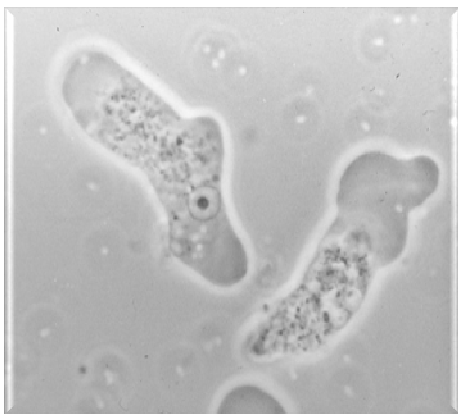


VOLNĚ ŽIJÍCÍ AMÉBY PATOGENNÍ PRO ČLOVĚKA AMFIZOICKÉ AMÉBY

Naegleria fowleri



Acanthamoeba spp. *Balamuthia mandrillaris*

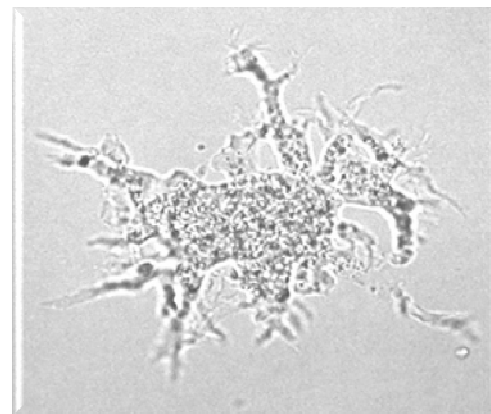
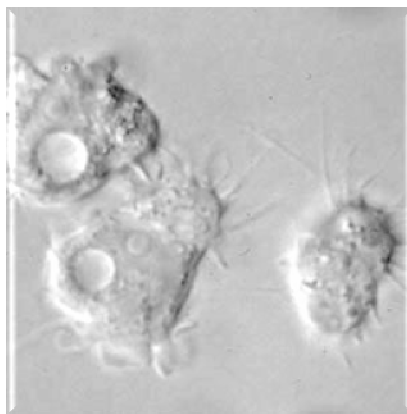


Foto: dr.L. Červa

nejsou to primárně parazitické organismy

Záhadná smrt chlapce po koupání * Výsledek pitvy:

Prvoci mu sežrali mozek

PHOENIX (INT, alf) – Čtrnáctiletého Aarona Evanse z amerického Phoenixu potkal osud jako z hororu. Chlapec se koupal v jezeře Havasu, když se mu do nosu dostali nebezpeční prvoci. Ti vnikli do jeho mozku a sežrali ho. Dítě zemřelo za strašných bolestí.

Když se Aaron v jezeře potopil, netušil, že si právě podepsal rozsudek smrti. Do nosu se

mu s vodou dostali prvoci druhu *Naegleria fowleri*. Nebezpeční jednobuněční tvorové pomalu pro-

nikali až do jeho mozku.

Zde se prvoci zahnízdili a začali mozek svého nedobrovolného hostitele požírat. Chlapec nejprve trpěl prudkými bolestmi hlavy, poté se dostavily halucinace. „Nakonec mi zemřel v náručí,“ vypráví zoufale jeho otec David.

Naegleria fowleri je prvok, který jako kdyby vznikl ve scénáři hollywoodského filmu. Pokud se dostane do nosu člověka, cestuje přímo do mozku. Napadený nemá šanci na přežití. Dosud byl prvok objeven jen v USA a Austrálii.

Naegleria fowleri

- sladkovodní termofilní améba
- rozšíření: celosvětově
- původce: **primární amébové meningoencefalitidy (PAME)**
imunokompetentních osob

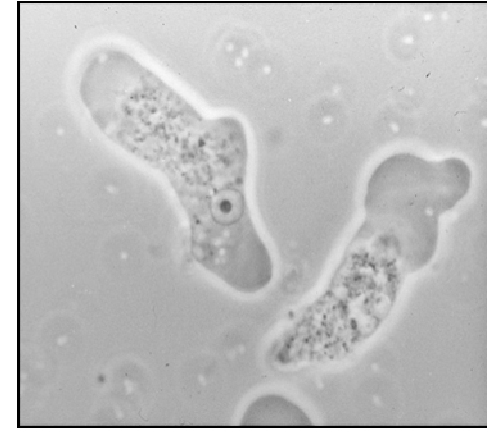


Foto: dr.L. Červa



Naegleria fowleri

výskyt:

teplá sladká voda (množí se při 42°C)

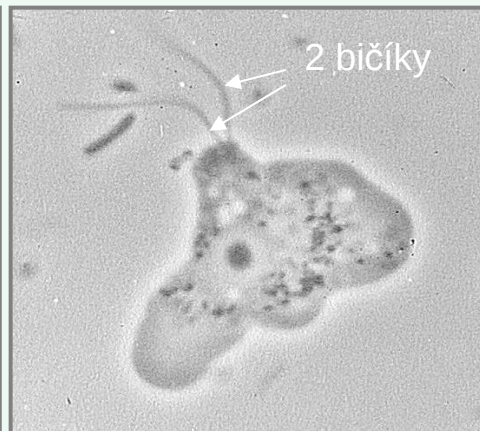
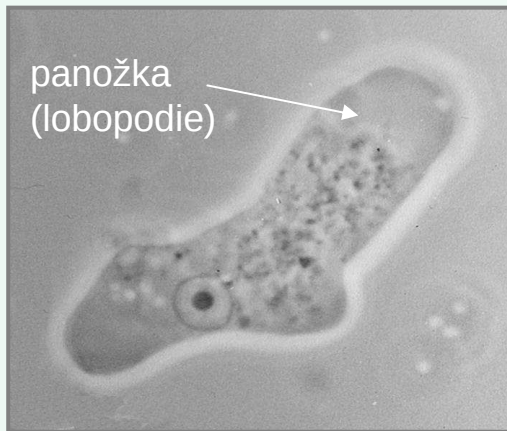
- přírodní voda: geotermální prameny, stojaté – pomalu tekoucí vody ...
 - upravená voda: bazény, chladicí oběhy průmyslových zařízení
- biologické nárosty, sedimenty



ORGANISMUS

v životním cyklu *N. fowleri* se střídají 2 stádia: trofozoit a cysta

TROFOZOIT



améba

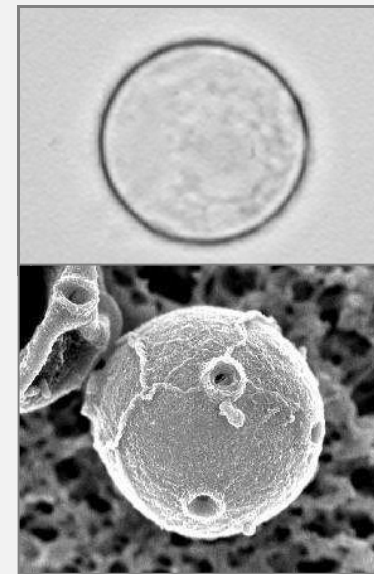
← **2 formy** →

bičíkovec

- rychlý pohyb
- laločnaté panožky

- rychlý pohyb
- 2 bičíky

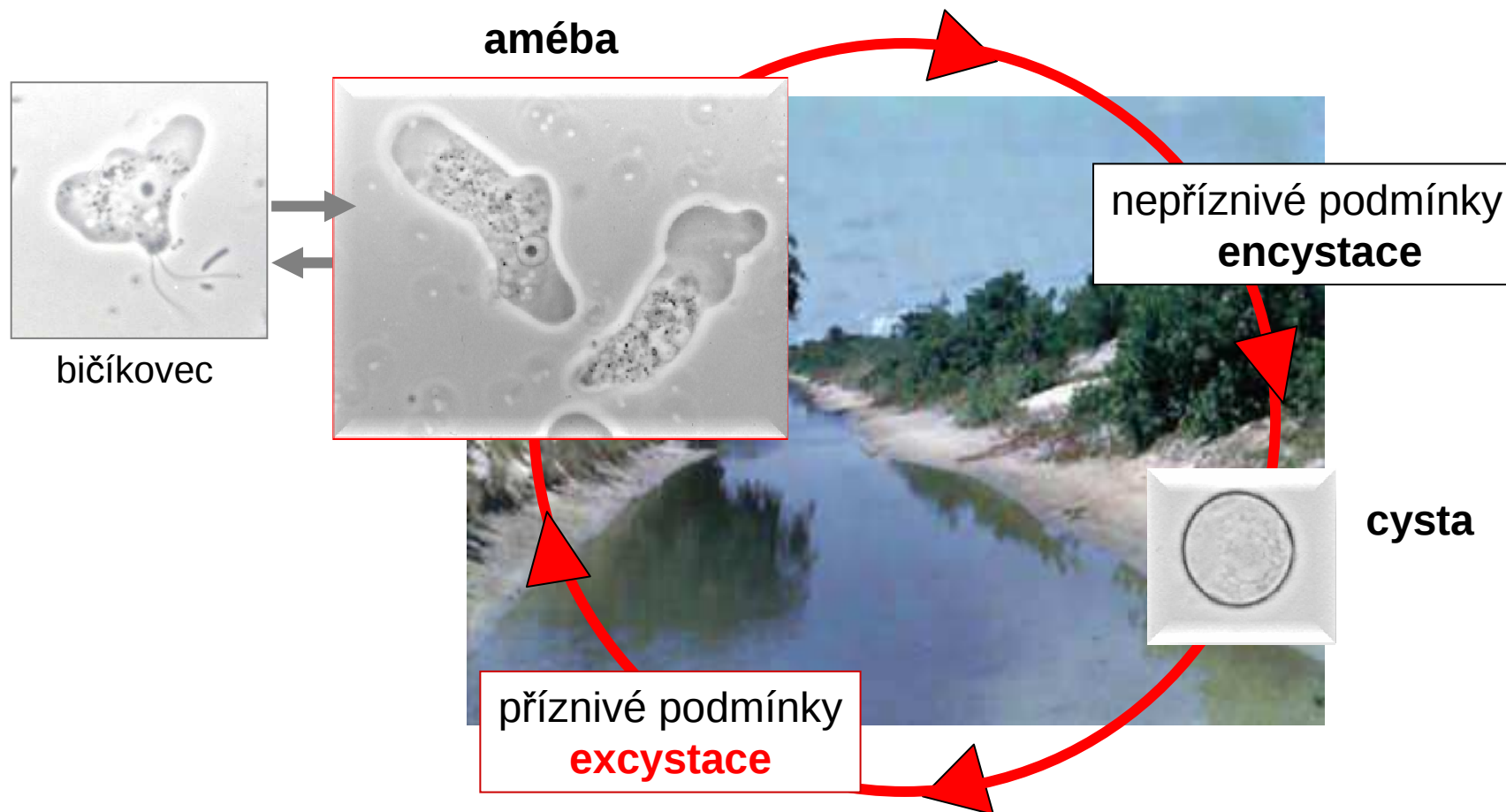
CYSTA



- kulatá
- stěna hladká
- klidové stádium
- odolné

ŽIVOTNÍ CYKLUS

Naegleria fowleri



Řada izolátů z prostředí

EPIDEMIOLOGIE

k nákaze dochází při koupání

- **riziková skupina:**

imunokompetentní osoby (děti, mladí lidé)

- **rizikové chování:**

aspirace vody do vyšších partií nosní dutiny
(při prudkém ponoření hlavy do vody)

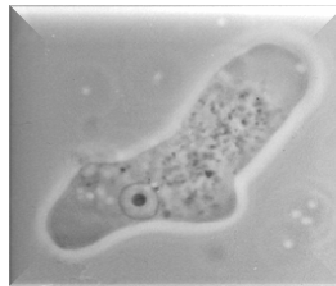


EPIDEMIOLOGIE PAME

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



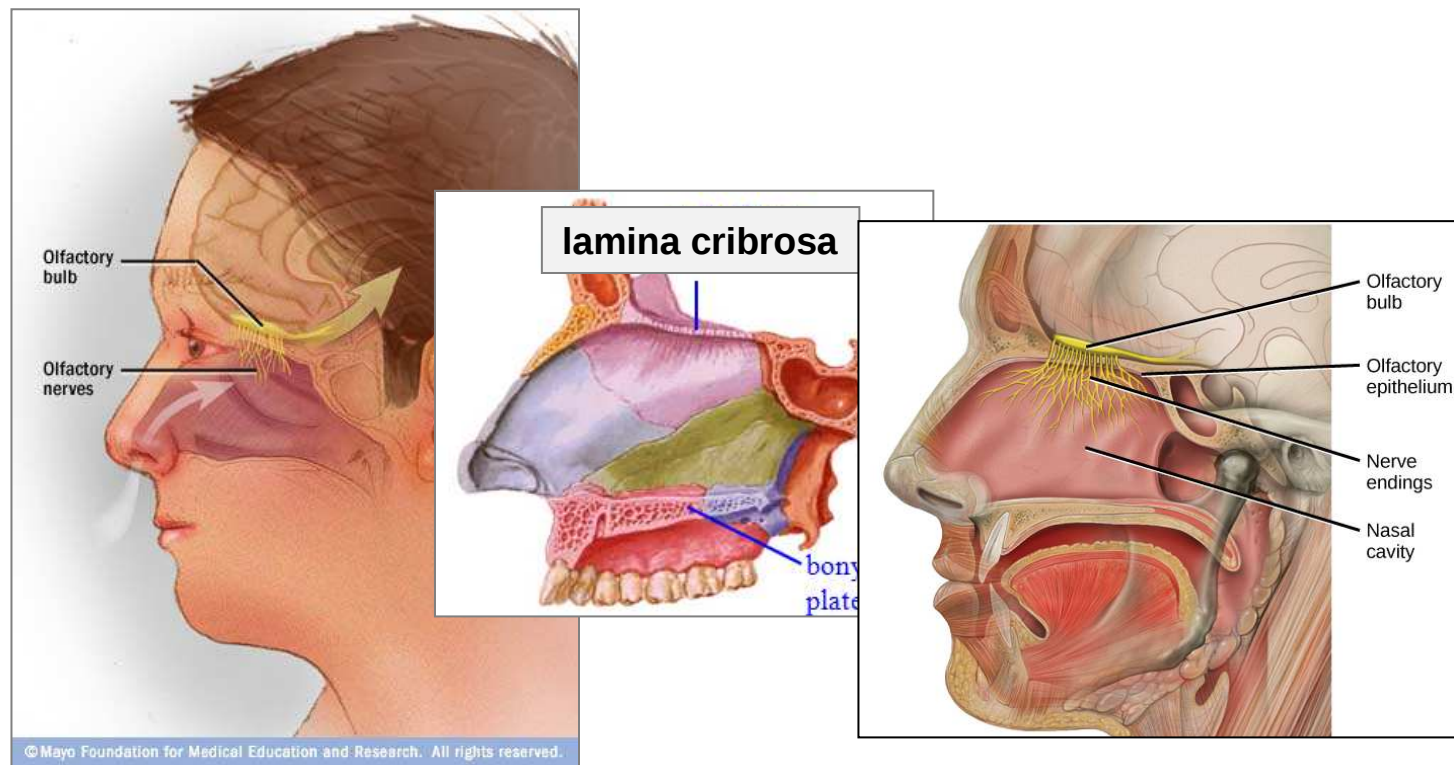
Do nosní dutiny: **všetchna stádia neglerií**



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

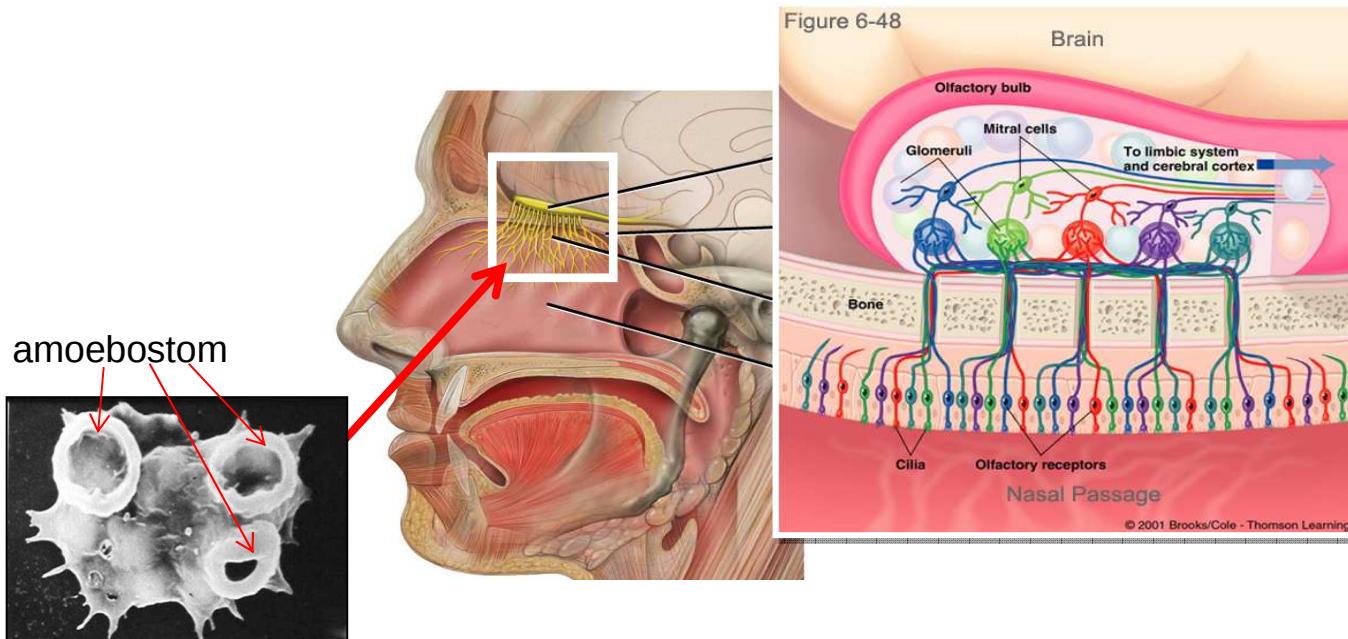
PATOGENEZE PAME

Průnik améb do mozku: **přes lamina cribrosa do bulbus olfactorius**



PATOGENEZE PAME

Průnik améb do mozku: **fagocytóza čichových buněk**



Průnik do subarachnoideálního prostoru a do mozkového parenchymu
Destrukce buněk mozkové tkáně: fagocytóza, produkce perforinu aj.

Naegleria fowleri není vystavena obranným mechanismům v krvi

Primární amébová encefalitida = PAME

PREVALENCE

velmi vzácné onemocnění

ojedinělé případy

1965 1. případy: Austrálie († 4 děti)

1966 označení nákazy:
primární amébová encefalitida
(PAME)

celkem ~ 300 případů (5 přežilo)

USA: nejvíc případů (2008: 111)
věk: 5 – 14 let

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

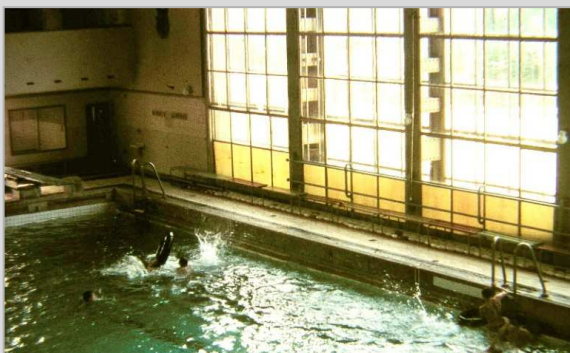
1984: 1 případ

věk: 11 let, chlapec

místo: SČ, potok, chladicí okruh
elektrárny

EPIDEMIOLOGIE PAME: ČR

Vrbenského lázně
(krytý plavecký bazén Ústí n. Labem)



Vrbensky's sw



Vrbensky's swimming pool in Usti nad Labem in 1980

Most 1968
napájení venkovního bazénu



Cooling water outlet - Most 1968

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** silná oboustranná bolest hlavy
strnutí šíje
nevolnost, zvracení, neklid
přecitlivělost na světlo
poruchy vědomí - **bezvědomí**
- **smrt:** za 3 – 7 dnů

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**
- **PCR**



Mozkomíšní mok:

- zkalený šedý - žlutavý
- zbarvený do červena
- počet buněk □ (PMN, makrofágy)
- **bílkovina >**
- **glukóza <**

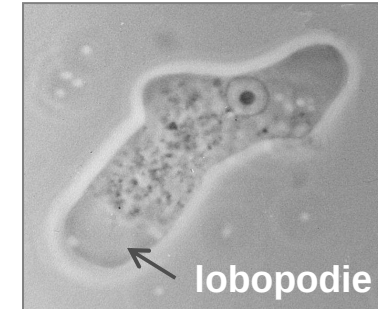
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA PAME

Intra vitam:

- **mikroskopie**

nativní preparát z čerstvého moku:

v moku pouze **améboidní trofozoity!!! NE cysty**



- **kultivace**

agarová plotna (nevýživný agar)

potřená tepelně usmrcenou suspenzí bakterií
(*Enterobacter*, *Escherichia*)

teplota: 37°C

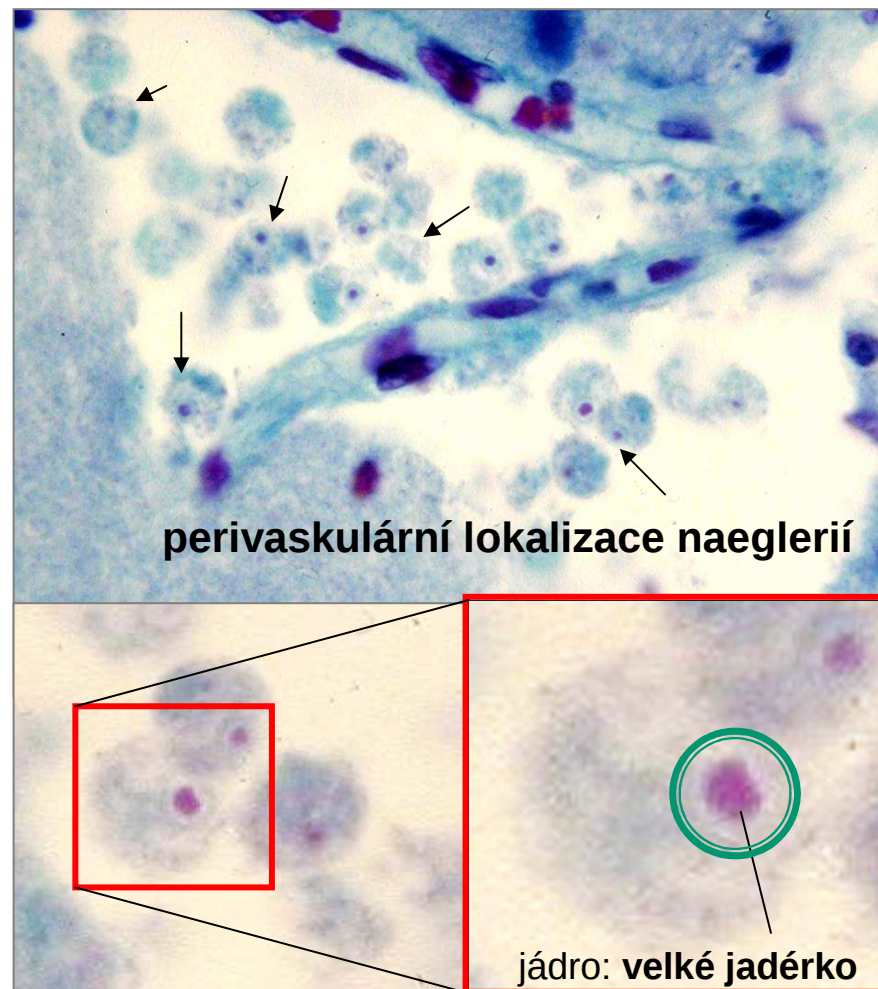
po 24 hod.: **améboidní trofozoity** (později **cysty**)



LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA PAME

Post mortem:

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



TERAPIE PAME

5 vyléčených případů

Amfotericin B (i.v.+intratékálně)

+ Rifampin (p.o.)

+ Mikonazol (i.v.+intratékálně)

PREVENCE PAME

- zamezení rizikovému chování ve vodě
- správné chlorování bazénů (0,5 mg volného chlóru/l naeglerie ničí)

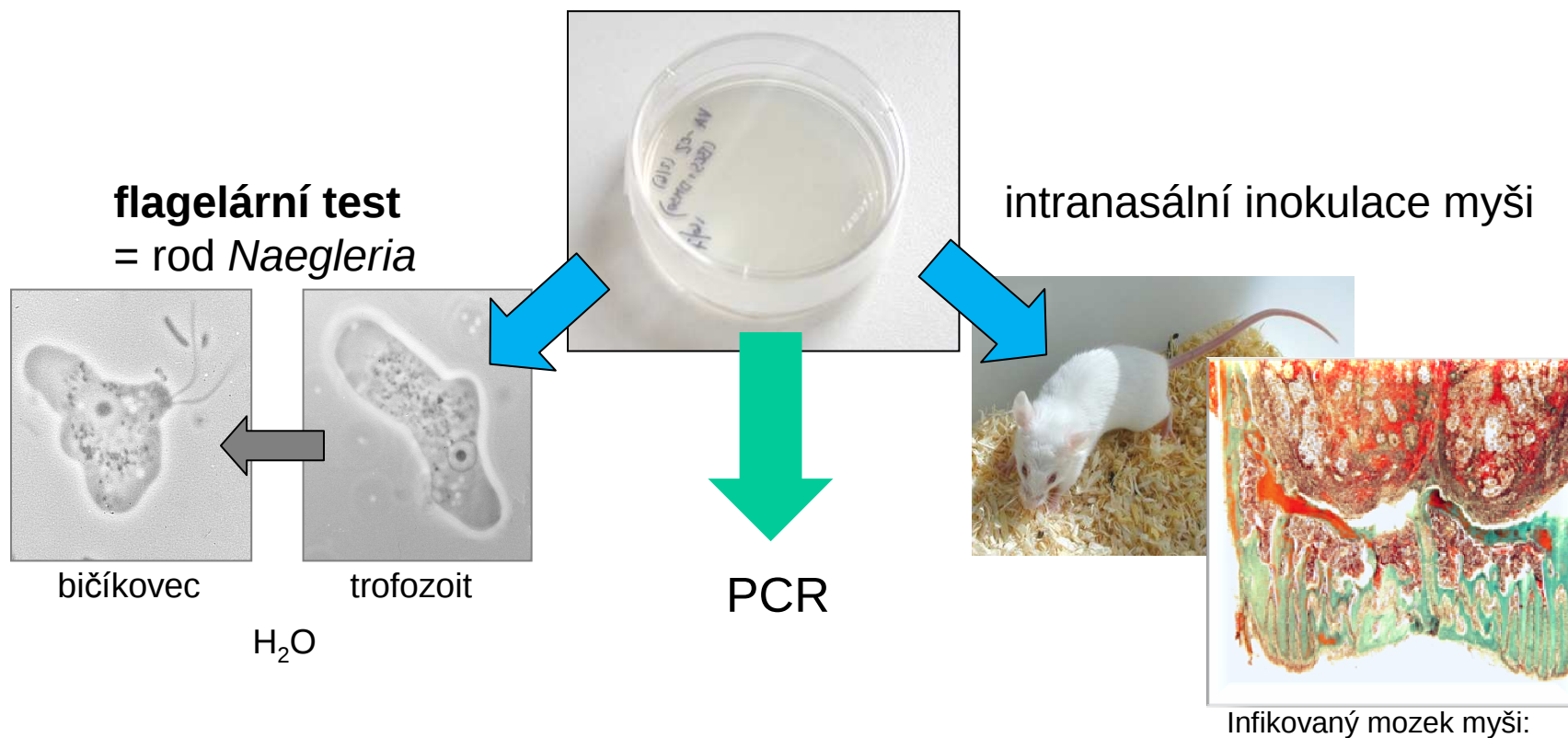


USA: varování před nákazou

IZOLÁTY Z PROSTŘEDÍ: determinace *Naegleria fowleri*



vzorek z prostředí: kultivace při 37°C a 42°C



Acanthamoeba spp.

- nejběžnější volně žijící prvoci
- původci
 - ložiskové amébové encefalitidy (GAE) imunodeficitních osob
 - diseminované kožní akantamébózy
 - akantamébové keratitidy (AK)

Acanthamoeba spp.

výskyt:

kosmopolitní, téměř v jakémkoliv prostředí

- půda, prach, vzduch

- voda:

sladká

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

mořská

isolace akantaméb:

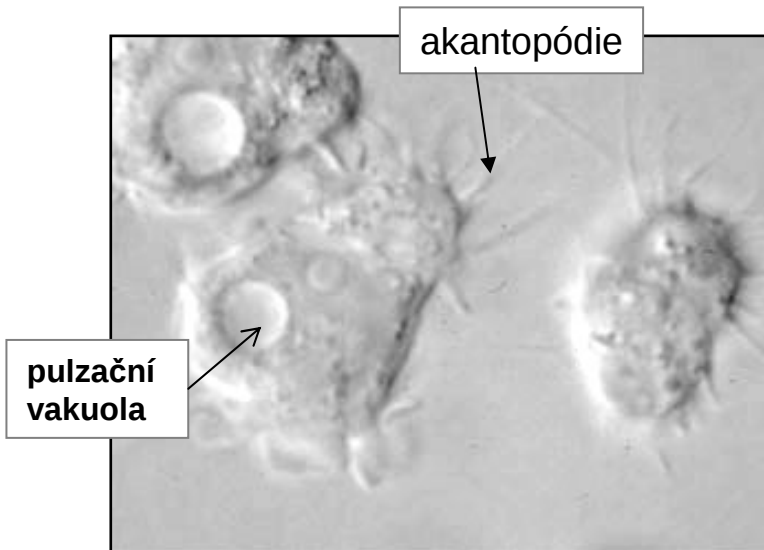
- vegetace
- z orgánů některých zvířat (ryby, plazi, obojživelníci)
- z nosní sliznice zdravých osob



ORGANISMUS

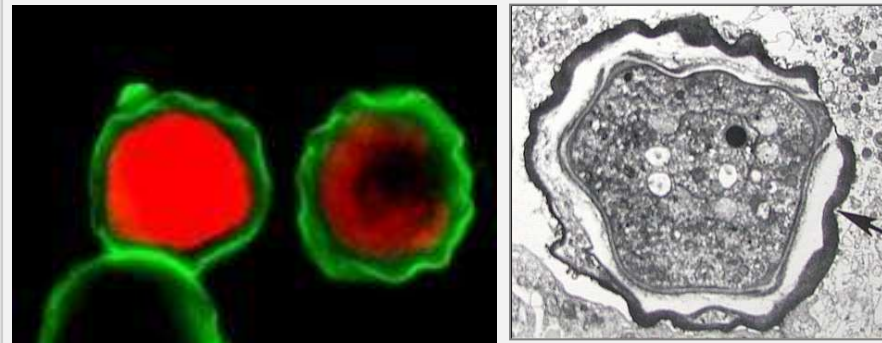
v životním cyklu akantaméb se střídají **2 stádia**

TROFOZOIT



pohyb: **velmi tenké panožky**
(akantopódie)

CYSTA

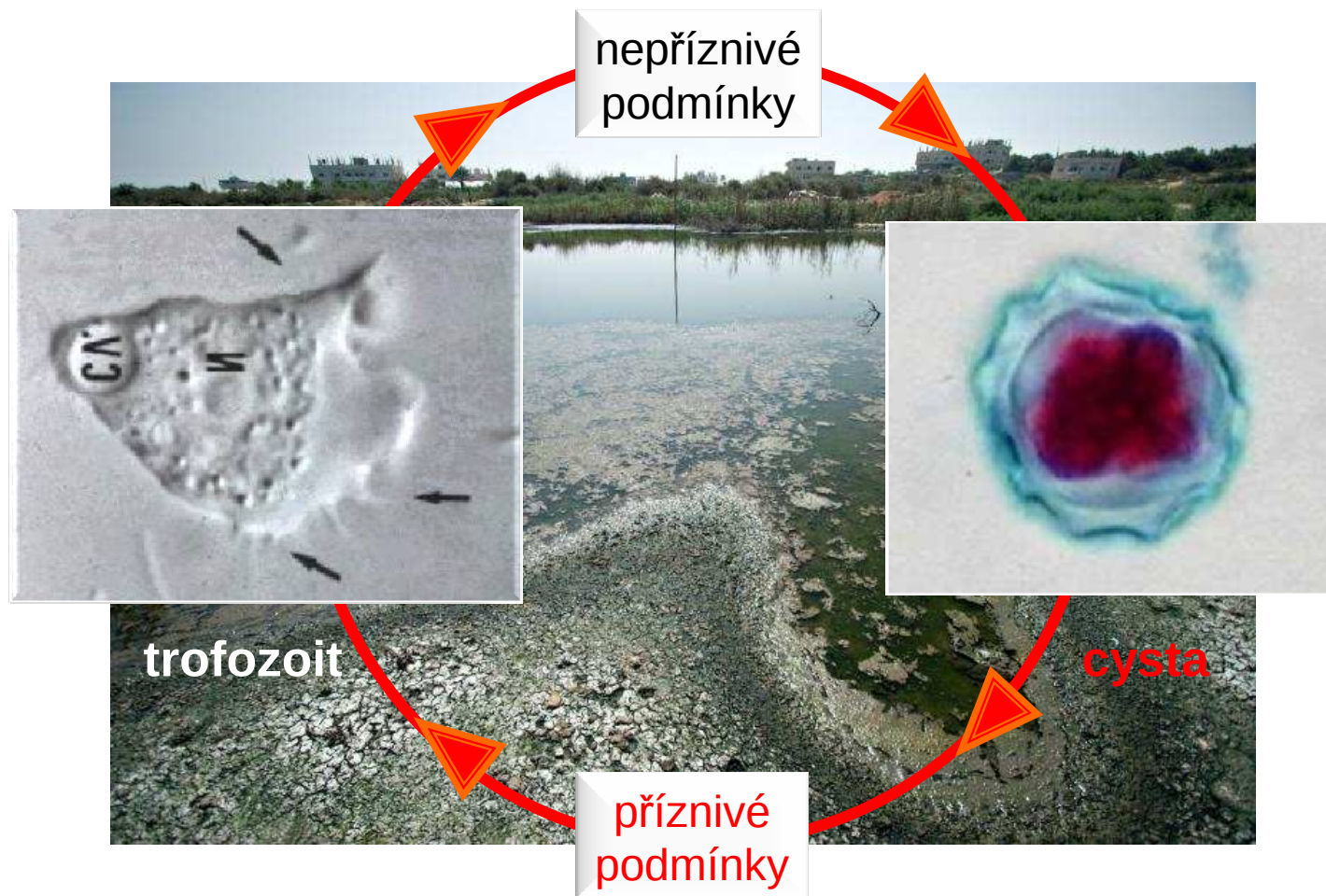


dvouvrstevná stěna cysty

velmi odolná k vlivům vnějšího prostředí

- vyschnutí
- dezinfekční látky
- léky

ŽIVOTNÍ CYKLUS



1. LOŽISKOVÁ 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

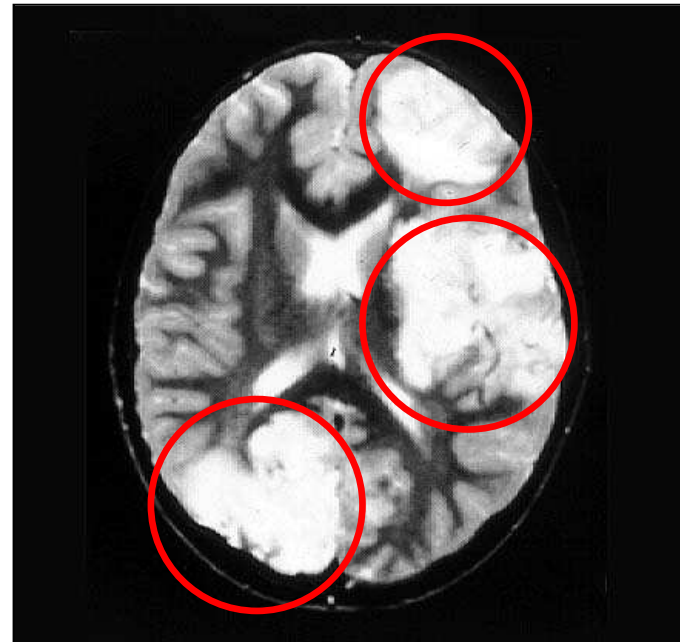
- **chronický ložiskový zánět mozku**
- **inkubační doba:** není známá (pomalý rozvoj příznaků), týdny - měsíce
- **plíživý nástup**
- **příznaky:**
 - nespecifické neurologické příznaky
 - bolest hlavy, zmatenost, vznětlivost, závratě
 - nevolnost, zvracení, horečka
 - hemiparézy, epilepsie**
 - halucinace,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

DIAGNOSTIKA GAE

Acanthamoeba

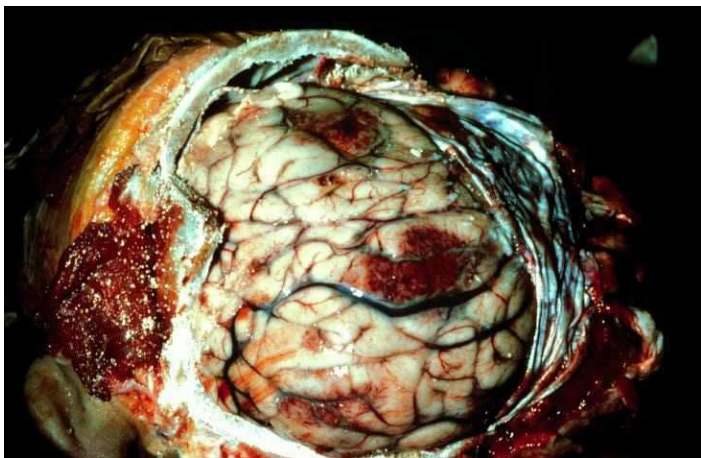
ZOBRAZOVACÍ METODY (CT, MRI):

- nespecifický nález ložiska v mozku
(ložiskové hemoragické léze)

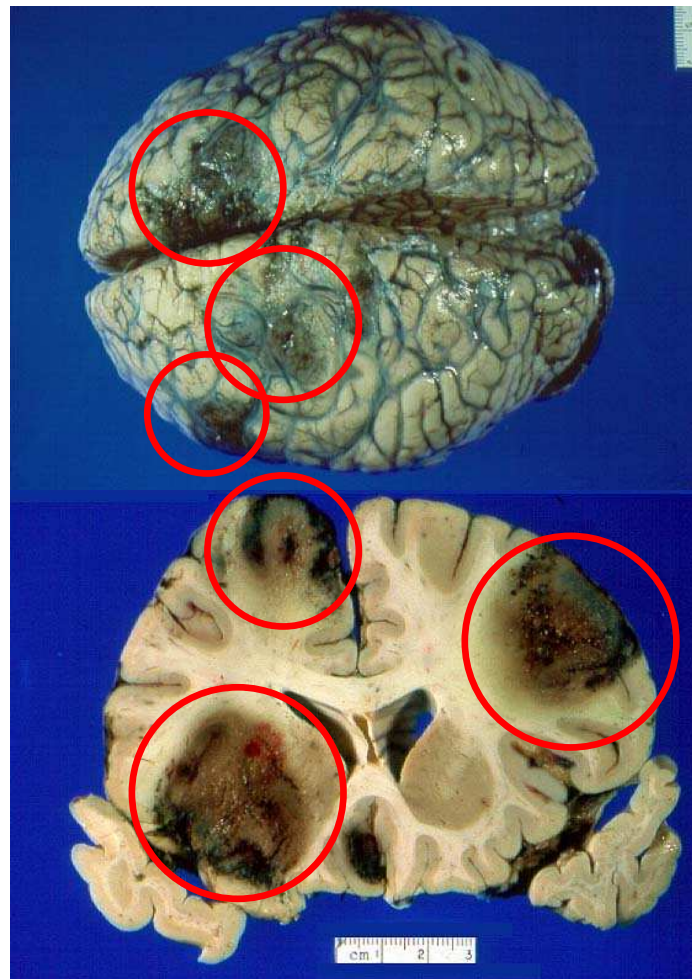


DIAGNOSTIKA GAE

Post mortem



ložiska hemoragických nekrotéz



2. DISEMINOVANÁ KOŽNÍ AKANTAMÉBOZA

KLINICKÝ OBRAZ



drobné noduly – rozsáhlé chronické, nehojící se vředy

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Acanthamoeba

Přímý průkaz

MATERIÁL

intra vitam

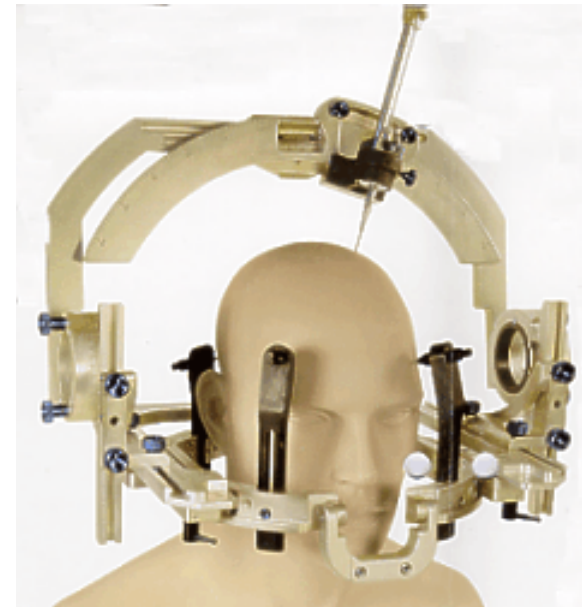
- **bioptát** (punkce ložiska v mozku, kůže)
- (mozkomíšní mok)

post mortem

- vzorek tkáně z ložiska (mozek, kůže)

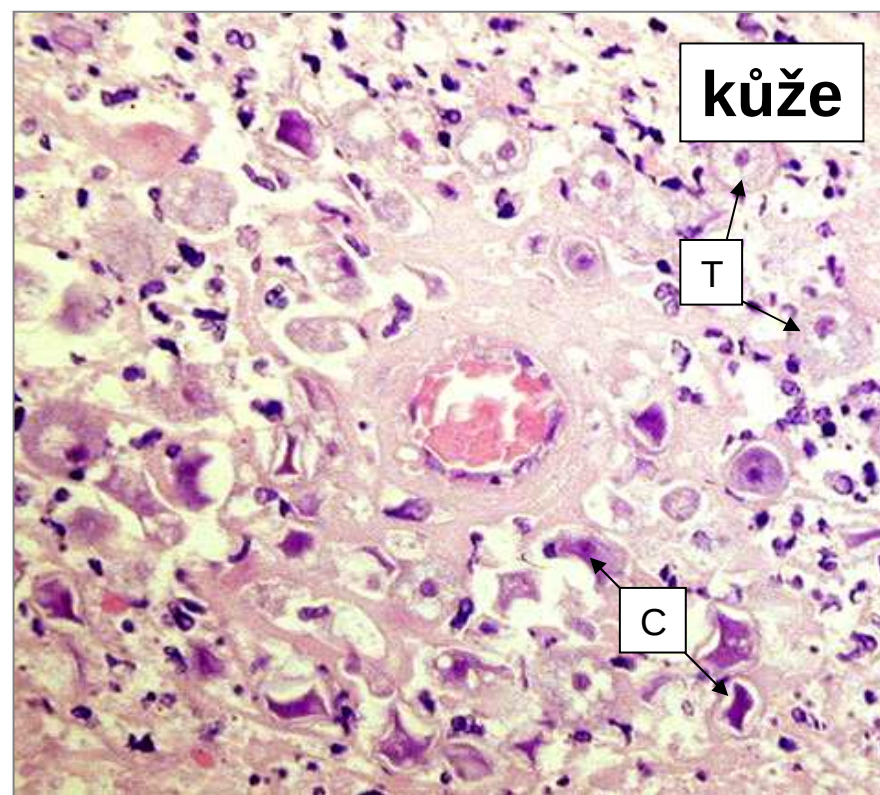
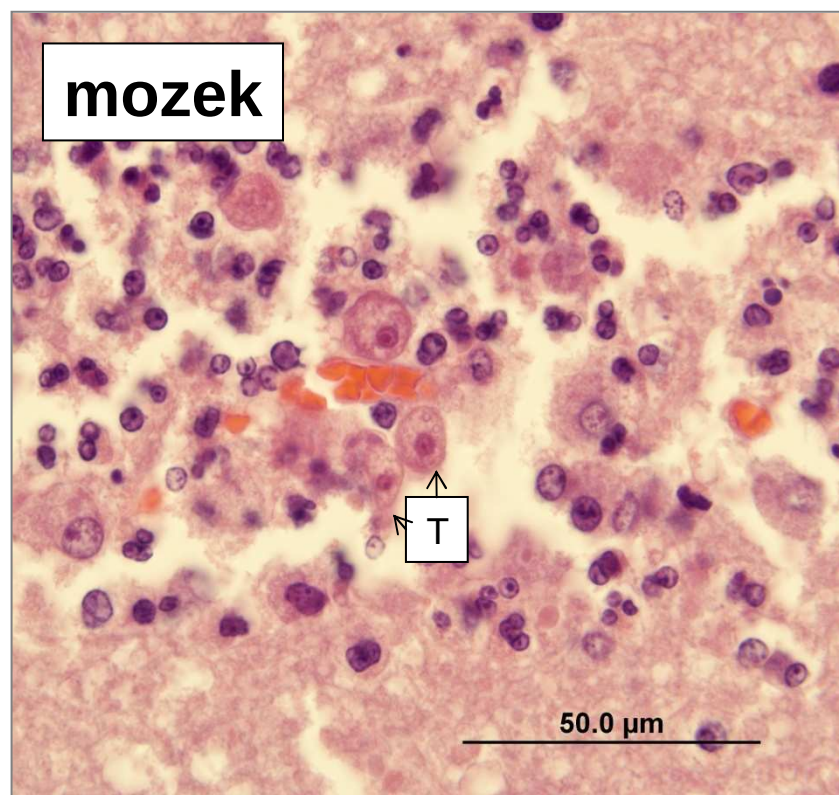
METODY

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



stereotaktická biopsie

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

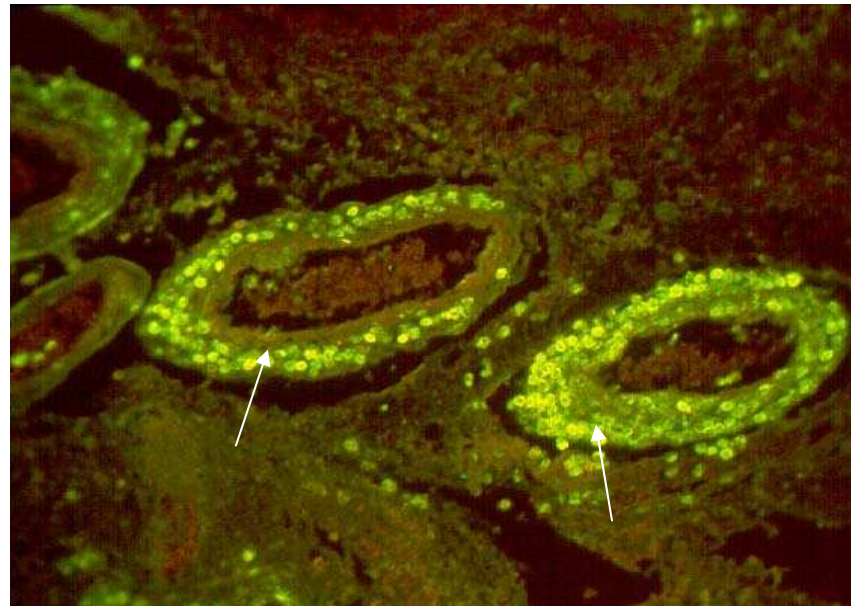


Histologické řezy
ve tkáních (mozek, kůže) obě stádia akantaméb: **trofozoity** a **cysty**

Acanthamoeba

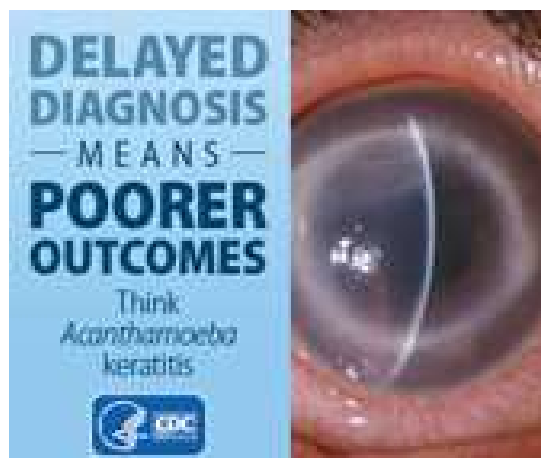
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

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



3. AKANTAMÉBOVÁ KERATITIDA (AK)

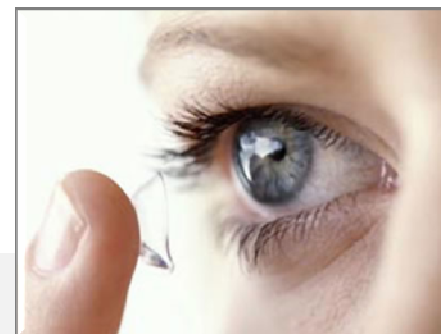
- chronický zánět rohovky imunokompetentních osob (?)
- ohrožuje zrak (zhoršené vidění – slepota)
- zpravidla velmi bolestivý



EPIDEMIOLOGIE AK

rizikové faktory

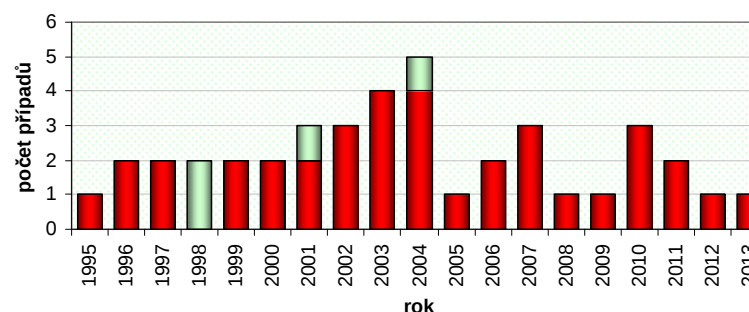
- nošení kontaktních čoček (80%)
- poranění oka (20%)



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

ČR
1995: 1. případ
incidence: ~ **3 případy/rok**
KČ/poranění: 37/4

Akantamébová keratitida v ČR
NRL pro oportunní parazitární nákazy



PATOGENEZE AK

přenos: KČ slouží k přenosu akantaméb na povrch rohovky

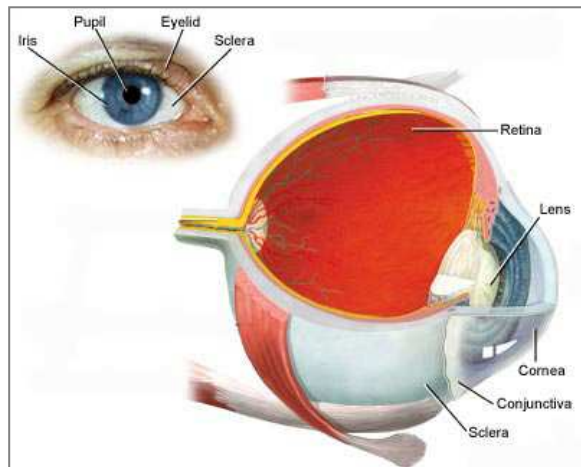
- nošení kontaktních čoček
- poranění oka
- abraze rohovky (experimentální AK)



**trauma
epitelových buněk rohovky**

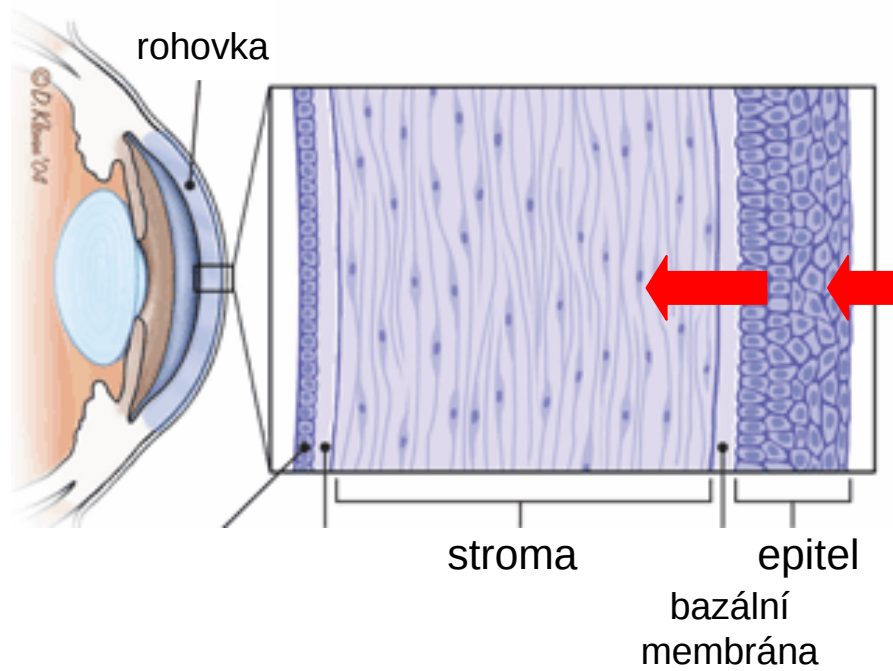
hypoxie, hyperkapnie



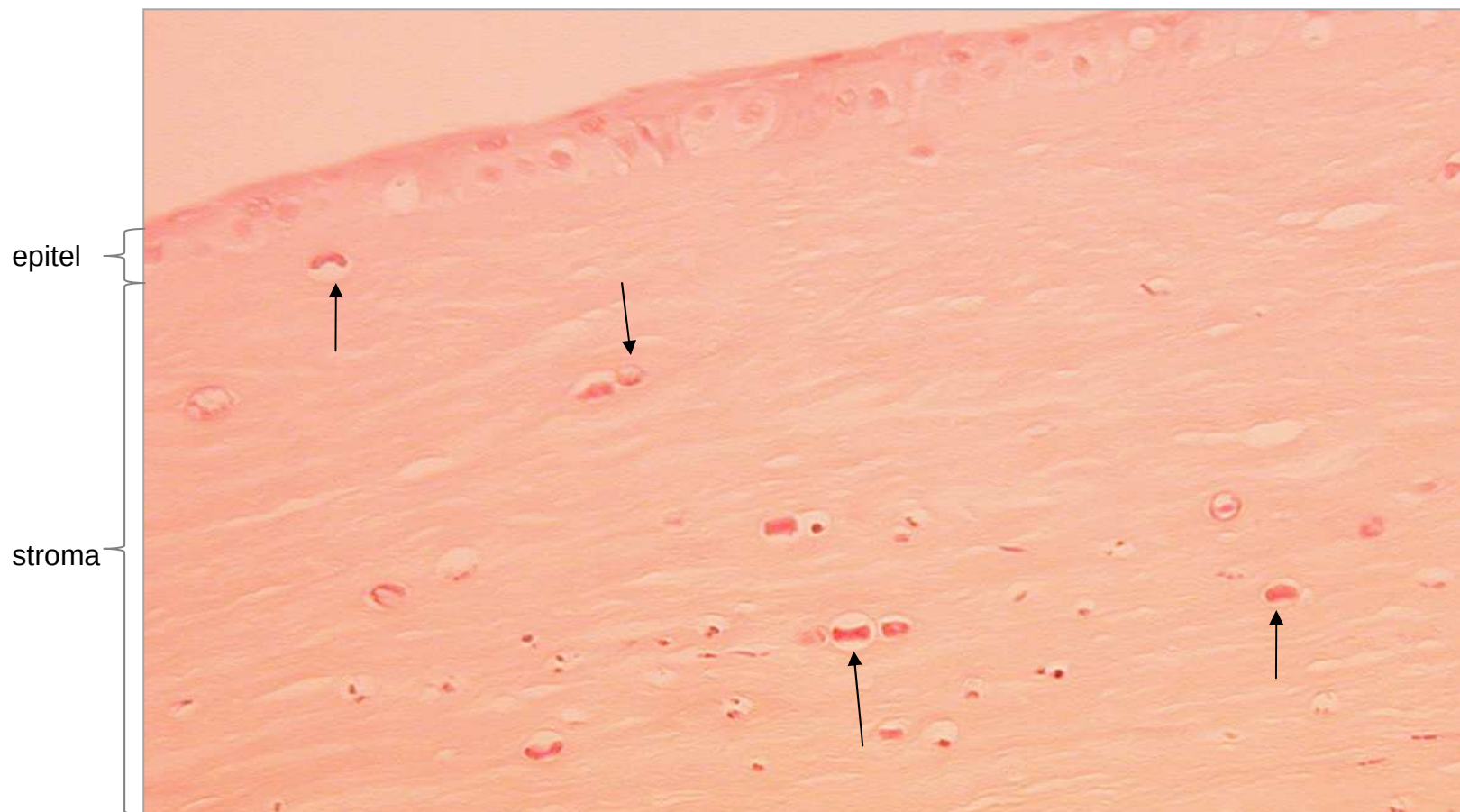


PATOGENEZE AK

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



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



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

Acanthamoeba

1-2 případy AK / milion nosičů KČ

= většina nosičů KČ: nedojde k nákaze (x ? k rozvoji)

OBRANA ??? PŘIROZENÁ IMUNITA ?

KLINICKÝ OBRAZ AK

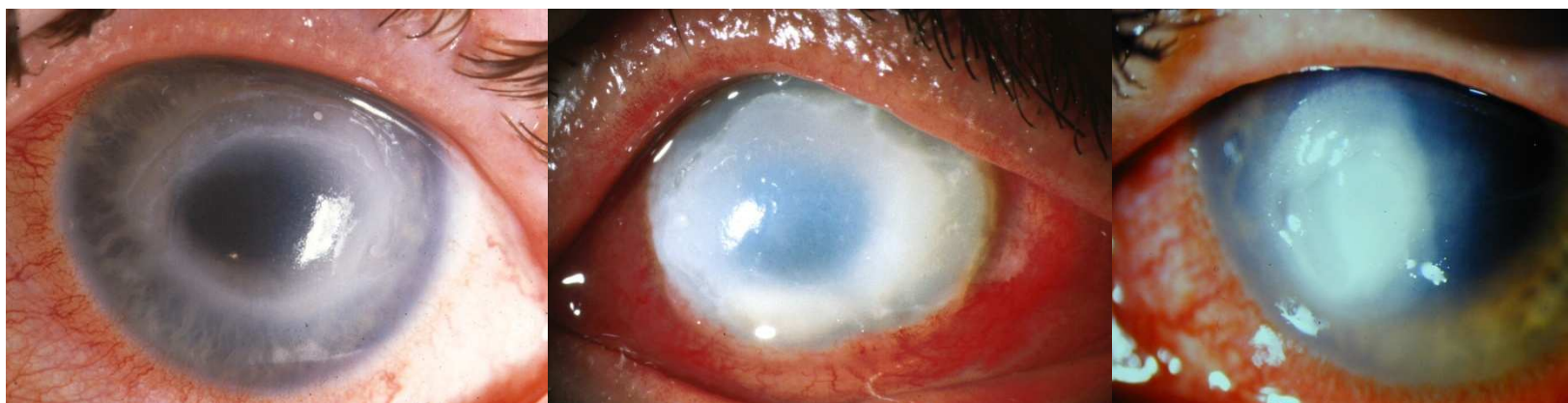
Příznaky

Začátek onemocnění

- bolest oka, světloplachost, slzení, zhoršené vidění, tlak v oku, červené oko

Pokročilá fáze

- kruhovitý infiltrát ve stromatu



- léčení obtížné, dlouhodobé, transplantace rohovky

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AK

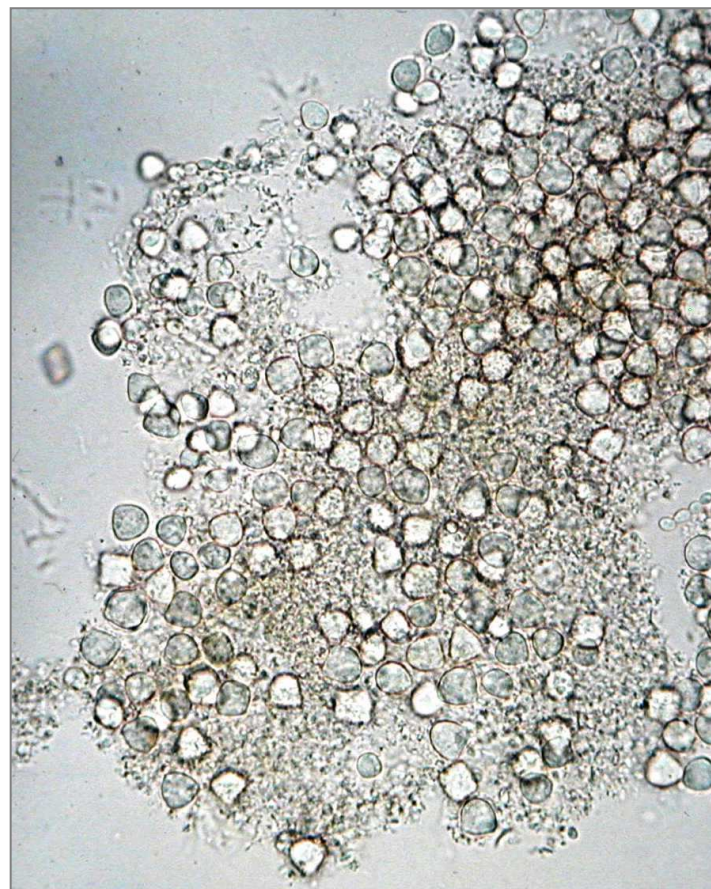
Přímý průkaz

MATERIÁL:

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

METODA:

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



nativní preparát z pouzdra na KČ: **cysty**

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AK

Kultivace

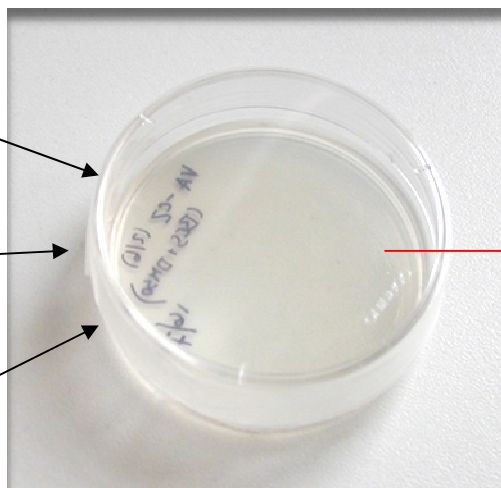
při 28°C/2-7 dnů
trofozoity, cysty



seškrab z vředu

část rohovky

kontaktní čočky
roztok z pouzdra



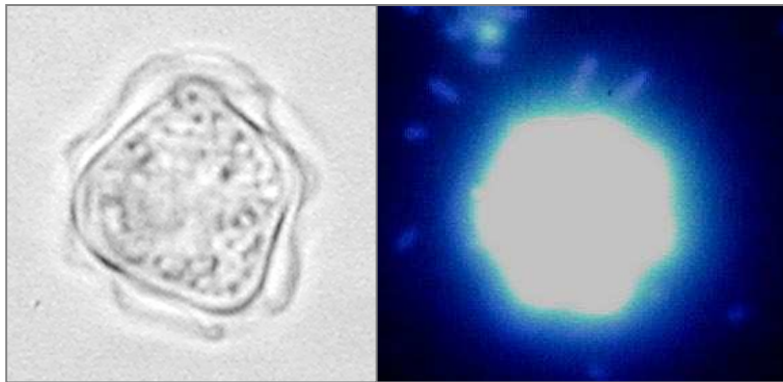
trofozoity



cysty

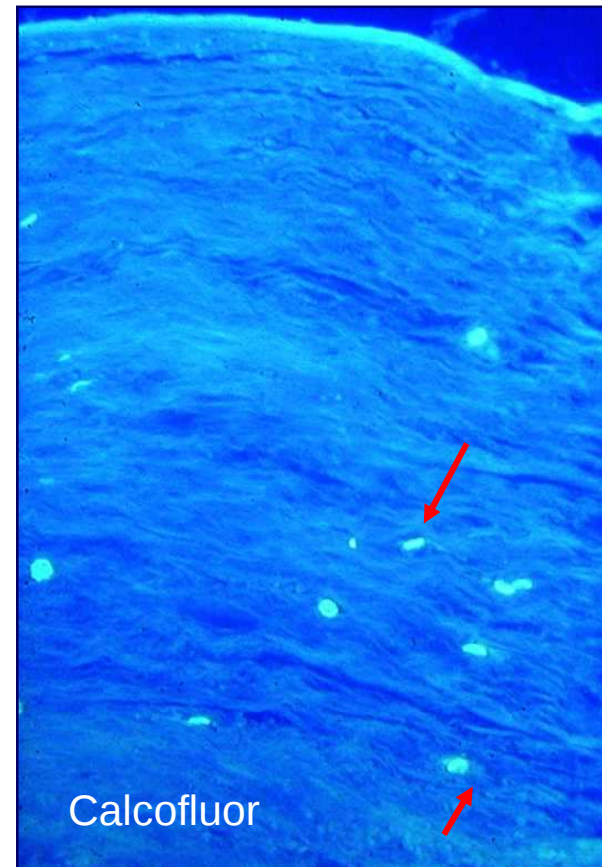
LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AK

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



PRINCIP:

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



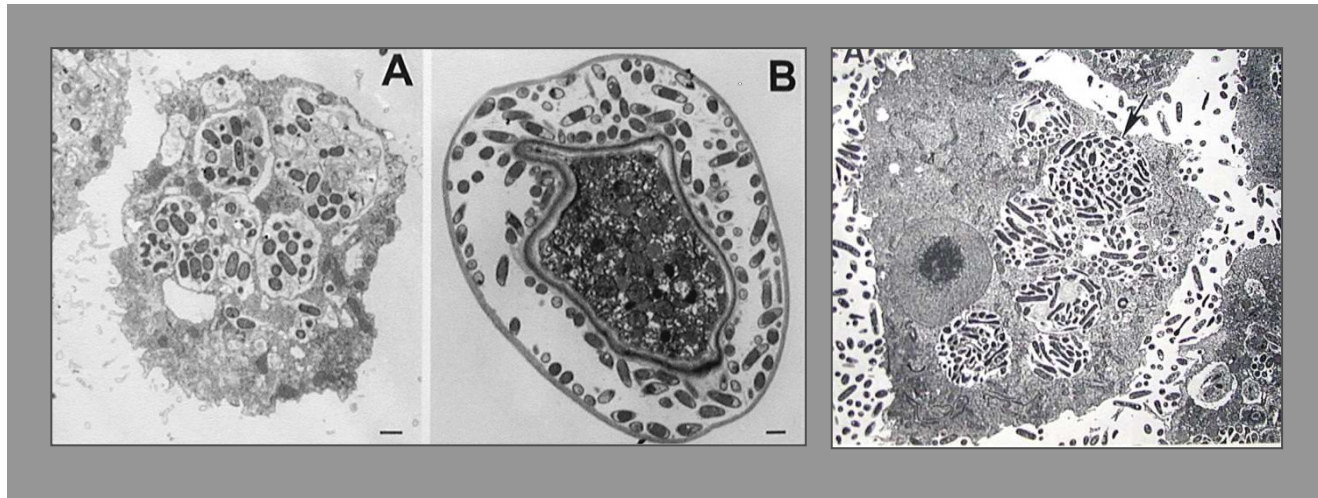
PREVENCE AK

- správná manipulace s kontaktními čočkami (KČ)
dezinfekce vhodnými roztoky podle návodu
dodržování základních hygienických pravidel
- dodržování doby nošení
zamezuje uchycení nákazy
(bílkovinný povlak na opakovaně používaných KČ usnadňuje přichycení akantaméb)
- KČ by neměly zůstat na očích během spánku
(při několikahodinovém spánku s KČ se zvyšuje trauma rohovky)
- KČ by neměly být používány při koupání a potápění

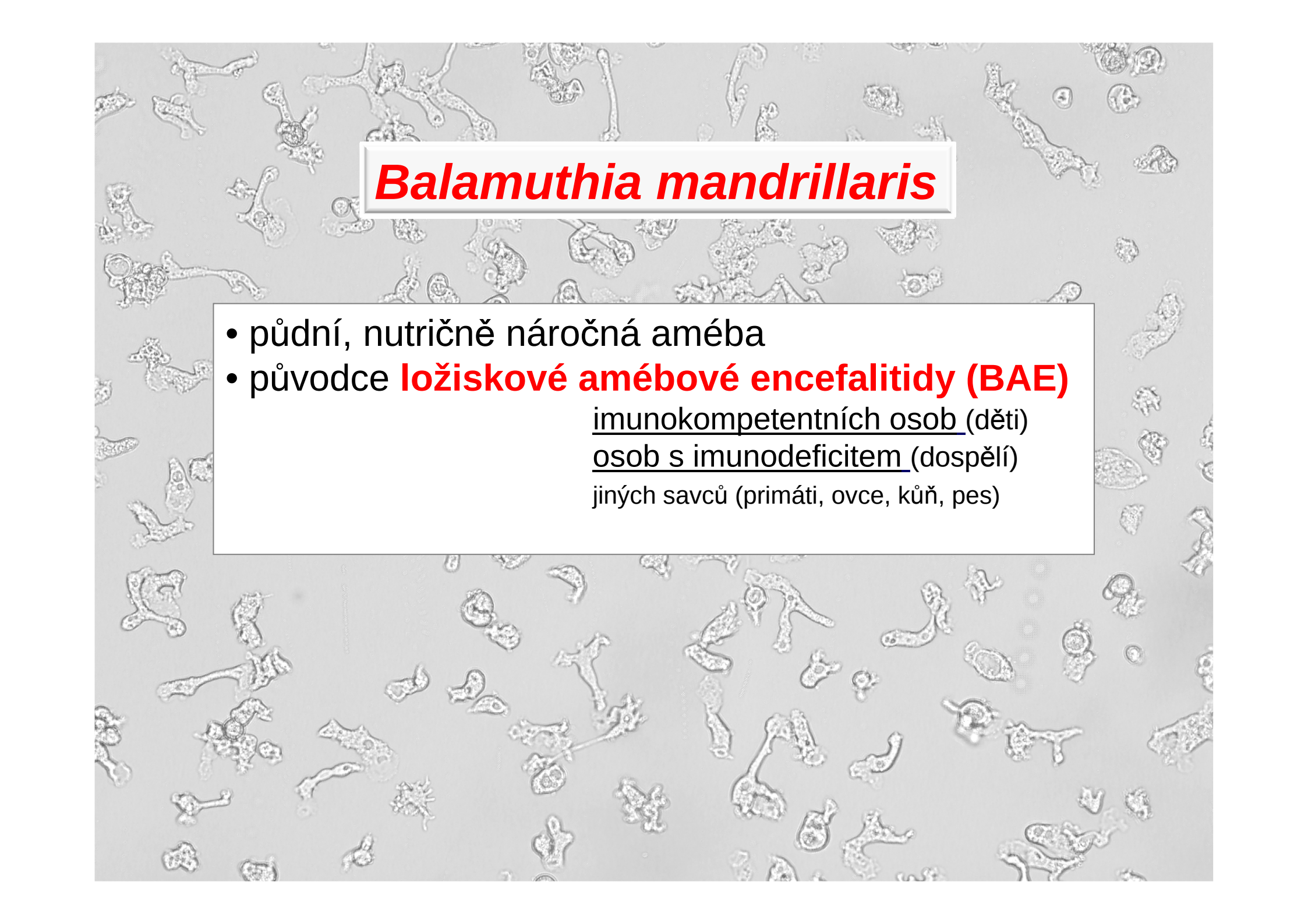
INTERAKCE AKANTAMÉB S BAKTERIEMI

akantaméby jsou přirozeným prostředím pro bakterie

→ možný **rezervoár bakterií patogenních pro člověka**



Legionella pneumophila



Balamuthia mandrillaris

- půdní, nutričně náročná améba
- původce **ložiskové amébové encefalitidy (BAE)**
 - imunokompetentních osob (děti)
 - osob s imunodeficitem (dospělí)
 - jiných savců (primáti, ovce, kůň, pes)

***Balamuthia mandrillaris* a BAE**

Historie

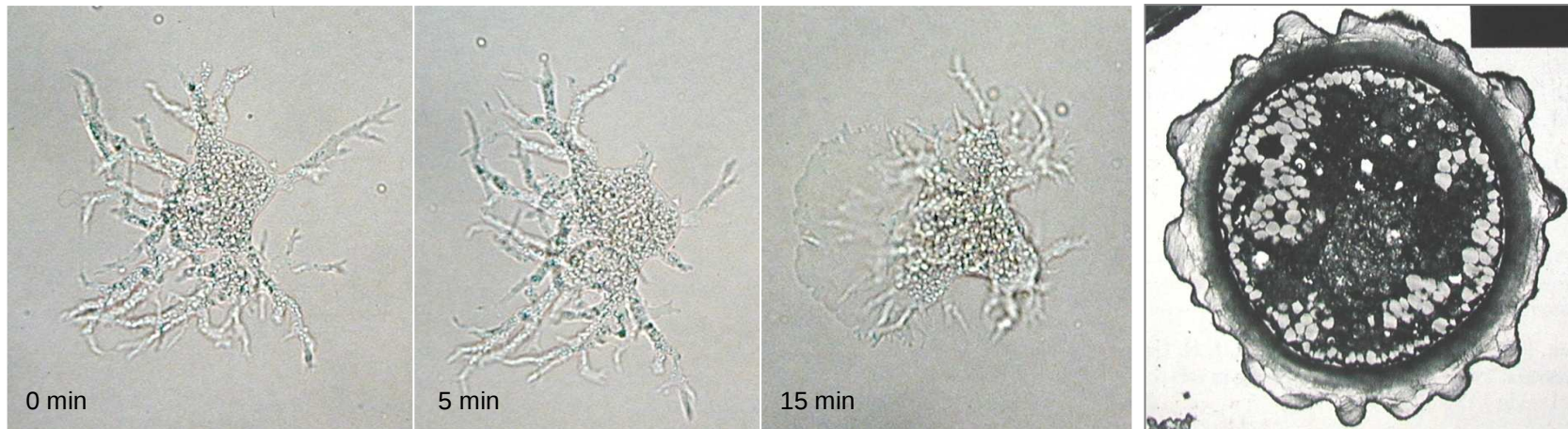
- 1986:** kočkodan (USA) †
- 1989:** **1. případ infekce člověka (USA: AIDS) †**
- 1993:** jméno: *Balamuthia mandrillaris*
- 1995:** 60 případů (S.+J. Amerika, Austrálie, Asie)
1. případ v Evropě (ČR) - dítě 3,5 roku †
- 2003:** **balamutie izolovány z přírody**
- 2008:** ~ 150 případů, z toho asi 1/3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



Balamuthia mandrillaris

ORGANISMUS

v životním cyklu se střídají 2 stádia



TROFOZOIT

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

CYSTA

velmi odolná
třívrstevná stěna cysty

LOŽISKOVÁ AMÉBOVÁ ENCEFALITIDA - BAE

EPIDEMIOLOGIE

- jak se člověk nakazí: brána vstupu
 - • **kůže**
 - • horní cesty dýchací
 - • transplantace orgánů
- } **hematogenní rozsev do mozku**

Kůže:

11 případům GAE předcházely

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

Revize histologických preparátů
z kožních lézí: *Balamuthia mandrillaris*



EPIDEMIOLOGIE BAE

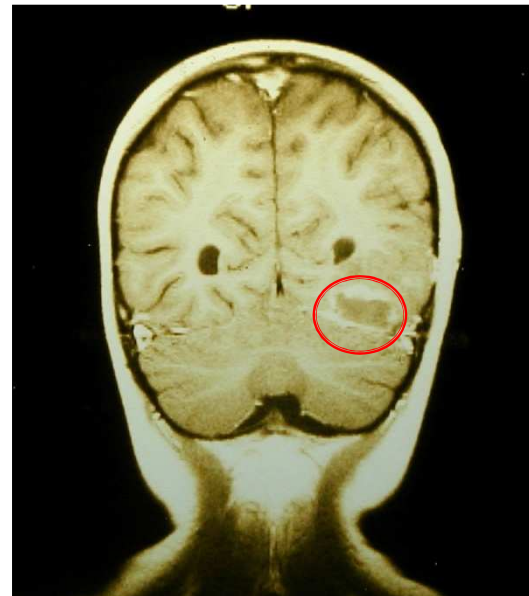
- zdroj nákazy
 - • ??? hlína
 - • transplantovaný orgán
- kdo se nakazí
 - • **dospělé osoby** (18 – 72 let)
s imunodeficitem i bez prokázaného imunodeficitu
 - • **děti** (0.3-14 let): **bez prokázaného imunodeficitu**
- prevalence:
 - velmi vzácná nákaza**
 - ~ 150 případů (z toho asi 1/3 děti), z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

KLINICKÝ OBRAZ BAE

- subakutní až chronický ložiskový zánět mozku

Příznaky

bolest hlavy, nevolnost, zvracení
poruchy zraku, křeče, parézy
koma, smrt



Zobrazovací metody:
průkaz ložiska (1- několik)

Nákaze mozku často předchází chronická kožní léze

Balamuthia mandrillaris



chronická kožní léze

- obvykle ve středové oblasti obličeje
- nereaguje na léčbu

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA BAE

MATERIÁL

- **bioptát** (punkce ložiska v mozku)
- sekční

METODY

- **kultivace in vitro:**

kultura **tkáňových buněk**

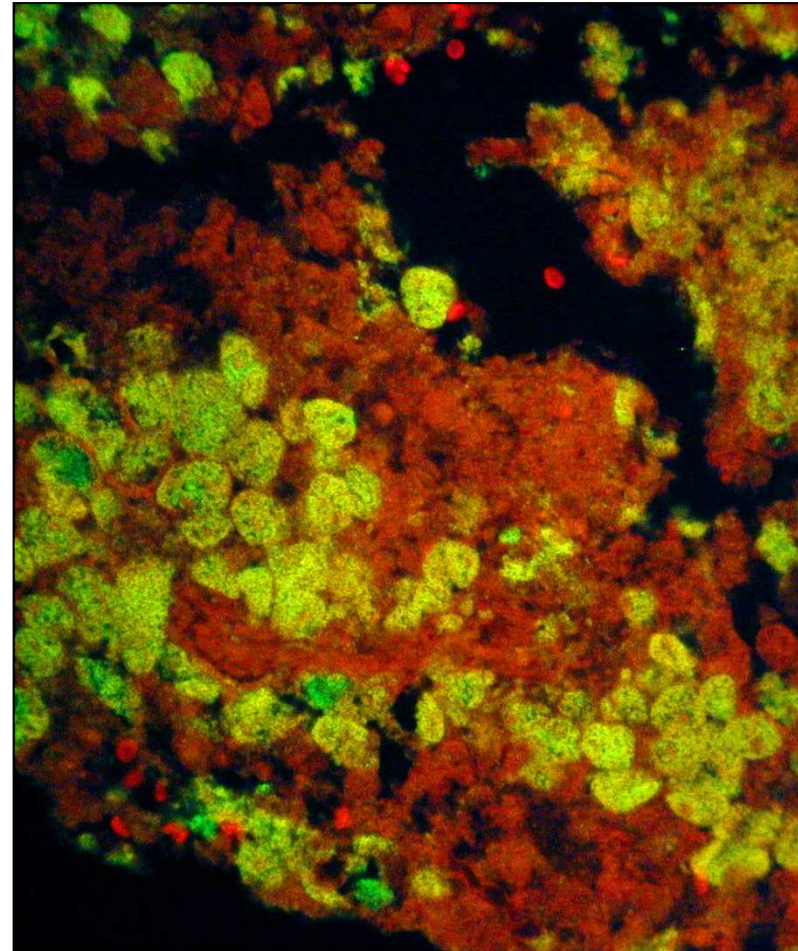
- histologie:

2-3 **jadérka v jádře !!!**

- nepřímá imunofluorescence

protilátka specifická proti *B.m.*

- PCR



IFAT s protilátkou specifickou
pro *Balamuthia mandrillaris*

KULTIVAC

E

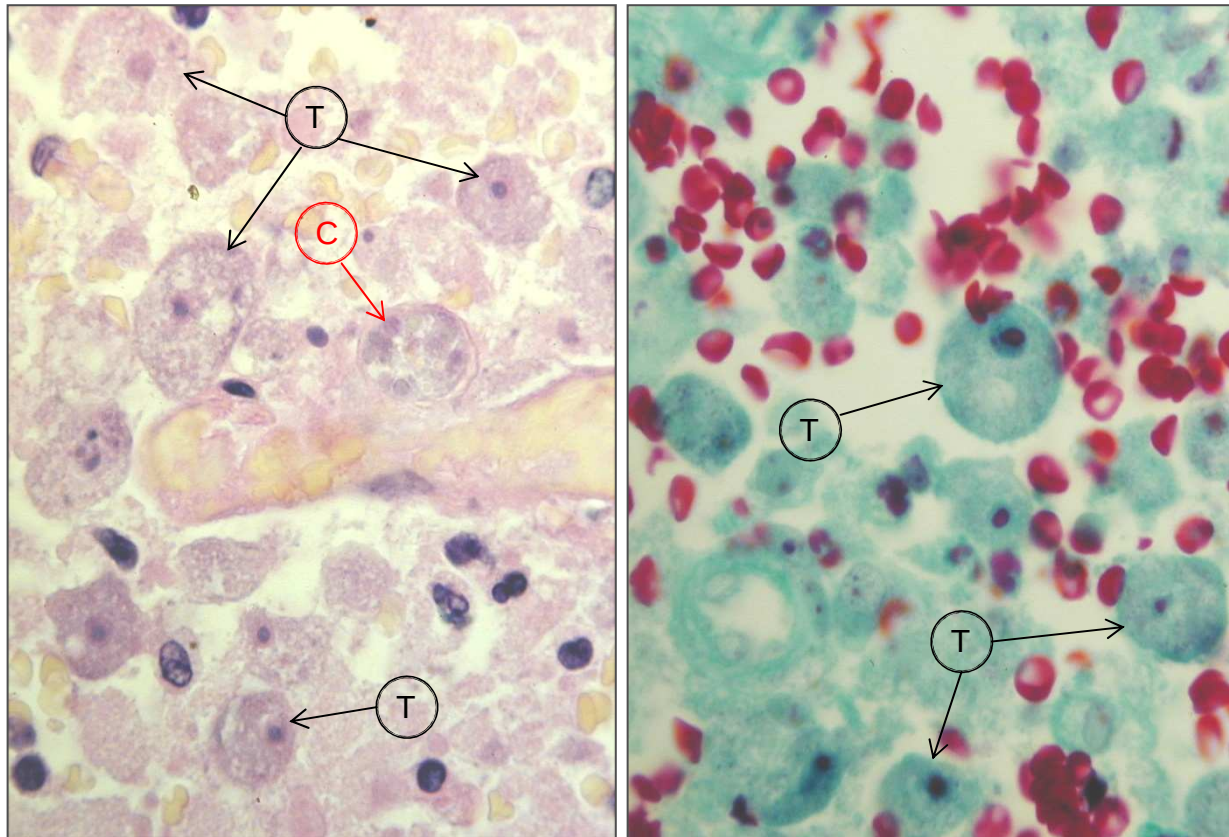


tkáňové buňky

Balamuthie likvidující tkáňové buňky in vitro

HISTOLOGIE

v mozkové tkáni: **trofozoity i cysty balamutií**



T – trofozoit, C - cysta

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
(Vrbenského lázně)

1962 (VIII.): 3 případy

1963 (VII.): 6 případů

1964 (XI.): 5 případů

1965 (IX.): 2 případy

1968: 1 případ (12 let/M)

Most: venkovní bazén

1984: 1 případ (11 let/M)

SČ: potok s vodou z chladicího
okruhu elektrárny

BAE (*B. mandrillaris*)

1 případ (EVROPA)

1995: 3.5 roku/M

Praha

zdroj nákazy a místo
vstupu neznámé



AK (*Acanthamoeba*)

celkem: **41 případů**

1995: 1.případ



KČ 80% případů
(ø věk: 29 let)

