukazuje se, že neznalost biologie a chování štěnic je jednou z hlavních příčin častého selhávání hubení štěnic a podílí se na jejich šíření. Náhlé expanzivní šíření štěnice domácí po rozvinutém světě je však možno spolehlivě vysvětlit pouze vysokou rezistencí štěnice domácí proti široce používaným insekticidům na bázi pyrethroidů.

Prezentované základní poznatky o biologii, výskytu a o hubení štěnice domácí vycházejí ze zkušeností získaných při provádění státního zdravotního dozoru ochranné dezinfekce proti štěnicím. Nejčastější chyby, které mají za následek neúspěšnost dezinfekce proti štěnicím, plynou z nedostatečného průzkumu, nedostatečné informovanosti zákazníků, nevhodné volby přípravků, nedůsledné aplikace přípravků i z následné nevhodné manipulace se zamořeným nábytkem. Z toho je třeba vycházet při stanovování zásad při hubení štěnic a při provádění kontroly účinnosti hubení štěnic v terénu. Doporučený postup hubení štěnice domácí vychází z požadavků integrované ochrany před škůdci (IPM). Při hubení štěnic je třeba klást důraz především na odborný průzkum a dohledání všech ohnisek výskytu štěnic a jejich úkrytů, ve kterých mohou štěnice dlouhodobě přežívat. Ukazuje se, že důsledné ošetření konstrukcí postelí a všech úkrytů štěnic v jejich okolí vhodným účinným přípravkem je nezbytnou podmínkou účinného dezinfekčního zásahu. Je třeba se vyvarovat aplikace přípravků na bázi pyrethroidů, proti kterým jsou populace štěnice domácí vysoce rezistentní. Tyto přípravky mají navíc repelentní účinek, což ztěžuje následné provedení účinné dezinfekce.

Proteolytické enzymy motolic - možnosti využití v imunodetekci a vakcinaci

L. Mikeš¹, M. Kašný¹, A. Novobilský²

¹ Katedra parazitologie PřF UK v Praze, Viničná 7, 128 44 Praha 2

² Test Line, Clinical Diagnostics, spol. s r. o., Křížkova 68, 612 00 Brno

Fasciola hepatica patří mezi nejvýznamnější veterinární parazitózy s kosmopolitním rozšířením. Odhady hovoří o více než 600 mil. infikovaných zvířat a ročních ekonomických ztrátách převyšujících 2 mld USD. Z hlediska humánní medicíny se jedná o „re-emerging disease“, infikováno je asi 2,4 mil. lidí. Široké spektrum definitivních hostitelů, obrovský reprodukční potenciál, schopnost adaptace na různé lymnaeidní plže jako mezihostitele a v poslední době i rezistence k antihelmintikům zvyšují významnost této motolice. S tím stoupá i potřeba spolehlivých diagnostických metod a účinné prevence, např. v podobě vakcinace.

Hlavní problémy při vývoji vakcíny jsou neexistence konsensu ohledně biologických vlastností či molekulárním charakteru předpovídajícím vakcinační potenciál proteinů a také neexistence vhodných in vitro systémů či laboratorních modelů pro testování většího množství vakcín. Kandidátní proteiny byly dosud objevovány na základě biochemických/imunologických metod při výzkumu E/S produktů parazitů navozujících imunitní odpověď u (nevhodných) experimentálních modelů.

Mezi významné kandidáty patří cysteinové peptidázy, zejména cathepsiny L, sekretované střevními epitelii a podílející se na trávení krve a průniku tkáněmi. U ovcí a dobytka poskytují různou úroveň protekce, významnější je snížení fekundity parazitů po vakcinaci, zejména v kombinaci s dalšími antigeny. Výzkum tedy směřuje spíše k „transmission-blocking“ vakcíně.

Fascioloides magna je příbuzná motolice zavlečená do Evropy s jelenem viržinským v 19. století. V některých ohniscích výskytu je významným parazitem jelenů. Její patogenní působení se projevuje zejména u daňčí a srnčí zvěře, kde dochází k úhynům.

Náš výzkum se zaměřil na porovnání E/S antigenů obou druhů motolic a srovnání protilátkové imunitní odpovědi přirozeně a experimentálně infikovaných přežvýkavců. Metodou ELISA nelze infekce těmito druhy rozlišit, je to však možné s pomocí 2-D Western blotů.

Dominantním proteinem v E/S produktech *F. magna* je peptidáza typu cathepsinu L. Předběžná charakterizace ukazuje na značnou podobnost s obdobným enzymem u *F. hepatica*. Byla získána jeho aminokyselinová sekvence. Studována je jeho antigenicita a zkřížená reaktivita s protilátkami proti cathepsinům L *F. hepatica* s cílem ověřit možnost jeho použití jako imunodiagnostického markeru pro rozlišení fasciolózy a fascioloidózy.

The role of apoptosis-related factors in the early events of nurse-cell formation in experimental trichinellosis in mice

R. Milcheva^{1,2}, P. Janega², P. Dubinský³, Z. Hurniková³, P. Babál²

¹ Institute of Experimental Pathology and Parasitology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

² Department of Pathology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, Slovakia

³ Institute of Parasitology, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovakia

Unlike the majority of intracellular parasites, *Trichinella* occupies the host muscle cell without killing it, which results in a symbiotic structure called a nurse-cell. The molecular mechanisms at work that are responsible for this unique relationship are likely to involve both, the extrinsic and the intrinsic pathway of apoptosis. We investigated the possible role of the apoptosis-inducing factor (AIF) and also its relationship with other apoptosis-related factors such as Bax, Bcl-2 and caspase - 3. Immunohistochemical studies on striated muscle specimens invaded with *Trichinella spiralis* were performed 10, 14 and 45 days post infection (d.p.i.).

At the very early stage of muscle invasion (10 d.p.i.) a weak expression of the anti-apoptotic factor Bcl-2 and the pro-apoptotic factor Bax were found in the site of occupation. The detection of caspase-3 was limited to few spots. The cytoplasm and the enlarged nuclei of the affected area in the invaded cell were ubiquitously strongly stained with AIF.

At day 14 p.i. both Bax and Bcl-2 were expressed in the enlarged nuclei and the staining in the cytoplasm was variable. AIF had strong nuclear and cytoplasmic distribution. Caspase-3 was expressed within the occupied sites and more strongly inside of the enlarged nuclei.

The up-regulation of AIF and caspase - 3 was missing at day 45 p.i., when the nurse-cell capsule was complete.

Taken together, our results suggest that AIF relocation from the mitochondria to the nucleus is probably the first event starting the accommodation of *Trichinella spiralis* within the myocyte. Moreover, it seems that up-regulation of certain factors of apoptosis may be implicated rather in the mechanisms of dedifferentiation of the occupied muscle cell than in the processes leading to its death.

This study was supported by grant MU-L-1507/05 from the Ministry of Education and Science of Republic of Bulgaria.

Výskyt dirofilariózy u služobných psov na Slovensku

M. Miterpáková¹, D. Antolová¹, Z. Hurníková¹, P. Dubinský¹, A. Pavlačka²,
J. Németh³

¹ Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

² Prezídium PZ SR, Oddelenie kynológie a hipológie, Bratislava, SR

³ Veliteľstvo vojenského zdravotníctva, Ružomberok, SR

Dirofilarióza u psov bola po prvýkrát na Slovensku diagnostikovaná v roku 2005 u 12 jedincov pochádzajúcich z okresov Bratislava a Komárno (Svobodová *et al.*, 2005).

Začiatkom roka 2007 bol zahájený podrobný epizootologický prieskum zameraný na zistenie rozšírenia dirofilariózy v dvoch geograficky vzdialených oblastiach Slovenska – Podunajskej a Borskej nížiny na západe a Východoslovenskej nížiny na východe krajiny. V období od februára do júna 2007 bolo na prítomnosť *Dirofilaria* spp. vyšetrených spolu 287 psov. Na vyšetrenie boli psi vyberaní náhodne. Vzorky krvi boli vyšetrované Knottovým testom na prítomnosť mikrofilárií parazita; na druhovú diagnostiku bola použitá metóda histochemického farbenia a PCR.

Výsledky prvotného epizootologického prieskumu poukázali na vyše 34% - nú prevalenciu dirofilariózy u psov vo vyšetrovaných oblastiach. Po prvý krát bola dirofilarióza detegovaná aj u psov na východe Slovenska. Boli zaznamenané štatisticky významné rozdiely vo výskyte ochorenia u psov rôzneho využitia. Najnižšia prevalencia bola detegovaná u spoločenských psov (7,8%); vysoký výskyt dirofilariózy bol diagnostikovaný v ostatných troch skupinách psov (poľovnícki psi – 40,0%; strážni psi – 50,0% a služobní psi – 51,1%).

Vzhľadom na vysokú prevalenciu dirofilariózy u služobných psov sme sa v druhej etape nášho výskumu zamerali na diagnostiku ochorenia v tejto skupine. V roku 2007 sme v spolupráci s Ministerstvom vnútra SR a Ministerstvom obrany SR vyšetrili 591 policajných a 119 vojenských psov z celého územia Slovenska. Dirofilarióza bola detegovaná u 118 (20,0%) policajných a 10 (8,4%) vojenských psov. Infikovaní psi pochádzali z 35 okresov Slovenska. Vzhľadom na intenzívny pohyb policajných psov v rámci územia Slovenska, je veľmi ťažké identifikovať lokality autochtónnych prípadov. Doteraz najsevernejšie lokalizovanou oblasťou, kde bol potvrdený autochtónny prípad dirofilariózy u psa, je katastrálne územie obce Nemšová v Trenčianskom kraji. Intenzívna migrácia nakazených psov predstavuje vysoké riziko zakladania nových ohnísk tejto zoonózy na území Slovenska.

Druhovo-diferenciálnou diagnostikou bol u všetkých nakazených jedincov detegovaný druh *Dirofilaria repens*; u 6 psov bola zaznamenaná zmiešaná infekcia s druhom *Dirofilaria immitis*.

Vykonaný epizootologický prieskum odhalil výskyt vysoko-endemických oblastí s cirkuláciou parazitov rodu *Dirofilaria* na území Slovenska a potvrdil, že klimatické podmienky na našom území sú vhodné pre ďalšie šírenie tejto zoonózy. Vysoká miera prevalencie detegovaná u policajných psov predstavuje vážny veterinárny, ale aj medicínsky problém, ktorý vyžaduje neodkladné zavedenie preventívnych a ochranných opatrení.

Práca vznikla za podpory projektu VEGA 2/7186/27.

Daktylogyridi (Platyhelminthes: Monogenea) ze žaber sladkovodních ryb rodu *Labeo* (Teleostei: Cyprinidae) západní Afriky

N. Musilová, E. Řehulková, M. Gelnar

Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta MU, Kotlářská 2, Brno 611 37, ČR

V rámci studie druhové diverzity monogeení sladkovodních ryb západní Afriky (Senegal 2004-2008) byly standardní parazitologickou pitvou vyšetřeny tři druhy ryb rodu *Labeo*: *Labeo coubie* Rüppell, 1832, *Labeo parvus* Boulenger, 1902 a *Labeo senegalensis* Valenciennes, 1842. *Labea* byla odlovena záťahovou sítí a tenaty v řece Gambii a jejich přilehlých márech v Národním Parku Niokolo Koba. Monogenea nasbíraná ze žaber čerstvě usmrčených hostitelů byla fixována GAPem (směs glycerolu a amonium-pikrátu). Morfometrie sklerotizovaných částí haptoru a reprodukčních orgánů jednotlivých druhů monogeení byla studována světelným mikroskopem s fázovým kontrastem (Olympus BX50) a digitální analýzou obrazu (Image Pro Plus, Media Cybernetics, USA). Byl zaznamenán výskyt následujících dvaceti druhů monogeení (z toho 2 druhy nové pro vědu) příslušejících do dvou rodů čeledi Dactylogyridae: *Dactylogyrus* Diesing, 1850 a *Dogielius* Bychowsky, 1936: hostitel *Labeo coubie*: *Dactylogyrus cyclocirrus* Paperna, 1973, *D. decaspirus* Guégan, Lambert, Euzet, 1988, *D. falcilocus* Guégan, Lambert, Euzet, 1988, *D. jaculus* Guégan, Lambert, Euzet, 1988, *D. jucundus* Guégan, Lambert, 1991, *D. oligospirophallus* Paperna, 1973, *D. titus* Guégan, Lambert, Euzet, 1988, *Dactylogyrus* n.sp. 1, *Dactylogyrus* n.sp. 2; *Dogielius clavipenis* Guégan, Lambert, Euzet, 1989, *D. flagellatus* Guégan, Lambert, Euzet, 1989, a *D. harpagatus* Guégan, Lambert, Euzet, 1989; hostitel *Labeo parvus*: *Dactylogyrus brevicirrus* Paperna, 1973, a *Dactylogyrus* n.sp. 1; hostitel *Labeo senegalensis*: *Dactylogyrus cyclocirrus* Paperna, 1973, *D. labeous* Paperna, 1969, *D. rastellus* Guégan, Lambert, Euzet, 1988, *D. senegalensis* Paperna, 1969, *D. tubarius* Guégan, Lambert, Euzet, 1988, *Dactylogyrus* n.sp. 1, *Dogielius anthocolpos* Guégan, Lambert, Euzet, 1989, *D. flosculus* Guégan, Lambert, Euzet, 1989, a *D. tropicus* Paperna, 1969. Zjištění výskytu *Dactylogyrus jucundus* na žábrách *Labeo coubie* a *Dogielius anthocolpos* u *Labeo senegalensis* představují nový hostitelský záznam. Nový druh *Dactylogyrus* n.sp. 1 byl pozorován u všech tří hostitelů.

Tato studie byla podporována grantovou agenturou AVČR (No. IAA 6093404) a Výzkumným projektem MU (No. MSM 0021622416).

***Toxoplasma gondii* a trvanlivé fermentované masné výrobky**

H. Neumayerová¹, J. Kameník², L. Steinhauer³, B. Koudela^{1,4}

¹ Ústav parazitologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1-3, 612 42 Brno

² Kmotr-Masna Kroměříž a. s., Hulínská 2286, 767 60 Kroměříž

³ Steinhauer Tišnov s. r. o., Karasova 378, 666 01 Tišnov

⁴ Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, v. v. i., Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Toxoplasma gondii je obligátní intracelulární jednobuněčný parazit s kosmopolitním rozšířením. Jedním z hlavních zdrojů infekce *T. gondii* pro člověka je nedostatečně tepelně upravené maso. Trvanlivé fermentované masné výrobky jsou tepelně neopracované masné výrobky určené k přímé spotřebě. Připravují se ze syrového masa, tukové tkáňe a po promíchání se solí, kořením a dalšími přísadami se vzniklá směs (dílo) plní do obalu. Za definovaných podmínek (teplota vzduchu, relativní vlhkost vzduchu, proudění vzduchu) probíhá zrání a sušení výrobků.

Cílem studie bylo posoudit, zda tkáňové cysty *Toxoplasma gondii* přežívají proces přípravy a zrání trvanlivých fermentovaných masných výrobků. Dvě prasata byla perorálně infikována oocystami *T. gondii* (genotyp II-like) izolovaných z trusu tygra ussurijského. Po třech měsících byly z masa infikovaných prasat připraveny trvanlivé fermentované salámy a trvanlivá fermentovaná masa – tzv. pršuty.

V průběhu přípravy a zrání trvanlivých fermentovaných masných výrobků byly z nich pomocí umělé trávicí tekutiny izolovány tkáňové cysty, které byly následně subkutánně inokulovány SCID a ICR myším. Infekčnost tkáňových cyst *T. gondii* byla posuzována podle rozvoje akutní toxoplasmózy u SCID myší a nálezem tkáňových cyst v mozku ICR myší. Pro potvrzení infekce myší byla použita metoda PCR. Souběžně s odběry vzorků pro posouzení přežívání tkáňových cyst byly sledovány parametry zrání trvanlivých fermentovaných masných výrobků - pH, aktivita vody (a_w) a obsah soli (NaCl).

Výsledky studie prokázaly přítomnost tkáňových cyst v mase prasat experimentálně infikovaných oocystami *T. gondii* izolovaných z trusu tygra ussurijského. Zpracování masa na trvanlivé fermentované masné výrobky a proces jejich zrání výrazně ovlivňuje přežívání tkáňových cyst. Potvrdili jsme infekčnost tkáňových cyst *T. gondii* pouze u myší po inokulaci materiálem z čerstvé směsi (díla) a materiálem získaným z nezralých výrobků v prvních dnech zrání. Vzhledem k průměrné době zrání v délce jednoho měsíce nepředstavují trvanlivé fermentované masné výrobky zdroj infekce *T. gondii* pro člověka.

Výskyt *Anaplasma phagocytophilum* a *Borrelia burgdorferi* sensu lato v kliešťoch *Ixodes ricinus* z podhorskej oblasti Liptovskej kotliny

M. Nováková¹, G. Hrkľová², B. Vichová¹, B. Peťko¹

¹Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika

²Katolícka univerzita v Ružomberku, Pedagogická fakulta, Katedra biológie a ekológie, Námestie A. Hlinku 56/1, 034 01 Ružomberok, Slovenská republika

Kliešť obyčajný, *Ixodes ricinus*, prenáša pôvodcov vírusových, ale aj bakteriálnych ochorení človeka a zvierat. Medzi najčastejšie sa vyskytujúce bakteriálne infekcie v strednej Európe, ktorých vektorom je kliešť obyčajný, patria lymfská borelióza a anaplazmóza/ ehrlichioza.

Lymfská borelióza a anaplazmóza/ehrlichioza sú ochorenia, ktoré sú známe iba niekoľko rokov. Lymfská borelióza je infekčné ochorenie, ktoré vyvoláva gramnegatívna spirochéta z komplexu *Borrelia burgdorferi* sensu lato. V rámci tohto komplexu bolo identifikovaných najmenej 12 druhov borélií, ktoré sa líšia svojou ekológiou, epidemiológiou a patogenitou. K premorenosti kliešťov v prírodných ohniskách prispieva tranštadiálny prenos borélií, zriedka aj transovariálny. V 80-95% prípadov prebehne infekcia inaparentne. Iba u 5-20% pacientov sa ochorenie klinicky prejaví ako kožné manifestácie, postihnutie kĺbov, nervov a vzácne aj iných orgánov.

Etiologický agens anaplazmózy/ehrlichiozy u ľudí je intracelulárna gramnegatívna baktéria *Anaplasma phagocytophilum*. Tak ako u *B. burgdorferi* s. l., baktérie *A. phagocytophilum* sú prenášané transštadiálne, no transovariálny prenos nebol zistený. Klinický obraz je nešpecifický, prejavuje sa chrípkovými príznakmi s horúčkou ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), bolesťami svalov, kĺbov, hlavy, vracaním a nevoľnosťou. Predpokladá sa, že niektoré ochorenia, ktoré priebehom a príznakmi pripomínajú lymfskú boreliózu, by mohli byť diagnostikované ako anaplazmóza/ehrlichioza.

V roku 2007 sme vyšetrili 129 kliešťov *Ixodes ricinus* z oblasti Liptovskej kotliny na prítomnosť bakteriálnych pôvodcov lymfskej boreliózy a anaplazmózy/ehrlichiozy. Na detekciu *A. phagocytophilum* v kliešťoch sme použili metódu PCR, pri ktorej sme amplifikovali ~900 bp dlhý fragment génu *msp4*, ktorý kóduje povrchový proteín MSP4.

Detekcia borélií komplexu *B. burgdorferi* s. l. bola vykonaná amplifikáciou 5S-23S (*rrfA-rrlB*) rDNA intergénového medzerníka.

Premorenosť kliešťov baktériou *A. phagocytophilum* bola 3,8%. Prítomnosť DNA baktérií komplexu *B. burgdorferi* s. l. sme zistili u 4,6% kliešťov *Ixodes ricinus*. V prípade *A. phagocytophilum* bola vyššia premorenosť dospelých kliešťov, pri *B. burgdorferi* s. l. boli rovnako infikované nymfy aj imága *I. ricinus*. Nezaznamenali sme ani jedného kliešťa infikovaného obidvoma patogénmi.

Práca bola finančne podporená grantom APVV LPP-0341-06 a grantom VEGA 2/6163/26.

Prevalencia pneumohelmintóz u jelenej zveri v Západných Tatrách

K. Oberhauserová¹, J. Ciberej¹, V. Laciak², J. Krušpan³, P. Major²

¹ Ústav pre chov a choroby zveri a rýb, Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, SR

² Ústav parazitológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, SR

³ Štátne lesy TANAPu, š. p., O. O. Oravice, 059 60 Tatranská Lomnica, SR

Pôvodcovia pľúcnej červivosti u jeleňov sú helminty systematicky patriace do kmeňa *Nemathelminthes* a triedy *Nematoda*. Zaraďujeme ich do čeľade *Dictyocaulidae* – *Dictyocaulus viviparus* a čeľade *Protostrongylidae* – *Varestrongylus* (syn. *Bicaulus*) *sagittatus*, *Elaphostrongylus cervi*. Invázia respiračného traktu prebieha u jeleňov zväčša asymptomaticky, avšak spôsobuje u zveri straty v zmysle zhoršenia kondičného stavu.

Chorobnosť vo všeobecnosti, ale hlavne parazitózy (špeciálne pneumohelmintózy), sú jednou z najzávažnejších príčin strát jelenej zveri (zníženie prírastkov a živej hmotnosti, pokles reprodukčnej kapacity, zníženie trofejovej kvality, straty úhynom a i.), čo má v konečnom dôsledku vždy ekonomický, ale aj ekologický dopad v chove jelenej zveri. Ekologické hľadisko je obzvlášť podstatné v prípade tejto práce, pretože skúmanou lokalitou prevalencie pľúcnej červivosti jeleňov sú Západné Tatry – súčasť Tatranského národného parku (TANAP), ktorý predstavuje najvyšší 3. až 5. stupeň ochrany krajiny na Slovensku. Z toho vyplývajú náležité špecifiká pri obhospodarovaní tohto územia, pri zachovaní jeho prírodnej biodiverzity.

Cieľom práce bolo odsledovať prevalenciu pľúcnej červivosti u jelenej zveri v lokalite Západných Tatier a navrhnúť vhodné opatrenia na riešenie s prihliadnutím na spomínané charakteristiky sledovanej oblasti. Počas obdobia rokov 2004 až 2006 sme v spolupráci s personálom Štátnych lesov TANAP-u získavali biologický materiál – celé pľúca s tracheou a trus, ktoré sa následne vyšetrili. Komplexne sa zhodnotila prevalencia pľúcnej červivosti jelenej zveri v danej lokalite, ktorá dosiahla 53,85% (helmintologická pitva pľúc) a 87,8% (koprologické vyšetrenie), a navrhli sa dehelmintizačné a ďalšie opatrenia na prevenciu a tlmenie invázie pneumohelmintov u jelenej zveri. V roku 2007 sa vyšetrenie pre kontrolu zopakovalo a výsledky sa porovnali s tými, ktoré sme získali počas predošlého sledovaného obdobia.

Genotypizace a variabilita kryptosporidií u přežvýkavců

Z. Ondráčková¹, M. Kváč^{2,3}

¹ Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká Republika.

² Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Česká Republika.

³ Biologické centrum AV ČR, v. v. i., Parazitologický ústav, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká Republika.

Protozoární paraziti rodu *Cryptosporidium* jsou celosvětově rozšíření a způsobují onemocnění u širokého spektra obratlovců včetně člověka. Hospodářská zvířata, zejména přežvýkavci a prasata, představují jeden z nejvýznamnějších zdrojů kontaminace vody a potravin kryptosporidii. V naší studii jsme se zabývali zoonotickým potenciálem kryptosporidií a charakterizací druhů/genotypů a subtypů kryptosporidií u přežvýkavců v České republice.

Z celkového počtu vyšetřených 742 vzorků trusu skotu (60 chovů), 70 ovcí (4 chovy) a 78 koz (2 chovy) pomocí specifické barvicí metody, bylo 114, 5 a 4 vzorky pozitivní na kryptosporidie. Pomocí PCR a PCR-RFLP části genu pro SSU rRNA byly odlišeny jednotlivé druhy/genotypy kryptosporidií a pomocí PCR genu pro glykoprotein 60 kDa (GP60) jednotlivé subtypy v rámci druhu *C. parvum*.

Na základě výsledků genotypizace byl zjištěn výskyt 3 druhů kryptosporidií: *C. andersoni* (genotyp A, B, mix AB), *C. bovis* a *C. parvum*. Všechny izoláty *C. parvum* byly charakterizovány jako subtyp Ila A16G1R1.

Práce byla financována z projektu GAČR 523/07/P117.

Ďalší prípad humánnej dirofilariózy v SR

F. Ondriska¹, D. Lengyel², Z. Miterpáková³, D. Valentová⁴, V. Beladičová⁴,
A. Lengyelová⁵, A. Strehárová⁵, P. Dubinský³

¹ HPL, s. r. o, odd. parazitológie, Istrijská 20, 841 07 Bratislava, SR

² NsP Trnava, odd. ortopedie, A. Žarnova 11, 917 01 SR

³ Parazitologický ústav SAV Košice, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

⁴ Štátny veterinárny a potravinový ústav, Botanická 15, 842 52 Bratislava, SR

⁵ NsP Trnava, Infekčná klinika NsP Trnava, A. Žarnova 11, 917 01 Trnava, SR

Globálne zmeny zaznamenávame aj na našom území napr. prostredníctvom novoobjavujúcich sa parazitóz. Autochtónna dirofilarióza psov sa prvý krát na Slovensku dokázala v roku 2005 a počet prípadov neustále narastá. U človeka bola prvý krát dirofilarióza v našej krajine diagnostikovaná v roku 2007, v tomto príspevku prezentujeme druhý prípad dirofilariózy človeka na Slovensku.

Kazuistika: Pacientka 37. ročná, prišla na vyšetrenie na ortopedickej ambulancii v Sereďi dňa 13. 12. 2008 udala, že má asi 2 týždne „hrčku“ na ľavej ruke. Obdobnú hrčku mala aj v oblasti pravého rebrového oblúka, zvýšenú teplotu nemala, na dovolenke bola v zahraničí len raz, pred 16r. v Grécku. V objektívnom náleze v strede chrbátu (dorza) ľavej ruky nad extenzorom 3. prsta bola hmatná rezistencia veľkosti hrášku, začervenalá a výrazne palpačne citlivá, bez evidentnej fluktuácie. USG vyšetrenie ukázalo prítomnosť hypoechogénneho útvaru o priemere cca 1 cm. Útvar bol dobre ohraničený od okolia, bez evidentnej tekutinovej kolekcie, napriek tomu sme skusmo hrčku pungovali, avšak bez aspirácie akéhokoľvek obsahu. Pri extrakcii ihly z hrčky sa s ihlou objavila aj časť útvaru, ktorý imitoval šicí materiál, napr. silónové vlákno. Tento útvar sme úplne ľahko bez akéhokoľvek odporu extripovali a odoslali na ďalšie vyšetrenie. Lokálny nález na ľavej ruke do 3 týždňov kompletne regredoval, čo sa týka rezistencie v oblasti pravého rebrového oblúka, pacientka je objednaná na chirurgickú ambulanciu FN Trnava, za účelom vyšetrenia dňa 1. 3. 2008.

„Šicí materiál“ extrahovaný z útvaru na chrbáte ľavej ruky sme identifikovali na základe morfológie ako *Dirofilaria* sp. Červ nebol úplný, do laboratória bol zaslaný iba cca 5 cm fragment. Morologickou analýzou i determináciou genómu parazita metódou PCR sme potvrdili druh *Dirofilaria repens*.

Novšie metódy v diagnostike humánných parazitóz, systém a kontrola kvality v parazitologickej diagnostike

F. Ondriska, G. Vozárová

HPL, s. r. o. odd. parazitológie, Istrijská 20, 841 07 Bratislava, SR

V lekárskej parazitológii, pravdepodobne viac než v iných lekárskejších vedách, je diagnóza ochorenia závislá od laboratórnych nálezov. Pre neprítomnosť klinických príznakov alebo ich nejednoznačnosti sa laboratórna diagnostika parazitóz človeka stáva v skutočnosti hlavnou a často jedinou diagnostickou metódou. Využíva pritom široký sortiment metód priameho i nepriameho dôkazu. Priamy mikroskopický dôkaz parazita, alebo jeho vývojových štádií, ostáva zlatým štandardom diagnostiky, hoci za posledné roky sme aj v tejto oblasti zaznamenali výrazné zmeny. Stále širšieho uplatnenia sa dostáva metódam molekulového dôkazu nukleovej kyseliny parazita polymerázovou reťazovou reakciou (PCR), narastá sortiment metód na dôkaz rôzne druhové spektrum antigénov črevných parazitov. V prvej časti referátu prezentujeme skúsenosti s diagnostikou *Giardia lamblia* v stolici pomocou antigénu technikou ELISA i imunochromatografickými testami a predkladáme výsledky porovnania detekcie lamblí metódami na dôkaz antigénu so štandardnými metódami, t. j. mikroskopickým dôkazom cýst po koncentrácii sedimentačnou metódou (MIF), flotačnou metódou (Faust), i mikroskopickým vyšetrením duodenálnej šťavy. Metóda dôkazu koproantigénu sa ukazuje spoľahlivou, ľahko vykonateľnou a časovo nenáročnou metódou. Výhodou sa ukazuje efektívna detekcia prítomnosti infekcie aj v prípadoch, keď štandardné metódy pre negatívne fázy vylučovania parazita vykazujú negatívne výsledky. Odpadá teda nutnosť opakovaného vyšetrenia stolice, čím sa eliminuje aj finančná náročnosť vyšetrenia.

Metódy nepriameho dôkazu uplatňované v diagnostike tkanivových parazitóz, predstavujú taktiež množstvo techník. Okrem klasických metód na stanovenie celkových protilátok (KFR, hemaglutinačné testy, imunofluorescenčné metódy) jednoznačne dominujú metódy imunoenzýmového dôkazu protilátok v rôznych modifikáciách. Využitie nachádzajú metódy imunoblotu (toxoplazmóza, echinokokóza, larválna toxokaróza a i.). Významný pokrok sa zaznamenáva v problematike laboratórnej diagnostiky očných infekcií a neuroinfekcií parazitárnej etiológie. Dôkaz autochtónnej produkcie protilátok metódami založenými na výpočte a porovnaní koncentrácií protilátok z očnej tekutiny, resp. likvoru a séra sa ukázal kľúčovou metódou voľby diagnózy oboch druhov orgánových ochorení. Za posledné roky sme diagnostikovali aplikáciu týchto metód po našej modifikácii vyše 20 prípadov očnej toxokarózy, všetko s vážnymi následkami a dva prípady neurotoxoplazmózy.

V poslednej dobe sa objavili na trhu komerčné súpravy na nepriamy dôkaz luminálnych parazitov ako napr. *Ascaris lumbricoides*. Využitie dôkazu sérových protilátok v diagnostike ochorení spôsobených týmto parazitom ako alternatívnej metódy ostáva stále problematické. Vyplýva to z určitých špecifických rysov imunitných reakcií, taktiež potiažami pri výbere a príprave optimálneho antigénu, výskytom nešpecifických, skřížených reakcií, atď. Potvrdili to aj výsledky našej štúdie, v ktorej sme zistili iba 76,2% citlivosť a 73% špecifickosť testu na dôkaz špecifických protilátok IgG proti *Ascaris lumbricoides*. Prínosom však môže byť využitie testu pri diagnostike larválnej migračnej fázy infekcie.

V poslednej časti príspevku sa autori venujú systému a kontrole kvality v diagnostike parazitárnych ochorení, ktorých zavedenie sa stáva, resp. by sa malo

stať, neodkladnou súčasťou vyšetrovacej činnosti všetkých laboratórií. Pod pojmom „kontrola kvality“ sa rozumie systém opatrení s cieľom udržania spoľahlivosti metódy a odkrytia a vyhodnotenia systematických, náhodných i hrubých chýb laboratórnych meraní a to prevažne za použitia kontrolných materiálov. Prakticky ide o dlhodobé sledovanie presnosti a správnosti metódy. Aplikácia systému kvality podľa medzinárodných noriem STN EN ISO 9001 a STN EN ISO/IEC 17025 nachádza v EÚ stále širšie pole pôsobnosti a v poslednom období sa intenzívne presadzuje aj v oblasti zdravotníctva. Autori predkladajú všeobecné postupy pri internej i externej kontrole kvality a validácii metód v parazitologických skúškach.

Nový pohľad na fylogenetické vzťahy pásomníc radu Caryophyllidea (Eucestoda) odvodené z morfológických znakov

M. Oros^{1,2}, V. Hanzelová¹, T. Scholz², J. S. Mackiewicz³

¹ Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovensko

² Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

³ Department of Biological Sciences, State University of New York at Albany, Albany, New York 12222, USA

Pásomnice (Cestoda) sú významnou skupinou parazitických organizmov. Doteraz bolo opísaných viac ako 5000 druhov pásomníc. Caryophyllidea sa považujú za najprimitívnejších zástupcov skupiny vyšších pásomníc (Eucestoda) a majú pravdepodobne kľúčovú pozíciu v evolúcii týchto parazitických organizmov. Parazitujú u sladkovodných karpovitých a sumcovitých rýb vyskytujúcich sa vo všetkých zoogeografických oblastiach s výnimkou južnej Ameriky. Okrem znakov typických pre pásomnice (endoparazitický spôsob života, prítomnosť mikrotrichov na tegumente, šesťháčiková onkosféra), majú Caryophyllidea viaceré špecifické znaky, ktorými sa od ostatných pásomníc významne líšia. Majú nečlánkované telo s jediným komplexom pohlavných orgánov, často vytvárajú triploidné formy a v ich vývinovom cykle, ktorý môže byť aj monoxénny, sú medzihostiteľmi máloštetinavce (Oligochaeta). Napriek výnimočnosti fenotypických a biologických znakov sú Caryophyllidea jednou z najmenej preskúmaných skupín.

Prvýkrát boli preskúmané fylogenetické vzťahy radu Caryophyllidea na úrovni vyšších taxónov (čeladí a rodov) metódami komparatívnej morfológie. Výsledky fylogenetického analýzy odvodené z 30 morfológických znakov zodpovedajú iba čiastočne existujúcemu členeniu tohto radu na 4 čelade (Balanotaeniidae, Lytocestidae, Caryophyllaeidae, Capingentidae) založenému na vzájomnej pozícii vnútornej pozdĺžnej svaloviny a pohlavných orgánov ako ju navrhol Mackiewicz (1994). S doterajšou klasifikáciou radu dobre koreluje čelad' Balanotaeniidae, s bazálnou pozíciou vo fylogenetickom strome, ako aj najpočetnejšia čelad' Caryophyllaeidae, ktorej prevažná väčšina rodov vytvára monofyletickú skupinu. Naopak, čelade Capingentidae a Lytocestidae sú parafyletické a ich zástupcovia sú rozptýlení do viacerých fylogeneticky nepríbuzných vetiev. Z evolučného hľadiska je vo fylogenetickom strome zaujímavá pozícia rodu *Archigetes*. Tento rod má špecifický, u pásomníc neobvyklý, priamy (monoxénny) vývinový cyklus. Takýto spôsob vývinu pásomníc bol doteraz všeobecne považovaný za primitívny (pleziomorfný) evolučný znak. Odvodená pozícia *Archigetes* vo fylogenetickom strome však naznačuje, že priamy typ vývinu u týchto pásomníc je pravdepodobne sekundárne odvodený, ako to naznačili aj niektoré ďalšie štúdie založené na analýzach DNA. Získané výsledky významným spôsobom menia doterajší pohľad na systematickú klasifikáciu a evolúciu pásomníc radu Caryophyllidea.

Štúdium bolo financované Grantovou agentúrou Ministerstva školstva SR a SAV VEGA (projekt č. 2/7192/27), Agentúrou APVV projekt č. APVV-51-062205 a Grantovou agentúrou ČR (projekt č. 524/08/0885).

Imunitní odpověď vůči kokcidióze u sajících králíčat

M. Pakandl¹, L. Hlásková¹, J. Salát¹, M. Poplštein², T. Vodička³, V. Chromá³

¹ Biologické centrum AV ČR, v. v. i., Parazitologický ústav, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

² BIOPHARM, Výzkumný ústav biofarmacie a veterinárních léčiv, a. s., Pohorlí-Chotouň, Jílové u Prahy

³ Přírodovědecká fakulta Jihočeské university, České Budějovice

Imunitní odpověď vůči kokcidióze byla studována u sajících králíčat inokulovaných v 14, 16, 19, 22, 25, 29 a 34 dnech stáří (DS) dávkou 2000 oocyst virulentního kmene buď *Eimeria intestinalis* nebo *E. flavescens*. Na základě předchozích výsledků byl interval 14 dní po infekci vyhodnocen jako nejvhodnější pro sledování imunitní odpovědi. Pro každý DS při inokulaci a každou kokcidiu byla imunitní reakce sledována u 4 zvířat. Další neinfikovaná skupina byla kontrolní a zvířata byla utrácena ve stejný DS jako inokulovaná. Byly sledovány následující parametry: protilátková odpověď, hmotnost sleziny a mesenterických lymfatických uzlin (MLN), proliferace lymfocytů z MLN po stimulaci rozpustným parazitárním antigenem a zastoupení T lymfocytů s povrchovými znaky CD4 a CD8 v MLN a mezi intraepiteliálními lymfocyty (IEL).

Hladina sérových imunoglobulinů G, M a A sledovaná metodou ELISA se nelišila mezi kontrolními a infikovanými králíky. Naopak parametry související s buněčnou imunitou, která je při infekci kokcidiemi rozhodující, prokázaly, že imunitní odpověď je vyvolána již u mláďat s ne zcela vyzrálým imunitním systémem. Hmotnost MLN, nikoliv však sleziny, byla vyšší oproti kontrole u zvířat infikovaných v 25 DS a později. Lymfocyty reagovaly proliferací na přítomnost specifického antigenu již od 19 DS. Procentuální zastoupení CD4+ ani CD8+ T lymfocytů v MLN nebylo zpravidla významně zvýšeno ve srovnání s kontrolní skupinou. U všech těchto parametrů nebyl shledán výrazný rozdíl mezi zvířaty inokulovanými *E. intestinalis* a *E. flavescens*.

Změny v zastoupení CD4+ a CD8+ T lymfocytů v IEL v specifickém místě vývoje parazita (ileum u *E. intestinalis*, slepé střevo u *E. flavescens*) však byly po infekci různými kokcidiemi odlišné. Po infekci slabě imunogenní druhem *E. flavescens* byly hodnoty shodné jako u kontrolních zvířat, u králíčat inokulovaných vysoce imunogenní *E. intestinalis* bylo zastoupení CD4+ a CD8+ T lymfocytů signifikantně vyšší od 22 resp. 25 DS.

Tyto výsledky ukazují význam lokální imunitní reakce vůči infekci kokcidiemi u králíků. Protože již od zhruba 25 DS byla zaznamenána výrazná imunitní reakce, lze předpokládat, že zvířata by mohla být vakcinována vůči kokcidióze již v tomto stáří. T T

Asanácia exkrementov psov odpraškami z výroby vápna

I. Papajová¹, P. Juriš¹, H. Šefčíková¹, N. Sasáková²

¹Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

²Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, SR

Exkrementy psov možno považovať za druh komunálneho odpadu, pre ktorý nie sú z hľadiska ochrany zdravia určené osobitné požiadavky pre zhromažďovanie a manipuláciu s ním. Veľký význam má preto neškodná asanácia tohoto odpadu.

V laboratórnych podmienkach sa testoval vplyv odpraškov z výroby vápna v dávkach 20 g.kg⁻¹ a 70 g.kg⁻¹ substrátu na fyzikálno-chemické vlastnosti exkrementov psov zmiešaných so senom v pomere 1:5. Zároveň sa sledoval vplyv dlhodobého aeróbného uskladnenia (73 dní) exkrementov psov s a bez prídavku odpraškov na prežívanie modelových vajčiek *Ascaris suum*, pretože v exkrementoch psov nebolo dostatočné množstvo vajčiek *Toxocara canis*.

Vplyvom zmien fyzikálno-chemických vlastností dlhodobou uskladnených exkrementov psov bez prídavku odpraškov (predovšetkým zníženie hodnoty pH z 9,08±0,01 na 8,51±0,03, koncentrácie NH₄⁺ z 219,07±55,70 kg⁻¹suš. na 28,09±3,26 kg⁻¹suš. a koncentrácie N_t zo 40 758,43 ± 1416,02 kg⁻¹suš., zvýšenie obsahu sušiny 35,66±1,83% na 86,31±0,23% a pomeru C:N z 11,15:1 na 46,33:1) bolo po 73 dňoch devitalizovaných 87,23 ± 3,21% vajčiek.

Prídavok odpraškov k exkrementom výraznejšie ovplyvnil ich vlastnosti. Už 24 hodín po aplikácii odpraškov v dávke 20 g.kg⁻¹ bola hodnota pH 11,21±0,02 a v dávke 70 g.kg⁻¹ 12,58±0,04. V týchto vzorkách bol v priebehu uskladnenia zistený nižší obsah NH₄⁺ a N_t než vo vzorkách bez prídavku odpraškov. Pomer C:N na záver uskladnenia bol v substráte s prídavkom odpraškov v dávke 20 g.kg⁻¹ 22,56:1 a pri dávke 70 g.kg⁻¹ 24,43:1.

Vzhľadom na to, že k úplnej devitalizácii vajčiek *A. suum* v exkrementoch psov s prídavkom odpraškov došlo do 8 (dávka 70 g.kg⁻¹) a do 21 dní (dávka 20 g.kg⁻¹) od ich aplikácie, môžeme konštatovať, že proces asanácie bol z parazitologického hľadiska dostatočný. K asanácií prispelo aj to, že po pridaní odpraškov došlo k vysušovaniu povrchu fekálneho materiálu.

Okrem kvalitného prachového vápna možno na asanáciu exkrementov zvierat použiť aj odprašky z jeho výroby, ktoré sú zachytené na elektrostatických odlučovačoch. Oba typy vápna sú prírodné materiály, ktoré nezvyšujú nutričnú hodnotu pôdy, nezanechávajú v nej reziduá a nepôsobia fyto toxicky na pôdu a vegetáciu.

Práca bola financovaná grantovým projektom VEGA č. 2/7190/28.

Expresia génov pre p36 v slinných žľazách kliešťov *Amblyomma variegatum* a *Dermacentor reticulatus*

K. Peterková¹, J. Koči¹, L. Roller², M. Kazimírová², M. Slovák², V. Hajnická¹

¹Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 842 45 Bratislava, SR

²Ústav zoológie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava, SR

V posledných rokoch zaznamenávame explóziu informácií o sekrečných produktoch slinných žliaz kliešťov a o ich schopnostiach modulovať zápalové, imunitné a hemostatické reakcie hostiteľov. Hoci je zaznamenaný určitý pokrok v identifikácii týchto látok, stále je o nich málo podrobnejších informácií. Jedna z takýchto látok, ktorá bola nielen objavená ale aj charakterizovaná, je imunomodulačný proteín produkovaný slinnými žľazami kliešťov *Dermacentor andersoni*, pomenovaný Da-p36.

V cDNA zo slinných žliaz kliešťov *A. variegatum* a *D. reticulatus* sme pomocou RACE s degenerovanými primermi našli sekvencie kódujúce dva proteíny. Novoobjavené proteíny sme porovnali s proteínmi dostupnými v rôznych databázach a na základe podobnosti s proteínom Da-p36 sme ich nazvali Av-p36 a Dr-p36 (Identita Av-p36 : Da-p36 = 34%; Dr-p36 : Da-p36 = 43%; Av-p36 : Dr-p36 = 35%).

V našej práci sme sa zamerali na štúdium expresie génov pre Av-p36 a Dr-p36 v kliešťoch oboch pohlaví počas cicania na laboratórnych králikoch. Použili sme metódu relatívnej kvantifikácie pomocou *real-time* PCR a *in-situ* hybridizáciu. Z výsledkov vyplýva, že Dr-p36 sa u nenacicaných kliešťov *D. reticulatus* neexprimuje. Expresia začína prudko stúpať druhým dňom cicania a maximum dosahuje počas štvrtého dňa. U samičiek na šiesty až ôsmy deň klesá, zatiaľ čo u plne nacicanych sa opäť dokazuje vysoká hladina. Na rozdiel od samičiek sa u samčekov hladina expresie po štvrtom dni už nemení.

U kliešťov *A. variegatum* sme zaznamenali nízku úroveň expresie Av-p36 už u nenacicaných jedincov oboch pohlaví. U samčekov prudko stúpa do štvrtého dňa cicania, po ktorom má mierne klesajúcu tendenciu. U samičiek expresia Av-p36 narastá takmer počas celého cicania, pričom klesá až u plne nacicanych samičiek.

Tieto výsledky naznačujú, že rozdiely v expresii Av-p36 u *A. variegatum* a Dr-p36 u *D. reticulatus*, najmä u nenacicaných kliešťov môžu súvisieť napr. s etológiou týchto dvoch druhov kliešťov.

Táto práca bola finančne podporovaná projektmi: APVV-51-004505, VEGA 2/7157/27.

Epidemiologicky významné druhy kliešťov (Ixodidae) v strednej Európe v podmienkach klimatických zmien

B. Peťko¹, M. Derdáková¹, D. Lenčáková¹, E. Majláthová¹, E. Bullová, B. Víchová¹, M. Nováková¹, G. Hrkľová², M. Lukáč³

¹ Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika

² Katolícka univerzita v Ružomberku, Pedagogická fakulta, Katedra biológie a ekológie, Námestie A. Hlinku 56/1, 034 01 Ružomberok, Slovenská republika

³ Výskumný ústav vysokohorskej biológie Žilinskej univerzity, 059 56 Tatranská Javorina, Slovenská republika

V posledných desaťročiach dochádza v dôsledku klimatických zmien k šíreniu a/alebo novo sa objavovaniu závažných infekčných chorôb rôznej etiológie. Zvlášť významný je vplyv na infekčné a parazitárne choroby prenášané kliešťami, ktoré vo vonkajšom prostredí prežívajú takmer celý svoj život. Zmeny klímy ovplyvňujú súčasne aj ich hostiteľov. Počet týchto nákaz narastá aj vďaka pokrokom v diagnostike.

Na území Slovenska je známych asi 20 druhov ixodových kliešťov, z ktorých je najmenej 7 epidemiologicky významných priamo pre človeka alebo domáce zvieratá. Je to kliešť obyčajný (*Ixodes ricinus*), kliešť lužný (*Haemaphysalis concinna*), kliešť stepný (*Haemaphysalis punctata*), kliešť lesostepný (*Haemaphysalis inermis*), pijak lužný (*Dermacentor reticulatus*) a pijak stepný (*Dermacentor marginatus*).

Uvedené kliešte sa vyznačujú externým typom parazitizmu, t. j. svojho hostiteľa aktívne vyhľadávajú na vegetácii. Okrem nich sú zastúpené aj hniezdne alebo hniezdno-norové druhy z rodu *Ixodes*. Z nich sa človek alebo domové zvieratá stretávajú s kliešťom ježím *Ixodes hexagonus*. Príležitostne je k nám importovaný kliešť *Rhipicephalus sanguineus* z oblastí stredomoria, no (zatiaľ) neschopný prežívania v našich klimatických podmienkach. Ďalšie druhy sú možné ako importované.

Zatiaľ sa nezaznamenali nové druhy kliešťov na Slovensku, ale očakávajú sa zmeny v ich geografickom rozšírení, sezónnosti, zmene ich parazito-hostiteľských vzťahov a najmä v epidemiologickom význame. Kliešť obyčajný sa v karpatskej oblasti Slovenska šíri do vyšších nadmorských výšok, kde narastá počet prípadov kliešťovej encefalitídy a lymskej boreliózy. Z pôvodcov lymskej boreliózy v kliešťoch z karpatskej oblasti Slovenska striedavo dominujú *Borrelia garinii* a *B. burgdorferi* sensu stricto, lokálne v krasových oblastiach a na holiach *B. lusitanae* s novým opisom jeho kolobehu v prírode. V nížinnej oblasti prevláda *B. afzelii*. Zaregistrovali sme prvé ochorenia psov na anaplazmózu s potvrdením pôvodcu *Anaplasma phagocytophilum* s klinickým obrazom a pozitívnou antibiotickou odozvou.

Pijak lužný, pôvodne rozšírený pozdĺž Dunaja a Bodrogu sa šíri po Východoslovenskej nížine na sever a už je bežným aj na území väčších miest ako Michalovce, Trebišov a v r. 2006 sme ho zistili aj na území Košíc. V posledných rokoch sa vplyvom teplých zím skracuje jeho obdobie zimnej diapauzy a v lužných lesoch v okolí Dunaja bol zaznamenaný jeho početný výskyt už v januári. Jeho šírenie je sprevádzané endemickým výskytom babeziózy psov. Pôvodca krvomôčenia psov *Babesia canis canis* bol zistený až u 36% týchto kliešťov.

V Slovenskom krase je už dlho známy pijak stepný, ktorý je sprevádzaný kliešťom stepným i lesostepným. Pijaka lužného zase doprevádza kliešť lužný. Ich epidemiologický význam je stále otvorený a očakávajú sa nové nimi prenášané patogény na území Slovenska. Otvorená je otázka aj v súvislosti s vysychaním južných oblastí a zvyšovaním vlhkosti v horských oblastiach Slovenska.

Práca bola finančne podporená grantom APVV LPP-0341-06 a grantom VEGA 2/6163/26.

Nástroje ptačích schistosom pro identifikaci a penetraci hostitele: ultrastrukturální studie

M. Podhorský¹, P. Horák²

¹ BIO-PLUS, spol. s r. o., Lazaretní 6, 615 00 Brno

² Katedra parazitologie, Přírodovědecká fakulta UK, Viničná 7, 128 44 Praha

Larvální stadia ptačích schistosom (cerkárie) infikují ptačí (specifické) i savčí (nespecifické) hostitele. Mohou napadnout i člověka a způsobit tzv. cercáriovou dermatitidu.

Úkolem cercárií v životním cyklu schistosom je aktivní vyhledávání definitivních teplokrevných hostitelů a penetrace jejich kůže. K tomu jim slouží řada specializovaných orgánů, jejichž ultrastrukturu jsme sledovali v transmisním i skenovacím elektronovém mikroskopu.

Vedle řady známých struktur, jako jsou mohutné podélné i okružní svaly vybavené velkými tubulárními mitochondriemi nebo poměrně složité fotoreceptory označované jako pigmentované oční skvrny, jsme se zaměřili hlavně na detailní popis morfologických typů senzorických papil. Tyto papily plní funkci mechano-, chemo- a termoreceptorů a slouží k rozpoznání signálů ukazujících na přítomnost hostitele. Popsali jsme celkem 10 morfologických typů těchto papil, počínaje nejjednoduššími „pit like“ papilami a konče párem multiciliárních papil na apikálním konci cercárie. Přichycení cercárií na kůži hostitele umožňuje masivní břišní přísavka, na jejímž vrcholu jsme pozorovali sekreční produkty zatím neznámých žláz. K samotné penetraci kůže hostitele přispívají látky obsažené v penetračních žlázách, které vyplňují většinu těla cercárie a jejichž vývody ústí na apikálním konci těla cercárie.

Ultrastrukturální analýza jednotlivých orgánů cercárií ptačích schistosom může pomoci při studiu mechanismů identifikace a penetrace hostitele, a také při druhové determinaci cercárií ptačích schistosom.

Akutní toxoplasmóza u pacientů s neobvyklou dynamikou antiToxo protilátek

M. Podhorský¹, J. Kleinerová²

¹ BIO-PLUS, spol. s r. o., Lazaretní 6, Brno

² Středomoravská nemocniční a. s., Nemocnice Prostějov, Infekční ambulance

Toxoplasma gondii je střevní parazit koček, přenosný na jiné savce včetně člověka. Závažný problém představuje u těhotných žen s podezřením na primoinfekci v graviditě, u novorozenců postižených kongenitální nákazou, u pacientů s oční toxoplasmózou nebo u osob s poruchami imunity. Ve většině případů však toxoplasmóza probíhá jako přechodné horečnaté onemocnění nebo v subklinické formě.

Během roku 2007 bylo v parazitologické laboratoři BIO-PLUS vyšetřeno přibližně 2 600 pacientů na toxoplasmózu. Ve 32 případech byla diagnostikována akutní toxoplasmóza (z toho u jedné pacientky toxoplasmóza v graviditě). Obvykle jsou v akutní fázi onemocnění toxoplasmózou zastoupeny třídy protilátek: IgE, IgA, IgM a IgG a klesají/mizí v průběhu několika měsíců až let v uvedeném pořadí. Vedle zmíněných případů akutní toxoplasmózy jsme zaznamenali několik výsledků, které neodpovídaly tomuto schématu, a dle kterých tedy nebylo zřejmé, o jakou fázi onemocnění se jedná. Tito pacienti byli vyšetřováni pro suspektní toxoplasmózu a u většiny z nich byla prováděna opakovaná kontrolní vyšetření, takže bylo možno sledovat trendy ve vývoji kvantity jednotlivých tříd antiToxo protilátek.

Laboratorní vyšetřovací metodou byly: komplement fixační reakce (KFR), detekce protilátek IgG, IgM, IgA, IgE metodou ELISA, stanovení avidity protilátek IgG a v některých případech i detekce protilátek IgG, IgM a IgA metodou westernblot.

Společným znakem pro výsledky vyšetření jednotlivých pacientů byla absence některé třídy protilátek. Asi nejméně vzácná je nepřítomnost IgA (které se u určitého procenta populace vůbec nevytvářejí), nebo IgG (které mohou chybět během počínající akutní fáze toxoplasmózy). Jako nespecifickou reakci lze hodnotit pozitivitu pouze IgM, avšak tato interpretace může být i velmi zavádějící, jak dokazují výsledky jednoho z vyšetřovaných pacientů. Podobně rozporuplné mohou být i interpretace výsledků u pacientů s absencí IgM protilátek.

Z uvedených příkladů vyplývá, že výsledky serologických vyšetření je třeba interpretovat v souvislosti s klinickým stavem pacienta, a že ne vždy lze spoléhat na obecná schémata protilátkové odpovědi.

Pár střípků z praxe lékařského parazitologa

J. Pomykal

Oblastní nemocnice Kolín, a. s., oddělení lékařské mikrobiologie, Žižkova 146, 280 00 Kolín

Několik méně obvyklých pozorování z dlouholeté praxe terénního pracoviště lékařské parazitologie:

Zmíněny některé aspekty klinicky manifestní enterobiózy (*Enterobius vermicularis*) u dospělých pacientů.

Stručně prezentován neobvyklý případ mechanické obstrukce tenkého střeva dítěte škrkavkami (*Ascaris lumbricoides*).

Poukázáno na svízelné okolnosti provázející případy taktilní halucinózy.

Stručně popsán případ masivní phthiriázy (*Phthirus pubis*).

Prezentováno několik pozorování parazitace lidského hostitele primárně zvířecími ektoparazity (*Lipoptena cervi*, *Archaeopsylla erinacei*, *Ceratophyllus gallinae*, *Dermanyssus gallinae*).

Laboratorní diagnostika *Pneumocystis jiroveci*

I. Pyšová, E. Nohýnková

Oddělení tropické medicíny, Fakultní nemocnice Na Bulovce, Studničkova 7, 128 00 Praha 2

Oportunní parazitická houba *Pneumocystis jiroveci* může u imunosuprimovaných osob vyvolat onemocnění zvané pneumocystová pneumonie (Pcp). Na konci 80. let, s nástupem epidemie HIV, bylo toto onemocnění častou příčinou smrti u infikovaných osob, avšak s rozvojem kombinované antiretrovirové terapie (HAART) v polovině 90. let počet osob se symptomatickou infekcí *P. jiroveci* významně klesl. Přesto může být Pcp stále závažnou komplikací základního onemocnění osob s deficitem imunity.

Laboratorní diagnostika *P. jiroveci* je v naší laboratoři založena na kombinaci dvou metod přímého průkazu původce: mikroskopie (průkaz cyst a/nebo trofozoitů na barveném preparátu) a PCR (průkaz specifické DNA). Pravděpodobnost mikroskopického záchytu pneumocyst závisí na typu vyšetřovaného materiálu. Diagnostická výtěžnost materiálu je dána jednak způsobem odběru, jednak možnostmi odběru závislými na stavu pacienta. Téměř 100% úspěšnost mikroskopického záchytu pneumocyst je v materiálu ze správně provedené bronchoalveolární laváže (BAL). Protože jde o zákrok invazní, je u mnohých pacientů neproveditelný. U ostatního materiálu (sputum, aspirát, oral wash) je mikroskopický záchyt pneumocyst podstatně nižší a diagnostika se opírá především o PCR.

V období leden 2003 – únor 2008 jsme vyšetřili paralelně mikroskopicky (barvení Gram-Weigert pro průkaz cyst a Giemsa-Romanowski pro průkaz trofozoitů) a PCR 1084 vzorků od 808 pacientů s klinickým obrazem pneumonie. Vyšetřovaným materiálem byla bronchoalveolární laváž (660), indukované či neindukované sputum (337), aspirát (5), „oral wash“ (výplach dutiny ústní fyziologickým roztokem) (6), histologické řezy plic (1), jiný materiál (hrudní výpotek, hrudní punktát) (29), nesrážlivá žilní krev (17) a buffy coat (1). Materiál určený k izolaci DNA byl čerstvý nebo skladován ve 4°C. DNA byla izolována komerčním kitem QIAamp DNA MiniKit (Qiagen). K amplifikaci byly používány primery detekující úsek genu pro mt LSU rRNA o velikosti 346 bp. Z vyšetřovaných osob bylo 45 pozitivních (5,6%). Skupinu pacientů s Pcp tvořilo 13 osob onkologicky nemocných, 11 s nově zjištěnou HIV nákazou, 6 s autoimunitním onemocněním, 3 s ledvinovým postižením, 2 po orgánové transplantaci, 1 s těžkou hepatitidou a 1 s Cushingovým syndromem. U zbývajících 8 pacientů nebyla udána žádná primární diagnóza. V 69 vzorcích (BAL, sputum, aspirát, histologické řezy) byla amplifikací prokázána přítomnost specifické DNA *P. jiroveci*, z toho 46 vzorků bylo pozitivních i mikroskopicky. U sedmi pacientů s prokázanou Pcp byly metodou PCR také vyšetřeny vzorky nesrážlivé krve odebrané do citrátu nebo do EDTA. Výsledek vyšetření krve byl ve všech případech negativní, a to i u pacientů s velmi silnou nákazou.

Naše výsledky potvrzují, že nejzáchrannějším pro mikroskopický záchyt pneumocyst je materiál získaný při bronchoalveolární laváži, zatímco pro průkaz DNA lze vyšetřit jakýkoliv materiál z dolních cest dýchacích. Materiálem zcela nevhodným k průkazu Pcp je však nesrážlivá krev. Ve srovnání s mikroskopii je PCR mnohem citlivější metoda, pomocí které lze detekovat specifickou DNA i ve vzorcích od pacientů, u nichž již byla empiricky zahájena terapie, což mělo za následek negativní výsledek mikroskopického vyšetření.

Nízke infekčné dávky *Trichinella* spp. u myší II.: Dlhodobé sledovanie humorálnej imunitnej odpovede

K. Reiterová, D. Antolová, Z. Hurníková

Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika

Trichinelóza je závažná helmintozoonóza, s charakterom prírodnej ohniskovosti. Vyskytuje sa prakticky na celom svete, čo je podmienené nízkou hosťiteľskou špecificitou a širokým okruhom hosťiteľov. Na území Slovenska cirkulujú v prírode druhy *Trichinella britovi*, *T. spiralis* a v roku 2004 bola zistená aj *T. pseudospiralis*. Vo voľnej prírode, na rozdiel od experimentálnych podmienok, sa zvieratá môžu častejšie nakaziť malým počtom svalových lariet trichinel. V predchádzajúcich experimentoch sme zistili, že nízka dávka lariet druhu *T. spiralis* (5 L1) vyvolala u myší infekciu a indukovala tvorbu detegovateľnej hladiny špecifických protilátok.

Cieľom našej práce bolo sa zamerať na ďalšie druhy trichinel, ktoré cirkulujú prevažne v sylvatickom cykle a z epidemiologického aspektu sú zaujímavé pre naše územie. Prírodnú infekciu sme simulovali nízkymi dávkami 5 svalových lariet (L1) *T. britovi* a *T. pseudospiralis* perorálnou infekciou myší kmeňa Balb/c. Dynamiku tvorby cirkulujúcich špecifických protilátok sme sledovali pomocou nepriamej ELISA reakcie. Zistili sme že infekciu je schopná vyvolať nízka infekčná dávka lariet obidvoch druhov zahrnutých do experimentu. Úspešnosť infekcie bola kalkulovaná na základe prítomnosti črevných, resp. svalových lariet z celkového počtu usmrtených experimentálnych zvierat, pričom pri infekcii druhom *T. britovi* predstavovala 90,6% a pri *T. pseudospiralis* 92%. Nenakazené jedince neboli následne zaradené do sledovania imunitnej odpovede. Špecifické protilátky boli v sére zvierat detegované s použitím troch rôznych konjugátov. Hladina IgM protilátok dosiahla pozitívne hodnoty na 40. deň po infekcii *T. britovi*. U protilátok triedy IgG a pri použití polyvalentného imunoglobulínu (IgPx) sme pozitívne hodnoty zaznamenali na 50. dpi. Sérokonverzia u myší infikovaných *T. pseudospiralis* bola výrazne oneskorená v porovnaní s infekciou myší infikovaných *T. britovi*. Protilátky typu IgM sme zaznamenali až na 150. dpi. Pri IgG a IgPx bola sérokonverzia zaznamenaná až na 180. deň po nakazení. Špecifické protilátky pretrvávali na relatívne vysokej hladine až do konca experimentu.

Záverom môžeme zhodnotiť, že nízke infekčné dávky epidemiologicky významných druhov, *T. britovi* a *T. pseudospiralis*, vyvolávajú u myší infekciu a imunitnú odpoveď detegovateľnú sérologicky. Hoci doba sérokonverzie je dlhá, môže byť táto metodika vhodná pri epizootologických prieskumoch u prirodzene nakazených drobných zemných hlodavcov, významných rezervoárov a šíriteľov tejto zoonózy, nakoľko špecifické protilátky pretrvávajú dlhú dobu.

Práca bola finančne podporovaná grantom APVV – 51 – 027605 a čiastočne podporovaná Slovenskou Grantovou Agentúrou VEGA, Grant č. 2/7186/27

Srovnání fauny komárů Polabí, dolního Pomoraví/Podyjí a Českomoravské vysočiny

F. Rettich¹, O. Šebesta², K. Imrichová¹

¹ Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

² KHS Jihomoravského kraje, Jeřábkova 4, 602 00 Brno

Komáři, naši nejhojnější ektoparazité, se pravidelně objevují v nížinách v inundačních zónách velkých řek, hlavně v okolí Moravy od Litvle po soutok s Dyjí, na dolním toku Dyje a na středním toku Labe. Na jaře po vzestupu hladiny spodní vody a po povodních se v líhništích často vyvinou velká množství larev komárů a po čase se bodající komáři stanou velkou trýzní pro místní obyvatelstvo i zvířata.

V letech 1997-2007 byl monitorován výskyt komárů ve středním Polabí a v dolním Pomoraví/Podyjí po 3 katastrofálních povodních. Výskyt komárů byl sledován i v letech kdy větší povodně nenastaly. Byl sledován i výskyt komárů na Humpolecku což umožnilo srovnání fauny "nížinných" komárů (160-200 m n. m.) s komáry Vysočiny (400-800 m n. m.).

Ve sledovaném období bylo v Polabí zjištěno 22 druhů *Anopheles maculipennis* (*messeae*), *An. claviger*, *An. plumbeus*, *Ochlerotatus cantans*, *Oc. annulipes*, *Oc. excrucians*, *Oc. flavescens*, *Oc. cataphylla*, *Oc. leucomelas*, *Oc. communis*, *Oc. punctor*, *Oc. sticticus*, *Oc. refiki*, *Aedes vexans*, *Ae. cinereus*, *Ae. geminus*, *Ae. geniculatus*, *Culex pipiens* (*Cx. torrentium?*), *Cx. territans*, *Culiseta annulata*, *Cs. morsitans* a *Coquillettidia richiardi*. Chyběly 3 druhy zjištěné zde dříve - *Oc. caspius*, *Cs. alaskaensis* a *Cs. subochrea*.

V dolním Pomoraví/Podyjí bylo zjištěno 23 druhů (k druhům zjištěným v Polabí přibýly ještě *Oc. intrudens*, *Oc. caspius*, *Ae. rossicus* a *Cx. modestus*, naopak zde nebyly zachyceny druhy *Oc. geniculatus*, *Oc. punctor* a *Cq. richiardi*.

Na Vysočině bylo nalezeno celkem 17 druhů komárů *An. maculipennis* (*messeae*), *An. claviger*, *Oc. cantans*, *Oc. excrucians*, *Oc. cataphylla*, *Oc. punctor*, *Oc. communis*, *Oc. sticticus*, *Oc. pullatus*, *Ae. vexans*, *Ae. cinereus*, *Ae. geminus*, *Cx. pipiens*, *Cx. torrentium*, *Cx. modestus*, *Cs. annulata* a *Cs. glaphyoptera*.

Po katastrofální červencové povodni v roce 1997 v dolním Pomoraví dominovaly larvy záplavových druhů *Ae. vexans* (54%) a *Oc. sticticus* (24%), časně jarní druh *Oc. cantans** byl zastoupen v 11%. Dostí hojně (6,7%) byly i larvy *Ae. cinereus* (*Ae. rossicus*). Druhové složení dospělců (samic) odpovídalo výskytu larev – *Ae. vexans* (50%) a *Oc. sticticus* (32%). Časně jarní druh *Oc. cantans* byl zastoupen jen v 2%.

Po další povodni v srpnu 2002 byl monitorován výskyt larev a následně i dospělců na katastrofálně postiženém Mělnicku. Z odchycených larev dominovaly larvy *Ae. vexans* (75%). *Oc. sticticus* byl v odchycených zastoupen jen 6,5%. Tomuto rozložení však neodpovídalo zastoupení bodajících samic - *Oc. sticticus* 51%, *Ae. vexans* 22%, *Ae. cinereus* 18%.

Po celorepublikové dubnové povodni v roce 2006 byl monitorován výskyt larev na Mělnicku, Poděbradsku, Břeclavsku a Zlínsku. V Polabí dominovaly larvy *Oc. cantans** (kolem 45%) a *Oc. cataphylla* (55%). V Pomoraví k těmto druhům přibýl *Oc. sticticus*.

V „nepovodňových“ letech 2005 a 2007 na jaře v Polabí (Mělnicko, Poděbradsko) dominovaly larvy *Oc. cantans** (až 95%), na Břeclavsku byly hojné i druhy *Oc. sticticus*, *Ae. vexans* a *Ae. cinereus* (celkem kolem 50%). V přednášce budou uvedeny i nálezy larev komárů časného jara 2008.

*spolu s *Oc. annulipes* (ve stadiu larev nelze tyto druhy bezpečně rozlišit).

Leishmanióza: imunologický pohled na vztah flebotomus-hostitel

I. Rohoušová

Katedra Parazitologie, Přírodovědecká fakulta UK, Viničná 7, 128 44 Praha 2, ČR

Leishmanióza je onemocnění tropů a subtropů, ale v importované formě se vyskytuje i v České republice. Onemocnění způsobují prvoci rodu *Leishmania* (*Kinetoplastida: Trypanosomatida*) přenášení flebotomy (*Diptera: Phlebotominae*), což je drobný krevsající hmyz z příbuzenstva komárů. Podobně jako u ostatních infekčních chorob, jejichž původcem je eukaryotický organismus, ani u leishmaniózy v současné době neexistuje preventivní očkování.

Jedním z důvodů je i aktivní role vektora při přenosu infekce. Sliny flebotoma, jejichž primární funkcí je inhibovat reakce vedoucí k srážení krve, mají vliv i na imunitní systém hostitele. Modifikují tak místo inokulace leishmanií ve prospěch leishmanií. Tento fenomén byl popsán jako tzv. „enhancing effect“ slin a v posledních letech je předmětem intenzivního výzkumu (shrnuje Rohoušová a Volf 2006, *Folia Parasitologica* 53: 161-171). Imunizací proti slinám vektora je možné u myší navodit ochranu proti infekci leishmaniemi, a proto je snaha o využití antigenů vektora ve vakcíně, která by zamezila přenosu leishmanií na hostitele, ať už u lidí nebo domácích psů. Přes značný počet publikací věnujících se vlivu slin flebotomů na rozvoj leishmaniové infekce, informace o samotném vztahu mezi hostitelem a flebotomem jsou stále sporadické.

Jedním z takovýchto bílých míst je rozdíl mezi naivním hostitelem a hostitelem, na kterém opakovaně sáí flebotomové. Zajímalo nás tedy, jak se liší imunitní odpověď hostitele proti slinám flebotomů u naivního a imunizovaného hostitele.

Myši byly rozděleny do dvou skupin – první skupina byla vystavena opakovanému poštipání flebotomy, celkem 5× v týdenním intervalu. Druhá skupina do styku s flebotomy nepřišla. Myšim byla následně odebrána krev a slezina. Ze séra jsme zjišťovali množství protilátek proti slinám flebotomů. Slezinné buňky jsme inkubovali s lyzátem slinných žláz flebotomů a zjišťovali míru proliferace (pomnožení buněk) a spektrum produkovaných cytokinů. Zjistili jsme, že u naivních myší dochází po inkubaci s lyzátem slinných žláz k inhibici proliferace, zatímco u imunizovaných myší se proliferace neliší od kontrolní skupiny. Toto však platí pouze pro lyzáty slinných žláz ze stejného druhu flebotoma, kterým byly myši imunizované. Pokud splenocyty z imunizovaných myší inkubujeme s lyzátem slinných žláz jiného druhu flebotoma, dochází k inhibici proliferace podobně jako u splenocytů z naivních myší.

Jedná se o zajímavý fenomén, který by mohl mít vliv i na vývoj případné vakcíny proti leishmanióze založené na slinách přenašeče. Ve studii pokračujeme a sledujeme i schopnost peritoneálních makrofágů produkovat oxid dusnatý v odpověď na lyzáty slinných žláz flebotomů. Dále, podobně jako u slezinných buněk, sledujeme i u makrofágů spektrum produkovaných cytokinů.

Daktylogyridi (Plathelminthes: Monogenea) parazitující na žábřách parrmice zlatopruhé (*Mulloidichthys vanicolensis*) z Nové Kaledonie

E. Řehulková¹, J. -L. Justine², M. Gelnar¹

¹ Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta MU, Kotlářská 2, 611 37 Brno, ČR

² Équipe Biogéographie Marine Tropicale, Unité Systématique, Adaptation, Évolution (CNRS, UPMC, MNHN, IRD), Institut de Recherche pour le Développement, BP A5, 98848 Nouméa Cedex, Nouvelle Calédonie

Jedním z široce rozšířených parmicovitých druhů ryb v tropických vodách Indopacifiku je parrmice zlatopruhá, *Mulloidichthys vanicolensis* (Valenciennes, 1831) (Perciformes: Mullidae). Přestože je tato ryba bohatě využívána v rybolovu, dosud nejsou známy žádné záznamy o jejích parazitech.

V roce 2007 byly na rybím trhu v Noumei zakoupeny tři exempláře tohoto druhu s masivní infekcí žaber zástupci čeledi Daktylogyridae (Monogenea). Podrobnější taxonomické vyšetření těchto daktylogyridů odhalilo přítomnost šesti nových druhů nesoucích následující společné znaky: silný tegument s transverzálními hřebeny v oblasti vaginy, gonády v tandemové pozici, chámovod obtočený kolem levé střešní větve, prostatický rezervoár složený ze dvou částí, sklerotizovaný kopulační orgán bez přídatného aparátu, dextrální nesklerotizovaná vagina, dorzální destička formovaná jako 2 bilaterální rudimenty a 7 párů marginálních háčků s larválním typem rukojeti.

Vnitřní organizace těla těchto daktylogyridů odpovídá organizaci zástupců rodu *Haliotrema* Johnston et Tiegs, 1922. Tento rod je však v současné době mnoha autory považován za polyfyletický taxon a některé jeho druhy jsou převáděny do nově navržených rodů jako je *Aliatrema* Plaisance & Kritsky, 2004, *Euryhaliotrema* Kritsky & Boeger, 2002 a *Euryhaliotrematoides* Plaisance & Kritsky, 2004. Proto, přestože morfologie vnitřních orgánů těchto parazitů není mezi zástupci čeledi Daktylogyridae ojedinělá, přítomnost rudimentární destičky a dalších specifických znaků sklerotizovaných sktruktur bude podnětem pro navržení nového rodu v rámci čeledi Daktylogyridae.

Diagnosis of *Entamoeba histolytica* infections

S. Schmidt

Product Manager Infectious Serology, R-Biopharm AG, Landwehrstr. 54,
64293 Darmstadt, Germany

According to the WHO, approx. 500 million people are currently infected with the protozoa *Entamoeba* (E.) *histolytica*, predominantly in the world's tropical and subtropical regions (West Africa, Indian subcontinent, East Asia, Central America). In European countries, the parasite plays an important role as an imported cause of disease. Infections are to be found in tourists returning from endemic regions, immigrants, homosexual men and HIV-positive persons. An infection can cause intestinal (amoebic dysentery) and/or extraintestinal diseases (ALA = amoebic liver abscess).

Infections with E. *histolytica* are caused by contaminated water or contaminated food. After the cysts are ingested, the parasite assumes the vegetative form (trophozoite) in the small intestine. It is extremely invasive and efficiently destroys cells and cell formations. This invasive behaviour stimulates the immune system, so that specific antibodies are formed.

Laboratory diagnosis of intestinal amoebiasis is performed via direct detection of the pathogen in the stool, with microscopy as the conventional method. *Entamoeba dispar* makes microscopic diagnosis more difficult. E. *dispar* is a non-pathogenic type of amoeba which cannot be distinguished from E. *histolytica* under the microscope and, until a few years ago, was believed to be a non-pathogenic stage of E. *histolytica*. Modern ELISA for antigen detection have increased the sensitivity of stool diagnostics. However, the problem of cross-reactions with E. *dispar*. still remains. Clear differentiation in case of *histolytica/dispar*-positive stool findings is enabled by the detection of specific antibodies. In contrast to E. *dispar*, E. *histolytica* induces the formation of antibodies owing to its invasiveness. Furthermore, in cases of extraintestinal manifestations, antigen detection in the stool is not a suitable method, as amoeba are no longer verifiable in the stool by this point in time in most cases and antibody detection remains as the only pathogen-specific method.

A serological test has to ensure maximum sensitivity for the detection of antibodies in both clinical groups (intestinal and extraintestinal amoebiasis). The RIDASCREEN® E. *histolytica* IgG EIA (R-Biopharm AG, Germany) was tested in trials conducted at the Institute of Tropical Medicine in Berlin [3]. The study used sera obtained from patients with intestinal amoebiasis and amoebic liver abscess. In the group of ALA patients, the EIA proved 100% sensitive. In the other group, one serum was not detected. This resulted in sensitivity of 96.2% for patients with intestinal amoebiasis. To verify the specificity, the test examined both sera from blood donors from a non-endemic region (Germany) as well as sera from patients with other parasitic diseases. In the group of blood donors, specificity was 98.8%. Specificity in patients with other parasitic diseases was 88.5%.

Novinky v taxonomii a klasifikaci tasemnic (Cestoda)

T. Scholz

Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, v. v. i., Branišovská 31,
370 05 České Budějovice, Česká republika

Základem třídění živočichů je 10. vydání knižního díla švédského badatele Carla Linného (Linnaeus), které bylo vydáno v roce 1758. Jedním z mnoha druhů popsaných v tomto díle byla i tasemnice *Taenia saginata* cizopasící u člověka. Od dob vydání Linného díla *Systema Naturae* bylo popsáno několik tisíc druhů tasemnic a většina z nich na základě morfologických znaků, především stavby hlavičky (skolexu) a pohlavní soustavy. V současné době je nejvýznamnější identifikačním dílem kniha *Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates* (editoři Khalil, Bray a Jones) vydaná v roce 1994, která obsahuje klíče všech tasemnic až na úroveň jednotlivých rodů. V roce 2001 byla zahájena příprava celosvětové databáze s originálními popisy všech tasemnic (www.tapeworms.org) a k rozvoji moderní systematiky a taxonomie těchto helmintů také přispěla organizace specializovaných setkání odborníků – cestodologů (workshops on cestode systematics and phylogeny), jejíž tradice začala v roce 1993 v Ženevě. V roce 2005 se tato konference konala v Českých Budějovicích a v letošním roce organizuje již šesté setkání tým V. Hanzelové z Parazitologického ústavu SAV v Košicích.

Zásadním zlomem v systematice tasemnic bylo použití molekulárních dat, především sekvencí malé a velké podjednotky pro ribosomální RNA (18 a 28S rRNA nebo SSU a LSU). I přes velký pokrok v poznání evoluce tasemnic však ani molekulární data nedokázala odpovědět na některé z klíčových otázek, především určení sesterské skupiny tasemnic mezi zástupci neodermat (monogenea nebo motolice?) nebo identifikace bazální skupiny všech tzv. pravých tasemnic (Eucestoda). Molekulární fylogenetika významnou měrou přispěla i k některých větším změnám v klasifikaci vyšších skupin tasemnic, včetně zrušení řádu Pseudophyllidea, který je složen ze dvou nepřibuzných skupin, a návrh nových řádů Diphyllbothriidea s cizopasnými tetrapodními obratlovců, včetně člověka, a Bothriocephalidea, zahrnující hlavně tasemnice ryb. Na nižší taxonomické úrovni je třeba zmínit popis nových taxonů v rámci lékařsky velmi významného rodu *Echinococcus* a také ustanovení druhu *Taenia asiatica*, jenž je morfologicky i geneticky velmi podobný druhu *T. saginata*, ale jeho mezipřevzatel jsou prasata.

Hlavním úkolem moderní systematiky i fylogenetiky tasemnic je nalézt shodu mezi klasickými systémy založenými především na morfologických znacích s molekulárně-fylogenetickými údaji. Je nepochybné, že bez pomoci DNA markerů není možné odhalit dosud málo poznané otázky evolučního vývoje tasemnic a že molekulární markery se budou stávat stále důležitější součástí rutinní diagnostiky. Na druhou stranu budou morfologické znaky i v budoucnu významnou součástí charakterizace jednotlivých taxonů a zůstanou základem klasifikace této skupiny helmintů.

***Notocotylus attenuatus*: neobvyklou cestou od vajíčka k dospělci**

V. Skála, P. Horák

Katedra parazitologie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze,
Viničná 7, 128 44, Praha 2, Česká republika

Notocotylus attenuatus je monostomní motolice parazitující u vodních plžů čeledi Lymnaeidae a u vodních vrubozobých ptáků řádu Anseriformes, kteří jsou definitivní hostitelé. Ve vnějším prostředí se tvoří rezistentní stadia – metacerkárie – sloužící infekci definitivního hostitele.

Realizaci životního cyklu motolice *N. attenuatus* v naší laboratoři bylo umožněno studovat některé fáze jejího vývoje, které nejsou v dostupné literatuře dostatečně popsány. Zejména se jedná o vývoj v mezihostitelském plži – rediogenezi a cercariogenezi a vývoj ve vnějším prostředí - encystaci. Byly použity různé metody zahrnující studium celých červů na roztakových preparátech, metody klasické histologie a elektronové mikroskopie.

Ve vajíčku se nevyskytuje miracidium, ale sporocysta, která je pomocí operkulárního výběžku injikována stěnou střeva do hemocelu plže. Tento způsob je mezi motolicemi zcela ojedinělý. Již dříve bylo popsáno, že se sporocysta vyskytuje první den po infekci (DPI) volně v hemocelu v okolí místa injikace a sedmý den po infekci v okolí hepatopankreatu plže. 21 DPI byly nalezeny mateřské redie, ale bez dceřiných redií. 25, 28, 32, 35, 38 a 42 DPI byly nalezeny mateřské a dceřiné redie, přičemž 35 DPI byly nalezeny i gigantické mateřské redie obsahující okolo 40 dceřiných redií. Výskyt cercarií byl poprvé zachycen 42 DPI.

Vývoj cercarií probíhá dělením a diferenciací zárodečných buněk, které jsou nejprve obklopeny výběžky tegumentu redie. Poté se tvoří obaly vlastní. Nezralé cercárie se po uvolnění z redie dále vyvíjejí v hepatopankreatu plže za přispění vlastních energetických zásob (glykogenu). Plně zformované cercárie se uvolňují do vnějšího vodního prostředí nejdříve 45 DPI.

Ve vnějším prostředí se tvoří metacerkárie procesem encystace. Cercárie se přichytí ústní přísavkou, intenzivně kontrahuje své tělo a po 30 vteřinách je možné pozorovat první sekreční produkty pro tvorbu ochranných obalů na povrchu těla. Okolo dvou minut je kompletně odvržen ocásek. Během kontinuálního uvolňování sekrečních produktů pro stavbu vnitřních obalů rotuje cercárie různými směry. Celý proces encystace je dokončen do jedné hodiny.

Excystace metacerkarií probíhá v trávicím traktu ptáka vlivem různých stimulů. Dospělci parazitující ve slepých střevech mají na ventrální straně tři řady papil. Uvádí se, že jejich funkcí může být v přichycení nebo respiraci. V okolí ústní přísavky se vyskytují malé smyslové papily.

I když není motolice *N. attenuatus* pro své hostitele příliš patogenní, zaslouží si hlubší studium kvůli pozoruhodnému ontogenetickému vývoji, který je ojedinělý mezi motolicemi.

Larvální stádia motolic v měkkýších střední Evropy

M. Soldánová

Parazitologický ústav, Biologické centrum Akademie věd České republiky a Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, ČR

Motolice (Trematoda: Digenea) jsou rozsáhlou, výhradně parazitickou skupinou plathelminů (Neodermata) s velkým množstvím lékařsky i veterinárně významných zástupců. Vyznačují se složitými vývojovými cykly, které zahrnují tři až čtyři hostitele propojené různými potravními vztahy. Měkkýši jsou nezbytnými, poměrně specifickými prvními mezihostiteli a v některých případech slouží i jako druzí mezihostitelé, jsou proto z hlediska vývoje motolic zcela klíčovými organizmy. Ačkoli se první psaný záznam o motolicích objevuje již ve 14. století, dospělí paraziti byli podrobněji popsáni až v polovině 18. století, také stádium cercarie bylo v této době poprvé popsáno jako důležitá součást vývojových cyklů motolic. Až v 19. století byla objevena další vývojová stádia v měkkýších (redie a sporocysty). Středoevropští autoři se soustředili především na morfologii a taxonomii larválních stádií motolic, jejich rozšíření a druhové složení v různých druzích plicnatých a předožábřích měkkýšů, avšak první rozsáhlejší studie cercárií parazitujících ve vodních měkkýších jednotlivých oblastí se objevily až v 50. a 60. letech 20. století. Od té doby byly na základě znalostí cercárií mnoha druhů objasněny životní cykly značného počtu taxonů motolic, dosud známých jen v dospělém stádiu. Přes dlouhou tradici studia motolic ve střední Evropě byly tyto výzkumy zaměřeny spíše na výskyt a rozšíření larválních stádií motolic, nikoliv na jejich ekologii. V dnešní době se řada autorů snaží posoudit vliv různých biotických a abiotických faktorů ovlivňujících výskyt a vývoj motolic v měkkýších, jako např. sezónní a populační dynamika nebo vztah mezi infekcí, velikostí a stářím hostitele. Měkkýši a jejich paraziti mohou být také vhodnými indikátory změn vodních ekosystémů. Hostitel i parazit také mohou sloužit jako modelové organizmy pro studium chování a fyziologie motolic. Podrobné údaje o současném druhovém složení a morfologii larválních stádií motolic cizopasíčních ve vodních měkkýších střední Evropy představují dostatečný základ pro studium obecných zákonitostí parazitárně-hostitelských vztahů, formování společenstev nebo vzájemné interakce druhů motolic a z praktického hlediska mohou naznačit vhodné způsoby přerušování vývojových cyklů některých lékařsky nebo veterinárně významných zástupců, jako jsou např. ptačí schistosomy, původci cercariové dermatitidy (rod *Trichobilharzia*).

Kokcidiózy sokolnický využívaných sokolovitých dravců

V. Steinbauer¹, D. Modrý², S. Kostka³, P. Ptáčková², M. Borkovcová⁴

¹ LDF MZLU, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ČR

² VFU, Palackého 1/3, 612 42 Brno, ČR

³ SVU, Rantířovská 93, 586 05 Jihlava, ČR

⁴ AF MZLU, Zemědělská 1, 613 00 Brno, ČR

V prostředí chovatelských zařízení, ve kterých je velká hustota jedinců, může docházet ke stresu, který vede k snížení imunity jedince nebo úhynům na běžné choroby a parazity, s kterými se dravec v přírodě může vypořádat bez vážnějších následků. Proto bylo od ledna 2003 až do února 2007 vyšetřeno 218 sokolovitých dravců (*Falconiformes*), pocházejících především z umělého odchovu. Vzorky byly sbírány z voliér nebo z okolí poseďů v podobě směsi, která obsahovala převážně čerstvý trus. Trus byl bezprostředně fixován v 2,5% vodném roztoku dichromanu draselného, aby bylo zajištěno přežití a následná sporulace případných oocyst kokciidií. Většina sokolovitých dravců byla držena v zajetí za účelem odchovu, k sokolnickému výcviku nebo byla evidována v záchranných stanicích jako pacienti. Přímou v terénu byl prováděn odběr vzorků trusu z hnízd poštolky obecné (*Falco tinnunculus*) v době hnízdění.

Koprologickými metodami bylo vyšetřeno celkem 11 druhů sokolů: sokol stěhovavý (*Falco peregrinus*), roroh velký (*Falco cherrug*), poštolka obecná (*Falco tinnunculus*), roroh lovecký (*Falco rusticolus*), roroh jižní (*Falco biarmicus*), ostříž lesní (*Falco subbuteo*), poštolka vrabčí (*Falco sparverius*) a hybridi sokola stěhovavého, roroha velkého a roroha loveckého.

Vzorky trusu byly sbírány převážně z oblasti Moravy, Českomoravské vysočiny a částečně i z Čech. Vzorky trusu byly sbírány převážně z oblasti Moravy, Českomoravské vysočiny a částečně i z Čech.

U sokolovitých dravců byly nalezeny jednohostitelské kokcidie rodu *Caryospora* v 9% rozborů velkých sokolů odchovaných v zajetí a v 37% jedinců pocházejících z přírody, hlavně u poštolky obecné (*F. tinnunculus*). Jednalo se převážně o druh *Caryospora kutzeri* nalezený v 59% pozitivních nálezů, *Caryospora megafalconis* 22% pozitivních nálezů a *Caryospora neofalconis* v 19% pozitivních případů. Ve dvou pozitivních vzorcích byly nalezeny dva druhy *Caryospor* současně, jednalo se o druh *C. kutzeri* a *C. megafalconis*.

Byla také zkoumána závislost mezi stresujícími faktory a kokcidiózou. V případě sokolů, u kterých probíhal sokolnický výcvik, nebo bylo s nimi loveno, byla kokcidióza zachycena u 9,2% z 54 jedinců. U sokolů určených k odchovu byla kokcidióza zjištěna u 7,9% z 63 jedinců.

Dále byl porovnáván vztah mezi věkem dravce a nákazou kokcidiemi. Do výsledků byly započítány i terénní odběry z hnízd poštolky obecné (*Falco tinnunculus*). U mláďat mladších jednoho roku bylo až 71,1% pozitivních nálezů, na rozdíl od dravců starých pět a více let, kde nebyl žádný pozitivní nález.

Kokcidie dravců jsou v umělých chovech závažným onemocněním. Výzkum těchto parazitů, objasnění jejich způsobu života a zjištění patologických vlivů na jedince může přispět k zlepšení chovu sokolů v zajetí a k zvýšení produkce odchovaných mláďat.

Parazitologický status ošípaných vo vybraných slovenských a českých chovoch

H. Šefčíková¹, P. Juriš², I. Papajová¹, D. Rajský³, V. Hisira⁴

¹ Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

² Krajská veterinárna a potravinová správa, Masarykova 18, 040 01 Košice, SR

³ Regionálna veterinárna a potravinová správa, Korzo Bélu Bartóka 789/3, 929 01 Dunajská Streda, SR

⁴ Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, SR

V období od novembra 2006 do novembra 2007 sme celkovo vyšetrili 1 057 vzoriek trusu výkrmových ošípaných pôvodom zo Slovenska a Českej republiky. Väčšina vzoriek pochádzala od ošípaných chovaných vo veľkochovoch, no vyšetrili sme aj exkrementy od ošípaných, ktoré boli držané v 5 malochovoch na území východného Slovenska. Vzorky boli odobraté individuálne pri veterinárnej prehliadke ošípaných v jednotlivých chovoch a počas jatočnej prehliadky *post mortem* na vybraných slovenských bitúnkoch.

Vo vyšetrených vzorkách trusu výkrmových ošípaných z oboch krajín sme zistili prítomnosť vajíčok *Ascaris suum*, *Trichuris suis*, *Oesophagostomum* spp. a oocýst kokcií čelade *Eimeriidae*.

Fekálne vzorky jatočných ošípaných zo Slovenska boli najviac invadované vajíčkami *A. suum* (23%) a *T. suis* (17%), vo vyšetrených exkrementoch českých ošípaných dominovali oocysty kokcií (5%). Priemerná prevalencia diagnostikovaných endoparazitov v slovenských vzorkách bola vyššia (14%) ako vo vzorkách trusu ošípaných pochádzajúcich z Českej republiky (3%).

Tento rozdiel vo výsledkoch vyšetrení výkrmových ošípaných zo Slovenskej a Českej republiky môže byť pravdepodobne zapríčinený rozdielnou úrovňou hygienickej i veterinárnej starostlivosti, odlišným spôsobom chovu a ustajnenia týchto zvierat ako aj počtom a vekovou štruktúrou vyšetrených zvierat.

Naše výsledky naznačujú, že je nevyhnutné sledovať parazitologický status jatočných zvierat, pretože zavedením podmienok jednotného trhu EÚ sa zvýšila pravdepodobnosť šírenia sa endoparazitov týchto zvierat nielen na našom území.

Stúdia druhovej skladby trichinel cirkulujúcich na Slovensku a pravdepodobné cesty prenosu *Trichinella pseudospiralis* do strednej Európy

D. Ševcová, V. Šnábel, Z. Hurníková

Parazitologický ústav, Slovenská akadémia vied, Hlinkova 3, 040 01 Košice

Trichinelóza je kozmopolitne rozšírené zoonózne ochorenie spôsobené požitím nedostatočne tepelne upraveného mäsa obsahujúceho infekčné larvy parazita z rodu *Trichinella*. Na území Slovenska cirkuluje predovšetkým v sylvatickom cykle u voľne žijúcich mäsožravcov, ktoré predstavujú potenciálne riziko nakazenia hospodárskych zvierat a človeka. Jednotlivé druhy trichinel sa vyznačujú rôznou patogenitou pre hostiteľov, je preto dôležité zisťovať druhové zloženie týchto nematódov vyskytujúcich sa na našom území. V našej práci sme uskutočnili druhovú determináciu trichinel s použitím metódy multiplex PCR. Z celkového počtu 243 vyšetrených vzoriek získaných v rokoch 2005 - 2007 sme na území Slovenska druh *T. britovi* detegovali v 239 prípadoch - u 213 líšok hrdzavých (*Vulpes vulpes*), 18 kusov diviacej zveri (*Sus scrofa*), 3 kún skalných (*Martes foina*), 1 medveďa hnedého (*Ursus arctos*), 1 vlka (*Canis lupus*), 1 rysa (*Lynx lynx*) a 1 tchora tmavého (*Mustela putorius*). Druhy *T. spiralis* a *T. pseudospiralis* boli zistené ojedinele, vo väčšine prípadov v zmiešanej infekcii s *T. britovi*. Druh *T. pseudospiralis* bol identifikovaný u ošípaných a synantropných cicavcov na východe Slovenska už v roku 2003, pričom išlo o prvý nález tohto druhu na území strednej Európy. Ako jediný je schopný infikovať aj vtáky, pričom najčastejšie bývajú nakazené dravce. Vzhľadom na opätovnú detekciu tohto, pre človeka silne patogénneho druhu, sme sa za pomoci alozýmovej a DNA metód skúmali pravdepodobné cesty prenosu parazita do nášho regiónu. Analýza enzýmových systémov PGM, AK, ME, MPI, PEP-B a sekvenčná analýza fragmentu mitochondriálneho génu *cox1* DNA potvrdila najväčšiu genetickú príbuznosť slovenského izolátu k dvom švédskym a fínskemu izolátu, čo naznačuje najpravdepodobnejšiu cestu prenosu *T. pseudospiralis* do strednej Európy sťahovavým vtáctvom zo škandinávskej oblasti.

Nové poznatky o cirkulácii genotypov *Echinococcus granulosus* v strednej a východnej Európe

V. Šnábel¹, D. Ševcová¹, S. D'Amelio², D. Cielecka³, R. Salamatin^{3,4}, A. Emets⁵, T. Kuzmina⁴, S.O. Georgescu⁶, P. Dubinsky¹

¹ Parasitological Institute, Slovak Academy of Sciences, Košice, SR

² Department of Sciences of Public Health, Section of Parasitology, Sapienza University of Rome, Rim, Taliansko

³ Department of General Biology and Parasitology, Medical University of Warsaw, Varšava, Poľsko

⁴ Institute of Zoology, NAS of Ukraine, Kyjev, Ukrajina

⁵ Agricultural University, Sumy, Ukrajina

⁶ 1st Surgical Clinic, University Hospital St. Spiridon, Iasi, Rumunsko

Pri skúmaní genotypovej rozmanitosti a vnútrodruhovej variability pásomníc *Echinococcus granulosus* bolo sekvenčnou analýzou mitochondriálnych génov *cox1* (789 bp) a *atp6* (513 bp) skúmaných 28 izolátov zo strednej a východnej Európy. Z nich 21 izolátov pochádzalo z 11 slovenských lokalít z dvoch medzihostiteľov (ošipaná - 19 izolátov, človek - 2 izoláty), 2 izoláty zo severovýchodnej Ukrajiny z ošípanej (oblasť Sumy), 1 izolát zo západnej Ukrajiny z človeka, 1 izolát z juhovýchodného Maďarska z človeka (Szeghalom, Békešská župa), 2 izoláty zo severovýchodného Rumunska z človeka (lokality Tutova-Vaslui, Romanesti Iasi) a 1 izolát z Poľska z človeka. U všetkých vzoriek zo Slovenska, Poľska a Ukrajiny (25 izolátov) sme zaznamenali pre človeka menej infekčný genotyp G7, prislúchajúci prasačiemu kmeňu (nedávno klasifikovanému ako druh *Echinococcus canadensis*). V rámci tohto variantu boli u génu *cox1* detegované dve línie, líšiace sa dvomi nukleotidovými substitúciami. Haplotyp G7^b bol zistený u 3 izolátov - oboch izolátov zo severovýchodnej Ukrajiny a jedného izolátu z východného Slovenska (lokality Veľký Horeš, okr. Trebišov). Druhý haplotyp G7^a bol zaznamenaný u zostávajúcich 25 izolátov (Slovensko, Poľsko, západná Ukrajina). U oboch rumunských izolátov a maďarského izolátu bol pozorovaný genotyp G1, zodpovedajúci druhu *Echinococcus granulosus sensu stricto* (tzv. kozmopolitný ovčí kmeň), s vysokou infekčnosťou pre človeka. V rámci analyzovanej vzorky u génu *cox1* boli zaznamenané tri haplotypy. Nukleotidové substitúcie voči majoritnému haplotypu G1, detegované u maďarského izolátu (haplotyp G1^a), sú pravdepodobne podmienené retenciou ancestrálneho polymorfizmu ovčieho kmeňa, keďže identický haplotyp bol podľa údajov z génovej banky zaznamenaný aj v Maroku (prístupové kódy EF367270, EF367269, EF367268, EF367267) a Číne (DQ356883). Podobne, genetická štruktúra jedného z rumunských izolátov (haplotyp G1^b, lokalita Romanesti Iasi) bola zhodná s mongolskými a čínskymi izolátmi (AB271235, DQ356883, EU072107). Naopak, druhý rumunský izolát (lokality Tutova-Vaslui) vykazoval unikátny haplotyp G1^c, ktorého vznik bol pravdepodobne podmienený selekciou, resp. náhodnými evolučnými udalosťami.

U génového fragmentu *atp6* sa vzhľadom k referenčným sekvenciám genotypu G7 (AB235847) nukleotidy nami skúmaných izolátov odlišovali v dvoch pozíciách (294, 385). U izolátov z okr. Košice (východné Slovensko) a Dunajská Streda (západné Slovensko) sme pritom detegovali jednu tranzitívnu mutáciu (v dvoch rôznych pozíciách) v porovnaní s majoritným variantom G7.

V štúdiu bol zaznamenaný trend šírenia pre človeka najnebezpečnejšieho ovčieho kmeňa (G1) z endemickej stredomorskej oblasti do severnejších európskych oblastí (Rumunsko, Maďarsko) a výlučná cirkulácia prasačieho kmeňa (G7) v severnejších teritóriách strednej a východnej Európy.

Antropogénny vplyv na kvalitatívne a kvantitatívne zloženie parazitologicky významných druhov muškovitých v podmienkach juhozápadného Slovenska

A. Štangler, J. Halgoš

Katedra ekológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Mlynská dolina B-2, 842 15 Bratislava

Muškovité majú v celosvetovom meradle veľký medicínsko-veterinárny a s ním súvisiaci ekonomický význam. Samice muškovitých sú krvcicajúce ektoparazity ľudí a zvierat. Príjem krvi potrebujú na dokončenie gonotrofického a ovariálneho cyklu. V dôsledku cicania krvi sú často vektormi viacerých vírusových, bakteriálnych a parazitárnych ochorení. Nížinné a podhorské toky majú špecifické postavenie z hľadiska výskytu viacerých významných parazitických druhov muškovitých. Dôležitým faktorom ovplyvňujúcim výskyt spomenutých druhov je aj ľudská činnosť. Ako najdôležitejšie antropické faktory sme zistili meliorácie, úpravy riek, vytváranie priehrad, vplyvy ľudských sídiel a odlesnenie. Tieto faktory sa podieľajú jednak na miznutí niektorých stenoekných druhov (*Simulium costatum*), ktoré sú nahrádzané euryeknými, parazitologicky významnými druhmi, jednak sa vplyvom ľudskej činnosti vytvárajú habitaty vhodné pre vývoj niektorých stenoekných ale parazitologicky významných druhov, ktoré sa v týchto podmienkach môžu vyskytovať v masových množstvách (*S. noelleri*, *S. angustipes*). Lokality silno ovplyvnené antropickým vplyvom (Morava, Dunaj) sú obsadzované expanzívnymi a ekologicky vysoko tolerantnými druhmi *S. ornatum* a *S. equinum*. Vzhľadom k tomu, že väčšina tokov Borskej a Podunajskej nížiny sú v rôznych mierach ovplyvnené ľudskou činnosťou, sú tieto územia významné ako oblasti výskytu druhov, patriacich prevažne medzi parazitologicky najvýznamnejšie.

Anaplasma phagocytophilum a ďalšie kliešťami prenášané baktérie v kliešťoch a divožijúcich zvieratách na strednom Slovensku

K. Štefanidesová¹, E. Špitalská¹, V. Boldiš¹, Z. Košťanová², P. Kanka³, E. Kocianová¹

¹ Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

² Regionálny úrad verejného zdravotníctva v Žiari nad Hronom, Sládkovičova 9, 965 24 Žiar nad Hronom

³ Regionálna veterinárna a potravinová správa, SNP 612, 965 24 Žiar nad Hronom

Cieľom prezentovanej štúdie bolo zistiť výskyt *A. phagocytophilum* a ďalších zástupcov radu Rickettsiales (*Rickettsia* sp., *Candidatus* Neoehrlichia mikurensis, *Ehrlichia* sp.) v kliešťoch a divožijúcich zvieratách (hlodavce, jelene, srnce, diviaky) zo str. Slovenska.

Skúmané lokality sa nachádzali v rôznych suburbánných biotopoch, ktoré z hľadiska administratívneho členenia ležia v okresoch Žiar n/Hr., Žarnovica, Banská Štiavnica a Zvolen. Analyzovaný materiál bol získaný a spracovaný v rokoch 2004 až 2007. Spolu 1087 kliešťov *I. ricinus* bolo zozbieraných vlnkovaním vegetácie jednorázovo alebo opakovane v 20 lokalitách v období ich jarného maximálneho výskytu. V štyroch lokalitách bolo do živolovných pascí odchytených 171 hlodavcov (*Apodemus flavicollis*, *Clethrionomys glareolus*, *A. sylvaticus* a *Microtus arvalis*), z ktorých bola analyzovaná slezina a ektoparazity (larvy *I. ricinus*). Ďalej boli spracované vzorky slezín zo 181 zvierat (*Cervus elaphus*, *Capreolus capreolus*, *Sus scrofa* a *Ovis musimon*). Na izoláciu DNA zo slezín sa použili komerčné kity, na izoláciu DNA z kliešťov komerčný kit alebo hydroxid amónny. Kliešťami prenášané baktérie (KPB) boli identifikované pomocou PCR s rodovo a druhovo špecifickými primermi a sekvenovaním vybraných vzoriek.

Denzity dospelých kliešťov na lokalitách sa pohybovali v rozmedzí 0,7 až 68,3; denzity nymf od 0 do 27,3. KPB boli identifikované v *I. ricinus* zo 17 lokalít, kliešte z 3 lokalít boli negatívne. *Rickettsia* spp. boli zistené na 16 lokalitách, *A. phagocytophilum* na 9, a *Candidatus* N. mikurensis na 2. Všetky nymfy okrem 1 (*Rickettsia* sp. pozitívna) boli negatívne. Priemerná prevalencia rickettsií v dospelých *I. ricinus* bola 8,5%, *A. phagocytophilum* 4,6% a *Candidatus* N. mikurensis 0,6%. Koinfekcie *A. phagocytophilum* a *Rickettsia* sp. sa zistili u 0,4% kliešťov. Najviac *A. phagocytophilum* pozitívnych kliešťov pochádzalo z lokalít pri Žiari n/Hr., pri obci Malá Lehota a z okolia jazera Počúvadlo. Najviac *Rickettsia* pozitívnych kliešťov bolo v okolí Žiaru n/Hr. Sekvenovaním vybraných PCR produktov boli zistené *R. helvetica*, rickettsiálny endosymbiont *Candidatus* Midichloria mitochondrii a *E. muris*. Posledná spomenutá baktéria bola v našej štúdií v str. Európe zistená po prvýkrát, dosiaľ bola detegovaná len v Japonsku a v Rusku. V hlodavcoch boli detegované *Candidatus* N. mikurensis, *A. phagocytophilum*, *E. muris*, *Bartonella* sp., *C. burnetii* a *Rickettsia* sp.; v larvách kliešťov *Rickettsia* sp. a *Ehrlichia* sp. *A. phagocytophilum* sa zistila u 52% jeleňov, 50% srncov, 2,1% diviakov a u 1 muflóna. Najviac pozitívnych jeleňov a srncov bolo v sev. časti Žiarskeho okresu. Ojedinele bola detegovaná *R. helvetica* (u 1 srnca), *Ehrlichia* sp. (u 1 diviaka) a *C. burnetii* u 1 jeleňa (v koinfekcii s *A. phagocytophilum*).

Zvýšený výskyt kliešťov a lovej zveri pozitívnej na *A. phagocytophilum* na niektorých skúmaných lokalitách naznačuje, že na strednom Slovensku sa zrejme vyskytujú prírodné ohniská, kde uvedená baktéria cirkuluje medzi *I. ricinus* ako vektormi a jeleňmi a srncami ako rezervoármi. Výskyt kliešťov infikovaných *A. phagocytophilum*, *R. helvetica* a *Rickettsia* sp. predstavuje potenciálne riziko nákazy pre obyvateľov týchto oblastí.

Práca bola finančne podporená projektmi: VEGA 2/7020, APVV 51-009205.

Vliv extraktu ze slinných žláz (SGE) klíštěte *Ixodes ricinus* na vývoj apoptózy indukované boreliovou infekcí

K. Šubrtová¹, J. Salát^{1,2}, J. Kopecký^{1,2}

¹ Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Branišovská 31, České Budějovice, ČR

² Biologické centrum AV ČR, v. v. i., Parazitologický ústav, Branišovská 31, České Budějovice, ČR

Lymeská borelióza patří v současnosti v ČR k nejčastějším onemocněním přenášeným krevsajcími členovci (klíště *Ixodes ricinus*). Borelie, gramnegativní spirochety, vyvolávající toto onemocnění, si vyvinuly několik různých mechanismů, jak se vyhnout obranným systémům hostitele. Popsána byla i indukce apoptózy (programované buněčné smrti) imunitních buněk napadeného organismu. Vzhledem ke známému faktu, že borelie využívají ke svému prospěchu imunomodulační účinky klíštěcích slin (fenomén SAT), jsme se zaměřili na zkoumání vlivu extraktu ze slinných žláz (SGE) klíštěte *Ixodes ricinus* na apoptózu indukovanou boreliemi.

Apoptický děj byl zjišťován průtokovou cytometrií, sledované buňky byly barveny annexinem V FITC a propidium jodidem (PI). Annexin V se váže na fosfatidylserin, membránový fosfolipid, který se translokuje na povrch buňky v časných fázích apoptózy. PI je interkalační činidlo, které proniká do buněk nekrotických či pozdně apoptických.

V experimentech byly použity buňky JURKAT (buněčná T-lymfocytární linie) a CD4+ T-lymfocyty izolované z myších splenocytů kultivované s *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (kmen B 31 a CB 53), *B. afzelii* (kmen CB 43) a *B. garinii* (kmen CB 61).

Indukci apoptózy se u žádného z použitých boreliových kmenů nepodařilo prokázat. V experimentech bylo ale zjištěno, že kultivační medium pro borelie BSK-H způsobuje u zkoumaných lymfocytů apoptózu. V pokusech s ovlivněním apoptózy SGE bylo pozorováno falešné snížení počtu apoptických buněk, ve skutečnosti nedošlo ke snížení jejich počtu, ale ke snížení intenzity fluorescence apoptických buněk. SGE pravděpodobně nějakým způsobem snížilo množství fosfatidylserinu na povrchu buněk, nebo zabránilo vazbě annexinu V na fosfatidylserin.

Tato práce byla financována granty IAA 6022101 Grantové agentury AV ČR a 590/3034 Grantové agentury ČR, jejichž řešitelem je doc. RNDr. Jan Kopecký, CSc.

Rezervoároví hostitelia *Borrelia burgdorferi* sensu lato v modelovej oblasti Slovenského krasu

V. Tarageľová¹, J. Kočí², D. Selyemová¹, I. Cíglerová¹, V. Majláthová³, †M. Labuda¹

¹ Ústav zoológie Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 845 06, Bratislava, SR

² Virologický ústav Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 842 45, Bratislava, SR

³ Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, Hlinkova 3, 040 01, Košice, SR

Spirochéty *Borrelia burgdorferi* s. l. sú v prírode udržiavané prostredníctvom vektorov (kliešťov) a rôznych druhov stavovcov. V strednej Európe je hlavným vektorom borélií kliešť *Ixodes ricinus*. Medzi hostiteľov tohto kliešťa patria cicavce, vtáky, ale aj plazy. Niektoré druhy týchto stavovcov slúžia okrem prekrmovania kliešťov aj ako rezervoároví hostitelia borélií.

Kliešte sme zbierali v Slovenskom krase, v lokalite Drienovská mokraď (2002, 2006, 2007). Odchyťovali sme tri skupiny hostiteľov – spevavce, hlodavce a jašterice. Časť kliešťov sme vyšetrili metódou nested PCR. Vo vzorkách pozitívnych na *B. burgdorferi* s. l. sme metódou DNA-DNA hybridizácie (RLB, reverse line blot) a metódou RFLP (analýza dĺžky reštrikčných fragmentov) detegovali jednotlivé genospecies borélií.

Na vtákoch sme zaznamenali len druh *I. ricinus*. Najväčší počet kliešťov, ako aj najväčší počet infikovaných kliešťov prekrmovali drozdy *Turdus merula* a *T. philomelos*. Medzi detegovanými genospecies dominovala *Borrelia valaisiana* a *Borrelia garinii*. V rokoch 2006 a 2007 sme odchytili 112 hlodavcov patriacich k 4 druhom (*Apodemus agrarius*, *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *Clethrionomys glareolus*). Dominantným druhom bol *A. agrarius*. Zaklieštenie sme sledovali u všetkých odchytených druhov. Viac ako 90% zozbieraných kliešťov tvoril *I. ricinus*. V roku 2007 sme na Drienovskej mokradi odchytili 10 jedincov druhu *Lacerta viridis*. Všetky testované jedince boli zaklieštené. Zaznamenali sme len druh *I. ricinus*.

Na porovnanie percentuálneho zastúpenia genospecies *B. burgdorferi* s. l. sme vyšetrovali aj kliešte zozbierané z vegetácie. Dominantným genospecies bola *B. valaisiana*.

Naša štúdia potvrdzuje, že spevavce, hlodavce a jašterice sú veľmi dôležitými hostiteľmi kliešťov. Niektoré druhy navyše zohrávajú dôležitú úlohu rezervoárových hostiteľov borélií, takže prispievajú k zvyšovaniu počtu infikovaných kliešťov v prírode. Poznanie vzťahov medzi patogénom, vektorom a hostiteľom prispieva k doplneniu nekompletných informácií o ekológii *B. burgdorferi* s. l., ktoré sú dôležité najmä z epidemiologického hľadiska.

Střevní parazitozy v České republice v roce 2007

V. Tolarová, Z. Hůzová

Oddělení parazitologie, Zdravotní ústav se sídlem v Praze, Rajmonova 4,
182 00 Praha 8, Národní referenční laboratoř pro diagnostiku střevních parazitůz

Na území České republiky se diagnostikou střevních parazitůz zabývalo v roce 2007 celkem 76 laboratoř. Všechny se zúčastnily systému externí kontroly kvality, který organizuje SZÚ a 68 laboratoř obdrželo certifikát správné diagnostiky. NRL shromažďuje každoročně údaje o počtech provedených vyšetření a o výskytu jednotlivých druhů střevních parazitů na území ČR podle hlášení jednotlivých laboratoř. Posterová prezentace představuje sumarizaci výsledků ze všech těchto laboratoř.

Ve srovnání s rokem 2006 došlo v roce 2007 k mírnému navýšení počtu provedených standardních i specializovaných vyšetření stolice. Na vyšším počtu vyšetření osob bez cestovatelské anamnézy se podílela hlavně mimopražská pracoviště, celkově bylo v roce 2007 v ČR provedeno více než 58 000 standardních vyšetření. Vyšetření osob po návratu z endemických oblastí se provádí tradičně převážně v Praze, celkově bylo provedeno téměř 6 500 specializovaných vyšetření. Vyšetřování cizinců se od roku 2003, kdy bylo zrušeno povinné vyšetřování imigrantů, na celkových počtech prováděných vyšetření podílí stále méně.

Počet vyšetření na enterobiózu, kterých se v roce 2007 provedlo 23 776 odpovídá počtům vyšetření provedených v roce 2006, stejně jako počet pozitivních nálezů *Enterobius vermicularis*, kterých bylo v roce 2007 celkem 1232. V roce 2007 se však zvýšil počet osob nakažených škrkavkami *Ascaris lumbricoides*. Proti 44 nálezům v roce 2006 bylo v roce 2007 diagnostikováno 61 případů, z toho 50 bylo autochtonního původu. Naopak ze 14 nálezů *Trichuris trichiura* diagnostikovaných v roce 2007 je většina případů importovaných. Počet nálezů tasemnic *Taenia saginata* stále klesá, v roce 2007 bylo diagnostikováno pouze 24 případů. Ze vzácnějších nálezů byla zaznamenána jedenkrát nákaza *Schistosoma mansoni*.

V diagnostice střevních prvoků je dlouhodobě situace neměnná. Případy nosičství cyst *Entamoeba histolytica/dispar* jsou zaznamenávány nejčastěji u našich občanů po návratu z endemických oblastí, případně u cizinců. V roce 2007 to bylo celkem 47 případů diagnostikovaných převážně na pražských pracovištích. V současné době se již většina pozitivních vzorků zasílá k rozlišení patogenního druhu *Entamoeba histolytica* od nepatogenního druhu *Entamoeba dispar* do NRL pro tropické parazitozy. 95% nálezů bylo dosud pomocí PCR určeno jako nepatogenní *Entamoeba dispar*. Nosičů cyst *Giardia intestinalis* bylo v roce 2007 celkem 202, proti 242 případům v roce 2006. Více než polovina případů, často rezistentních na léčbu, je importována z indického subkontinentu. Autochtonní nálezy *Cryptosporidium* sp., stejně jako nálezy vzácnějších importovaných parazitůz protozoárního původu (*Cyclospora cayentanensis*), jsou v našich laboratořích diagnostikovány ojediněle.

Závěr: Zatím se stále nepotvrdil předpoklad, že rozvoj cestování do rizikových oblastí a častější migrace obyvatel přinese i nárůst importovaných střevních parazitárních nákaz a tím i zvýšení požadavků na odbornou i personální kapacitu diagnostických laboratoř. Díky účasti většiny specializovaných pracovišť v EHK, kde jsou pravidelně zařazovány i vzácnější druhy střevních parazitůz, jsou naše laboratoře na případný nárůst požadavků v této oblasti průběžně připravovány.

Druhové zloženie voľne žijúcich meňaviek izolovaných z bazénovej vody

K. Trnková

Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici, odbor lekárskej mikrobiológie, Cesta k nemocnici č. 25, Banská Bystrica 975 56

Príspevok podáva prehľad druhej skladby voľne žijúcich meňaviek izolovaných z vody počas monitoringu bazénov umelých kúpalísk, ktorý je v SR vykonávaný v zmysle legislatívy už od roku 2002.

Prítomnosť voľne žijúcich meňaviek môže za určitých podmienok predstavovať riziko, vzhľadom na schopnosť niektorých zástupcov voľne žijúcich meňaviek vyvolať nákazy CNS a zrak ohrozujúceho ochorenia rohovky.

Doposiaľ sa na Slovensku prítomnosťou týchto organizmov vo vodnom prostredí, ktoré je človekom priamo využívané na rekreáciu, nezaoberala žiadna podrobnejšia štúdia. Práce podobného zamerania pochádzajú z obdobia prvých prípadov encefalitíd zaznamenaných v 60. rokoch z bývalého Československa.

Počas sledovaného obdobia boli zo vzoriek bazénovej vody kultivačným stanovením izolovaní a následne na základe termotolerancie a morfolgických znakov identifikovaní zástupcovia voľne žijúcich meňaviek rodov *Acanthamoeba* spp., *Naegleria* sp., *Hartmannella* spp., *Vanella* sp., *Vahlkampfia* sp. Aj keď ochorenia sú extrémne vzácne, vzhľadom k závažnosti nákaz, vysokej morbidite a zložitej terapii, môže hlavne prítomnosť kmeňov patriacich do rodov *Naegleria* sp. a *Acanthamoeba* spp., predstavovať ohrozenie zdravia. Preto monitoring vôd zameraný na sledovanie týchto príležitostných patogénov je vnímaný ako podstatný preventívny prostriedok k zamedzeniu vzniku ochorení, ktoré vo väčšine prípadov končia fatálne.

***Toxoplasma gondii* u voľne žijúcich zvierat**

L. Turčeková, F. Spišák, Z. Hurníková, P. Dubinský

Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

Toxoplasma gondii je obligátny intracelulárny parazit, ktorý je schopný infikovať široký rozsah teplokrvných stavovcov. Hospodárske zvieratá – ako súčasť potravinového reťazca – hrajú dôležitú úlohu v prenose *T. gondii* na ľudskú populáciu, zatiaľ čo hlodavce sú hlavným zdrojom infikovania voľne žijúcich zvierat. Príčinou rozšírenia toxoplazmózy v humánnej i veterinárnej oblasti je teda striedanie sa domového i sylvatického cyklu. V podmienkach Slovenskej republiky prišlo do kontaktu s toxoplazmózou viac ako 40% dospelých ľudí, avšak výskyt akútnej toxoplazmózy je zaznamenaný iba v 250 – 350 prípadoch za rok. Percento prevalencie v jednotlivých krajinách závisí hlavne od potravinových návykov obyvateľstva, ktorá je spojená s konzumáciou surových, resp. nedostatočne tepelne upravených potravín živočíšneho pôvodu.

Vzhľadom na sporadické údaje o *T. gondii* u voľne žijúcich zvierat bolo cieľom práce diagnostikovať parazita molekulárnymi metódami a geneticky charakterizovať pôvodcu tejto vážnej parazitozoonózy. DNA *T. gondii* bola izolovaná z náhodne získaných 32 líšok hrdzavých (*Vulpes vulpes*) zo Slovenskej republiky. PCR-DNA analýzou bol tento parazit potvrdený u 30 líšok, s prevalenciou 93,7%. Pre určenie genotypov *T. gondii*, bol použitý lokus SAG2 s následnou RFLP analýzou s reštrikčnými endonukleázami *Sau3* AL a *HhaI*. Genetická charakterizácia *T. gondii* u líšok hrdzavých potvrdila prítomnosť genotypu G1. Pre ďalšie analýzy toxoplazmózy u voľne žijúcich zvierat na Slovensku boli získané dve vzorky svaloviny z medveďa hnedého (*Ursus arctos*). Ani v jednej vzorke však *T. gondii* nebola potvrdená.

Z Českej republiky bol získaný materiál psíkov medvedíkovitých (*Nyctereutes procyonoides*), kde analýzou lokusu SAG2 bola *T. gondii* diagnostikovaná u dvoch z troch vyšetrených izolátov s genotypom G1. U dvoch izolátov z kuny lesnej (*Martes martes*) nebola potvrdená toxoplazmóza, avšak u kuny skalnej (*M. foina*) bol zistený avirulentný kmeň s genotypom G3.

Tieto výsledky a hlavne vysoká prevalencia toxoplazmózy u líšok, poukazujú na cirkuláciu tejto zoonózy u voľne žijúcich zvierat. Pre diagnostiku a charakteristiku *T. gondii* so špecifikáciou genotypov a virulenciou kmeňov je vhodné využitie metódy nested PCR analýzy lokusu SAG2 tak u ľudí ako aj u zvierat.

Práca bola financovaná grantovým projektom VEGA č. 2/7186/27 a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja č. APVV-51-027605

Anti-chemokínové aktivity extraktov slinných žliaz dospelých kliešťov a ich nýmŕ

I. Vančová¹, M. Slovák², V. Hajnická¹

¹Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

²Ústav zoológie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava

Kliešte sú obligatórne krv-cicajúce článkonožce, prenášajúce široké spektrum patogénov. Ostávajú prichytené na hostiteľovi niekoľko dní až týždňov, pričom musia prekonať špecifickú hostiteľskú hemostatickú, zápalovú a imunitnú odpoveď. Dlhodobé cicanie krvi hostiteľov kliešťom zabezpečujú ich sliny, ktoré obsahujú koktail imunomodulačných látok. Cytokíny, radiace molekuly imunitného systému nemohli ostať kliešťami nepovšimnuté. Sliny kliešťov obsahujú látky, ktoré viažu chemokíny zabezpečujúce migráciu leukocytov z krvného riečišťa do miesta poškodenia.

V našej práci porovnáваме spektrum anti-chemokínových aktivít dospelých jedincov, samcov aj samíc, s nymfálnymi štádiami kliešťov *Dermacentor reticulatus*, *Amblyomma variegatum*, *Rhipicephalus appendiculatus* a *Ixodes ricinus*. Metódou špecifických ELISA testov sme sledovali aktivitu extraktov slinných žliaz (SGE) čiastočne nasatých kliešťov voči piatim chemokínom: CXCL8, CCL2, CCL3, CCL5 a CCL11. Všetky druhy nami testovaných dospelých kliešťov, ako aj ich nýmŕ, vykazovali len anti-CXCL8 aktivitu. SGE kliešťov *A. variegatum* boli aktívne proti všetkým sledovaným chemokínom. Podobné výsledky sme dostali s SGE *D. reticulatus*, hoci u nymfálneho štádia bola inhibícia detekcie chemokínov oveľa nižšia. Najchudobnejší anti-chemokínový repertoár sme zistili u kliešťov *I. ricinus*. Okrem anti-CXCL8 sme u samíc a nýmŕ nedokázali iné aktivity. Anti-chemokínové aktivity u samcov *I. ricinus* sme dokázali pravdepodobne len preto, že na porovnávané množstvo bielkovín bolo potrebných 30x viac kliešťov.

Naše výsledky ukazujú, že producentami inhibítorov chemokínov sú nielen dospelé kliešte, ale aj ich nýmŕ, z epidemiologického hľadiska významnejšie vektory arbovirusov, ktoré využívajú imunosupresívne aktivity svojich prenášačov.

Táto práca bola finančne podporovaná projektami APVV-51-004505 a VEGA 2/7158/27

Výskyt *Eimeria* spp. v chovoch králikov na Slovensku

Z. Vasilková¹, A. Lauková², L. Chrastinová³, M. Simonová², R. Szabóová²,
V. Strompfová²

¹ Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, Hlinkova 3, 04004 Košice, SR

² Ústav fyziológie hospodárskych zvierat Slovenská Akadémia Vied,
Šoltésovej 4 – 6, 040 01 Košice, SR

³ Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Hlohovská 2, 94 992 Nitra, SR

Cieľom práce bolo vyšetrenie trusu králikov z viacerých lokalít na prítomnosť oocýst kokcií *Eimeria* spp., ktoré vo veľkej miere ohrozujú chovy králikov a spôsobujú tak chovateľom značné ekonomické škody. Skrining bol robený v súvislosti s našimi ďalšími zámermi – vytypovať a testovať prírodné aditíva ako alternatívy ku komerčne používaným antikokcidikám. Vzorky trusu králikov pochádzali z chovov z 15 lokalít Slovenska. V lokalitách Beladice a Topoľčany bol zaznamenaný najvyšší priemerný výskyt oocýst kokcií (Beladice 31 500 OPG – oocýst na gram vzorky, Topoľčany – 12 833 OPG), pričom najvyšší individuálny počet oocýst kokcií na gram vzorky sme zaznamenali v chove králikov v Beladiciach (50 300 OPG). Naopak najnižšie hodnoty OPG boli zaznamenané v chovoch v Háji (17 OPG) a v Dubnici nad Váhom (150 OPG).

Táto práca bola podporená grantami VEGA 2/0008/08 a 2/7190/28.

Fytoaditíva a kokcidióza králikov

Z. Vasilková¹, A. Lauková², L. Chrastinová³, R. Szabóová², M. Simonová²,
V. Stropfiová², L. Ondruška³, R. Jurčík³, J. Poráčová⁴

¹ Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, Hlinkova 3, 040 01 Košice, SR

² Ústav fyziológie hospodárskych zvierat Slovenskej akadémie vied,
Šoltésovej 4 – 6, 040 01 Košice, SR

³ Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Hlohovská 2, 94 992 Nitra, SR

⁴ Univerzita v Prešove, Fakulta humanitných a prírodných vied, Ústav biológie,
ul. 17. novembra, 081 16 Prešov, SR

Cieľom experimentu bolo overenie alternatívnych spôsobov pre redukciu vylučovaných oocýst kokciíí trusom králikov, keďže používanie doteraz zaužívaných kokcidiostatík plánuje EU postupne zastaviť. Ako jeden z alternatívnych spôsobov boli zvolené rastlinné aditíva – *Eleutherococcus senticosus*, oregano, šalvia a komerčný XTRACT. Do pokusu bolo zaradených 120 samcov králika domáceho plemeno Hyplus vo veku 5 týždňov. Zvieratá boli rozdelené do 5 experimentálnych skupín po 24 kusov. Prvej skupine zvierat bol podávaný extrakt oregana, druhej extrakt šalvie (10 µl/zviera/deň vo vode), tretej Eleuterokok a štvrtej XTRACT (obidva 15g/100 krmiva denne). Kontrolu tvorila skupina neliečených zvierat. Všetky prípravky sa zvieratám aplikovali počas 21 dní, pričom experiment trval 42 dní. Na 21. deň pokusu bola vo všetkých experimentálnych skupinách zaznamenaná redukcia počtov oocýst kokciíí, ale v skupine, kde sa podávali Eleuterokok a XTRACT bol rozdiel štatisticky významný. Dlhodobejší vplyv na redukciu počtov oocýst kokciíí sme zaznamenali vo všetkých skupinách zvierat s výnimkou skupiny, kde bol aplikovaný XTRACT.

Táto práca bola podporená grantami VEGA 2/0008/08 a 2/7190/28.

Mikrosporidie: „stručná historie času“

J. Vávra

Katedra parazitologie, Přírodovědecká fakulta JU a Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, České Budějovice*.

Mikrosporidie byly objeveny před 150 lety, podnětem jejich objevu bylo jimi působené onemocnění bource morušového, které hrozilo zničit evropský hedvábnický průmysl. Výzkumu mikrosporidií se věnovala řada významných čs. zoologů. Pro českou a slovenskou parazitologii jsou mikrosporidie tradičním tématem a řada z údajů, které jsou dále zmíněny, byly získány prací Otto Jírovce, Jaroslava Weisera a jejich následovníků.

Mikrosporidie představují monofyletický kmen protist (jednobuněčných eukaryotů), striktně omezených na intracelulární parazitismus v živočiších. Vyskytují se v zástupcích snad všech živočišných kmenů. K pochopení jejich fylogeneze dochází teprve díky molekulární biologii. Ač byly mikrosporidie pokládány za extrémně staré organizmy, dnes víme, že to jsou moderní organizmy jejichž geny prošly rychlým vývojem a velkou řadou změn, což imituje starobylost při konstrukci fylogenetických stromů. Předpokládá se, že mikrosporidie buď měly s houbami společného předka a jsou jejich sesterskou skupinou, nebo dokonce že patří přímo mezi houby. Bohužel, žádná skupina hub většinou svých biologických znaků mikrosporidiím neodpovídá.

Dnes je známo více než 1300 druhů mikrosporidií ve více než 168 rodech. Tyto rody a druhy jsou většinou postaveny na morfologických znacích a mají jen malou podporu molekulární fylogenetiky.

Mikrosporidie jsou organismy extrémně dobře adaptované na parazitismus a to jak funkčně morfologicky, tak obecně biologicky. Charakteristickým stadiem životního cyklu, nejlépe definujícím kmen mikrosporidií je tvorba spor s ojedinelou stavbou a funkcí. Spora vzniká přeměnou jediné buňky, která si vytvoří obaly a jejíž cytoplasmatický obsah se změní na komplikovaný injekční aparát, schopný injikovat dutým vláknem zbylý obsah spory (jádro a část cytoplasmu v podobě infekčního zárodku, sporoplasmu) do stovky mikronů vzdálené cílové buňky v hostitelském organizmu. Jelikož je zárodek mikrosporidie do buňky injikován (ve zlomku sekundy!), leží přímo v cytoplasmě hostitelské buňky. Alespon po část životního cyklu mikrosporidie se pak jeví a chová spíše jako vnitrobuněčný symbiont než parazit. Spora a její injekční mechanismus představují ojedinelou funkční adaptaci k vnitrobuněčnému parazitismu. Velmi vzálená funkční analogie se vyskytuje jen u některých oomycet z říše Chromalveolata, parazitujících ve vířnících a nematodech.

Mikrosporidie účinně manipulují hostitelskou buňku a někdy i hostitele samotného (blokace apoptozy, ovlivnění syntézy juvenilního hormonu hmyzu). Nápadná je indukce buněčného gigantizmu, u některých mikrosporidií ryb, je infikovaná hostitelská buňka zvětšena do makroskopického útvaru zvaného xenoma. Řada mikrosporidií je úzce hostitelsky specifická, některé mikrosporidie manipulují hostitele tím, že ovlivňují jeho pohlaví (feminizace blešivců, selektivní zabíjení samců komárů), některé mikrosporidie se přenášejí transovariálně a jsou schopny asociace s dělicím vřeténkem zárodečných buněk hostitele.

Genom jedné mikrosporidie (*E. cuniculi*) byl kompletně sekvenován, genomy některých dalších jsou v současné době podrobovány sekvenční analýze (*Spraguea lophii* z gangliových buněk ryby - mořského dasa, *Antonospora locustae* ze sarančát). Genom mikrosporidií vyjadřuje extrémní adaptaci k vnitrobuněčnému parazitismu: celková velikost genomu je malá, někdy dokonce menší než u bakterií

(2,3 Mpb - 20 Mpb), geny jsou kompaktní, mají omezenou délku, v genomu se překrývají, mezigenové sekvence a introny jsou silně omezeny.

Největší počet druhů mikrosporidií byl dosud popsán z korýšů, hmyzu a ryb. Některé mikrosporidie z těchto hostitelů prokázaly svou důležitost v pochopení životních cyklů mikrosporidií: např. mikrosporidie infikující komáry a cirkulující mezi komáry a korýši ukázaly, že jedna mikrosporidie může mít složitý cyklus s řadou generací a strukturálně a biologicky odlišných morf. Jiné mikrosporidie z bezobratlých jsou v současné době intenzivně studovány jako patogeni opylovačů (invazivní druh *Nosema ceranae*, šířící se v chovech včely medonosné, *Nosema bombi*, patogen čmeláků). Některé mikrosporidie z bezobratlých jsou uvažovány jako prostředky biologického boje proti škůdcům, jedna mikrosporidie je tak komerčně využívána (*Antonospora locustae* proti sarančatům). Z hlediska humánní parazitologie jsou nejvýznamnější mikrosporidie savců kde se uplatňují 3 druhy rodu *Encephalitozoon* (*cuniculi*, *hellem*, *intestinalis*), 1 druh rodu *Enterocytozoon* a několik mikrosporidií, kteří jsou náhodnými oportunisty: např. *Brachiola algerae*, *Trachipleistophora hominis* a *T. anthropophthera* a j.

Technika molekulární biologie (především PCR se skupinově či dokonce druhově specifickými primery) umožnila exaktní diagnostiku lékařsky a veterinárně důležitých mikrosporidií a studium jejich epidemiologie. Ukázala, že některé z těchto mikrosporidií se vyskytují v řadě genotypů zoonotického, humánního či smíšeného charakteru. Obecným závěrem těchto zjištění je, že mikrosporidie jsou daleko častějšími parazity savců než se na základě klinických projevů jimi vyvolávaných onemocnění dá soudit.

*emeritní profesor Katedry parazitologie, PFF UK, Praha.

e-mail: vavrajr@natur.cuni.cz

Posouzení ektoparazitik s prodlouženou účinností u psů

E. Vernerová¹, M. Davidková², V. Svobodová²

¹ Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Hudcova 56a, Brno, ČR

² Ústav parazitologie, Fakulta veterinárního lékařství, VFU Brno, Palackého 1-3, Brno, ČR

Studie byla prováděna v České republice v oblasti Břeclavska za účelem posouzení účinnosti ektoparazitárních veterinárních léčivých přípravků s prodlouženou účinností v lékové formě spot on vůči přirozeně získaným parazitům (*Ixodes ricinus* a *Dermacentor reticularis*) u loveckých plemen psů. Studie proběhla v 5 lokalitách na souboru 32 psů, který byl rozdělen do dvou skupin (kontrolní a léčená skupina). Do skupin byli zařazeni psi různých plemen (různé váhové kategorie a osrstění). Studie probíhala 4 týdny, kdy chovatel každý den zaznamenával klíšťata (lezoucí, přisátá suchá a přisátá živá) na svém psovi. Současně byl zaznamenán i styk psa s vodou (přírodní vodní zdroje, dešť, koupání psů/šamponování) jako možný faktor snížení účinnosti přípravku.

Terénní studie dokládá nesignifikantně nižší procento zachycených klíšťat u kombinace účinných látek imidaclopridu s permethrinem vůči přípravkům s fipronilem nebo kombinací látek metaflumizonu s amitrázem. Toto lze přičíst deklarovanému repelentnímu účinku imidaclopridu s permethrinem.

Studie potvrdila možnou chybnou interpretaci výsledků špatně informovanou odbornou i laickou veřejností, kdy jsou na psovi nalézána klíšťata. Pokud se jedná o živá lezoucí, klíšťata přisátá nenapitá a klíšťata suchá, je možno hovořit o dobré účinnosti přípravku na základě farmakodynamických a farmakokinetických vlastností účinných látek obsažených ve veterinárním léčivém přípravku.

Cirkulácia *Anaplasma phagocytophilum* v prírodných ohniskách strednej Európy

B. Víchová¹, V. Majláthová¹, E. Bullová¹, M. Nováková³, J. Čurlík², B. Petko¹

¹ Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika

² Univerzita veterinárskeho lekárstva, Katedra infekčných a parazitárnych chorôb, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

³ Katolícka univerzita v Ružomberku, Pedagogická fakulta, Katedra biológie a ekológie, Námestie A. Hlinku 56/1, 034 01 Ružomberok, Slovenská republika

Zástupcovia čeľade Anaplasmataceae cirkulujú v prírodných ohniskách väčšiny európskych krajín. K epidemiologicky najvýznamnejším zástupcom čeľade patrí *Anaplasma phagocytophilum*, pôvodca granulocytárnej anaplazmózy ľudí a zvierat. Vektorom je kliešť obyčajný (*Ixodes ricinus*). V našej práci sme použitím PCR metódy zisťovali prítomnosť patogénnej baktérie *Anaplasma phagocytophilum* u voľne žijúcich zvierat z vybraných lokalít stredného a východného Slovenska, Čiech a Poľska.

Pre štúdium boli vybrané fragmenty viacerých génov, kódujúce 16S rRNA a povrchové proteíny MSP2 (*p44*) a MSP4 (*mSP4*). Prítomnosť *A. phagocytophilum* bola potvrdená v tkanivách (sval, pečeň, slezina) u jeleňa hôrneho (*Cervus elaphus*), srnca lesného (*Capreolus capreolus*), diviaka lesného (*Sus scrofa*), líšky hrdzavej (*Vulpes vulpes*), ježa európskeho (*Erinaceus europaeus*) a takisto v kliešťoch zozbieraných z vegetácie. Priamy dôkaz DNA tejto patogénnej baktérie v tkanivách voľne žijúcich prežívavcov, mäsožravcov aj hmyzožravcov poukazuje na ich významnú úlohu v cirkulácii *Anaplasma phagocytophilum* v prírodných ohniskách stredného Slovenska. Výsledky sú podkladom pre následné sledovanie vnútrorodovej genetickej variability a prítomnosti tzv. AP variantov druhu *Anaplasma phagocytophilum* v rôznych biologických zdrojoch z viacerých, geograficky odlišných oblastí.

Práca bola finančne podporená grantom APVV LPP-0341-06 a grantom VEGA 2/6163/26.

Sliny flebotomů, imunitní systém hostitele a leishmanie

M. Vlková, J. Hostomská, I. Rohoušová, V. Volfová, P. Volf

Katedra Parazitologie, Přírodovědecká fakulta UK, Viničná 7, 128 44 Praha 2, ČR

Flebotomové (*Diptera: Phlebotominae*) jsou drobní krevsající členovci, kteří mají velký význam jako vektory leishmaniózy - jednoho z deseti nejzávažnějších onemocnění na seznamu Světové zdravotnické organizace (WHO). Původcem leishmaniózy je parazitický prvok rodu *Leishmania* (*Kinetoplastida: Trypanosomatida*), který se do hostitele dostává během sání flebotoma spolu s jeho slinami. Právě sliny přenašeče mají zásadní vliv na rozvoj onemocnění, snižují totiž infekční dávku a zároveň zvyšují virulenci parazita. Tento fenomén byl popsán jako „enhancing effect“. Během opakovaného sání však dochází ke stimulaci imunitního systému hostitele. Imunitní odpověď proti slinám pak snižuje pravděpodobnost rozvoje leishmaniové infekce - dá se říci, že do jisté míry blokuje „enhancing effect“. Myši imunizované pobodáním neinfikovanými flebotomy jsou tak v porovnání s naivními hostiteli odolnější vůči nákaze leishmaniami.

V endemických oblastech, kde jsou lidé opakovaně vystaveni pobodání přenašeče, by se tedy leishmanióza paradoxně neměla vyskytovat. Proč tomu tak není? Vysvětlením může být sezónnost výskytu flebotomů a s tím spojené vymizení reakce imunitního systému na antigeny přenašeče během zimního období. Naproti tomu opakovaná expozice antigenům přenašeče během letního období by mohla vést k desenzitizaci na daný antigen. Proto se v naší práci zaměřujeme na dynamiku imunitní odpovědi hostitele na sliny flebotomů. Na modelech pes-*Lutzomyia longipalpis*, myš-*Phlebotomus papatasi* a myš-*Phlebotomus duboscqi-Leishmania major* sledujeme vývoj specifické protilátkové odpovědi a její vliv na rozvoj leishmaniové infekce.

Z našich pokusů vyplývá, že sání flebotomů indukuje tvorbu především IgG protilátek. Prokázali jsme souvislost mezi hladinou specifických protilátek a počtem sání u celkových IgG a podtříd IgG1 a IgG2b, zatímco u IgE, IgG2a a IgG3 se hladiny protilátek pokusné a kontrolní skupiny významně nelišily. Poměr IgG1 a IgG2a protilátek v sérech myší pobodaných *P. papatasi* poukazuje na polarizaci k Th2 typu imunitní odpovědi. Na modelu pes-*L. longipalpis* jsme pak potvrdili souvislost mezi hladinou specifických protilátek a intenzitou sání, hladina protilátek se zvyšovala s počtem nasátých flebotomů. Můžeme tedy říci, že protilátky proti slinám flebotomů jsou ideálním ukazatelem expozice hostitele flebotomům, čehož se dá využít např. ve sledování účinnosti kampaní zaměřených na expoziční profylaxi.

Vliv délky expozice slinám vektora na vývoj leishmaniové infekce jsme sledovali na modelu myš-*P. duboscqi-L. major*. V sérech myší opakovaně sátych *P. duboscqi* se potvrdila korelace mezi růstem hladiny specifických IgG a délkou imunizace. Ve shodě s literárními údaji jsme u krátkce imunizovaných myší pozorovali protektivní efekt - velikost leishmaniových lézí byla významně menší v porovnání s kontrolní neimunizovanou skupinou. Avšak dlouhodobá expozice slinám flebotomů zřejmě způsobila jistou desenzitizaci a myši tak již nebyly chráněné vůči infekci - vývoj léze byl podobný jako u kontrolní skupiny. Z uvedeného vyplývá, že hostitel, který je dlouhodobě vystaven sání flebotomů, je vnímavý k leishmaniové infekci podobně jako neimunizovaný jedinec.

Ukazuje se, že v interakcích mezi flebotomem a hostitelem je stále co objevovat, především s ohledem na vývoj případné vakcíny založené na slinách přenašeče. Problematické je i dynamiku protilátek a vlivu imunizace na vývoj leishmaniové infekce se chceme i nadále věnovat a rádi bychom ověřili, jak tyto principy fungují u lidí.

Krevsajcí dvoukřídli jako přenašeči infekčních onemocnění

J. Votýpka

Katedra parazitologie PŘF UK Praha, Viničná 7, 128 44 Praha 2

Projevy různých infekčních onemocnění přenášených krevsajcími členovci jsou lidstvu známy již tisíce let a s jejich poměrně podrobnými popisy se můžeme setkat již na staroegyptských papyrech. Na odhalení prvních patogenních agens a na jednoznačný důkaz prokazující souvislost mezi přítomností mikroorganismů v tělech pacientů a samotným onemocněním, si však bylo nutné počkat až do začátku 19. století. Avšak v případě infekčních onemocnění vázaných svých přenosem na různé vektory, zůstával jejich životní cyklus záhadou ještě mnoho dalších desetiletí. Jedním z prvních objasněných cyklů se stal přenos vlasovců (původců sloní nemoci) komáry rodu *Culex* Patrickem Mansonem roku 1877. Mezi prvky pak primát získal cyklus babesii využívající jako přenašeče klíšťata rodu *Boophilus* a popsaný roku 1891 Theobaldem Smithem. Rok 1898 se stal rokem, kdy byl po mnohaletém úsilí objasněn přenos malárie. Následujících několik málo let přineslo popisy životních cyklů většiny infekčních onemocnění včetně moru, žluté zimnice, spavé nemoci a mnoha dalších. Z význačných lidských infekčních onemocnění přenášených krevsajcími členovci čekaly na své objasnění nejdéle leishmaniózy. A tak jedním z posledních objevených a popsáných životních cyklů se stala zoonóza *L. major* přenášená druhem *Ph. papatasi* a popsaná roku 1941 S. Adlerem v Izraeli. Další na řadě byla antroponóza kala-azar působená leishmanií druhu *L. donovani* a přenášená flebotomem *Ph. argentipes*. Životní cyklus byl popsán v Indii roku 1942 H. E. Shortem.

Leishmaniózy jsou onemocněním známá svým velmi různorodým průběhem, který souvisí jak s genetikou variabilitou příslušných přenašečů a hostitelů, tak i samotných původců onemocnění, prvoků ze skupiny Kinetoplastida. Přenos lidských viscerálních druhů působící rozsáhlé epidemie v Indii a ve východní Africe byl poměrně detailně zdokumentován, naopak způsob přenosu řady starosvětských i novosvětských kutánních a mukokutánních leishmanióz je stále předmětem intenzivního zkoumání. Jak se podařilo zjistit našemu výzkumnému týmu (pod vedením Petra Volfa a Mileny Svobodové) tento výzkum přináší stále nové poznatky. V oblasti mediteránu je kutánní leishmanióza (tzv. suchý vřed) působená druhem *Leishmania tropica* považována za typickou antroponózu přenášenou flebotomem *Ph. sergenti*. Tento většinou městský typ leishmaniózy, neschopný infikovat hlodavce, způsobil koncem devadesátých let rozsáhlou epidemii ve městě Urfa v jihovýchodním Turecku. Na základě našich výzkumů se prokázalo, že v tomto městě se s největší pravděpodobností jednalo o zoonotické ohnisko *L. tropica*, kde se jako rezervoároví hostitelé uplatňovali krysy (*Rattus rattus*) a případně další hlodavci žijící v příměstských oblastech Urfy. V rámci několikaletého výzkumu epidemií kožních leishmanióz v severním Izraeli, působené rovněž druhem *L. tropica*, se nám podařilo opět prokázat zoonotický původ dvou studovaných ohnisek. Jako rezervoárová zvířata se v těchto případech uplatňovali damani žijící v kamenitých valech vytvořených kolem nově budovaných osad. Navíc se nám podařilo prokázat, že původcem leishmanióz v prvním ohnisku ve městě Tiberias a v druhém ohnisku zahrnující několika blízkých vesnic vzdálených od města jen několik desítek kilometrů, jsou dva zcela odlišné kmeny leishmanií, lišící se mezi sebou mimo jiné i svými přenašeči. Zatímco v oblasti města se jednalo o typického přenašeče, flebotoma druhu *Ph. sergenti*, v druhém ohnisku ve vesnické oblasti jsme jako první prokázali možnost přenosu *L. tropica* flebotomem z podrodu *Adlerius*, konkrétně druhem *Ph. arabicus*.

Leishmanióza působená druhem *L. infantum*, je považována za typickou zoonózu, která v oblasti mediteránu působí u svých přirozených hostitelů, psů, vážná a těžko léčitelná viscerální onemocnění. Člověk se nakazí spíše výjimečně a také u něj se onemocnění projevuje většinou jako viscerální forma. V turecké oblasti Cukurova se v řadě vesnic vyskytuje mírná kutánní forma leishmaniózy postihující v některých vesnických oblastech až 10% obyvatelstva. Jako původce tohoto onemocnění se nám překvapivě podařilo prokázat právě druh *L. infantum*. Zjistili jsme také, že přenašečem je flebotom druhu *Ph. tobbi*, který byl v souvislosti s kožní formou *L. infantum* prokázán jako vektor vůbec poprvé. Vzhledem ke zjištěné značně vysoké antropofilii tohoto druhu v oblasti Cukurova, absenci jakýchkoliv projevů onemocnění u místních psů a poměrně vysokému počtu lidských případů onemocnění, je možné uvažovat v rámci tohoto ohniska *L. infantum* o zcela atypické, antropotické formě přenosu.

Úskalí laboratorní diagnostiky mozkové toxoplazmózy

B. Voxová¹, Z. Čermáková¹, M. Forstl¹, L. Plíšková², R. Bolehovská², P. Prášil³,
S. Plíšek³

¹ Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

² Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

³ Klinika infekčních nemocí, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

V České republice je toxoplazmóza nejrozšířenějším parazitárním onemocněním.

Dle výsledků sérologických studií přišlo do kontaktu s prvokem 25 - 50% naší populace. Závažná forma onemocnění se může rozvinout u pacientů s těžkým poškozením imunitního systému.

Případová studie.

Pacient, muž, 45 let, s chronickou myeloidní leukémií, 20 měsíců po alogenní transplantaci progenitorových buněk kostní dřeně od HLA identického nepříbuzného dárce byl hospitalizován (přeložen z oblastní nemocnice) ve FN pro epileptický stav. Vyšetřením MRI mozku bylo zjištěno kulovité ložisko levého thalamu velikosti 14 mm s centrálním rozpadem (+ mnohočetná další ložiska) a diagnostikována iridocyklitida.

Pacient byl opakovaně vyšetřován na toxoplazmózu metodou KFR, EIA (hraniče positivity pro všechny třídy Ig 1,000) a PCR.

Výsledky ze 1/2004 (před transplantací):

KFR 1:128, IgM 0,491 negativní, IgA 0,365 negativní

Vyšetření ze 6/2004 (3 měsíce po transplantaci): KFR 1: 64, IgG 4,375, IgM 0,631, IgA 0,527, IgE 0,165, IgG avidita 64,4 – vysoká; PCR z nesrážlivé krve i likvoru negativní

Vyšetření z 2/2006 (při hospitalizaci):

KFR 1:512, IgG 2,216 pozitivní, IgM 4,816 pozitivní, IgA 1,555 pozitivní, IgE 1,220, IgG avidita 34,7- hraniční; PCR z krve a likvoru negativní, PCR z biopsie mozkového ložiska **pozitivní**

Vyšetření 5/2006 (kontrolní):

KFR 1: 128, IgG 1,627, IgM 1,158

Závěr:

Toxoplasma gondii je intracelulární parazit, při vyšetření biologických materiálů od imunokompromitovaných pacientů je nutné respektovat skutečnost, že vyšetření likvoru není pro vyloučení infekce prvokem *T. gondii* dostatečně spolehlivé.

Externí hodnocení kvality diagnostické činnosti mikrobiologických laboratoří v ČR (1993-2007)

K. Zitek, I. Peter, M. Šlosárek

CEM SZÚ Praha

Autoři popisují patnáctiletou zkušenost se zavedením systému EHK do diagnostiky mikrobiologických laboratoří v České republice od zřízení Akreditačního pracoviště v Centru epidemiologie a mikrobiologie Státního zdravotního ústavu v Praze, přes technické zajištění jeho činnosti a koordinaci jednotlivých postupů v externím hodnocení diagnostikujících laboratoří, které v průběhu let vstoupily do tohoto kontrolního systému.

Dále je popsána činnost Národních referenčních laboratoří v ČR při přípravě kontrolních vzorků pro AP CEM anonymně rozesílaných z jednotlivých oborů a specializací mikrobiologie do každoroční kontrolní série EHK, hodnocení obdržených výsledků z terénu, jejich analýza a interpretace, počty okruhů, kontrolních vzorků a přihlášených laboratoří v kontrolovaných oborech.

Úspěšným diagnostickým laboratořím jsou každoročně AP předávána osvědčení a certifikáty pro další činnost (placenou pojišťovnami) s nabídkou účasti v systému EHK pro příští rok.

Závěry z této dlouholeté kontrolní činnosti hovoří o edukativním významu EHK pro zvýšení úspěšné diagnostiky na celém území republiky, výrazném příspěvku k vyrovnání kvality práce státních i soukromých laboratoří při používání standardních i nadstavbových diagnostických metod a odstraňování některých nedostatků při používání komerčně nabízených nevyhovujících diagnostických setů.