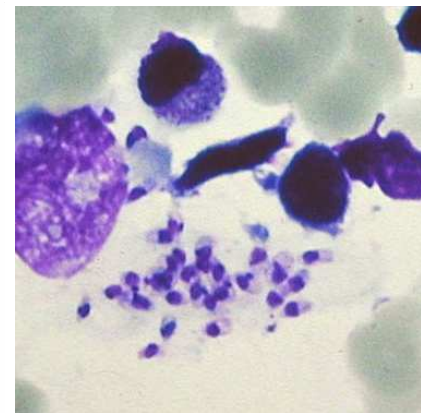


rod *Leishmania*



- parazitičtí bičíkovci
- intracelulární
- přenos krevsajícím hmyzem
- původci leishmanióz



LEISHMANIÓZY – široké spektrum klinických projevů



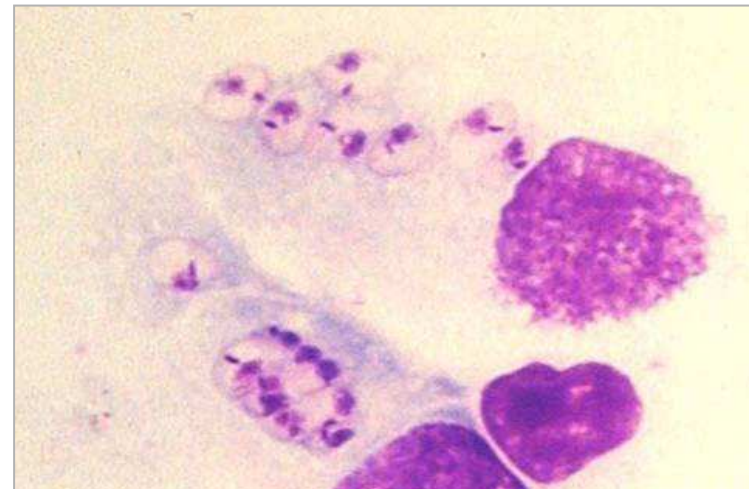
PŮVODCE: leishmanie tvoří **2 stádia**

promastigot (bičíkaté stádium)



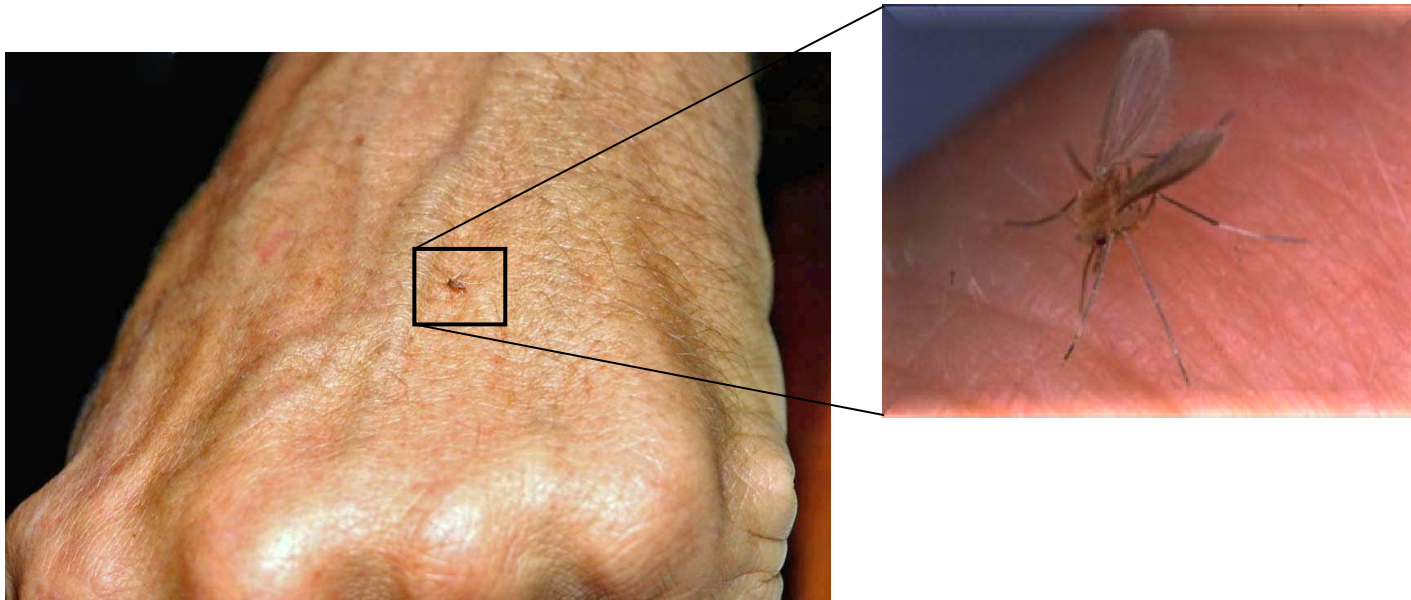
- extracelulární
 - ve střevě přenašeče
- infekční stádium**

amastigot (bezbičíkaté stádium)



- intracelulární
 - v buňkách savce (vč. člověka)
- patogenní stádium**

PŘENAŠEČ



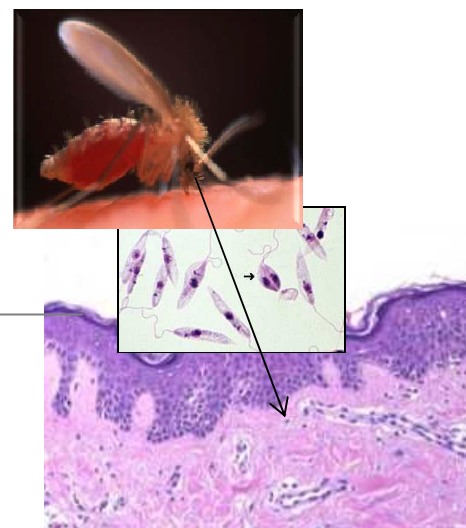
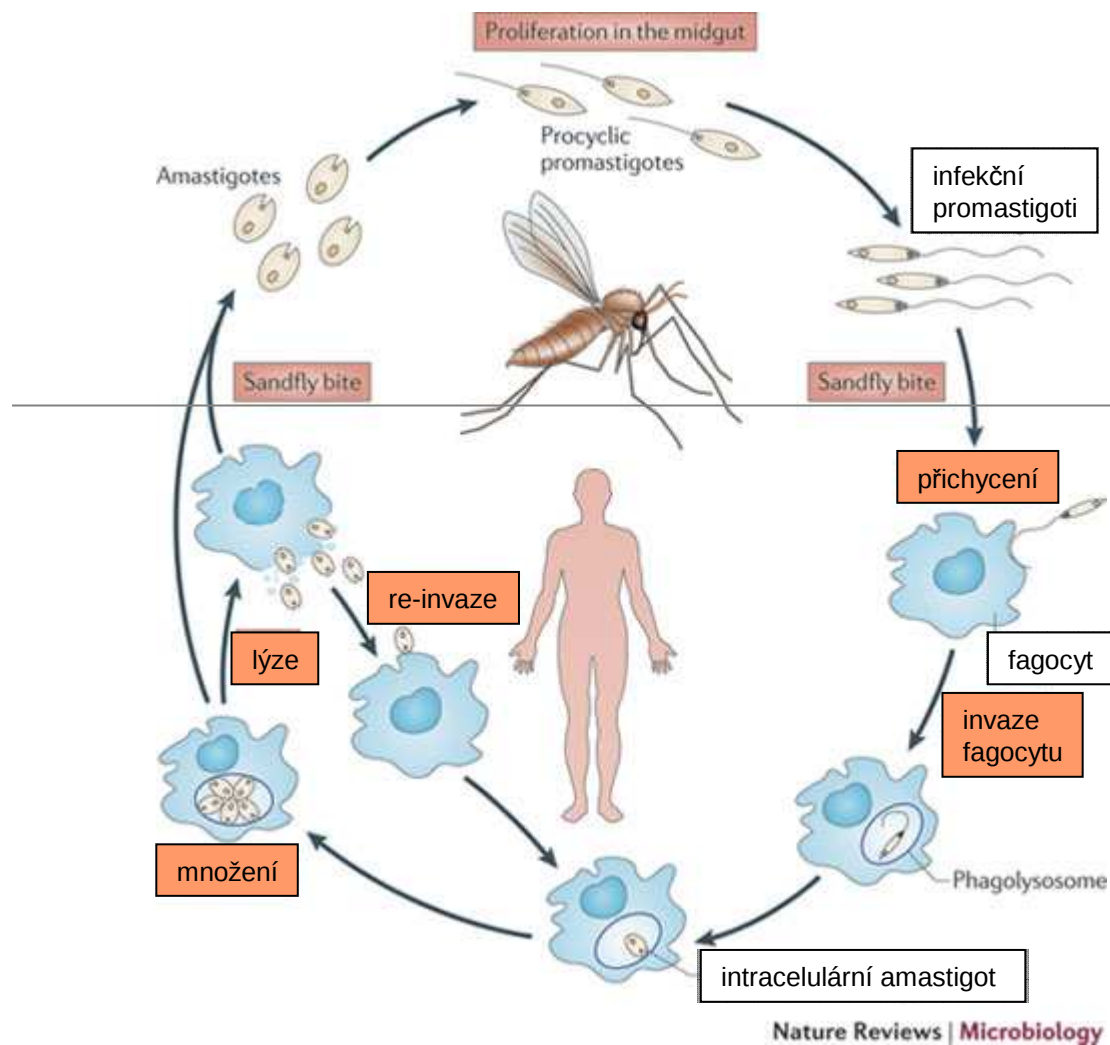
FLEBOTOMOVÉ

drobný dvoukřídle krevsající hmyz (2-3 mm)

přenašeči: pouze samičky

- aktivní po západu slunce a v noci
- létají při zemi a tiše

PŘENOS: INOKULATIVNÍ během sání krve



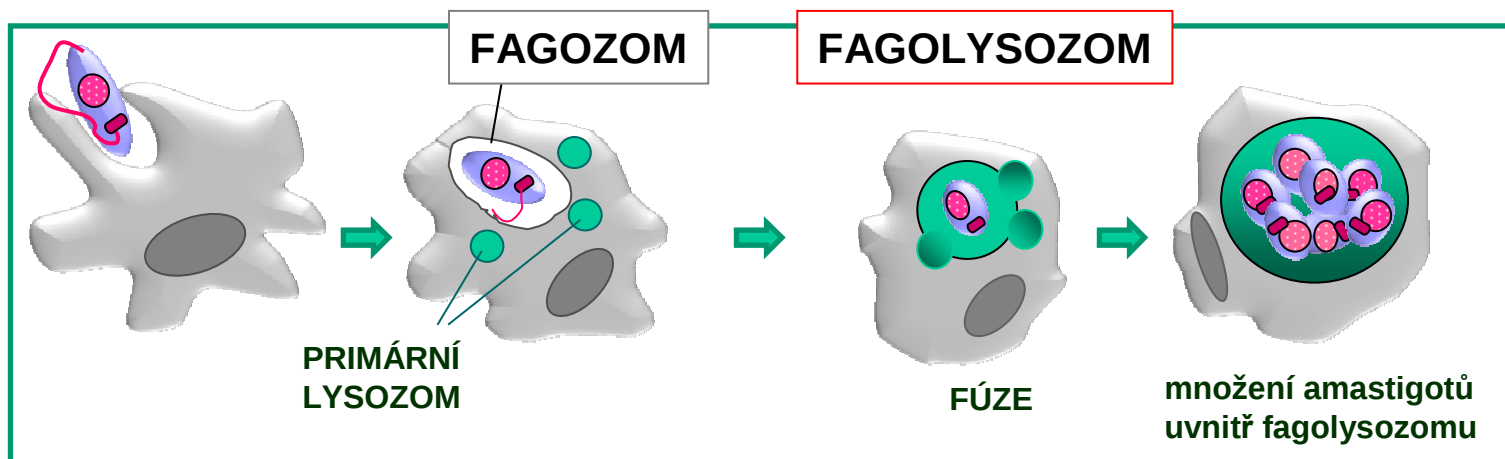
do kůže:

- infekční promastigoti
- vnikají do fagocytů
- uvnitř přeměna na amastigoty
- množení amastigotů
- lýze fagocytu
- infekce dalších fagocytů

LEISHMANIE: INTRACELULÁRNÍ PARAZITI FAGOCYTŮ

profesionální fagocyty

- dendritické buňky (Langerhansovy)
 - neutrofily (velmi krátká doba v cirkulaci)
 - monocyty – **makrofágy**
-
- vstup do buňky: stimulovaná fagocytóza (inhibice respiračního vzplanutí)
 - lokalizace: ve fagozomu
 - množení: ve fagolysozomu (rezistence k účinku proteolytických enzymů a kyselému pH)
 - uvolnění z infikované buňky, infekce dalších makrofágů



LEISHMANIE: INTRACELULÁRNÍ PARAZITI FAGOCYTŮ

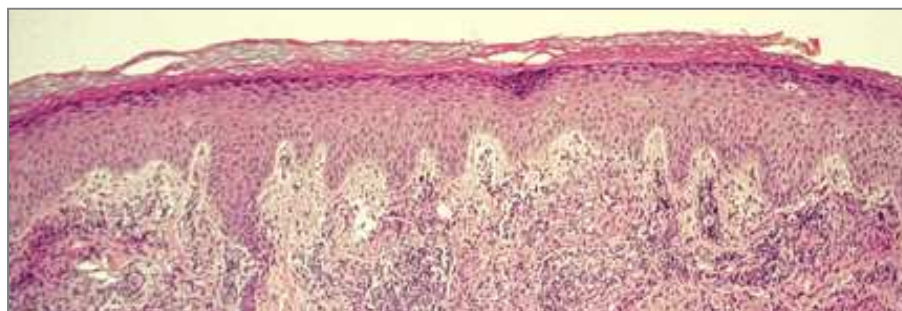
Infekce jiných typů buněk

fibroblasty:

- vstup: indukovaná endocytóza
- leishmanie se ve fibroblastech nemnoží, pouze přežívají
- význam: možnost aktivace infekce při imunosupresi

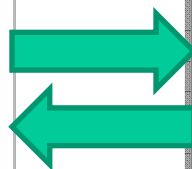


INFEKCE ZAČÍNÁ VŽDY V KŮŽI



PARAZIT

- druh
- virulence
- imunogeny
- imunomodulace



ČLOVĚK

- stav imunitního systému
- prezentace antigenu
- pohotovost buněčné odpovědi
- individuální genetické pozadí



PŘENAŠEČ

- infekční dávka
- imunomodulační účinky slin

SPEKTRUM KLINICKÝCH PROJEVŮ

výsledek souhry mnoha faktorů

VÝSLEDNÉ KLINICKÉ PROJEVY INFEKCE MAJÍ IMUNOREGULAČNÍ PODSTATU

PRVOŘADÝ VÝZNAM BUNĚČNÉ IMUNITY

PRIMÁRNÍ ODPOVĚĎ

ZÁNĚT
CYTOTOXICKÉ REAKCE
INFILTRACE INFIKOVANÉ OBLASTI
DESTRUKCE
NEKRÓZA
HOJENÍ

PROTEKTIVNÍ IMUNITA

SPECIFICKÁ AKTIVACE MAKROFÁGŮ

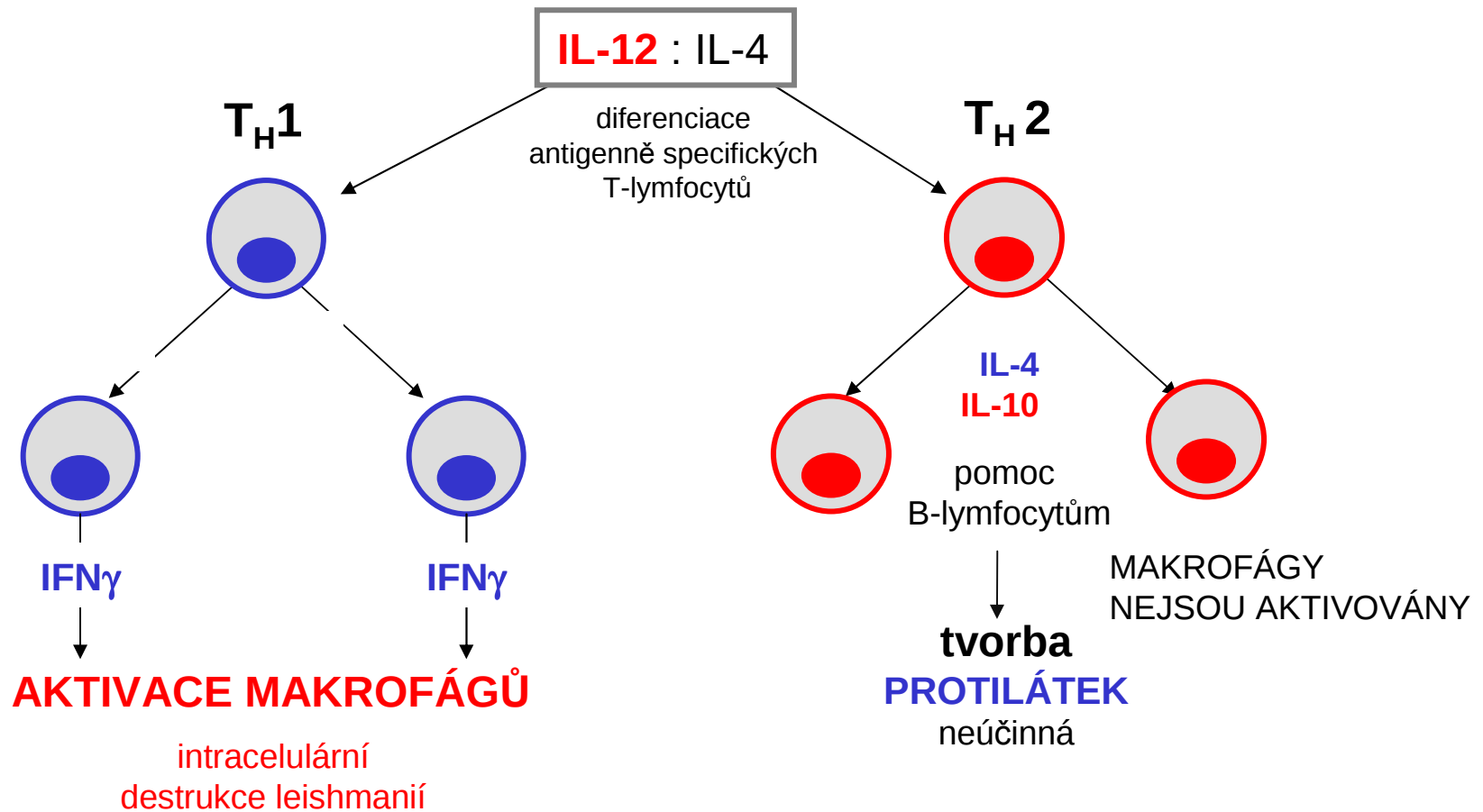


**INTRACELULÁRNÍ
DESTRUKCE PARAZITŮ**

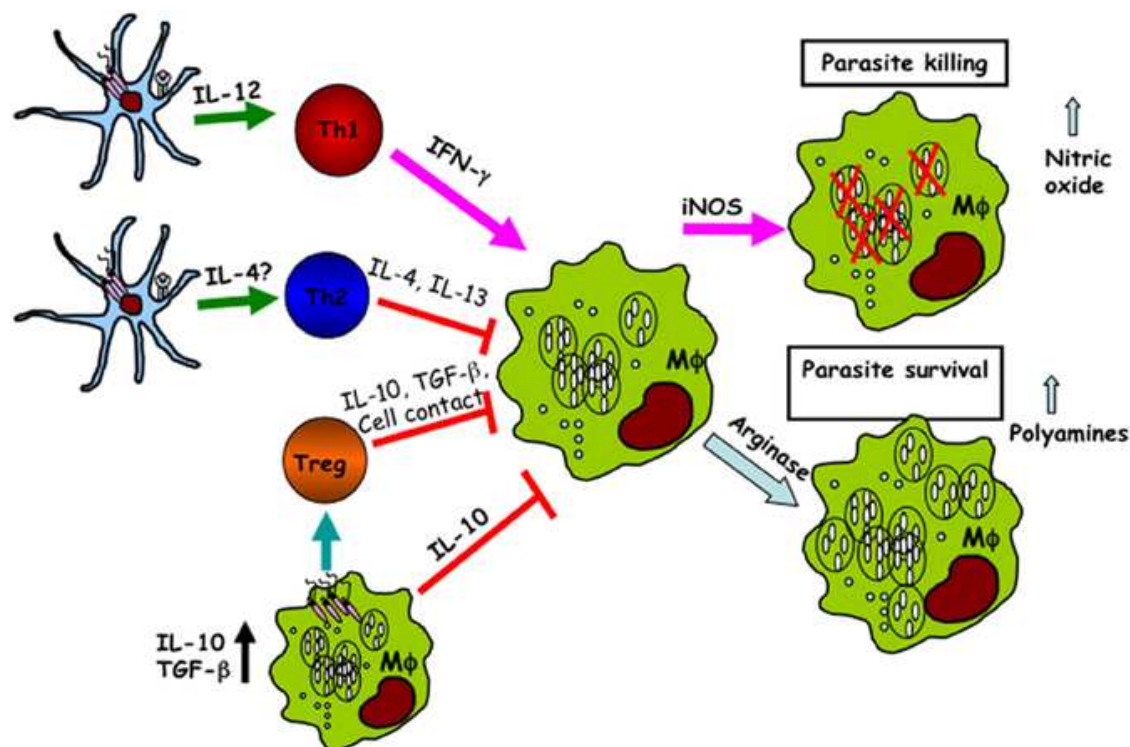
PRŮBĚH INFEKCE URČUJÍ INTERAKCE V RANÉ FÁZI

SELEKCE SUBKLONŮ CD4+ T- LYMFOCYTŮ

ZÁVISÍ PRAVDĚPODOBNĚ NA ZPRACOVÁNÍ A PREZENTACI ANTIGENU



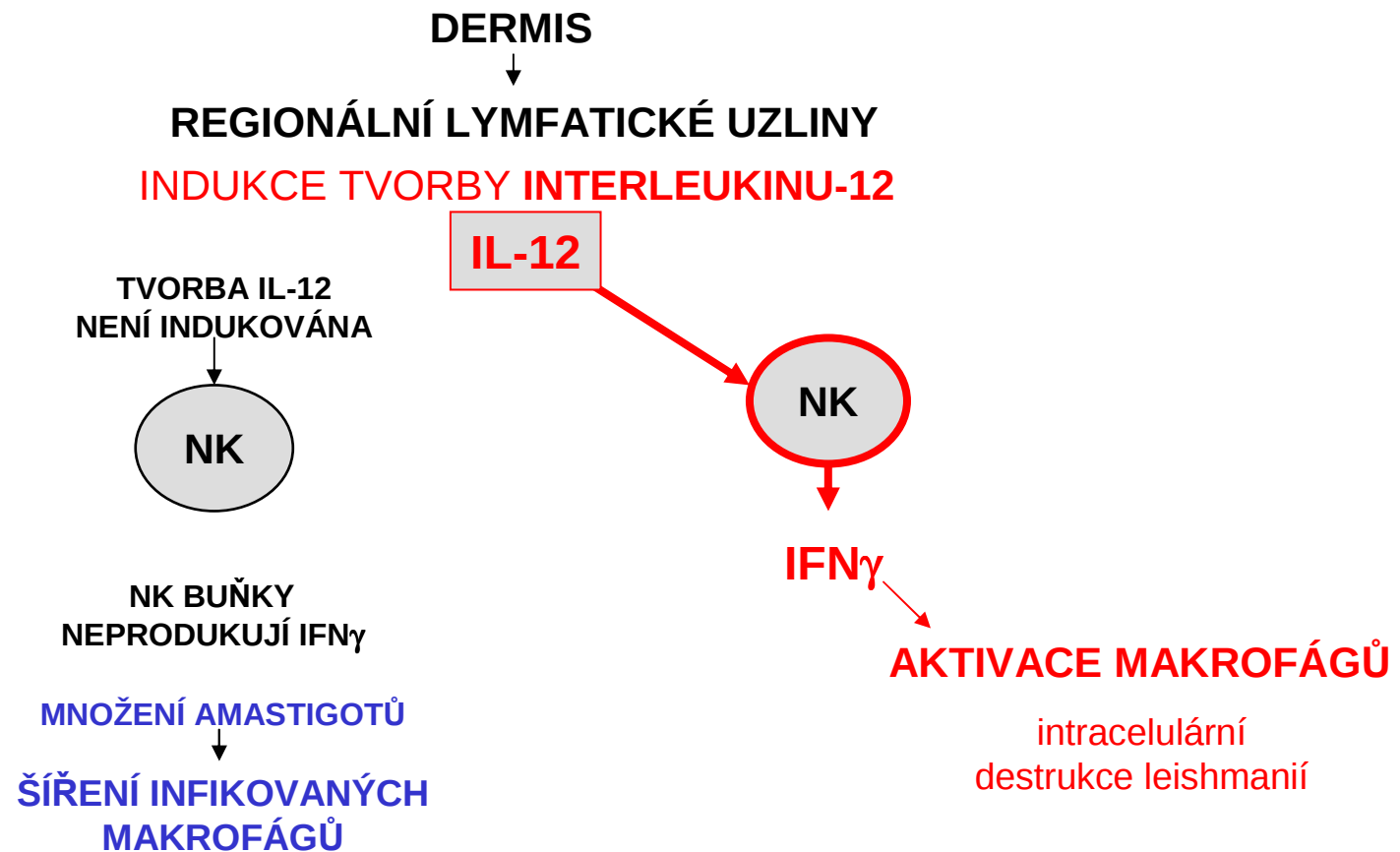
AKTIVACE MAKROFÁGŮ



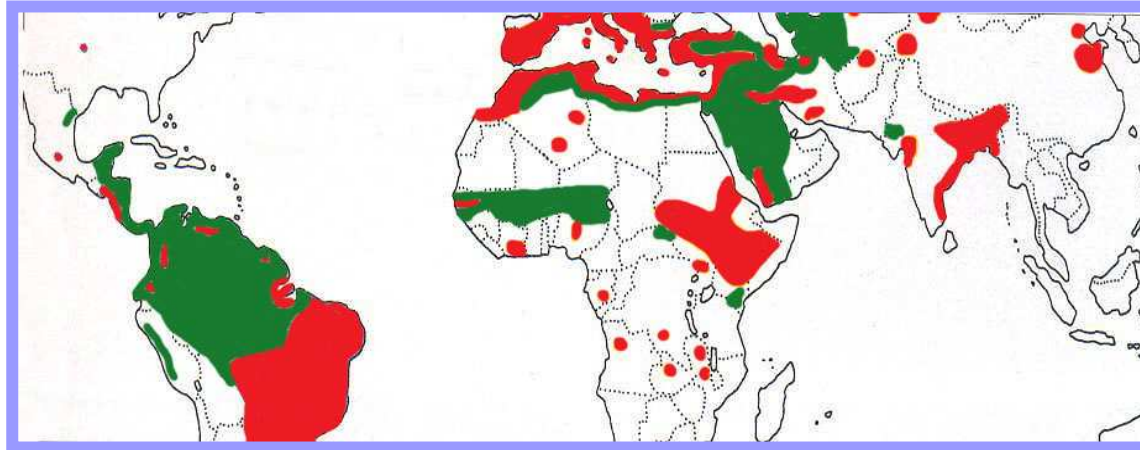
- infikované dendritické buňky produkují IL-12 nezbytný pro diferenciaci CD4 Th1 lymfocytů
- CD4 Th1 produkují IFN-γ aktivující makrofágy
- induktivní syntéza NO↑↑↑
- produkce NO → záhuby intracelulárních parazitů

STIMULACE NK BUNĚK K PRODUKCI IFN γ

V ZÁVISLOSTI NA INFEKČNÍ DÁVCE A RYCHLOSTI
EXPANZE INFIKOVANÝCH MAKROFÁGŮ



LEISHMANIÓZY



STARÝ SVĚT

Leishmania major
L. tropica

Leishmania donovani

L. infantum

NOVÝ SVĚT

L. mexicana
L. braziliensis

původci:

....
kožních leishmanióz

viscerálních leishmanióz

SOUVISLOST KLINICKÝCH FOREM S URČITÝMI DRUHY LEISHMANIÍ
NENÍ ABSOLUTNÍ

EPIDEMIOLOGIE LEISHMANIÓZ

ROZŠÍŘENÍ



- souvisí s rozšířením přenašečů



EPIDEMIOLOGIE LEISHMANIÓZ

Starý svět

přenašeč: rod *Phlebotomus*

- subtropy – tropy
- semiaridní oblasti
v norách hlodavců, v kůře starých stromů .





EPIDEMIOLOGIE LEISHMANIÓZ

Nový svět

přenašeč: rod *Lutzomyia*

lesnaté oblasti Jižní a střední Ameriky,
Mexiko, jih USA



EPIDEMIOLOGIE LEISHMANIÓZ

REZERVOÁR leishmanií pro přenašeče: **savci**



člověk

psi



damani

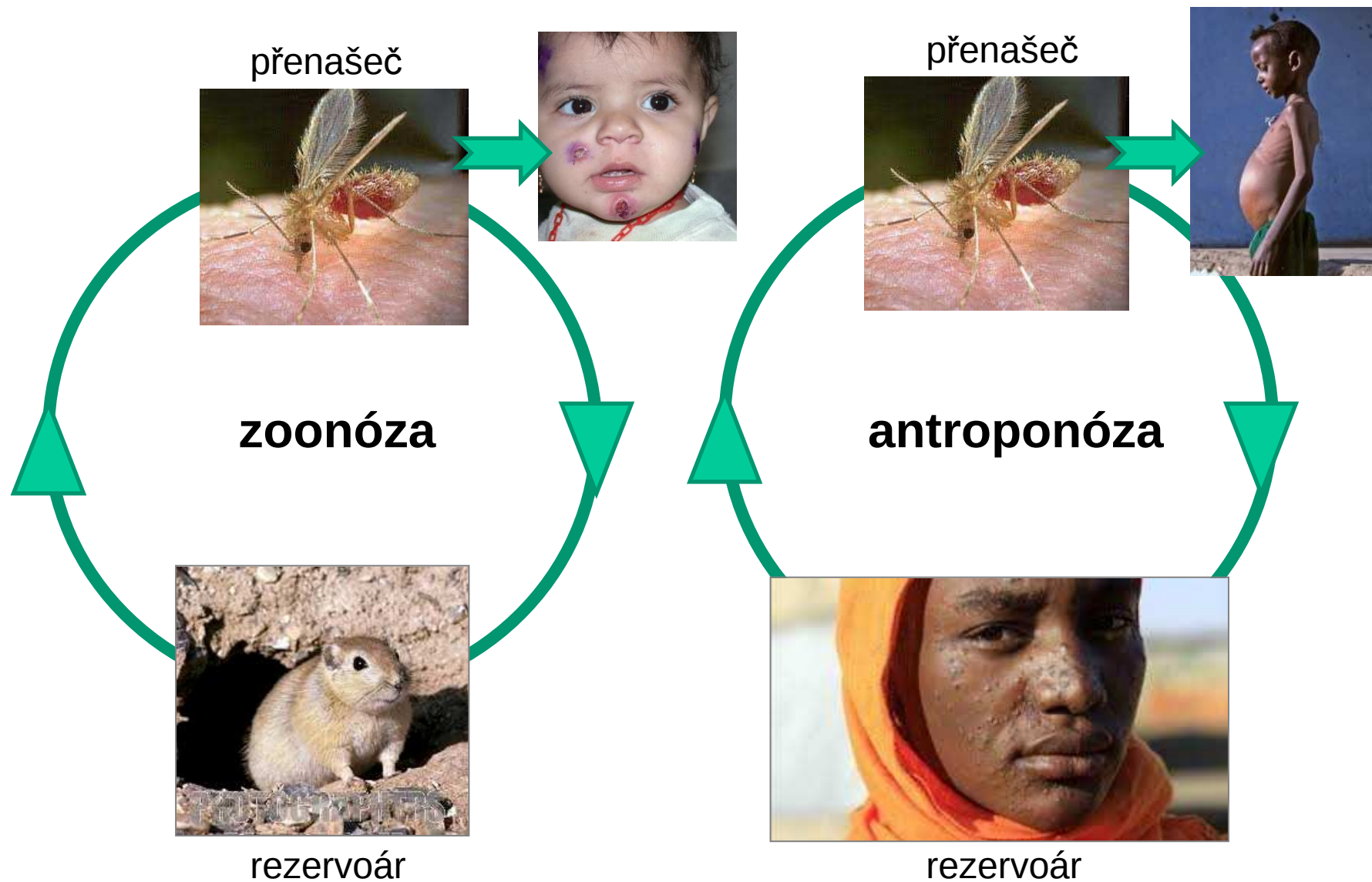


hlodavci



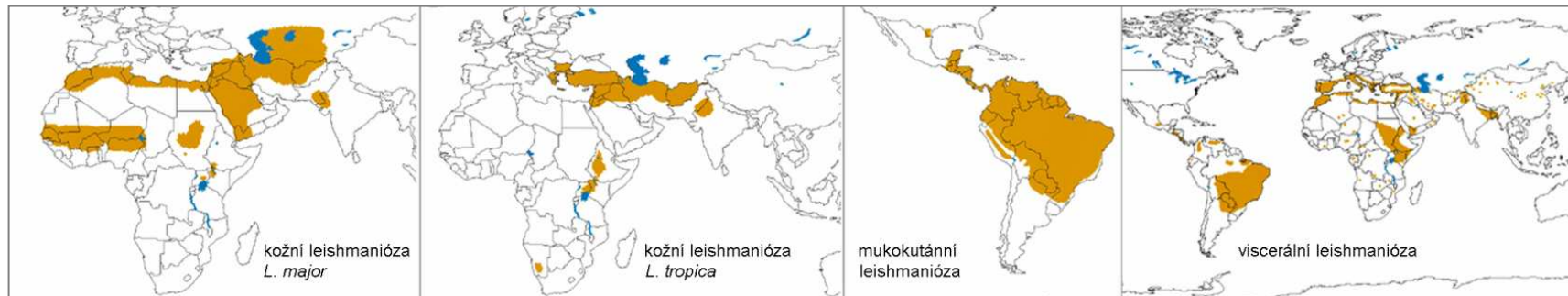
lenochodi

EPIDEMIOLOGIE LEISHMANIÓZ



EPIDEMIOLOGIE LEISHMANIÓZ

výskyt: 88 zemí 5 kontinentů, 350 milionů osob ohroženo
prevalence: 12 milionů osob nakažených
incidence: 1.5 – 2 miliony nových případů/rok
kožní leishmanióza: 1 – 1.5 milionů
viscerální leishmanióza: 0.5 milionu
~ 50 000 pacientů umírá



kožní leishmanióza > 90% **6 zemí:** Irán, Afganistan, Saudská Arábie, Sýrie, Brazílie, Peru

viscerální leishmanióza > 90% **3 země:** Bangladéš, Indie, Súdán

Leishmanióza je **endemická v jižní Evropě**, není v JV Asii a v Austrálii

LEISHMANIÓZY

KLINICKÉ FORMY

- ASYMPTOMATICKÁ
- KOŽNÍ
- MUKOKUTÁNNÍ
- VISCERÁLNÍ

ASYMPTOMATICKÁ LEISHMANIÓZA

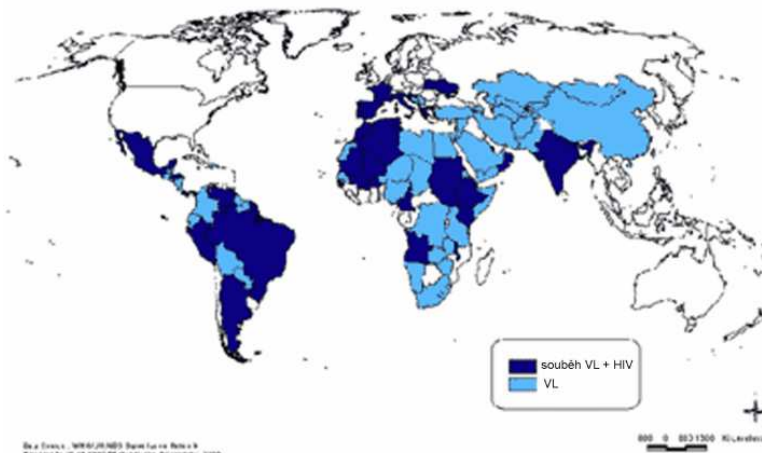
nosiči *Leishmania infantum* v jižní Evropě
 ≥ 95% nákaz není klinicky manifestních

průkaz asymptomatické leishmaniózy:

manifestace nákazy u HIV+ pacientů

leishmanióza = třetí nejčastější oportunní parazitóza při AIDS
důvod: destrukce CD4+T lymfocytů

34 Countries Reporting Leishmania / HIV Co-Infection Worldwide



KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

KLINICKÝ OBRAZ

1. LOKALIZOVANÁ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA (LCL)
2. RECIDIVUJÍCÍ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA (RCL)
3. DIFÚZNÍ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA (DCL)
4. MUKOKUTÁNNÍ LEISHMANIÓZA

LOKALIZOVANÁ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

- INFEKCE MAKROFÁGŮ → MNOŽENÍ
akumulace a infekce dalších makrofágů
- IDENTIFIKACE INFIKOVANÉHO MÍSTA
 - infiltrace zánětovými buňkami
 - destrukce infikovaného místa
 - ulcerace epidermis → nekróza
- KONEČNÁ LIKVIDACE PARAZITŮ
SPECIFICKOU ODPOVĚDÍ
- **HOJENÍ**

LOKALIZOVANÁ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

původci: *Leishmania major*
Leishmania tropica

Leishmania mexicana ...

inkubační doba: 2- 8 týdnů (i mnohem déle)

pupínek → uzlík → vřed → jizva

vřed:

- nebolešivý, chronický
- lokalizace: končetiny, trup, obličej
- počet: jeden – mnoho
- spontánně se hojí jizvou (měsíce)
- v kůži mnoho parazitů



LOKALIZOVANÁ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

jediná léze



LOKALIZOVANÁ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

mnohočetné léze



LOKALIZOVANÁ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

hojení jizvou



RECIDIVUJÍCÍ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

HYPERAKTIVNÍ STAV

- bouřlivá, nekoordinovaná, hyperalergická imunitní odpověď
- nekompletní likvidace parazitů
- perzistující zánět

infekce → zánět → vřed → nekróza → **částečné hojení**

periferní aktivace infekce → **nový zánět na okraji hojícího se místa**

RECIDIVUJÍCÍ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

původce: *Leishmania tropica*

- vřed se šíří v ploše bez kompletního zhojení
- nereaguje na léčbu
- trvá roky
- v kůži málo parazitů

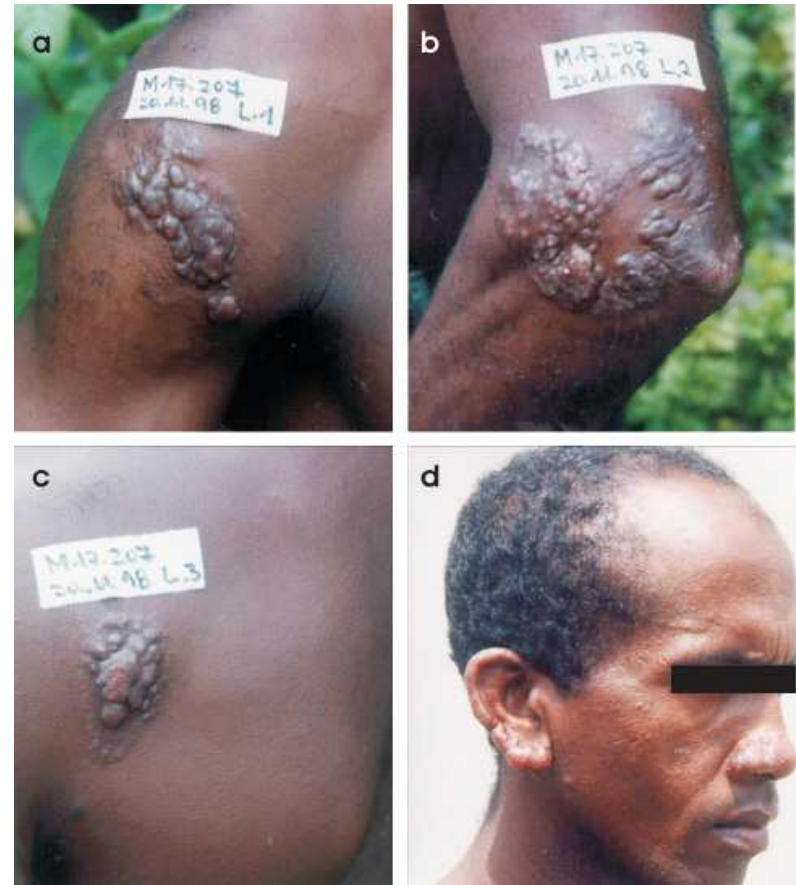


DIFÚZNÍ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

STAV ANERGIE

stimulace supresorů

- minimální zánět
- nekontrolované šíření parazitů v kůži
- žádné spontánní hojení



DIFÚZNÍ KOŽNÍ LEISHMANIÓZA

původci:

Afrika *Leishmania aethiopica*

J. Amerika *L. mexicana*,
 L. amazonensis ...

velmi vzácná manifestace

- lokalizace: často na obličeji
- příznaky: mnohočetné neulcerující léze
 papulky, uzlíky, plaky
- nereaguje na léčbu
- trvání: roky !!!
- v lézích mnoho parazitů



MUKOKUTÁNNÍ LEISHMANIÓZA

původce:

J. Amerika *Leishmania braziliensis*

90% případů: Bolívie, Brazílie, Peru

2 fáze nemoci (měsíce-roky):

- **primární kožní léze**

spontánně se zhojí

- **sekundární infekce**

měsíce-roky po primární lézi

?? závisí na věku ??

- **sliznice** nosu → úst, hrdla
- **chrupavky** nosní přepážky, patra
- **perforace**

obtížná léčba

sekundární bakteriální infekce

(bronchopneumonie), **smrt**



MUKOKUTÁNNÍ LEISHMANIÓZA



Fatální mukokutánní leishmanióza:
postupný vývoj během 9 měsíců
(listopad 2001 – srpen 2002)
Úmrtí na sek. bakteriální infekci

MUKOKUTÁNNÍ LEISHMANIÓZA

severní Chile (San Pedro de Atacama, 2400 m, Andy)



lebky: stáří 500-1000 let A.D. PCR: leishmanióza



huaco mochica



LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA **KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ**

přímý průkaz leishmanií

MATERIÁL

- excize vředu, aspirát

METODA

mikroskopie

- barvený preparát
- kultivace (in vitro, in vivo)
- histologie
- (PCR)

PRŮKAZ SÉROVÝCH PROTILÁTEK: NEPŘÍNOSNÝ

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ

ODBĚR MATERIÁLU



Excise z okraje vředu

!!! ne z centrální nekrotické oblasti !!!

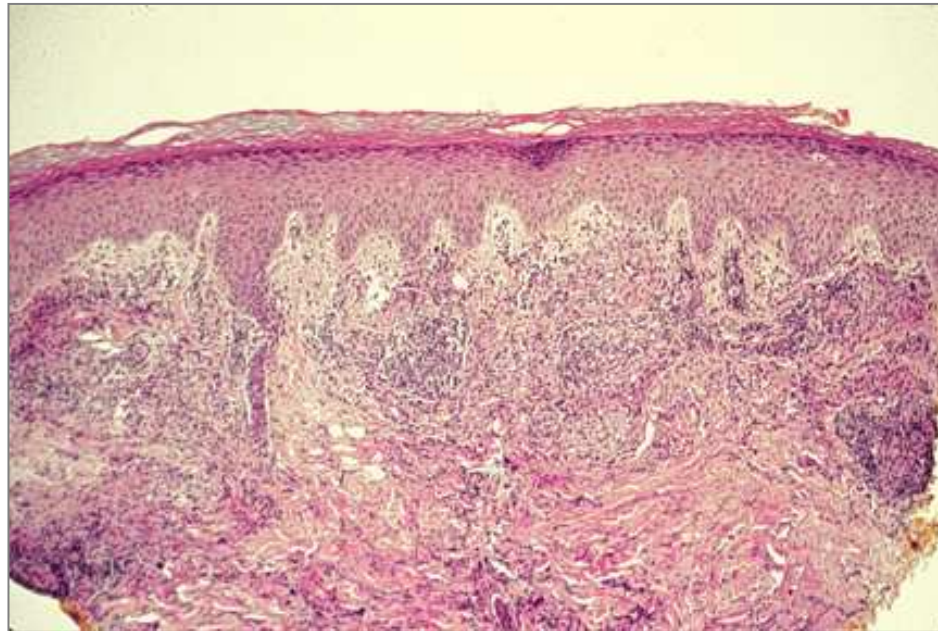
ALTERNATIVNĚ:

- aspirace inj. jehlou
- seškrab skalpelem

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ

ODBĚR MATERIÁLU

NEHLUBOKÁ EXCISE (1-2 mm): parazitované makrofágy v zevní oblasti dermis



ODEBRANÝ VZOREK TKÁNĚ ROZDĚLIT NA 3 ČÁSTI:
pro přípravu **otiskového preparátu**
pro **histologické zpracování**
pro **kultivaci**



LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ

MIKROSKOPIE

OTISK

část odebrané tkáně opakovaně (5-6x) otisknout na podložní sklo

nechat zaschnout

fixovat metanolem

barvit roztokem Giemsa-Romanowski

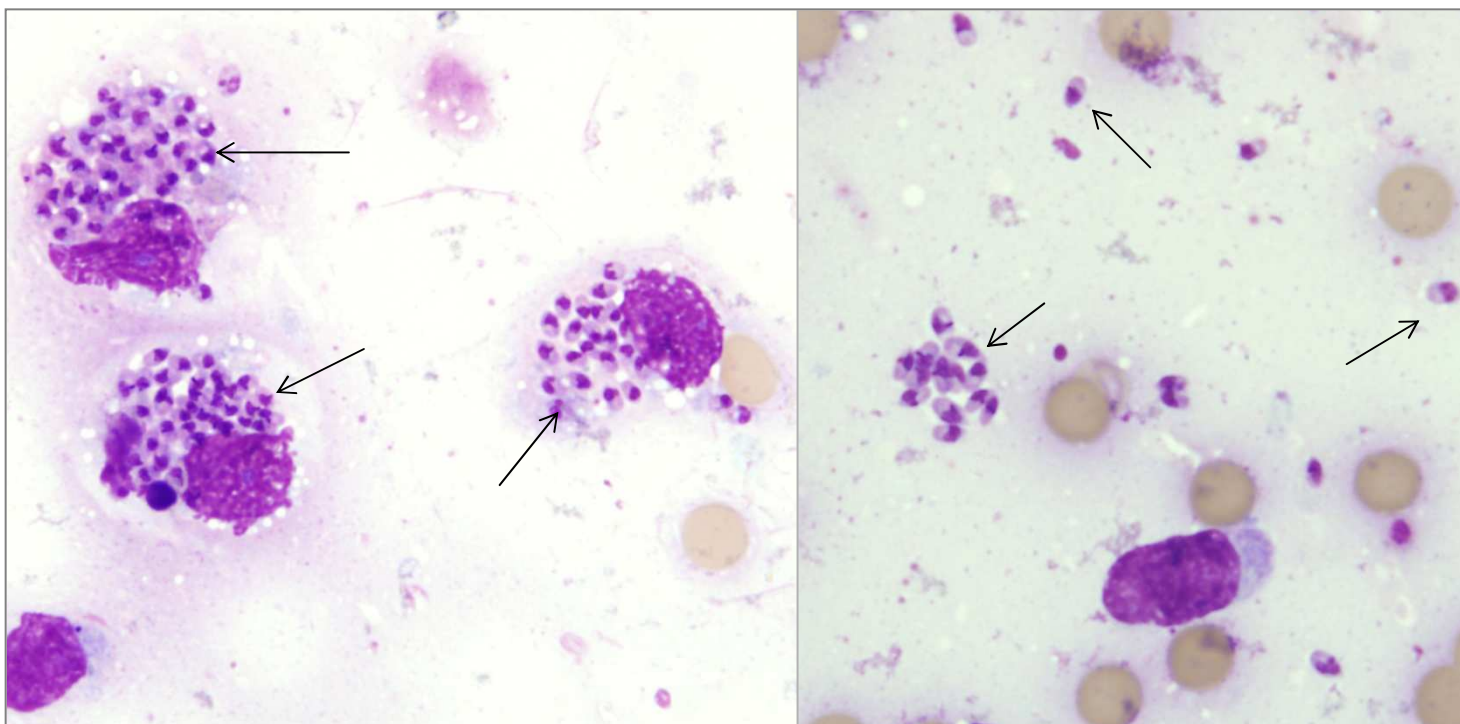
NÁTĚR

při odběru jehlou nebo skalpelem (seškrab):

natřít materiál na podložní sklo, zpracovat jako otisk

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ

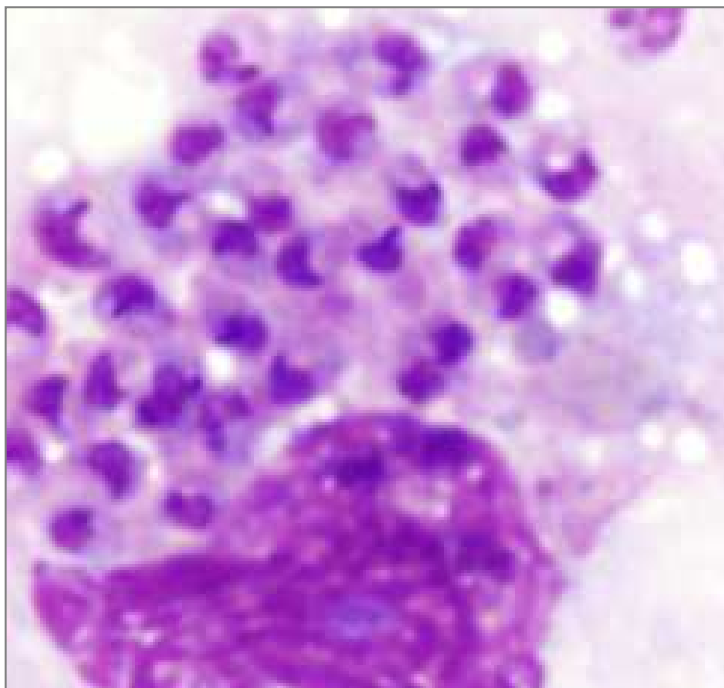
MIKROSKOPIE



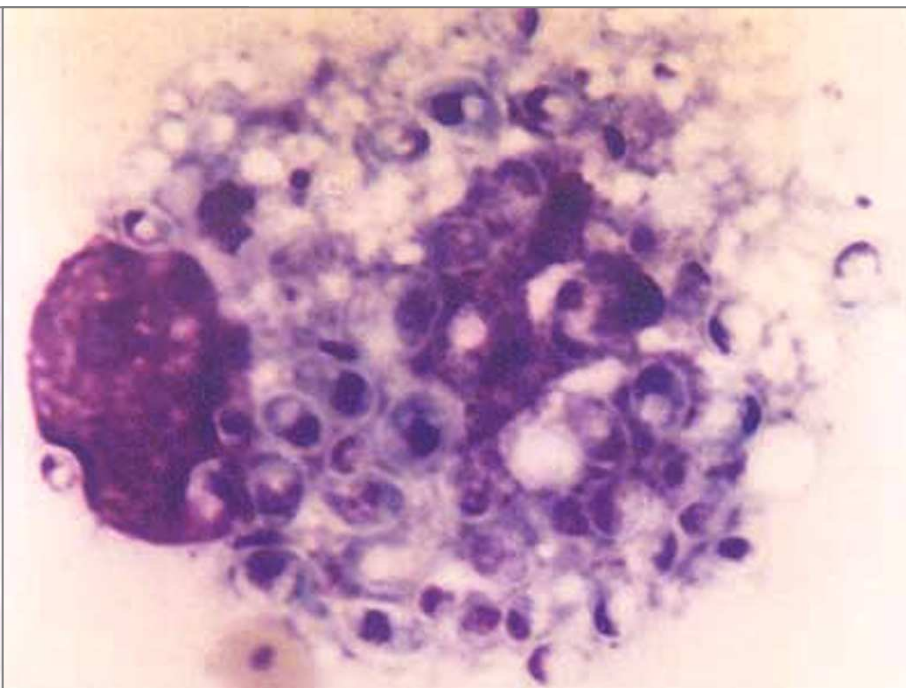
amastigotní stádia (3-5 μm)
na preparátech **intracelulárně** i **extracelulárně**

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ

MIKROSKOPIE

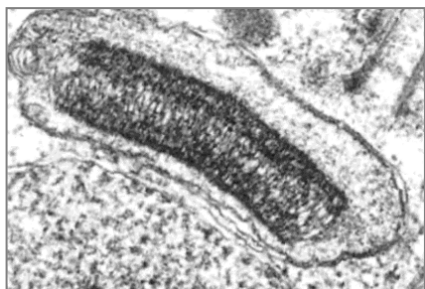


Leishmania



Histoplasma

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ

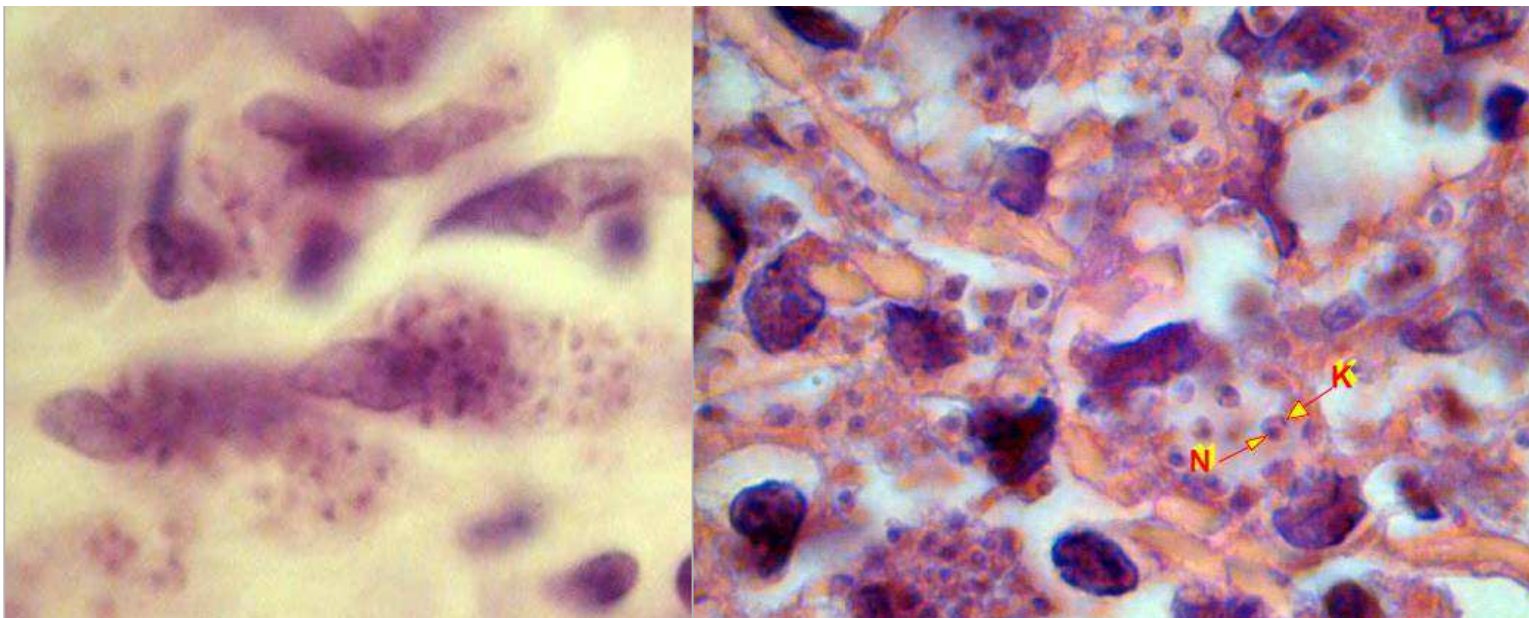


LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ

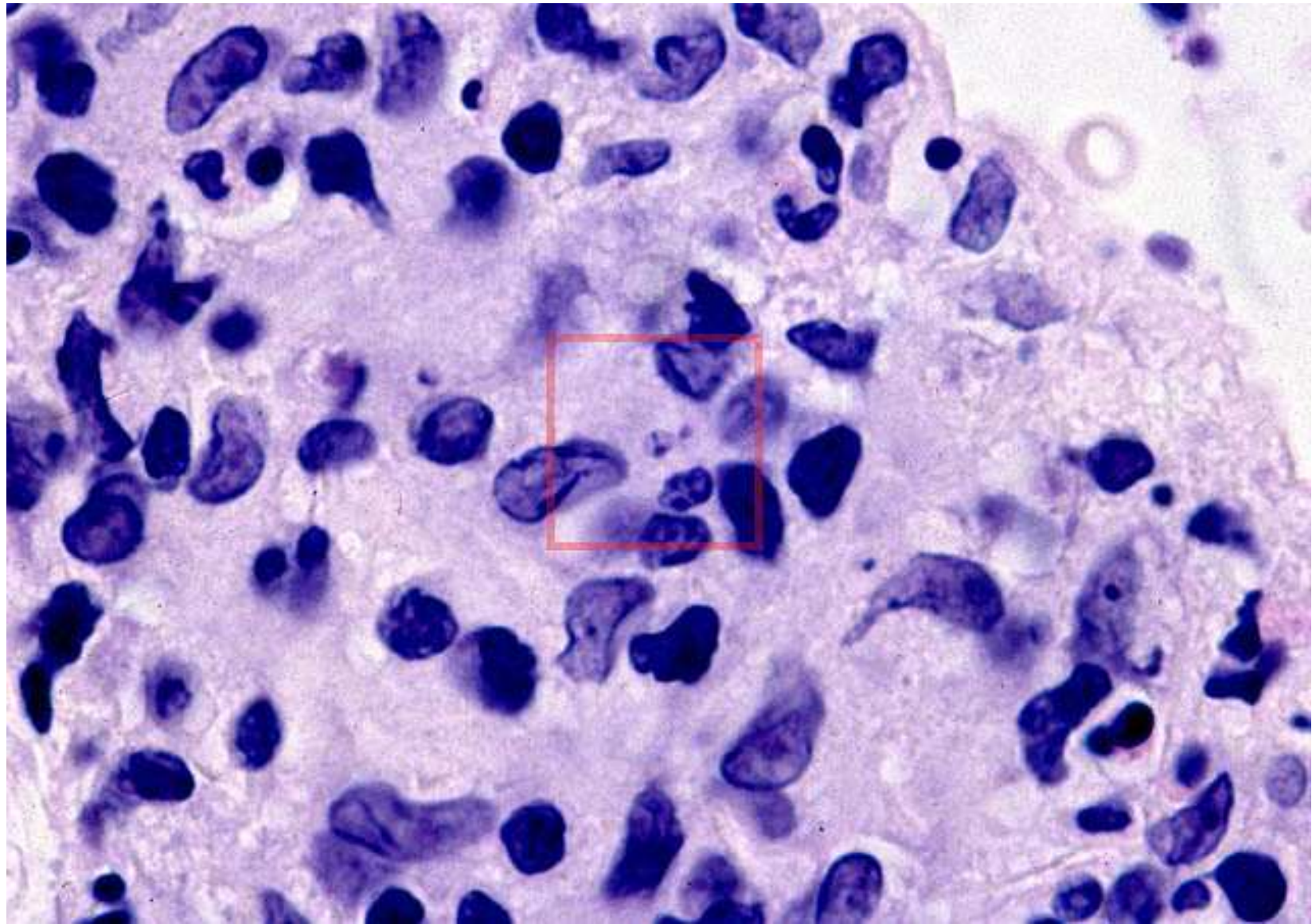
HISTOLOGIE

část odebrané tkáně ihned fixovat v 10% neutr. formalínu
zpracovat pro histologii

řezy lze barvit rutinními histologickými postupy (PAS není vhodný)



amastigotní stádia uvnitř fagocytů
dg: jádro a kinetoplast



LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA KOŽNÍCH LEISHMANIÓZ

KULTIVACE

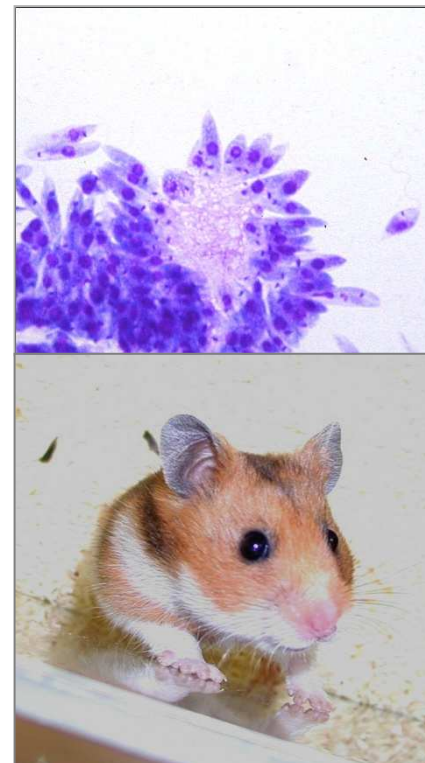
IN VITRO

šikmý krevní agar, 26-28°C

bičíkatá stádia

IN VIVO

inokulace laboratorního zvířete



PCR

význam: rozlišení původce kožních leishmanióz Nového světa

VISCERÁLNÍ LEISHMANIÓZA

původci: *Leishmania donovani* (kala-azar)

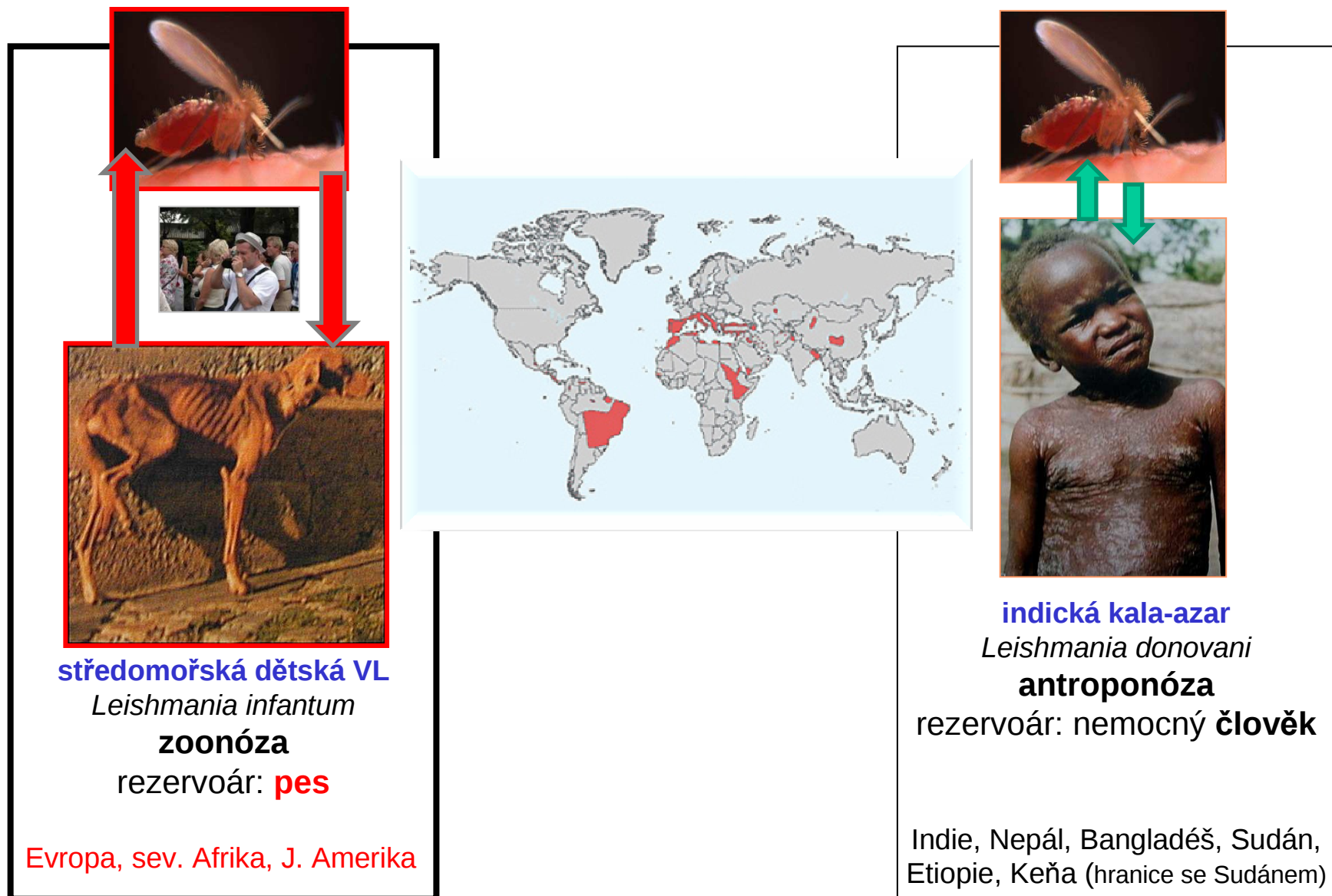
L. infantum (Středomoří, Lat. Amerika)

- infikované makrofágy nerozpoznány unikají z kůže do krevního oběhu
- rozsev do filtračních a krvetvorných orgánů

mízní uzliny, slezina, játra, kostní dřeň

systemový zánět

EPIDEMIOLOGIE VISCERÁLNÍ LEISHMANIÓZY



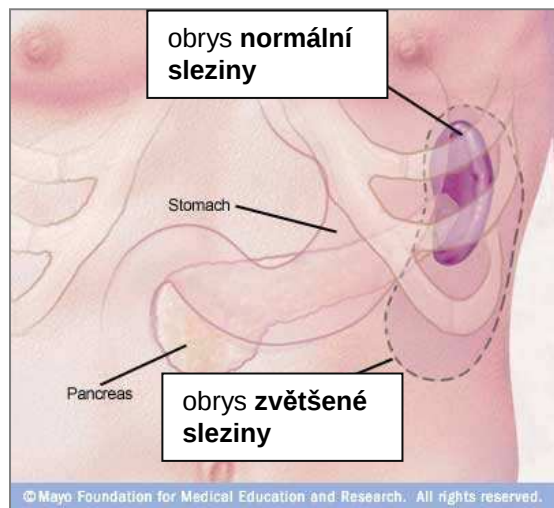
KLINICKÝ OBRAZ **VISCERÁLNÍ LEISHMANIÓZY**

chronické onemocnění vnitřních orgánů (slezina, játra, kostní dřeň)

- **inkubační doba:** týdny, měsíce
- **příznaky:**
 - nepravidelné vysoké horečky
 - noční pocení
 - progresivní zvětšování sleziny (splenomegalie)
 - pokročilá fáze: výrazný váhový úbytek, svalová atrofie
- **krevní obraz:** anemie, leukopenie, trombocytopenie (= pancytopenie)

neléčená klinicky manifestní VL: **smrtelné onemocnění**

SPLENOMEGALIE



výrazně zvětšená slezina při VL



KLINICKÝ OBRAZ **VISCERÁLNÍ LEISHMANIÓZY**



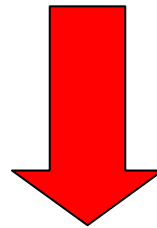
POČÁTEČNÍ FÁZE



POKROČILÁ FÁZE

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA **VISCERÁLNÍ LEISHMANIÓZY**

1. nepřímý průkaz sérových protilátek



2. **přímý průkaz leishmanií**

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA VISCERÁLNÍ LEISHMANIÓZY

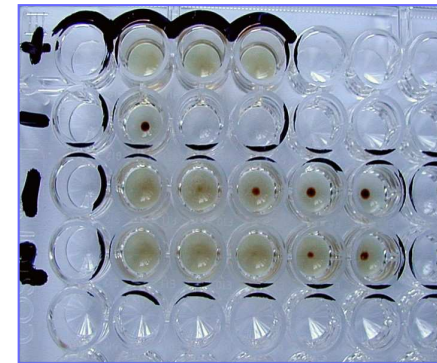
1. PRŮKAZ SÉROVÝCH PROTILÁTEK

specifické, rychlé vyšetření, **indikativní** před přímým průkazem leishmanií

materiál: krevní sérum (3 ml)

sérologie

- celkové specifické imunoglobuliny
- specifické imunoglobuliny třídy IgG



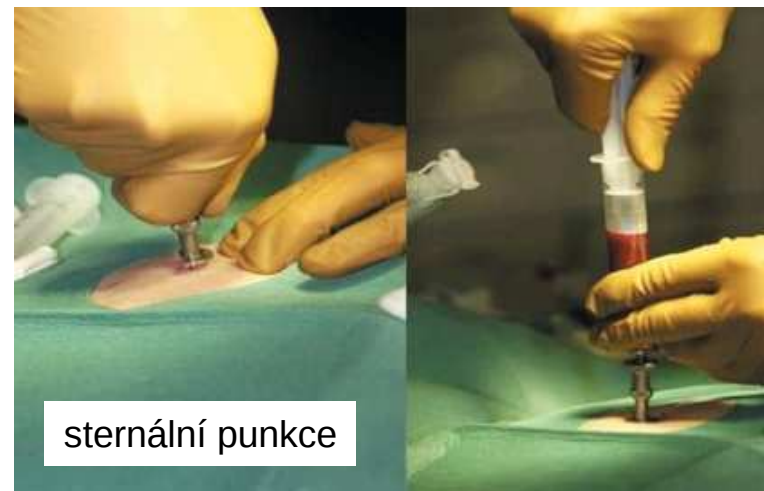
velmi malé děti, HIV+ osoby

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA VISCERÁLNÍ LEISHMANIÓZY

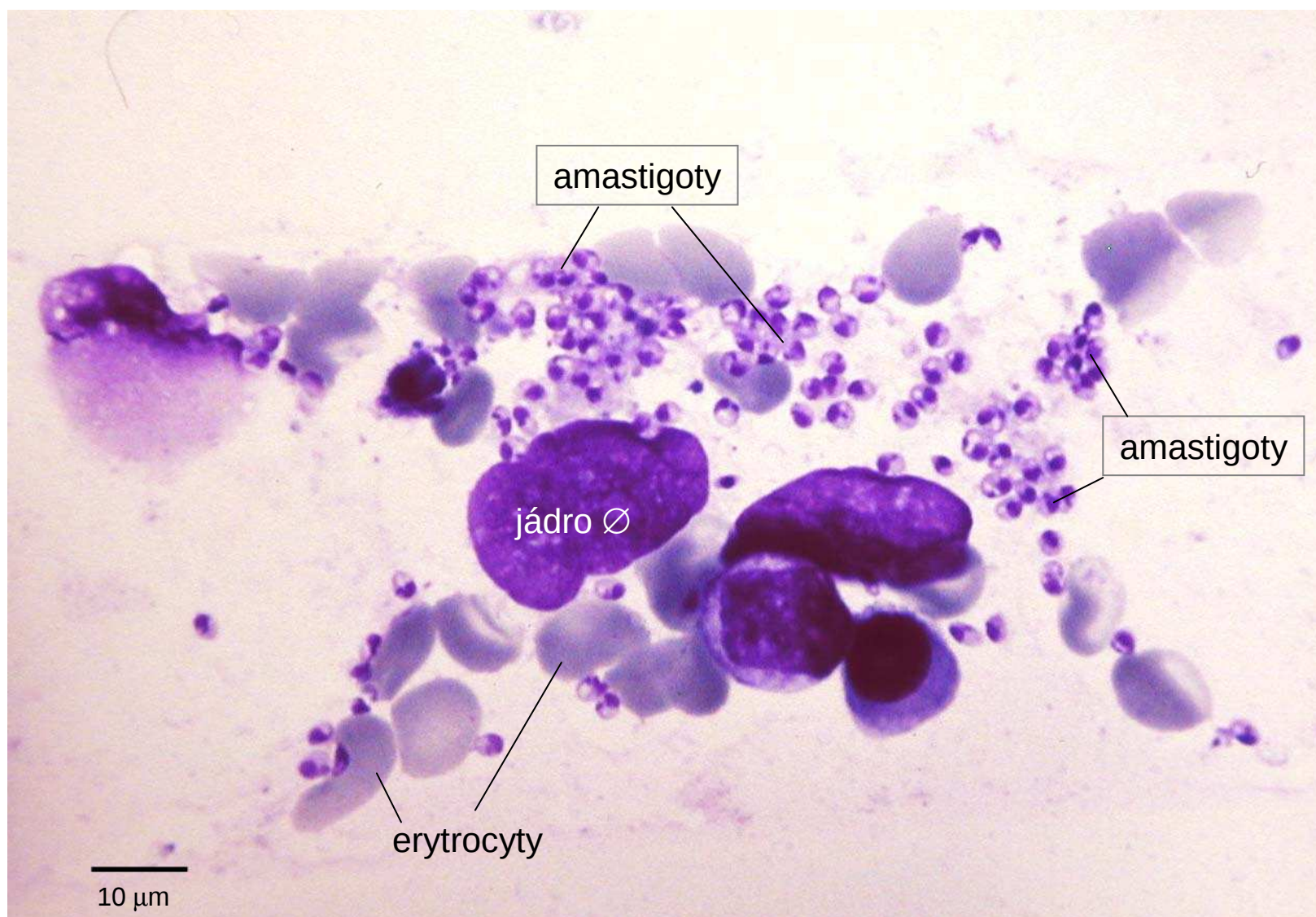
2. PŘÍMÝ PRŮKAZ LEISHMANIÍ

materiál: punktát/bioptát
sleziny
jater
sterna (nejčastěji)
mízní uzliny

metoda: mikroskopie
nátěr (kostní dřeň)
otisk (punktát mízní uzliny)
preparát barvený Giemsa-Romanowski
histologicky zpracovaná biopsie (sleziny, jater, trepanobiopsie)



Krev je naprosto nevhodná pro průkaz leishmanií!



Nátěr punktátu kostní dřeně při VL

CHEMOTERAPIE

- sloučeniny antimonu (Sb^{5+}) (GLUCANTIME) (1940)
- amfotericin B (liposomální forma)
- paromomycin

- miltefosin = první lék pro perorální podávání

- **kombinovaná terapie**

ČR: vzácná importovaná nákaza

1999 – 2012: 17 případů, 8 x děti (věk: 1, 2, 3, 4(2x), 8(2x) a 10 let)

původ nákazy: evropská část **Středomoří**, nejčastěji Chorvatsko



Holčička (2 roky) **s hepatosplenomegalií nejasné etiologie a horečkami**

březen:

návštěva praktické lékařky pro **teplotu**, kašel a obrovskou **splenomegalií**
hospitalizace na dětském hemato-onkologickém oddělení pro podezření
na hemoblastózu

punkce kostní dřeň: autoprotílátky, **pancytopenie**

duben:

překlad na hematologickou kliniku FN v Motole
autoprotílátky proti revmatoidnímu faktoru, susp. autoimunitní hepatitis
nátěry kostní dřeně dle hematologů **negativní**

serologické vyšetření:

vysoké hladiny specifických protilátek proti leishmaniím

sternální punktát:

mikroskopicky amastigoty *Leishmania* sp.

OA:

červen předchozího roku: **12-denní pobyt v Řecku** (jižní Peloponez)

PREVENCE LEISHMANIÓZ

OCHRANA PŘED POŠTÍPÁNÍM FLEBOTOMY

Zásady prevence

- omezit pobyt venku po západu slunce a v noci
- spát na vyvýšených místech
- používat
 - • repelenty obsahující permethrin (např. Diffusil Repellent)
 - • moskytiéry s Ø ok 4 mm



OČKOVÁNÍ

kožní leishmanióza

klinické studie

- tepelně usmrcená vakcína celých buněk *L. major*
 - rekombinantní vakcína Trifusion
- historicky: živá vakcína *L. major*

leishmanióza psů (*Leishmania infantum*)

Leishmune - první vakcína s licencí proti VL psů
účinnost 76-80%



PREVENCE LEISHMANIÓZ

KONTROLA PŘENOSU

Evropa

zoonotická viscerální leishmanióza

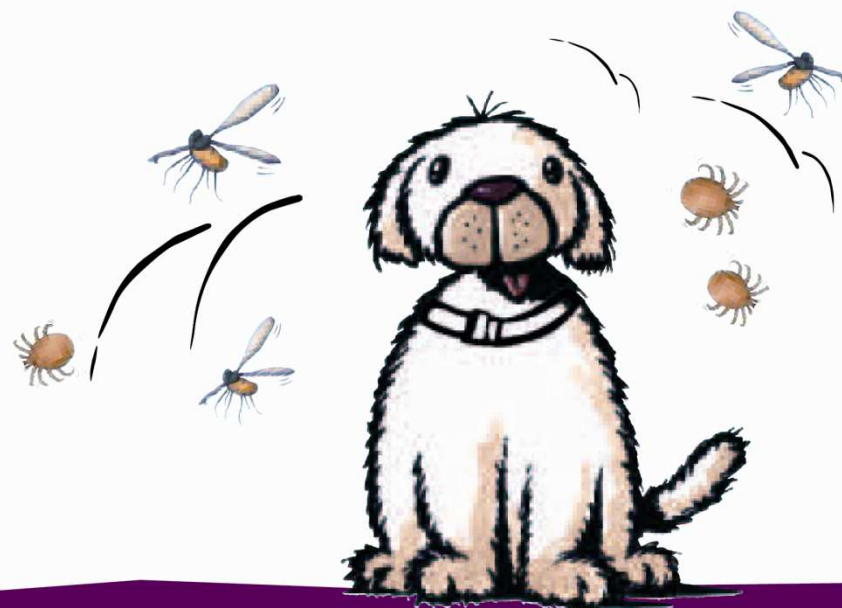
ochrana psů před poštípáním

NEJÚČINNĚJŠÍ:

- **psí obojky napuštěné insekticidem** (deltamethrin):

- až o 90% snížen počet sajících flebotomů
- snížen počet případů dětské zoonotické VL





Účinná látka, která se uvolňuje z obojku,
se dostává pouze na psa.

Scalibor® Protectorband