

Česká zemědělská univerzita v Praze



Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství

Výskyt vajíček škrkavek rodu *Toxocara* v pražských
pískovištích
Diplomová práce

Autor práce: Bc. Renata Šmídová
Vedoucí práce: Ing. Jaroslav Vadlejch Ph.D.

2010

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Výskyt vajíček škrkavek rodu *Toxocara* v pražských pískovištích“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne:

Poděkování:

Děkuji svému vedoucímu práce Ing. Jaroslavu Vadlejchovi Ph.D. za odborné vedení, za zapůjčení literatury, pomoc a cenné připomínky při zpracování daného tématu.

Souhrn

Škrkavky rodu *Toxocara* jsou parazité, kteří se vyskytují na celém světě. Nejznámějšími zástupci jsou druhy *Toxocara canis* (škrkavka psí) a *Toxocara cati* (škrkavka kočičí). Definitivním hostitelem *T. canis* jsou psovitě šelmy a *T. cati* kočkovité šelmy. V definitivním hostiteli jsou škrkavky schopny dokončit svůj vývojový cyklus a produkovat do vnějšího okolí až 200 000 vajíček denně. Dospělé škrkavky žijí v tenkém střevě definitivního hostitele. Odtud larvy pronikají přes střevní sliznici do krevního oběhu. Putují po celém těle a způsobují tak velice závažné zdravotní komplikace.

U psů jsou nejčastější silné prenatální infekce. V ledvinách fen se velmi často vyskytuje velké množství larev, které během gravidity putují přes placentu do plodů, po porodu dochází k infekcím pomocí mateřského mléka. U nakažených štěňat se vyskytuje zvětšené a bolestivé břicho, zvracení, hubnutí, anemie a kašel. Dospělé larvy mohou způsobit i rupturu střeva a může dojít k úhynu zvířete. Dospělí psi se nejčastěji nakazí pozřením zralých vajíček, která se nacházejí ve vnějším okolí. Larvy u dospělých psů se ve střevě nacházejí jen velmi zřídka. Často se krví transportují do některého orgánu, kde se opouzdří a přežívají zde i několik let. Ve světě se vyskytuje 5,5 – 64,7 % psů, kteří už se někdy setkali s toxokarózou.

Hlavním zdrojem nákazy koček jsou myšovití hlodavci, kteří jsou paratenickým hostitelem škrkavek. Paratenickým hostitelem je organismus, v němž se parazit nemnoží, pouze se v něm shromažďují infekční stadia parazita. U koťat nedochází k nákaze před porodem, ale pouze po porodu mateřským mlékem. Kočičí toxokaróza je až na výjimky shodná s toxokarózou u psa. Projevuje se zvracením, průjmem, kašlem, dehydratací podkoží, bolestivým břichem. U dospělých koček se larvy nacházejí velmi často i ve střevech a také zapouzdřené v různých orgánech. Koček, které se někdy setkaly s toxokarózou je na světě 25,2 – 66,2 %.

Paratenickým hostitelem obou druhů škrkavek může být i člověk, který se nejčastěji nakazí pozřením zralého vajíčka. Z toho se posléze ve střevě vylíhne larva, která putuje krví po těle do různých orgánů a způsobuje velice závažné komplikace, které se souhrnně nazývají larvální toxokaróza. Larvální toxokarózou jsou nejvíce ohroženy děti, protože si hrají v prostředí, kde se nacházejí zralá vajíčka škrkavek. Za nejvíce kontaminované prostředí jsou považovány městské parky a dětská hřiště, zejména pak pískoviště.

Proto je tato práce zaměřena na výskyt vajíček v dětských pískovištích na území Prahy. Konkrétně byly sbírány vzorky na Praze 1 až 7. Z každé části bylo odebráno 6 vzorků, celkem

tedy 42 vzorků. Ve všech případech se jednalo o oplocená pískoviště. Bylo zjištěno 15 pozitivních vzorků (35, 71 %). Nejvíce jich bylo na Praze 5 a 7. Bylo zjištěno, že neexistuje statisticky významná souvislost mezi částí Prahy a pozitivitou vzorků s 95 % pravděpodobností.

Klíčová slova: *Toxocara cati*, *Toxocara canis*, toxokaróza, pes, kočka, vajíčko, pískoviště

Summary

Ascaridoid nematodes of genus *Toxocara* are parasites, that are widespread throughout the world. The best known species are represented by *Toxocara canis* and *Toxocara cati*. Definitive host of *T. canis* is canis and for *T. cati* felines. In the definitive host, ascaridoid nematodes are able to complete its life cycle and produce around 200 000 eggs daily to external environment. Adult ascaridoid nematodes live in the small intestine of the definitive host. From there the larvae penetrate through the intestinal mucosa into the bloodstream. They wander throughout the body and cause very serious health complications.

The most frequent infection of dogs is strong prenatal infection. Kidneys of females very often host a large number of larva, which travel during pregnancy through the placenta to the fetus, after birth infections are caused via breast milk. The infected puppy shows enlarged and painful abdomen, vomiting, weight loss, anemia, and cough. Adult larvae can cause rupture of the intestinum, which might lead to the death of the animal. Adult dogs are usually infected with ingestion of embryonated eggs from external environment. Larvae in adult dogs' intestine are very rare. Larvae are often transported via blood into organs, where they encapsulate and survive there for several years. There are 5,5 to 64,7% of dogs around the world, who have met with toxocariasis.

The main source of cats' infection are rodents, which are paratenic host of ascaridoid nematodes. Paratenic host is an organism, in which the parasite breeds, only to gather an infectious parasite stages in. For cats there is no infection before birth, just only after-birth infection via mother's milk. Cat's toxocariasis is, with few exceptions, the same as toxocariasis of dog. Manifested with vomiting, diarrhea, cough, subcutaneous tissue dehydration, painful abdomen. In adult cats, the larvae are very often found in the intestines and also encapsulated in the various organs. There are 25,2 to 66,2% of cats around the world, which sometimes met toxocariasis.

Humans might be paratenic host of both types of ascaridoid nematodes, most often infected via ingestion of embryonated eggs. Later larvae hatch in the intestine, travel throughout the body in the blood to different organs and cause very serious complications, which are called human toxocariasis. Children are the most vulnerable to human toxocariasis, as they play in environment, where embryonated eggs of ascaridoid nematodes occur. As the most contaminated environments are considered urban parks and playgrounds, especially sandboxes.

Therefore, this work was focused on the presence of eggs in children's sandboxes in Prague. Concretely, samples were collected in Prague's parts 1 to 7. 6 samples were collected from each part of Prague, with a total of 42 samples. There was a sandbox with a fence in all cases. 15 positive samples (35, 71%) were found. Most of them occurred in Prague 5 and 7. It was found, that there was no statistically significant association between parts of Prague and the positive samples with 95% probability.

Keywords: *Toxocara cati*, *Toxocara canis*, toxocariasis, dog, cat , egg, sandbox

Obsah:

- 1 Úvod
- 2 Cíl práce
- 3 Literární rešerše
 - 3.1. Systematické zařazení hlístic
 - 3.2. Škrkavka psí (*Toxocara canis*).
 - 3.2.1. Popis
 - 3.2.2. Vývojový cyklus
 - 3.2.3. Způsob nákazy
 - 3.3. Škrkavka kočičí (*Toxocara cati*)
 - 3.3.1. Popis
 - 3.3.2. Vývojový cyklus
 - 3.3.3. Způsob nákazy
 - 3.4. Determinace škrkavek rodu *Toxocara*
 - 3.5. Toxokaróza u psů a koček
 - 3.6. Larvální toxokaróza u člověka
 - 3.6.1. Historie
 - 3.6.2. Epidemiologie
 - 3.6.3. Diagnostika larvální toxokarózy
 - 3.6.4. Klinika larvální toxokarózy
 - 3.6.4.1. Viscerální forma larvální toxokarózy (VLM)
 - 3.6.4.2. Oční forma larvální toxokarózy (OLM)
 - 3.6.4.4 Smíšená forma larvální toxokarózy
 - 3.6.5. Terapie larvální toxokarózy
 - 3.7. Význam a výskyt vajíček *Toxocara* spp. v prostředí
 - 3.8. Hygienické požadavky na dětská pískoviště
 - 3.8.1. Zásady provozu volných hracích ploch s pískovištěm
 - 3.9. Zdravotnická opatření
- 4 Metodika
 - 4.1. Odběr materiálu
 - 4.2. Laboratorní zpracování
- 5 Výsledky
- 6 Diskuse
- 7 Závěr
- 8 Terminologický slovníček
- 9 Seznam použitých zkratk
- 10 Použitá literatura

1 Úvod

Tato diplomová práce je vypracována na téma „Výskyt vajíček škrkavek rodu *Toxocara* v pražských pískovištích“. Škrkavky rodu *Toxocara* se řadí mezi geohelmintry, což znamená že jejich vývojový cyklus je přímý. Tyto škrkavky jsou rozšířené po celé světě, zejména pak *Toxocara canis* a *Toxocara cati*. Definitivním hostitelem *T. canis* jsou hlavně psovité šelmy a u *T. cati* kočkovité šelmy. Paratenickými hostiteli obou škrkavek mohou být nejrůznější savci, ale také bezobratlí živočichové. Mezi paratenického hostitele řadíme také člověka, který se nejčastěji nakazí pozřením zralých vajíček, která obsahují stočenou larvu III. vývojového stadia. Tato vajíčka se nacházejí převážně v půdě, kde také dochází k jejich dozrávání. Nejohroženější skupinou jsou děti, jelikož si hrají na pískovištích, kam velmi často psi i kočky defekují. Oba druhy u člověka způsobují onemocnění zvané larvální toxokaróza, která se projevuje syndromem larva migrans visceralis (VLM) nebo larva migrans ocularis (OLM).

V první části této práce je posána biologie obou druhů škrkavek a je zde podrobněji popsána larvální toxokaróza. Jsou zde zmíněny také hygienické požadavky na dětská pískoviště a několik metod pro diagnostiku vajíček z prostředí, které byly použity ve světě. Důležitou kapitolu tvoří zdravotní opatření, protože co se týče larvální toxokarózy je třeba dbát na prevenci, jelikož její léčení je mnohdy velice obtížné.

Druhá část je zaměřena na vlastní výzkum pískovišť na území Prahy. Byli sbírány vzorky z Prahy 1 až 7 a všechny byly vyšetřeny pomocí upravené odstředivé flotační metody dle Kazacose.

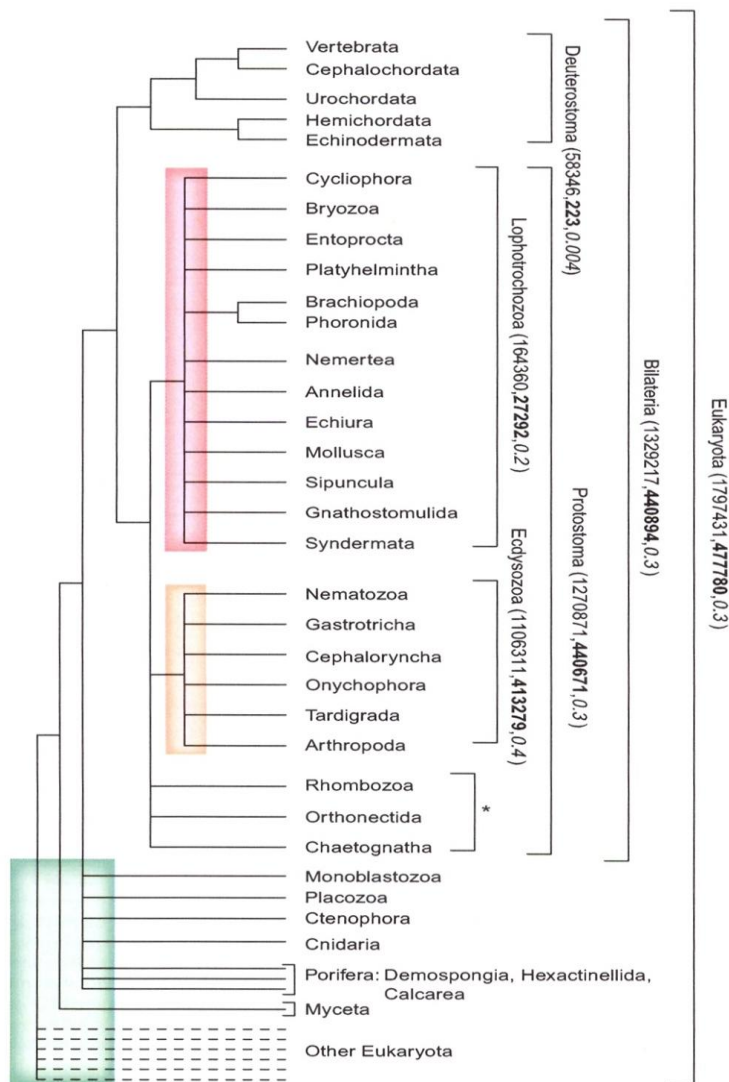
2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce je zjištění výskytu vajíček škrkavek rodu *Toxocara* na pískovištích v různých částech Prahy.

3 Literární rešerše

3.1. Systematické zařazení hlístic

Hlístice obsahují širokou škálu druhů. Mezi hlístice patří i významní parazité rostlin a živočichů, kteří způsobují závažné choroby a jsou příčinou sociálně ekonomických ztrát po celé světě (Jex et al., 2008).



obr.1.: Nový pohled na fylogenetické vztahy mezi eukaryotickými organismy (de Meeûs a Renaud, 2002)

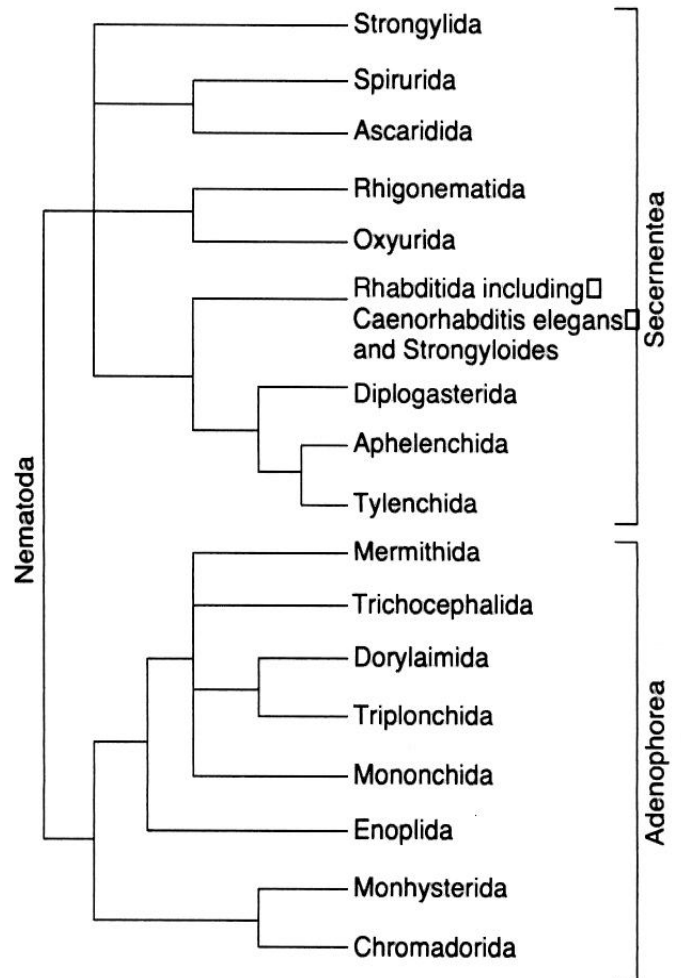
Kmen Nematoda, mezi který byly vždycky hlístice řazeny, patřil vždy mezi skupinu nižších bezobratlých organismů, která se nazývá Aschelminthes (Brusca a Brusca, 1990). V několika posledních letech došlo k reorganizaci systému eukaryotických organismů na základě poznatků molekulární fylogenetiky a kladistických analýz vzájemných vztahů žijících zástupců kmenů. Tyto změny byly důležité především pro parazitologii z důvodu přehodnocení pozice kmene Nematoda v rámci zoologického systému (Nielsen, 1995; de Meeûs a Renaud, 2002). Podle molekulárně fylogenetické analýzy jsou hlístice důležitou součástí nového taxonu Ekdysozoa (Aguinaldo et al., 1997) Tato hypotéza zásadně zasáhla do

systému mnohobuněčných organismů a je velmi často diskutována. Podle nové studie mnohobuněčných organismů tvoří hlístice spolu se strunovci (Nematomorpha) taxon

Nematozoa. Společně s břichobrvkami (Gastrotricha), chobotovci (Cephaloryncha), drápkovci (Onychophora), želvušky (Tardigrada) a členovci (Arthropoda), vytvářejí nadkmen Ekdysozoa (viz obr. 1) (Adoutte et al., 2000; de Meeûs a Renaud, 2002; Blaxter 2003).

Jelikož má většina hlístic mikroskopické rozměry, tak se taxonomie vždy spoléhala na jejich morfologické odlišnosti, které jsou pozorovatelné ve světelném mikroskopu. Mezi znaky, které byly nejvíce používány, se řadí morfologie ústního otvoru a hltanu, ale i kutikula, oblast pysků, střevo, rozmnožovací soustava, smyslové orgány a ocas (Coomans, 2000).

Chitwood a Chitwood (1933) ve třicátých letech minulého století rozdělili kmen Nematoda na dvě třídy, Phasmida a Aphasmda, dle přítomnosti či absence struktur exkreční soustavy fazmid. Později Chitwood tyto taxony přejmenoval na Secernentea („secretor“ mající exkreční systém s laterálními kanálky) a Adenophorea („gland beares“ s přítomností ocasních žláz) (viz obr. 2). Do třídy Secernentea zahrnoval převážně suchozemské organismy, zatímco do druhé třídy, Adenophorea, širokou škálu mořských, sladkovodních

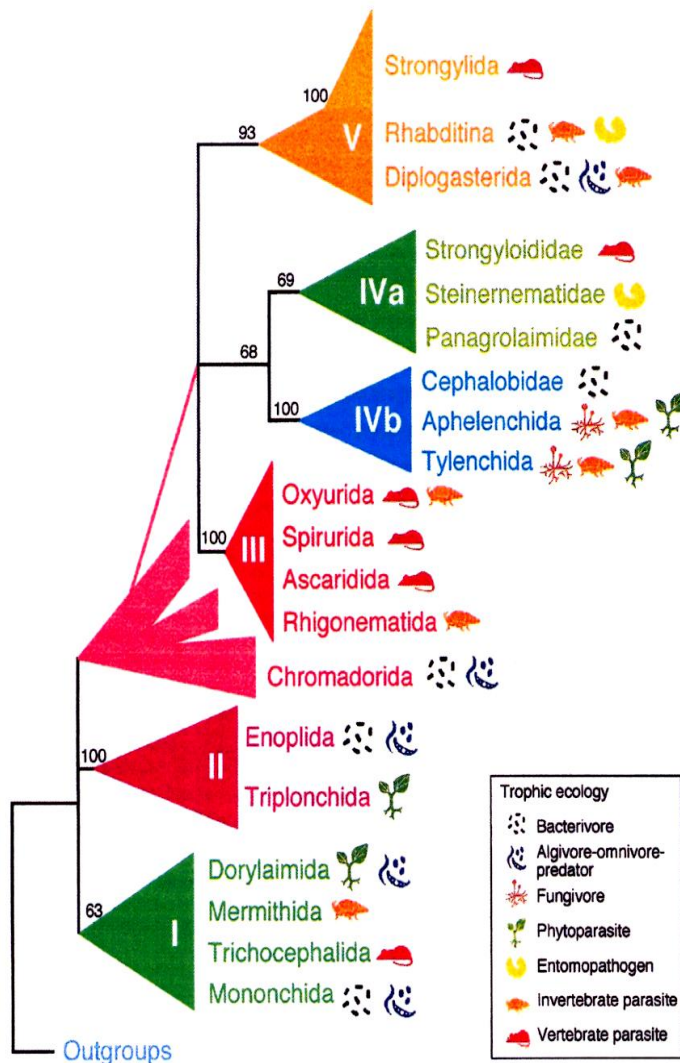


obr. 2: prozatimní konsensus kmene Nematoda přijatý taxonomy (Dorris et al., 1999)

a půdních hlístic, ale jen malé množství parazitů zvířat a rostlin (Dorris et al., 1999). Tento dvojdílný systém nebyl nikdy univerzálně přijat i přesto, že se k němu přiklánělo mnoho nematologů více než 40 let. Andrassy (1974; 1976) dělí hlístice na 3 hlavní skupiny a zároveň předpokládá, že Adenophorea je parafyletickou skupinou. V tomto trojdílném systému se objevují názvy tříd Enoplea, Chromadorea a Rhabditea. Morfologické znaky jsou nedostatečné pro vyřešení všech vztahů mezi organismy v rámci kmene, což bylo důvodem spousty sporů při klasifikaci hlístic (Coomans, 2000). Podle Meldala et al. (2007) by měla být

třída Secernentea zrušena, protože byla odvozena od společného předka Axonolamidae, *Desmoslaismus zeelandicus* a *Isolaimium* a ne od přímého předka všech hlístic.

V šedesátých letech minulého století se objevují biochemické metody, které umožňují rozpoznat jednotlivé druhy organismů na základě proteinů. Později jsou nahrazovány

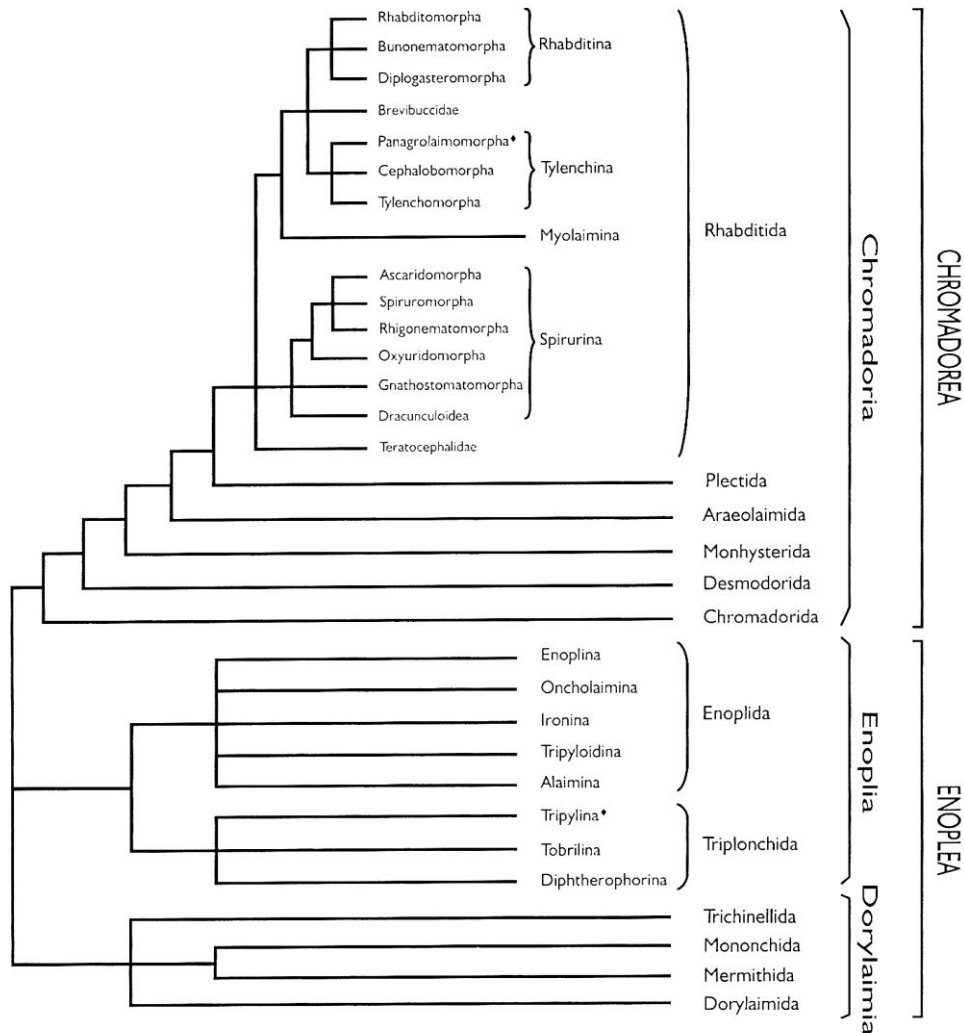


obr. 3: Nová fylogenetická sktruktura kmene Nematoda založená na SSU rDNA podle Blaxtera et al. (1998)

jsou paraziti hmyzu. Klády III až IV náležejí do „třídy Secernentea“. Jsou seřazeny primárně podle trofické ekologie. Klád III je tvořen parazity živočichů řádů Ascaridida (škrkavky včetně *Toxocara* spp.), Oxyurida (roupi a jim příbuzní), Rhigonematida (paraziti stonožek), Spirurida (filarie a jim příbuzní). Do zbylých dvou kládů se řadí volně žijící taxony, kterým v klasické taxonomii odpovídají podřády Cephalobina (klád IV) a Rhabditina/diplogasterina (klád V). Následovaly další vědecké práce (Aleshin et al., 1998; De Ley a Blaxter, 2002),

metodami analýzy nukleových kyselin (Coomans, 2000). Tělo hlístic má pouze omezenou rozmanitost povrchových struktur, ale genom hlístic v sobě skrývá evoluční historii celého kmene. Aplikace molekulárních metod na hlístice tak umožnila vytvořit klasifikaci kmene Nematoda (De Ley a Blaxter, 2002). Za prvotní impulz byla považována práce Blaxtera et al. (1998), která byla založená na 53 sekvencích SSU rDNA především parazitických druhů hlístic. Nově vzniklý, první molekulárně fylogenetický, systém dělí hlístice do pět hlavních kládů (viz. obr. 3). Dva patří do „třídy Adenophorea“ (klád I aII). Oba dva obsahují fytoparazitické taxony a klád I ještě obsahuje řády Trichocephalida (*Trichinella* spp. a *Trichuris* spp.) a Mermithida, což

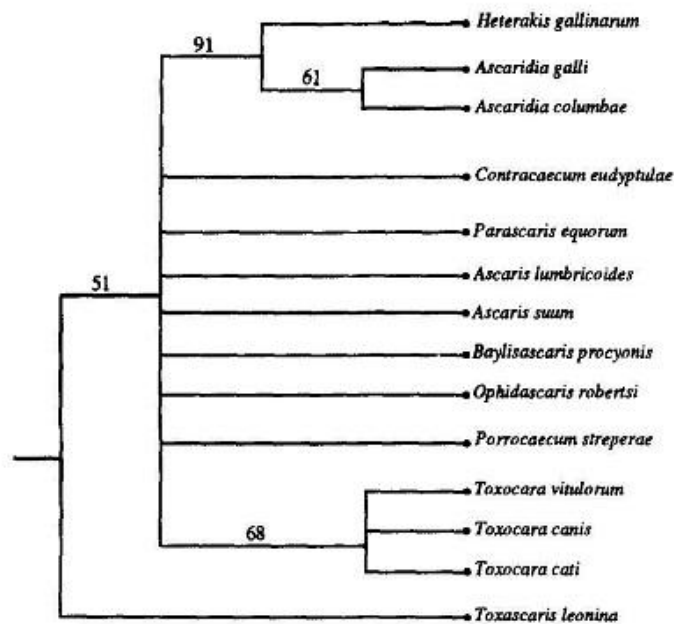
kteře obohatily a doplnily svými analýzami tento systém. Nejnovejší klasifikace hlístic zahrnuje tři klády nazvané Dorylaimia, Enoplia a Chromadoria (viz obr. 4) představující samostatné podtřídě. Tento systém ale ještě není zcela úplný (Blaxter, 2003).



obr. 4: Nový přehled fylogenetických vztahů uvnitř kmene Nematoda založený na SSU rDNA dle De Leye a Blaxtera (2002)

Zhu et al. (1998), zabývající se rozdíly v sekvenci 5.8S rDNA mezi škrkavkami, ve své práci publikují fenogram zobrazující dělení 14 rodů škrkavek na dvě nadčeledě (Heterakoidea a Ascaridoidea). Mezi nimi je zobrazeno další dělení čeledě Ascarididae na podčeledě i se všemi čtyřmi zástupci Toxocarinae (včetně *Toxocara* spp. a *Porrocaecum streperae*). Pro sestavení tohoto fenogramu byla použita metoda UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages). Dále je zde uveden kladogram zobrazující

společné znaky mezi škrkavkami (viz obr. 5).



obr. 5: Kladogram znázorňující vztahy mezi škrkavkami na základě kladistické analýzy s použitím PAUP dle Zhu et al. (1998)

Jex et al. (2008) uvádějí, že navzdory dostupnosti a vyspělosti technologií zkoumající DNA, je stále nedostatek znalostí o mitochondriálním genomu některých hlístic, které mají důležitý sociálně-ekonomický význam, například některé druhy patřící do řádu Ascaridida. Kompletní mitochondriální genom je znám například u *Anisakis simplex* (parazit mořských savců) a *Ascaris suum* (parazit prasat), ne však u *Toxocara canis*.

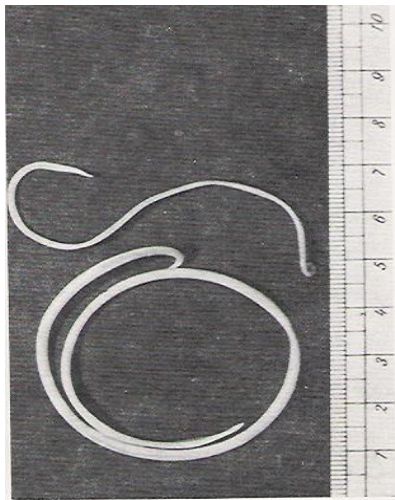
Škrkavky u psa byly popsány již koncem 18. století pod různými rodovými (př. *Lumbricus*, *Ascaris*, *Belascaris*) i druhovými jmény (*marginata*, *vulpis*, *masculior*). Dnes se všeobecně používá prioritně uznávaného pojmenování *Toxocara canis*. Ostatní rodové i druhové názvy jsou jen synonymické.

Škrkavky nacházené v kočkách byly popsány zhruba ve stejnou dobu opět s různými rodovými (*Ascaris*, *Fusaria*, *Belascaris*) a druhovými jmény (*teres*, *felis*, *mystax* apod.). Prioritní pojmenování tohoto druhu je *Toxocara cati*. V literatuře je často také uváděna pod názvem *T. mystax*, toto druhové jméno patří mezi synonyma (Uhlíková a Hübner, 1983).

3.2. Škrkavka psí (*Toxocara canis*).

3.2.1. Popis

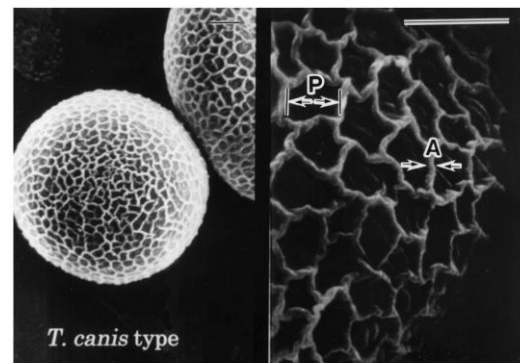
Jedná se o parazita, který je rozšířený po celém světě (Despommier, 2003; de Queiroz et al., 2006; Li et al., 2007; Borecka et al., 2008). *T. canis* je běžnou hlísticí, která parazituje u psů a je Beaverem od roku 1952 považována za původce syndromu visceral larva migrans (VLM) u lidí (Del Aguila et al., 1988; Iddawella et al., 2007). Škrkavka psí má válcovité tělo



obr. 6: Dospělé škrkavky, samice a samec *T. canis* (Uhlíková a Hübner, 1983)

bělavé barvy nebo hnědavé barvy (Jíra, 1998). Ústní otvor je obklopen třemi charakteristickými pysky (labii) (Eberhard a Alfano, 1998; Bregeon et al., 2008). Dorzální labium je vybaveno dvěma senzorickými papilami, obě ventrální nesou jednu větší a dvě menší papily. Lancetovitá cervikální křídélka (alae) měří 2 – 4 x 0,2 mm (Jíra, 1998). Tyto cervikální křídélka začínají být zřetelná od délky škrkavky okolo 13 mm. Vulva samic leží na konci první třetiny těla (Uhlíková a Hübner, 1983). Samec má na spirálně stočené zadní části prstovitý výběžek s kaudálními křídélky a 20 – 30 preanálními a 5 postanálními papilami, a dvě téměř stejně velké spikuly měřící 750 – 950 μ m. Samice (viz obr. 6) měří

6 – 10 cm, maximálně 20 cm (Jíra, 1998). Podle Svobodové a Svobody (1995) samice měří 10 – 18 x 0,25 – 0,3 cm a velikost samců je 9 – 13 x 0,2 – 0,25 cm. Bregeon et al. (2008) uvádí, že velikost samic se pohybuje mezi 6 až 18 cm a že samci měří 4 až 15 cm. Vajíčka jsou kulovitá nebo subsférická, měří 75 – 90 μ m, jsou opatřena silnou skořápkou se síťovitou strukturou povrchu připomínající golfový míček (viz obr. 7) (Jíra, 1998). Povrchová struktura je dobře odlišitelná například rastrovacím mikroskopem – vajíčka *Toxocara canis* mají hrubší strukturu než vajíčka *Toxocara cati* (Uhlíková a Hübner, 1983, Uga et al., 2000). V čerstvém stavu obsahují jednu velkou tmavě šedou



obr. 7: Povrchová struktura vajíček *T. canis* (Uga et al., 2000)

blastomeru, která vyplňuje téměř celý obsah vajíčka a jsou vylučována trusem hostitele do vnějšího prostředí (Svobodová a Svoboda, 1995). Tato vajíčka nejsou infekční (Sharif et al., 2007).

3.2.2. Vývojový cyklus

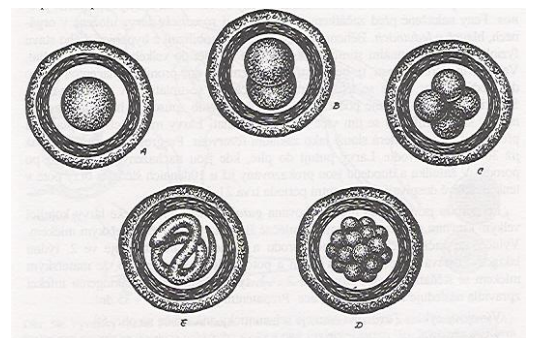
Kompletní vývojový cyklus škrkavky *Toxocara* spp. v definitivních hostitelích nebyl dlouho zcela jasný.



obr. 8: Zralé vajíčko s viditelnou stočenou larvou (Despommier, 2003)

Vývojový cyklus u obou škrkavek začíná od nezralého, oplozeného vajíčka, které je kladeno samicí do střevního obsahu hostitele. Odtud se dostává do vnějšího prostředí, kde se za vhodných podmínek může uskutečnit jeho zrání neboli blastogeneze. Zralé (embryonované) vajíčko se od nezralého mikroskopicky odlišuje ve vnitřní struktuře dobře patrnou stočenou larvou (viz obr. 8) (Uhlíková a Hübner, 1983). K úspěšnému vývoji larvy je potřeba dostatečné množství vzduchu (kyslík), určitá teplota a vlhkost (Bregeon et al., 2008). Optimální podmínky pro vývoj larvy se pohybují v rozmezí 15 – 35 °C při relativní vlhkosti 85 % . Infekční larva se ve vajíčku vyvíjí 14 – 21 dní, měří 400 x 15 – 20

µm a má malá křídélka. V půdě může larva přežívat až dva roky (Jíra, 1998). Pokud je teplota nižší, pak vajíčka prodělávají delší inkubační dobu. V severních zeměpisných šířkách prodělávají stadium dormance až do jara. V této době se opět zvyšují teploty a zrání může být opět zahájeno (Despommier, 2003). Nižší teplota a vlhkost zrání zpomalují, dlouhotrvající vlhkost s nižší teplotou může způsobit plesnivění vajíček. Dlouhá údobí sucha a horka (stálá teplota nad +50 °C) nebo naopak silný mráz a přímé sluneční záření vajíčka rovněž devitalizují. Celkově jsou vajíčka *Toxocara* spp. extrémně rezistentní na nepříznivé podmínky prostředí i dezinfekční prostředky.

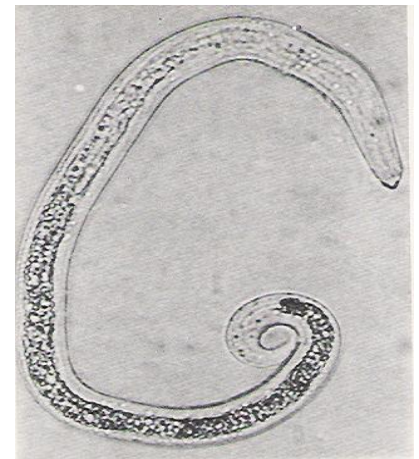


obr. 9: Rýhování vajíček škrkavek (Svobodová a Svoboda, 1995)

Při blastogenezi dochází postupně k rýhování (viz obr. 9) zárodečné hmoty vajíčka, gastrulaci, vzniku orgánových základů a organogenezi. Výsledkem procesu je

vytvoření larvy uvnitř několika vaječných obalů, které tvoří dohromady silnostěnný povrch vajíčka. Nejvnitřnější obal (membrana vitellina) je produktem vlastního zárodka a vytváří se až po oplození vajíčka. Tento obal je polopropustný. V časném vývoji embrya propouští dovnitř vodu, ale nikoliv látky, které jsou v ní rozpuštěné. Obsahuje substance lipoidního charakteru. Zárodek je díky tomu chráněn proti chemickým dezinfekčním prostředkům, ne však proti tukovým rozpouštědlům. Vnější blána je velmi pevná a má bílkovinný charakter. Lze ji snadno odstranit v kyselých či zásaditých roztocích. Na povrchu je strukturována a umožňuje přichycení vajíčka na různých substrátech. Larva uvnitř vajíčka je na povrchu kryta kutikulární pochvou nebo-li košílkou. Během vývoje uvnitř vaječných obalů prochází larva dvěma morfologickými fázemi. Vždy po přechodu do dalšího stadia uvolňuje larva kutikulární pochvu předchozího stadia. Dřívější autoři, kteří se zabývali morfologií rodu *Toxocara*, předpokládali pouze jedno svlékání. Proto larvy, které se uvolnily z vajíčka a pronikly do tkání, označovali jako larvy II. vývojového stadia (Uhlíková a Hübner, 1983). Araujo (1972) při svých pokusech, které prováděl na larvách mechanicky uvolněných z vajíček patnáctý den zrání, našel dvě odlišné kutikuly. Autor vyvozuje, že tedy existují dvě svlékání larev před uvolněním z vajíčka (Bruňaská et al., 1995) a je třeba za infekční považovat larvu III. stadia (Jíra, 1998).

Larvy III. vývojového stadia (viz obr. 10) se nacházejí u psa především v játrech, plicích, mozku, ledvinách, srdečním svalu, trávicím ústrojí. Toto stádium je považováno z hlediska larvální toxokarózy za nejdůležitější. Délka larev, které se uvolnily z vajíček, se pohybuje mezi 360 – 440 μm . Larvy, které byly získané z tkání, mají délku v rozmezí 328 – 445 μm . Šířka těla je 18 – 24 μm . Při určování rodu i druhu larev je šířka důležitým diferencně diagnostickým znakem.



obr 10: Larva *T. canis* III. stadia (Uhlíková a Hübner, 1983)

Třetí svlékání probíhá v plicích, srdečním svalu a játrech po nákaze psa vajíčky. Po nákaze larvami z pozřených paratenických hostitelů probíhá v plicích a žaludeční stěně. Velikost larev by se měla pohybovat mezi 370 – 450 μm .

IV. larvální stádium bylo nalezeno u prenatalně infikovaných štěňat do jednoho týdne věku a to nejčastěji v játrech, srdci, plicích a žaludku. U štěňat infikovaných postnatálně vajíčky byly larvy v játrech, plicích i trávicím traktu a u starších psů po nákaze larvami z paratenických hostitelů obvykle v trávicím ústrojí. Larva prodělává řadu

orgánových změn. Například se vytváří trojhranný orální otvor. U starších larev je naznačena střevní dutina. Velikost larvy v tomto stadiu se pohybuje mezi 520 – 934 x 23 – 41 μm .

Čtvrté svlékání bylo pozorováno v plicích a trávicím traktu psů po nákaze vajíčky, po pozření larev z paratenických hostitelů v žaludečním obsahu. Délka larev se pohybuje v rozmezí 980 – 1 300 μm .

V. larvální stadium bylo nalezeno u mladých štěňat infikovaných vajíčky postnatálně mezi 9.-23. dnem v trávicím traktu. U psů nakažených larvami z paratenických hostitelů byly nalezeny ve střevě 9.-10. den. Larva má tři okrouhlé pysky s krátkými ozubenými lištami. Střevo má výrazně viditelnou dutinu.

Pohlavní diferenciaci začíná brzy po čtvrtém svlékání při délce těla 1 500 – 3 000 μm . Výrazně se přeměňuje původní genitální rudiment.

Páté svlékání probíhá ve střevním obsahu zvířete, kdy délka těla larvy je zhruba 5 400 – 7 400 μm . Ještě před tímto svlékáním se začíná segmentovat kutikula.

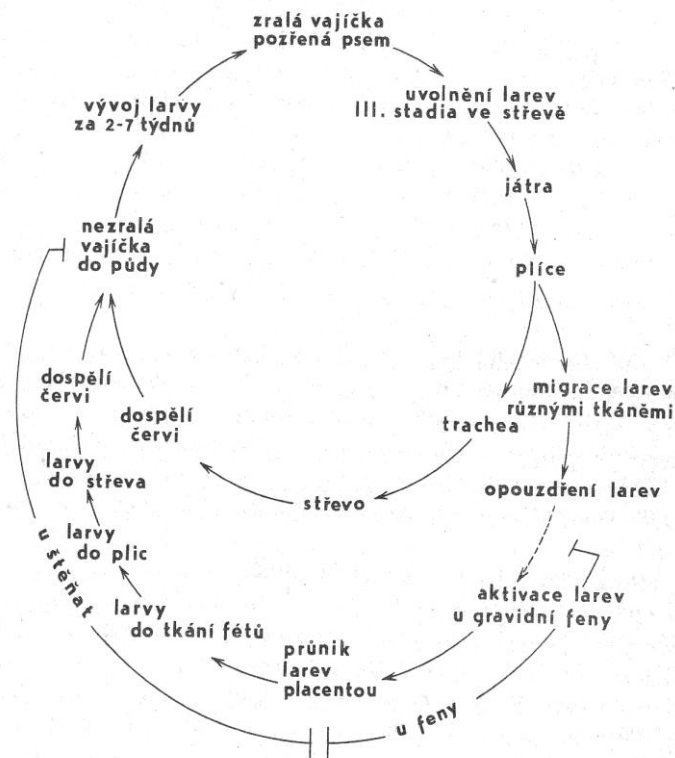
Od V. larválního stadia se dospělci odlišují segmentovanou kutikulou a diferencovanými pohlavními orgány (Uhlíková a Hübner, 1983).

Dospělé škrkavky žijí v intestinálním traktu definitivního hostitele, kde prodělávají tzv. tracheální migraci (Antolová et al., 2004), kdy larvy pronikají střevní sliznicí do kapilár a krevním oběhem přes játra do plic a průdušnice (Uhlíková a Hübner, 1983; Bregeon et al. 2008). Definitivním hostitelem škrkavky psí jsou především divoké psovité šelmy (Akao a Ohta, 2007). Například vlk (různé druhy), šakal obecný, fenek, pes hyenový, liška (různé druhy), psík mývalovitý (Jíra, 1998). Na Slovensku je za nejčastějšího definitivního hostitele považována liška červená (Antolová et al., 2004). Nejdůležitějším hostitelem je pes domácí (*Canis familiaris*). Jen výjimečně byli dospělí jedinci tohoto druhu nalezeni v zástupcích jiných čeledí šelem. Paratenickým hostitelem mohou být nejrůznější teplokrevní obratlovci, kteří se nakazí zralými vajíčky (Uhlíková a Hübner, 1983). Nejčastěji se jedná o drobné hlodavce, ale i o hospodářská zvířata a člověka (Svobodová a Svoboda, 1995). Paratenickým hostitelem mohou být rovněž někteří bezobratlí živočichové jako například mravenci, žížaly či švábi. (Despommier, 2003).

V tenkém střevě se živí střevním obsahem, který přijímají ústy i celým povrchem těla (Svobodová a Svoboda, 1995). Samice vyloučí do střeva hostitele až 200 tisíc vajíček denně (Jíra, 1998; Finsterer a Auer, 2007)., s vrcholem mezi 2. – 3. měsícem dospělosti, kdy naklade za stejné období až 2 miliony vajíček.

3.2.3. Způsob nákazy

Už od roku 1921 je známo, že u štěňat feny, která byla infikována během březosti larvami *T. canis*, byla zjištěna krátce po porodu silná nákaza škrkavkami. To ukazuje, vzhledem k délce vývoje, na pravděpodobnost prenatální nákazy. Další výzkum naznačuje, že larvy pozřené již dříve před zabřeznutím feny se mohou hromadit v jejích tkáních (viz. obr. 11). Během gravidity začnou migrovat a vnikají do zárodků, nepronikají však placentární bariérou před 35. dnem gravidity. Intrauterinní nákaza se může opakovat jen tak dlouho, dokud má fena přístup k zdrojům vlastní nákazy. Opakované gravidity by eventuálně mohly vyčerpat larvy ze somatických rezervoárů (Uhlíková a Hübner, 1983). Podle Svobodové a Svobody (1995)



obr. 11: Životní cyklus *Toxocara canis* u psa (Uhlíková a Hübner, 1983).

se larvy, které se této migrace nezúčastní, uplatňují v dalších

vrzích a dále uvádějí, že přes placentu se infikuje 95 % štěňat. Larvy migrující u fen in utero přecházejí do jater plodu, která slouží jako rezervoár. Progressivní migrace začíná porodem. Z jater putují larvy do plic (Bregeon et al., 2008), kde bývají nacházeny již během 3 – 6 dnů po narození. Zde se svlékají a přecházejí do IV. vývojového stadia. Poté jsou vykašlávány a následně polykány. V žaludku se objevují zhruba 10. den po narození. Odtud, po svlékání, larvy V. stadia putují do duodena, kde dospívají (Uhlíková a Hübner, 1983).

Po porodu jsou štěňata infikována galaktogenně, čili kolostrem a mateřským mlékem (Svobodová a Svoboda, 1995; Jíra, 1998) Somatické larvy kolující velkým krevním oběhem pronikají do mléčné žlázy a vylučují se mateřským mlékem. Vylučování začíná několik dní po porodu a vrcholu dosahuje ve 2. týdnu laktace. Což znamená, že mateřským mlékem se

štěňata nakazí ve 2. – 3. týdnu života. Obvykle následuje tracheální migrace (Svobodová a Svoboda, 1995).

Fena se může nakazit alimentárně-orální cestou larvami, které se nacházejí ve střevním obsahu štěňat a jimiž se infikuje při požívání jejich výkalů nebo při olizování a čištění anální krajiny. Parazité pak dospívají ve střevě (Jíra, 1998).

U dospělých a starších psů dochází především k somatické migraci, proto se u této kategorie se škrkavkami ve střevě setkáváme jen minimálně. Larvy se zpravidla opouzdřují a mohou zůstat velmi dlouhou dobu, i několik let, životaschopné v příčně pruhované svalovině, játrech, ledvinách, CNS i v jiných orgánech (Svobodová a Svoboda, 1995; Azizi et al., 2007). Bregeon et al. (2008) uvádějí, že životaschopnost těchto larev je poměrně krátká, přežívají 4 až 6 měsíců. Tyto tzv. somatické larvy, nacházející se v tkáních (Antolová et al., 2004), jsou stále nakažlivé (Coati et al., 2004).

Bylo prokázáno, že infekce mladých psů velkým počtem vajíček vede převážně k somatické migraci, zatímco nízký počet vajíček snáze dokončí vývoj jako pohlavně dospělé škrkavky ve střevě (Svobodová a Svoboda, 1995). Při dalších pokusech bylo zjištěno, že infekce zralými vajíčky vede spíše k somatické migraci larev, kdežto při nákaze larvami z pozřených paratenických hostitelů vnikají larvy bez migrace přímo do stěny žaludku a tam začínají růst.

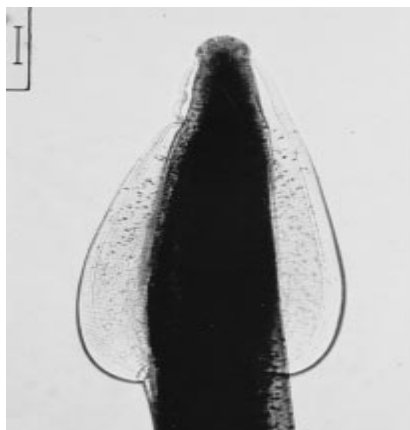
Z mnoha publikací, zabývajících se zjišťováním výskytu škrkavek u psů, je zřejmé, že absolutně nejvyšší procento promořenosti je u štěňat do tří měsíců po narození. Do stáří jednoho roku se procento snižuje a starší psi hostí dospělé škrkavky jen v malém počtu (Uhlíková a Hübner, 1983).

3.3. Škrkavka kočičí (*Toxocara cati*)

3.3.1. Popis

Jedná se o hlístici, která žije v gastrointestinálním traktu koček a je rozšířená po celém světě, nejvíce v tropech, subtropích a v mírném pásu.

Škrkavkou kočičí je také považována za původce lidské toxokarózy (Coati et al., 2004; Azizi et al., 2007; Sharif et al., 2007). Jedná se o hlístice bělavé až nažloutlé barvy



obr. 12: Cervikální křídélka *T. cati* (Eberhard a Alfano, 1998)

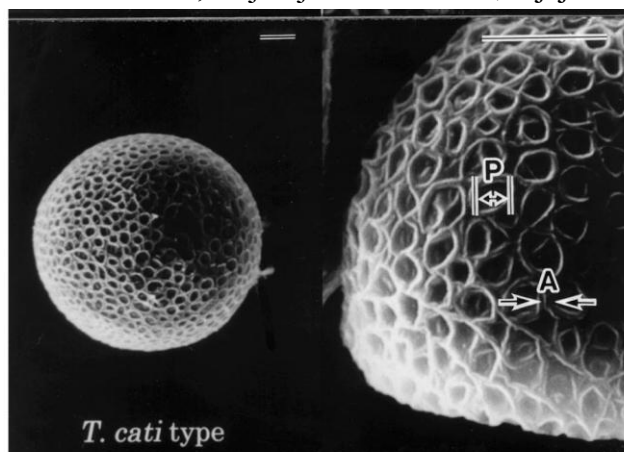
(Svobodová a Svoboda, 1995). Dospělí samci dlouzí 3,5-7 x 0,1-0,14 cm mají spikuly 1 700-2 000 μm dlouhé, samice měřící 4-11 x 0,12-0,2 cm mají vulvu na konci první čtvrtiny těla (Uhlíková a Hübner, 1983). Jíra (1998) uvádí, že samci měří 5 – 6 cm a samice 6 – 10 cm a cervikální křídélka (viz. obr. 12) jsou u obojího pohlaví kratší a širší, jejich velikost je 1,7 – 2,3 x 0,3 mm. Vajíčka odpovídají rodu *Toxocara*. Jsou široce oválná, silnostěnná s granulovaným povrchem a obsahují jednu blastomeru (Svobodová a Svoboda, 1995). I když jsou o něco menší než vajíčka škrkavky psí, nejedná se o rozlišovací znak (Uhlíková a Hübner, 1983). Velikost

vajíček u *Toxocara cati* se pohybuje v rozmezí 65-75 μm (Svobodová a Svoboda, 1995). Uga et al. (2000) ve své práci uvádějí, že vajíčka jsou subsférická, stejně jako u *T. canis*, a jejich povrch, svou strukturou připomínající golfový míček (viz. obr. 13), je ale jemnější než u vajíček *T. canis*. Ve své studii dále publikují, že ne všechna vajíčka se dají identifikovat podle struktury povrchu.

3.3.2. Vývojový cyklus

Fyziologie vývojového cyklu *T. cati* je stejná jako u *T. canis* a je v této práci již popsána (viz kapitola 3.2.2). Morfologie cyklu je však rozdílná a je následující.

Délka **larev III. vývojového stadia**, které se uvolnily z vajíčka, se pohybuje v průměru 312 – 423 μm . Larvy z tkání měří 315 – 459 μm . Průměrná šířka je 12 – 17 μm . Šířka těla ve zpracovaných tkáňových řezech se pohybuje v rozmezí 12 – 16 μm . Tyto larvy se u kočky nacházejí zejména v játrech, plicích, svalech a stěně trávicího ústrojí podle způsobu nákazy.



obr. 13: Povrchová struktura vajíček *T. cati* (Uga et al., 2000)

Třetí svlékání larev u kočky, která byla infikovaná vajíčky, probíhá v žaludeční stěně a možná i v plicích mezi 3. – 10. dnem po nákaze. Délka larev je 353 – 423 μm . U zvířat, která pozřela paratenického hostitele, měří larvy po šesti dnech nákazy 459 – 765 μm .

IV. larvální stadium se nachází v žaludeční stěně i v žaludečním obsahu. Velikost larev je 432 – 1 017 x 17 – 36 μm . Morfologická struktura je velice podobná s druhem *T. canis*.

Čtvrté svlékání probíhá 10. – 19. den. Dolní hranice je u nákazy koček paratenickými hostiteli, horní pak u nákazy zralými vajíčky. Probíhá v žaludečním obsahu. Délka těla je 990 – 1 235 μm .

V. larvální stadium se vyskytuje v žaludečním a střevním obsahu i stěně tenkého střeva. Toto stadium má již tři okrouhlé pysky s ozubenými lištami, připomínajícími dospělé škrkavky, střevní dutina je výrazná. Velikost larev po nákaze zralými vajíčky se pohybuje v rozmezí 1 289 – 4 182 x 46 – 105 μm , po nákaze larvami z paratenických hostitelů jsou larvy menší. Jejich velikost je 1 117 – 1 200 μm . K pohlavní diferenciaci dochází během tohoto stádia a to od délky 1 500 μm .

Páté svlékání probíhá ve střevním obsahu hostitele. Larvy měří přibližně 4 500 – 5 500 μm . Jejich kutikula je již částečně segmentovaná (Uhlíková a Hübner, 1983).

Dospělí jedinci žijí v horní části tenkého střeva definitivního hostitele (Sharif et al., 2007). Pro škrkavku kočičí jsou definitivním hostitelem téměř výlučně kočkovité šelmy (Akao a Ohata, 2007). Řada druhů rodů *Felis*, *Lynx*, *Panthera* aj. Jen výjimečně jsou nacházeny u některých druhů psovitých šelem. Nejvíce sledovaným hostitelem je kočka domácí (*Felis domestica*) (Uhlíková a Hübner, 1983). Zde samice škrkavek kladou vajíčka, která odcházejí ve výkalech a dostávají se tak do půdy (Sharif et al., 2007). Za den mohou vyprodukovat až 200 000 vajíček (Finsterer a Auer, 2007; Gómez et al., 2007; Bregeon et al., 2008), Vajíčka se ve stolici objevují zhruba 56. den po nákaze zralými vajíčky (Uhlíková a Hübner, 1983). Tato vajíčka ještě nejsou infekční. Vyžadují určitou inkubační dobu, kterou stráví v půdě, aby mohla zahájit zrání (Sharif et al., 2007). Po pozření vajíčka definitivním nebo paratenickým hostitelem se při trávicím procesu v žaludku a horním úseku tenkého střeva uvolní larva z vaječných obalů. To je umožněno řadou chemických i biochemických pochodů, které jsou navzájem propojeny. Důležitý je např. podíl přítomného oxidu uhličitého, pH. Tyto složky vyvolají ve vajíčku tvorbu tekutiny, která obsahuje enzymy chitinázu, esterázu a pravděpodobně i proteinázu. Tekutina začne zevnitř narušovat ochranné vaječné obaly, které jsou současně trávicími šťávami hostitele porušeny zvenčí. Tento proces se

vyskytuje u obou druhů škrkavek. Líhnutí larvy trvá 2 – 4 hodiny (Uhlíková a Hübner, 1983) Uvolněné larvy se dostanou skrz stěnu střeva do kapilár a krevním řečištěm putují do jater, plic. Dále se dostanou do levé části srdce odkud jsou pomocí krevního oběhu rozšířeny do krevních kapilár. Odtud se mohou dostat do okolních tkání, kde mohou přežít i několik let bez dalšího vývoje (Sharif et al., 2007). Toto se děje především v paratenickém hostiteli, kterým mohou být ptáci, hlodavci a jiní savci, včetně člověka (Azizi et al., 2007).

3.3.3. Způsob nákazy

Existuje spousta dohadů, co se týče prenatální nákazy u koček. Despommier (2003) uvádí, že tento přenos u *T. cati* je možný. Uhlíková a Hübner (1983) a Coati et al., (2004) ve svých experimentech prenatální nákazu u koček neprokázali. Jíra (1998) zastává názor, že transplacentární nákaza u této škrkavky je sporná.

Dále uvádí, že hlavním zdrojem nákazy u koček, zejména toulavých, jsou myšovití hlodavci. Při nákaze koček paratenickými hostiteli, kteří mají ve tkáních larvy III. vývojového stadia, proniknou larvy z největší části do stěny žaludku, kde začínají růst. Při tomto způsobu nákazy zřejmě nedochází k markantní migraci tkáněmi, čímž se životní cyklus *T. cati* na rozdíl od nákazy vajíčky podstatně urychlí (Uhlíková a Hübner, 1983).

Podle Svobodové a Svobody (1995) je dalším způsobem nákazy pozření zralých vajíček. U těchto koček, které se takto infikují vajíčky *T. cati*, jsou larvy postupně nacházeny v játrech, svalovině a plicích, odtud nakonec tracheálně pronikají do trávicího ústrojí. To je důkazem, že v kočce rovněž migrují tkáněmi.

Koťata se primárně nakazí larvami, které jsou obsaženy v mléce. Jedná se tedy o transmamární přenos (Coati et al., 2004; Sharif et al., 2007). Coati et al., (2004) dále ve své práci uvádějí, že k laktogenní infekci může dojít po bezprostředním nakažení matky nebo se vlivem hormonů mohou aktivovat somatické larvy, které se nacházejí v nejrůznějších tkáních matky. Nakažení je možné také paratenickými hostiteli. Infekce jak larvami zralými, tak larvami při galaktogenní infekci nebo paratenickým hostitelem však svým odlišným způsobem vede k patentní infekci. U koťat sice zjišťujeme vyšší procento promořenosti, ale i dospělé kočky často hostí, na rozdíl od psů, intestinální stadia škrkavek. Infekce škrkavkou kočičí prakticky vždy vyústí ve střevní fázi (Svobodová a Svoboda, 1995).

3.4. Determinace škrkavek rodu *Toxocara*

Diagnóza parazitických onemocnění je primárně založena na morfologické identifikaci larev nebo vajíček. Avšak praktická diagnóza larva migrans záleží více na serologických testech vzhledem k tomu, že získání somatické larvy pomocí biopsie je velice obtížné (Ischiwata et al., 2004).

Aktuální sérologická vyšetření sice poskytují důkazy o napadení organismu, ale nedokáží přesně určit původce u příbuzných druhů jako je například *T.canis* a *T.cati* (Jacobs et al., 1997).

Larvy škrkavek jsou velmi malé a mají jen málo vnějších znaků pro správnou identifikaci (Li et al., 2007). Dokonce i když nalezneme část larvy v histopatologickém vzorku, bude její identifikace do druhu obtížná, ledaže by obsahovala typické morfologické znaky v této získané části. Vzhledem k tomu, že je identifikace druhu parazita důležitá nejen pro diagnózu, ale také pro epidemiologické průzkumy veřejného zdraví, je jednoduchá a spolehlivá metoda identifikace larvy uložené ve tkáni žádoucí (Ischiwata et al., 2004).

Za tímto účelem se zkoumala vhodnost analýzy nukleotidových sekvencí za použití polymerázové řetězové reakce (PCR) k identifikaci larev škrkavek ve tkáních (Borecka et. al., 2008). Každý druh parazita má jedinečné sekvence ribozomální DNA (rDNA), které mohou být použity jako markery k odlišení tohoto druhu od druhů, které jsou si podobné svou morfologií. Dvě sekvence ITS oblastí ribozomální DNA, ITS-1 a ITS-2, byly použity jako druhově specifické markery pro genetickou identifikaci. Sekvence ITS oblastí různých askaridoidních parazitů jsou nyní dostupné v DNA databázích (Ischiwata et al., 2004; Li et al., 2007).

Krämer et al. (2002) uvádějí, že extrakce DNA z půdy a ze sedimentů byla do nedávna předmětem mnoha mikrobiologických studií. Obecným cílem bylo získat kvalitní části DNA, které jsou vhodné pro molekulární testování kombinované s levným, rychlým a spolehlivým způsobem přípravy. Bylo zjištěno, že velkým problémem pro extrakci DNA z půdy je přítomnost některých inhibičních látek. Těmi jsou například huminové látky inhibující polymerázu, která je klíčovým enzymem pro PCR. Proto ve své studii Krämer et al.(2002) zkoumali použití 2 anti-inhibičních látek, které zvyšují citlivost PCR.

PCR lze použít i pro identifikaci vajíček izolovaných z půdy. Tato metoda je velice citlivá a není závislá na stadiu vývoje vajíčka (Fogt-Wyrwas et al., 2007). Přestože je determinace vajíček pomocí PCR přesnější, tak Uga et al. (2000) použili ve svém výzkumu

k identifikaci vajíček světelný elektronový mikroskop a to z důvodu, že PCR je velmi složitá. Díky světelnému mikroskopu byl pozorován charakteristický povrch vajíček připomínající golfový míček. Povrch *T. canis*, jak zde bylo již zmíněno, má hrubší strukturu než *T. cati*. Dále ve své práci zjistili, že velikost vajíček není vhodné kritérium pro odlišení vajíček *T. canis* od *T. cati*.

3.5. Toxokaróza u psů a koček

Jíra (1998) uvádí, že infikovanost psích populací je podle přehledu z roku 1989 v Evropě 5,5 – 51 %, v Severní Americe 2 – 79 %, v Jižní Americe 7 – 42 %, v Africe 6 – 82 %, v Asii 1,5 – 82 %.

Podle Li et al. (2008) se ve světě séroprevalence u psů pohybuje od 5,5 do 64,7 %.

Diagnostika toxokarózy u psů a koček není obtížná. Postačí nalézt vajíčka škrkavek při koprologickém vyšetření (Bregeon et al., 2008).

U psů jsou nejčastější silné prenatální a galaktogenní infekce, které mohou vést k úmrtí v prvních dnech života. Od 2. a 3. týdne bývá postiženo i střevo. Pneumonie, která se projevuje sípavým kašlem a výtokem z nosu, je způsobená migrací larev plícemi (Svobodová a Svoboda, 1995). Dospělé škrkavky ve střevech mohou způsobit obturaci až rupturu střeva. U postižených štěňat se vyskytuje zvětšené, bolestivé tzv. škrkavkové břicho. Často dochází ke zvracení. Škrkavky ve střevě spotřebovávají glukózu, aminokyseliny, vitamíny a minerální látky, zejména vápník a fosfor. Nakažení jedinci tudíž často trpí hypoglykemií (Bregeon et al., 2008). Dále pozorujeme vyhublost, anémie, metabolické osteopatie, matnou srst, nechutenství, křeče až záchvaty epilepsie, příznaky hypersenzitivity.

Za upozornění stojí fakt, že ledviny u fen jsou více než dvakrát častěji sídlem toxokarové infekce než u psů samců. Právě tento orgán je u fen jedním z hlavních rezervoárů larev, ze kterého v době gravidity přecházejí mobilizované larvy transplacentární cestou do plodů a v případě reinfekce je tento rezervoár opět novými larvami doplňován.

Bylo také zjištěno, že larvy nalezené v játrech a plicích novorozených štěňat nevyvolávají, na rozdíl od dospělých psů, žádnou zánětlivou reakci. Příčina rozdílné odpovědi organismu je ve změně imunitních poměrů, ke kterým při opakované infekci škrkavkou u psů dochází, a které podmiňují obraz i rozvoj zánětlivé tkáňové reakce (Uhlíková a Hübner, 1983).

Nejčastějšími antiparazitiky, která se doporučují k dehelmintizaci, se u psů používají např. – Pyrantel, Mebendazol, Flubendazol, Ivermectin, Nitroscanát, Piperazin (Svobodová a Svoboda, 1995).

Séroprevalence u koček se pohybuje od 25,2 % do 66,2 % celosvětově (Li et al., 2008).

Patogeneze kočičí toxokarózy je, až na výjimky shodná s průběhem onemocnění u psa. Příznaky onemocnění jsou výraznější u koťat. Je pozorovatelný špatný výživný stav, matná a zježená srst. Masivní hepatopulmonální migrace může vyústit až v chronický kašel. Zvracení, střídavé průjmy se projevují dehydratací podkoží, vpadnutím očí a překrytí bulbu třetím víčkem. Břicho bývá zvětšené a při jeho palpaci zjišťujeme zvýšenou plynatost střev.

Pro léčbu toxokarózy koček jsou doporučovány zejména tyto přípravky – Pyrantel, Ivermectin, Febantel (Svobodová a Svoboda, 1995).

3.6. Larvální toxokaróza u člověka

Larvální toxokaróza se řadí mezi zoonózy a je rozšířena po celém světě (Ferre a Dorchie, 2000; Teixeira et al., 2006; Borecka et al., 2008; Bregeon et al., 2008) všude tam, kde klimatické podmínky dovolují uskutečnit kompletní životní cyklus psích a kočičích škrkavek, tedy zakončit jej vývojem larvy ve vajíčkách, uložených v půdních substrátech (Uhlíková a Hübner, 1983).

Stejskal (2005) ve své publikaci tvrdí, že larvální toxokaróza je u nás nejčastější tkáňovou helmintózou a specifické protilátky jsou přítomny u 20 % populace.

Jíra (1998) uvádí, že podle nálezů Uhlíkové a Hübnera z roku 1994 se ČR řadí mezi země s vyšší séroprevalencí, která je 18,4 % a na Slovensku 14 %. Dále uvádí, že nejvyšší hodnoty globální séroprevalence byly zjištěny v Karibské oblasti na ostrově Svatá Lucie – 86 % a v Indickém oceánu na ostrově Réunion – 93 %.

Bregeon et al. (2008) uvádějí, že nejnižší séroprevalence je v Madridu a po celém Německu, kde dosahuje hodnot od 0 do 4 %. V Irsku se pohybuje kolem 31 % a ve Španělsku 63 %, konkrétně na venkově. V Karibiku dosahuje až 83 %. Ve Francii je situace následující, ve městech je séroprevalence 4,8 %, zatímco na venkově dosahuje 14,2 %.

Podle Rubinsky-Elefanta et al. (2008) se séroprevalence u dětí v Brazílii pohybuje

mezi 8,7 % až 39 %.

I přes používání antihelmintik a hygienických návyků je výskyt helmintárních onemocnění stále vysoký (Finsterer a Auer, 2007). Za původce larvální toxokarózy jsou tedy považovány hlístice *T.cati* a *T.canis* (Antolová et al., 2004; Bartošová, 2004; Stejskal, 2005; Akao a Ohta, 2007; Azizi et al., 2007; Bregeon et al., 2008). Někteří autoři ve starších publikacích uvádějí, že jedinou příčinou larvální toxokarózy je pouze *T. canis* (Fisher, 2003). Uhlíková a Hübner (1983) a Jíra (1998) shodně uvádějí, že *T. cati* je bez pochyby také původcem. Ovšem diferenciací obou infekcí představuje pro vědce výzvu i dnes (Fisher, 2003).

Dalšími možnými původci toxokarózy jsou například škrkavka tuří (*Toxocara vitulorum*). Jedná se o parazita skotu, zebu a buvolů (Jíra, 1998; Wickramasinghe et al., 2009).

3.6.1. Historie

Lidská infekce způsobená *Toxocara* spp. byla poprvé popsána Wilderovou v roce 1950. Identifikovala nematodní larvu neznámého původu v enukleovaných očních bulbech u dítěte (Despommier, 2003). Předpokládala však, že je to III. stadium rodu *Ancylostoma*. Následujícího roku Beautyman a spol. uvádějí nález larvy („rod *Ascaris*“) v mozku dítěte, zemřelého na poliomyelitis (Uhlíková a Hübner, 1983).

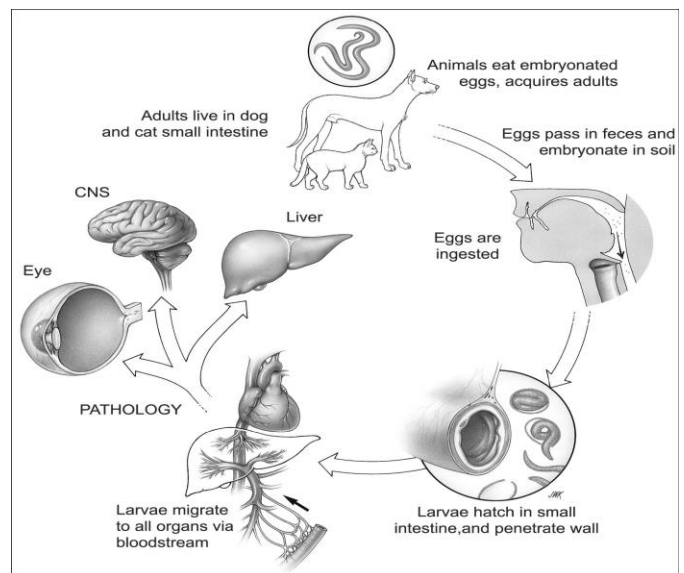
O dva roky později, v roce 1952, Beaver se svými kolegy objevil stejného parazita v játrech u tří malých dětí (Despommier, 2003; Teixeira et al., 2006; Akao a Ohta, 2007). Syndrom, společný migrační fázi i jiných nematodů, označil jako „visceral larva migrans“ (Uhlíková a Hübner, 1983; Iddawella et al., 2007; Bregeon et al., 2008). V tkáních, které byly získány při biopsii, byly správně identifikováni původci a to *Toxocara canis* a *Toxocara cati* (Despommier, 2003). Tento rok přinesl poprvé poznání, že larvy *Toxocara canis* mohou být původci někdy těžkých klinických stavů a někdy mohou způsobit i smrt postiženého. V roce 1956 a 1958 australský parazitolog Sprent kompletně osvětlil i životní cykly *Toxocara cati* a *Toxocara canis*. V roce 1972 Araujo zjistil, že původcem larvální toxokarózy je III. larvální stadium (Uhlíková a Hübner, 1983; Bruňaská et al., 1995). V roce 1967 se v Československu objevuje první publikovaná zpráva o larvální toxokaróze člověka (Uhlíková a Hübner, 1983). V roce 1987 byl vytvořen a definován termín skrytá toxokaróza (Finsterer a Auer, 2007).

Ve svém vývoji však zaostávala sérologická diagnostika, která je u všech tkáňových helmintóz vrcholně důležitou složkou pro stanovení diagnózy. Stále bylo pro diagnózu nejdůležitější nalezení a určení larvy či jejích zbytků ve tkáni. Žádný z používaných sérologických systémů nedával uspokojivé výsledky, protože antigeny připravované z dospělých jedinců *Toxocara* spp. nebyly vesměs ani rodově specifické a citlivost testů rovněž nebyla na výši. Olson i další začali využívat pro diagnostické účely efektu vylučování sekrečního antigenu produkovaného živými larvami, avšak teprve de Savigny přípravou tohoto antigenu v definovaném tekutém prostředí, umožnil specifickou, a jeho použitím r. 1977 v enzymatické reakci ELISA, vysoce citlivou sérodiagnostiku (Uhlíková a Hübner, 1983).

V dnešní době se provádějí hlavně studie, které se týkají sezonních změn kontaminace půd na veřejných místech (de Queiroz et al., 2006).

3.6.2. Epidemiologie

Člověk se nakazí orální-alimentární cestou zralými vajíčky obsahujícími infekční larvu (Eberhard a Alfano, 1998; Jíra, 1998; Matsua a Nakashio, 2005). Finsterer a Auer (2007) uvádějí, že až jedna miliarda lidí je nakažena parazity, přičemž hlavní roli zde hraje *T. canis*. Obecně se věří, že *T. cati* a *T. canis* nejsou schopny dokončit svůj vývojový cyklus v člověku (viz. obr. 14), ale i tak mohou způsobit vážné komplikace, včetně VLM (larva migrans visceralis) a OLM (larva migrans ocularis) (Eberhard a Alfano, 1998).



obr. 14: Vývojový cyklus *T. canis* a *T. cati* v člověku (Despommier, 2003)

Zdrojem nákazy člověka na celém světě jsou prakticky pouze dva druhy domestikovaných šelem: pes domácí a kočka domácí, ve všech člověkem chovaných plemenech (Uhlíková a Hübner, 1983; Akao a Ohta, 2007).

Jiné šelmy, u nichž se oba druhy škrkavek vyskytují, se mohou stát zdrojem nákazy člověka jen zřídka. Volně žijící šelmy defekují na místech odlehlých a možný kontakt člověka s jejich trusem, který obsahuje vajíčka, bude jen velmi náhodný (Uhlíková a Hübner, 1983).

Larvální toxokarózou jsou nejvíce postiženy děti ve věku 14 až 40 měsíců (Bregeon et al., 2008). Akao a Ohta (2007) uvádějí, že larvální toxokaróza se nejvíce vyskytuje u dětí do 12 let. Podle Uhlíkové a Hübnera (1983) je toto onemocnění prokázáno od nejtělejšího věku do pozdního stáří. Přirozená rezistence člověka, pravděpodobně vzhledem k vývojovému cyklu parazitů, zřejmě neexistuje, rozhodně nebyla zaznamenána. V jakém následném časovém období může docházet u člověka k opakovaným nákazám, se s určitostí neví.

Despommier (2003) ve své studii tvrdí, že děti z chudých poměrů mají vyšší séropozitivitu pro toxokarózu než děti z vyšších a středních vrstev. Další studie uvádějí, že větší nebezpečí infekce se vyskytuje u mentálně postižených jedinců (Despommier, 2003; Kaplan et al., 2004) a malých dětí, které mají ve zvyku pojídat například hlínu či písek (Eberhard a Alfano, 1998; Jíra, 1998; Bregeon et al., 2008). Lidé se ale mohou také infikovat pitnou vodou, která může být kontaminovaná vajíčky (González-Páez et al., 2007; Bregeon et al., 2008).

Uhlíková a Hübner (1983), Jíra (1998) a Svoboda et al. (2001) zastávají názor, že u přímého kontaktu se samotným zvířetem, který bývá někdy uváděn jako závažný epidemiologický faktor v souvislosti s možnou nákazou, je možnost infekce nepravděpodobná. Pouze nehygienický kontakt s novorozenci štěňaty, případně s fenou, která je jazykem očišťuje v rektální krajině, by mohl vést k případnému pozření vyšších larválních stadií škrkavek *T. canis* (Uhlíková a Hübner, 1983).

Další možnou nákazou člověka, kromě kontaktu s kontaminovanou půdou, je například požití syrového či nedovařeného kuřecího masa. Ale také požití syrových hovězích, vepřových či jehněčích jater (Akao a Ohta, 2007; Azizi et al., 2007). Další možnost je konzumace neomyté zeleniny (Ondriska a Mikulecký, 2002; Finsterer a Auer, 2007). Jsou známé také infekce po požití nedostatečně tepelně upravených orgánů domácích králíků (Ondriska a Mikulecký, 2002).

Potencionálním pasivním přenašečem mohou být například synantropní mouchy s přenosem vajíček, ulpívajících na povrchu těla po sání na fekáliích či pasážovaných trávicím traktem a vylučovaných jejich výkaly, slinami či vyvrhnutým obsahem žaludku (Uhlíková a Hübner, 1983).

Přenos larvální toxokarózy z člověka na člověka není znám (Uhlíková a Hübner, 1983; Bregeon et al., 2008). Vyskytly se ojedinělé publikace s úvahami o možnosti diaplacentárního přestupu larev na plod. Též je možné předpokládat přenos larev III. stadia mateřským mlékem, při současné nákaze laktující matky na kojence (Uhlíková a Hübner, 1983).

Podle dalších studií je larvální toxokaróza úzce spjata s podmínkami prostředí (Matsuo a Nakashio, 2005; de Queiroz et al., 2006). Například vysoká relativní vlhkost a teplota okolo +25°C je optimální prostředí pro zrání vajíček. Podmínky suchých a horkých krajín nebo naopak stálé teploty pod bodem mrazu buď značně zrání vajíček zpomalují, nebo je zcela znemožňují. V takových oblastech, i když psi a kočky jsou v místní fauně hojně zastoupeni, je pravděpodobnost jejich nákazy a tím i nákazy člověka objektivně menší.

Společenské podmínky jsou rovněž schopny ovlivňovat možnost nákazy člověka (Uhlíková a Hübner, 1983). Prevalence toxokarózy je vyšší v tropických a rozvojových zemích a je spojována s nízkou sociálně-ekonomickou situací (Alderete et al., 2003; Rubinsky-Elefant et al., 2008).

Některé záliby či odpočinkové práce mohou také člověka vystavovat větší možnosti nákazy. Jedná se například o zahrádkaření, soukromé chovatelství psů a koček, ale i některá odvětví rekreační či závodní sportovní činnosti (fotbal, ragby, terénní motozávodní apod.). Zahrádkáři mají značnou možnost nákazy. Jednak při práci s půdou (Uhlíková a Hübner, 1983), ale i při konzumaci vlastní zeleniny či ovoce nedostatečně omytého vodou (Ferre et Dorchie, 2000). Většímu nebezpečí nákazy jsou podle Finsterea a Auera (2007) vystaveni převážně chovatelé žijící na venkově. Podle Uhlíkové a Hübnera (1983) je to z důvodu, že zde není prováděna pravidelná dehelmintace.

Možnost nákazy by mohla být také ovlivněna určitým charakterem vykonávané práce. K většímu riziku nákazy dochází u profesí s úzkým stykem se zeminou, odpadními vodami, pouliční nečistotou – např. zemědělní pracovníci, kopáči, zedníci, stokaři, dlaždiči, zahradníci, ošetřovatelé psů, koček či faremních lišek. Ovšem neexistuje dostatek údajů o skutečném podílu profese na možné nákaze. (Uhlíková a Hübner, 1983). Jíra (1998) také uvádí, že zvýšenému riziku jsou vystaveni veterinární pracovníci. Dále publikuje, že toto tvrzení obecně sérologické testy nepotvrzují.

Soudí se, že nejčastější doba možného vzniku nákazy bude v období od jara do podzimu, kdy teplotní a vlhkostní podmínky vnějšího prostředí dovolují zrání vajíček a

nejnižší v zimních měsících, kdy je půda promrzlá, případně pokrytá sněhem a kdy vzhledem k nízkým teplotám je zrání značně zpomaleno nebo k němu vůbec nedochází.

Vzhledem ke způsobu a možnostem nákazy nelze předpokládat žádné podstatné rozdíly v kvantitě promořenosti či počtu případů onemocnění larvální toxokarózou mezi obojím pohlavím (Uhlíková a Hübner, 1983).

3.6.3. Diagnostika larvální toxokarózy

Larvální toxokarózu řadíme mezi tzv. tkáňové helmintózy, u kterých vývoj parazita probíhá pouze v tkáních hostitele. Vzhledem k tomu, že larvy škrkavek *T. canis* a *T. cati* v člověku nedospívají a nedochází tudíž k vylučování vajíček ve stolici či jiných exkretech hostitele, vyvstala otázka, jakým způsobem je možno diagnostikovat někdy velmi těžké klinické formy onemocnění. Příznaky rozvíjející nákazy jsou někdy shodné s celou řadou jiných onemocnění (Uhlíková a Hübner, 1983) a diagnóza larvální toxokarózy je tedy velmi obtížná (Nunes et al., 1997; Bregeon et al., 2008).

Za nejlepší metodu pro diagnostiku larvální toxokarózy je považována sérologie (Bregeon et al., 2008).

Jednotlivé sérologické metody prošly během doby určitým vývojem. Byly modifikovány pro využití různých typů antigenů, případně pro uplatnění speciálních ingrediencí, vhodných pro tento účel.

K detekci vzájemné vazby antigenu a protilátky jsou používány různé systémy značení (Doğan et al., 2007), jedním z nich je i značení pomocí radioizotopů (radioimmunoassay) – RIA a enzymů (enzymeimmunoassay) – EIA.

RIA je velice citlivá. Její nevýhodou je riziko práce s radioizotopy, problém spojený s likvidací radioaktivních odpadů, vysoká cena přístrojů potřebných k hodnocení reakce.

Tyto nevýhody odpadají při použití enzymů ke značení imunoreagencií (Uhlíková a Hübner, 1983). Nejčastěji užívaným typem enzymatické reakce je varianta, zvaná Enzyme – Linked – Immunosorbent - Assay (ELISA) (Nunes et al., 1997; Ondriska a Mikulecký, 2002; Iddawella et al., 2007; Bregeon et al., 2008), jejímž principem je vazba jednoho z účastníků reakce antigen – protilátka na pevný nosič (Uhlíková a Hübner, 1983). Nejčastější modifikací reakce je tzv. „sendvičová“ metoda (Iddawella et al., 2007; Bregeon et al., 2008.), kdy na pevný nosič se váže (v případě detekce protilátek) antigen, na něj testovaná protilátka a na ní se navazuje druhá, enzymem značená protilátka proti imunoglobulinům živočišného druhu,

jehož sérum se vyšetřuje (Uhlíková a Hübner, 1983). Test ELISA je vhodný pro diagnostiku VLM i OLM (Ondriska a Mikulecký, 2002). Jíra (1998) ve své práci publikuje názor, že sérové protilátky mohou přecházet z matky na plod a mohou perzistovat až 9 měsíců po porodu. Nelze také vyloučit transplacentární průnik larev.

Pro specifíčnost a citlivost séroreakcí je velice důležitá kvalita antigenů. Obecně se mohou antigeny rozdělit na dvě skupiny: korpuskulární a solubilní antigeny. Solubilní antigeny se mohou dále rozdělit na typ antigenů somatických (Uhlíková a Hübner, 1983). a exkrečních – sekrečních (ES) (Uhlíková a Hübner, 1983; Borecka et al., 2008). Malá specifita somatických antigenů a obtížnost složitých frakcionačních postupů při získávání specifických složek vedla k tomu, že v diagnostice larvální toxokarózy se pozornost zaměřovala na využití tzv. exkrečně – sekrečních (ES) antigenů. Tyto enzymy pocházejí ze žlázové exkrece při orálním a exkrečním otvoru larev (Uhlíková a Hübner, 1983). Tato reakce je vysoce specifická a vykazuje málo zkřížených reaktivit se séry pacientů infikovanými jinými příbuznými druhy lidských parazitů (Ondriska a Mikulecký, 2002).

Jíra (1998) uvádí, že klinická diagnóza se potvrdí histologickým průkazem larvy v infikovaných tkáních při biopsii nebo nekropsii. Dále uvádí, že k určení druhu škrkavky slouží změření velikosti larvy, typ jícnu a přítomnost laterálních křídélek.

Paraziti jsou hledáni hlavně v játrech (Despommier, 2003; Bregeon et al., 2008), tj. v orgánu, který je u člověka nejčastěji postižen migrací larev a zároveň nejpřístupnější pro punkční biopsii (Uhlíková a Hübner, 1983), případně laparotomii či resekci granulomů viditelných na povrchu jater (Bregeon et al., 2008).

Poněkud odlišná je situace u očního postižení, kdy sérologická vyšetření i pomocné laboratorní metody mohou někdy nechat klinika v diagnostických rozpacích, zda přistoupit k enukleaci bulbu či nikoli (Uhlíková a Hübner, 1983; Bregeon et al., 2008).

Z dalších laboratorních vyšetření má diagnostickou hodnotu nález eozinofilie (Jíra, 1998). O eozinofilii, provázející helmintární nákazy, jsou první zmínky již v roce 1897.

U viscerální formy larvální toxokarózy bývají změny v krevním obrazu zcela charakteristické. Celkový počet bílých krvinek se pohybuje od 30 000 do 80 000 mm³ i více, s počtem eozinofilů převážně mezi 30 – 90 %. Eozinofilie je chronického rázu a může přetrvávat i déle než rok.

U oční formy larvální toxokarózy eozinofilie nebývá vysoká (Jíra, 1998). Je-li vyšší, je

nutno uvažovat o smíšené formě nákazy (Uhlíková a Hübner, 1983).

Standardním nálezem v séru pacientů s viscerální formou larvální toxokarózy je hyperglobulinémie (Uhlíková a Hübner, 1983), zejména hypergamaglobulinémie (Jíra, 1998; Finsterer a Auer, 2007; Bregeon et al., 2008; Jones et al., 2008), kdy jsou globulinové frakce tvořeny gamaglobuliny s největším vzestupem imunoglobulinových tříd IgG, IgM a IgE (Uhlíková a Hübner, 1983). Specifické IgE protilátky se nacházejí u 77 % nemocných (Jíra, 1998). Rubinsky-Elefanta et al. (2008) uvádějí, že IgG protilátky se pohybují v rozmezí 2 až 93 % v různých regionech po celém světě. Vztah mezi trváním klinických příznaků a koncentrací gamaglobulinů není většinou udávána, neboť zjistit přesně dobu počátku onemocnění je často velice obtížné.

Koncentrace sérových albuminů je normální nebo mírně snižená (Uhlíková a Hübner, 1983).

3.6.4. Klinika larvální toxokarózy

3.6.4.1. Viscerální forma larvální toxokarózy (VLM)

Viscerální forma larvální toxokarózy je mnohem častěji popisována než oční forma. Můžeme to připisovat faktu, že se doposud běžně na larvální toxokarózu nepomýšlí, ale že klinické příznaky jsou zprvu podobné počátečním projevům mnoha dalších, zvláště infekčních onemocnění (Uhlíková a Hübner, 1983). Klinickými synonymy pro viscerální formu jsou podle Jíry (1998) například familiární eozinofilie, Weingartenova nemoc, Frimoldtův-Mollerův syndrom, eozinofilní pseudoleukémi aj.

VLM se hlavně vyskytuje u dětí mladších 5 let (Despommier, 2003). Dětský věk se vyznačuje nedostatečnými hygienickými návyky, takže běžně dochází k olizování půdou znečištěných prstů i hraček a jiných předmětů a také ke konzumaci potravy nemytými rukama po předchozím styku se zemí. U starších dětí a dospělých osob příznaky nemusejí být zcela vyhraněné, protože obvykle nedochází k tak masivní nákaze jako při geofagii v nízkém věku (Uhlíková a Hübner, 1983).

Hlavním faktorem v patogenezi larvální toxokarózy je migrační aktivita larev III. vývojového stadia *T. cati* a *T. canis*, která způsobuje mechanická poškození tkáně hostitele a vyvolává extrémní humorální odpověď (Uhlíková a Hübner, 1983; Bruňaská et al., 1995),

charakterizovanou produkcí IgG, IgM, IgE (Despommier, 2003) a izohemaglutininů A a B. Larvy, které se uvolnily z pozřených zralých vajíček v žaludku a nejvíce v duodenu (Uhlíková a Hübner, 1983), migrují tkáněmi působením proteolytických enzymů a způsobují mechanické poškození ve formě traumatických kanálů (Jíra, 1998). Uhlíková a Hübner (1983), Jíra (1998) a Despommier (2003) se shodují na tom, že se migrace může projevit hemorrhagiemi, záněty a nekrotickými změnami. Jíra (1998) dále uvádí, že se později tvoří granulomy tuberkuloidního typu, složené z eozinofilů, lymfocytů, epiteloidních a mnohojaderných buněk.

Krevní cestou vstupují larvy dále do plic (Finsterer a Auer, 2007), kde jsou distribuovány do alveolárních kapilár. V místě průniku vznikají drobné hemorrhagie velikosti špendlíkové hlavičky. Podle některých údajů jsou plicní projevy u pacientů s larvální toxokarózou přítomny zhruba v rozmezí 20 – 60 % v závislosti na věku (Uhlíková a Hübner, 1983). Z plic se larvy dostanou přes kapiláry do okolní tkáně (Sharif et al., 2007), včetně centrální nervové soustavy. Při postižení CNS vznikají subklinické neuropsychické poruchy, generalizované nebo ložiskové tonicko-klonické křeče, bolesti hlavy a poruchy vědomí (Jíra, 1998). Akao a Ohta (2007) a Finsterer a Auer (2007) uvádějí, že postižení CNS se může také projevit meningitidou, encefalitidou, myelitidou, cerebrální vaskulitidou i zánětem očního nervu.

Migrace způsobuje tvorbu granulomů, které se nacházejí zejména v játrech (Leone et al., 2006), plicích, ale také v srdci, ledvinách, střevní stěně, mezenteriálních uzlinách, pankreatu aj. (Uhlíková a Hübner, 1983). Granulomy obsahují neporušenou larvu nebo jen její fragmenty. Larvy mohou v granulomu přežít i několik let (Jíra, 1998).

Játra a plíce jsou prvními orgány postiženými migrací (Finsterer a Auer, 2007). Larva může, ale nemusí být nalezena v chodbičkách, vznikajících jejím průnikem tkáněmi. Ve starších lézích, které vznikají okolo degenerované larvy (Uhlíková a Hübner, 1983), jsou charakterizovány přítomností epiteloidních buněk a vaziva (Jíra, 1998). Larva migrující v plicích má za následek astma (Despommier, 2003) nebo bronchopneumonii (Jíra, 1998).

Vzácně se objevují léze na srdci (myokarditida) a alergická makulopapulózní vyrážka (Jíra, 1998). Úmrtnost pacientů při toxokarové myokarditidě je vyšší než počet uzdravených.

K orgánům, které jsou také vzácně postižovány patří u člověka například ledviny. Naproti tomu u zvířat je poškození ledvin velmi časté.

Generalizovaná larvální toxokaróza, která končí smrtí pacienta, v jehož orgánech bývá nalezeno ohromné množství larev, má zřejmě původ v pozření extrémní infekční dávky

jednorázově či opakovaně, kdy tisíce larev zaplaví většinu tkání a zablokují ochrannou schopnost organismu (Uhlíková a Hübner, 1983).

Viscerální formu můžeme dělit podle klinických průběhů na 3 fáze: akutní, chronickou a latentní (subklinickou).

Akutní fáze se nejvíce projevuje časným nástupem základních klinických projevů, z nichž bývá zvláště význačný nález plicního a jaterního postižení (Uhlíková a Hübner, 1983), který je doprovázen eozinofilií (Despommier, 2003) a leukocytózou. U dětí vyššího věku a dospělých osob nemusejí být jaterní a plicní příznaky tak markantní.

Pokud není včas zahájena terapie přechází nemoc u některých pacientů do **chronické fáze**, která se hlavně vyznačuje subjektivními pocity. Je zjištěna setrvávající eozinofilie a leukocytóza. Pacient si stěžuje na somatické potíže (Uhlíková a Hübner, 1983), např. horečky, dýchací obtíže (Despommier, 2003), kožní léze. V této fázi onemocnění může však docházet také k recidivám viscerálních příznaků a u pacienta se znovu objeví jako převažující plicní a jaterní symptomy spolu s dalšími. Může docházet i k pozdní oční manifestaci larvální toxokarózy.

Latentní (subklinická) fáze larvální toxokarózy je pravděpodobně nejčastějším jevem po nákaze zralými vajíčky *Toxocara* spp. Postižení nemívají prakticky žádné objektivní příznaky ani větší subjektivní potíže a právě probíhající tkáňová migrace larev je odhalena někdy zcela náhodně, převážně nálezem nevysvětlitelné eozinofilie a následným sérologickým vyšetřením (Uhlíková a Hübner, 1983; Ondriska a Mikulecký, 2002). Bartošová (2004) a Akao a Ohta (2007) tuto fázi nazývají jako skrytá forma larvální toxokarózy.

3.6.4.2. Oční forma larvální toxokarózy (OLM)

Larva III. vývojového stadia je v určitém procentu nákaz schopna při své migraci tkáněmi paratenického hostitele proniknout i do oka a působit zde patologické změny (Uhlíková a Hübner, 1983). Jíra (1998) uvádí, že OLM se vyskytuje převážně u dětí. Despommier (2003) je názoru, že nejčastěji jsou postiženy děti ve věku od 5 do 10 let. Ondriska a Mikulecký (2002) uvádí, že OLM jsou postiženy nejen děti staršího věku, ale také dospělé osoby. Dále uvádí, že se manifestuje po požití malého počtu vajíček, když se v organismu nacházejí jen ojedinele migrující larvy. Tento jev se dá vysvětlit tím, že malý



obr.15: Solitární granulom zadního pólu oka (Uhlíková a Hübner, 1983)

počet larev nevyvolá dostatečně intenzivní imunitní odpověď, která by svými mechanizmy dokázala zabránit larvám v jejich migraci.

Klasicky se projevy očního poškození rozdělují na dva klinické obrazy nitroočního zánětu působeného larvami *Toxocara* spp. (Uhlíková a Hübner, 1983). Jedná se chronickou endoftalmitidu (Despommier, 2003; Gómez et al., 2007; Bregeon et al., 2008) a solitární granulom zadního pólu oka (viz. obr. 15). Chronická

endoftalmitida je charakterizována různými stupni déletrvajících zánětů v předním segmentu a řasnatém tělesu, případně s druhotným odchlípením sítnice (Uhlíková a Hübner, 1983). Nejčastěji je spojena se zánětem sítnice a sklivce (Jíra, 1998). Typickými projevy OLM je zhoršení vizu, které je někdy doprovázené šilháním (Jíra, 1998; Despommier, 2003). V některých případech larva migruje očními tkáněmi a k zánětu dojde až po jejím odumření. Larva někdy vyvolá zánětlivou reakci terče zrakového nervu, spojenou s jeho vyvýšením, s teleangiektáziemi a se subretinální exsudací. Dalšími projevy jsou katarakta, keratitida a konjunktivitida (Jíra, 1998).

3.6.4.4 Smíšená forma larvální toxokarózy

Smíšená forma se vyznačuje postižením jak vnitřních orgánů, tak i oka. Dosud není zcela jasné, vyvíjí-li se u některých případů oční postižení jako pozdější následek viscerální formy nebo zda forma smíšená se rozvíjí postižením vnitřních orgánů i oka v krátkém časovém rozmezí. Diagnosticky se totiž může často u oční formy opomenout dřívější viscerální průběh, pokud není výrazný (Uhlíková a Hübner, 1983).

3.6.5. Terapie larvální toxokarózy

Pro terapii larvální toxokarózy člověka lze využít tři možnosti: chemoterapeutika a další léky, fyzikální léčebné metody a chirurgické odstranění larvy.

Chemoterapeutika lze použít jak na viscerální formu larvální toxokarózy i na oční formu. Ve většině případů se používají pouze dva preparáty: z derivátů piperazinu – diethylkarbamazin a ze skupiny benzimidazolových derivátů – tiabendazol.

Diethylkarbamazinem se léčí nákazy způsobené larválními stadii, ale také nákazy vyvolané dospělými jedinci. Patří k lékům relativně netoxickým (Uhlíková a Hübner, 1983). Podává se v dávkách 0,5 mg/kg/den po 3 dny, dále se dávky zvyšují na 3 mg/kg/den po 21 dnů (Jíra, 1998). Podle Stejskala (2005) je dávkování diethylkarbamazinu následující: 3 – 6 mg/kg/den, 2 – 3 týdny, ve 2 – 3 denních dávkách.

Při podávání diethylkarbamazinu v injekční formě, orálních tablet či sirupu se vyskytují poměrně často vedlejší projevy: nejběžnější cefalalgie, nauzea, zvracení, nechutenství, horečka, toxoalergický exantém. Tyto reakce se dají do jisté míry omezit klidem na lůžku, beztukovou dietou, vynecháním alkoholu. Preventivně se doporučuje podání antihistaminik nebo kortikosteroidů. Tento lék byl do roku 1965 jediným používaným přípravkem pro terapii všech forem larvální toxokarózy člověka.

Výhodou tiabendazolu je nízká toxicita (Uhlíková a Hübner, 1983). Podává se dle různých schémat: 50 mg/kg/den ve dvou dílčích dávkách po 3 až 20 dnů vede u viscerální formy ke zlepšení stavu (Jíra, 1998). Z vedlejších účinků jsou uváděny hlavně průjemy, zvracení, nechutenství a hučení v uších. Tyto příznaky mizí za několik hodin po podání. Při vyšších dávkách a dlouhodobém podávání byly někdy pozorovány paresthesie, hypotenze či hypoglykémie (Uhlíková a Hübner, 1983).

Jíra (1998) uvádí, že se také se doporučuje ivermektin. Zatímco Finsterer a Auer (2007) pro léčbu larvální toxokarózy ivermektin nedoporučují.

Vzhledem k riziku zánětlivé odpovědi na rozpadající se parazitární antigeny po nasazení chemoterapeutik jsou často současně podávány kortikosteroidy (0,5–1 mg/kg/den prednisonu). Při léčbě oční toxokarózy je nutno chemoterapii vždy doplnit podáním kortikosteroidů (Stejskal, 2005). Jíra (1998), Bartošová (2004) a Finsterer a Auer (2007) také uvádějí, že kortikosteroidy mají příznivý vliv jak u viscerální, tak u oční formy. Můžeme je podávat orálně, u oční formy též retrobulbárně či lokálně. Mohou se aplikovat ve spojení s diethylkarbamazinem či tiabendazolem (Uhlíková a Hübner, 1983).

U nemocných s vysokou perzistující eozinofilií a s nálezem sérových protilátek i bez klinické manifestace je třeba brát v úvahu možnost pozdní migrace larvy do oka (Jíra, 1998).

Stejskal (2005) uvádí, že vzhledem k obtížnosti hodnocení úspěšnosti léčby spolehlivé údaje porovnávací účinnost jednotlivých preparátů nejsou k dispozici.

Terapie oční formy larvální toxokarózy. Názory jednotlivých autorů se různí jak v otázce použití fyzikálních metod, které mohou devitalizovat larvu v očních tkáních, tak i chemoterapie. Převládá názor, že k nejtěžším změnám v očních tkáních dochází po usmrcení a dezintegraci larvy. Proto mnoho autorů fyzikální metody odmítá a maximálně připouští možnost chirurgického odstranění larvy bez její destrukce (Uhlíková a Hübner, 1983). Jíra (1998) uvádí, že intraokulární chirurgická léčba může zabránit komplikacím a poškození zraku. Včasnou vitrektomií se odstraní tah pruhů z povrchu granulomů. Operační léčení zlepšuje stav odchlípení sítnice. Při kataraktě se odstraňuje čočka. Larvu je možno zlikvidovat laserovou fotokoagulací.

3.7. Význam a výskyt vajíček *Toxocara* spp. v prostředí

Jedním z hlavních důvodů proč se zabývat přítomností vajíček škrkavek v prostředí je ten, že způsobují velice závažné onemocnění u lidí. Tím je, již mnohokrát v této práci zmíněná, larvální toxokaróza. Proto se celá řada vědců zabývá touto kontaminací a je také snaha o to, aby se možný výskyt vajíček minimalizoval.

Nejvíce kontaminovaným prostředím je převážně půda (Akao a Ohta, 2007; Dubná et al., 2007), písek (Ferre a Dorchie, 2000) a jiné sypké materiály. Důvodem je, že pokud má pes či kočka možnost výběru, raději defekují do těchto materiálů. Oblasti možné kontaminace půdy jsou do jisté míry odlišné ve městech a na venkově (Uhlíková a Hübner, 1983). Podle Despommiera (2003), Matsuo a Nakashio (2005) a Rubinsky-Elefanta et al. (2008) jsou nejvíce kontaminované parky, městské a příměstské oblasti.

Podle Bartošové (2004) jsou zdrojem celé řady závažných onemocnění u dětí převážně dětská pískoviště. Nejvíce je v České republice rozšířena, jak již bylo řečeno, právě larvální toxokaróza, ale také například toxoplazmóza či askarióza. Přestože se jedná o onemocnění dávno známá, představují zdravotnická rizika i dnes.

V Praze byla zjištěna kontaminace vnějšího prostředí vajíčky toxokar v 3,7 až 12,1 % a v Českých Budějovicích v 14,0 až 30,4 % (Jíra, 1998).

Dubná et al. (2007) se v letech 2000 až 2003 zabývali kontaminací půdy vajíčky *Toxocara* spp. na území Prahy. Vzorky byly sbírány ze všech městských částí Prahy na uzavřených pískovištích se zákazem vstupu psů, ale i na neuzavřených pískovištích. Bylo zjištěno, že 11,9 % je pozitivních. Počet vajíček se pohyboval od 2 do 22 (na 100 g). 46,6 %

vajíček bylo zralých. Dále se zjistilo, že neexistuje významný rozdíl mezi uzavřenými a neuzavřenými pískovišti.

Shimizu (1993) při svém pozorování, které prováděl v letech 1990 – 1991 v japonském městě Tokushima, zjistil poměr vajíček *T. canis* k *T. cati* 2:3. Dále uvádí, že pískoviště v parcích a dětských hřištích jsou více kontaminovaná (87,5 %) vajíčky *Toxocara* spp. než pískoviště ve školách a dětských centrech (36,4 %).

Uga (1993) prováděl výzkum ve veřejných parcích v japonském městě Hyogo. Celkem bylo zkoumáno 13 pískovišť. Ve 12 z nich, což představuje prevalenci 92 %, byla nalezena vajíčka *Toxocara* spp. 63 % vajíček bylo zralých.

O'Lorcain (1994) zkoumal přítomnost vajíček *Toxocara* spp. na dětských hřištích v irském Dublinu. Celkem bylo odebráno 228 vzorků a z toho 15 % bylo pozitivních. Autor uvádí, že ve všech případech se jednalo o *T. canis* a nebylo přítomno ani jedno vajíčko *T. cati*. Hustota vajíček byla 1,4 na 100g vzorku. 50 % vajíček obsahovalo vyvinutou larvu, což znamená, že byla infekční.

Uga et al. (1996) při svém výzkumu, který byl prováděn pozorováním pískovišť pomocí videokamery, zjistili, že největší podíl na fekální kontaminaci dětských pískovišť mají kočky.

Podle starších přehledů z různých zeměpisných oblastí se vajíčka nacházela ve vzorcích písku a půdy; v Západním Berlíně – 10,0 %, v Miláně – 21 %, v Birminghamu – 24,4 %, v Glasgowě – 6,0 %, ve Filadelfii – 10,2 %, v Montrealu – 18 %. Ve Vídni byly vzorky z pískovišť kontaminovány vajíčky v 2,9 %, s obsahem 3,8 vajíčka v 10 g (Jíra, 1998).

Ferre a Dorchie (2000) prováděli výzkum dětských pískovišť ve Francii v Toulouse v letech 1998-1999 a zjistili, že 75 %, jimi zkoumaných pískovišť, je zamořeno vajíčky *Toxocara* spp.

Při dalších výzkumech bylo prokázáno, že poměr nalezených vajíček *T. canis* a *T. cati* je 1:3 (Uga et al., 2000; Matsuo a Nakashio, 2005).

Matsuo a Nakashio (2005) zjišťovali v roce 2003 prevalenci fekální kontaminace dětských pískovišť ve veřejných parcích v Saporro City v Japonsku. Bylo zjištěno, že 9 pískovišť, což představuje 8 % z celkového počtu vzorků, obsahovalo vajíčka helmintů. Při bližším zkoumání bylo zjištěno, že v 8 případech se jedná o vajíčka *Toxocara* spp. Také bylo vyzorováno, že fekální kontaminace nesouvisí s velikostí parku.

Nejvíce alarmující je kontaminace dětských hřišť a parků vajíčky *Toxocara* spp. v západní a střední Evropě. Nižší kontaminace (4,2 – 6,3 %) je hlášena ve třech rakouských

městech, v Londýně a v polské Poznani. V Utrechtu bylo nalezeno až 50 % pozitivních vzorků z parků a pískovišť (Dubná et al., 2007).

3.8. Hygienické požadavky na dětská pískoviště

Zákon č.258 /2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví ve znění posledních předpisů stanoví hygienické požadavky v § 13 odst. 2 a Vyhláškou č. 135/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích (§ 33 a příloha č. 10). Metodický pokynu HH č.j. MZDR 35023/2004 HEM poskytuje základní hygienické požadavky pro provoz venkovních hracích ploch ve smyslu zákona č.285/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví, v platném znění včetně sjednocení zásad hygienického dozoru (Anonym 1).

Venkovní pískové hrací plochy(písková hřiště na volejbal, pískové plochy dětských hřišť a dopadové plochy pod herními prvky) musí být chráněny před volně pobíhajícími zvířaty (Anonym 2).

Hygienické požadavky na dětská pískoviště upravuje vyhláška 135/2004 Sb. ze dne 17. Března 2004. Tato vyhláška stanoví hygienické limity mikrobiálního, parazitárního a chemického znečištění písku v pískovištích na venkovních hracích plochách.

Podle této vyhlášky by měla být pískoviště, co se týče geohelmintů (vajíčků i larev) negativní. Jedná se o geohelminy patogenní pro lidi v 15 g matrice (Anonym 3).

3.8.1. Zásady provozu volných hracích ploch s pískovištěm

Četnost kontroly stanoví v minimálním rozsahu kontrolní plán KHS. Dle zkušeností se doporučuje 1x ročně, podle potřeby a podmínek provozu zařízení, např. před začátkem sezóny nebo během sezónního provozu. Předmětem kontroly je kontrola provozního řádu a vizuální kontrola pískoviště. Je-li pískoviště zanedbané, zjevně znečištěné, nebo jinak znehodnocené, pracovník OOVZ zajistí kontrolní odběr písku k laboratornímu vyšetření. V případě nevyhovujícího výsledku vyšetření postupuje ve smyslu zákona č. 258/2000 Sb. a správního řádu.

U pískovišť se kontroluje:

- Kvalita písku - mikrobiologická kontrola je pouze indikátorem prováděných opatření. Výsledek analýzy se hodnotí dle přílohy č. 10 vyhlášky č. 135/2004 Sb. Při

překročení limitů ve vzorku písku je nutno požadovat nápravná opatření a současně podle § 84 odst.1. písmena h) zákona č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví zakázat provoz pískoviště do doby odstranění závad. Z hlediska ochrany veřejného zdraví musí provozovatel při kontaminaci písku provést účinná opatření nebo jeho výměnu, včetně doložení dalšího pravidelného zajištění účinných opatření pro zamezení kontaminace písku.

- Dodržování provozního řádu - § 100 zákona o ochraně veřejného zdraví.

Další zásady provozu a kontroly venkovních hracích ploch:

- Venkovní hrací plochy, určené ke hrám dětí, které nemají svého provozovatele, nelze považovat za hrací plochu ve smyslu zákona č.258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví.

- Státní zdravotní dozor se zaměřuje na kontrolu písku v pískovištích a provozního řádu.

- Provozované venkovní hrací plochy, které vyhovují podmínkám stanovených zákonem č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a vyhláškou č. 135/2004 Sb., by měly být známy veřejnosti jako vyhovující, dle hygienických požadavků ve smyslu zákona č.258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví. Oznámení veřejnosti se provede v místě obvyklým způsobem. Jde především o hrací plochy, u kterých je vytvořen předpoklad, že mohou být provozovány tak, že plochy nebudou mikrobiologicky a parazitologicky kontaminovány a plochy oplocených hřišť s řízeným provozem, zpracovaným provozním řádem, apod. (Anonym 1).

3.9. Zdravotnická opatření

Ve většině případů lze larvální toxokaróze předcházet především důsledným dodržováním preventivních opatření (Ondriska a Mikulecký, 2002).

Jelikož nejohroženější skupinou jsou právě děti, je třeba v první řadě u nich vypěstovat hygienické návyky, jako je mytí rukou po hře v písku a se psem (Jíra, 1998; Ondriska a Mikulecký, 2002; Bartošová, 2004).

Uhlíková a Hübner (1983), Ondriska a Mikulecký (2002), Stejskal (2005) uvádějí, že je také důležité dětem zabránit v požívání hlíny, písku a jiných půdních substrátů.

Vajíčka jsou velmi odolná a vydrží za mírné vlhkosti infekční 3 roky. Odolávají běžným dezinfekčním prostředkům (Svoboda et al., 2001). Proto by měla být likvidována

rychlým vysoušením povrchové vrstvy nebo přemístěním této vrstvy zeminy dospodu (Uhlíková a Hübner, 1983).

Důležité je také pravidelné „odčervování“ psů i koček (Jíra, 1998; Ondriska a Mikulecký, 2002; Bartošová, 2004; Stejskal, 2005). Pokud má pes volný výběh nebo se pohybuje na dvorku či zahradě, je třeba pravidelně kontrolovat jeho trus a při pozitivním nálezu „odčervit“ (Uhlíková a Hübner, 1983; Despommier, 2003). Psí výkaly je třeba z veřejných míst ve městech hygienicky odstraňovat a zejména zabraňovat psům ve volné defekaci na dětských hřištích a v parcích (Jíra, 1998). V defekaci na dětských hřištích by mělo zabránit oplocení (Ondriska a Mikulecký, 2002; Matsuo a Nakashio, 2005).

Rodiny s malými dětmi by se měly pokud možno obejít bez psa či kočky, speciálně velmi mladých zvířat. Je ovšem nutno připustit, že ani děti z rodin bez těchto zvířat nejsou prosty rizik nákazy ze sousedství a veřejných prostor (Uhlíková a Hübner, 1983).

Matsuo a Nakashio (2005) uvádějí, že jednou z možností jak snížit zamoření pískovišť je výměna písku. Uga a Kataoka (1995) však uvádějí, že tato výměna je zbytečná, protože vajíčka byla v písku nalezena už za 6 - 9 týdnů po výměně. Dále uvádějí, že nejlepší ochranou je zakrytí folií, která brání promoknutí písku a zároveň se díky ní v písku zvyšuje teplota, která přítomná vajíčka zničí. Tento názor ve své práci zastává také Despommier (2003).

Avšak 100 % účinný způsob jak zabránit kontaminaci prostředí vajíčky *Toxocara* spp. nebyl dosud objeven (Matsuo a Nakashio, 2005).

4 Metodika

4.1. Odběr materiálu

Z každého metru čtverečního dětského pískoviště se odebere kovovou lopatkou materiál tak, aby byl nabrán povrch i část pod povrchem do hloubky asi 3 – 5 cm. Množství odebraného materiálu by mělo přibližně odpovídat 50 g. Dvacet těchto odběrů se umístí v dostatečně velkém igelitovém sáčku. Jeden směsný vzorek by měl vážit přibližně 1000g.

Ze směsného vzorku se odstraní velké kameny, eventuálně větvičky a jiné rostlinné materiály. Vzorek v sáčku se důkladně promíchá. Odebraný materiál se uschová v lednici maximálně týden před zpracováním. Při dlouhodobém skladování hrozí zničení vajíček některými plísněmi (Kazacos, 1983).

Vzorky pocházejí z částí Prahy 1 až 7 a z každé bylo odebráno a následně vyšetřeno 6 vzorků. Celkem tedy bylo vyšetřeno 42 vzorků.

Všechny sebrané vzorky písku pocházejí pouze z oplocených pískovišť.

4.2. Laboratorní zpracování

Postup:

Vzorek o velikosti 1 kg písku se nejprve promíchá. Ze směsi se odebere 4krát 15 g písku a dá se do 50 ml zkumavek. Do každé se přidá 30 ml destilované vody a 0,25 Tweenu 40. Zkumavky se důkladně ručně protřepou a umístí se na 10 minut do třepačky. Po vyjmutí ze třepačky se nechají centrifugovat 5 minut při 1 000 RPM. Po centrifugaci se odsaje supernatant vakuovou lahví, přidá se 30 ml destilované vody, obsah zkumavky se protřepe a dá se opět na 5 minut centrifugovat při stejných otáčkách. Znovu se supernatant odsaje a přidá se 30 ml destilované vody a zkumavky se dají naposledy do centrifugy na 5 minut a 1000 otáček. Po odsátí supernatantu se sediment z každé 50 ml zkumavky rovnoměrně rozdělí pomocí umělohmotné lžičky do 4 dalších 15 ml zkumavek. Celkem jich bude 16 ks. K sedimentu se přilije asi 1 cm pod okraj zkumavky nasycený dusičnan sodný (hustota 1.35 g/cm^2) a po uzavření se důkladně ručně protřepe. Zkumavky se umístí do centrifugy a centrifugují se opět 5 minut při 1000 otáčkách. Po vyjmutí z centrifugy se vloží zkumavky do

stojanu. Nyní se odsaje pomocí pipety nejvrchnější vrstva, asi 1 ml, a následuje zkoumání obsahu ve vyšetřovací komůrce (Mc Master) pod mikroskopem. Pokud jsou nalezena vajíčka škrkavek, tak se sečtou a zapíší do sešitu. Po sečtení se spláchnou do špičaté „šampusky“, která se popíše a umístí se do lednice. Vajíčka v „šampusce“ se 2. den odsají a přendají do eppiny. Přidá se 70 % čistý alkohol. Eppiny se řádně popíší číslem vzorku (upraveno, Kazacos, 1983).

5 Výsledky

Tabulka č. 1: Výskyt vajíček *Toxocara* spp v pražských pískovištích

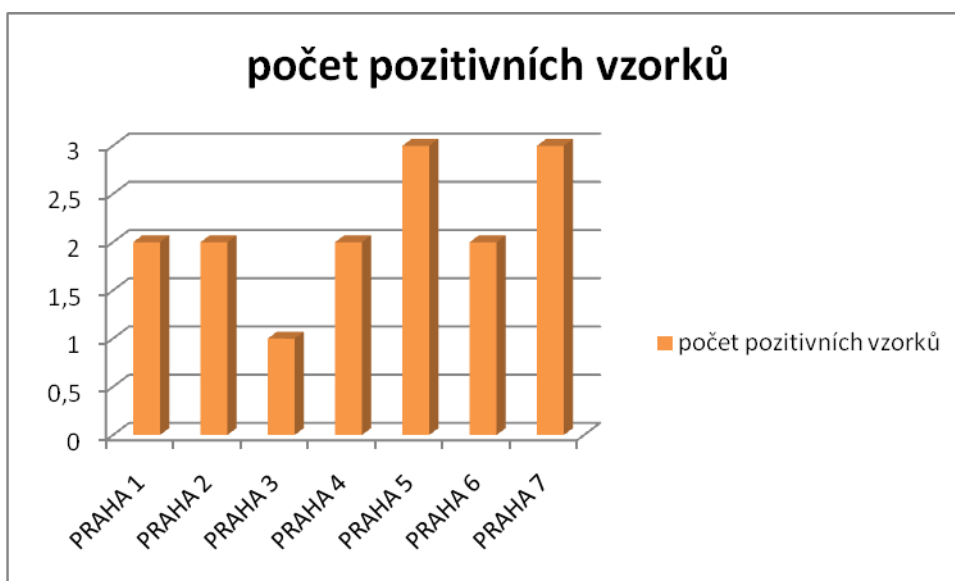
| ČÁST PRAHY | VZOREK | POLOHA | DATUM ODBĚRU | VÝSLEDEK | POČET VAJÍČEK | z toho ZRALÝCH |
|------------|--------|--------------------------------|--------------|-----------|---------------|----------------|
| PRAHA 1 | 1a | 50°05'07.39''N 14°26'04.28''E | 7.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 1b | 50°05'13.79''N 14°24'33.88''E | 1.9.2009 | pozitivní | 1 | 0 |
| | 1c | 50°04'59.03''N 14°22'28.55''E | 15.8.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 1d | 50°05'25.61''N 14°24'40.33''E | 16.8.2009 | pozitivní | 2 | 0 |
| | 1e | 50°04'40.57''N 14°24'47.17''E | 15.8.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 1f | 50°04'57.18''N 14°25'25.92''E | 25.8.2009 | negativní | 0 | 0 |
| PRAHA 2 | 2a | 50°03'58.41''N 14°25'06.68''E | 7.10.2009 | pozitivní | 1 | 0 |
| | 2b | 50°04'26.91''N 14°25'10.42''E | 9.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 2c | 50°04'33.96''N 14°25'31.68''E | 7.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 2d | 50°04'05.36''N 14°24'57.46''E | 9.10.2009 | pozitivní | 1 | 1 |
| | 2e | 50°03'48.70''N 14°25'15.71''E | 7.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 2f | 50°04'01.44''N 14°25'38.76''E | 7.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| PRAHA 3 | 3a | 50°04'35.58''N 14°28'34.79''E | 1.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 3b | 50°04'42.16''N 14°27'04.50''E | 6.10.2009 | pozitivní | 3 | 1 |
| | 3c | 50°04'38.36''N 14°28'00.69''E | 6.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 3d | 50°04'50.87''N 14°27'17.66''E | 6.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 3e | 50°05'01.84''N 14°27'23.69''E | 7.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 3f | 50°05'26.46''N 14°27'46.96''E | 29.9.2009 | negativní | 0 | 0 |
| PRAHA 4 | 4a | 50°03'32.68'' N 14°26'54.64''E | 29.9.2009 | pozitivní | 5 | 1 |
| | 4b | 50°03'40.33''N 14°25'28.91''E | 7.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 4c | 50°02'44.91''N 14°26'48.04''E | 29.9.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 4d | 50°02'59.50''N 14°28'03.08''E | 29.9.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 4e | 50°02'33.03''N 14°27'20.91''E | 29.9.2009 | pozitivní | 1 | 0 |
| | 4f | 50°02'58.12''N 14°27'55.25''E | 29.9.2009 | negativní | 0 | 0 |

| | | | | | | |
|---------|----|-------------------------------|------------|-----------|---|---|
| PRAHA 5 | 5a | 50°03'29.98''N 14°23'36.67''E | 12.8.2009 | pozitivní | 4 | 1 |
| | 5b | 50°04'07.67''N 14°24'39.58''E | 12.8.2009 | pozitivní | 6 | 0 |
| | 5c | 50°03'35.12''N 14°17'26.40''E | 21.7.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 5d | 50°04'29.94''N 14°23'59.21''E | 28.7.2009 | pozitivní | 1 | 0 |
| | 5e | 50°02'59.24''N 14°20'25.30''E | 21.7.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 5f | 50°03'09.78''N 14°22'03.24''E | 28.7.2009 | negativní | 0 | 0 |
| PRAHA 6 | 6a | 50°05'58.77''N 14°23'28.48''E | 11.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 6b | 50°08'23.21''N 14°22'44.09''E | 14.8.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 6c | 50°06'15.25''N 14°23'48.52''E | 6.10.2009 | pozitivní | 2 | 0 |
| | 6d | 50°05'54.78''N 14°22'30.59''E | 11.10.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 6e | 50°05'06.75''N 14°21'43.36''E | 4.9.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 6f | 50°08'03.21''N 14°22'21.97''E | 14.8.2009 | pozitivní | 3 | 0 |
| PRAHA 7 | 7a | 50°05'45.98''N 14°25'34.99''E | 29.8.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 7b | 50°06'32.18''N 14°26'52.66''E | 17.9.2009 | negativní | 0 | 0 |
| | 7c | 50°06'28.22''N 14°26'22.85''E | 17.9.2009 | pozitivní | 2 | 0 |
| | 7d | 50°06'29.26''N 14°26'50.85''E | 1.10.2009 | pozitivní | 1 | 0 |
| | 7e | 50°06'00.25''N 14°27'02.01''E | 11.10.2009 | pozitivní | 4 | 0 |
| | 7f | 50°06'10.46''N 14°25'16.98''E | 24.8.2009 | negativní | 0 | 0 |

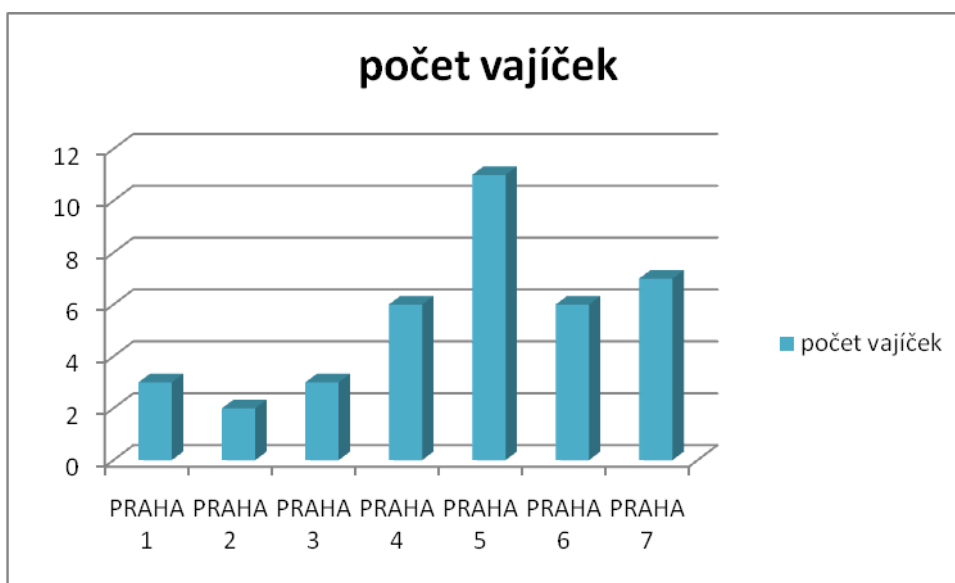
Tabulka č.2: Pozitivita vzorků v jednotlivých částech Prahy

| Městská část | počet pozitivních vzorků | pozitivita v % | počet vajíček | z toho zralých |
|--------------|--------------------------|----------------|---------------|----------------|
| Praha 1 | 2 | 13,33% | 3 | 0 |
| Praha 2 | 2 | 13,33% | 2 | 1 |
| Praha 3 | 1 | 6,67% | 3 | 1 |
| Praha 4 | 2 | 13,33% | 6 | 1 |
| Praha 5 | 3 | 20,00% | 11 | 1 |
| Praha 6 | 2 | 13,33% | 6 | 0 |
| Praha 7 | 3 | 20,00% | 7 | 0 |
| Celkem | 15 | 100% | 38 | 4 |

Graf č. 1: Počet pozitivních vzorků v jednotlivých částech Prahy



Graf č. 2: Počet vajíček v jednotlivých částech Prahy



Celkem bylo vyšetřeno 42 vzorků. Z toho 15 vzorků (35,71 %) bylo pozitivních. Celkem bylo nalezeno 38 vajíček, z toho pouze 4 (10,52 %) byla zralá.

Pro statistické vyhodnocení pozitivitu byl použit upravený χ^2 (chí kvadrát) test. Na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ bylo zjištěno, že mezi pozitivitou vzorků a jednotlivými částmi Prahy neexistuje statisticky významný rozdíl.

6 Diskuse

Tato diplomová práce je zaměřena na kontaminaci dětských pískovišť škrkavkami, protože se jedná o velice závažný problém, který je potřeba řešit. Jak již bylo několikrát v této práci zmíněno, tak psi a kočky jsou hlavními přenašeči vajíček škrkavek, které se mohou dostat do lidského organismu a způsobit zde velice závažné komplikace.

Kontaminací vnějšího prostředí vajíčky škrkavek se zabývalo v minulosti již mnoho vědců. Ze světových vědců jsou to například Ferre a Dorchies (2000), kteří považují za nejvíce kontaminované prostředí převážně písek. V jejich výzkumu, který probíhal ve Francii v Toulouse, bylo až 75 % pískovišť pozitivních na přítomnost vajíček *Toxocara* spp. Svoji pozornost na výskyt škrkavek v pískovištích také zaměřili Matsuo a Nakashio (2005), kteří při svém výzkumu ve městě Saporro v Japonsku zjistili, že 9 vzorků, což představuje 8 % ze všech jimi vyšetřených pískovišť, je kontaminováno parazity. V 8 z nich byla přítomna vajíčka *Toxocara* spp.

Pro metodu, kterou použili Ferre a Dorchies (2000) při svém výzkumu, je potřeba vzorek půdy o velikosti 200 g. Vzorek je smíchán s roztokem síranu zinečnatého o hustotě 1,18. Poté se přefiltruje přes síta o velikosti ok 800, 200 a 40 μm . Poslední síto se promyje síranem zinečnatým. Vzorek v 30 ml zkumavce se dá centrifugovat při 2000 ot./min po dobu 3 min. Vajíčka se nechají po dobu 10 min vyflotovat. Pozorování se provádí při 100 či 400 násobném zvětšení.

Kazacose (1983) uvádí, že na zjištění výskytu helmitů v půdě existují dvě neodstředivé a pět odstředivých flotačních metod. Ne všechny se však používají pro zjištění přítomnosti vajíček *Toxocara* spp. Používá se především jedna metoda, kterou řadíme mezi odstředivé.

V této metodě se 30 g vzorku smíchá se 60 ml vody a 0.5 ml Tween 40 (detergent pro předběžné zpracování vzorku) ve 100 ml zkumavce. Pak se vzorek přefiltruje. 28 ml usazeného filtrátu se 3krát promyje vodou a odstředí v 50 ml plastické centrifugační zkumavce. Sediment se rozdělí do čtyřech 15 ml centrifugačních zkumavek. Přidá se voda pomocí stříkačky (celkem 10 až 12 ml) a jemně se nechá promíchávat. Poté se centrifuguje (1 000 až 1 500 rpm, 3 minuty), následně odsaje a odstraní supernatant pomocí vakuové láhve. Sediment se promíchá se 14 ml dusičnanu sodného (flotační roztok). Vytvoří se nepatrné pozitivní menisky, umístí se 18 mm krycí sklíčko a zkumavka se centrifuguje po

dobu 5 minut při 1 500 rpm. Krycí sklíčko se přenesse na druhé sklíčko a sčítají se vajíčka. Při druhé a třetí determinaci se ze středu zkumavky odebere 0,5 ml tekutiny (za použití Pasterovy pipety), sediment se nechá promíchávat, přiloží se sklíčko a centrifuguje se (5 minut při 1 500 rpm) a sečtou se vajíčka. Tato metoda byla rovněž testovaná při použití 50 ml půdního filtrátu místo 28 ml.

Toparlak et al. (2002) pro diagnostiku vajíček z prostředí použili metodu podle Duwella. Tato metoda zahrnuje sběr směsného vzorku o velikosti 300 g z m² plochy. Tento vzorek se umístí do inkubátoru na 24 hod. při teplotě 28 – 30 °C kvůli odparu přebytečné vody. Poté se vzorek omývá pod tekoucí vodou za použití 2 sít o velikosti ok 250 µm a 150 µm. Do zachycené vody se přidá mycí prostředek a nechá 1 – 2 hodiny sedimentovat. Sediment se odebere a přidá se osolená voda a přítomná vajíčka by měla vyflotovat. Bližší informace o použitých chemikáliích bohužel nejsou uvedeny.

Matsuo a Nakashio (2005) použili pro svůj výzkum metodu, při které získaný směsný vzorek nechali proschnout při pokojové teplotě přes noc. Poté se písek proseje přes síto o velikosti ok 150 µm. Odeberou se 2 g z prachového písku, které se umístí do zkumavky. Přidá se 0,5 % roztok Tween 80 a roztok sacharózy o hustotě 1,27. Zkumavka se promíchá a vloží do centrifugy. Centrifuguje se při 500 x g po dobu 10 min. Potom se zkumavka doplní až po okraj roztokem sacharózy a na horu se přidá krycí sklíčko. Následuje další centrifugace při 45 x g po dobu 5 min. Sklíčko se přenesse na podložní sklíčko a umístí se pod mikroskop a pozorují se přítomná vajíčka při 100 násobném zvětšení.

Mnoho vědců se také zabývalo tím, zda se na kontaminaci více podílejí kočky nebo psi. Například Uga (1996) použil videokameru pro sledování pískovišť, zejména v nočních hodinách. Z pozorování bylo patrné, že na fekální kontaminaci se více podílejí kočky. Ovšem z toho nevyplývá, že by právě kočky měly být těmi, kdo by se větší měrou podílel na zamoření pískovišť vajíčky škrkavek. Později Uga et al. (2000) uvedli, že poměr vajíček *T. canis* ku *T. cati* je 1:3. Podle Shimizu (1993), který prováděl výzkum v letech 1990 – 1991, je poměr *T. canis* ku *T. cati* je 2:3. O'Lorcain (1994) vyšetřoval pískoviště v Dublinu. Vajíčka škrkavek byla přítomna u 15 % vzorků a všechna vajíčka byla určena jako *T. canis* a ani jediné jako *T. cati*.

V České republice se kontaminací pískovišť zabývá například Bartošová (2004), která uvádí, že dětská pískoviště jsou hlavním zdrojem parazitárních onemocnění, mezi které patří i toxokaróza. Uhlíková a Hübner (1983) usuzují, že tato kontaminace pískovišť je způsobena

hlavně tím, že psi a kočky preferují sypané materiály, pokud mají možnost výběru, pro defekaci.

Kontaminaci pískovišť v Praze se také zabývali Dubná et al. (2007). Výzkum probíhal během roku 2000 až 2003. Při tomto výzkumu bylo zjištěno, že 15 vzorků (11,9 %) ze 126 vzorků obsahovalo vajíčka *Toxocara* spp. Nejvíce kontaminovanou částí byla Praha 5, kde bylo nalezeno 5 pozitivních vzorků (27, 8 %). Druhou byla Praha 1 se 4 pozitivními vzorky (22,2 %). Následovala Praha 2 se 3 pozitivními vzorky (16,6 %). V Praze 3, 4 a 7 byl shodně nalezen 1 pozitivní vzorek (5, 6 %). Nejlépe dopadla Praha 6, kde se nevyskytl ani jeden pozitivní vzorek. Při statistickém vyhodnocení nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi oplocenými pískovišti, kde je zakázán vstup se psy, a pískovišti bez oplocení. Pro tento výzkum byla použita odstředivá metoda dle Kazacose z roku 1983, která je popsána výše.

Z výsledků této diplomové práce vyplývá, že v Praze 1 až 7, bylo nalezeno 15 pozitivních vzorků z celkového počtu 42 vzorků, což představuje 35,71 %. Všechny vzorky pocházejí pouze z oplocených pískovišť, kam mají psi zakázaný vstup. Nejvíce kontaminovanými oblastmi jsou Praha 5 a 7 se 3 pozitivními vzorky (20,00 %). Po 2 pozitivních vzorcích (13,33 %) bylo shodně nalezeno v Praze 1, 3, 4 a 6. Nejlépe dopadla Praha 2, kde byl nalezen pouze 1 pozitivní vzorek (6,67 %). Největší počet vajíček se vyskytoval na Praze 5 a nejméně pak na Praze 2.

Praha k 31.12. 2007 evidovala 76 496 psů označených mikročipem nebo tetováním. Ovšem skutečný počet psů je pravděpodobně větší, jelikož spousta majitelů kvůli výši ročních poplatků ze psů, které na území Prahy mohou činit 1 500 korun a za každého dalšího až 2 250 korun, nahlašují své psy u příbuzných v jiných městech, kde jsou poplatky daleko nižší. Nárůst psů je v mnoha městech velkým problémem, protože v dnešní době velice často dochází k úbytku zelených ploch a možností pro venčení psů tak ubývá. Tím pádem se na některých místech zvětšuje koncentrace psů a samozřejmě i možných parazitů.

Pobyt psů na veřejnosti je v mnoha městech regulován vyhláškami. Například začátkem roku 2001 přijalo Zastupitelstvo hl.m.Prahy obecně závaznou vyhlášku č. 6/2001 Sb o ochraně veřejné zeleně, která nabyla účinnosti dnem 1. května 2001. Ta ve veřejné zeleni zakazuje vstupovat se psy na dětská hřiště a pískoviště. Součástí této vyhlášky je také povinnost majitele sbírat po svém psovi exkrementy. Pokud tak majitel neučiní může být na území Prahy pokutován blokovou pokutou ve výši 1000 korun, ale v případě, že ho strážník Městské policie pošle ke správnému řízení, hrozí mu pokuta až do výše 30 000 korun za přestupek proti veřejnému pořádku. V cizině jsou velmi často zřízena speciální místa pro

venčení psů, která jsou pravidelně odklízena a probíhá zde i jakási asanance. V České republice se takováto místa téměř nevyskytují a v některých městech problém s odklizením exkrementů řeší rozdávaním speciálních kleští, jelikož se spousta majitelů vymlouvá na možné znečištění rukou. Nezodpovědnost majitelů psů, co se týče uklízení exkrementů, je opravdu velice závažný problém. Nejen že odklizení města stojí mnohdy i miliony korun, ale lidé by si měli uvědomit, že zde hrozí vysoké riziko přenosu parazitárních onemocnění na člověka a to zejména malé děti.

Jelikož se na kontaminaci prostředí také podílejí toulavá zvířata, zejména kočky, je téměř nemožné zabránit v šíření parazitů do vnějšího prostředí. Proto je podle mého názoru nejdůležitější osvěta. Je třeba dbát na odklid exkrementů z veřejných prostranství, ale samozřejmě dodržovat zákaz vstupu psů na dětská hřiště a pískoviště. Samozřejmostí pro každého majitele psa či kočky by mělo také být pravidelné „odčervování“, i když se v některých případech nejedná o nejlevnější záležitost. Dále by se do podvědomí lidí měl dostat fakt, že při „odčervení“ dochází k jednorázovému vyloučení parazita a to pouze z trávicího ústojí a pes se může v blízké době opět nakazit, pokud přijde do styku se zralými vajíčky parazitů. Veliké procento štěňat se rodí zamořeno škrkavkami, jelikož zatím nemáme možnost jak se zbavit tzv. somatických larev, které jsou zapouzdřené v nejrůznějších orgánech a ve svalové tkáni. Tyto larvy pak během gravidity prostoupí přes placentu do plodů. A proto je zapotřebí „odčervovat“ štěňata již ve věku 2 týdnů, pak 4, 6 a 8 týden, do půl roku věku štěňate se doporučuje „odčervovat“ každý měsíc. Mnoho lidí si myslí, že dospělého psa stačí „odčervit“ pouze dvakrát do roka. Není divu, protože z vlastní zkušenosti vím, že tento názor zastávají i mnozí veterináři, kteří pak tyto informace šíří mezi veřejnost. Správně by se měla provádět pravidelná koprologická vyšetření a „odčervovat“ pouze při pozitivních nálezech. Dalším problémem, co se týče „odčervování“ je, že spousta lidí, opět i mnoho veterinárních lékařů, nedodržují občasnou výměnu účinné látky v „odčervovacím“ přípravku, protože může dojít k rezistenci parazita na danou látku.

7 Závěr

V boji proti larvální toxokaróze, ale i proti veškerým parazitárním onemocněním, je nejdůležitější prevence., která zahrnuje důsledné odklizení exkrementů z veřejných míst. Dalším důležitým krokem je pravidelné „odčervování“ psů i koček pomocí anthelmintik. Dále je třeba informovat širokou veřejnost o nebezpečí jaké jim hrozí při styku se zralými vajíčky škrkavek. Myslím si, že většina lidí nemá nejmenší ponětí o tom, co je to larvální toxokaróza, co způsobuje v lidském organismu a jakým způsobem se může člověk nakazit. Už malé děti se učí základům správné hygieny, ale ruku na srdce, myslím si, že většina z nás je někdy porušila, a proto je každý z nás potencionálním hostitelem škrkavek i jiných parazitů. V mnoha případech pokud se člověk setká s malým množstvím infekčních vajíček, pak je jeho imunitní organismus schopen si s touto nákazou poradit. Ale počet nakažených jedinců je už po mnoho let docela na vysoké úrovni, hlavně v rozvojových zemích. Jako hlavní zdroj vajíček škrkavek se sice v mnoha literaturách uvádí půda a nejrůznější sypké materiály, ale zdrojem může být také zelenina, ovoce, syrové maso, či kontaminovaná voda. Někteří autoři se domnívají, že k nákaze člověka může dojít také ze srsti psa, která může obsahovat vajíčka. Většina studií, které se touto problematikou zabývala se shodla na tom, že srst psů i koček obsahuje vajíčka škrkavek, ale ta jsou většinou neživotoschopná, protože zde nemají vhodné podmínky pro dokončení vývoje. Dále je třeba dohlížet na malé děti a zabránit jim v požívání zeminy a podobných materiálů, protože takto dochází nejčastěji k požití zralých vajíček škrkavek.

Dále bych chtěla dodat, že by se každý z nás, kdo vlastní psa či kočku, měl snažit dodržovat veškerá opatření, která jsou v této práci uvedena. Protože jedině tak můžeme snížit populaci škrkavek i jiných parazitů a snad i počet nakažených jedinců larvální toxokarózou.

Podle mého názoru je třeba sledovat i nadále kontaminaci pískovišť, parků a jiných veřejných míst na území Prahy, ale samozřejmě i v jiných městech. V poslední době jsem upozorovala úbytek neoplocených pískovišť, což považuji za správný krok. Dále bych se zaměřila na to, aby veškerá pískoviště byla zakryta. Nejlépe plachtou, která brání provlhnutí a dochází také ke zvyšování teploty, čímž se vytvářejí nepříznivé podmínky pro vývoj vajíček. Doporučila bych také častější kontrolu zamoření pískovišť a při pozitivitě provést výměnu písku a následné zakrytí, aby se kontaminace nemohla opakovat.

8 Terminologický slovníček

akutní nákaza-rychle působící nákaza, která končí po určité době buď vyléčením, přechodem na nákazu chronickou či latentní, případně končí smrtí hostitele

askarióza-parazitární onemocnění člověka, jehož původcem je škrkavka dětská (*Ascaris lumbricoides*)

bronchopneumonie-lalůčkový zánět plic, postihující jen jednotlivé lalůčky nebo jejich skupiny

cefalalgie-bolest hlavy

cerebrální vaskulitida-zánět mozkových cév

definitivní hostitel-hostitel, ve kterém se parazit pohlavně rozmnožuje

encefalitida-prudký zánět mozku

endoftalmitida-prudký infekční nitrooční zánět, projevy: zhoršené vidění, stupňující se bolest oka, silné zčervenání oka, otok víček a spojivky

enukleace bulbu-odstranění celého oka i přídatných orgánů

eozinofilie-zvýšení počtů eozinofilů v krvi

geofagie-chorobné požívání hlíny

hemorrhagie-krvácení

hepato-jaterní

hepatomegalie-zvětšení jater

hypoglykémie-nízká hladina krevního cukru

hypotenze-nízký tlak krve

chronická nákaza-dlouhodobé přetrvávání infekce i jejích příznaků u hostitele. Příznaky mohou být jiné než v akutní fázi

katarakta-šedý zákal oka

keratitida-zánětlivé onemocnění oční rohovky

klád-taxonomická skupina

konjunktivitida-zánět spojivek

laparotomie-chirurgické otevření břišní dutiny

larva-aktivní vývojové stadium bezobratlých následující po stadiu vajíčka

latentní nákaza-dlouhodobé přetrvávání parazita v organismu, které se neprojevuje žádnými klinickými příznaky

leukocytóza-přechodné zmnožení bílých krvinek v krvi nad 10 000 v 1 ml

makulopapulózní vyrážka-vyrážka projevující se zarudnutím a puchýři

meningitida-zánět mozkových blan

migrans-stěhovavý, cestující

myelitida-zánět míchy

nauzea-nevolnost, pocit na zvracení

obturace-ucpání, uzavření

ocularis-okulární, týkající se oka

parafyletický taxon-člověkem uměle vytvořený taxon, který zahrnuje společného předka, ale ne všechny jeho potomky

paratenický hostitel-hostitel v němž se parazit nemnoží ani nevytváří nová ontogenetická stadia, pouze se v něm kumulují infekční stadia parazita

paresthesie-porucha cití projevující se jako brnění, mravenčení, apod.

pneumonitida-zánět vmezežené plicní tkáně

poliomyelitis-dětská obrna, virové infekční onemocnění

prevalence-obecné rozšíření, poměr počtu nemocných k počtu obyvatel

pruritus-svědění

pulmonální-plicní

retrobulbární-ležící za oční koulí

ruptura-prasknutí, roztržení

séroprevalence-poměr jedinců sérologicky pozitivních (tj. jedinců, kteří mají specifické protilátky v těle, jelikož se během života setkali se sledovaným patogenem) k celkovému počtu ve sledované populaci

solubilita-schopnost rozpouštět se v roztoku, rozpustnost

spikuly-štetinky, které slouží k rozevírání pohlavního ústrojí samičky

teleangiektazie-lokalizované nahromadění drobných krevních cév, které lze pozorovat např. na kůži

tonicko-klonické křeče-bezvědomí s křečemi

toxalergický exantém-druh alergické reakce

toxoplazmóza-parazitární onemocnění člověka i zvířat, které způsobuje prvok *Toxoplasma gondii*

vitrektomie-odstranění sklivce mikrochirurgickou technikou

visceralis-viscerální, útrobní, orgánový

9 Seznam použitých zkratek

DNA (DeoxyriboNucleic Acid)-deoxyribonukleová kyselina

rDNA (ribosomal DeoxyriboNucleic Acid)- ribozomální deoxyribonukleová kyselina

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assai)-imunologická metoda

ITS (Internal Transcribed Spacer)-ITS oblast, využití ke zjištění vztahů mezi blízkými příbuznými rody i na druhové úrovni

KHS-krajská hygienická stanice

OLM (Ocular Larva Migrans)-larva migrující v oku

OOVZ-orgán ochrany veřejného zdraví

PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony)-software pro tvorbu evolučních „stromů“

PCR (Polymerase Chain Reaction)-polymerázová řetězová reakce

SSU rDNA (Small-Subunit Ribosomal Deoxyribonucleic Acid)-malá ribozomální podjednotka DNA

UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages)-metoda pro tvorbu fylogenetických „stromů“

VLM (Visceral Larva Migrans)-larva migrující útroby

10 Použitá literatura

Adoutte, A., Balavoine, G., Lartillot, N., Lespinet, O., Prud'homme, B., de Rosa, R. 2000. The new animal phylogeny: Reliability and implications. PNAS, 97, 4453 – 4456

Aguinaldo, A.M.A., Turbeville, J. M., Linford, L. S., Rivera, M. C., Garey, J. R., Raff, R. A., Lake, J. A. 1997. Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. Nature, 387, 489 – 493

Akao, N., Ohta, N. 2007. Toxocariasis in Japan. Parasitology International, 56, 87 – 93

Alderete, J. M., Jacob, C. M., Pastorino, A. C., Elefant, G. R., Castro, A. P., Fomin, A. B., Chieffi, P. P. 2003. Prevalence of Toxocara infection in schoolchildren from the Butantã region, São Paulo, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 98 (5), 593 - 597

Aleshin, V. V., Kedrova, O. S., Milyutina, I. A., Vladychenskaya, N. S., Petrov, N. B. 1998. Relationships among nematodes based on the analysis of 18S rRNA gene sequences: molecular evidence for monophyly of chromadorian and secernentian nematodes. Russian Journal of Nematology, 6, 175 – 184

Andrássy, I. 1974. The evolution and systematization of Nematoda. In: Lee, D. (Ed.) 2002. The Biology of Nematodes. CRC Press, New York, 1 – 30.

Andrássy, I. 1976. Evolution as a Basis for the Systematization of Nematodes. In: Lee, D. (Ed.) 2002. The Biology of Nematodes. CRC Press, New York, 1 – 30

Anonym 1. Zásady provozu volných hracích ploch

Dostupné z:

<http://www1.szu.cz/chzp/puda/venkovni/Zasady%20provozu%20volnych%20hracich%20ploch.pdf>

Anonym 2. Metodické doporučení k zajištění ochrany zdraví a zvýšení bezpečnosti dětí a mládeže na dětských a sportovních hřištích i v tělocvičnách

Dostupné z: <http://www.szu.cz/chzp/půda/venkovni/MD2007.pdf>

Anonym 3. Vyhláška č. 135/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích (§ 33 a příloha č. 10)

Dostupné z:

[http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/vyhlaska_135_2004_koupaliste/\\$FILE/OOV-vyhlaska_135-20040317.pdf](http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/vyhlaska_135_2004_koupaliste/$FILE/OOV-vyhlaska_135-20040317.pdf)

Antolová, D., Reiterová, K., Miterpáková, M., Stanko, M., Dubinský, P. 2004. Circulation of *Toxocara* spp. in suburban and rural ecosystems in the Slovak Republic. *Veterinary Parasitology*, 126, 317 – 324

Azizi, S., Oryan, A., Sadjjadi, S. M. 2007. Histopatologic changes and larval recovery of *Toxocara cati* in experimentally infected chickens. *Parasitol Res*, 102, 47 – 52

Bartošová, D. 2004. Nemoci z pískovišť. *Pediatric pro praxi*, 3, 127 – 129

Dostupné z: <http://www.solen.cz/pdfs/ped/2004/03/04.pdf>

Blaxter, M. L. 2003. Nematoda: Genes, Genomes and the Evolution of Parasitism. *Advances in Parasitology*, 54, 102 – 195

Borecka, A., Gawor, J., Niedworok, M., Sordyl, B. 2008. Detection of *Toxocara canis* larvae by PCR in the liver of experimentally infected Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Helmintologia*, 45 (3), 147 – 149

Bregeon, L., Champiat, C., Ledunois, B. 2008. Dermatoses et parasitoses liées aux animaux de compagnie. *École des hautes études en santé publique*, 18 - 29

Bruňaská, M., Dubinský, M., Reiterová, K. 1995. *Toxocara canis*: Ultrastructural Aspects of larval moulting in the Maturing eggs. *International Journal for Parasitology*, 25 (6), 683 – 690

- Brusca, R. C., Brusca, G. J. 1990. Invertebrates. Systematic Biology, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 936
- Coati, N., Schnieder, T., Epe, C. 2004. Vertical transmission of *Toxocara cati* Schrank 1788 (Anisakidae) in the cat. *Parasitol Res*, 92, 142 – 146
- Coomans, A. 2000. Nematode systematics: past, present and future. *Nematology*, 2, 3 – 7
- Del Aguila, C., Cuellar, C., Guillend, J. L. 1988. Excretory/secretory antigen of *Toxocara canis*: recognition profiles of polyclonal and larvicidal monoclonal antibodies. *Parasite Immunology*, 10, 237 - 241
- De Ley, P., Blaxter, M. L. 2002. Systematic position and phylogeny. In: Lee, D. (Ed.) 2002. *The Biology of Nematodes*. CRC Press, New York, 1 – 30
- Despommier, D. 2003. Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects. *Clinical microbiology reviews*, 16 (2), 265 – 272
- Dorris, M., De Ley, P., Blaxter, M. L. 1999. Molecular Analysis of Nematode Diversity and the Evolution of Parasitism. *Parasitology Today*, 15, 188 – 193
- Doğan, N., Dinleyici, E. C., Bor, Ö., Özensoytöz, S., Özbel, Y. 2007. Seroepidemiological Survey for *Toxocara canis* Infection in the Northwestern Part of Turkey. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31 (4), 288 - 291
- Dubná, S., Langrová, I., Jankovská, I., Vadlejch, J., Pekár, S., Nápravník, J., Fechtner, J. 2007. Contamination of soil with *Toxocara* eggs in urban (Prague) and rural areas in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 144, 81 – 86
- Eberhard, M. L., Alfano, E. 1998. Adult *Toxocara cati* infections in U.S. children: report of four cases. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 59 (3), 404 – 406
- Ferre, P., Dorchies, Ph. 2000. Recherche des oeufs de *Toxocara* dans le sable des aires de jeux de huit jardins publics de Toulouse. *Revue Méd. Vét.*, 151 (6), 501 - 506

- Finsterer, J., Auer, H. 2007 Neurotoxocarosis. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 49 (5), 279 – 287
- Fisher, M. 2003. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. Trends in Parasitology, 19 (4), 167 – 170
- Fogt-Wyrwas, R., Jarosz, W., Mizgajska-Wiktor, H. 2007. Utilizing a polymerase chain reaction method for the detection of *Toxocara canis* and *T. cati* eggs in soil. Journal of Helminthology, 81, 75 - 78
- Gómez, L., Rueda, T., Pulido, C., Sánchez-Román, J. 2007. Ocular toxocariasis. A case report toxocariasis ocular. Arch soc ESP Oftalmol, 83, 49 - 52
- González-Páez, G. E., Argüello-García, R., Alba-Hurtado, F. 2007. *Toxocara canis*: Proteinases in perivitelline fluid from hatching eggs. Veterinary Parasitology, 147, 332 – 335
- Chitwood, B. G., Chitwood, M. B. 1933. The characters of a protonematode. In: Lee, D. (Ed.) 2002. The Biology of Nematodes. CRC Press, New York, 1 – 30
- Iddawela, R. D., Rajapakse, R. P. V. J., Perera, N. A. N. D., Agatsuma, T. 2007. Characterisation of *Toxocara canis* species – specific excretory – secretory antigen (TcES – 57) and development of a double sandwich ELISA for diagnosis of visceral larva migrans. Korea Journal of Parasitology, 45 (1), 19-26
- Ishiwata, K., Shinohara, A., Yagi, K., Horii, Y., Tsuchiya, K., Nawa, Y. 2004. Identification of tissue-embedded ascarid larvae by ribosomal DNA sequencing. Parasitol Res, 92, 50 – 52
- Jacobs, D. E., Zhu, X. Q., Gasser, R. B., Chilton, N. B. 1997. PCR-based methods for identification of potentially zoonotic ascaridoid parasites of the dog, fox and cat. Acta Tropica, 68, 191–200
- Jex, A. R., Waeschenbach, A., Littlewood, D. T. J., Hu, M., Gasser, R. B. 2008 The Mitochondrial Genome of *Toxocara canis*. PLoS Negl Trop Dis, 2 (8), 273

- Jíra, J. 1998. Lékařská helmintologie. Helminthoparazitární nemoci. Galén, Praha, 492 s.
- Jírovec, O., Bedrník, P., Jíra, J., Kmety, E., Kotrlá, B., Kramář, J., Kučera, K., Kulda, J., Přivora, M., Rosický, B. 1977. Parasitologie pro lékaře. Avicenum, Praha, 800 s.
- Jones, J. L., Kruszon-Moran, D., Won, K., Wilson, M., Schantz, P. M. 2008. *Toxoplasma gondii* and *Toxocara* spp. Co-infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 78 (1), 35 - 39
- Kaplan, M., Kalkan, A., Hosoglu, S., Kuk, S., Özden, M., Demirdag, K., Ozdarendeli, A. 2004. The frequency of *Toxocara* infection in mental retarded children. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 99 (2), 121 - 125
- Kazacos, K. R. 1983. Improved method for recovering ascarid and other helminth eggs from soil associated with epizootics and during survey studies. *American journal of veterinary research*, 44 (5), 896 – 900
- Krämer, F., Vollrath, T., Schnieder, T., Epe, C. 2002. Improved detection of endoparasite DNA in soil sample PCR by the use of anti-inhibitory substances. *Veterinary Parasitology*, 108, 217 – 226
- Leone, N., Baronio, M., Todros, L., David, E., Brunello, F., Artioli, S., Rizzetto, M. 2006. Hepatic involvement in larva migrans of *Toxocara canis*: Report of a case with pathological and radiological findings. *Digestive and Liver Disease*, 38 (7), 511 - 514
- Li, M. W., Lin, R. Q., Chen, H. H., Sani, R. A., Song, H. Q., Zhu, X. Q. 2007. PCR tools for the verification of the specific identity of ascaridoid nematodes from dogs and cats. *Molecular and Cellular Probes*, 21, 349 – 354
- Li, M. W., Lin, R. Q., Song, H. Q., Wu, X. Y., Zhu, X. Q. 2008. The complete mitochondrial genomes for three *Toxocara* species of human and animal health significance. *BMC Genomics*, 9, 224

- Malloy, W. F., Embil, J. A. 1978. Prevalence of *Toxocara* spp. and other Parasites in Dogs and Cats in Halifax, Nova Scotia. *Can. J. comp Med.*, 42, 29-31
- Matsuo, J., Nakashio, S. 2005. Pravalence of fecal contamination in sandpits in public parks in Sapporo City. *Japan. Veterinary Parasitology*, 128, 115 – 119
- Meldal, B. H. M., Debenham, N. J., De Ley, P., De Ley, I. T., Van-Xeteren, J. R., Vierstraete, A. R., Bert, W., Borgonie, G., Moens, T., Tyler, P. A., Austen, M. C., Blaxter, M. L., Rogers, A. D., Lamshead, P. J. D. 2007. An improved molecular phylogeny of the Nematoda with special emphasis on marine taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42, 622 – 636
- de Meeûs, T., Renaud, F. 2002. Parasites within the new phylogeny of eukaryotes. *Trends in parasitology*, 18, 247 – 251
- Nielsen, C. 1995. *Animal evolution. Interrelationships of the living phyla.* Oxford University Press, Oxford, 560
- Nunes, C. M., Tundisi, R. N., Garcia, J. F., Heinemann, M. B., Ogassawara, S., Richetzhain, L. J. 1997. Cross- reactions between *Toxocara canis* and *Ascaris suum* in the diagnosis of visceral larva migrans by western blotting technique. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 39 (5)
- O’Lorcain 1994. Prevalence of *Toxocara canis* ova in public playgrounds in the Dublin area of Ireland. *Journal of Helminthology*, 68, 237 - 241
- Ondriska, F., Mikulecký, M. 2002. Larvální toxokaróza člověka. *Pediatric pro praxi*, 5, 213 - 217
- de Queiroz, M. L., Simonsen, M., Paschoalotti, M. A., Chieffi, P. P. 2006. Frequency of soil contamination by *Toxocara canis* eggs in the south region of São Paulo municipality (Sp, Brazil) in a 18-month period. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 48 (6), 317 – 319.

- Rubinsky-Elefant, G., da Silva-Nunes, M., Malafronte, R. S., Muniz, P. T., Ferreira, M. U. 2008. Human Toxocariasis in Rural Brazilian Amazonia: Seroprevalence, Risk Factors, and Spatial Distribution. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 79 (1), 93 – 98
- Sharif, M., Nasrolahei, M., Ziapour, S. P., Gholemi, S., Ziacy, H., Daryani, A., Khalilian, A. 2007. *Toxocara cati* infections in stray cats in northern Iran. *Journal of Helminthology*, 81, 63 – 66
- Shimizu, T. 1993. Prevalence of *Toxocara* eggs in sandpits in Tokushima city and its outskirts. *J Vet Med Sci.*, 55 (5), 807 -811
- Stejskal, F. 2005. Současná léčba helmintóz. *Klin. Farmakol. Farm.*, 19, 111 – 115
- Svoboda, M., Senior, D. F., Doubek, J., Klimeš, J. 2001. *Nemoci psa a kočky II. díl. Česká asociace vet. lékařů malých zvířat*, Brno, 2038 s.
- Svobodová, V., Svoboda, M. 1995. *Klinická parazitologie psa a kočky. Česká asociace vet. lékařů malých zvířat*, Brno, 238 s.
- Teixeira, C. R., Chieffi, P. P., Lescano, S. A. Z., Silva, E. O. M., Fux, B., Cury, M. C. 2006. Frequency and risk factors for toxocariasis in children from a pediatric outpatient center in Southeastern Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 48 (5), 251 - 255
- Toparlak, M., Gargili, A., Tüzer, E., Keleş, V., Esatgil, M. U., Çetinkaya, H. 2002. Contamination of Children's Playground Sandpits with *Toxocara* eggs in Istanbul, Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26, 317 - 320
- Uga, S. 1993. Prevalence of *Toxocara* eggs and number of faecal deposits from dogs and cats in sandpits of public parks in Japan. *Journal of Helminthology*, 67, 78 - 82
- Uga, S., Kataoka, N. 1995. Measures to control *Toxocara* egg contamination in sandpits of public parks. *Am J Trop Med Hyg.*, 52 (1), 21 - 24

Uga, S., Minami, T., Nagata, K. 1996. Defecation habits of cats and dogs and contamination by *Toxocara* eggs in public park sand pits. *Am. J. Trop. Med.*, 54, 122 – 126

Uga, S., Matsuo, J., Kimura, D., Rai, S. K., Koshino, Y., Igarashi, K. 2000. Differentiation of *Toxocara canis* and *T. cati* eggs by light and scanning electron microscopy. *Veterinary Parasitology*, 92, 287–294

Uhlíková, M., Hübner, J. 1983. Larvální toxokaróza. Avicenum, Praha, 176 s.

Wickramasinghe, S., Yatawara, L., Rajapakse, R. P. V. J., Agatsuma, T. 2009. *Toxocara canis* and *Toxocara vitulorum*: molecular characterization, discrimination, and phylogenetic analysis based on mitochondrial (ATP synthase subunit 6 and 12S) and nuclear ribosomal (ITS-2 and 28S) genes. *Parasitol Res*, 104, 1425 – 1430

Zhu, X., Gasser, R. B., Chilton, N. B. 1998. Differences in the 5.8s rDNA sequences among ascarid nematodes. *International Journal for Parasitology*, 28, 617 – 622

