

VOLNĚ ŽIJÍCÍ AMÉBY PATOGENNÍ PRO ČLOVĚKA AMFIZOICKÉ AMÉBY

Naegleria fowleri



Foto: L. Červa

Acanthamoeba spp.



Balamuthia mandrillaris

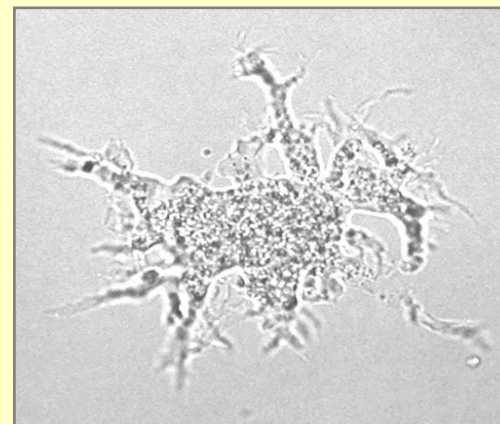


Foto: E. Nohýnková

Naegleria fowleri

- termofilní sladkovodní améba
- rozšíření: celosvětově
- původce:

primární amébové meningoencefalitidy (PAME)

imunokompetentních osob

Naegleria fowleri

výskyt:

sladká teplá voda

- přírodní

teplé prameny, stojaté – pomalu
tekoucí vody v letních měsících

...

- upravená

bazény, chladicí oběhy elektráren

biologické nárosty, sedimenty

termofilní améba:

množí se při 42°C



Zdroj obr.: www.dfwandme.com/.../2008/07/paluxy-river



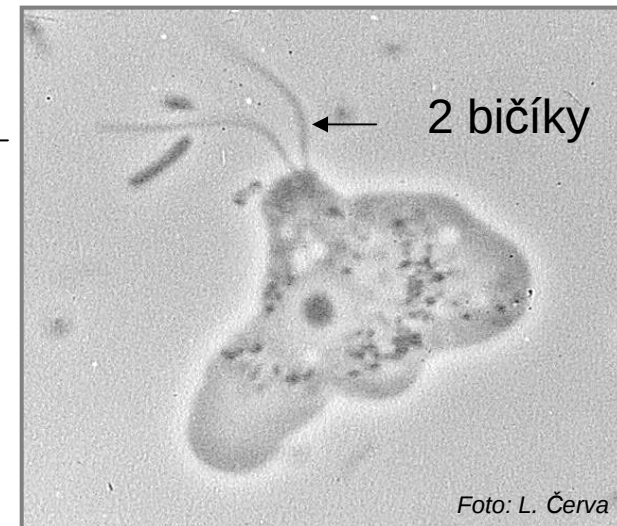
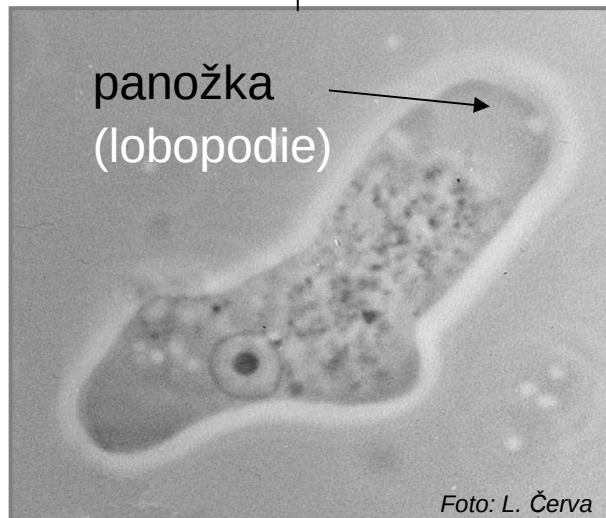
Naegleria fowleri

ORGANISMUS

v životním cyklu se střídají **2 stádia**

- **TROFOZOIT**

- 2 formy: **améba, bičíkovec**



Naegleria fowleri

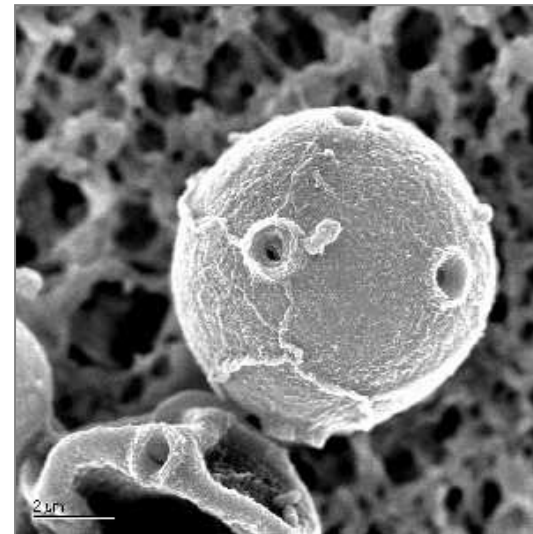
- **CYSTA**

klidové stádium, poměrně odolné



Foto: E. Nohýnková

- kulatá
- stěna hladká



Zdroj obr.:

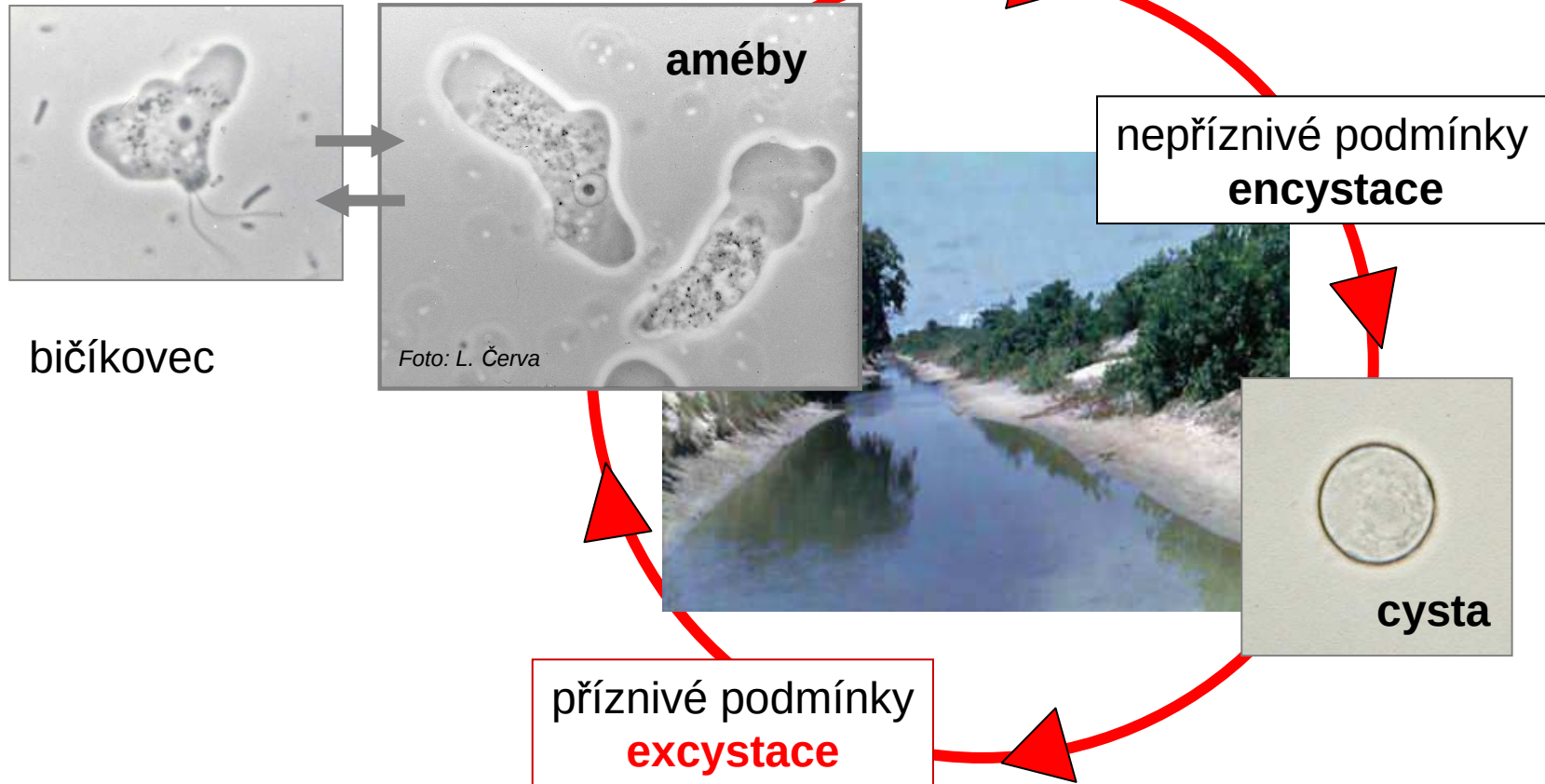
berkeley.edu/.../2010/03/04_naegleria.shtml

Zac Cande/UC Berkeley

Naegleria fowleri

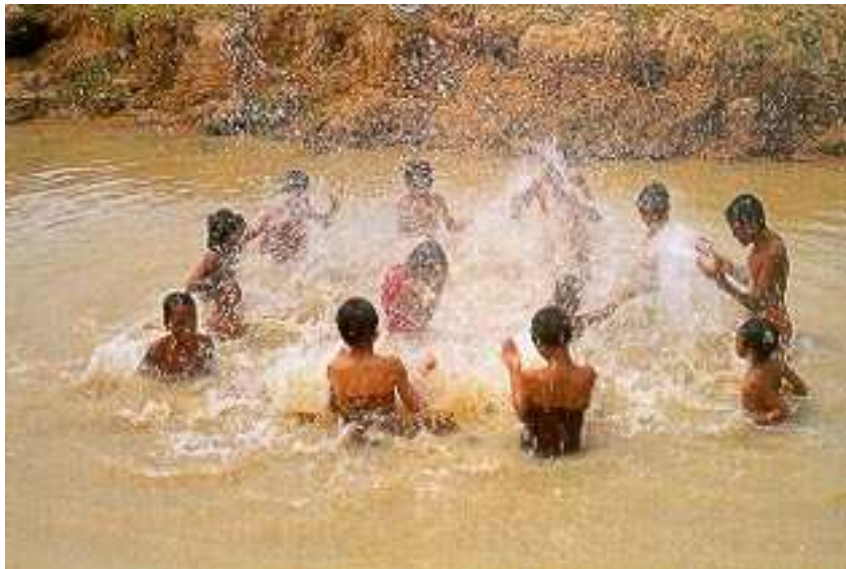
ŽIVOTNÍ CYKLUS

sladká voda (řada izolátů z prostředí)



EPIDEMIOLOGIE PAME

k nákaze dochází při koupání (prudk  pono en  hlavy do vody)



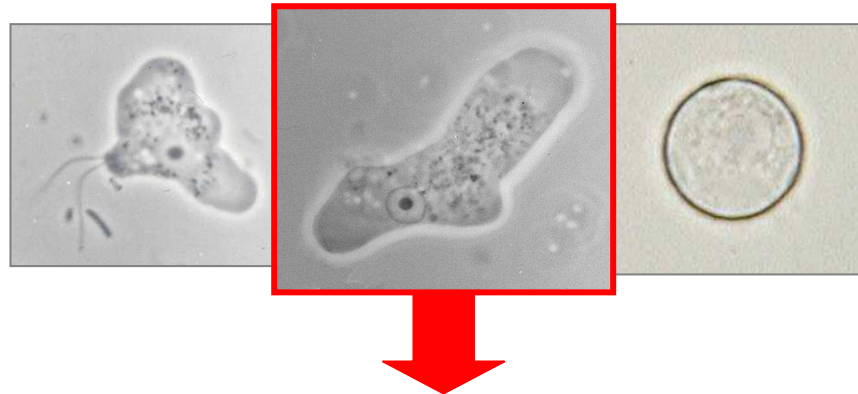
- **rizikov  skupina:** imunokompetentní osoby (děti, mlad  lide)
- **rizikov  chování:** aspirace vody do vy   ich part  nosní dutiny

Další způsoby nákazy: raritn 

EPIDEMIOLOGIE PAME

- „přenos“: náhodný (?)
- zdroj nákazy: voda kontaminovaná negleriemi
- brána vstupu: čichová oblast nosní sliznice

Do nosní dutiny: **všechna stádia neglerií = infekční stádia**



jen **améboidní trofozoit** aktivně proniká čichovou sliznicí do mozku
= **patogenní stádium**

EPIDEMIOLOGIE PAME

PREVALENCE

velmi vzácné onemocnění

pravděpodobnost nákazy odhad: 1 na 100 milionů exp.

~ 300 případů (5 přežilo)

1965 Austrálie: 4 děti

1966 označení **PAME**

ČR: 18 případů PAME

1962-1965: 16 případů

věk: 8-25 let

místo: krytý bazén, Ústí n. Labem

VIII.1962: 3 případy

VII.1963: 6 případů

XI.1964: 5 případů

IX.1965: 2 případy

1968: 1 případ

věk: 12 let, chlapec

místo: venkovní bazén, Most

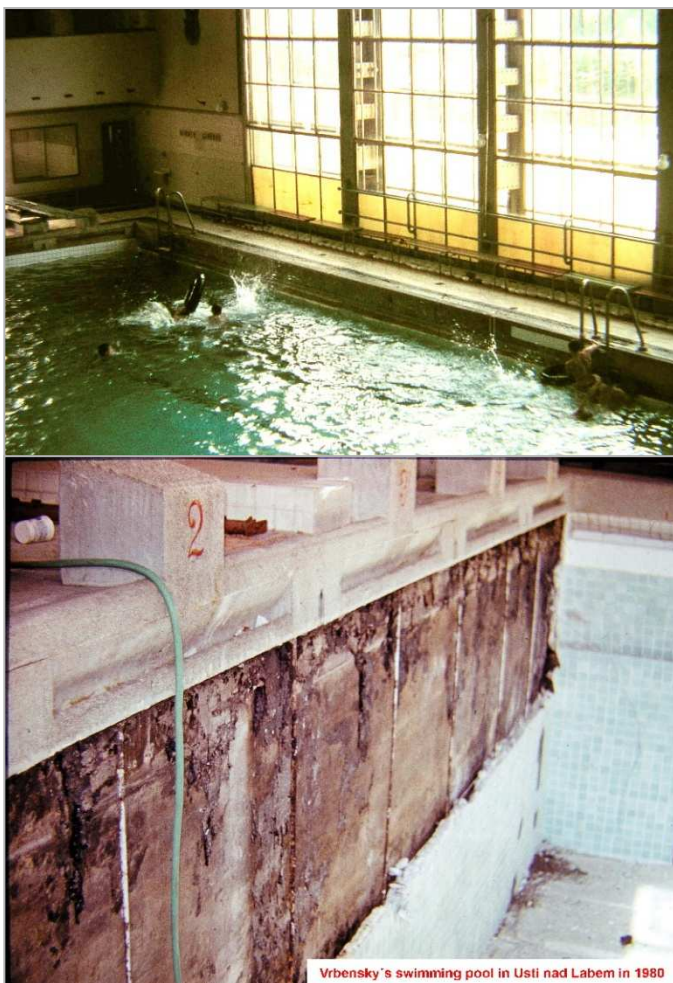
1984: 1 případ

věk: 11 let, chlapec

místo: SČ, potok, chladicí okruh
elektrárny

EPIDEMIOLOGIE PAME

Vrbenského lázně
(krytý plavecký bazén Ústí n. Labem)

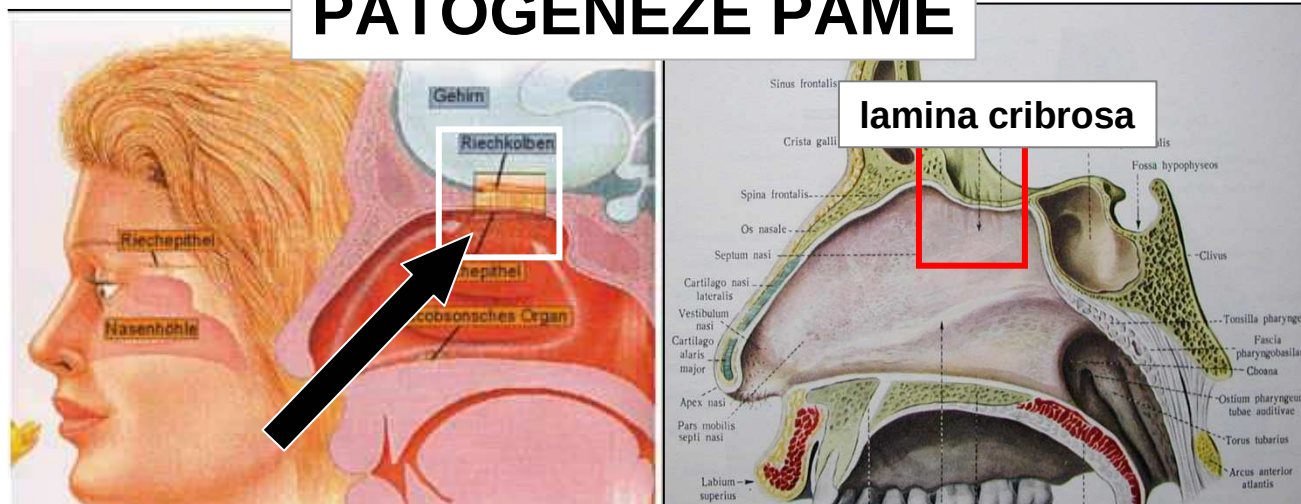


Most 1968
napájení venkovního bazénu

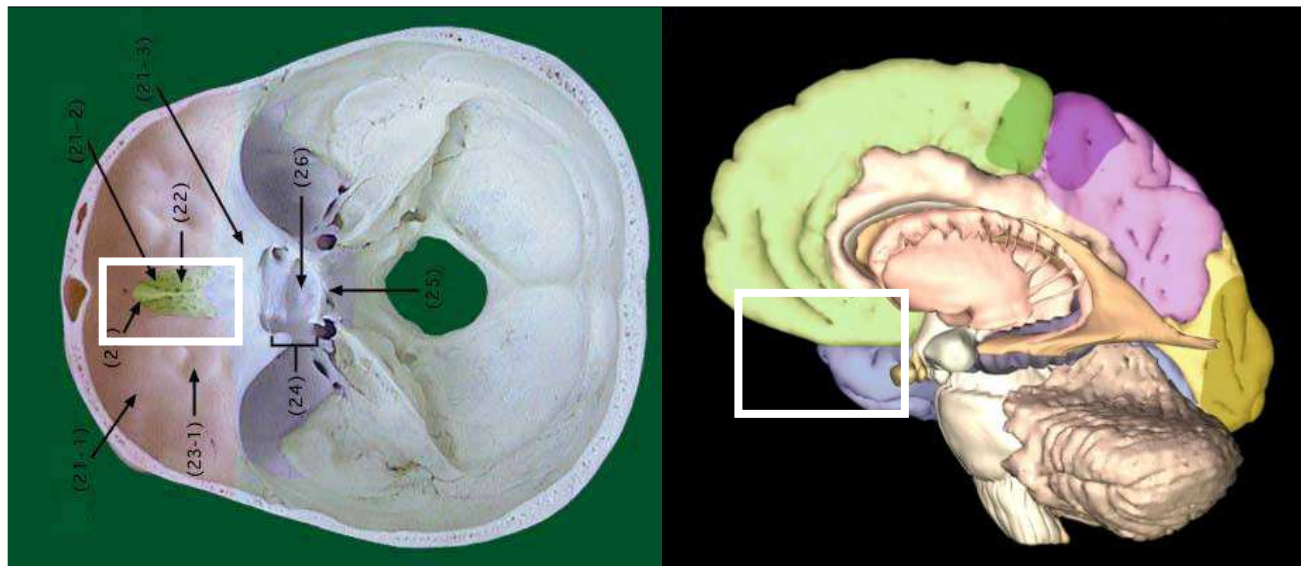


Archiv dr. Lubora Červy

PATOGENEZE PAME

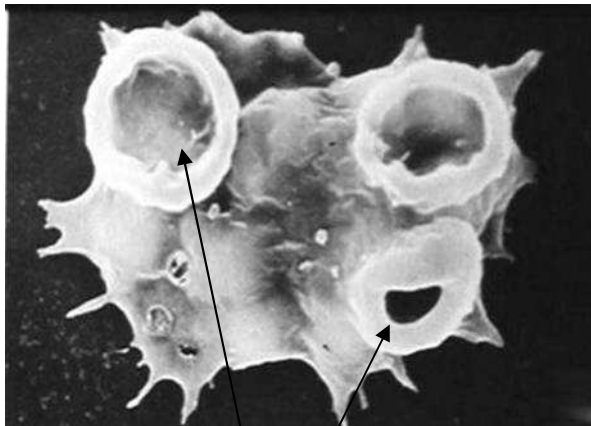


průnik přes lamina cribrosa do **bulbus olfactorius**

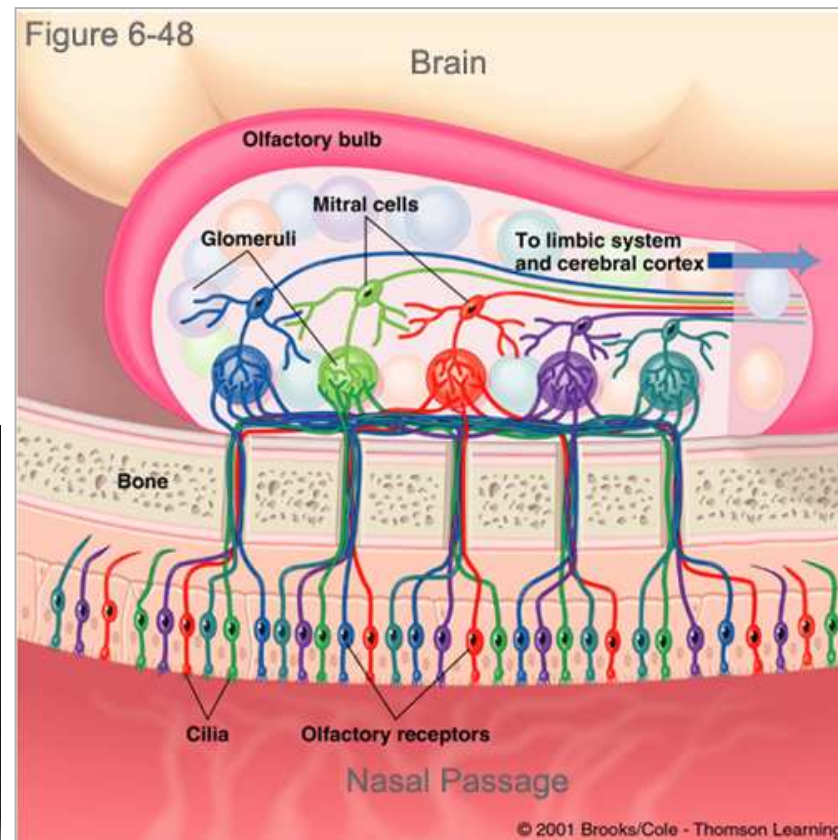


PATOGENEZE PAME

Průnik do mozku: **fagocytóza čichových buněk**



amoebostom



KLINICKÝ OBRAZ PAME

- **akutní hnisavý zánět mozkových blan** **imunokompetentních osob**
(klinicky nelze odlišit od hnisavé bakteriální meningoencefalitidy)
- **inkubační doba:** 3 – 7 dnů
- **fulminantní** (náhlý, rychlý začátek z plného zdraví)
- **horečka, meningeální příznaky** (prudká bolest hlavy, zvracení, ztuhlost svalů, precitlivělost na světlo, bradykardie, poruchy vědomí), **bezvědomí**
- **smrt:** za 3 – 7 dnů

vodítko:

OA: **koupání v oteplené sladké vodě krátce (několik dnů) před nástupem příznaků**

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA PAME

Přímý průkaz

MATERIÁL

intra vitam

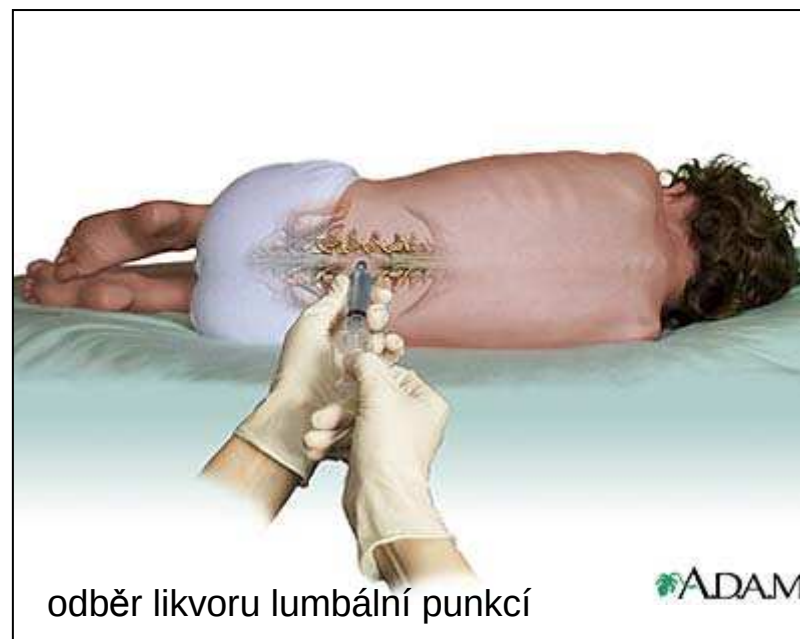
čerstvý mozkomíšní mok
nesmí přijít do lednice!!!

post mortem

vzorek mozkové tkáně

METODA

- mikroskopie
- kultivace



odběr likvoru lumbální punkcí

Zdroj obr.: medicalimages.allrefer.com/large/lumbar-puncture - upraveno

Mozkomíšní mok je **purulentní**:

PMN, makrofágy (málo lymfocytů, eosinofilů)

bílkovina >

glukóza <

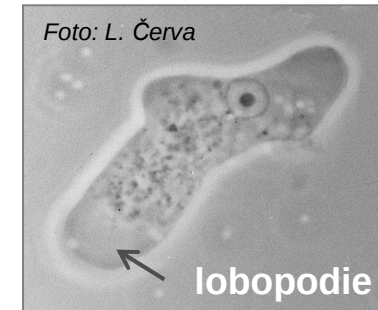
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA PAME

Intra vitam:

- **mikroskopie**

nativní preparát z čerstvého moku:

v moku pouze **améboidní trofozoity!!! NE cysty**
odlišení neglerií x jiné pohyblivé buňky: zředění moku vodou 1:1



- **kultivace**

agarová plotna (nevýživný agar) potřená tepelně usmrcenou suspenzí bakterií

(*Enterobacter*, *Escherichia*)

teplota: 37°C

po 24 hod.: **améboidní trofozoity** (později **cysty**)



Foto: E. Nohýnková

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA PAME

Post mortem:

- v mozku pouze **trofozoity!!!**
NE cysty
- rozhodující: morfologie jádra
- lokalizace naeglerií v mozku:
často podél cév (angiotropismus)

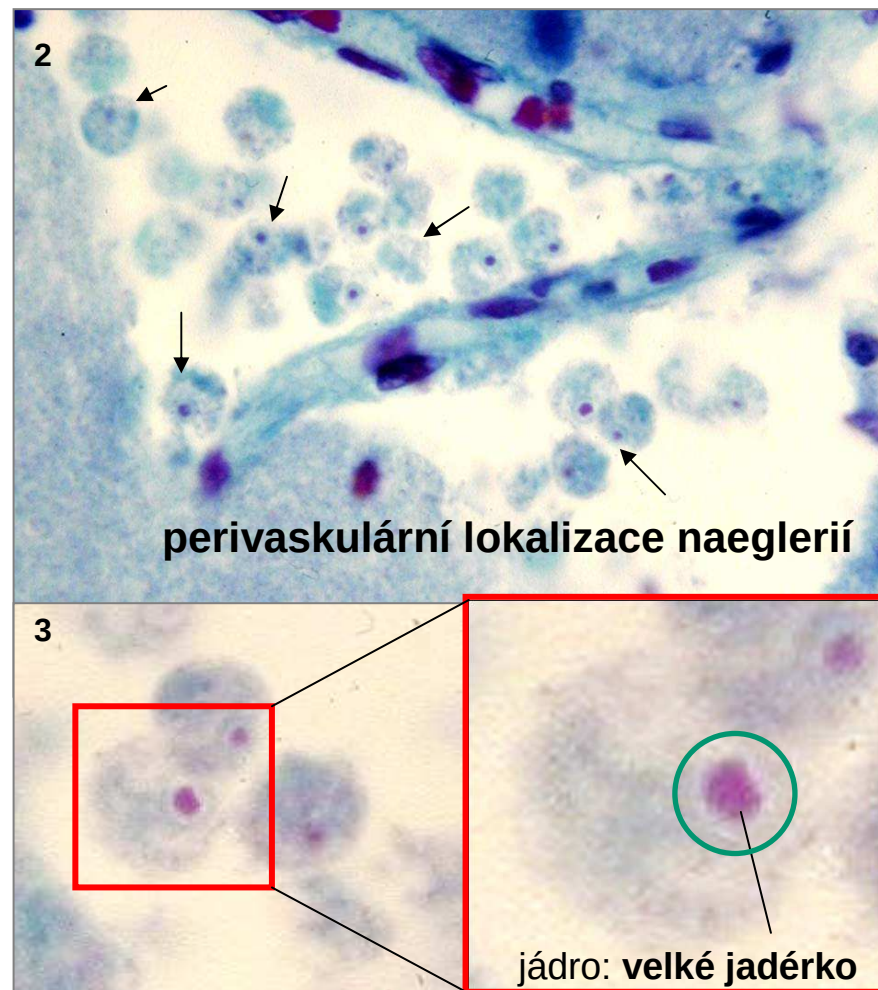


Foto 1-3: E. Nohýnková

TERAPIE PAME

5 vyléčených případů

Amfotericin B (i.v.+intratékálně)

+ Rifampin (p.o.)

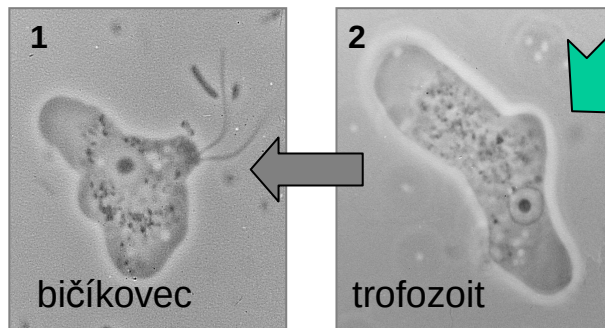
+ Mikonazol (i.v.+intratékálně)

IZOLÁTY Z PROSTŘEDÍ: determinace *Naegleria fowleri*

- termální bazény
- plavání kojenců a batolat

vzorek z prostředí

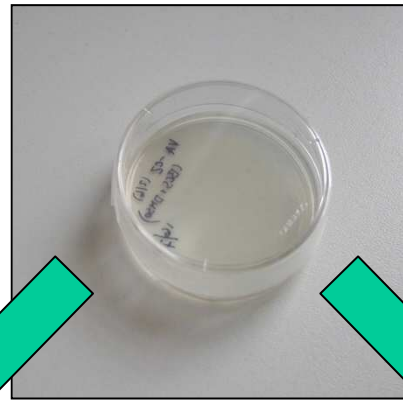
- kultivace při 37°C
- kultivace při 42°C



H₂O

Foto 1,2: L. Červa

flagelární test
= rod *Naegleria*



intranasální inokulace myši

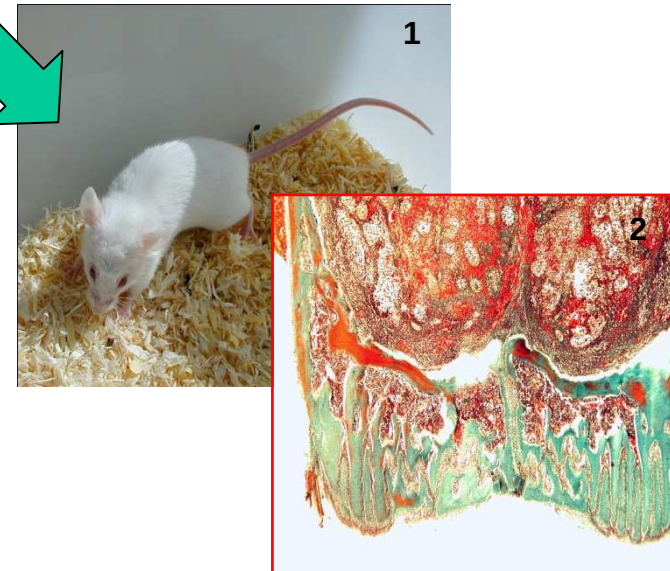


Foto 1, 2: E. Nohýnková

***Acanthamoeba* spp.**

- **nejběžnější volně žijící prvoci**
- **původci**
 - **ložiskové amébové encefalitidy**
(GAE = granulomatózní amébová encefalitida) imunodeficitních osob
 - kožní nákazy
 - **akantamébové keratitidy (AK)**

AKANTAMÉBY

- kosmopolitní
- všudypřítomné

výskyt:

půda, prach, vzduch

voda

sladká

přírodní, upravená (bazény), kaly,
sedimenty, ventilační potrubí,
vodovodní, balená

mořská

kontaminace *in vitro* kultur bakterií, kvasinek, savčích tkáňových buněk
isolovány:

z **vegetace**

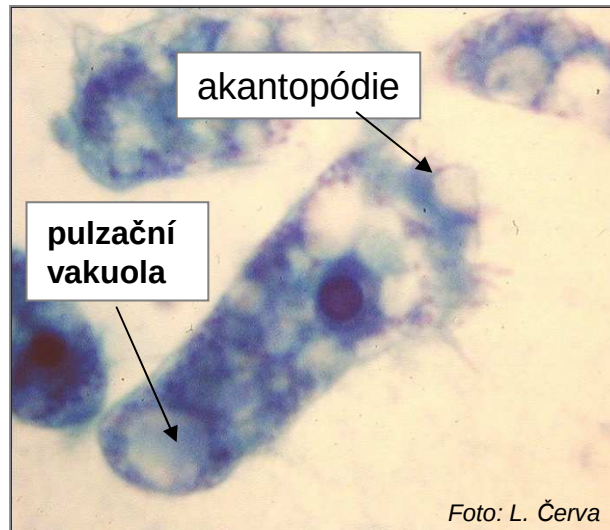
z orgánů některých **zvířat** (ryby, plazi, obojživelníci)

z **nosní sliznice zdravých osob**

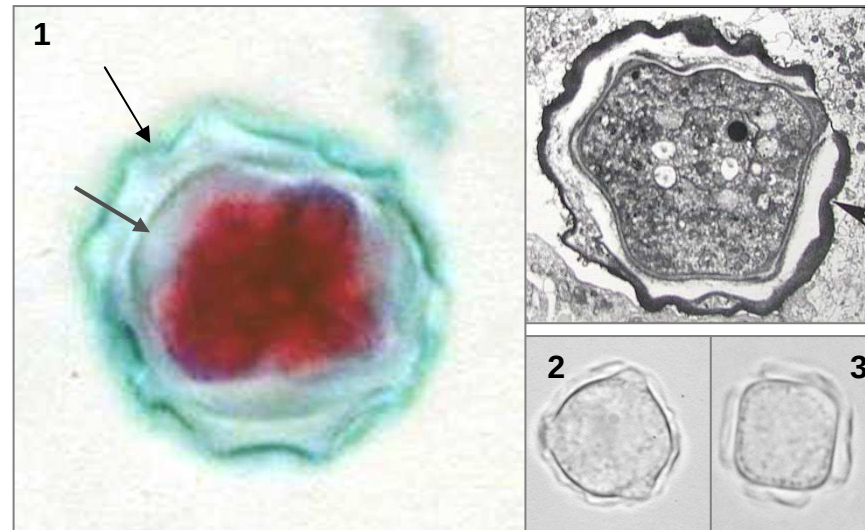
ORGANISMUS

Acanthamoeba

v životním cyklu se střídají **2 stádia**



TROFOZOIT



CYSTA

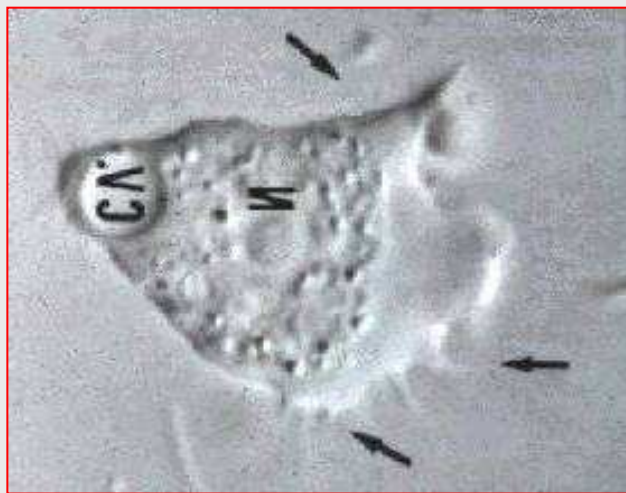
dvouvrstevná stěna cysty

zodpovědná za **značnou odolnost**
k vlivům vnějšího prostředí

- vyschnutí
- dezinfekční látky
- léky

Zdroj obr.: Marciano-Cabral F., Puffenberger R.,
Cabral G. (2000). J Euk Microbiol 47:29-36

ŽIVOTNÍ CYKLUS



trofozoit

- druhově nerozlišitelné

nepříznivé
podmínky



příznivé
podmínky



cysta

- druhově rozlišitelné

GRANULOMATÓZNÍ AMÉBOVÁ ENCEFALITIDA (GAE)

EPIDEMIOLOGIE

- „přenos“: náhodný
 - zdroj nákazy: ?
 - brána vstupu:
 - **kůže** (oděrky, kontaminace)
 - **dolní cesty dýchací** (po vdechnutí cyst)
 - čichová sliznice (po vdechnutí cyst):
- } hematogenní rozsev do CNS
- přímý vstup do CNS

EPIDEMIOLOGIE GAE

- kdo se nakazí

osoby s výrazným imunodeficitem (GAE = oportunní nákaza)

- primárním
- sekundárním (nádorová, autoimunitní onemocnění, AIDS, diabetes, ...)

rizikové faktory:

- užívání širokospektrých antibiotik
- užívání steroidů
- protinádorová léčba
- ozařování, alkoholismus

- prevalence: **velmi vzácné onemocnění**

2007: odhadem 200 případů, z nich 5 přežilo

KLINICKÝ OBRAZ GAE

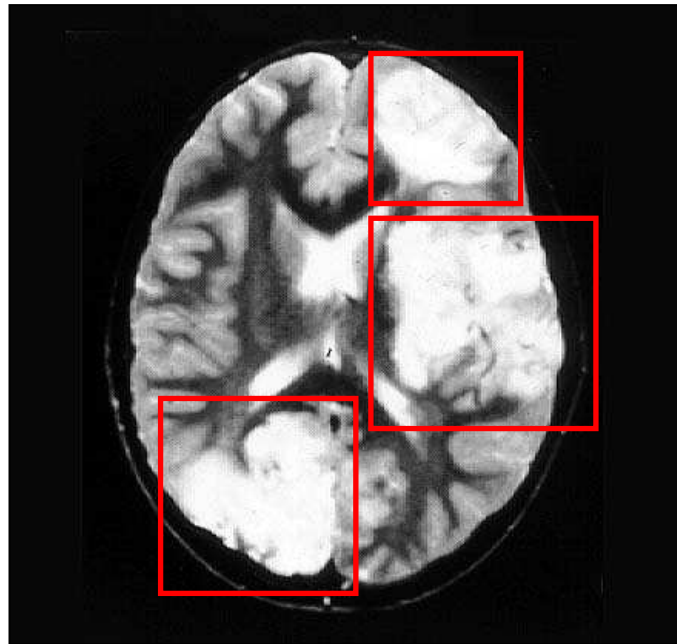
- **chronický ložiskový zánět mozku imunodeficitních osob**
- **inkubační doba:** není známá (pomalý rozvoj příznaků), týdny - měsíce
- **plíživý nástup**
- bolest hlavy, zmatenost, závratě, nevolnost, zvracení, horečka, **hemiparézy, epilepsie, halucinace, poruchy spánku, vědomí, letargie**
- **bezvědomí, smrt**

DIAGNOSTIKA GAE

Acanthamoeba

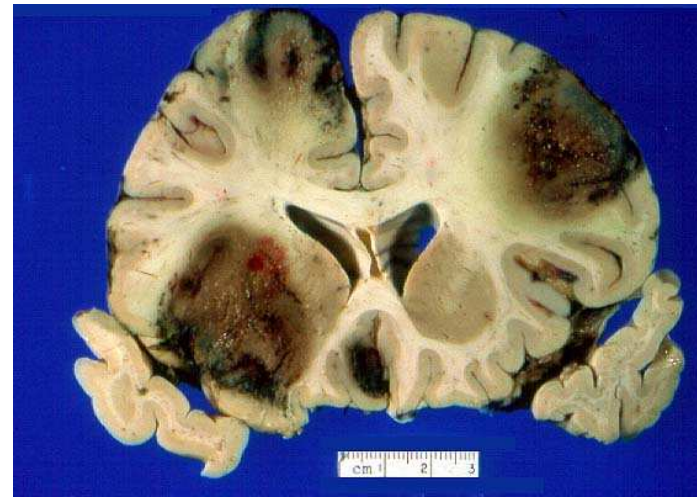
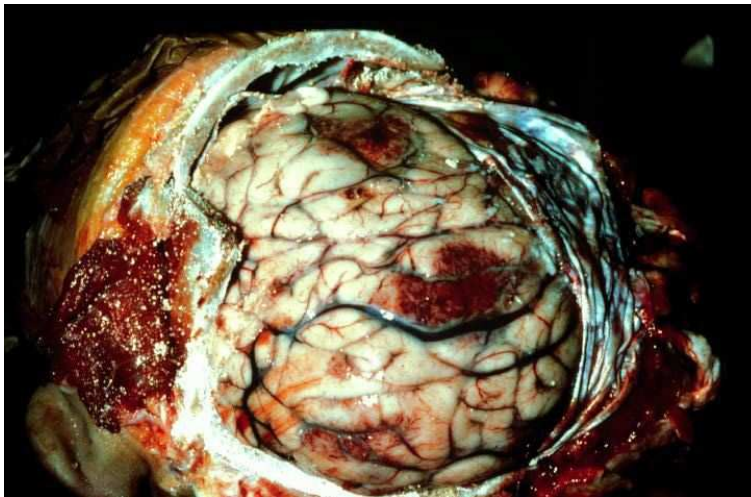
ZOBRAZOVACÍ METODY (CT, MRI):

průkaz **ložisek v mozku** (ložiskové hemoragické nekrózy)



DIAGNOSTIKA GAE

Post mortem



*Zdroj obr.: Marciano-Cabral F., Cabral G. (2003).
Clin Microbiol Rev 16:273-307*

Acanthamoeba

INFEKCE KŮŽE

KLINICKÝ OBRAZ



chronické, nehojící se vředy

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Acanthamoeba

Přímý průkaz

MATERIÁL

intra vitam

- **bioptát** (punkce ložiska v mozku, kůže)
- (mozkomíšní mok)

post mortem

- vzorek tkáně z ložiska (mozek, kůže)

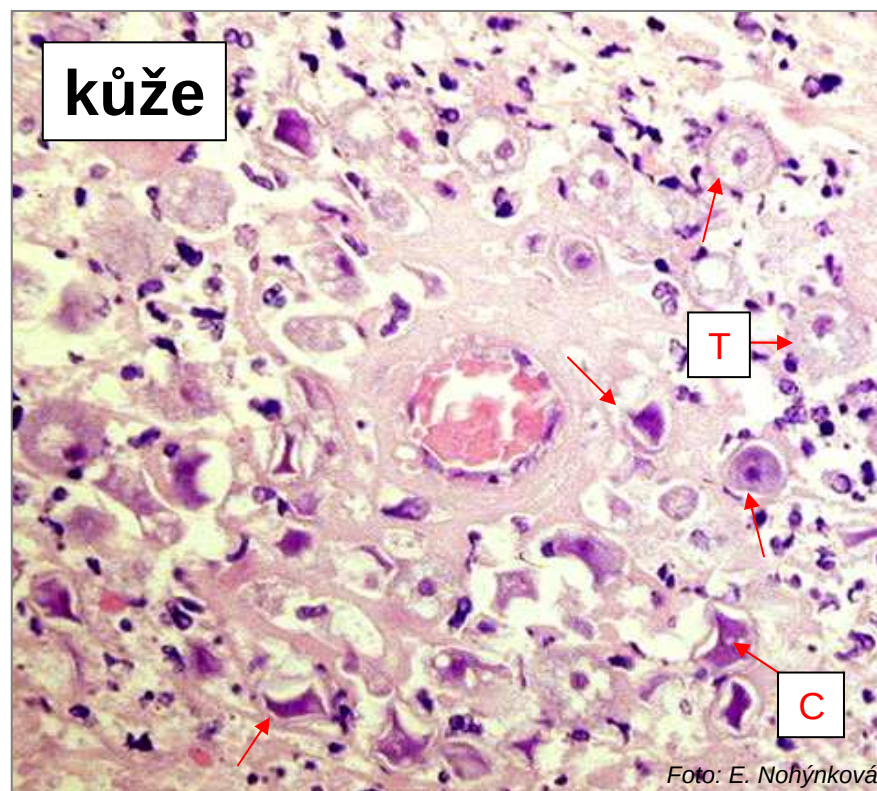
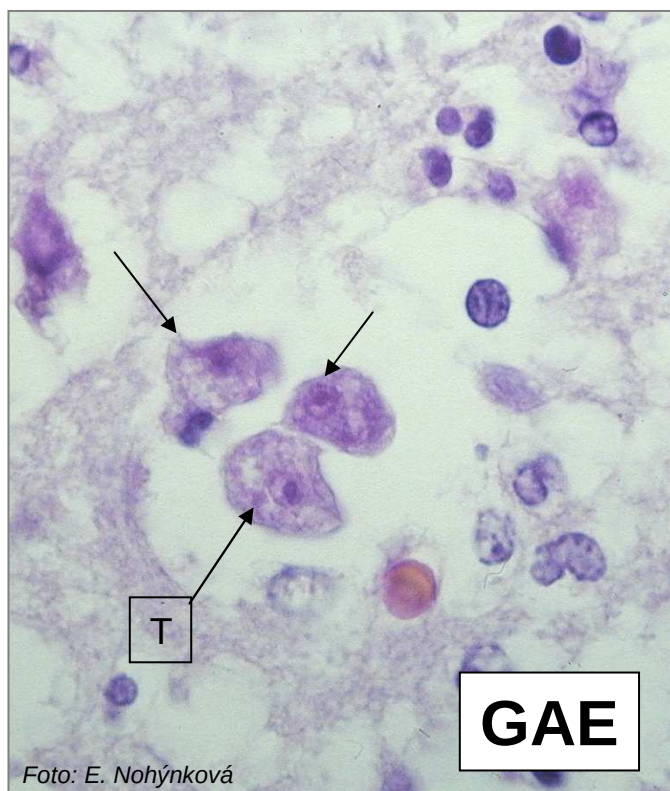
METODY

- **kultivace** (agarové plotny jako *N. fowleri*)
- histologické zpracování tkáně
- nepřímá imunofluorescence (IFAT)
- PCR



stereotaktická biopsie

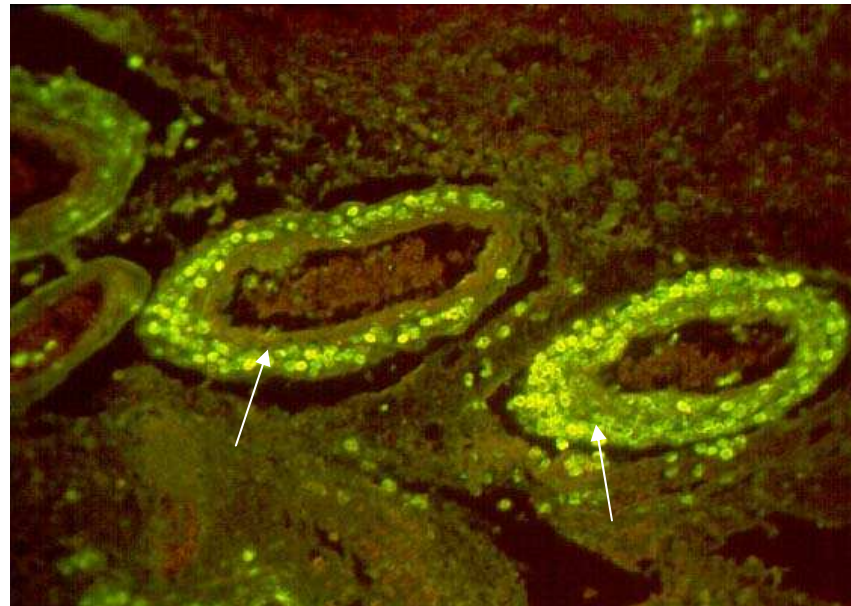
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA



Histologické řezy
ve tkáních (mozek, kůže) obě stádia akantaméb: **trofozoity i cisty**

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

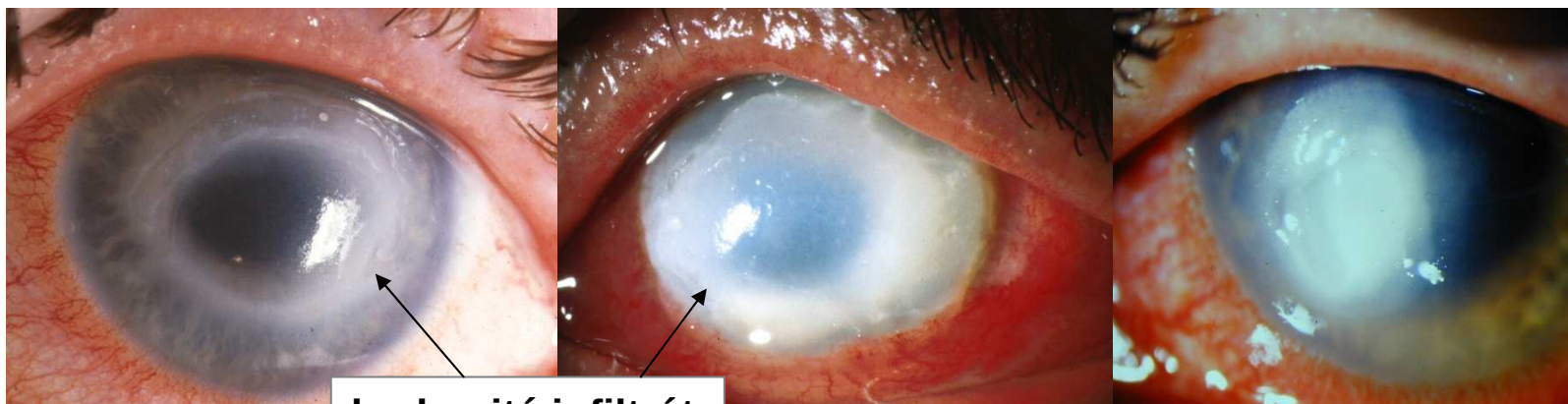
**NEPŘÍMÁ IMUNOFLUORESCENCE
s protilátkou specifickou pro *Acanthamoeba***



AKANTAMÉBOVÁ KERATITIDA (AK)

KLINICKÝ OBRAZ

- chronický zánět rohovky **imunokompetentních osob (?)**
- ohrožuje zrak
- zpravidla velmi bolestivý, **ne nutně!**



kruhovitý infiltrát
ve stromatu

Zdroj obr.: Oční klinika VFN

- léčení obtížné, dlouhodobé, transplantace rohovky

EPIDEMIOLOGIE AK

rizikové faktory

- nošení kontaktních čoček (80%)
- poranění oka (20%)

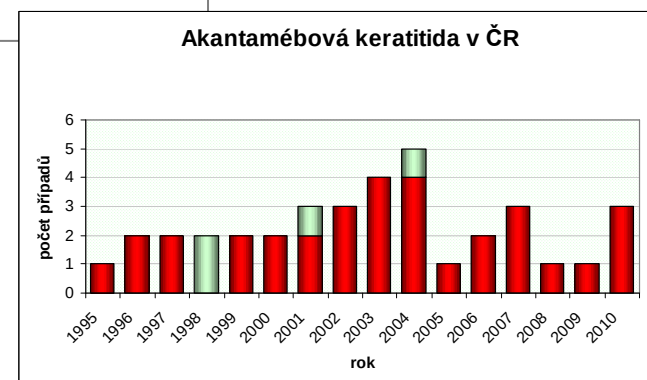
1974 **3 první případy** (Velká Británie a USA)
~ 1985 **měkké kontaktní čočky >>**
1985 - 1995: > **1000** případů
2004 > 3000 případů
2005-7 nárůst v USA



Zdroj obr.:
www.6thsenselondon.com/.../03/contact-lens.gif

ČR

1995: 1. případ
ročně: ~ **3 případy** (KČ: 35/39)



Zdroj: NRL pro oportunní parazitární nákazy

EPIDEMIOLOGIE AK

přenos: KČ slouží k přenosu akantaméb na povrch rohovky

- nošení kontaktních čoček
- poranění oka
- abraze rohovky (experimentální AK)



**trauma
epitelových buněk rohovky**



Foto: E. Nohýnková

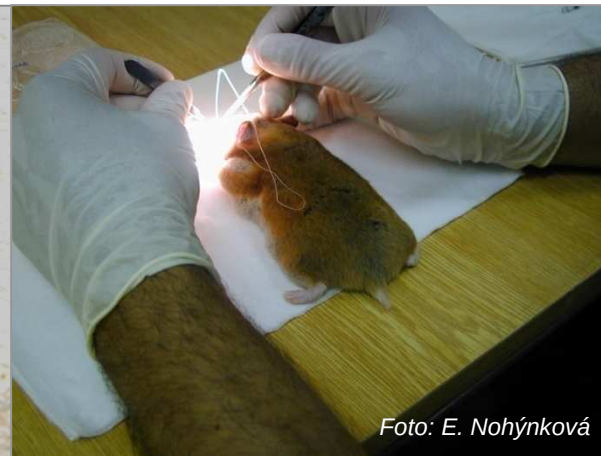
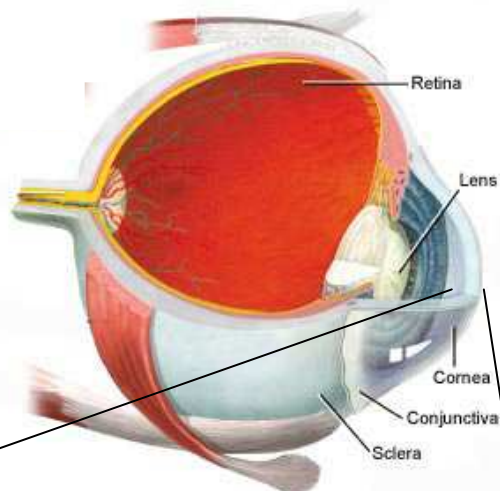


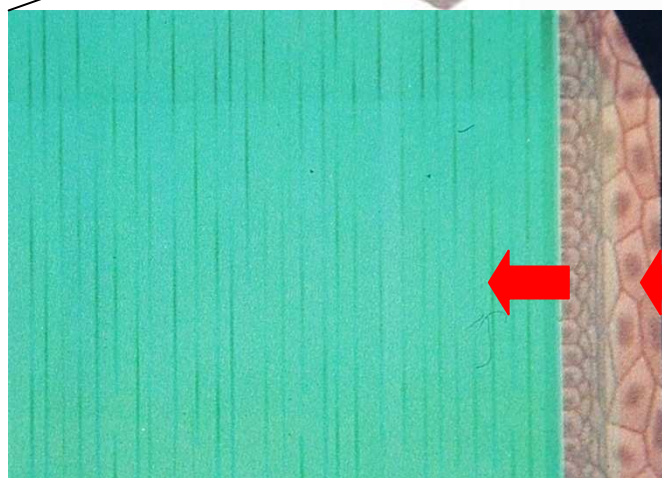
Foto: E. Nohýnková

PATOGENEZE AK

Zdroj obr.: "Eye Image" 16 May 2007.
HowStuffWorks.com. <<http://healthguide.howstuffworks.com/eye-picture-a.htm>>
09 November 2010

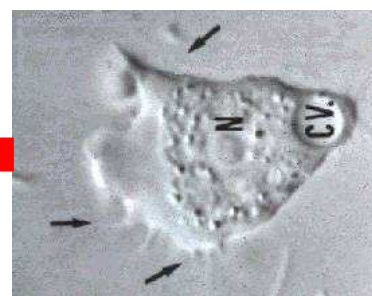


- adheze k povrchu rohovky
- průnik epitelem a bazální membránou
- průnik do stromatu



stroma

epitel





Trofozoity akantaméb se ve stromatu rohovky transformují v **cysty**

25% případů AK: po ukončení léčby **relaps klinicky manifestní nákazy.**

Acanthamoeba

AKANTAMÉBOVÁ KERATITIDA: 1-2 případy / milion nosičů KČ

U většiny nosičů kontaktních čoček nedojde k nákaze (x ? k rozvoji)

OBRANA ??? PŘIROZENÁ IMUNITA ?

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AK

Přímý průkaz

MATERIÁL:

- **seškrab z vředu**
- část rohovky
- kontaktní čočky
- roztok z pouzdra

METODA:

- mikroskopie (nativ, barvení)
- **kultivace**
- PCR

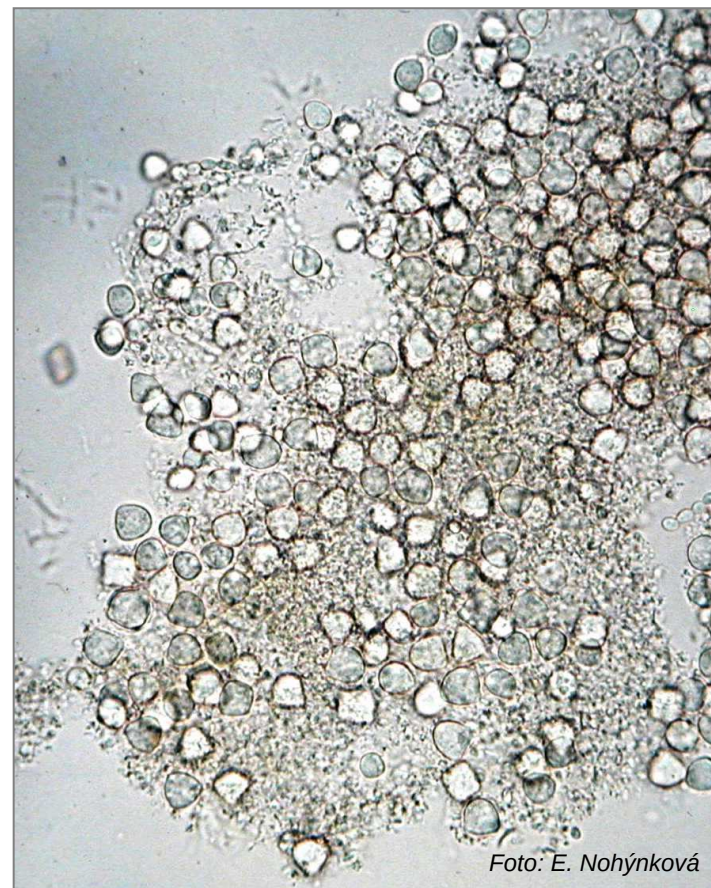


Foto: E. Nohýnková

nativní preparát z pouzdra na KČ:
cysty

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AK



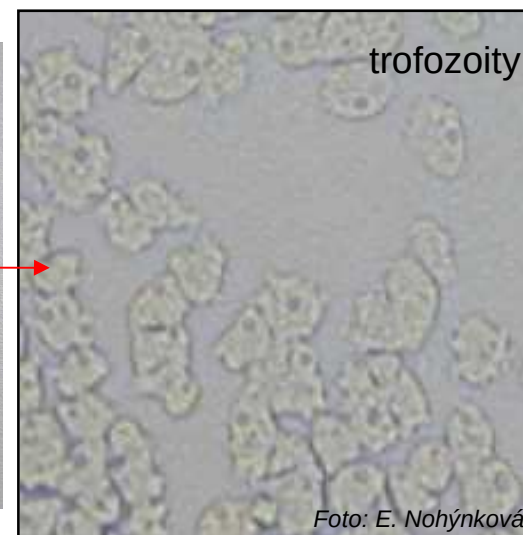
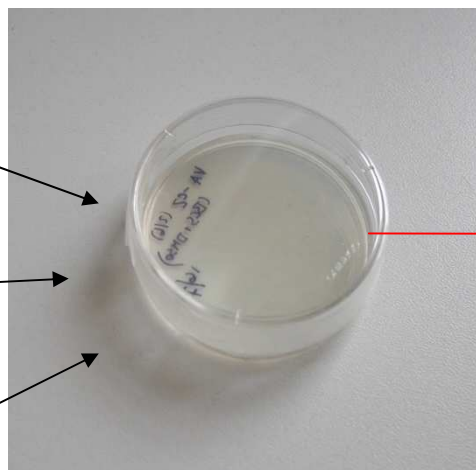
seškrab z vředu

část rohovky

kontaktní čočky
roztok z pouzdra



Kultivace



trofozoity

Foto: E. Nohýnková

28°C/2-7 dnů: **trofozoity, cysty**

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AK

Barvení cyst akantaméb **optickými běliči** (Calcofluor)

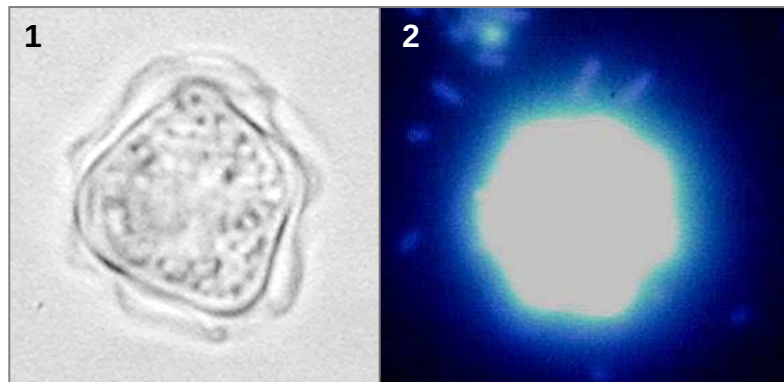


Foto 1,2: E. Nohýnková

PRINCIP:
vazba běliče na celulózu ve stěně cysty
fluorescence ve světle
s krátkou vlnovou délkou ~ 360 nm

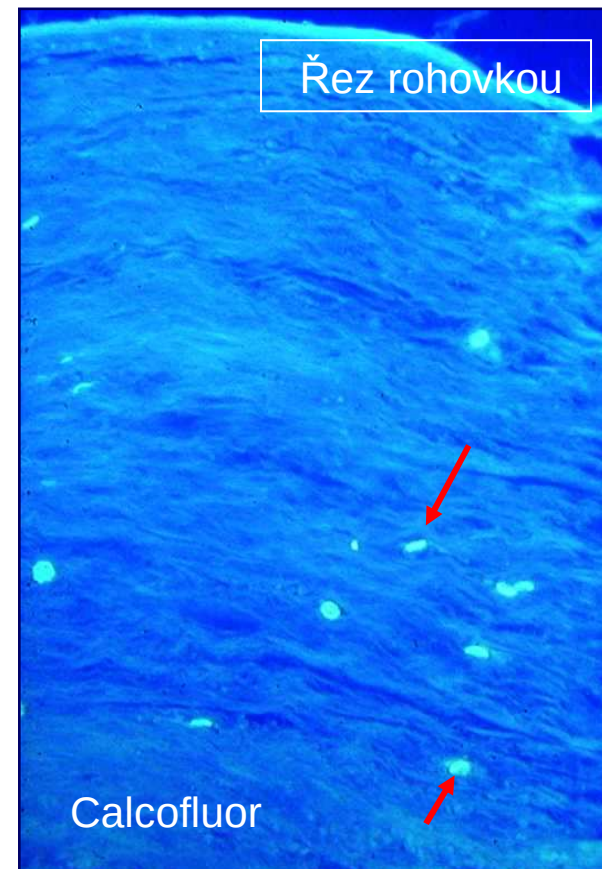
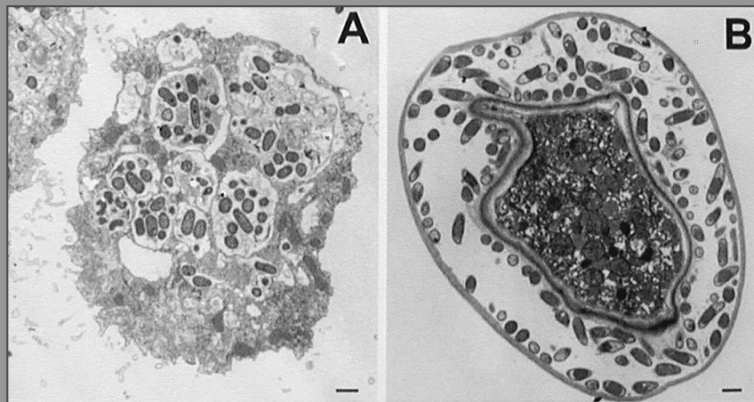


Foto: E. Nohýnková

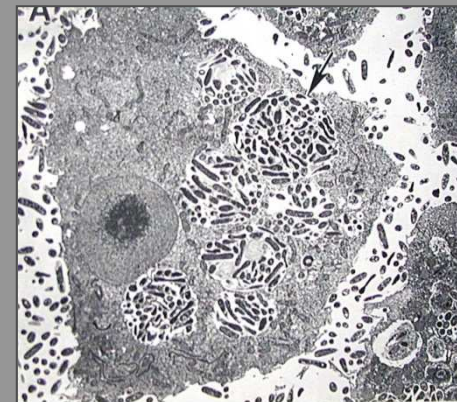
INTERAKCE AKANTAMÉB S BAKTERIEMI

akantaméby

- přirozené prostředí pro bakterie
- možný **rezervoár bakterií patogenních pro člověka**



Zdroj obr.: Marciano-Cabral F., Cabral G. (2003).
Clin Microbiol Rev 16:273-307



Legionella pneumophila

Zdroj obr.: Marciano-Cabral F., Puffenbarger R.,
Cabral G. (2000). *J Euk Microbiol* 47:29-36

Balamuthia mandrillaris

- půdní, nutričně náročná améba
- původce **ložiskové amébové encefalitidy (GAE)**
 - imunokompetentních osob (**děti**, dospělí)
 - osob s imunodeficitem (dospělí)

***Balamuthia mandrillaris* a GAE**

Historie

- 1986:** kočkodan (USA) †
- 1989:** **1. případ infekce člověka (USA: AIDS) †**
- 1993:** jméno: *Balamuthia mandrillaris*
- 1995:** 60 případů (S.+J. Amerika, Austrálie, Asie)
1. případ v Evropě (ČR) - dítě 3,5 roku †
- 2003:** **balamutie izolovány z přírody**
- 2008:** ~ 150 případů, z toho asi 1/3 děti



Balamuthia mandrillaris

ORGANISMUS

v životním cyklu se střídají 2 stádia

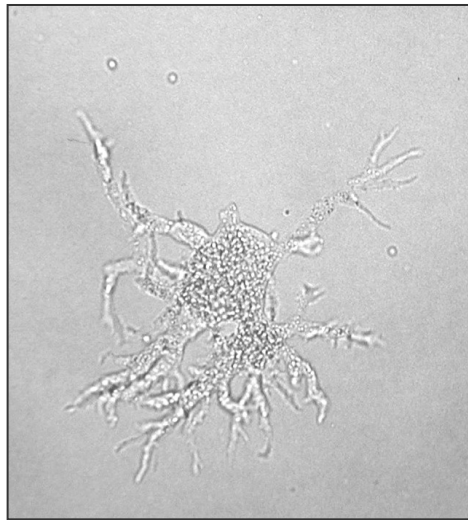
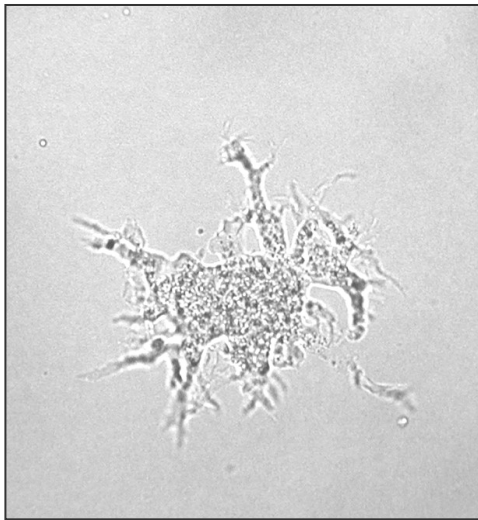
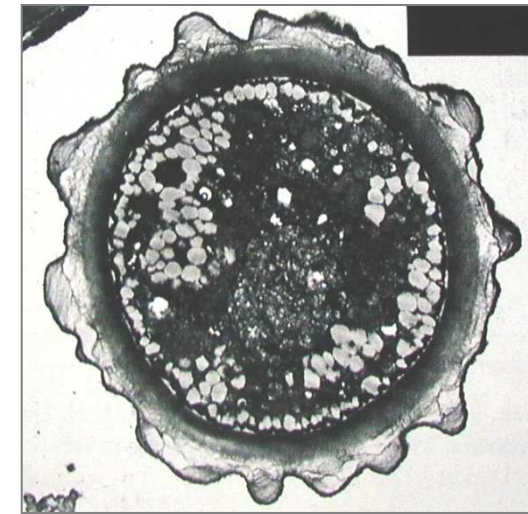


Foto: E. Nohýnková

TROFOZOIT

améboidní, velmi morfologicky variabilní
nutričně náročný (živí se jinými amébami, houbami)



Zdroj obr.: Visvesvara GS, Schuster FL,
Martinez AJ (1993). J Euk Microbiol 40:504-514

CYSTA

velmi odolná
třívrstevná stěna cysty

EPIDEMIOLOGIE GAE

- **výskyt:** kosmopolitní
- **jak se člověk nakazí:** brána vstupu

- • **kůže** (poraněná?)
- • sliznice horních dýchacích cest

} **hematogenní rozsev do mozku**

- • transplantace orgánů (USA)

Kůže:

11 případům GAE předcházely

- nekrotizující kožní léze
- chronické (9 – 24 měsíců)
- bez průkazu infekčního původu

Revize histologických preparátů

z kožních lézí: *Balamuthia mandrillaris*



Zdroj obr.: Read RP et al. (1997).
Med. J. Aust. 167(2): 167-4

Zdroj obr.: Pritzker AS et al. (2004). Fatal granulomatous amebic Encephalitis caused by *Balamuthia mandrillaris* presenting as a skin Lesion. J Am Acad Dermatol 50:S38-41

EPIDEMIOLOGIE GAE

- zdroj nákazy: zemina, ??? (!!! transplantovaný orgán)
- kdo se nakazí
 - • **dospělé osoby** (18 – 72 let)
s imunodeficitem i bez prokázaného imunodeficitu
 - • **děti** (0.3-14 let): **bez prokázaného imunodeficitu**
- prevalence: **velmi vzácná nákaza**
 - ~ 150 případů (z toho asi 1/3 děti), z nich 7 pacientů přežilo

hispánské etnikum

KLINICKÝ OBRAZ GAE

- **subakutní až chronický ložiskový zánět mozku**
 - inkubační doba: ? týdny – 2 roky
 - příznaky: nespecifické
 - bolest hlavy, změny v chování (postižení mozku),
 - horečka, zánět středního ucha, zvracení
- nákaze mozku může (ale nemusí!) předcházet chronická kožní léze, která nereaguje na léčbu

KLINICKÝ OBRAZ GAE

Chronická nebolestivá kožní léze

trvání: měsíce - 2 roky

lokalizace: nejčastěji ve středové oblasti obličeje, ale i na končetinách



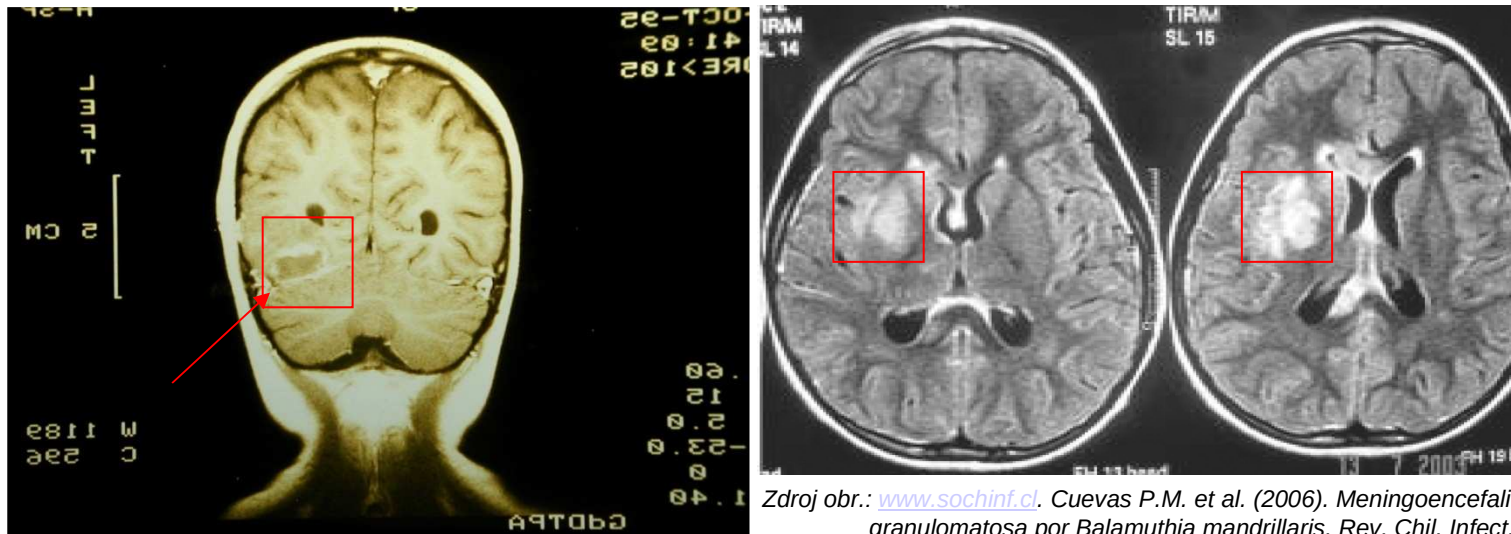
Zdroj obr.: Seas RC, Bravo PF (2006).
Rev Chil Infect 23(3):197-199

Zdroj obr.: Martínez DY et al. (2010). Successful treatment of *Balamuthia mandrillaris* amoebic infection with extensive neurological and cutaneous involvement. CID 51:e7-e11

DIAGNOSTIKA GAE

ZOBRAZOVACÍ METODY

průkaz **ložiska** (1- několik) v mozku



Zdroj obr.: www.sochinf.cl. Cuevas P.M. et al. (2006). Meningoencefalitis granulomatosa por *Balamuthia mandrillaris*. Rev. Chil. Infect. 23:237-242

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA GAE

MATERIÁL

intra vitam:

- **bioptát** (punkce ložiska v mozku)
- (mozkomíšní mok)

post mortem:

- sekční materiál (vzorek tkáně z ložiska)

METODY

- **kultivace** (kultura **tkáňových buněk**)
- histologie (pomocný znak: **2-3 jadérka v jádře !!!**)
- nepřímá imunofluorescence (**protilátka specifická proti B.m.**)
- PCR

Balamuthia mandrillaris

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA GAE

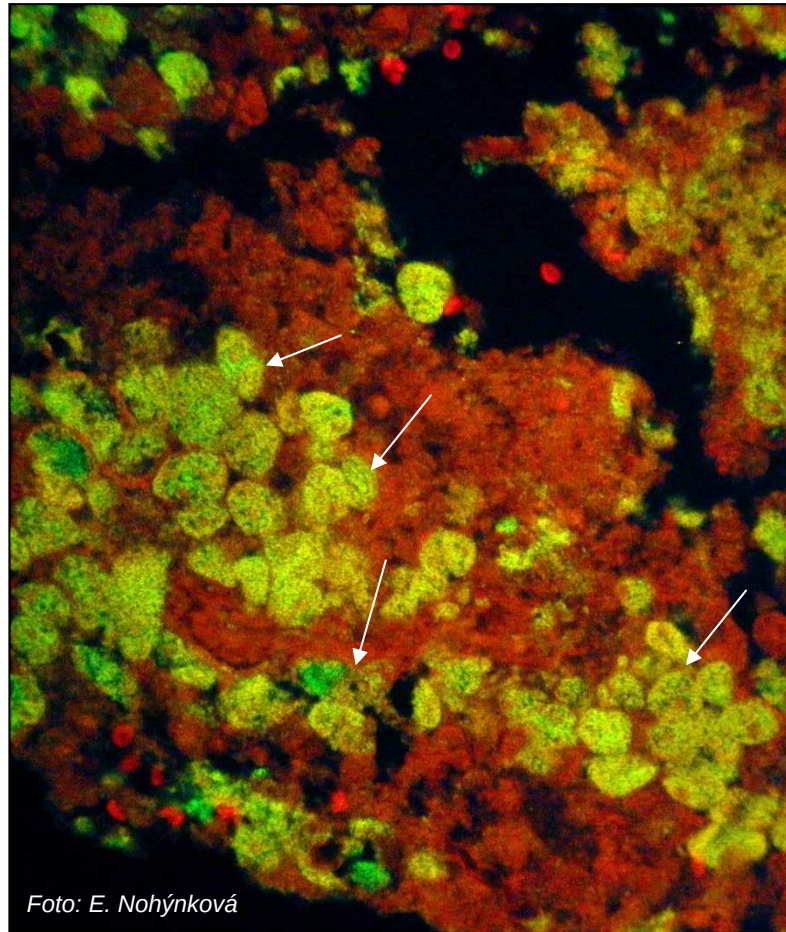


Foto: E. Nohýnková

Nepřímá imunofluorescence s protilátkou specifickou pro *Balamuthia mandrillaris*

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA GAE

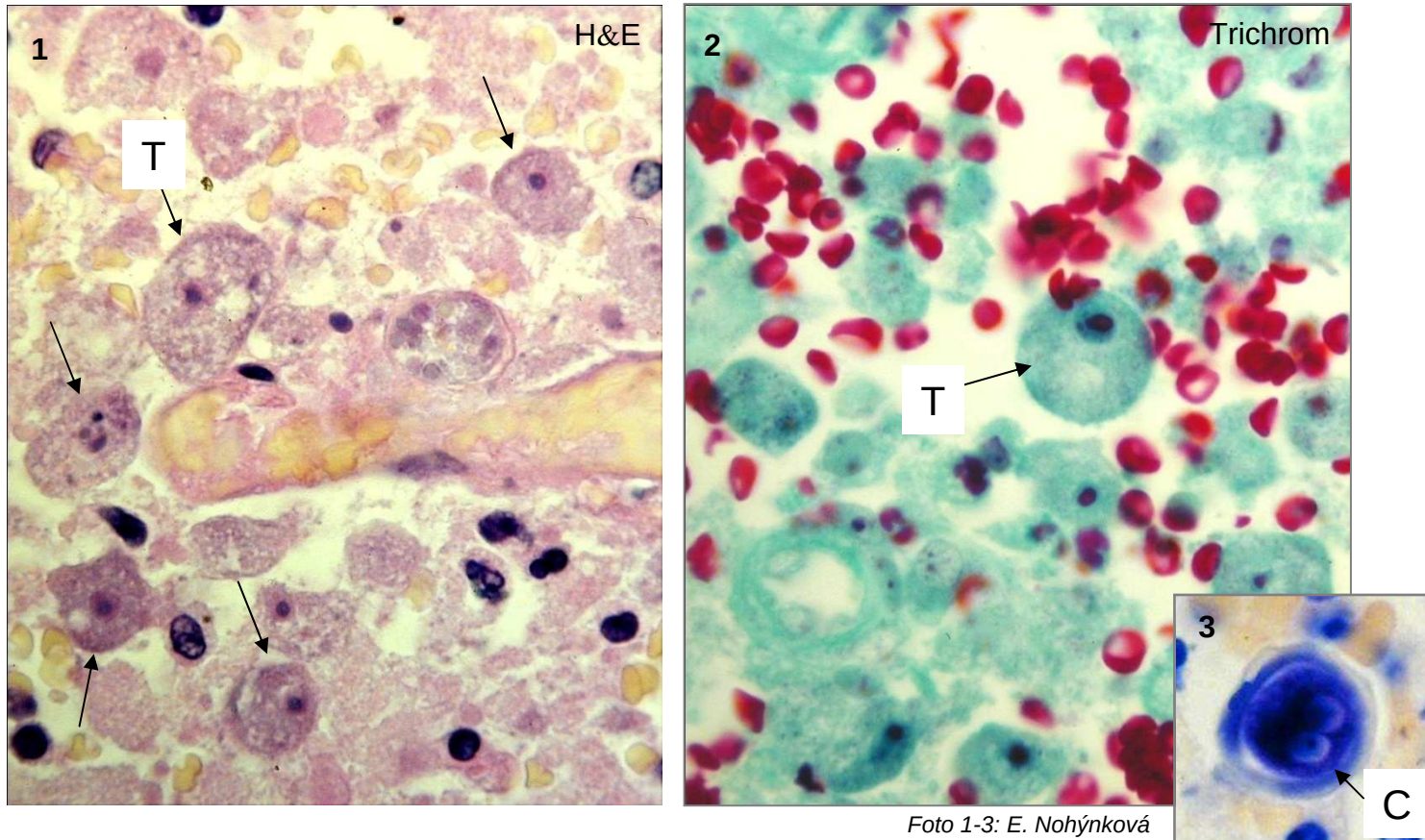


Foto 1-3: E. Nohýnková

Histologické řezy
ve tkáních obě stádia balamutií: **trofozoity** i **cysty**

PŘÍPADY PAME A GAE VE SVĚTĚ (zdroj: CDC 2000): **VELMI VZÁCNÉ**

	PAME	GAE	GAE		PAME	GAE	GAE
	<i>Nf</i>	<i>Ac</i>	<i>Bm</i>		<i>Nf</i>	<i>Ac</i>	<i>Bm</i>
Argentina	0	0	1	Nigérie	4	1	0
Austrálie	19	1	5	Panama	1	0	0
Barbados	0	1	0	Peru	0	4	10
Belgie	5	0	0	Portoriko	1	0	0
Brazílie	5	2	1	Jihoafrická rep.	1	1	2
Kanada	0	4	1	Jižní Korea	0	1	0
Chile	0	0	1	Thajsko	5	1	4
Čína	0	2	0	Uganda	1	0	0
Kolumbie	0	2	0	Velká Británie	3	0	0
Kuba	1	0	0	USA	86	83	33
Česká republika	18	0	1	Venezuela	3	1	2
Guam	1	1	0	Zambie	0	1	0
Honduras	0	2	0				
Indie	9	3	0	AFRIKA	6	3	2
Itálie	0	1	0	EVROPA	26	1	2
Japonsko	1	2	1	ASIE	17	10	5
Mexiko	8	1	10	AUSTRÁLIE	27	1	5
Nová Guinea	1	0	0	SEV.AMERIKA	94	88	44
Nový Zéland	8	0	0	JIŽNÍ AMERIKA	11	12	15

ČR: NÁKAZY AMFIZOICKÝMI AMÉBAMI

PAME (*Naegleria fowleri*)
celkem: **18 případů**

1962-1965: 16 případů (8-25 let)

krytý plavecký bazén

Ústí n.L.: krytý plavecký bazén

1968: 1 případ (12 let/M)

Most: venkovní bazén

1984: 1 případ (11 let/M)

SČ: potok s vodou z chladicího
okruhu elektrárny

GAE (*B. mandrillaris*)
1 případ (EVROPA)

1995: 3.5 roku/M

Praha

zdroj nákazy a místo
vstupu neznámé



AK (*Acanthamoeba*)
celkem: **39 případů**

1995: 1. případ



KČ 80% případů
(ø věk: 29 let)