

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



Svalovci (*Trichinella*) ve svalovině prasat

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Monika Sekerová

Vedoucí práce: Doc. Ing. Ivana Jankovská, Ph.D.

© 2013 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Čestně prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma "Svalovci (*Trichinella*) ve svalovině prasat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Monika Sekerová

Poděkování

Upřímně bych touto cestou ráda poděkovala vedoucí diplomové práce, Doc. Ing. Ivaně Jankovské, Ph.D, za odborné vedení práce, praktické rady, čas a trpělivost. Dále děkuji Ing. Jaroslavu Vadlejchovi, Ph.D., z katedry zoologie a rybářství ČZU. Děkuji za pomoc Bc. Zuzaně Rusové a Ing. Mgr. Janu Vlčkovi. Děkuji za spolupráci a poskytnutí vzorků myslivcům z CHKO Kokořínsko a Středočeského, Ústeckého, Jihočeského, Plzeňského a Libereckého kraje.

Svalovci (*Trichinella*) ve svalovině prasat

Trichinella in pig muscles

Souhrn

Svalovec stočený (*Trichinella spiralis*) je parazit, kterého řadíme mezi hlístice (Nematoda), jedná se o celosvětově rozšířené organismy, které napadají široké spektrum hostitelů, včetně člověka, a způsobují závažné onemocnění zvané trichinelóza, které může být u lidí i smrtelné. Svalovci žijí v tenkém střevě hostitele a po pozření infikované potravy mladí svalovci pronikají do svalových vláken hostitele, kde dochází k zapouzdření tohoto parazita. Životní cyklus svalovců probíhá v jednom a tomtéž hostiteli, který slouží parazitovi jako mezihostitel i definitivní hostitel.

Diplomová práce na téma „Svalovci (*Trichinella*) ve svalovině prasat“ se zabývá morfologií, výskytem, rozšířením, onemocněním, metodami detekce, prevencí a možným nebezpečím při nákaze tímto parazitem. V této práci jsou uvedeny nejaktuálnější vědecké informace týkající se této problematiky.

V této práci jsme vyšetřovali vzorky svaloviny pocházející z 23 prasat, dvacet vzorků z prasat divokých (*Sus scrofa*) a tři vzorky pocházeli z prasat domácích (*Sus scrofa* f. *domestica*). Vyšetření bylo prováděno pomocí trávící i kompresní metody. V žádném vzorku svaloviny prasat nebyla nalezena larva svalovce.

Kompresní metoda je založena na stlačení vzorků svaloviny mezi dvě silnostěnná skla s 28 políčky a prohlížením pod binolupou či stereomikroskopem. Trávící metoda spočívá v natrávení vzorků svaloviny pomocí trávící tekutiny složené z vody, kyseliny chlorovodíkové a pepsinu v odpovídajícím poměru.

Přestože vlastní výsledky provedeného výzkumu dopadly negativně, a v posledních letech se onemocnění v České republice vyskytuje jen ojediněle, je důležité upozornovat na prevenci a dodržování legislativy. Dle legislativních předpisů platných pro Českou republiku je povinné každého uloveného divočáka nechat před konzumací veterinárně vyšetřit.

Klíčová slova: parazit *Trichinella*, svalovec, svalovina, prase

Summary

Trichinella spiralis is a parasite that belongs to the phylum of nematodes; they are globally widespread organisms that attack a wide range of hosts (including human) and cause serious disease called trichinellosis that can be fatal for humans. *Trichinella* lives in host's small intestine, after ingestion of infected food or feed young *Trichinella* penetrate host's muscle fiber and encapsulate there. In this stage *Trichinella* survive for several years. *Trichinella* life cycle takes place in one and only host serving as intermediate and also definitive host.

The Diploma Thesis on „*Trichinella* in the pigs' muscle“ deals with morphology, occurrence, extension, diseases, methods of detection, prevention and potential danger of infection by this parasite. The most current scientific information regarding this issue are included in this thesis.

In this thesis samples from 23 pigs were investigated, twenty samples from wild boars (*Sus scrofa*) and three samples from domestic pigs (*Sus scrofa* f. *domestica*). The examination was performed by digestion and compression methods. There was no larva of *Trichinella* found in any of investigated samples.

The compression method is based on compressing muscle samples between two thick-walled glasses with 28 fields and inspecting them under the stereo microscope. Digestion method involves digestion of muscle samples using digestive fluid composed of water, hydrochloric acid and pepsin in appropriate ratio

Although the actual results of the research turned out negative and Trichinosis occurs sporadically nowadays in Czech Republic, it is important to highlight the prevention and compliance with legislation. According to legislative regulations of Czech Republic every hunted wild boar must be veterinary inspected.

Keywords: parasite *Trichinella*, muscle, pig

Obsah

1. Úvod	7
2. Vědecká hypotéza a cíle práce	8
3. Literární rešerše.....	9
3.1 Prase divoké (<i>Sus scrofa</i>).....	9
3.2 Svalovci (<i>Trichinella</i>)	12
3.2.1 Svalovec stočený (<i>Trichinella spiralis</i>).....	13
3.2.2 <i>Trichinella nativa</i>	15
3.2.3 <i>Trichinella nelsoni</i>	15
3.2.4 <i>Trichinella britovi</i>	16
3.2.5 <i>Trichinella pseudospiralis</i>	16
3.2.6 <i>Trichinella papuae</i>	17
3.2.7 <i>Trichinella murelli</i>	18
3.3 Trichinelóza	19
3.3.1 Prevence	21
3.4 Situace v ČR a v okolních státech.....	23
3.4.1 Situace v České republice	23
3.4.2 Situace na Slovensku.....	25
3.4.3 Situace v Maďarsku	25
3.4.4 Situace v Polsku	26
3.5 Způsoby zjišťování <i>Trichinella</i> spp.	27
3.5.1 Kompresní metoda	28
3.5.2 Trávicí metoda	28
3.5.3 Sérologické testy	29
3.5.4 PCR testy.....	30
3.5.5 Kožní testy	31
4. Materiály a metody	32
4.1 Původ vzorků.....	32
4.2 Metoda pomocí kompresoria	32
4.3 Trávicí metoda.....	33
4.3.1 Minimální požadavky na vybavení a spotřebního materiálu.....	34
4.3.2 Provedení trávicí metody	35
4.4 Prohlížení pod mikroskopem	38
5. Výsledky.....	39
6. Diskuze	40
7. Závěr	44
8. Seznam použité literatury	45

1. Úvod

Prase divoké (*Sus scrofa*) je jediný druh prasete volně žijícího na našem území. Je rozšířen po celé Evropě a Asii a v posledních letech jeho početnost stoupá. Celosvětový stav není známý a je velmi obtížné ho zjistit, ale je možno odvodit rozvoj tohoto druhu na základě statistiky odlovu. V roce 1801 byl na území České republiky zastřelen poslední jedinec prasete divokého. Od tohoto roku do dvacátého století se prase divoké na našem území nevyskytovalo a až po poválečném období se začala prasata k nám šířit z okolních států a to především z Německa, Polska a Slovenska.

V dnešní době se populace prasat divokých stále více rozrůstá a stále více se začíná objevovat v jídelničce restaurací i domácností. S tím souvisí i možné riziko nákazy trichinelózou, která je způsobena parazitickou hlísticí *Trichinella spiralis*.

Trichinelóza je závažné onemocnění člověka, které je způsobeno požitím infikovaného syrového nebo nedostatečně upraveného masa, kde rizikovými potravinami jsou především pokrmy z vepřového masa. Po pozření infikovaného masa, se opouzdřené larvy natrávením uvolní v žaludku a v tenkém střevě a zanořují se do sliznice, kde během několika hodin dospívají. V České republice se jedná především o maso z divokých prasat. Z prasete domácího (*Sus scrofa* f. *domestica*) představuje riziko maso ze zabíječky, které nebylo podrobena veterinární kontrole. Dalším zdrojem bývá koňské maso používané pro výrobu italské speciality, která je obdobou tatarského bifteku (Zítek, 2001). V některých se na výrobu klobás používá maso psí, které je významným zdrojem infekce. Jedná se především o Slovensko a Maďarsko (Sedlák a Tomšíčková, 2006).

2. Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo zjistit napadení prasat v České Republice tímto pro člověka velmi nebezpečným parazitem.

Hypotéza. Svalovina prasat v České republice obsahuje vývojová stádia svalovců (*Trichinella*).

3. Literární rešerše

3.1 Prase divoké (*Sus scrofa*)

Taxonomické zařazení prasete divokého (*Sus scrofa*)

(Anděra a Červený, 2009)

Říše: Živočichové (Animalia)

Kmen: Strutnatci (Chordata)

Třída: Savci (Mammalia)

Řád: Sudokopytníci (Artiodactyla)

Čeleď: Prasatovití (Suidae)

Rod: Prase (*Sus*)

Druh: Prase divoké (*Sus scrofa*) - Linnaeus, 1758

Druh: Prase domácí (*Sus scrofa* f. *domestica*)

Prase divoké (*Sus scrofa*) patří k nepřežvčným sudokopytníkům, který je také nazýván jako černá zvěř, divočák, kudrnáč nebo štetináč. Divoké prase žijící v našich zeměpisných šířkách se počítá k největším zástupcům čeledi Suidae - prasatovitých (Meynhardt, 1983).

V Evropě se ve volné přírodě vyskytuje několik původních poddruhů jako evropské prase divoké (*Sus scrofa scrofa*), prase iberské (*Sus scrofa castilianus*), prase italské (*Sus scrofa majori*), prase sardinské (*Sus scrofa maridionalis*), prase karpatské (*Sus scrofa attila*), prase berberské (*Sus scrofa barbarus*) a prase maloasijské (*Sus scrofa lybicus*). Černá zvěř miluje teplé a suché podnebí. Nejpočetnější stavy nalézáme v severní Africe a v evropském Středomoří, ovšem dobře jim vyhovuje i klima západní a střední Evropy (Hespeler, 2007).

Černá zvěř je jediným druhem prasete žijícího divoce na našem území. Nedává přednost zvláštnímu biotopu, ale podstatou je dostatek potravy a vhodný porost. Pro osobní hygienu potřebuje bahnité kaluže, příkopy nebo bažiny, aby se v nich mohlo kálištit (Meynhardt, 1983).

U srsti rozlišujeme vrchní pesíky (štetiny) a zkadeřenou podsadu. Štetiny jsou na hrotech částečně rozštěpené a zkadeřená podsada slouží k ochraně před chladem, z tohoto důvodu zkadeřená podsada chybí v letní srsti. V zimě je podsada podpírána štetinami, takže je načechraná a tvoří izolační vzduchové komory. Délka štetin značně kolísá.

Nejdelší štětiny se nacházejí na krku a na přední části hřbetu a až sedminásobně se větví (Hespeler, 2007).

Dospělý kňour váží kolem 120 až 250 kg a bachyně dorůstá 80 až 150 kg. Běhy prasat jsou poměrně krátké. Mají dobře vyvinutý druhý a pátý prst a při chůzi se hrany jejich spárků dotýkají země a otiskují ve stopě za spárky prostředních prstů. Ryj je protažený, zakončený neosrstěným chrupavčitým terčem (Kolda a kol., 2004).

Chrup divočáků se skládá z řezáků, špičáků a stoliček. Druhá a třetí stolička má význam v přibližném určení věku zvířat. Chrup je tvořen 44 zuby, na dolní i horní čelisti po třech řezácích, což usnadňuje příjem potravy v půdě a na jejím povrchu (Hespeler, 2007).

Špičáky, zejména u kňourů, jsou mohutné a tvoří kly, které neustále dorůstají. Spodní páráky jsou delší než horní klektáky. Páráky lončáků bývají dlouhé 12 – 13 cm. U tříletého sekáče je to 16 cm, u čtyřletého 21 cm a u pětiletého 23 cm (Kolda a kol., 2004).

Černá zvěř má velmi jemný a dobře vyvinutý čich. Prasata mohou pomocí čichu prokazatelně vnímat člověka do vzdálenosti 200 metrů. Čich prasata využívají nejen k ochraně před nepřáteli, ale také k vyhledávání potravy. Prasata cítí myši, larvy hmyzu žijících v půdě také oddenky, ukryté kořeny a houby. Čich se při vyhledávání potravy v půdě uplatňuje společně s hmatem. Sluch mají divočáci dobře vyvinutý. Zrak je oproti ostatním smyslům vyvinut nedostatečně. Prasata registrují pouze pohyby, dobře registrují na vzdálenost přibližně 10 metrů (Hespeler, 2007).

Prasata mají pachové žlázy na bradě, na spodní straně záprstí a také ve velkém předkožkovém vaku, bachyně u močopohlavního vývodu. Malá selata mají i lícní žlázy se svazečky sinusových chlupů, které s postupujícím stářím ztrácejí. (Kolda a kol., 2004).

Divočáci vedou velmi uzavřený rodinný život. Všechna zvířata se velmi dobře znají a za normálních okolností mezi sebe cizí divoké prase nikdy nevezmou. Společenství, v němž divočáci žijí, se nazývá tlupou. Uvnitř tlupy je postavení jednotlivých členů přísně rozděleno a na zařazení má velký vliv stáří a síla prasat. V čele tlupy stojí vždy nejstarší bachyně. Divocí kanci v rodině zůstávají jenom asi do roka a půl svého života. Poté jsou vytlačeni z tlupy i teritoria, v němž se narodili. To má veliký význam pro udržení druhu. Kňouři poté žijí jako samotáři a v tlupách se objevují jen v době chrutí (Meynhardt, 1988).

Bachyně mají pod očima žlázy, které vylučují sekret, jímž upozorňují kance, žijící samotářsky v okolí, že jsou připravené k páření. Za normálních okolností mohou být bachyně oplodněny jenom dva dny v roce (Meynhardt, 1988). Říjný kňour často klektá zuby, přičemž produkuje mnoho slin s feromony, které rozstříkuje na rostliny nebo bachyně (Kolda a kol.,

2004). Díky skvělému čichu je divoký kanec schopen vybrat si právě tu bachyni, která se v tomto stádiu nachází (Meynhardt, 1988).

Bachyně je březí přibližně 3 měsíce, 3 týdny a 3 dny a poté metá selata v zálehu vytvořeného z rostlinného materiálu (Kolda a kol., 2004).

K vrhu dochází zásadně v uzavřeném zálehu, kde bachyně dává bedlivý pozor na každý podezřelý zvuk (Meynhardt, 1988).

Prase divoké (*Sus scrofa*) je všežravec a je velmi přizpůsobivý. Požírá vše, co právě tvoří potravní nabídku. V průběhu roku se převážně živí rostlinnou potravou, zatímco živočišná potrava je přijímána spíše periodicky. Prasata nejsou lovci, nýbrž sběrači. Požírají těla uhynulých nebo střelených zvířat (Hespeler, 2007).

Z rostlinné potravy prase divoké (*Sus scrofa*) nejčastěji požírá žaludy, bukvice, kukuřice, bezosinnou pšenici, oves, brambory, zelené části rostlin, hlízy, kořínky, oddenky, semena lesních dřevin a ovoce. Z živočišného původu jsou to hlavně larvy hmyzu, dešťovky, myši, hraboši, ptačí vajíčka, škůdci lesních dřevin (Kolda a kol., 2004).

Divoká prasata (obr. 1) mají vynikající paměť. Některé věci či dokonce osoby mohou poznat i po mnoha letech. Prasata jsou dokonce schopna poučit se z dobrých nebo špatných zkušeností. Divoká prasata (*Sus scrofa*) patří k nejinteligentnějším zvířatům na zemi (Meynhardt, 1988).

Prasata je možno „vycvičit“ téměř stejně jako psy, např. v Německu byla prasata nasazena ve službách celní správy, ve Francii se osvědčila při vyhledávání lanýžů. Dalším důkazem o jejich inteligenci je fakt, že na mnoha místech prasata pochopila, že elektrické ohradníky stačí prorazit pouze jedenkrát, aby se octla v kukuřičném poli. Proto jsou schopna snést krátkou, byť silnou elektrickou ránu (Hespeler, 2007).

Obrázek 1 Prase divoké (*Sus scrofa*)



Převzato z: <http://www.nature-photogallery.eu/cz/foto/663-prase-divoke/?puvod=27>

3.2 Svalovci (*Trichinella*)

Svalovci (*Trichinella*) jsou hlístice parazitující ve střevě a v kosterním svalstvu vyšších obratlovců. V současné době je známo přes 150 vnímavých druhů zvířat, mezi nimi celá řada masožravců, ale i hlodavců, prasat, koní, ptáků, atd. Svalovci mají zvláštní typ životního cyklu bez jakýchkoliv stadií ve vnějším prostředí. Definitivní hostitel slouží zároveň jako mezihostitel. Dospělci a larvy žijí intracelulárně (Volf a kol., 2007).

Vedle *Trichinella spiralis* byly popsány další druhy trichinel lišící se spektrem typických hostitelů a biologických i genetických vlastností. Roku 1992 byly popsány *T. britovi*, *T. nativa*, *T. nelsoni* a *T. pseudospiralis*. V nedávné době byly popsány i *T. murelli*, *T. papue* a genotypy T – 6, T – 8 a T – 9 (Koudela, 2001).

Taxonomické zařazení svalovců

Říše: Živočichové (Animalia)

Kmen: Hlístice (Nematoda)

Třída: Adenophorea

Řád: Enoplida

Čeleď: Svalovcovití (Trichinellidae)

Rod: Svalovec (*Trichinella*)

Druh: Svalovec stočený (*Trichinella spiralis*)

Druh: *Trichinella britovi*

Druh: *Trichinella nativa*

Druh: *Trichinella pseudospiralis*

Druh: *Trichinella nelsoni*

Druh: *Trichinella murelli*

Druh: *Trichinella papue*

(Moravec, 2001)

3.2.1 Svalovec stočený (*Trichinella spiralis*)

Svalovec stočený (*Trichinella spiralis*) je hlístice, jejíž dospělci žijící ve střevě hostitele. Samci dorůstají délky 1,4 – 2,2 mm, samice mívají 3 – 6 mm. Tento druh je živorodý. Právě vylíhlé larvy jsou 0,1 mm dlouhé. Larvy ve svalových cystách měří asi 1 mm (Stuchlý, 1996).

Pohlavní otvor svalovců se vyskytuje v první pětina těla. Vajíčka, pokud se nacházejí v děloze, měří 40 x 30 μ (Jírovec, 1948). Samice během svého života vyprodukují 500 – 1500 larev (Jíra, 1998).

Povrch těla svalovců je tvořen několikvrstevnou kutikulou, která má opornou funkci, umožňuje pohyb, tvoří ochrannou bariéru. Přes kutikulu probíhá výměna látek s prostředím a účastní se interakcí s hostitelem (Kennedy et al., 2001).

Dospělé formy svalovce jsou přizpůsobeny k životu v epitelu střevní sliznice. Samice přední částí zakotví ve zvětšených hostitelských buňkách (Jíra, 1998).

Samičky svalovce stočeného (*Trichinella spiralis*) kladou živé larvy ve střevní stěně a tím jí porušují. Při pronikání samic do střevní stěny může dojít k zavlečení různých mikroorganismů, což má vliv na průběh onemocnění (Skrjabin a kol., 1956).

Horák a Scholz (1998) uvádějí, že jedinci obou pohlaví jsou přitahováni pomocí velmi účinných chemických látek, takže k úspěšné kopulaci může dojít i při nákaze jedinou larvou obou pohlaví. Po kopulaci samice začínají produkovat vajíčka, ze kterých se ještě v děloze líhnou larvy (ovoviviparie).

Ze střevní stěny larvy pronikají do mízních cest, odtud do krevního oběhu a jsou roznášeny do vnitřních orgánů hostitele (Sedlák a Tomšíčková, 2006).

Existuje velká pravděpodobnost, že 97 % larev migruje krevním oběhem a pouze 3 % lymfatickým oběhem. V průběhu migrace se larvy desetkrát zvětší (Cabaj a Moskwa, 2006)

Larvy svalovců (obr. 2) jsou roznášeny do svalů, nejčastěji do bráničních, mezižeberních, hrtanových a očních. Svalová vlákna, do nichž larvy vniknou, jsou porušena a ztrácejí příčné pruhování. Za 12 až 16 dní po vniknutí svalovců do svaloviny se larva postupně stočí do spirály a přejde do klidového stádia. Od této doby se kolem larvy začne tvořit pouzdro, které je za 6 měsíců prostoupeno vápenatými soli (Skrjabin a kol., 1956).

Larvy vydrží na živu i více jak 10 let. Další hostitel se nakazí požitím masa obsahujícího encystované larvy (Votava a kol., 2003).

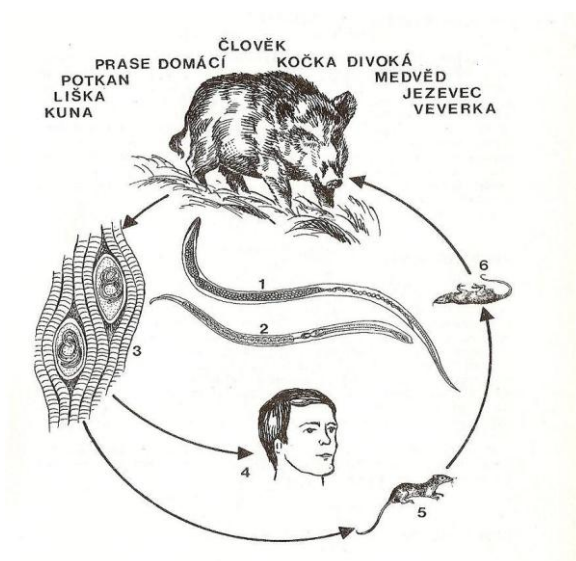
Vývoj svalovců (obr. 3) probíhá ve dvou fázích zvanými jako trichinóza střevní a trichinóza svalová. Dostanou-li se zapouzdření svalovci s masem do zažívacího ústrojí vhodného hostitele, trávicí šťávy rozpustí jejich obal a uvolní larvy. Uvolněné larvy se usídlí již za 5 hodin ve sliznici tenkého střeva, kde během několika dní pohlavně dospějí (Jírovec, 1948). Životní strategie svalovce stočeného je pozoruhodná – vychází z předpokladu, že se mnoho savců živí masem jiných savců. Každý nakažený jedinec je zároveň mezihostitelem, v němž larvy svalovce čekají na dalšího hostitele (Motyčka a Roller, 2001).

Obrázek 2 Larvy svalovce stočeného (*Trichinella spiralis*)



Zdroj: < <http://www.smittskyddsinstitutet.se/presstjanst/presbilder/parasiter/>>

Obrázek 3 – vývojový cyklus svalovce



Převzato z: Rakušan a kol., 1979

3.2.2 *Trichinella nativa*

Trichinella nativa je parazit patřící do čeledi Trichinellidae, který se převážně vyskytuje v arktických a subarktických oblastech. Hlavními hostiteli jsou medvěd, liška, pes a mrož. Larvy tohoto druhu jsou odolnější k nízkým teplotám (Votava a kol., 2003).

Bylo prokázáno, že v mrazu při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ zůstala značná část larev trichinel ve svalových tkáních ledního medvěda a tak přežili v průběhu celého výzkumu, který trval 26 měsíců. Zatímco ve svalech u bílého potkana odolnost trichinel prudce poklesla, méně než 10 % larev zůstala životaschopných už po pátém dnu, po sedmém dnu všechny zemřely. Výsledky ukázaly, že odolnost *Trichinella nativa* k prudkému poklesu teploty byla geneticky stanovenou funkcí, ale do jisté míry to závisí na sazbě přizpůsobivosti konkrétního hostitele jako zvířete (Odoevskaya et al., 2010).

Pozio et al. (1992) uvedli, že *T. nativa* je příbuzná s trichinelou genotypu T – 6. Detiger et al. (2012) se ve svém výzkumu zabývali genetickou diverzitou uvnitř populace a mezi populacemi parazitů, jež poskytují vodítka k jejich evoluční historii. Cílem bylo zjistit, zda mitochondriální DNA a mikrosatelitní variace by mohly být použity k vyhodnocení rozsahu diferenciaci, toku genů a historické reprodukční izolaci mezi mrazuvzdorným druhem parazita *Trichinella nativa* a trichinel s genotypem T – 6. Bylo zjištěno, že přestože došlo k hybridizaci, rozpoznatelné genetické znaky stále přetrvávají

3.2.3 *Trichinella nelsoni*

Svalovec rodu *Trichinella nelsoni* se vyskytuje v rovníkové Africe, především v Etiopii, střední Asii a v jižní Evropě. Hostiteli jsou divoká prasata, hyeny a velké kočkovité šelmy (Votava a kol., 2003).

T. nelsoni u člověka způsobuje mírný klinický průběh onemocnění a nízkou svalovou invazi (Uhlíková a kol., 2001).

La Rosa and Pozio (2000) provedli molekulárně genetické studie na třech izolátech *Trichinella nelsoni* (z Keni, Tanzanie a Jižní Afriky) a na třech izolátech trichinel T 8 (z Jižní Afriky a Namibie) z volně žijící šelem a z volně žijících prasat. U tří izolátů *T. nelsoni* bylo zjištěno, že hybridizace vzorků izolátů z Keni a Tanzanie jsou totožné a ty se lišily od vzorku izolovaného z Jižní Afriky, což naznačuje přítomnost polymorfismu v tomto druhu.

3.2.4 *Trichinella britovi*

Trichinella britovi je rozšířena hlavně v mírném klimatickém pásmu. Nalézáme ji hlavně u lišek, psů a koní. Larvy jsou jen málo odolné k zamrazení (Votava a kol., 2003).

Trichinella britovi působí méně závažnou formu nákazy než tomu je u *T. spiralis*. Samice produkují menší množství larev, které ve svalstvu přežívají poměrně krátkou dobu. Z epidemiologického hlediska se *T. britovi* většinou neudrzuje v domestikovaném vývojovém cyklu (Uhlíková a kol., 2001).

Trichinella britovi je druhým nejčastějším původcem onemocnění trichinelózy u lidí. *T. britovi* je velmi shodná s trichinelou, která je genotypizovaná jako T 8 (Pozio et al., 1992).

T. britovi vykazuje vyšší odolnost vůči nízkým teplotám. Přežívá při teplotě – 20 °C po dobu 3 týdnů v mase divočáků. Ve svalovině lišek, při stejné teplotě, přetrvává až půl roku (Kolářová a kol., 2010).

3.2.5 *Trichinella pseudospiralis*

Trichinella pseudospiralis je rozšířena kosmopolitně, více v indomalajské oblasti. Hostiteli jsou savci a ptáci (Votava a kol., 2003).

Životní cyklus *T. pseudospiralis* je hodně podobný životnímu cyklu *T. spiralis*, ale u *T. pseudospiralis* nedochází k zapouzdřování larev ve svalovině (Moravec, 2001).

Nejvýraznější rozdíl mezi *Trichinella pseudospiralis* a *Trichinella spiralis* spočívá v kolagenní kapsli, která je velmi špatně vyvinuta a nemůže být identifikována světelnou mikroskopií (Boonmars et al., 2005). S tím souvisí i několik faktorů, jako je nižší patogenita než *T. spiralis*, hlavně pak slabší zánětlivý proces ve střevě, svalstvu a srdci hostitele. Buněčná odpověď u střevní a mimostřevní formy je poměrně slabá, a zánětlivá reakce je tak značně suprimovaná (Uhlíková a kol., 2001).

Tabulka 1. - Přehled původců trichinelózy

	<i>T. SPIRALIS</i>	<i>T. BRITОВI</i>	<i>T. NATIVA</i>	<i>T. NELSONI</i>	<i>T. PSEUDOSPIRALIS</i>
Rozšíření	kosmopolitní	mírné pásmo	arktické pásmo	tropická Afrika	kosmopolitní
hlavní rezervoár	prasata, potkani	psovité šelmy	medvědi, psovité šelmy	hyeny, kočkovité šelmy	ptáci, savci
Infekčnost lidí	vysoká	Střední	vysoká	vysoká	Střední
Infekčnost prasat	vysoká	Nízká	nízká	nízká	Nízká
patogenita lidí	vysoká	Střední	vysoká	nízká	střední - nízká
rezistence ke zmrazení	nízká	střední - vysoká	vysoká	nízká	Nízká

Zdroj Kolářová a kol., 2010.

3.2.6 *Trichinella papuae*

V období let 1988 až 1998 v oblasti Papua Nové Guineji byly objeveny nezapouzdřené larvy trichinel v pěti domácích prasatech (*Sus scrofa* f. *domestica*) a v šesti divokých prasatech (*Sus scrofa*). Morfologické, biologické a molekulární studie, prováděné v roce 1997 na jednom kmeni z izolovaného divokého kance (*Sus scrofa*), naznačovali, že tento druh parazita patří k novému druhu, který byl pojmenován jako *Trichinella papuae*. Tento druh může být identifikován morfologickými znaky svalové larvy, které postrádají sesterskou buňku v hostitelských svalech a jejichž celková délka je o třetinu větší než u jiných nezapouzdřených druhů např. *T. pseudospiralis*. Dospělci *T. papuae* se nekříží s ostatními dospělci druhů a genotypů. Na rozdíl od *T. pseudospiralis*, larvy *T. papuae* neinfikují ptáky (Pozio et al., 1999).

3.2.7 *Trichinella murelli*

Trichinella murelli byl v nedávné době uznán jako samostatný druh čeledi Trichinellidae, který byl nalezen v nearktické oblasti Severní Ameriky. *T. murelli* byl izolován z černých medvědů a mývalů (Pozio and La Rosa, 2000).

T. murelli se vyskytuje výhradně u volně žijících masožravců především u vlků, mývalů, tchořů, lišek, divokých prasat a medvědů. Svalovec rodu *T. murelli* byl izolován z koňského masa dovezeného z oblasti Connecticutu ve Spojených státech Amerických do Evropské Unie, což mělo za následek zákaz dovozu masa z USA do EU (Dupouy - Camet et al., 2001). Na základě této epidemie byl označen druh *T. murelli* za vážný lidský patogen z koňského masa a zvěřiny. Spotřeba však vepřového masa představuje malé riziko pro nákazu člověka z důvodu nízkého výskytu *T. murreli* u prasat (Kapel and Gamble, 2000).

3.3 Trichinelóza

Svalovci jsou původci infekce tzv. trichinelózy. Původci žijí v tenkém střevě savců (psovitě šelmy, prasata, člověk aj.). Mladí svalovci pronikají do svalových vláken a dochází k lokálnímu rozpadu, zapouzdření vazivovou tkání a zvápenatění (Muntau, 2009).

Trichinelóza se u člověka vyskytovala v dobách dávno minulých. Nejstarším nálezem je průkaz původce v mumii mladého Egyptana z doby 1200 let před naším letopočtem. Parazita objevil v Londýně v roce 1835 student medicíny J. Paget a ve stejném roce jej R. Owen popsal jako *Trichinella spiralis* (Sedlák a Tomšíčková, 2006).

Zdrojem nákazy trichinelózou u člověka bývá nejčastěji svalovina infikovaných zvířat, která jsou konzumována v syrovém stavu či po nedostatečné tepelné úpravě. Rizikovými potravinami jsou výrobky a pokrmy z mletého vepřového masa, jitrnice, klobásy, nevařená šunka, tlačanky, paštiky, uzené maso a jiné speciality. V České republice se jedná především o maso z divokých prasat. Z prasete domácího (*Sus scrofa* f. *domestica*) představuje riziko maso ze zabíječky, které nebylo podrobeno veterinární kontrole. Dalším zdrojem bývá koňské maso používané pro výrobu italské speciality, která je obdobou tatarského bifteku (Zítek, 2001). Významným zdrojem infekce bývá maso psí, které se v některých zemích používá na výrobu klobás. Jedná se především o Slovensko a Maďarsko (Sedlák a Tomšíčková, 2006).

Trichinella spiralis je nejčastějším původcem domestikovaného cyklu nákazy a působí nejzávažnější klinický průběh onemocnění (Uhlíková a kol., 2001). Člověk je velmi vnímavý vůči trichinelóze, která u něho způsobuje závažné onemocnění s nebezpečím úmrtí. V České republice byla vypracována účinná opatření na ochranu lidí i zvířat, a proto by reálné nebezpečí trichinelózy hrozilo pouze porušením těchto nařízení (Svoboda a kol., 2000). Klinický průběh závisí na zdravotním stavu, imunokompetenci hostitele a samozřejmě na množství pozřených larev, ale i na jednotlivých druzích svalovců rodu *Trichinella* (Uhlíková a kol., 2001). Slabé nákazy mohou probíhat asymptomaticky. Silnější infekce se mohou projevit nejprve střevními obtížemi (nespecifická gastroenteritis), později se objevují horečky, intenzivní bolesti svalů, edémy obličeje, poruchy vidění (Kolářová, 2003). Migrací larev mohou být postiženy různé orgány, srdce, plíce, centrální nervový systém, který může způsobovat bolesti hlavy, závratě, menigeální postižení nebo postižení okohybných svalů (Uhlíková a kol., 2001). Bylo zjištěno, že svalovci vylučují velmi účinné toxiny. Tyto toxiny působí velmi škodlivě na krev hostitele, zvláště v krátké době po nakažení (u člověka osmý den). V této době dochází u člověka k výrazné eosinofilii (Skrjabin a kol., 1948)

Příznaky mohutnější nákazy začínají střevní fází s průjmy a horečkou, myositidou a vysokou eosinofilií, později s kopřivkou a otoky hlavně v obličeji. Postižené svaly jsou silně bolestivé a ztrácejí pohyblivost. Masivní nákazy mohou končit smrtelně (Votava a kol., 2007).

Dalšími příznaky můžou být zvětšená slezina, anémie, anurie a krvácení. Onemocnění je léčitelné jen velmi obtížně a rekonvalescence trvá až několik měsíců. Svalové bolesti přetrvávají asi jeden měsíc. Pacient může mít pocity vyčerpanosti, je unaven, průjmy mohou přetrvávat týdny až měsíce. U silných infekcí může dojít až k ochrnutí dýchacích svalů či k selhání krevního oběhu (Uhlíková a kol., 2001)

Trichinelóza má střevní a svalovou fázi, které mají odlišné příznaky. Střevní fáze se může projevit u 10 až 60 % nakažených zvracením a průjmem během prvních 10 dnů po požití kontaminovaného masa. V těchto případech se co nejdříve provede výplach žaludku, podá se projímadlo a nasadí nejlépe thiabendazol, který však v České republice není registrován. Svalová infekce je spojena s usídlením larev ve svalech a vnitřních orgánech. Projevuje se od druhého týdne po infekci horečkou, zimnicí, slabostí a bolestí žvýkacích svalů (Kolářová a kol., 2010).

Léčba trichinelózy pobíhá léky mebendazol nebo albendazol, které zasahují jen samičky, na larvy nepůsobí. Příznaky z postižených svalů se tlumí kortikoidy (Votava a kol., 2007). Steroidní hormony je vhodné podávat během prvních 5 - 6 týdnů onemocnění. Při bolestech svalů podáváme analgetika a při teplotě antipyretika (Uhlíková a kol., 2001). U živých nemocných se pátrá po larvách v biopsiích ze svalů a dokazují se protilátky v séru (Votava a kol., 2007). Svalové biopsie je možno provést nejdříve od třetího týdne po nákaze. Protilátky zjistíme za 2 až 3 týdny po nákaze a přetrvávají řadu měsíců (Uhlíková a kol., 2001).

Dvorožňákova a kol. (2010) uvádí, že epidemiologické údaje podporují předpoklad, že parazitární helmintózní infekce můžou poskytovat jistou ochranu vůči autoimunitním a idiopatickým zápalovým onemocněním. Mnoho helmintů je schopno vyhnout se imunitní odpovědi a potlačit Th 1 odpověď získané imunity. Průvodním účinkem je silná Th 2 odpověď. Naproti tomu autoimunitní a zápalové choroby indikují Th 1 odpověď, která by mohla být tlumená Th 2 odpovědí, vyvolaná přítomností helminta. Výsledky pokusu naznačují jistou možnost úspěšného terapeutického účinku trichinelového antigenu při autoimunitních zápalových onemocněních.

3.3.1 Prevence

Nejlepší a důležitou ochranou proti nákaze trichinelózou je prevence. Lidem a zvířatům nesmí být podáváno neprohlédnuté maso z divokých prasat. Larvy svalovců jsou spolehlivě zničeny důkladným povařením (Svobodová a Svoboda, 1995).

Povinná veterinární kontrola u prasat a koní na výskyt svalových cyst se u nás na jatkách provádí již od roku 1939. Veterinární kontrola není povinná při domácích zabíjačkách pro vlastní potřebu. Některé státy se spoléhají na mražení vepřového masa. Dosti nízká teplota (- 15 °C nejméně po dobu 20 dní) totiž larvy trichinel ničí. Veterinárně nekontrolované maso z ulovené zvěře by mělo být dokonale tepelně upraveno (prohřáto nad 77 °C). Teplem larvy hynou až při 60 °C (Votava a kol., 2003).

Směrnice 2003/99/ES Evropského parlamentu ze dne 17. listopadu 2003 o sledování zoonóz a původců zoonóz (známá jako Směrnice zoonóz) tvoří základ pro údaje o zoonózách a má za úkol shromažďovat informace v celé oblasti Evropské unie. Tyto údaje jsou shromažďovány a zkoumány Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA), který ve spolupráci s Evropským střediskem pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) a za pomoci zoonotického kolaboračního střediska (ZCC), vypracovává výroční zprávu, zprávu o trendech a zdrojích zoonóz, jejich původcích, antimikrobiálních rezistencí a alimentárních ohnisek v Evropské unii. Zpráva je zaměřena na detekci zdrojů a trendů pro zoonotická onemocnění z potravin v rámci EU a určení dlouhodobého cíle ochrany lidského zdraví (Murrell, 2001).

Trichinella spp. je uvedena v seznamu A přílohy I, směrnice 2003/99/ES, která určuje původce, kteří mají být z povinnosti sledováni. Úřední zkoušky se provádí podle nařízení (ES) č. 2075/2005 ze dne 5. prosince 2005, kterým se stanoví zvláštní pravidla pro úřední kontroly trichinel v mase. Nařízení se vztahuje na všechny prasata, prasnice, kance, koně, divokých kanců a některé volně žijící druhy (Evropská komise, 2005). Tyto předpisy požadují, aby všechna jatečně upravená těla prasat byla testována na přítomnost trichinel. Cílem je odstranit veškeré kontaminované maso z potravního řetězce (Pozio, 2007).

Vyšetření na trichinelózu je velmi nákladné a snižuje rentabilitu chovu prasat, proto pro snížení nákladů bylo navrženo několik postupů, které mají zaručit, že prasata pocházejí z chovu bez trichinelózy. Tyto programy jsou perspektivní pouze v rámci vnitřního trhu. Maso ze třetích zemí musí být dováženo zmrazené či s certifikátem o vyšetření na trichinelózu. Tyto postupy vycházejí i z návrhu Mezinárodní komise pro trichinelózu (ICT). Byl navržen program, který je nazýván „Doporučené metody kontroly trichinel u domácích a volně žijících zvířat určený pro lidský konzum“, který má za úkol chránit lidi

před trichinelózou. V USA byl vytvořen „Program certifikace trichinelózy“ představující postup zabezpečení zdravotní nezávadnosti živočišných produktů od farmy až po jatka. Pro získání tohoto certifikátu pro určitý chov prasat je důležité dodržování produkční praxe, která je nutná pro zabezpečení vyloučení rizika trichinelózy na farmě. Na farmě se provádí audit, který dokumentuje absenci rizika trichinelózy a zároveň vyšetřuje statisticky průkazný počet vzorků poražených prasat na jatkách (Dubinský, 2006).

Vzhledem k vyšší rezistenci některých druhů svalovců není zmrazování masa doporučováno, ani se nepoužívá (Kolářová a kol., 2010).

Je na místě varovat myslivce a připomenout platnou, legislativou uloženou povinnost každého uloveného divočáka před uvolněním ke spotřebě nechat veterinárně vyšetřit. Tato praxe je obvyklá a myslivcům dobře známá. Myslivci by také z těchto důvodů neměli používat nepřevařené zbytky z uloveného zvířete ke krmení psů. Syrové maso z uloveného divočáka nesmějí myslivci používat ani jako návnady při chystaném lovu šelem, například lišek (Šátrán a Duben, 2008).

Napadené prase či jiné zvíře těmito parazity je nutno odstranit tak, aby nemohlo dojít k rozšíření onemocnění. Pozitivní kus musí být zlikvidován v asanačním podniku. Nutná je i důsledná kontrola deratizačních zásahů v chovech prasat a provozech zabývajících se zpracováním masa (Duben, 2007).

Je také vhodné upozornit všechny hoteliéry a hospodské, aby nakupovali černou zvěř pouze od legálních dodavatelů a vždy od nich požadovali potvrzení o veterinárním vyšetření, zejména pak na svalovce. Jistě by si nepřáli podstoupit riziko onemocnění zákazníka trichinelózou (Šátrán a Duben, 2008).

3.4 Situace v ČR a v okolních státech

Trichinelóza se vyskytuje celosvětově a nižší výskyt je tam, kde se tradičně nepožívá vepřové maso (Sedlák a Tomšíčková, 2006).

Během let 1986 až 2009 bylo zdokumentováno 65818 klinických případů po celém světě. Většina z těchto případů (87 %), byla hlášena v Evropě a 50 % z evropských případů bylo zaznamenáno v Rumunsku a to především v letech 1990 - 1999 (Murrel et al., 2011).

Každý rok je na trichinelózu vyšetřeno více jak 167 milionů prasat v Evropské unii, podle platných hygienických předpisů. To ukládá velké ekonomické náklady na země, ale drtivá většina testů z těchto prasat je negativní. Riziko pro veřejné zdraví je tak v mnoha zemích proto považováno za velmi nízké. Pravděpodobnost detekce pozitivního případu, pokud by trichinely byly přítomny, musí být vysoká (> 95 nebo > 99 %), aby bylo možné co nejvíce zajistit nízké nebo zanedbatelné riziko přenosu prostřednictvím potravinového řetězce na člověka (Alban et al., 2011)

Na přírodním cyklu trichinelózy se podílejí všichni masožravci vyskytující se ve volně v přírodě. Jejich úloha se liší z důvodu výskytu jen v malých populacích a je chráněna zákonem. I v případě jejich nakažení je riziko vzniku nového ohniska onemocnění nízké. Někteří masožravci žijící ve volné přírodě, např. vlk obecný (*Canis lupus*) nebo šakal zlatý (*Canis aureus*), migrující na velké vzdálenosti, jsou jejich těla v případě úhynu nebo odstřelu potravou pro jiné masožravce či divoká prasata (*Sus scrofa*). Tímto způsobem může dojít k vytvoření nových ohnisek trichinelózy, často vzdálených od endemických oblastí (Dubinský, 2006).

3.4.1 Situace v České republice

První epidemie trichinelózou u lidí byla na území České republiky zaznamenána poprvé v roce 1865. Tehdy onemocnělo v pěti obcích na Liberecku 34 lidí (Sedlák a Tomšíčková, 2006).

V roce 1866 v okrese Frýdlant byla zaznamenána další epidemie s 30 nakaženými. Kolem čtyřicátých let 19. století se trichinelóza vyskytovala především v okolí Jihlavy a Dačic, kde onemocnělo desítky lidí a je zaznamenáno 12 smrtelných případů. Podobná situace nastala na Strakonicku a Volyňsku, kde počet nemocných byl okolo 60 s 10 smrtelnými případy. Epidemie, která proběhla v Aši a devíti okolních obcích v roce 1934,

byla považována za vůbec největší v českých zemích. Udávaný počet nemocných je 120 až 180 se dvěma smrtelnými případy, z nichž jeden skončil sebevraždou v důsledku nesnesitelných bolestí při svalové fázi onemocnění. Poslední epidemie trichinelózy v ČR proběhla na Pacovsku v roce 1954. Jedenáct osob, z toho tři lidé zemřeli, se nakazilo požitím masa z divokého prasete (*Sus scrofa*). V následujících letech bylo onemocnění trichinelózou diagnostikováno ojediněle. Průměrný výskyt trichinelózy je jednou ročně, přičemž většina případů patří k importovaným nákazám (Svobodová a Kolářová, 2006).

V roce 1987 se vyskytlo pět onemocnění v Uherském Hradišti a dva případy na severní Moravě. Zatím poslední případ hlášené (ISPO) trichinelózy u lidí v Čechách je jedno onemocnění v roce 1992 v Hradci Králové (Zítek, 2001).

Pozitivní nález v sylvatickém cyklu svalovců ve svalovině dvou divokých prasat (*Sus scrofa*) byl hlášen v roce 2001, v roce 2002 a 2003 byl nález u 6 divokých prasat (*Sus scrofa*). Srovnání výskytu trichinel v ČR za poslední desítky let ukazuje mírný nárůst u volně žijících zvířat, která mohou být přirozenými rezervoáry pro hospodářská zvířata (Svobodová a Kolářová, 2006).

V období let 2007 až 2011 bylo v České republice zjištěno 12 případů trichinelózy (Kolářová, 2012).

Svalovec byl potvrzen u jezevce lesního (*Meles meles*) v říjnu roku 2010, který byl střelen v okolí Mostů u Jablunkova v Moravskoslezském kraji (Seifertová, 2010).

V prosinci roku 2012 byl uloven téměř šedesátikilový divočák v katastrálním území Paseky nad Jizerou. Myslivec, který divočáka ulovil, správně odeslal vzorky k vyšetření do Státního veterinárního ústavu v Praze, kde byl prokázán výskyt larev svalovce stočeného (*Trichinella spiralis*), a to včetně živých larev. Tento kus byl odvezen do asanačního podniku, kde byl zlikvidován. Krajská veterinární správa vyhlásila na dotyčném území mimořádná veterinární opatření, na jejichž základě je nařízeno všechna vnímavá ulovená zvířata, zejména tedy černou zvěř nechat vyšetřit ve státním veterinárním ústavu, a to trávící metodou. Jedná se o zpřísnění dosavadní praxe, kdy bylo možné nechat vyšetřit vzorky v jakékoli schválené laboratoři (Duben, 2013).

3.4.2 Situace na Slovensku

Výskyt trichinelózy lidí na Slovensku byl nejčastěji v podobě menších či větších epidemií, které měly často rodinný charakter. V období mezi 1933 až 1961 bylo zaznamenáno 5 epidemií, při kterých onemocnělo 44 lidí. Do roku 1982 se onemocnění trichinelózou vyskytovala jen sporadicky a převážně na východním Slovensku. Na jihozápadním Slovensku v roce 2001 byla rodinná epidemie, při níž se nakazilo 11 lidí. Epidemie byla způsobena *T. spiralis*, jejímž zdrojem byly uzené výrobky z domácích prasat. U 34 vzorků z 31 062 divokých prasat (*Sus scrofa*), kteří byli podrobeni veterinárnímu vyšetření, byla zjištěna přítomnost *T. britovi*. V roce 2003 byl na Slovensku potvrzen výskyt druhu *T. pseudospiralis* na prasečí farmě ve východním Slovensku. Ze 192 domácích prasat z této farmy byla na jatkách zjištěna trichinela způsobená *T. pseudospiralis* u 4 kusů s vysokým počtem larev na 1 gram (Dubinský, 2006).

Průzkum Hurníkové a kol. (2007) o trichinelóze v divokých masožravcích a jejich roli v přenosu parazita na území Tatranského národního parku byl proveden v letech 2005 - 2006. Bylo vyšetřeno 102 svalových vzorků volně žijících predátorů. Nejvyšší prevalence *Trichinella britovi* byla zjištěna u lišek (19,7%) a kun (37,5%). Parazit byl také zjištěn u tchoře evropského a medvěda hnědého.

Smíšené infekce *T. britovi* a *Trichinella pseudospiralis* byly zaznamenány v roce 2005 v jednom divokém praseti z východního Slovenska a v roce 2006 v jedné lišce červené z téhož regionu. Tato zjištění jsou důležitá vzhledem k výskytu způsobené *T. pseudospiralis* v prasečí farmě v okrese před 3 lety (Hurníková a Dubinský, 2009).

3.4.3 Situace v Maďarsku

V padesátých a šedesátých letech minulého století byla v Maďarsku trichinelóza velkým problémem. V důsledku zavedení integrovaného kontrolního systému klesl v osmdesátých a devadesátých letech minulého století průměrný výskyt na 0 až 0,7 onemocnění na 100 000 obyvatel. Za posledních 10 let se výskyt ještě snížil na 0 až 0,007 onemocnění na 100 000 obyvatel a v tomto období nebyly zaznamenány smrtelné případy. Pozorované snížení onemocnění u člověka koreluje s neustále se snižujícím výskytem trichinel u prasat prohlížejících veterinářem na jatkách. O vzestupné tendenci výskytu svalovce u lidí i u prasat lze hovořit v posledních pěti letech. Ve stejném období byla

v přírodním cyklu potvrzena trichinelóza u několika divokých prasat (*Sus scrofa*), u lišek (*Vulpes vulpes*) méně (Sréter, 2006).

3.4.4 Situace v Polsku

První informace o nemocných lidech nakažených svalovcem pochází z druhé poloviny 19. století, kdy byl dán příkaz k prohlídce vepřového masa na přítomnost larev svalovce. V období mezi 1950 až 1995 se často objevovaly informace o endemických ohniscích výskytu trichinelózy lidí.

Přes 390 000 divokých prasat (*Sus scrofa*) bylo v Polsku uloveno v období mezi rokem 1997 a rokem 2004. Z tohoto počtu bylo zjištěno 993 jedinců nakažených svalovcem. Ve stejném období byly pro molekulární výzkum zajištěny larvy z 93 zvířat a ze 7 výrobků zvěřiny. Získané larvy byly z 67 jedinců původu *T. spiralis* a z 21 jedinců původu *T. britovi*. Ve dvou případech se jednalo o smíšenou infekci těchto druhů svalovců a zbytek nebyl identifikován z důvodu degradace DNA.

V letech 2002 a 2003 došlo k nákaze více jak 70 osob z okolí Poznaně požitím masných výrobků z divokého prasete (*Sus scrofa*), které bylo prohlédnuto veterinářem na přítomnost svalovců ve svalovině. Důvodem přehlédnutí, byla pravděpodobně nízká intenzita infekce nebo raná fáze vývojového cyklu parazita.

V roce 2003 bylo zjištěno 40 nemocných lidí, v roce 2004 už 172 nemocných. Podrobné údaje jsou publikovány každým rokem v ročním hlášení Státní hygieny.

Epidemiologické zprávy z roku 2006 informují o počtu 172 nemocných v okolí Velkopolského kraje a Pomorského kraje.

Ke stanovení druhu *Trichinella* spp. v Polsku používají metody molekulární biologie opírající se o určení DNA a získané larvy uchovávají pro další výzkumy v 75 % alkoholu při teplotách – 20 °C až – 80 °C. Pro identifikaci jednotlivých druhů *T. britovi* a *T. spiralis* v Polsku využívají vlastní typizační metodu, která také umožňuje simulátní infekce oběma druhy (Svobodová a kol., 2006).

3.5 Způsoby zjišťování *Trichinella* spp.

Diagnostika a kontrola trichinelózy v náchylných potravinách živočišného původu a zvěřiny jsou základním předpokladem, pro zajištění ochrany spotřebitele před tímto parazitem. V této souvislosti je účinnost systému kontrol masa závislá na použití aplikace podle norem (Gajadhar et al., 2009).

Státní veterinární správa ČR se snaží přispět k tomu, aby se eliminovala rizika onemocnění trichinelózou. Proto uvádí některé následující zásady. V první řadě upozorňuje prostřednictvím krajských veterinárních správ veřejnost a zejména lovce. Veškerá na trichinelózu vnímavá zvěř, která je určena k lidské spotřebě, musí být vyšetřena na přítomnost svalovce tak, jak stanovuje veterinární zákon (§ 21 odst. 6). V důsledku této povinnosti je nutné zabezpečit vyšetření rovněž u ulovené zvěře určené k vlastní spotřebě účastníkem lovu, anebo k dodání v malém množství účastníkem lovu přímo konečnému spotřebiteli či do místní maloobchodní prodejny, jež zásobuje přímo konečného spotřebitele (Duben, 2007).

Odebrané vzorky musejí být doprovázeny dokladem, ve kterém je uvedeno jméno účastníka lovu, popřípadě lovce a číslem plomby uloveného kusu. Správně označený vzorek je třeba dodat do sběrného místa vzorků nebo přímo do laboratoře, které bylo vydáno patřičné osvědčení k provádění těchto činností (Duben, 2007).

Kontrola svalovců v mase závisí na přímé detekci larev svalovců. Běžnými praktikami je stanovení svalovců ve svalovině kompresní nebo trávicí metodou. Kompresní metoda má nízkou citlivost a je nedostatečná pro detekci nezapouzdřených *Trichinella* spp. (Forbes et al., 2003). Ve srovnání s kompresní metodou je trávicí metoda citlivější a účinnější. (Vignau et al., 1997). Dalšími možnostmi na vyšetření trichinelózy a určení druhu *Trichinella* spp. jsou sérologická vyšetření – především testy ELISA, PCR testy či imunologickými metodami. V odhalení trichinelózy nám mohou pomoci i kožní testy zejména Bachmannův test.

3.5.1 Kompresní metoda

Kompresní metodu, kterou navrhl R. Vichrow v roce 1864, je považována za základní metodu vyšetřování masa (Moravec, 2001)

Princip kompresní metody se zakládá ve stlačení vzorku svaloviny přibližně o velikosti pšeničného zrnka mezi dvěma silnostěnnými skleněnými destičkami s 28 políčky pomocí dvou šroubů. Stlačená svalovina se prohlíží pod binolupou, stereomikroskopem nebo trichinoskopem (Jedlička, 2009).

Kompresní metodu (obr. 4) bylo možné používat do 31. 9. 2009. Je nutno upozornit, že maso zvířat vyšetřených kompresní metodou nesmí být veterinárně označeno oválným označením zdravotní nezávadnosti a lze je použít pouze pro osobní spotřebu. Maso nesmí být použito k výrobě produktů, ve kterých výrobní postup neusmrcuje trichinely (Duben, 2007).

Touto metodou se vyšetřují malé počty jatečných zvířat a svalovina divokých prasat, koní, nutrií, medvědů nebo jezevců. Kompresní metodou lze zachytit infekci v případě výskytu tří larev na gram svaloviny (Koudela, 2001).

3.5.2 Trávicí metoda

Trávicí metoda může být použita na vyšetření jednoho nebo více vzorků najednou. Při trávicí metodě lze zachytit infekci při počtu tří larev na jeden gram. Vyšetřují se vzorky svaloviny bráničních pilířů od 100 prasat. K vyšetření sedimentu se používá trichinoskop nebo mikroskop (Koudela, 2001). Metoda je založena na enzymatické degradaci svalových vláken pomocí pepsinu, která uvolní larvy ze svaloviny do trávicí tekutiny pro následnou izolaci a případnou identifikaci (Nöckler and Kapel, 2007).

Podle Mezinárodní komise pro trichinelózu (ICT) musí trávicí metoda pro detekci larev trichinel v mase splňovat mezinárodně uznávané normy, které zahrnují vědecky ověřená data. Tyto normy umožňují rutinní sledování a dokumentaci kritických kontrolních bodů (Gamble et al., 2000).

Kvalita a přesnost metody je závislá na řádném plnění trávicí metody, svalové směsi, odpovídajícím zařízení, spotřebním materiálu, přesném ověření zjištění a řádné dokumentaci výsledků. Z tohoto důvodu by na ně měli být zaměřeny minimální QA normy (Gajadhar et al., 2009). Podle Mezinárodní komise pro trichinelózu (ICT), trávicí metoda pro detekci larev svolovců v mase musí splňovat mezinárodně uznávané normy. Normy vycházejí z vědecky ověřených dat, které umožňují rutinní sledování a dokumentaci kritických kontrolních bodů.

Pro bezpečnost potravin a potřeby obchodu je trávící spolehlivá metoda pro přímou detekci larev trichinel v mase (Gamble et al, 2000).

3.5.3 Sérologické testy

Sérologické vyšetření patří v infekční medicíně k nejčastěji používaným metodám. Slouží k nepřímému průkazu infekčního agens, ať už se jedná o mikroby, viry nebo tkáňové parazity na základě zjištění vzestupu titru specifických protilátek proti němu. Existuje v celé řadě modifikací. Klasické metody jako pomalá aglutinace, hemaglutinace, komplementfixace, imunofluorescence a další byly doplněny nebo i nahrazeny modernějšími metodami jako je RIA, ELISA, imuno elektroforéza a další (Černý a kol. 2008).

Diagnostika pomocí sérologických testů je založena na průkazu protilátek či antigenů v krvi pacienta. Nejčastěji používaná je metoda ELISA, která je využívána ke stanovení koncentrace některých látek v lidském organismu (Uhlíková a kol., 2001)

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) využívá kombinace enzymaticky značené protilátky se sorpcí některé reakční složky na vhodný povrch, nejčastěji na důlek serologické destičky.

Výhodou metody Elisa je možnost jejich automatizace. I nejjednodušší mechanizace promývacího postupu umožní vyšetřovat velký počet vzorků. Nároky na kvalifikaci laboratorního personálu jsou nepatrné, stačí zaškolení. Na trhu jsou k dispozici soupravy k důkazu protilátek takřka proti všem mikrobům. ELISA umožňuje prokazovat protilátkovou aktivitu v jednotlivých třídách imunoglobulinů a odhadovat tak, kdy k vyšetřované infekci došlo. Nevýhodou metody ELISA je relativní nákladnost přístrojového vybavení. Nepříjemná je i vysoká cena většiny komerčně dodávaných souprav. Předpokládaná vysoká citlivost metod v mnoha případech není taková, jak se čekalo (Votava a kol., 2010).

Byla provedena studie, kde hlavním cílem bylo porovnání výsledků, které byly získány 3 různými metodikami ELISA testu pro detekci trichinelózy u lidí. Krevní séra byla testována na protilátky trichinel použitím komerčního Novatec kitu a 2 různými ELISA metodami za použití exkrečně-sekrečního antigenu. Hlavní rozdíly v ELISA testech byly: koncentrace bílkovin v antigenu, zředění krevních sér, použitý konjugát a čas jeho inkubace. Krevní vzorky byly získány z 22 pacientů s příznaky trichinelózy z Poznaňské oblasti (Polsko). Výsledky odhalily u všech 3 metod různé hodnoty cut-off a tedy i pozitivitu. Tyto

odlišnosti mohou být významným faktorem z epidemiologického hlediska trichinelózy u lidí (Kořínková, 2006).

V problematice diagnostiky trichinelózy je významný test ELISA, který doposud nebyl standardizován. Účelem testu by mělo být stanovení nejen nepřímé diagnostiky trichinelózy u zvířat porážených na jatkách, ale také diagnostika trichinelózy u volně žijících zvířat. Individualita ELISA testu závisí na specifických faktorech, vlastní imunitě hostitele a na kvalitě použitého antigenu. Metabolickým produktem larev trichinel je exkrementně-sekrecní antigen, který je pravděpodobně nejvíce specifický (Anon., 2013)

Další metodou, která vhodně doplňuje metodu ELISA se nazývá Western blotting, který je založený na průkazu přítomnosti protilátek proti proteinům jednotlivých molekulárních vah, jejichž profil charakteristický pro jistý druh mikroorganismu dovoluje potvrdit někdy ne zcela spolehlivou specifitu jiné sérologické reakce (Černý a kol., 2008).

3.5.4 PCR testy

Polymerázová řetězová reakce (PCR) je metoda, která umožňuje amplifikaci cílových sekvencí nukleových kyselin. Metodu PCR roku 1983 založil Kary Mullis, který byl v roce 1993 oceněn Nobelovou cenou za tuto metodu. Původní metoda byla velmi zdlouhavá a náročná, protože se po každé tepelné denaturaci musela přidávat nová čerstvá DNA polymeráza. Metoda PCR, která využívá termostabilní *Taq* DNA polymerázy, která byla poprvé izolována roku 1976 z termofilní bakterie *Thermus aquaticus* byla roku 1989 patentována (Ferralli et al., 2007).

Zatím je metoda PCR nejlépe zavedenou metodou, která využívá amplifikace hledané DNA, jejímž principem je cyklicky opakující se enzymová syntéza nových řetězců. Nové řetězce jsou vybraným úsekem dvouřetězcové DNA ve směru 5' → 3' pomocí DNA polymerázy. Produkty předcházejícího cyklu jsou použity jako substrát v cyklu následujícím. (Sachse, 2004). PCR je založena na opakovaných cyklech tří jednoduchých reakcí.

První krok: nejprve se dvojitá šroubovice hledané DNA zahřátím rozloží na jednotlivá izolovaná vlákna.

Druhý krok: po ochlazení se na tato vlákna připojí dva krátké syntetické nukleotidy (tzv. primery), komplementární ke specifickým místům na vláknech DNA. Ohraničí se ta oblast DNA, která má být zmnožena (Votava a kol., 2010). Primery obsahují sekvence

komplementární ke koncům amplifikovaných úseku a jsou dlouhé zpravidla 18 - 25 nukleotidů. Syntéza probíhá na obou řetězcích DNA a to i v opačném směru (Sachse, 2004).

Třetí krok: v přítomnosti enzymu *Taq* polymerasy a přebytku příslušných deoxyribonukleotidtrifosfátů se tyto nukleotidy prodlužují a vytváří se tak kopie DNA.

Všechny tři reakce závisí na teplotě a probíhají v téže zkumavce. Vzniklé produkty slouží jako matrice pro vznik nových kopií v dalším cyklu. Dvacet cyklů, což trvá asi 2hod, zmnoží dokazovanou DNA asi milionkrát (Votava a kol., 2010).

Produkty vzniklé při PCR jsou detekovány pomocí gelové elektroforézy po barvení ethidium bromidem nebo hybridizací se značenou sondou (Rompré et al., 2002).

3.5.5 Kožní testy

Kožní testy patří mezi speciální mikrobiologické diagnostické metody, při nichž se využívá přítomnost kožní alergické reaktivity na intradermálně nebo epidermálně aplikovanou suspenzi usmrceného nebo atenuovaného infekčního agens podmíněné T – lymfocyty zprostředkovanou tkáňovou imunitou. U trichinelózy se využívá kožní alergenový Bachmannův test, který se odečítá již po 20 až 30 minutách po aplikaci bývá pozitivní již od druhého týdne po nákaze (Černý a kol., 2008).

4. Materiály a metody

4.1 Původ vzorků

Byly vyšetřovány vzorky z celkem 23 prasat střelených v pěti krajích České republiky. Dvacet vzorků z prasat divokých (*Sus scrofa*) a tři vzorky pocházely z prasat domácích (*Sus scrofa* f. *domestica*). Vzorky byly různorodé a zahrnovaly samce, samice i mláďata.

Tři vzorky jazyka z domácích prasat, pocházely z domácích farem v kraji Středočeském, Libereckém a Jihočeském.

Dvacet vzorků bylo odebíráno z bránic a jazyků divokých prasat (*Sus scrofa*), která pocházela z kraje Libereckého, Ústeckého, Jihočeského, Plzeňského a Středočeského, včetně jednoho kusu prasete z CHKO Kokořínsko.

Vzorky byly odebírány a vyšetřovány v měsících září až prosinec v roce 2012 a v lednu 2013.

4.2 Metoda pomocí kompresoria

Každý vzorek prasete byl pomocí nůžek a skalpelu nastříhán či nařezán na 28 malých kousků svaloviny z různých míst vzorku, aby spektrum bylo co nejširší, o velikosti asi pšeničného zrna. Tyto kousky svaloviny byly stlačeny pomocí kompresoria (obr. 4) a prohlíženy pod binární lupou či mikroskopem.

Obrázek 4 Kompresorium – vyšetřovací pomůcka pro vzorky svaloviny

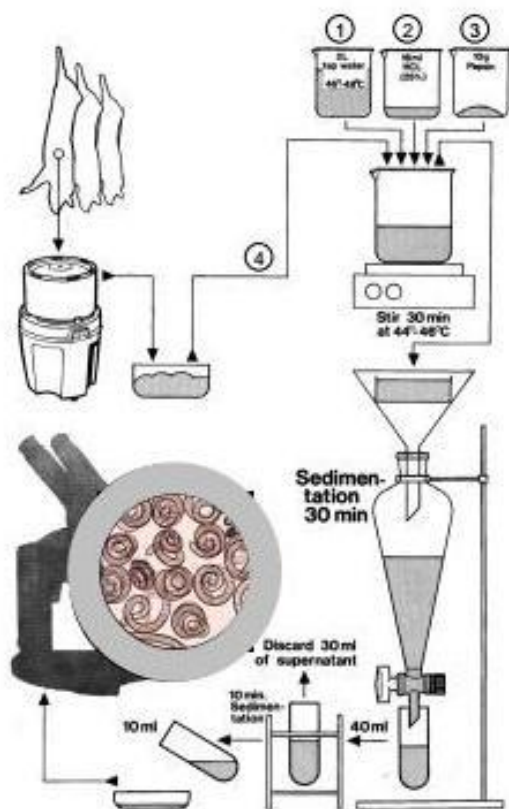


Zdroj: Koudela, 2001.

4.3 Trávicí metoda

Pro náš výzkum bylo použito stanovení trichinel podle Nařízení komise (ES) č. 2075/2005 a doporučeného postupu vyšetřování Mezinárodní komise pro trichinelózu (ICT). Metoda vyšetření hromadných vzorků trávicí metodou (obr. 5) s použitím magnetické míchačky pracuje na principu natrávení larev z vyšetřované svaloviny a následného uvolnění larev do trávicí tekutiny. V případě, pozitivních nálezů je nutné opakovat proces tak dlouho, dokud nebude stanovena identita nakaženého zvířete.

Obrázek 5 – Trávicí metoda



Zdroj: Mezinárodní organizace pro trichinelózu (ICT)

4.3.1 Minimální požadavky na vybavení a spotřebního materiálu

- Nůž nebo nůžky pro odběr vzorků,
- Váhy vážící s přesností alespoň na 0,1 g,
- Míchačka s ostrou sekací čepelí,
- Magnetické míchadlo s nastavitelnou topnou deskou,
- Teploměr měřící s přesností na 0,5 °C v rozmezí 1 až 100 °C,
- Teflonové míchací tyčinky o délce 5 cm,
- Skleněné kádinky o objemu 3 l,
- Aluminiová (potravinářská) fólie na přikrytí skleněných kádinek,
- Nálevky s vnitřním průměrem nejméně 15 cm, pro podporu síték,
- Sítka z korozi-vzdorné oceli s velikostí oka 180 - 200 µm o vnějším průměru 10 cm,
- Separační skleněné kuželovité nálevky o objemu alespoň 2 litry, pokud možno opatřené teflonovými bezpečnostními zátkami,
- Skleněné odměrné válce o objemu 50 až 100 ml nebo odstředivkové kyvety,
- Řada Petriho misek o průměru 9cm (při binární lupě) rozdělených na spodní straně na vyšetřovací čtvercové plošky 10 x 10 mm nebo vanička pro počítání larev (při trichinoskopu) vyrobená z akrylátových desek o tloušťce 3 mm,
- Trichinoskop s vodorovnou plochou nebo stereomikroskop (binární lupa) s přídatným zařízením se světelným zdrojem upravitelné intenzity,
- Pipety různých velikostí (1, 10 a 25 ml) a držáky pipet,
- Vodovodní ohřátá voda na 46 – 48 °C,
- 25 % kyselina chlorovodíková (nebo 37 %),
- Pepsinový prášek (o koncentraci 1: 10 000 NF, 1: 12 500 BP, 2 000 FIP), granulovaný pepsin (1: 10 000 NF) nebo tekutý pepsin (660 U/ml),
- Etanol 70 – 90 %,
- Malé ampulky pro sběr larev,

Pro metodu stanovení trichinel není vhodné používat pomůcky, nástroje, kádinky a nálevky vyrobené z plastů. Hrubé povrchy a možné elektrostatické náboje mohou přispět k přichycení larev na materiál.

Nástroje, které jsou používány k měření, tj. teploměry, pipety, a zařízení by měly být běžně udržovány a alespoň jednou ročně kalibrovány, což je požadováno normou ISO/17025 pro akreditované laboratoře.

4.3.2 Provedení trávicí metody

Příprava vzorků

Vzorky bychom měli nejlépe nadrobno nasekat v mixéru nebo nastrohat na struhadle nebo nastříhat či jinak upravit nástroji, které jsou snadno a důkladně čistitelné abych zvětšili plochu vzorku, která bude podléhat enzymatickému rozkladu.

Příprava trávicích tekutin

Nejdůležitějším krokem, který bývá považován za nejkritičtější krok, je příprava trávicích tekutin. Je důležité klást důraz na pořadí v přidávání jednotlivých složek. Nejdříve do kádinky, která by měla být o objemu 2 - 3 l, přidáme dva litry vody z vodovodu o teplotě 46 – 48 °C. Teplota by neměla překročit doporučenou hodnotu, protože zvýšená teplota by mohla zničit přítomné larvy ve vzorku nebo zapříčinit nižší aktivitu pepsinu. Poté přidáváme do vody 16 ml 25 % kyseliny chlorovodíkové. Dalším krokem následuje vložení magnetu do tekutiny a umístěním kádinky na magnetickou míchačku s topnou deskou. Posledním krokem přípravy trávicích tekutin je pomalé vmíchávání pepsinu o objemu 10 g. Aktivita pepsinu je důležitá pro správné provedení metody, proto je důležité pepsin dobře skladovat a jeho trvanlivost by měla být uvedena na štítku skladovací nádoby. Pepsin je možné použít v podobě pepsinového prachu, granulí nebo tekuté formě. Granulovaný a tekutý pepsin je upřednostňován z důvodu snížení rizika vdechnutí prachu a případným alergickým reakcím laborantů. Konečná koncentrace pepsinu trávicí tekutiny by měla být 0,5 %, je možno použít i až dvojnásobnou koncentraci, ale pouze v případě, že svalové vzorky za standartních podmínek nejsou adekvátně tráveny.

Smíchání a trávení vzorků

Jako poslední složku po přípravě trávicích tekutin vkládáme do kádinky nasekané svalové vzorky. Maximální poměr masa k trávicím tekutinám by měl být 1 : 20. Směs se důkladně promíchá a nechá se míchat na magnetické míchačce s topnou deskou, která udržuje teplotu 46 – 48 °C po dobu míchání. Pro udržení konstantní teploty a zamezení odparu při trávení je vhodné přikrýt kádinku hliníkovou fólií. Během míchání by měla být teplota pravidelně kontrolována. Rychlost míchání trávicí směsi by měla být taková, aby byl vytvořen vír, avšak aby tekutina nestříkala. Obvyklá doba míchání je 30 min. V případě, že vzorky jsou hůře stravitelné, je možné dobu míchání prodloužit, avšak by neměla přesáhnout dobu 60 minut.

Filtrace trávicí tekutiny

Po uplynutí doby trávení opatrně nalijeme tekutinu skrz sítko do dělicí nálevky. Tekutinu lijeme pomalu a opatrně, abychom zabránili přeplnění nálevky. Sítko nemusí být kalibrováno, protože se používají k zadržení nestrávených zbytků vzorků, které nejsou určena pro přímé měření. Sítko by avšak mělo být čisté, nepoškrábané, z koroziivzdorných kovů a neobsahovat nečistoty aby jím mohla projít trávicí tekutina a nedocházelo k přichycení larev na sítko. Doporučuje se, aby se po nalití kádinka vypláchla dostatečným množstvím vody přibližně o objemu 100 ml vody do dělicí nálevky, aby se zabránilo ztrátě larev, které by mohli ulpět na stěnách kádinky či sítku.

Sedimentace trávicí tekutiny v oddělovací nálevce

Primární sedimentace trávicí tekutiny se provádí v oddělovací nálevce, což larvám umožňuje dostatečnou dobu, aby se usadily na dně sloupce tekutiny, které se následně sbírají a sčítají. Sediment živých larev se filtruje přibližně v poměru 1 cm za minutu. Trávicí tekutina v nálevce by měla sedimentovat po dobu minimálně třiceti minut. Pokud bychom dobu sedimentace zkrátili, nemuselo by dojít k usazení larev na dno a být tak odebrány v nasbíraném sedimentu. Pro usnadnění usazování larev si můžeme pomoci jemným poklepáváním na stěnu nálevky (např. po dobu každých 10 minut). Pokud byly vzorky svalové tkáně před trávením zmrazeny, je pravděpodobné, že larvy některých druhů trichinel, které jsou náchylné k velmi nízkým teplotám, budou mrtvé. Mrtvé larvy svalovců se nepustí svalové tkáně a tak se rychlost jejich sedimentace snižuje. Z tohoto důvodu by čas sedimentace pro zmrazené vzorky, kde očekáváme mrtvé larvy, měl být zvýšen až na 60

minut. U mrtvých larev nastává rychlá degenerace DNA, což zabraňuje molekulární identifikaci larev z hlediska jeho druhu nebo genotypu.

Sekundární sedimentace

Po ukončení primární sedimentace v oddělovací nálevce plným proudem přelijeme trávící tekutinu do 50 ml kádinky. Kohoutek separační nálevky musí být plně otevřen, aby se žádné larvy nepřichytily na stěnu nálevky a vývodu. Pokud bychom měli malé množství primárního sedimentu, je pravděpodobné, že larvy zůstaly v trávící tekutině v oddělovací nálevce a byly by tak ztraceny, ovšem nadměrné množství sedimentu může obsahovat velké množství nečistot. Primární sediment necháme 10 minut sedimentovat, aby se larvy usadily na dně kádinky. Po sekundární sedimentaci odstraníme 40 ml tekutiny nad sedlinou odpipetováním shora tak, abychom nerozvídili sediment. Zbýlých 10 ml sekundárního sedimentu rozdělíme do mřížkovaných Petriho misek či vaniček pro počítání larev.

4.4 Prohlížení pod mikroskopem

Prvním předpokladem pro správné stanovení výskytu trichinel je potřeba znalost základních morfologických znaků larev svalovců zahrnující rozměry, tvar a barvu. Nejpříznačnější charakteristika svalovců je stichosom, který se skládá z diskoidních buněk podél jícnu a nachází se v přední polovině těla. Živé larvy jsou v chladu stočené, v teple se pohybují a pokud jsou larvy mrtvé, mají tvar písmene „C“ (Gamble a kol., 2000).

Petriho misky či vaničky pro počítání larev necháme před prohlížením minutu stát v klidu na binární lupě, aby se larvy usadily. Poté prohlížíme sediment co nejrychleji. Správné nastavení mikroskopu či binární lupy je velmi důležité pro identifikaci larev. Nastavení provádíme před samotným mikroskopováním a to tak, že zaostříme mikroskop na mřížky Petriho misky, aby byly dobře viditelné skrz trávicí tekutinu. Sekundární sediment musí být dostatečně transparentní, aby bylo možné larvy snadno identifikovat. Sediment poté systematicky sledujeme čtvereček po čtverečku pod mikroskopem či binární lupou s 10 – 20 x zvětšením. Každou podezřelou trichinelu ověříme mikroskopii se zvětšením 60 – 100 x. Výsledky, které byly podezřelé nebo pozitivní na larvy svalovce ze sdruženého vzorku musí být zpětně dohledán vzorek k původnímu JUT. Z pozitivně identifikovaných sdružených vzorků identifikujeme tělo tím, že provedeme trávicí metodu u menšího počtu vzorků s větší velikostí. Sdružené vzorky s negativními výsledky vyřadíme a ty, které jsou pozitivní, dál zkoumáme a testujeme, dokud trávení tkáně z jednotlivých zvířat neurčí zdroj pozitivního výsledku. Před každým provedením trávicí metody je důležité provést sterilaci nástrojů, laboratorních pomůcek a pracovních ploch. Larvy svalovců jsou inaktivovány po kontaktu s vodou o teplotě vyšší než 70 °C po dobu 1 až 2 minut. Důležité je také brát v úvahu, abychom nepoužívali horké nástroje při opakování trávicí metody. To by mohlo mít za následek inaktivace živých larev, které bychom chtěli stanovit.

V případě pozitivních nebo podezřelých nálezů přesuneme larvy s minimálním množstvím trávicí tekutiny, přibližně 5 až 10 µl do malé ampulky o objemu 1 až 2 ml, které jsou ze 70 – 90 % naplněné ethyl alkoholem a provedeme identifikaci pomocí metody PCR.

5. Výsledky

Vyšetřovali jsme celkem 23 vzorků svaloviny divokých i domácích prasat. Vzorky byly odebírány jak z bránice, tak z jazyka prasat. Tři vzorky z prasete domácího z malé farmy na Benešovsku, byly vyšetřovány metodou pomocí kompresoria. Ve vzorcích z prasete domácího (*Sus scrofa f. domestica*) nebyla naleza žádná larva svalovce.

Dvacet vzorků pocházelo z divokých prasat (*Sus scrofa*) namíchaných z jazyků a bránic. Trávicí metodou bylo vyšetřeno 13 vzorků. Jeden vzorek byl vyšetřen samostatně a 12 vzorků jsme vyšetřili jako směsný vzorek. Vzorky vyšetřené trávicí metodou jsme zároveň vyšetřovali metodou pomocí kompresoria a všechny vzorky vyšli negativně.

Na šesti vzorcích prasete divokého (*Sus scrofa*) jsme uplatnili pouze metodu pomocí trichinoskopu a výsledky vyšli negativně. V žádném vzorku nebyly identifikovány larvy svalovce stočeného (*Trichinella spiralis*).

6. Diskuze

Na základě literární rešerše lze odvodit, že problematika onemocnění trichinelózou je stále aktuální a prevence by se neměla proti tomuto parazitovi podceňovat. Proto se také tímto problémem zabývá již mnoho vědeckých publikací. Jednou z hlavních metod detekce *Trichinella spiralis* je trávící metoda. A právě na základě této detekce bylo provedeno laboratorní vyšetření svaloviny prasat. Cílem bylo dokázat přítomnost svalovců u prasat domácích (*Sus scrofa* f. *domestica*) i prasat divokých (*Sus scrofa*) v České republice. K vyšetřování vzorků svaloviny z prasat jsme krom trávící metody používali i metodu kompresní.

Kapel et al., (2005) provedli výzkum nejčastější lokalizace parazita a uvedli nejvhodnější místa pro odebrání vzorků a to zejména z bránice, jazyka. Proto jsme v našem pokusu pracovali se vzorky z bránice a jazyka. Zda je výskyt vyšší v určité části těla, vzhledem k našim výsledkům, nemůžeme potvrdit, ovšem naše legislativa nařizuje vyšetření vzorků z bránice. V minulých letech bylo SVS požadováno vyšetření vzorků z krčních mandlí divokých prasat (*Sus scrofa*).

Prvním krokem, pro naše laboratorní stanovení bylo potřeba zajistit odběr vzorků. Odběr vzorků probíhá co nejdříve po usmrcení prasete. U prasete domácího se odebírají vzorky na jatkách. Pokud není laboratoř součástí jatek, vzorky bránice se zasílají na státní veterinární správou akreditovaných laboratořích. U divokých prasat se vzorky odebírají při tzv. „výřadu“ a co nejdříve se zasílají do laboratoře na vyšetření. Veškeré vzorky musí být odeslány společně s vyplněnou speciální žádankou o vyšetření. Pavlásek (2011) publikuje, že je zajištěn svoz vzorků tzv. svoznými linkami SVÚ Praha. Tato linka sváží vzorky ze 43 jatek prasat domácích, dále z divokých prasat, případně koní a jiných volně žijících zvířat, z inspektorátů Krajských veterinárních správ Jihočeského, Karlovarského, Královéhradeckého, Libereckého, Plzeňského, Středočeského a Ústeckého kraje. Automobily vybavené chladicími agregáty přivážejí mezi 16.00 – 20.30 hod. k vyšetření také materiál určený ostatním laboratořím ústavu z jednotlivých sběrných míst podle denního „jízdního řádu“. Speciální „trichinelózní linka“ zajišťuje odvoz vzorků z Plzeňska. K trichinoskopickému vyšetření si přinášejí svalovinu v některých případech lovci osobně. Naše vzorky jsme odebírali z bránice a jazyků na výřadu ze zastřelených divočáků.

Kompresní metoda, kterou byly jednotlivé vzorky v našem výzkumu vyšetřeny, je podle Forbes et al. (2003) pracnou a časově náročnou metodou. Zároveň ve své publikaci

uvádí, že tato metoda má nižší citlivost, což dříve publikoval Vignau et al. (1997). Forbes et al. (2003) ve svém výzkumu zjistili, že je obtížné jí zachytit larvy svalovců druhu *T. pseudospiralis*, *T. papuae* a *T. zimbabwensis*, protože nejsou obsaženy v silné kolagenové kapsli. Naproti tomu Gamble et al. (2000) poznamenávají, že tato metoda je jednoduchá a může být využita např. v terénních podmínkách. Koudela (2001) zmiňuje, že metoda pomocí kompresoria může být použita pro vyšetření malých počtů jatečných zvířat a svalovina divokých prasat. Tímto jsme se v naší práci řídili, jelikož Koudela (2001) dodává, že v Evropě byly prokázány tři druhy trichinel, ve většině případů se jedná o *T. britovi*, *T. nativa* a *T. pseudospiralis*. Merialdi et al. (2011) potvrdili výskyt *T. pseudospiralis* v Evropě a shodují se tak s Koudelou (2001), že tento druh byl potvrzen ve Finsku, Francii a Itálii. Dále byl výskyt potvrzen i v Bulharsku, Německu a Švédsku. Trávicí metodou jsme vyšetřovali jednotlivé vzorky i směsné vzorky. Během trávicí metody jsme vyšetřovali vzorky i metodou kompresní. Pokud se vyšetřuje pouze jeden vzorek, je rychlejší metoda pomocí kompresoria, je-li na vyšetření vzorků více, je vhodnější použít metodu trávicí.

Nöckler et al. (2000) uvádějí, že oproti kompresní metodě je trávicí metoda mnohem rychlejší. Tato metoda umožňuje testování směsného vzorku až ze 100 kusů prasat najednou, ale vyžaduje oproti kompresní metodě více technického vybavení. I přes tento fakt se stala hlavní metodou pro běžné vyšetření prasat ve většině průmyslově vyspělých zemích a je mezinárodně uznávanou diagnostikou svalovců.

Podle nařízení Komise (ES) č. 2075/2005, kterým se stanoví zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase a je jako referenční metoda trávicí za použití magnetické míchačky. Koudela a kol. (2010) se zabývali zkušenostmi s mezilaboratorními srovnávacími testy, jež jsou nezbytné pro certifikaci metod a akreditaci laboratoří. Ze srovnání s obdobnými testy prováděnými v ostatních evropských zemích vyplývá, že doposud není sjednocena standartní příprava velkého počtu vzorků pro srovnávací testy a nejsou stanovena jednotná kritéria pro jejich vyhodnocení. V této práci bylo použito metodiky stanovení svalovců podle nařízení Komise (ES) č. 2075/2005 a doporučeného postupu vyšetřování Mezinárodní komise pro trichinelózu (ICT).

Podle Kašného a kol. (2010) sérodiagnostické metody, které patří mezi nepřímé metody, jsou využívány k monitoringu trichinelózy zejména v oblastech se zanedbatelným výskytem tohoto onemocnění a k certifikaci chovů prasat. Současně sérodiagnostické testy jsou založeny na nepřímém průkazu exkrecečně-sekrecečních (ES) antigenů larev trichinel. Směs blíže neurčených antigenů z ES však představuje jeden z limitujících faktorů specifity těchto

nepřímých metod. V našem výzkumu nebyly nalezeny žádné larvy trichinel ve svalovině prasat. K dalším možným vyšetřením a případnému určení druhu pomocí sérologických testů jsme z důvodu negativních výsledků nepřistoupili.

Frey et al., (2009) ve svém pokusu porovnávali testy ELISA a Western blot. Z celkem 875 vzorků bylo 93 negativních. Citlivost a specifická testovacího protokolu v testech ELISA byla 95,9 % a u Western blot byla 99,9 %. Vysoké citlivosti a specifické se dosáhlo s nižším limitem detekce než běžné trávící metody, což naznačuje, že sérologické vyšetření je dobrou alternativou v detekci přítomnosti trichinel v produkci prasat. My tuto skutečnost potvrdit nemůžeme.

Trichinelóza v roce 2010 způsobila 223 potvrzených případů u lidí. Parazité rodu *Trichinella* spp. byly hlavně zjištěny u volně žijících zvířat (EFSA, 2012). V našich vzorcích svaloviny z divokých a domácích prasat žádní svalovci zjištěni nebyli, ovšem Státní veterinární správa čas od času výskyt svalovce potvrdí.

Přesto, že hlavním zaměřením předložené práce bylo zjistit výskyt svalovců ve svalovině prasat v České republice, byla práce vzhledem k negativním výsledkům zaměřena na nejnovější vědecké poznatky. V předložené práci jsme výskyt nepotvrdili, ale není možné jej vyvrátit, což mimo jiné potvrzují i nejnovější informace. Poslední epidemie, jak uvádí Duben (2013), způsobená onemocněním trichinelózou v Čechách, byla zaznamenána v roce 1954 ve Smrdově u Pacova, kdy onemocnělo 11 lidí, z nichž 3 lidé zemřeli. Zítek (2001) publikoval, že i když jsou v posledních letech z několika evropských zemí (Francie, Itálie, Německo, Slovensko) hlášeny skupinové epidemie této zoonotické tkáňové biohelmintózy, je aktuální riziko trichinelózy humánní v podmínkách českých zemí stále nízké. Evropský úřad pro kontrolu potravin (EFSA, 2012) ve výroční zprávě roku 2010 uvádí, že trichinelóza v roce 2010 oproti roku 2009 prudce klesla a byla zjišťována převážně u divoké zvěře než u prasat domácích (*Sus scrofa* f. *domestica*). Nejvyšší pokles byl zaznamenán v Bulharsku a Rumunsku, kde se počet potvrzených případů snížil o 96,6 % a 69,1 %. Přes výrazné snížení počtu potvrzených případů trichinelózy v Rumunsku, patří tato země stále mezi země v EU s nejvíce hlášenými případy infekce trichinelami v roce 2010. Největší nárůst byl v Litvě, kde počet hlášených potvrzených případů (77 případů) se zvýšil o 285 % ve srovnání s rokem 2009 (20 případů). Litva a Rumunsko představovaly 71,3 % všech potvrzených hlášených případů v roce 2010. Nejvyšší výskyt hlášených případů bylo ve věkové skupině v rozmezí 15 - 24 let a 25 - 44 let. Úmrtí v důsledku infekce trichinelami nebyly v roce 2010 hlášeny.

Svobodová a Kolářová (2006) uvedli, že od poslední epidemie v ČR byl po více skoro jak 40 letech, v období let 2001 až 2003, zjištěn pozitivní nález svalovců u osmi prasat divokých (*Sus scrofa*). V roce 2010 Seifertová (2010) potvrdila výskyt svalovce v Čechách. Svalovec byl nalezen a potvrzen u jezevce lesního (*Meles meles*), který byl střelen v Moravskoslezském kraji. V předložené práci jsme vyšetřovali vzorky prasat z různých krajů, mezi nímž byl i Liberecký kraj, kde byl v prosinci roku 2012 zaznamenán výskyt svalovce. V našich vzorcích jsme larvy svalovců nezaznamenaly, ovšem jak uvádí Duben (2013), v divokém praseti byly identifikovány živé larvy *Trichinella spiralis*.

Prase, u kterého byla zjištěna přítomnost svalovců, je nutné zajistit a zlikvidovat v asanačním podniku. Pokud by se tak neučinilo, hrozilo by, že by maso z napadeného zvířete pozřelo jiné zvíře a mohlo by tak dojít k případnému rozšíření tohoto parazita.

7. Závěr

Cílem této diplomové práce bylo především zjistit napadení prasat svalovci v České republice a podat ucelený přehled o onemocnění způsobeném tímto pro člověka velmi nebezpečným parazitem.

V této práci jsem se zabývala morfologií, výskytem, rozšířením, druhy svalovců, onemocněním, metodami detekce, prevencí a možným nebezpečím při nákaze tímto parazitem. Přestože hlavním zaměřením předložené práce bylo zjistit výskyt svalovců ve svalovině prasat v České republice, byla práce vzhledem k negativním výsledkům zaměřena na nejnovější vědecké poznatky.

Hypotéza „Svalovina prasat v České republice obsahuje vývojová stádia svalovců (*Trichinella*)“ nebyla potvrzena.

V předložené práci jsme výskyt svalovců nepotvrdili, ale není možné jej vyvrátit, což mimo jiné potvrzují i nejnovější informace. Výskyt *Trichinella spiralis* v Čechách je sice ojedinělý, ale za to stále aktuální. Proto je velmi důležité dbát na prevenci a dávat maso z prasat kontrolovat, jak ukládá legislativa.

Díky současným opatřením není nutné se při dodržení hygienických předpisů trichinelózy obávat. Nejspolehlivějšími metodami ochrany před parazitem je nekonzumovat neprohlédnuté a tepelně neopracované maso z prasat.

8. Seznam použité literatury

- Alban, L., Pozio, E., Boes, J., Boireau, P., Boué, F., Claes, M., Cook, A.J.C., Dorny, P., Enemark, H.L., van der Giessen, J., Hunt, K.R., Howell, M., Kirjusina, M., Nöckler, K., Rossi, P., Smith, G.C., Snow, L., Taylor, M.A., Theodoropoulos, G., Vallée, I., 2011. Towards a standardised surveillance for *Trichinella* in the European Union. *Preventive Veterinary Medicine*. (99). s. 148 – 160
- Anděra, M., Červený, J., 2009. Velcí savci v České republice. Rozšíření, historie a ochrana. Sudokopytníci (*Artiodactyla*). Národní muzeum. Praha. 88 s. ISBN: 978-80-7036-263-1
- Anonym, 2013, Diagnostické metody Trichinelózy. [cit. 2013-01-23]. Dostupné z <<http://biology.ujep.cz/?q=node/15>>
- Boonmars, T., Wu, Z., Nagano, I., Takahashi, 2005. *Trichinella pseudospiralis* infection is characterized by more continuous and diffuse myopathy than *T. spiralis* infection. *Parasitol Res*; 97 s.
- Cvetkovic, J., Teodorovic, V., Marucci, G., Vasilev, D., Vasilev, S., Cirovic, D., 2011. First reports of *Trichinella britovi* in Serbia. *Acta parasitologica*. 56. 232 – 235.
- Černý, Z., Mrázková, J., Onderková, A., Švábenská, D., 2008. Infekční nemoci. Jak pečovat o pacienty s infekčním onemocněním. Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno. 284 s. ISBN: 978-80-7013-480-1
- Duben, J. 2013. Rizikovou zvěřinu odhalí veterinární dozor. [cit. 2013-01-31]. Dostupné z <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/rizikovou-zverinu-odhali-veterinari-dozor.aspx>>
- Duben, J., 2007. Vyšetření na trichinely. [cit. 2013-02-16] Dostupné z <http://www.vetweb.cz/Vysetreni-na-trichinely__s1501x52770.html>

Dupouy-Camet, J., Paugam, A., De Pinieux, G., Lavarde, V., Vieillefond, A., 2001. *Trichinella murrelli*: Pathological features in human muscles at different delays after infection. Parasite 8. 176 – 179.

EFSA, 2012. Souhrnná zpráva EU o trendech a zdrojích zoonóz, jejich původců a potravin ohnisek choroby v roce 2010. [cit. 2013-02-16]. Dostupné z <www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2597.htm>

Engvall, E., Ljungstrom, I. 1975. Detection of human antibodies to *Trichinella spiralis* by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. C 83. 231 - 237.

Ferralli, P., Egan J., D., Erickson F., L. 2007. Making *Taq* DNA polymerase in the undergraduate biology laboratory. Bios 78 (2). 69 - 74.

Forbes, L., B., Parker, S., Scandrett, W., B., 2003. Comparison of a modified digestion assay with trichinoscopy for the detection of *Trichinella* larvae in pork. Journal for Food Prot. (66) 1043 – 1046.

Frey, C. F., Buholzer, P., Beck, R., Marinculic, A., Raeber, A. J., Gottstein, B., Schuppers, M. E., 2009. Evaluation of a new commercial enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of porcine antibodies against *Trichinella* spp. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. (21). 692 – 697.

Gajadhar, A., A., Pozio, E., Gamble, H., R., Nöckler, K., Maddox-Hyttel, C., Forbes, L., B., Vallée, I., Rossi, P., Marinculić, A., Boireau, P., 2009. *Trichinella* diagnostics and control: Mandatory and best practices for ensuring food safety. Vet Parasitol. 159, 197 - 205.

Gamble, H., R., Bessonov, A., Cuperlovic, K., Gajadhar, A., A., van Knapen, F., Nöckler, K., Schenone, H., Zhu, X., 2000. Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. Veterinary Parasitology (93) 393 – 408.

- Hespeler, B. 2007. Černá zvěř. Grada Publishing, Praha. 128 s. ISBN: 978-80-247-1931-2
- Horák, P., Scholz, T., 1998. Biologie helmintů. Karolinum. Praha. 139 s. ISBN: 80-7184-782-8
- Hurníková, Z., Chovancová, B., Bartková, D., Dubinský, P., 2007. Úloha volně žijících masožravců ve výskytu trichinelózi v Tatranském národním parku, na Slovensku. *Helminthologia* (44). s. 18 – 20.
- Hurníková, Z., Dubinský, P., 2009. Dlouhodobý průzkum na přítomnost trichinel u divoké zvěře na Slovensku. *Veterinary parasitology*.(159). s. 276 – 280.
- Jedlička, M., 2009. Nová metoda ke zjištění trichinel. [cit. 2012-11-27] Dostupné z <http://www.agroweb.cz/Nova-metoda-ke-zjisteni-trichinel__s45x34380.html>
- Jíra, J. 1998. Lékařská helmintologie. Galen. Praha. 111 – 350.
- Jírovec, O., 1948. Parasitologie pro lékaře. Melantrich. Praha. 377 s.
- Kapel, C., M., and Gamble, G., R., 2000. Infectivity, persistence, and antibody response to domestic and sylvatic *Trichinella* spp. in experimentally infected pigs. *International Journal for Parasitology* 30. 215 – 221.
- Kennedy, M., W., and Harnett, W., 2001. Parasitic nematodes: molecular biology, biochemistry and immunology. CABI Publishing. New York. 486 s. ISBN: 0-85199-423-7
- Kolářová, L., 2003. Importované tkáňové helmintózy. *Sanquis* (29). 28 s.
- Kolářová, L., Stejskal, F. 2010. Trichinelóza. *Cestovní medicína. Odborný rádce lékaře s praktickými informacemi při cestách do zahraničí.* 2010 (5). 6 s.
- Kolářová, L., 2012. Tissue helminthoses in the Czech Republic. X. České a Slovenské parazitologické dny v Brně. Sborník s. 28. ISBN: 978-80-210-5862-0.

- Kolda, F. a kol. 2004. Myslivost. O zvěři, lovu a zákonech. Plot, Praha. 224 s. ISBN: 80-86523-33-0
- Komprda, T. 2004. Obecná hygiena potravin. MZLU. Brno. 112 – 120.
- Kořínková, K., 2006. Obecná parasitologie: význam a biologie parazitů. Univerzita K. J. P. Purkyně Ústí nad Labem. 91 s. ISBN: 80-7044-798-2
- Koudela, B., 2001. Trichinelóza v Evropě. Vesmír. Roč. 80, číslo 3. Praha. 156 – 160.
- Koudela, B., 2011. Neobvyklé nálezy trichinel u divokých prasat odlovených v Dolní Dobrouči. Myslivost. Ročník 2001, číslo 3. 46 – 47.
- Koudela, B., Pavlíčková, Z., 2004. Vliv oplachování sítky na citlivost trávící metody při vyšetřování vepřového masa na přítomnost larev trichinel. Veterinářství 2004, č. 54. 352 – 356.
- Li, C. K., Ko, R. C., 2001. Inflammatory response during the muscle phase of *Trichinella spiralis* and *T. pseudospiralis* infections. Parasitol. 87 s.
- Lopez-Olvera, J.R, Vives, L., Serrano, E., 2011. *Trichinella* sp in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Catalonia, NE Spain. Preventive veterinary research. 108 (6). 1589 – 1591.
- Madden, K. B., Murrell, K. D., Lunney, J. K. 1990. *Trichinella spiralis*: major histocompatibility complex-associated elimination of encysted muscle larvae in swine. Exp Parasitol. 70 (4). 443 - 451.
- Meriardi, G., Bardasi, L., Fontana, M.C., Spaggiari, B., Maioli, G., Conedera, G., Vio, D., Londero, M., Marucci, G., Ludovisi, A., Pozio, E., Capelli, G., 2011. First reports of *Trichinella pseudospiralis* in wild boars (*Sus scrofa*) of Italy. Veterinary parasitology. (178). 370 – 373,
- Meynhardt, H. 1983. Mezi divočáky. Panorama, Praha, 132 s. ISBN: 11-103-83

- Meynhardt, H. 1988. O životě divokých prasat. Kinderbuchverlag, Berlin, 87 s.
- Moravec, F., 2001. Trichinelloid nematodes parasitic in cold-blooded vertebrates. Academia. Praha. 429 s. ISBN: 80-200-0805-5
- Motyčka, V., Roller, Z., 2001. Bezobratlí. Albatros. Praha. 171 s. ISBN: 80-00-00884
- Muntau, A., C., 2009. Pediatrie. Grada. Praha. 608 s. ISBN: 978-80-247-2525-3
- Murrell, K., D., 2001. Trichinellosis: now and forevermore? Parasite 8. 11 – 13.
- Nařízení Komise (ES) č. 2075/2005, kterým se stanoví zvláštní předpisy pro úřední kontroly trichinel v mase
- Odoevskaya, I., Kurnosova, O., Rudenskaya, Y., Filipova, I., Movsessyan, S., Bankov, I., 2010. Peculiarities of parasite – host relations in experimental infection of laboratory rodents with arctic strains of *Trichinella nativa*. Comptes rendus de L Academia Bulgare des sciences. Vol. 63. Issue 5. 723 – 732.
- Pavlásek, I., 2011. Jak se vyšetřuje na trichinellu? Myslivost (5). 62 - 63
- Pozio, E. and La Rosa, G., 2000. *Trichinella murrelli* n. sp: Etiological agent of sylvatic trichinellosis in temperate areas of North America. Journal of Parasitology 86. 134 – 139.
- Pozio, E., 2007. World distribution of *Trichinella* spp. infections in animals and humans. Veterinary Parasitology (149). 3 – 21.
- Pozio, E., et al., 1992. Biological characterizations of *Trichinella* isolates from various host species and geographical regions. Journal for Parasitology. 78. 647 – 653.

Pozio, E., Owen, I., L., La Rosa, G., Sacchi, L., Rossi, P., Corona, S., 1999. *Trichinella papuae* n.sp. (Nematoda), a new non-encapsulated species from domestic and sylvatic swine of Papua New Guinea. *International Journal for Parasitology* 29. 1825 – 1839.

Rakušan, C., Zezula, A., a kol., 1979. *Základy myslivosti*. SZN. Praha. 344 s.

Rompré, A., Servais, P., Baudart, J., de-Roubin M., Laurent P., 2002. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. *Journal of Microbiological Methods* 49. 31 - 54.

Ruitenbergh, E., J., Steerenberg P., A., Brosi, B., J., M, Buys, J. 1976. Reliability of ELISA as control method for the detection of *Trichinella spiralis* infections in conventionally raised pigs. *J. Immunol. Methods*. 10. 67 – 83.

Sachse, K., 2004. Specificity and performance of PCR detection assays for microbial pathogens. *Molecular Biotechnology* 26. 61 - 79.

Sandfoss, M., DePerno, C., Patton, S., 2011. Prevalence of Antibody *Toxoplasma gondii* and *Trichinella* spp. in feral pigs (*Sus scrofa*) of Eastern North Carolina. *Journal of wildlife diseases*. 47 (2). 338 - 343

Seifertová, E., 2010. Pozor na zvířata vnímavá na trichinely. [cit. 2012-12-17]. Dostupné z <http://www.agroweb.cz/Pozor-na-zvirata-vnimava-na-trichinely__s43x48054.html>

Sedlák, K., Tomšíčková, M., 2006. *Nebezpečné infekce zvířat a člověka*. Scientia. Praha. 168 s. ISBN: 80-86960-07-2

Skrjabin, K., I., Petrov, A., M., Orlov, I., V., Markov, A., A., Caprun, A., A., Saljajev, V., A., 1956. *Parazitologie domácích zvířat*. SZN. Praha. 283 s.

Stuchlý, I., 1996. *Nemá Váš pes cizopasníky?* Nutricyon. Praha. 78 s. ISBN: 80-901885-0-8

Svoboda, M., Doubek, D., F., Klimeš, J., a kol., 2000. Nemoci psa a kočky (1. díl). Česká asociace veterinárních lékařů malých zvířat. Brno. 1152 s. ISBN: 80-902595-2-9

Svobodová, V., Dubinský, P., Cabaj, W., Sréter, T., Kolářová, L., Moskwa, B., Malczewski, A., Stefaniak, J., 2006. Rizika onemocnění získaných v přírodě a z potravin. Noviko, Brno. 91 s. ISBN: 80-86542-10-6

Svobodová, V., Svoboda, M., 1995. Klinická parazitologie psa a kočky. Česká asociace veterinárních lékařů malých zvířat. Brno. 238 s.

Šátrán, P., Duben, J. 2008. Nákazy zvířat přenosné na člověka a bezpečnost potravin. Ministerstvo zemědělství ČR. Praha. 31 s. ISBN: 978-80-7271-197-0.

Uhlíková, M., Hübner, J., 2001. Trichinelóza: vybrané závažné tkáňové helmintózy. Lékařské listy. Roč. 50, číslo 28. 17 s.

Vignau, M., L., Guardis, M., D., V., Risso, M., A., Eiras, D., F., 1997. Comparison between two methods for diagnosis of trichinellosis: trichinoscopy and artificial digestion. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 92, 585 – 587.

Volf, P., Horák, P., a kol., 2007. Paraziti a jejich biologie. Triton. Praha. 318 s. ISBN: 978-80-7387-008-9

Votava, M., 2003. Lékařská mikrobiologie speciální. Neptun. Brno. 495 s. ISBN: 80-902896-6-5

Votava, M., 2005. Lékařská mikrobiologie obecná. Neptun. Brno. 351 s. ISBN: 80-86850-00-5

Votava, M., 2007. Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře. Neptun. Brno. 567 s. ISBN: 978-80-86850-03-0

Votava, M., 2010. Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody. Neptun. Brno. 495 s. ISBN: 978-80-86850-04-7

Zítek, 2001. K. Trichinelóza u hospodářských zvířat. Státní zdravotní ústav Praha. [cit. 2013-01-15]. Dostupné z <http://www.agroweb.cz/Trichineloza-uhospodarskych-zvirat__s45x9438.html>

Zocevic, A., Mace, P., Vallee, I., 2011. Identification of *Trichinella spiralis* early antigens the pre-adult and adult stages. Parasitology. 138 (4). 463 – 471.