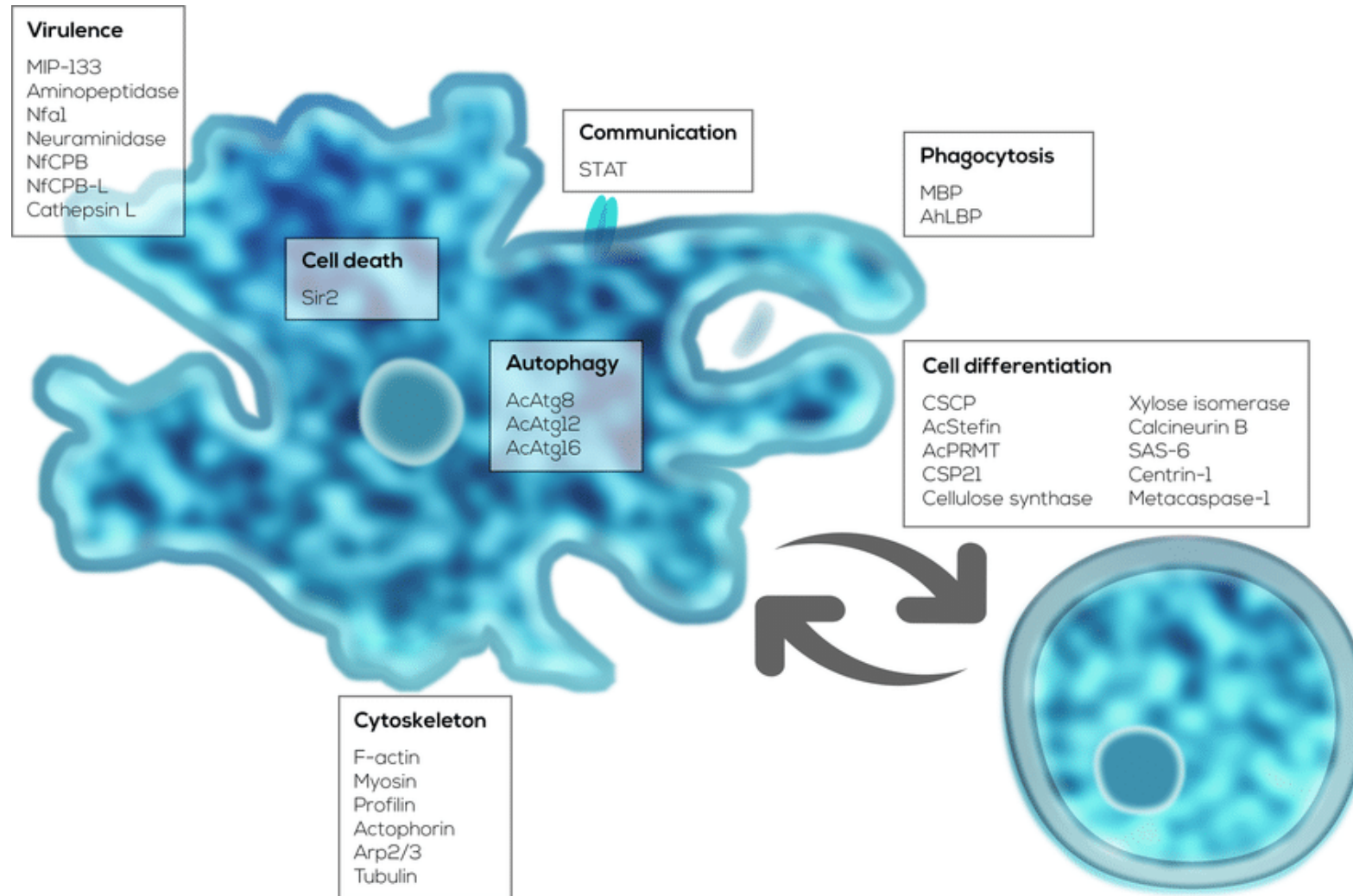


# FLA – Free living amoebae (amfizoické)



## **Volně žijící améby: 1) Excavata – Heterolobosea – Naegleria 2) Amebozoa – Lobosa - Acanthamoeba**

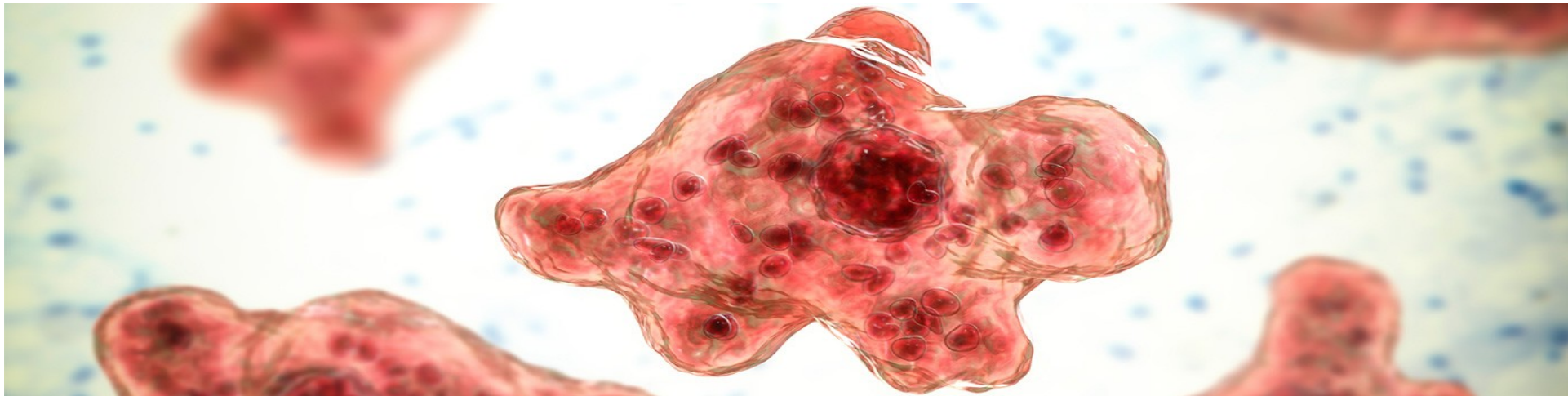
### **Volně žijících améby jako patogeni člověka**

Volně žijící améby jsou nedílnou součástí vnějšího prostředí a dříve jim nebyla věnována téměř žádná pozornost. V 50. letech byly považovány za laboratorní kuriozitu, neboť byly nalezeny v tkáňových kulturách pocházejících z ledvin opic, které sloužily k růstu viru polomyelitidy. Později v 60. letech byly poprvé zjištěny v respiračním traktu člověka a teprve po roce 1965 jim začala být věnována pozornost, neboť se podařilo prokázat jejich souvislost se smrtí lidí v Austrálii, USA a v Československu.

Doposud bylo zaznamenáno asi 200 úmrtí lidí způsobené těmito amébami v důsledku jejich průniku do centrálního nervového systému člověka. Největší počet 144 případů je přičítáno druhu *Naegleria fowleri*, zbývající část je působena amébami rodu *Acanthamoeba* (40 případů) a druhem *Balamuthia mandrillaris* (16 případů). Je zřejmé, že tyto améby disponují velikým patogenním potenciálem a mohou za zatím ne zcela známých okolností působit smrtelná onemocnění lidí.

# Naegleria fowleri

- ***Naegleria fowleri*** je jednobuněčný organismus z kmene Heterolobosea, **fakultativní parazit**, u lidí způsobuje tzv. **primární amébovou meningoencefalitidu (PAM)**.



- Primárně žije **ve sladké vodě**, toleruje **vysoké teploty** až do 45 °C, jaké panují např. v okolí **výpustí z elektráren** či v **termálních pramenech**.



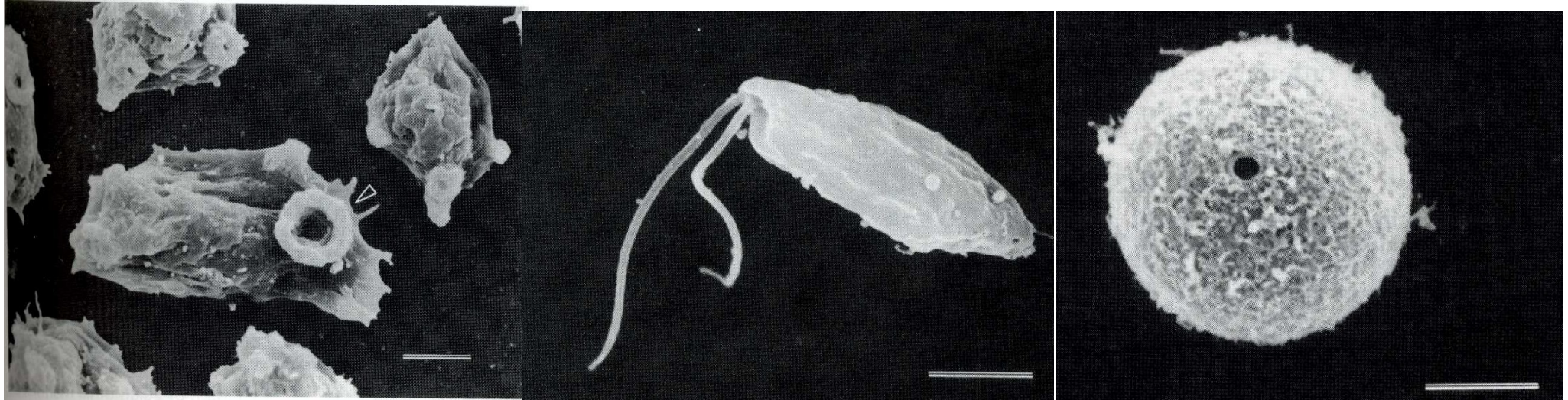
## Naegleria fowleri

### Morfologie

Trofozoiti těchto améb jsou podlouhlého tvaru a dosahují velikosti od 8 až 22 $\mu$ m. Přední konec je obvykle poněkud širší. Pohybem připomínají pohyb slimáka od čehož pochází označení „Limax“.

Bičíkatá forma dosahuje velikosti 7 až 15 $\mu$ m. Oba bičíky začínají na předním konci a jsou organelou pohybu.

Cysty měří od 9 do 12 $\mu$ m a jsou oválného tvaru s relativně silnou stěnou.



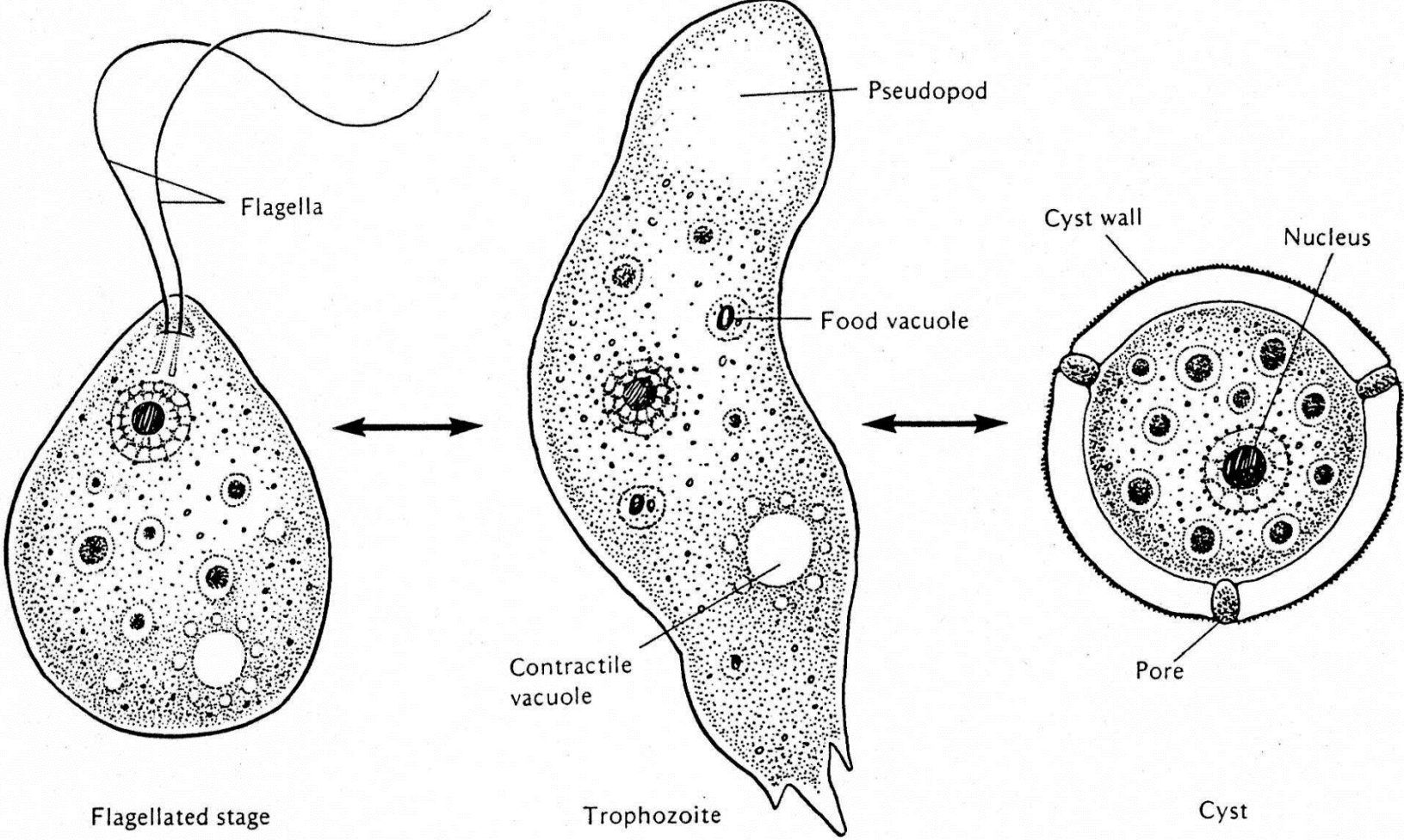
Trofozoit – améboidní stádium

Trofozoit – bičíkaté stádium

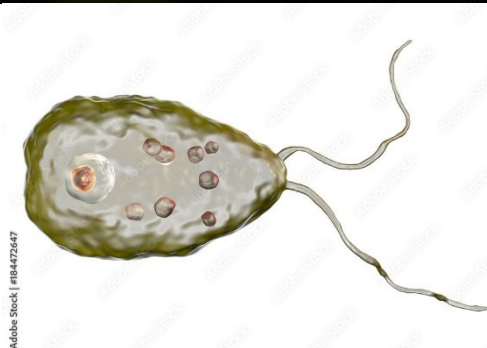
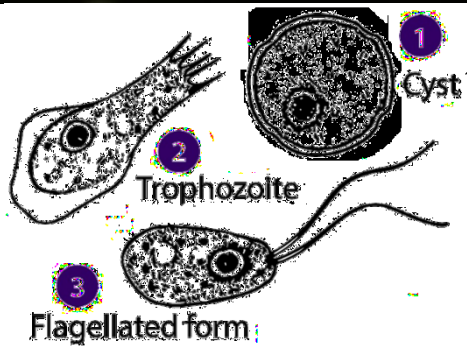
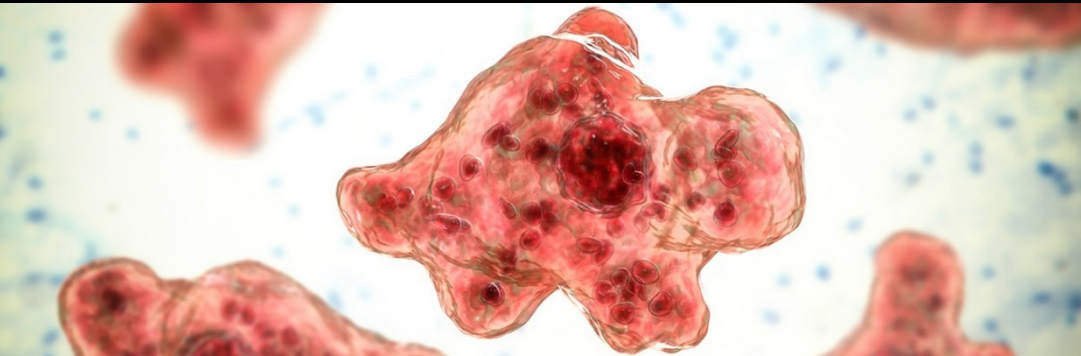
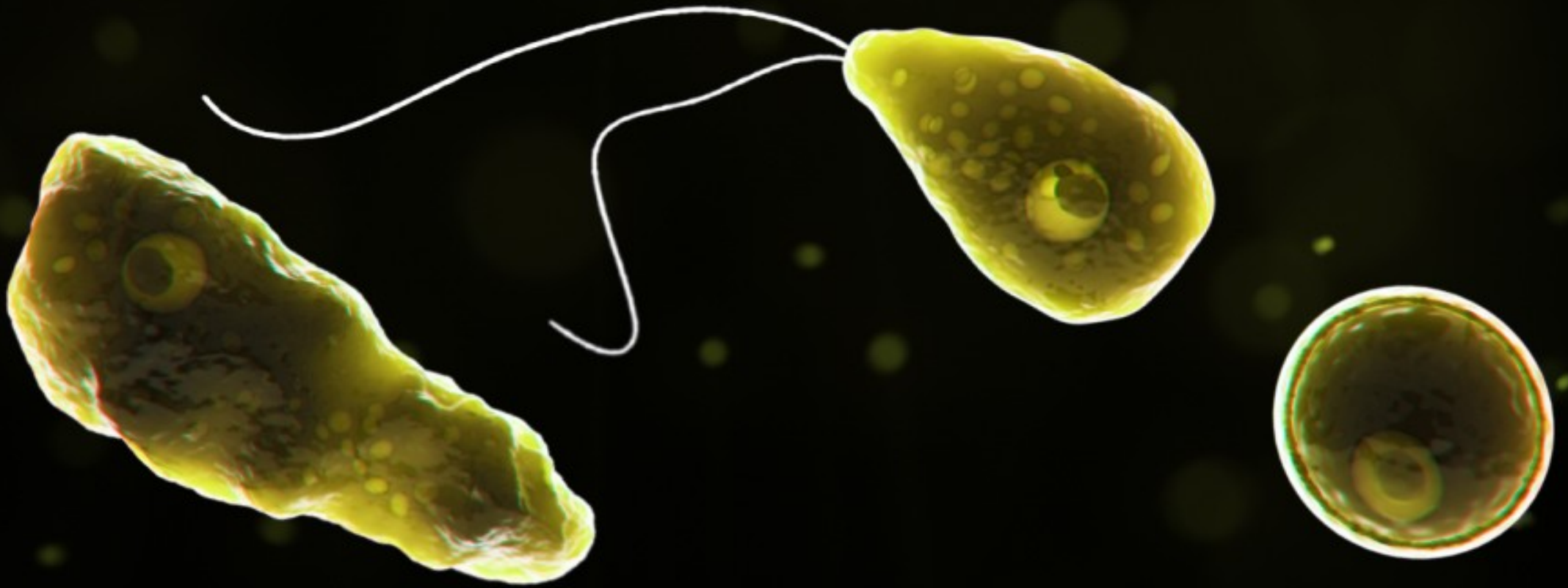
Cysta



**Naegleria fowleri**



**FIGURE 8.1** The life cycle and morphology of *Naegleria fowleri*: flagellated form, trophozoite, cyst.





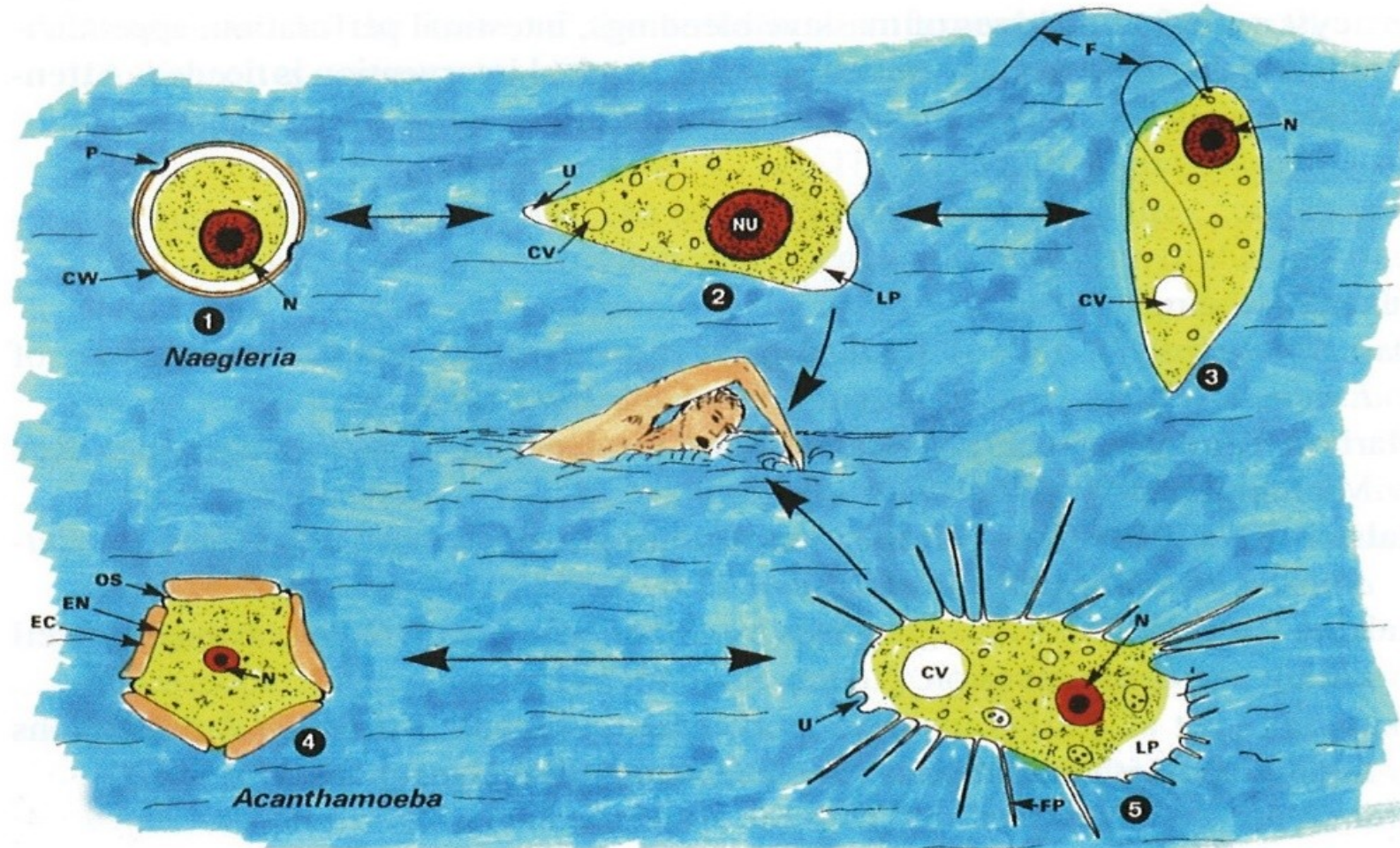
# Životní cyklus a patogenita

Množení probíhá formou binárního dělení, nejsou zde žádná pohlavní stádia. Není známo, které stádium má schopnost pronikat do organismu savců včetně člověka. Předpokládá se, že životní cyklus probíhá za normálních okolností ve vnějším prostředí. Člověk přichází do kontaktu s touto amébou při plavání a koupání v kontaminované vodě. Trofozoiti pronikají do těla přes nosní sliznici a migrují do mozku, kde působí rychlou destrukci napadené tkáně. Předpokládá se, že některé infekce mohou být rovněž způsobeny vdechnutím cyst. Mechanismus a místo transformace vdechnuté cysty v trofozoita však není znám.

- Lidé se mohou nakazit tak, že jim tento prvok **pronikne do těla obvykle nosní dutinou**, a to v jakémkoliv životním stádiu. Po proniknutí do těla následně **měňavková stádia** prochází **skrz sliznici a podél čichového nervu se dostává do mozku**.
- Zde způsobují **lýzu mozkových buněk a zánět**, brzy poté **kóma a smrt**.



# Volně žijící améby a jejich vývojová stádia - Naegleria a Acanthamoeba



**Fig. 3.22** Diagrammatic representation of the developmental stages of Naegleria and Acanthamoeba species. *CV* contractile vacuole; *CW* cyst wall; *EC* outer cyst wall; *EN* inner cyst wall; *FP* filopodium; *F* flagellum; *LP* lobopodium; *N* nucleus; *NU* nucleolus; *OS* ostiole; *P* pore; *U* uroid=posterior pole



# Životní cyklus

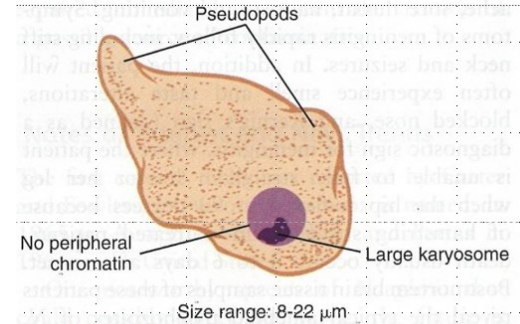
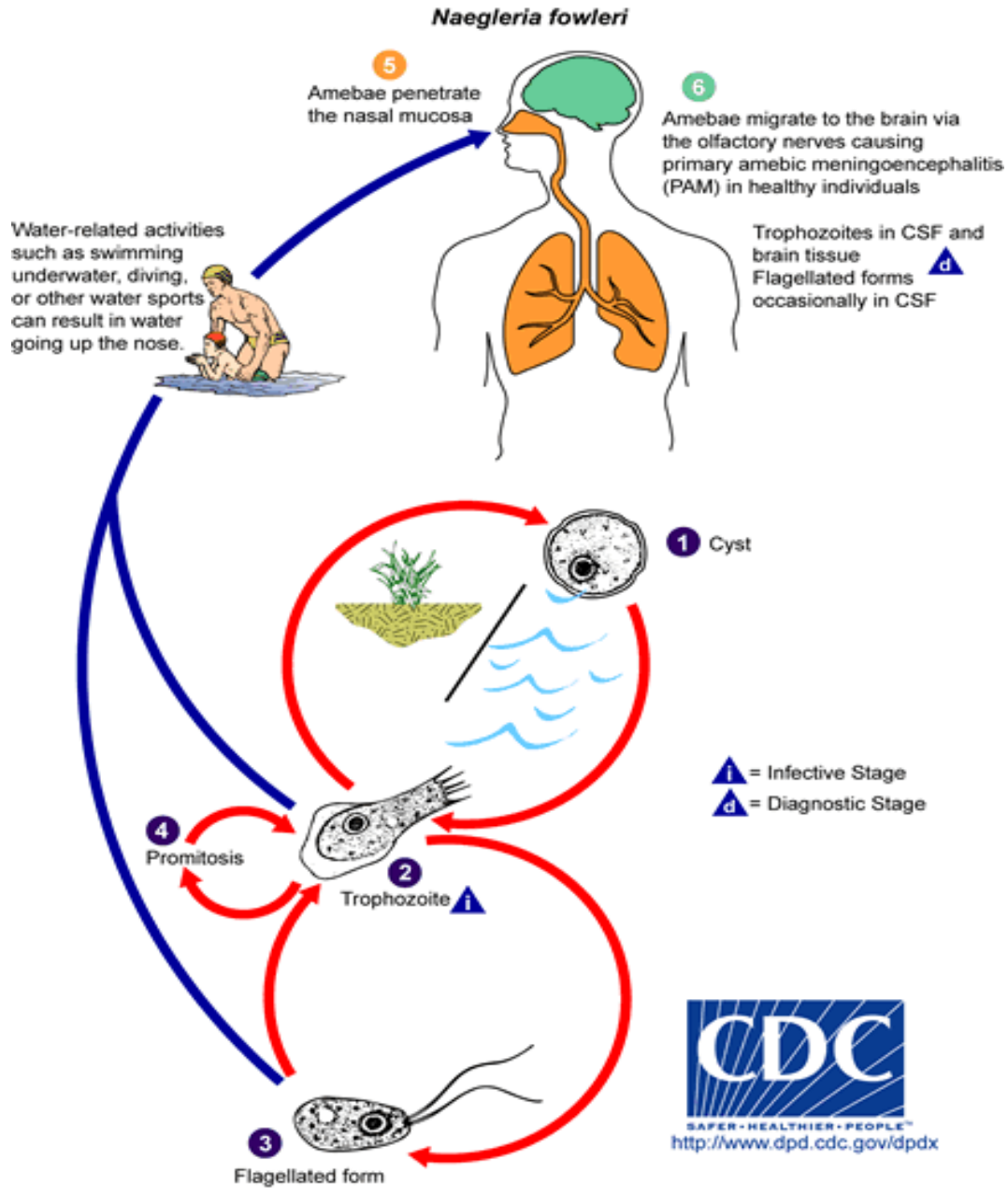


FIGURE 3-19 *Naegleria fowleri* ameboid trophozoite.

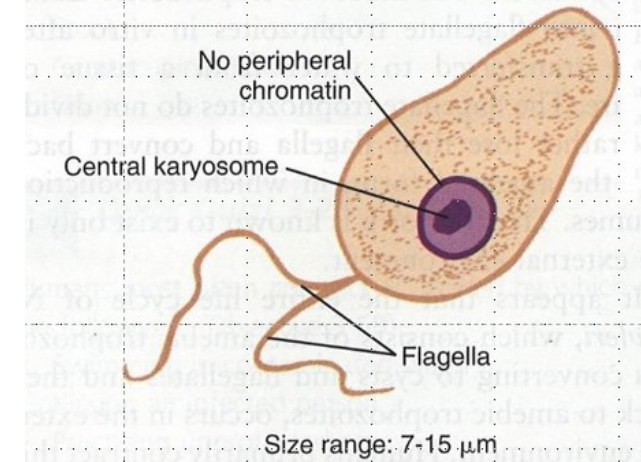


FIGURE 3-20 *Naegleria fowleri* flagellate form.

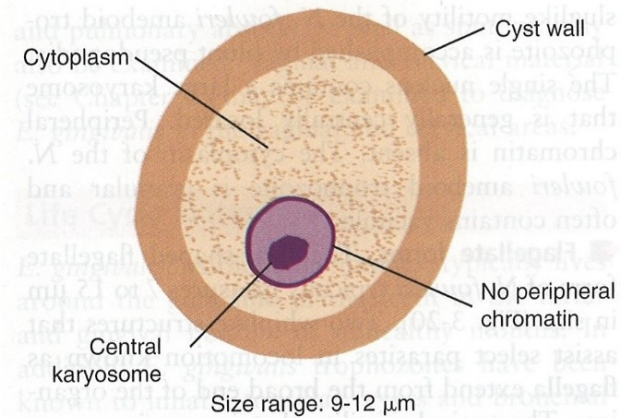
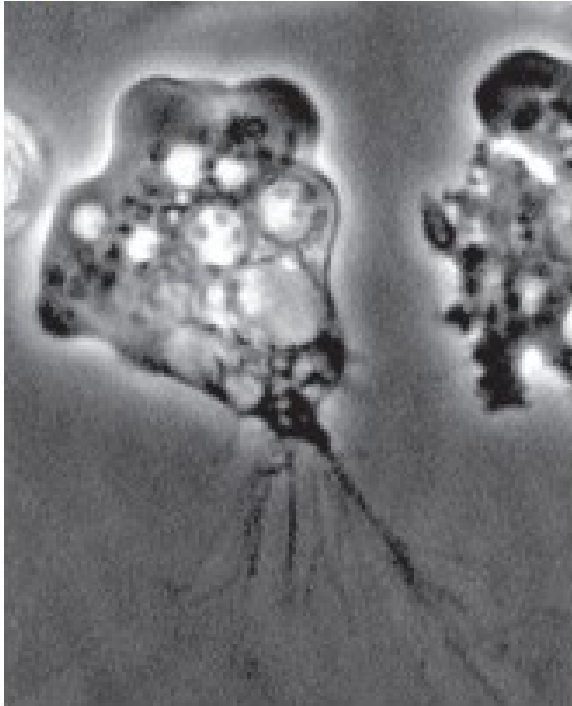


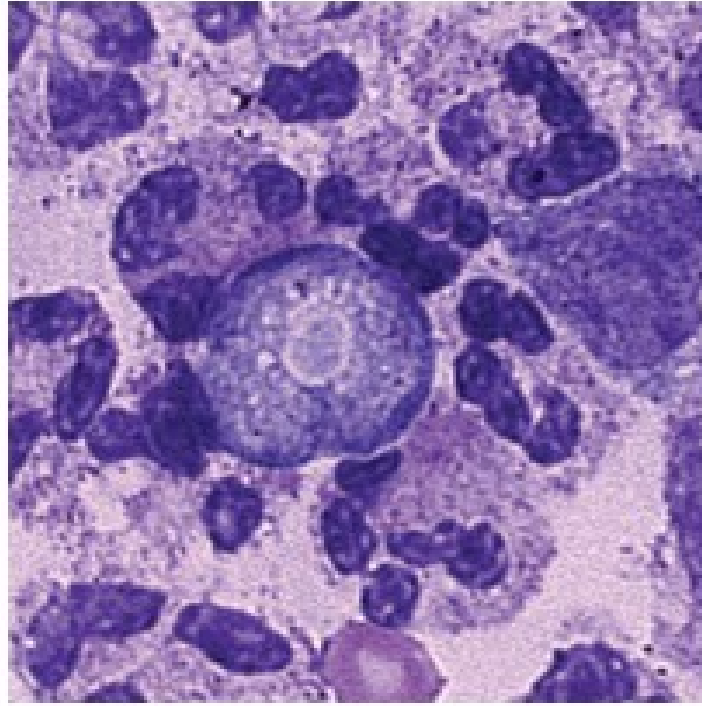
FIGURE 3-21 *Naegleria fowleri* cyst.

# Neagleria fowleri – fakultativní cizopasník

A



B



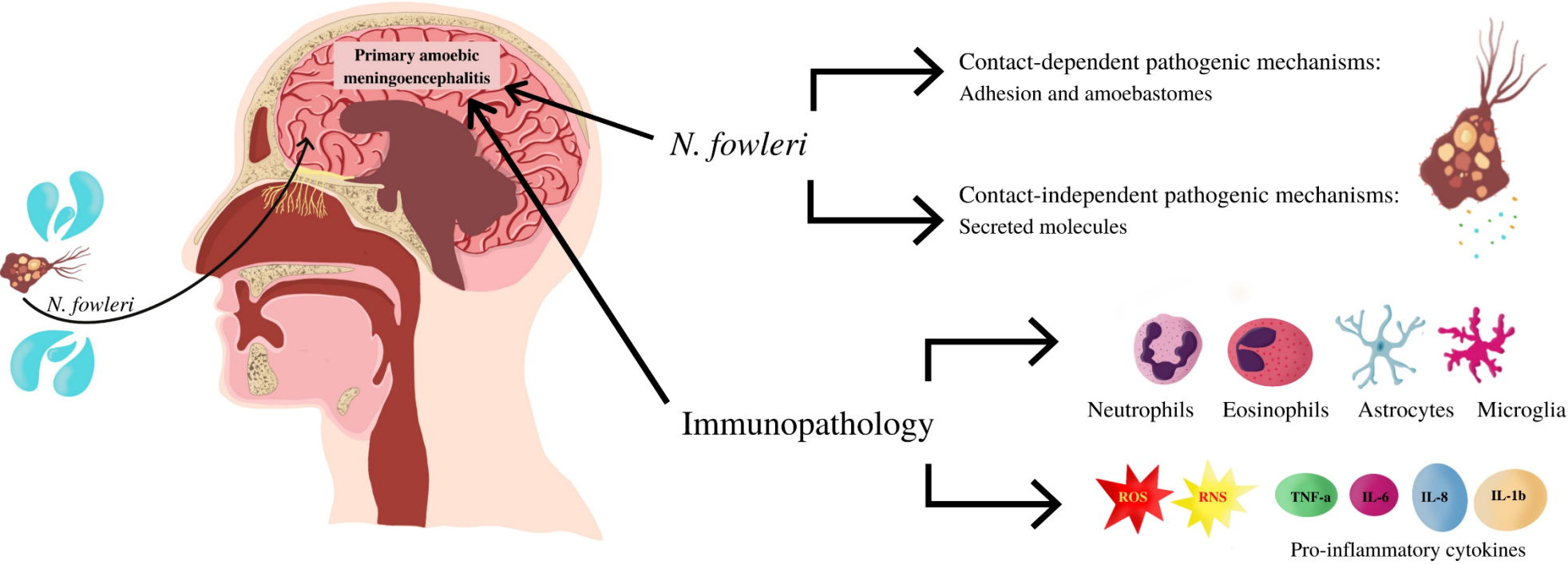
C



Tato améba normálně žije v půdě nebo v teplé vodě, často v sedimentu u dna. (A) volně žijící trofozoit, (B) Trofozoit (jeho střed) obklopený bílými krvinkami. Parazit napadlo centrální nervový systém člověka do kterého pronikl z nosní dutiny po čichovém nervu. Odtud améba proniká do mozku, kde konzumuje mozkovou tkáň a způsobuje primární amébovou meningoencefalitidu (PAM). Toto má na napadeného člověka fatální účinek. (C) Upozornění, aby lidé při koupání v termálních pramenech neponořovali svou hlavu do vody.

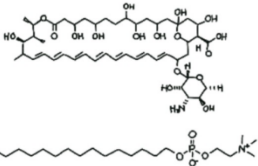


# Neagleria fowleri - patologie



Current treatment

- Amphotericin B
- Miltefosine



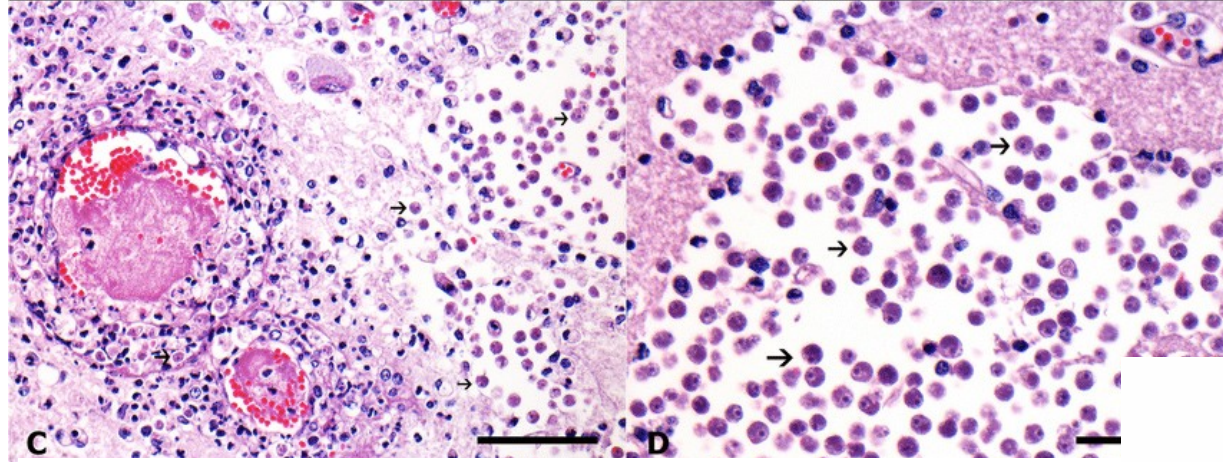
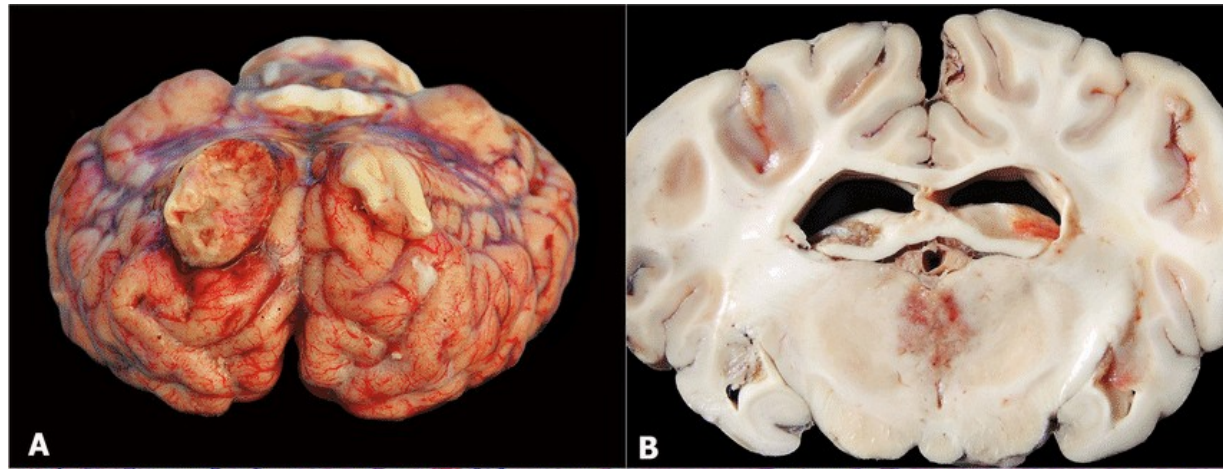
Alternative treatment

- In vivo / in vitro* studies
- Case reports



# Naegleria fowleri – epidemiologie

- Dosud bylo zaregistrováno asi 200 případů, jen několik se podařilo vyléčit **antimykotiky** (amfotericin B).
- **Největší epidemie na světě se odehrála v letech 1963–1965 v Ústí nad Labem, zemřelo na ní tehdy 16 mladých lidí, kteří se nakazili v plaveckém bazénu.**
- Možnost nákazy je při plavání ve sladkých vodách, jezera, řeky. Přežívá bez problémů i v teplých sladkých vodách.
- V USA v roce 2016 bylo úspěšně léčeno několik pacientů novým antiparazitikem **Impavido** (miltefosin) od farmaceutické společnosti Profounda Inc.
- **Velmi důležitá je ale včasná diagnóza** (test na přítomnost améby), jinak dochází k **nevratnému poškození mozku**. Příznaky onemocnění mohou být **v počátečním stadiu zaměněny za meningitidu**. Symptomy **začínají mezi jedním a devíti dny** po expozici a projevují se **bolestmi hlavy, horečkou, nevolností a zvracením**. **Nakažený umírá mezi prvním a 18. dnem po prvních příznacích.**



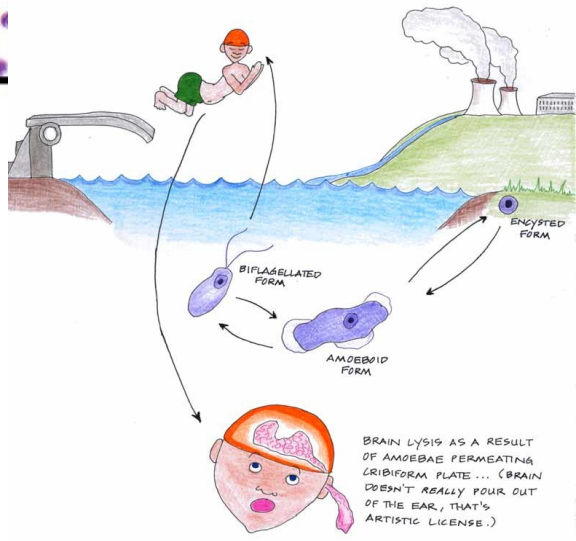
Cyst stage



Trophozoite stage



Flagellated stage



BRAIN LYSIS AS A RESULT OF AMOEBAE PERMEATING CRIBIFORM PLATE... (BRAIN DOESN'T REALLY POUR OUT OF THE EAR, THAT'S ARTISTIC LICENSE.)

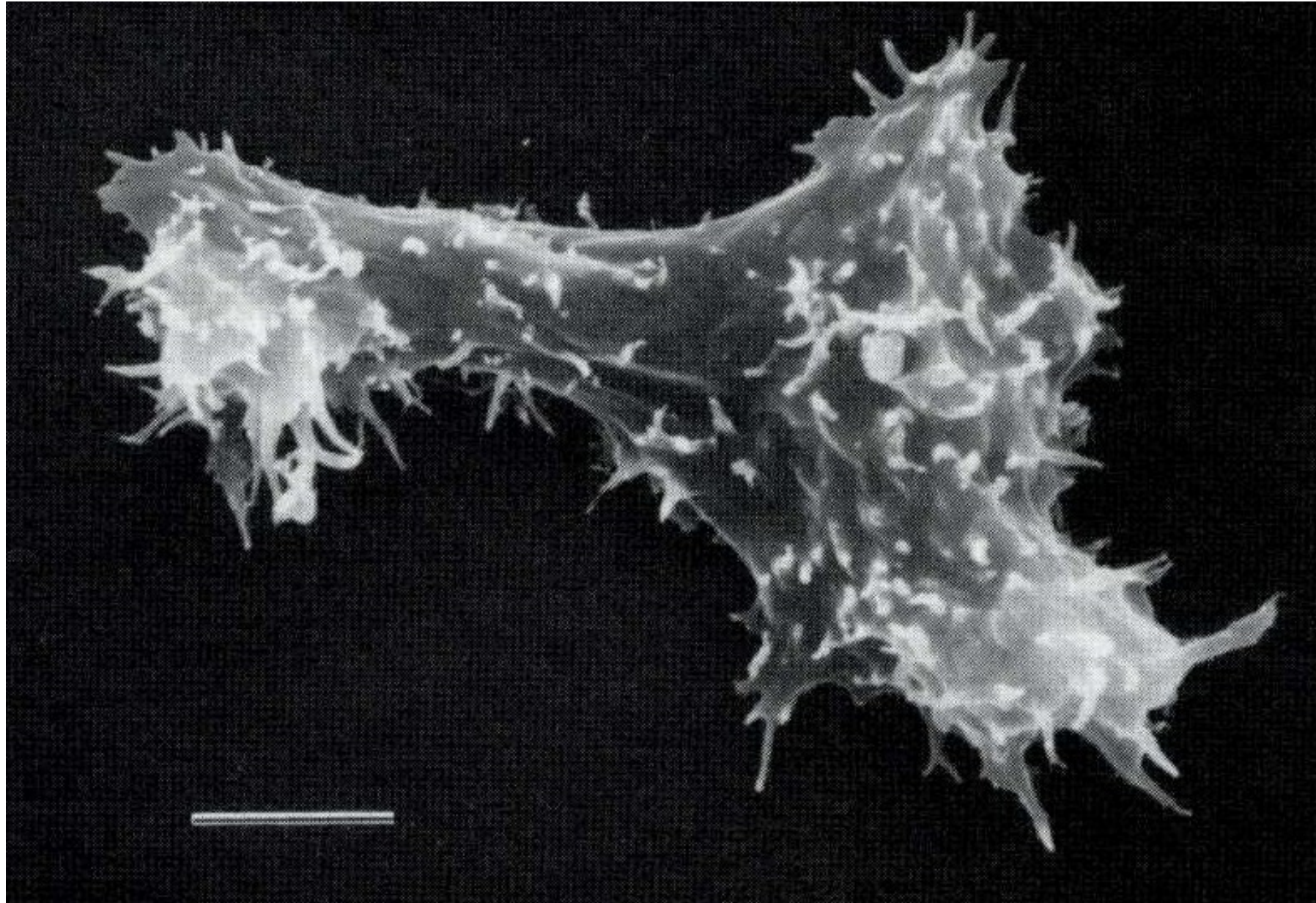




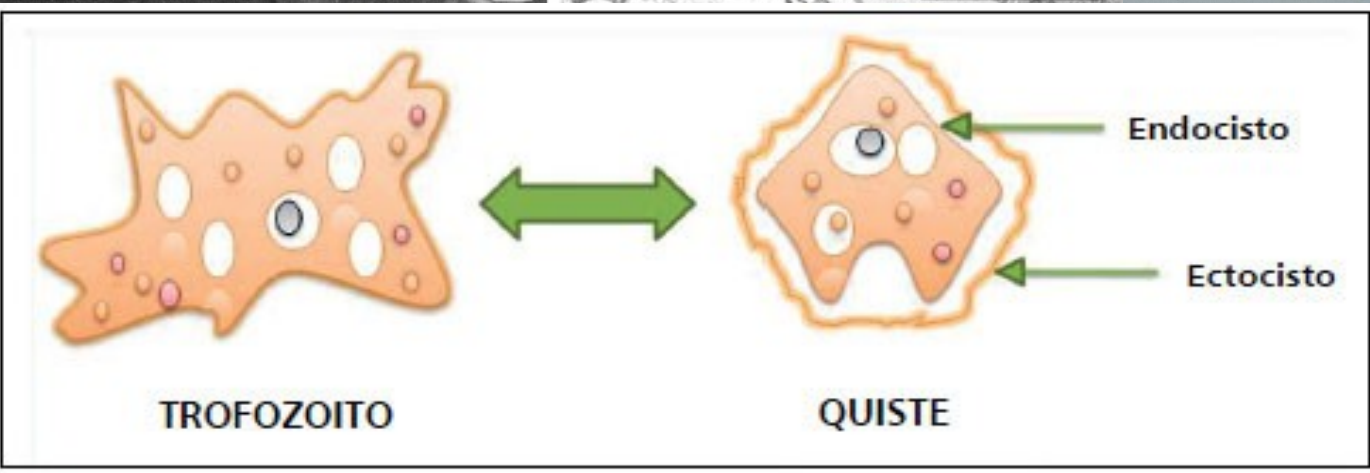
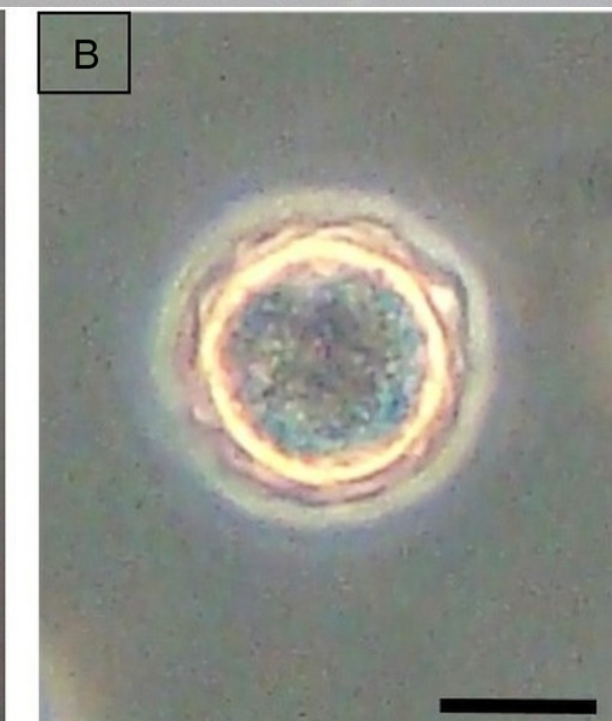
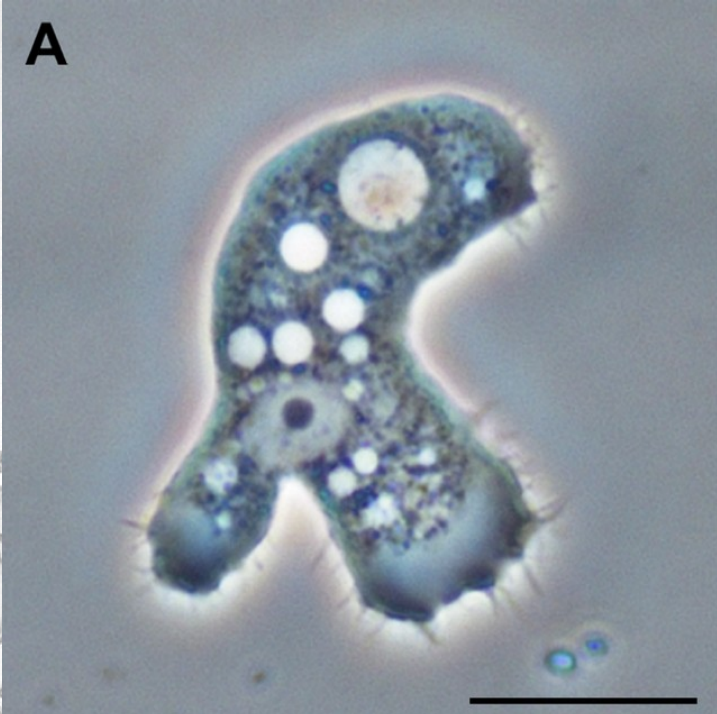
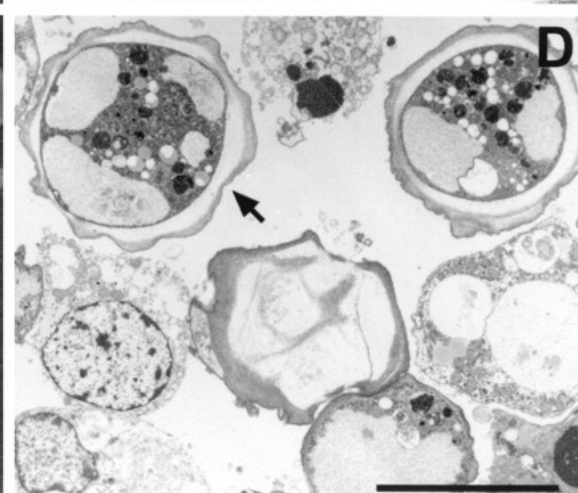
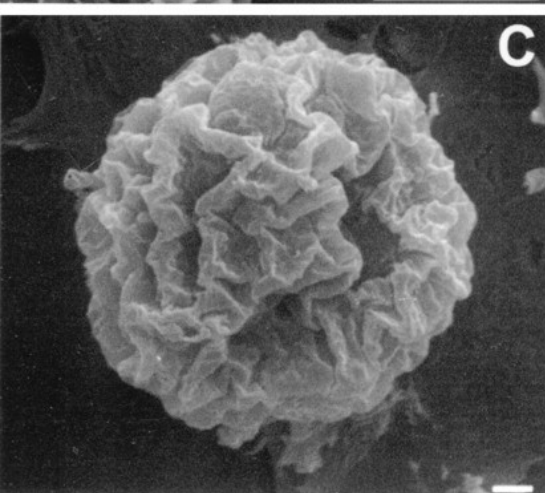
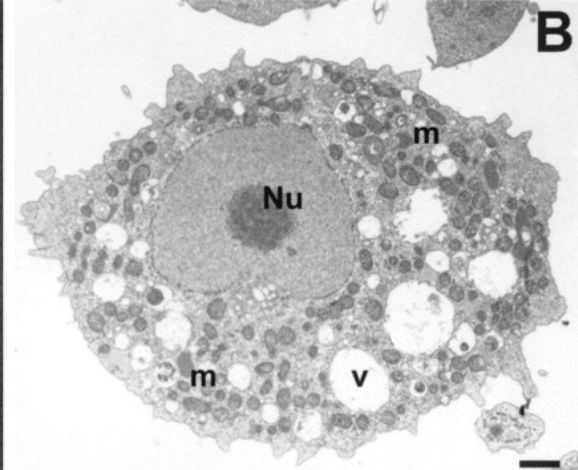
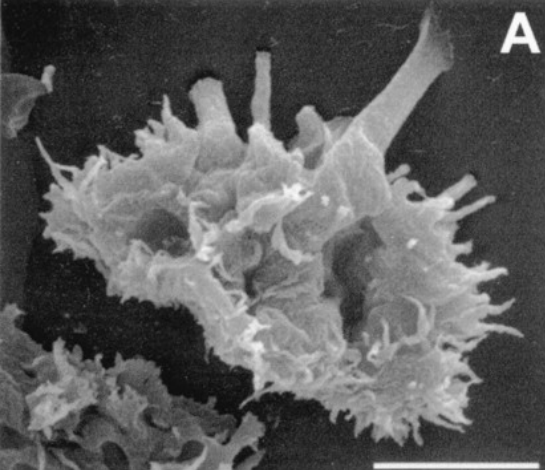
# Acanthamoeba sp.

- ***Acanthamoeba*** (z řec. *akantha* = bodlák, česky **akantaméba**) je rod měňavkovitých prvoků z říše Amoebozoa. Zahrnuje **několik desítek druhů**, některé způsobují onemocnění u různých živočichů **včetně člověka**.
- Panožky této améby jsou zvány **akantopodie**, kvůli svému unikátnímu tvaru, jež rod *Acanthamoeba* odlišuje od ostatních améb. **Jsou totiž široké a mají trnité výběžky**. Dalším velmi typickým znakem jsou cysty obalené dvojitou stěnou.
- U člověka způsobují akantaméby dvě onemocnění: **granulomatózní záně mozku (GAE)** a **akantamébovou keratitidu**. První z nich je především onemocnění osob s **sníženou imunitou** a poškozuje nervovou tkáň, druhé onemocnění se vyskytuje zejména u osob nosících kontaktní čočky.

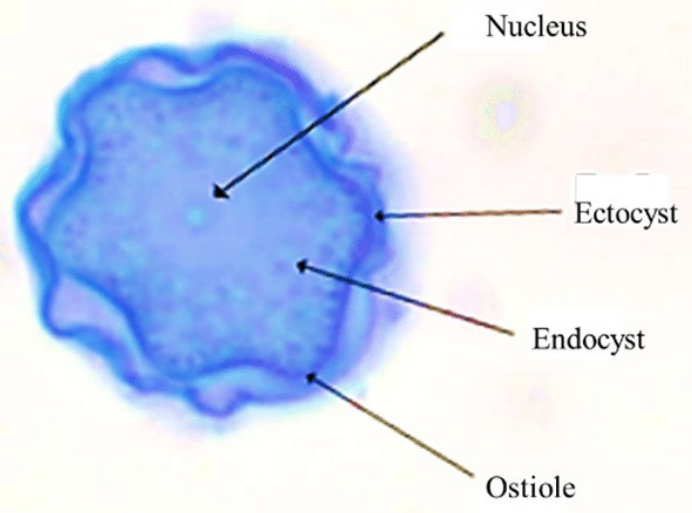
# *Acanthamoeba castellanii* - trofozoit



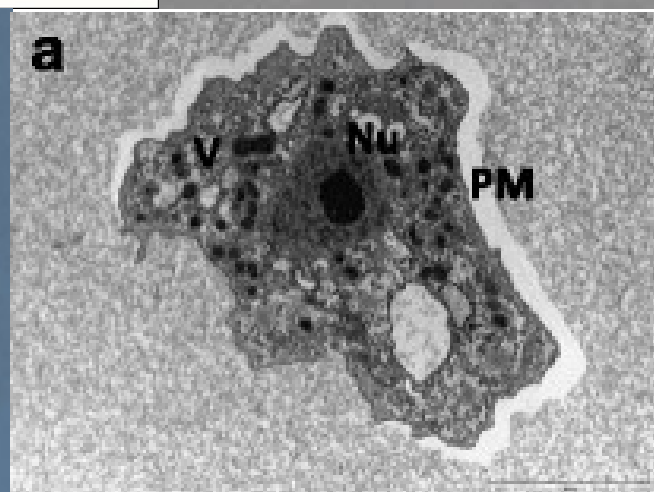
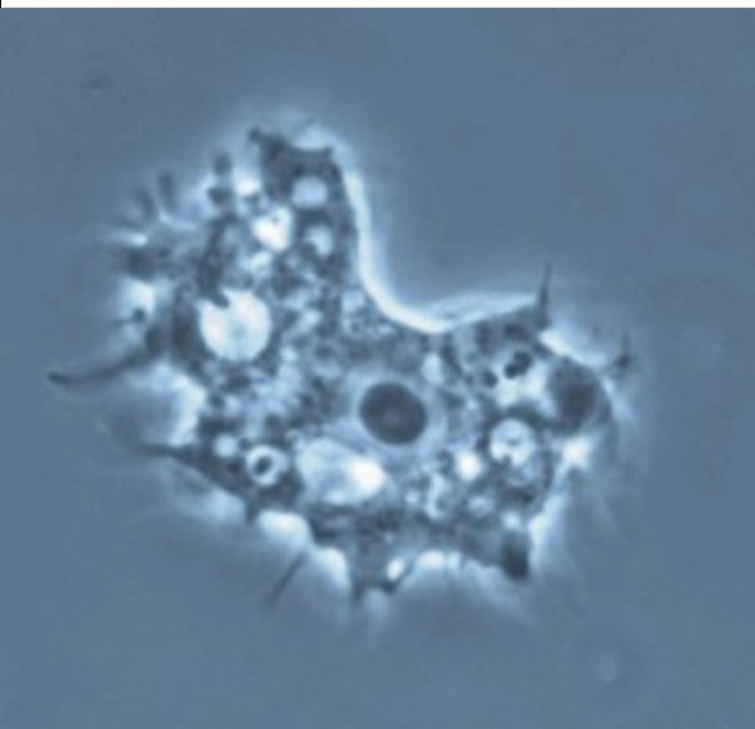
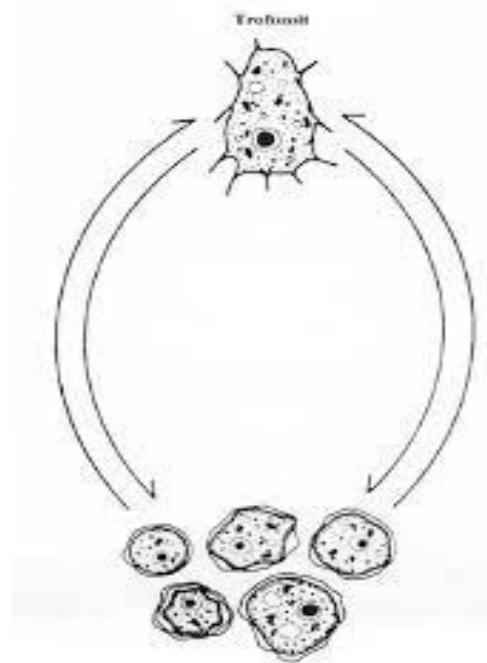








10µm

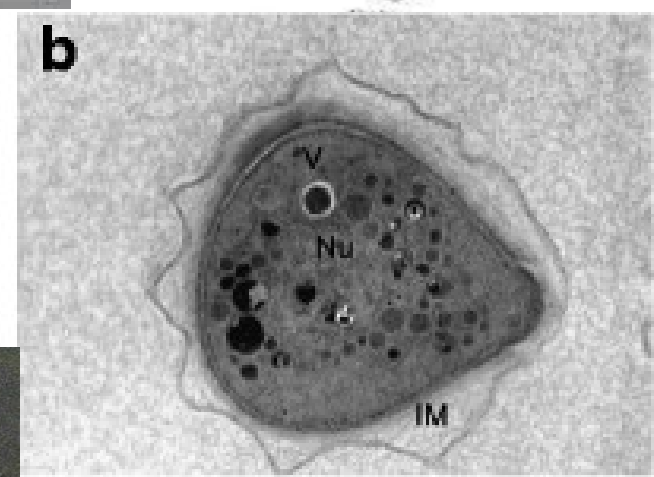
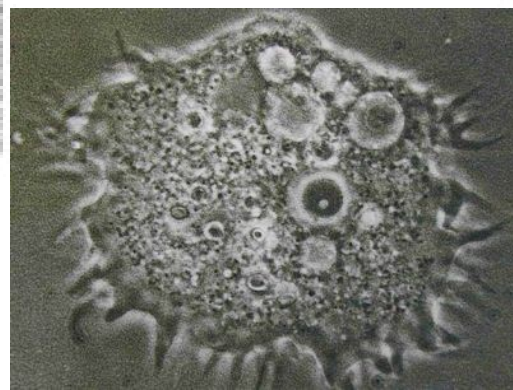


5µm

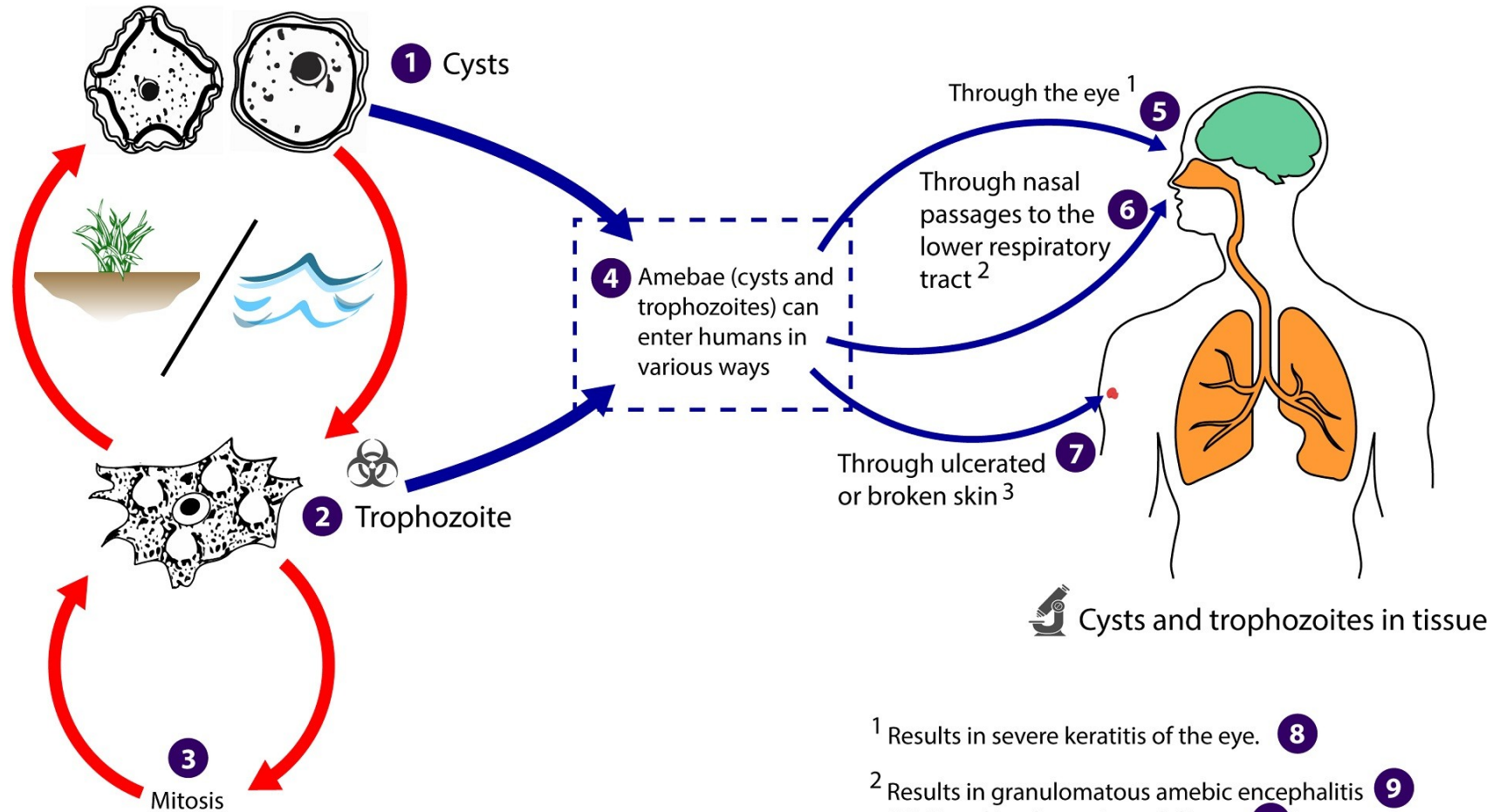
Unfavourable conditions

↔

Favourable conditions



2µm



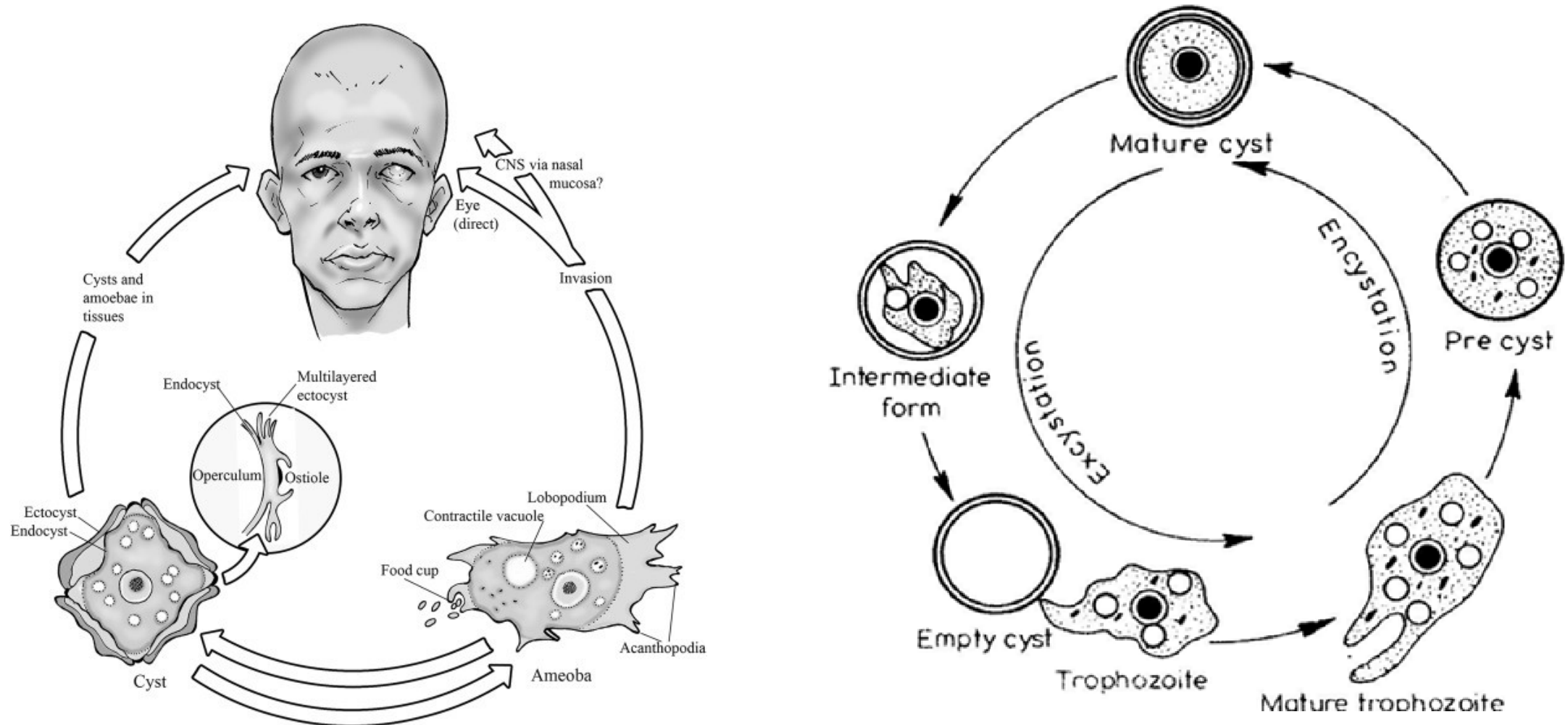
Cysts and trophozoites in tissue

Infective stage

Diagnostic stage

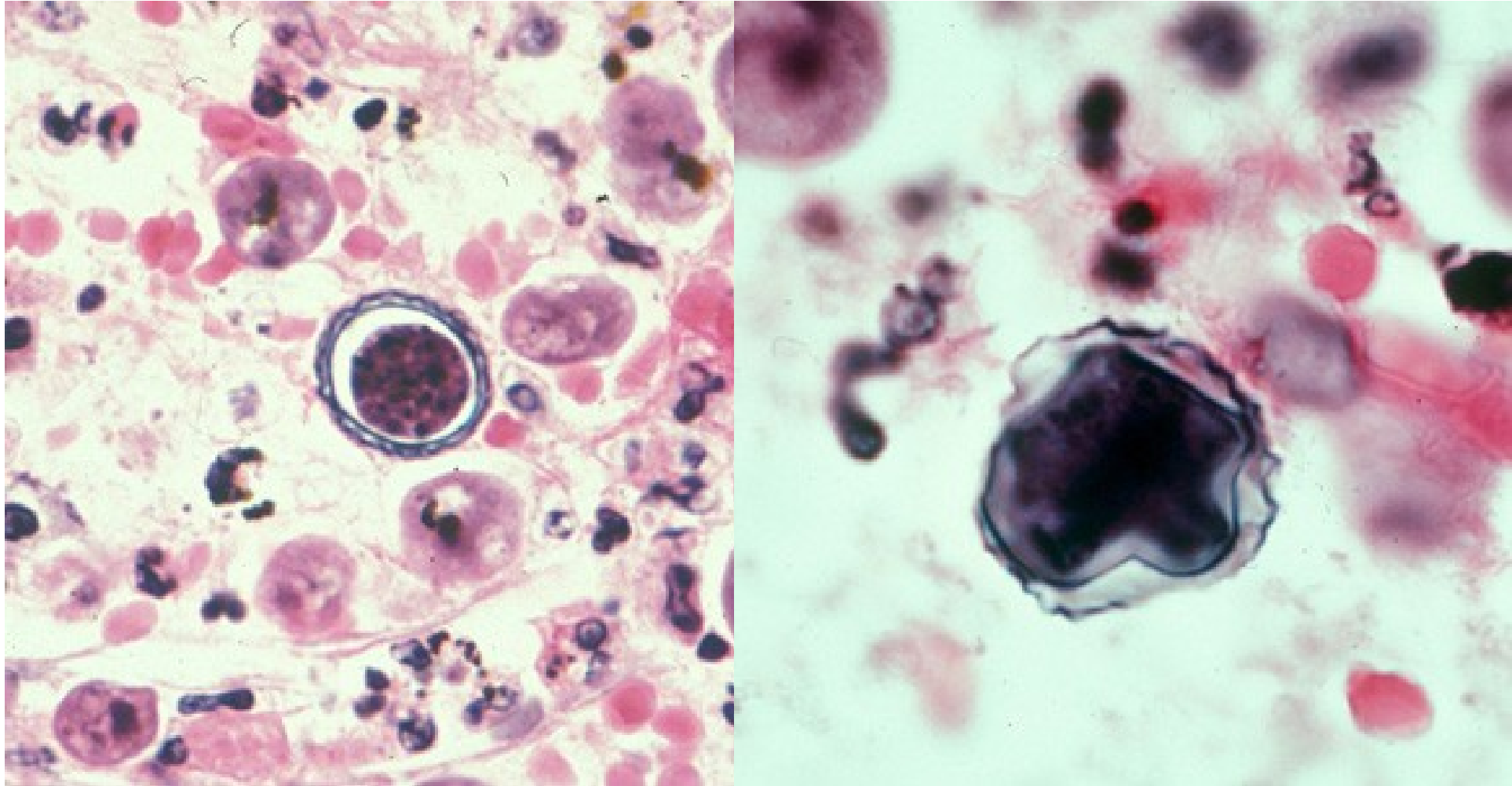
- 1** Results in severe keratitis of the eye. **8**
- 2** Results in granulomatous amebic encephalitis (GAE) and/or disseminated disease **10** in individuals with compromised immune systems. **9**
- 3** Results granulomatous amebic encephalitis (GAE), disseminated disease **10** or skin lesions **11** in individuals with compromised immune systems.

# Vývojová stádia Avathamoeba castellani



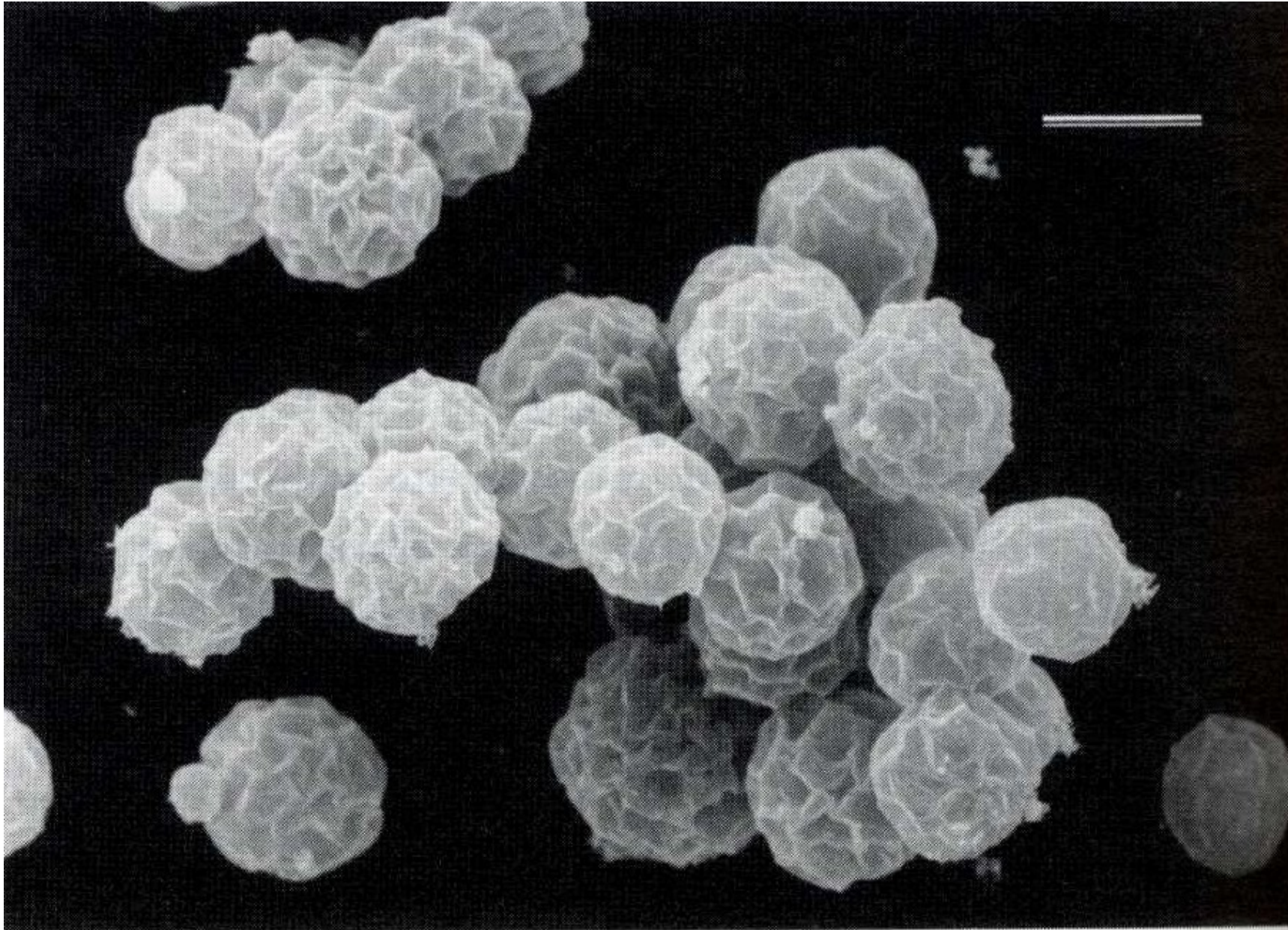


# Acanthamoeba sp. – cysty v mozku



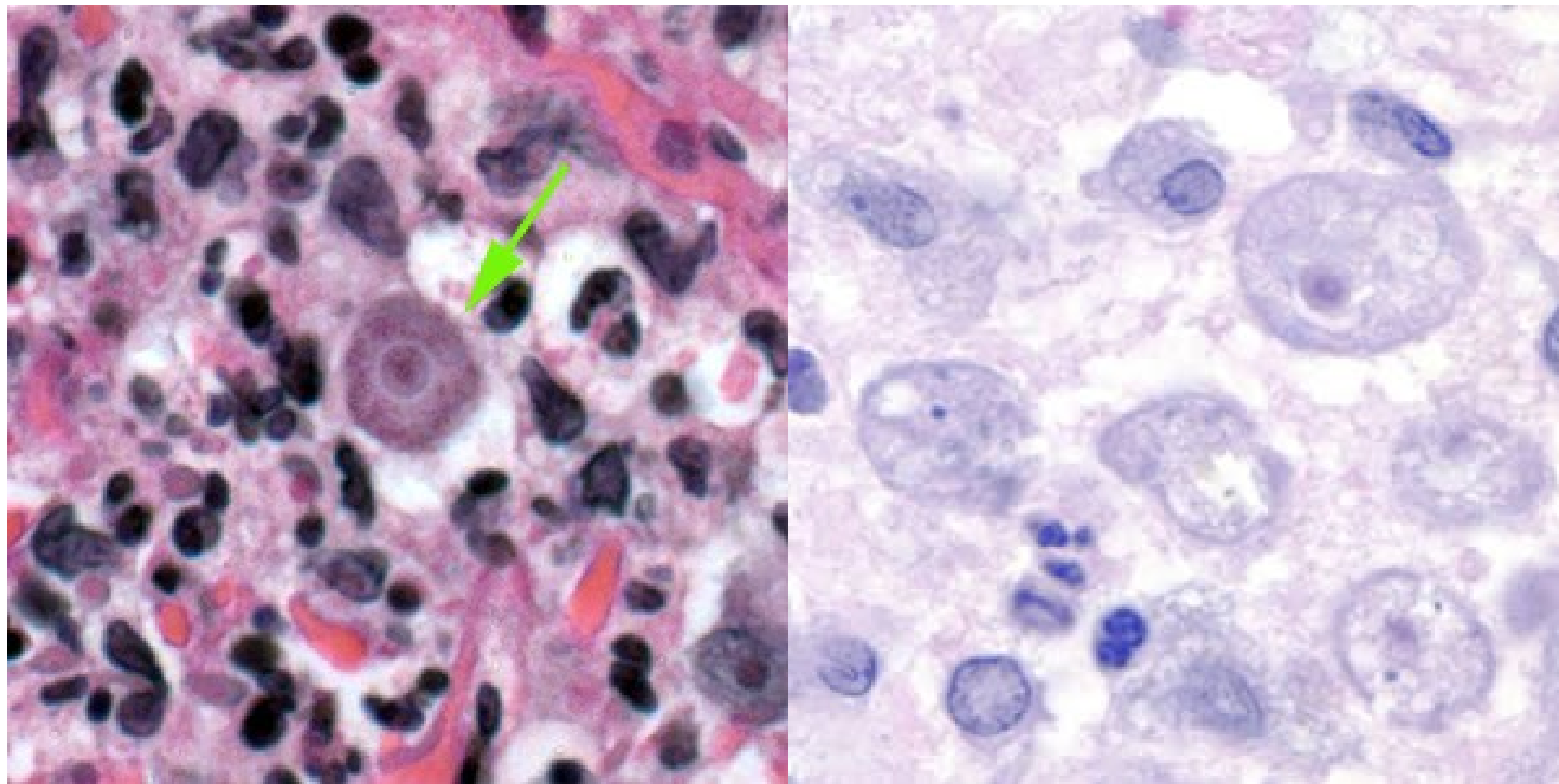
Barvení: hematoxylin – eosin, H&E

# Acanthamoeba polyphaga - cysty



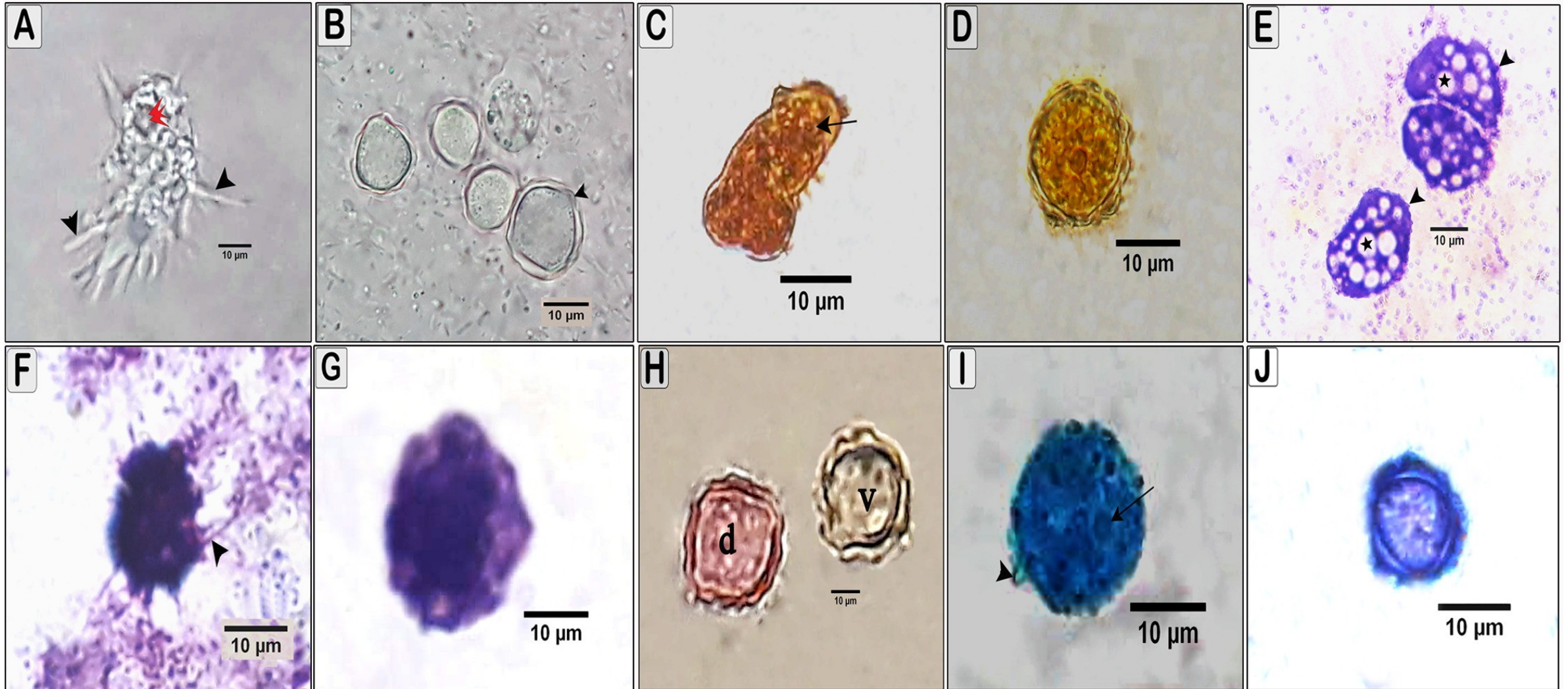


# Acanthamoeba sp. – cysty ve tkáni



Barvení: hematoxylin – eosin, H&E

# Kontaminace kontaktních čoček amébami *Acanthamoeba* spp.





# Balamuthia mandrillaris

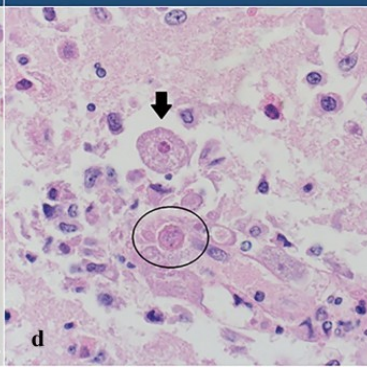
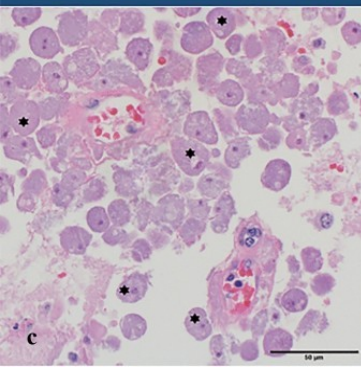
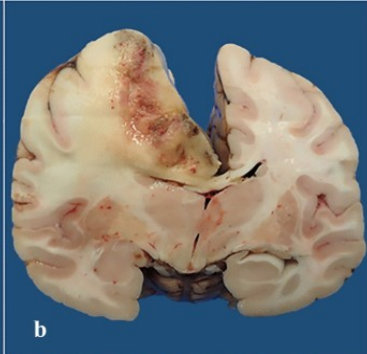
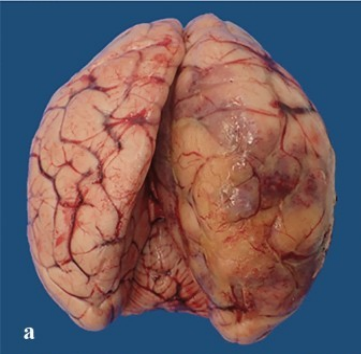
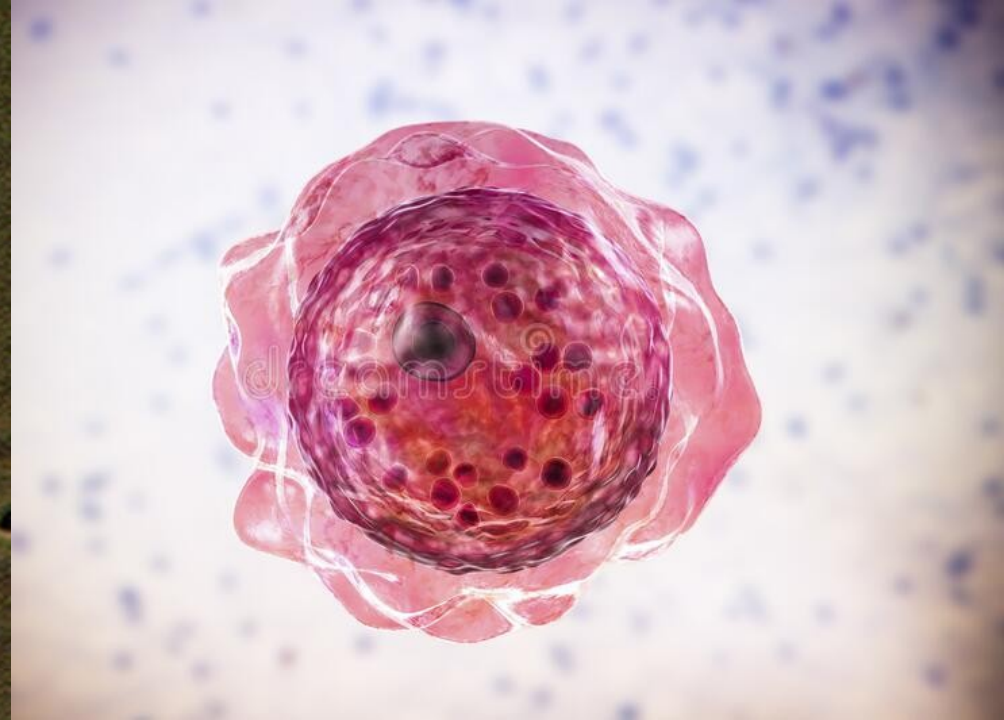
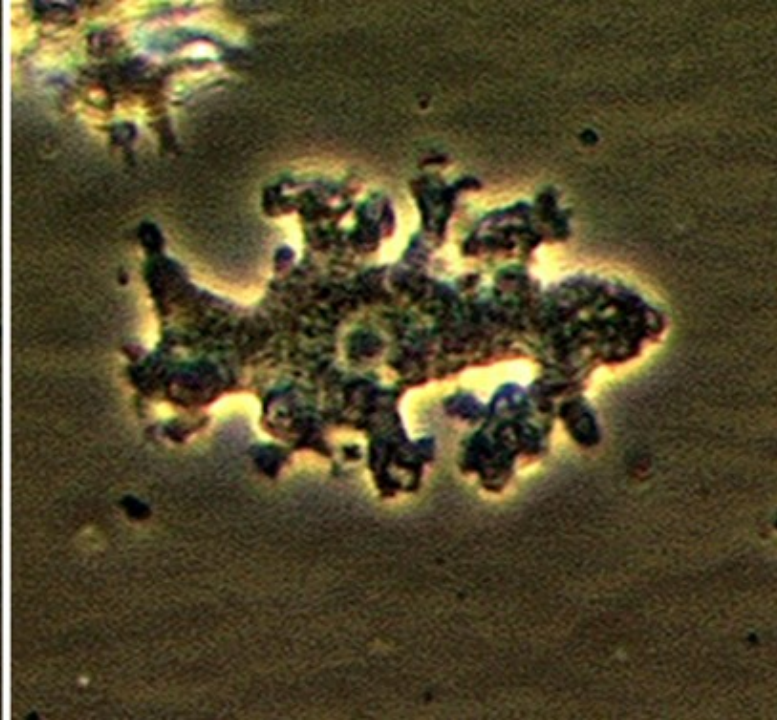
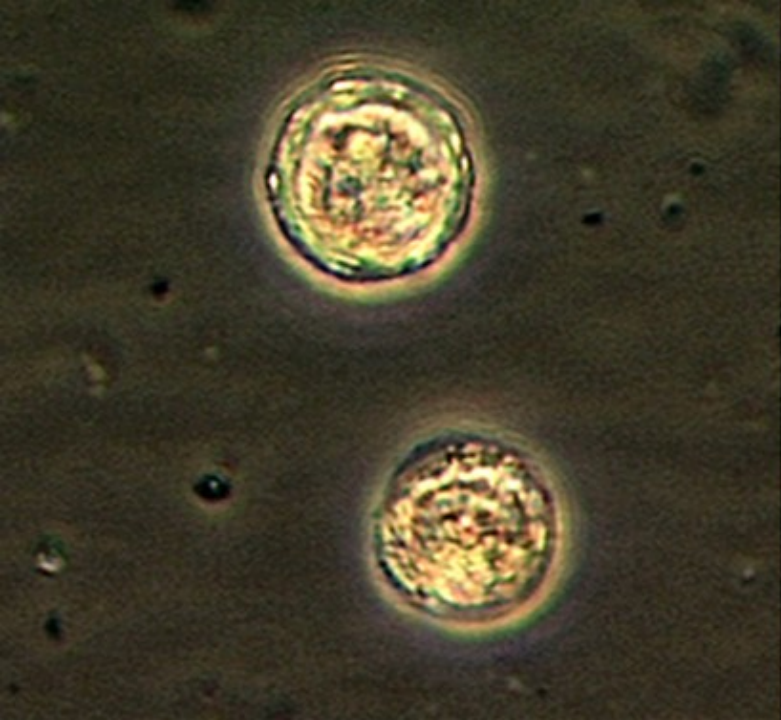
- ***Balamuthia mandrillaris*** je volně žijící améba, která způsobuje vzácný, ale **smrtelný neurologický stav granulomatózní amébová encefalitida (GAE)**

*B. mandrillaris* je améba žijící v půdě a byla poprvé objevena **v roce 1986 v mozku mandrila**, který zemřel v San Diego Wild Animal Park.



- *B. mandrillaris* může infikovat tělo otevřenými ranami nebo vdechnutím. *Balamuthia* byla izolována z půdy. Předpokládá se, že je distribuována v mírných oblastech světa. To je poněkud podpořeno detekcí protilátek proti protistě u zdravých jedinců.
- ***B. mandrillaris* je volně žijící, heterotrofní améba**, skládající se ze standardního komplementu organel obklopených **třívrstvou buněčnou stěnou** (pravděpodobně vyrobenou z **celulózy**) a s abnormálně velkým buněčným jádrem. V průměru má *Balamuthia* **trophozoite průměr asi 30 až 120  $\mu\text{m}$** . **Cysty** spadají také kolem tohoto rozsahu.



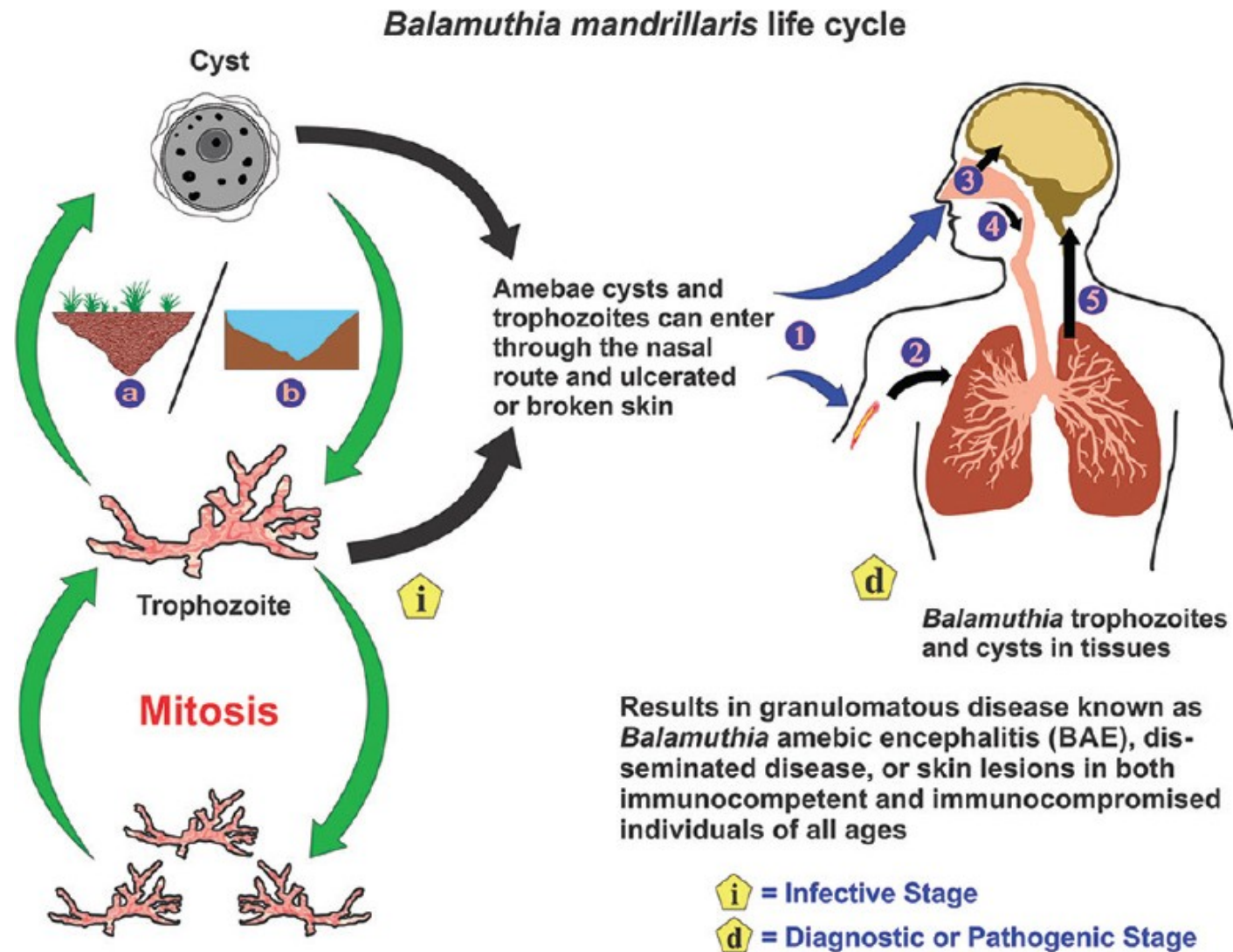




# Životní cyklus

- *Životní cyklus Balamuthie*, stejně jako *Acanthamoeba*, se skládá z **cystické fáze a nebičíkatého trophozoitového stadia**, z nichž **oba jsou infekční** a obě mohou být **identifikovány v mozkové tkáni** na mikroskopickém vyšetření mozkových biopsií prováděných na infikovaných jedincích.
- **Trofozoit je pleomorfní a jednojaderný**, ale občas jsou vidět dvoujaderné formy. **Cysty jsou také jednojaderné** a mají **tři stěny**: vnější tenkou nepravidelnou **ektocystu**, vnitřní tlustou **endocystu** a střední amorfní fibrilární **mezocystu**.

# Balamuthia mandrillaris životní cyklus



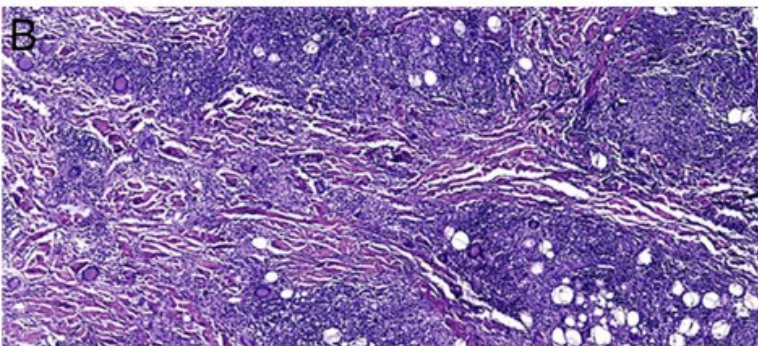
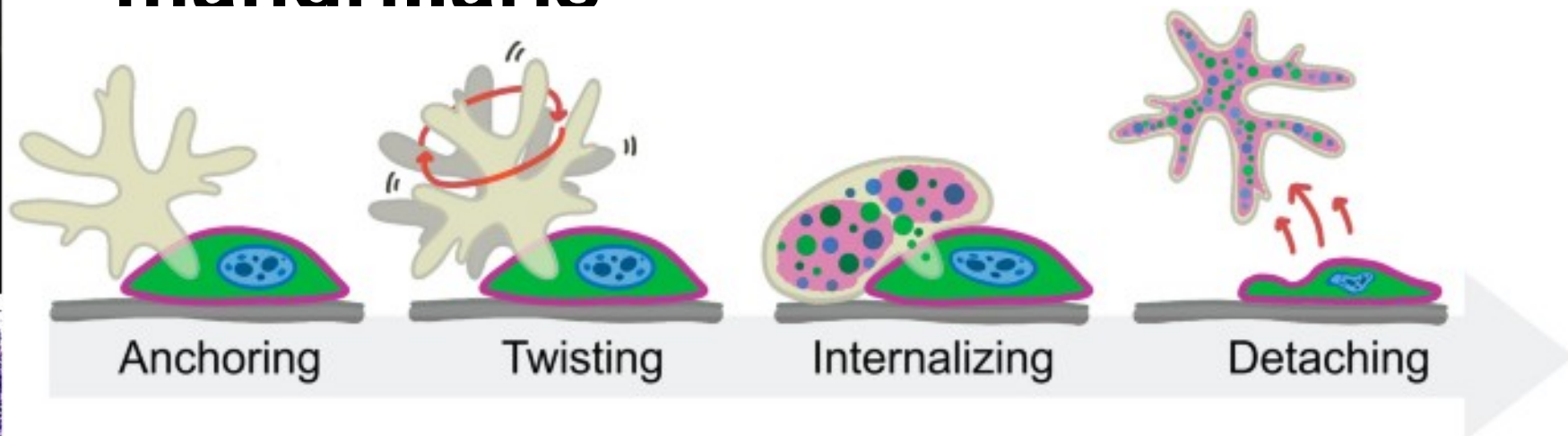


# Patologie – *Balamuthia mandrillaris*

- *B. mandrillaris* je **větší než lidské leukocyty, což znemožňuje fagocytózu**. Místo toho se je imunitní systém pokouší zadržet u **vstupní brány (obvykle otevřená rána)** tím, že spustí hypersenzitivní reakci typu IV.
- Po zavedení může améba **vytvořit kožní lézi** nebo v některých případech může **migrovat do mozku, což způsobuje stav známý jako granulomatózní amébová encefalitida (GAE)**,<sup>1</sup> který je obvykle **fatální**. Tento granulomatózní rys je většinou pozorován u imunokompetentních pacientů; Imunokompromitovaní jedinci vykazují "**perivaskulární manžetu**".
- **GAE vyvolaná *balamuthií* může způsobit fokální paralýzu, záchvaty a symptomy mozkového kmene, jako je paralýza obličeje, potíže s polykáním a dvojité vidění.**

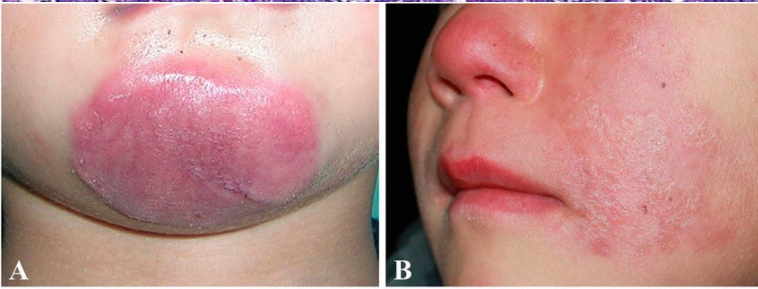


# Patogenita *Balamuthia mandrillaris*

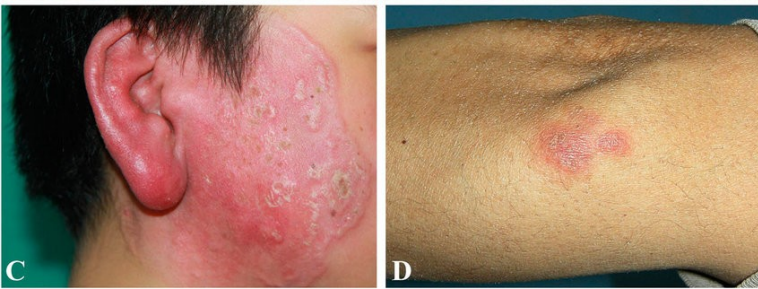


Fatální infekce *Balamuthia mandrillaris* –  
příznak zarudnutí horní části nosu

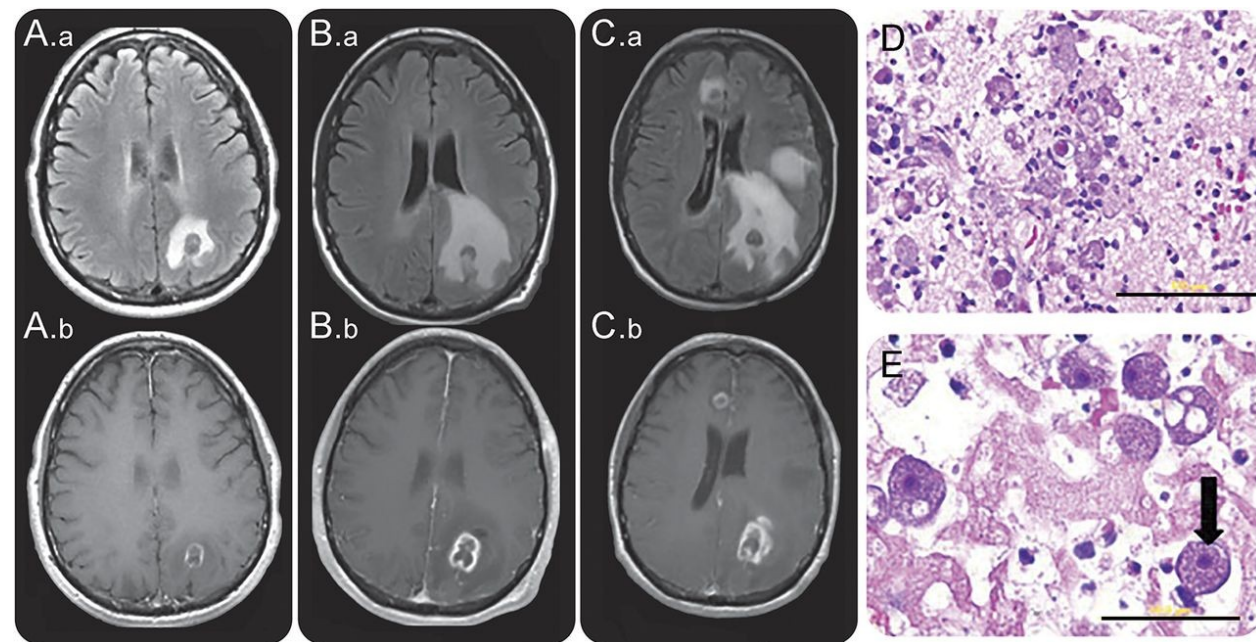
Destrukce nervové buňky



Klinické příznaky  
kožní infekce



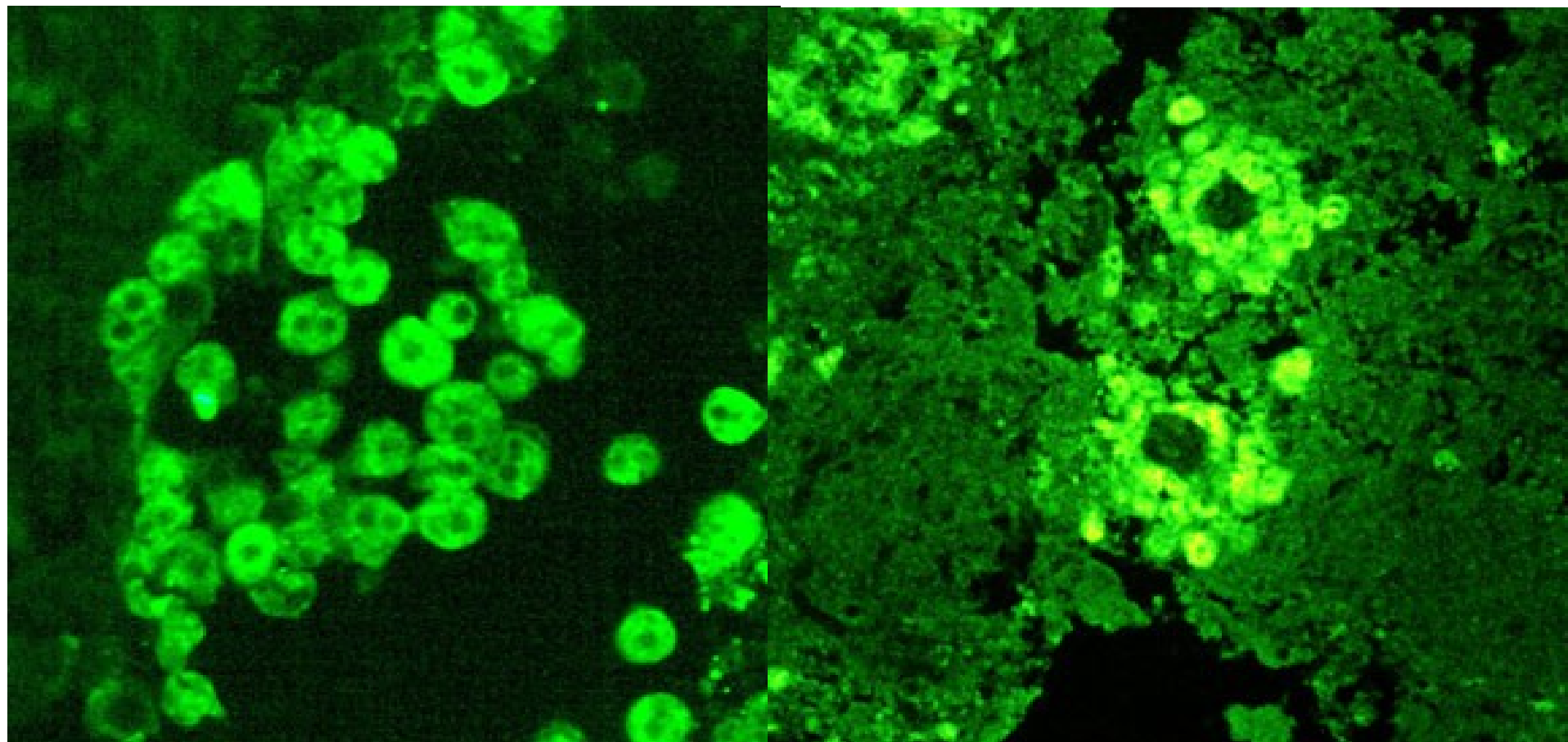
Amébová  
encefalitida





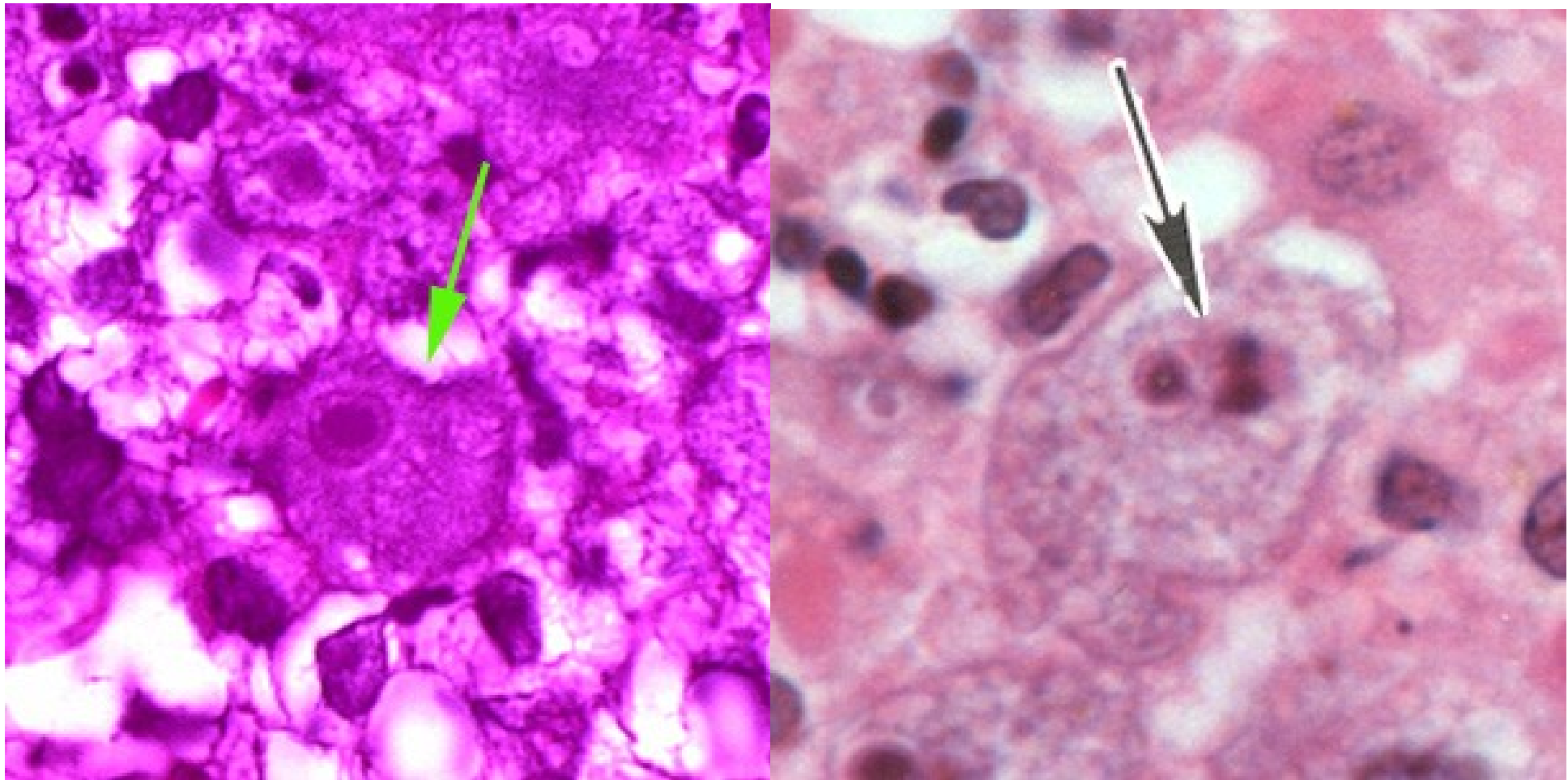
**Acanthamoeba sp.  
mandrillaris**

**Balamuthia**



Nepřímá imunofluorescence

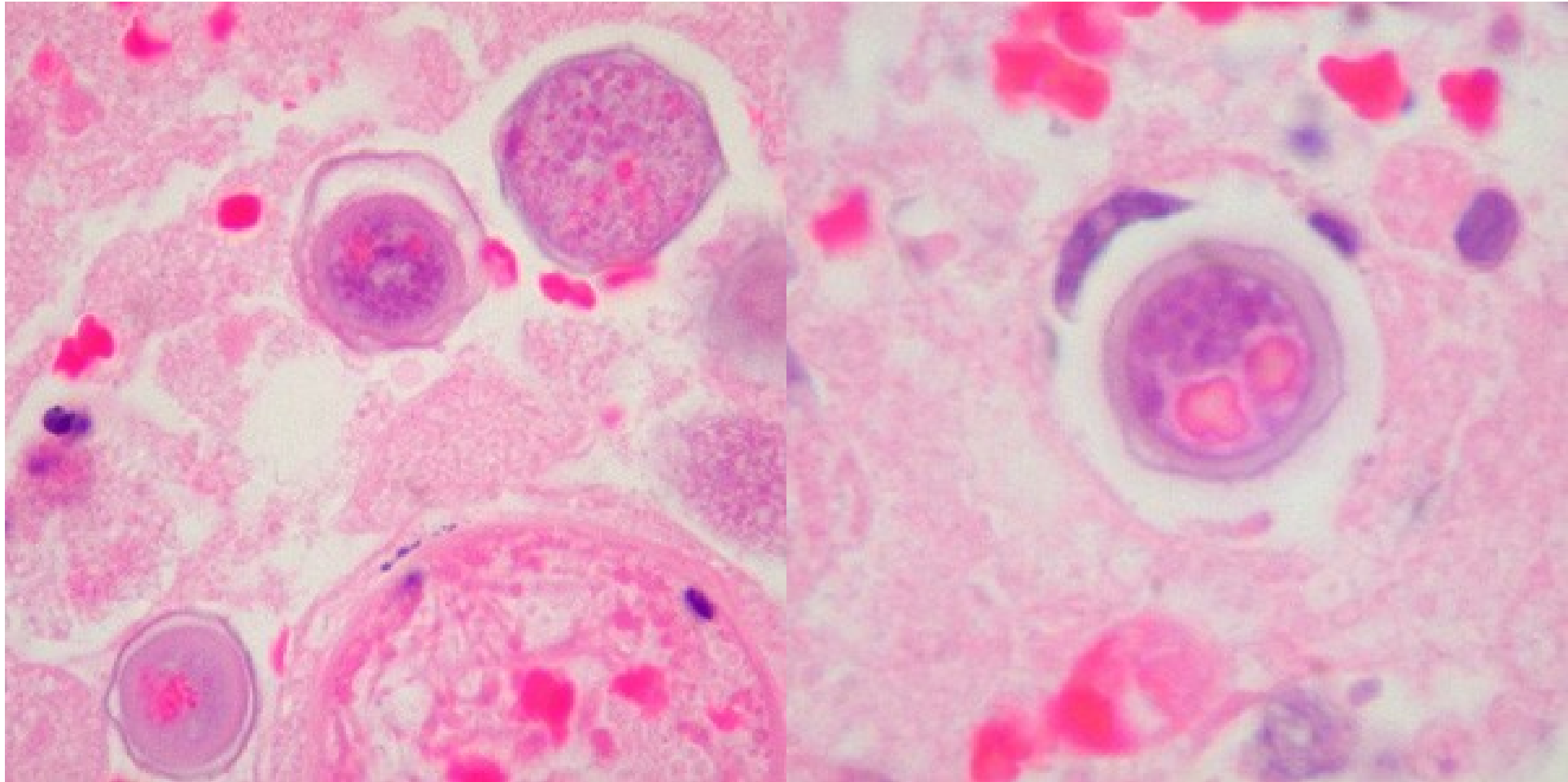
# Balamuthia mandrillaris



Balamunthia mandrillaris – trofozoiti v mozku

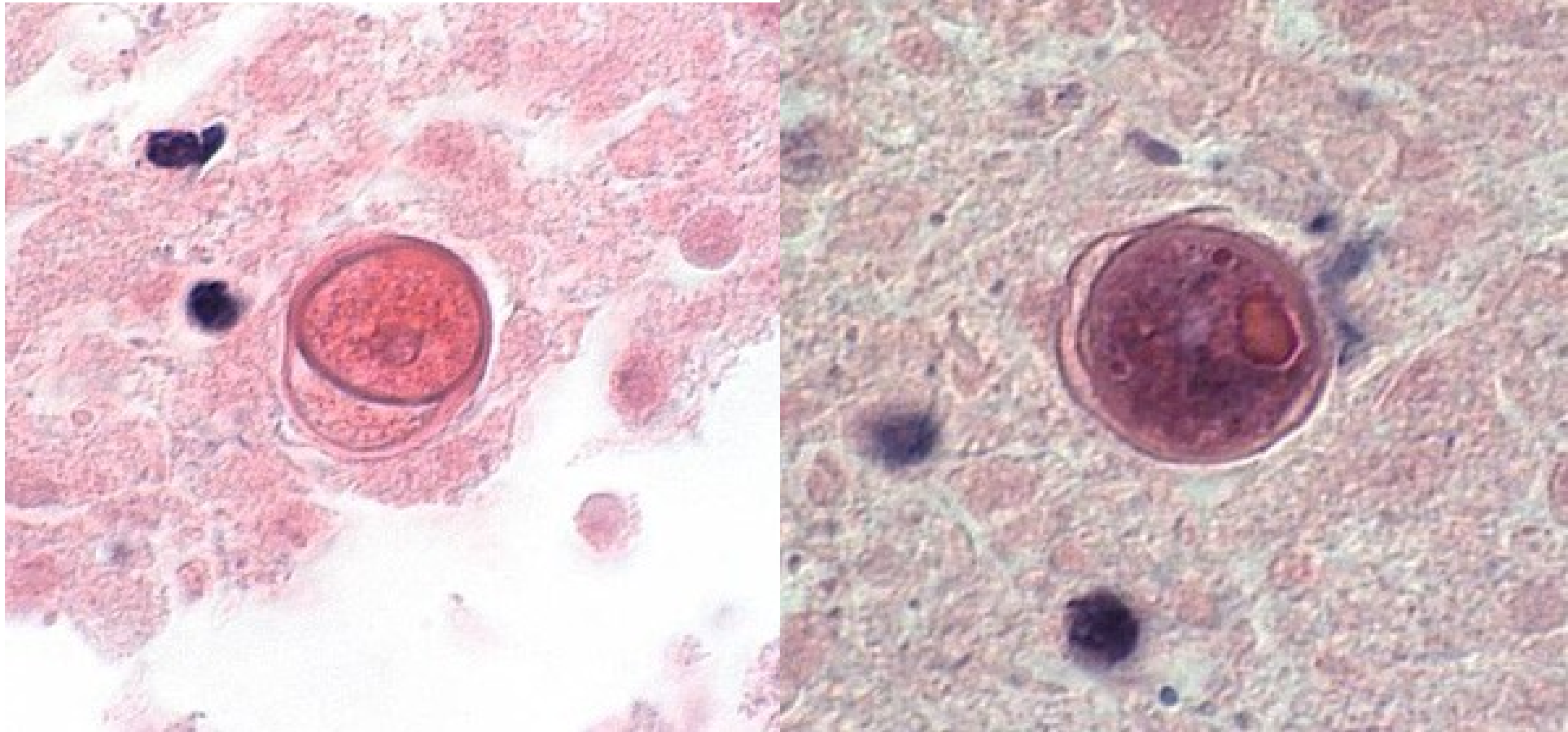


# Balamuthia mandrillaris



Balamuthia mandrillaris – cysty v mozkové tkáni, barveno H & E

# Balamuthia mandrillaris

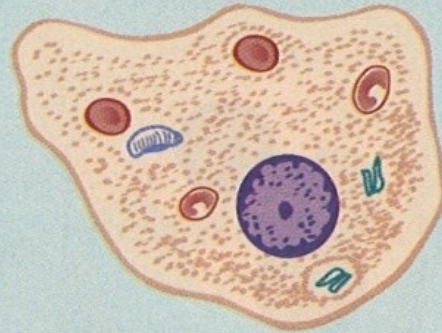


Balamuthia mandrillaris – cysty v mozkové tkáni, barveno H & E



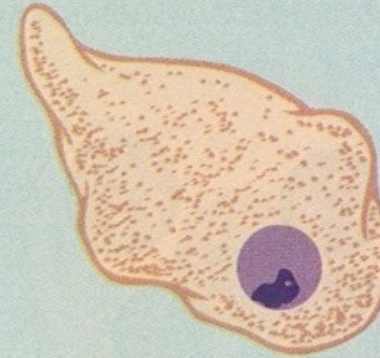
# Srovnání mimostřevních améb

**FIGURE 3-18.** *Entamoeba gingivalis* trophozoite



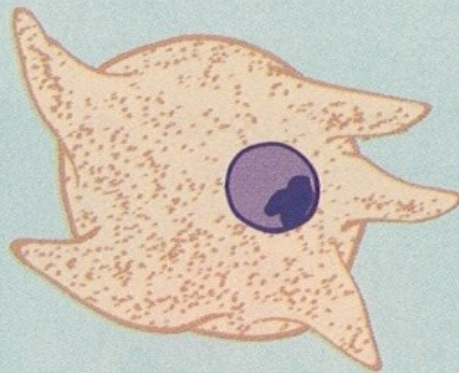
Size range: 8-20  $\mu\text{m}$

**FIGURE 3-19.** *Naegleria fowleri* ameboid trophozoite



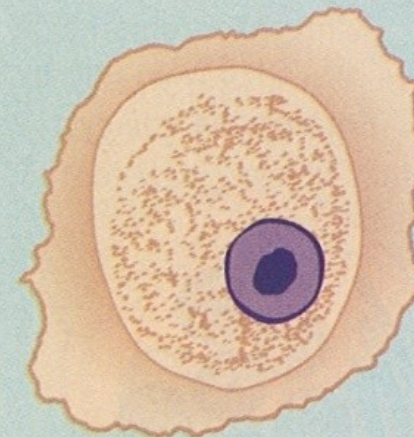
Size range: 8-22  $\mu\text{m}$

**FIGURE 3-22.** *Acanthamoeba* spp. trophozoite



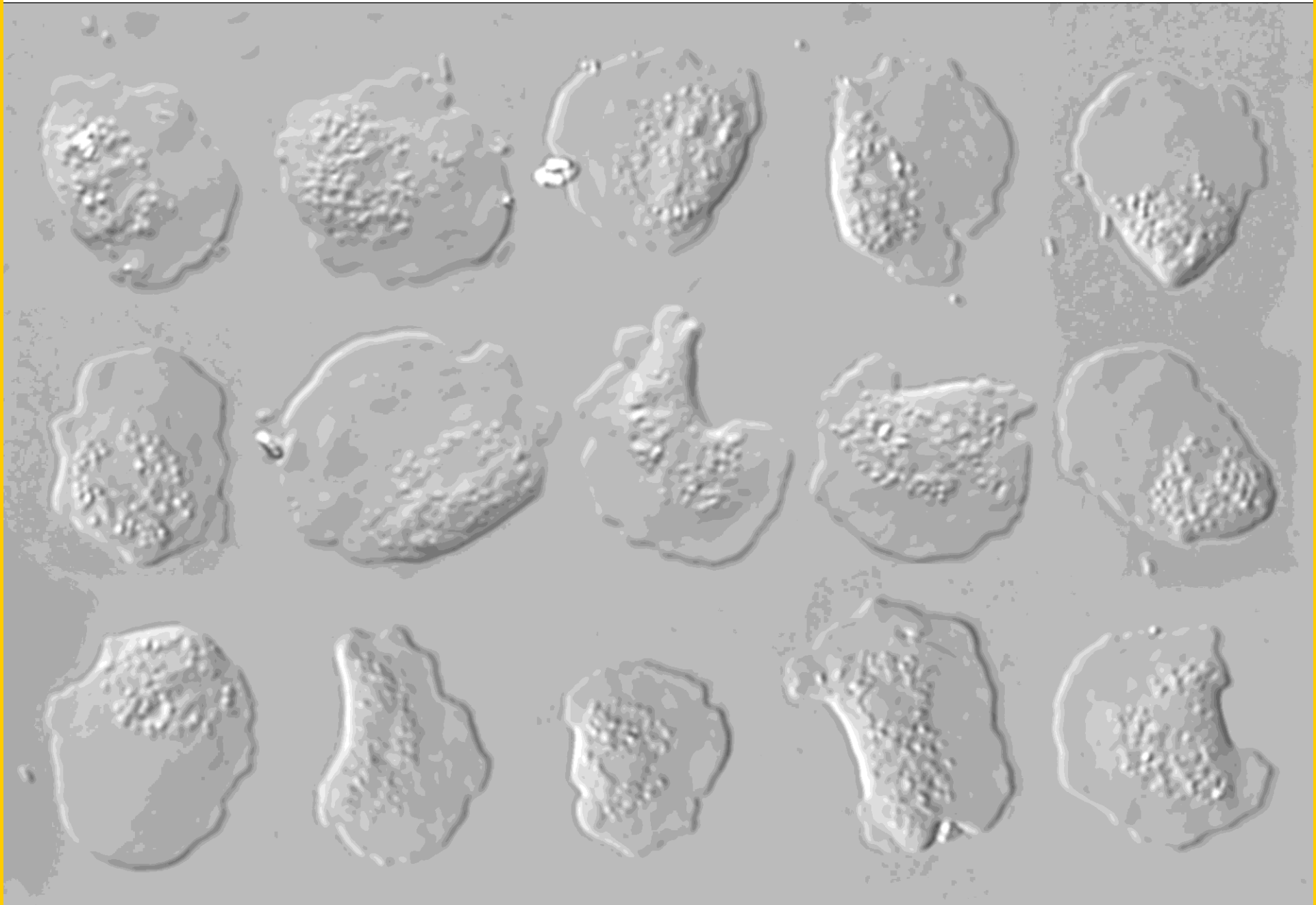
Size range: 12-45  $\mu\text{m}$   
Average size: 25  $\mu\text{m}$

**FIGURE 3-24.** *Acanthamoeba* spp. cyst



Size range: 8-25  $\mu\text{m}$

Model parasites group: free living amoebae



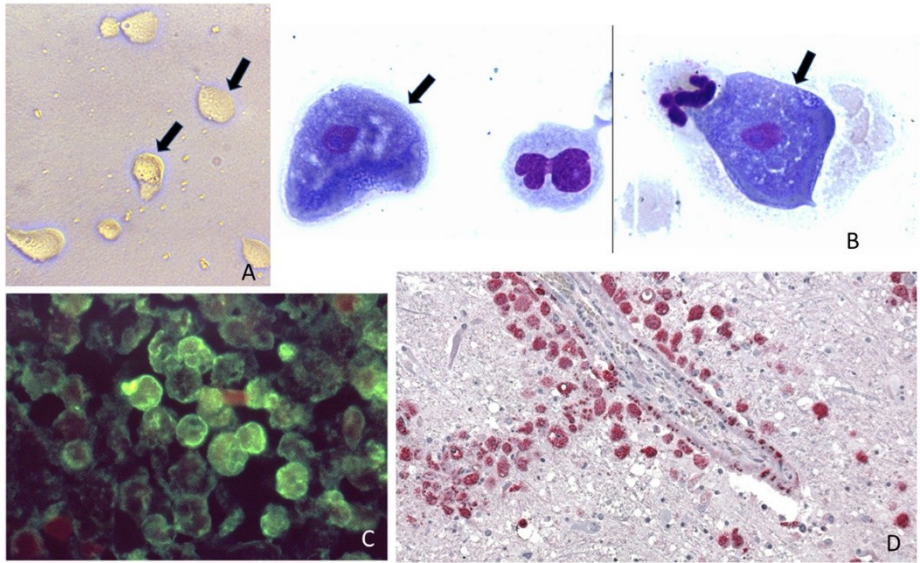
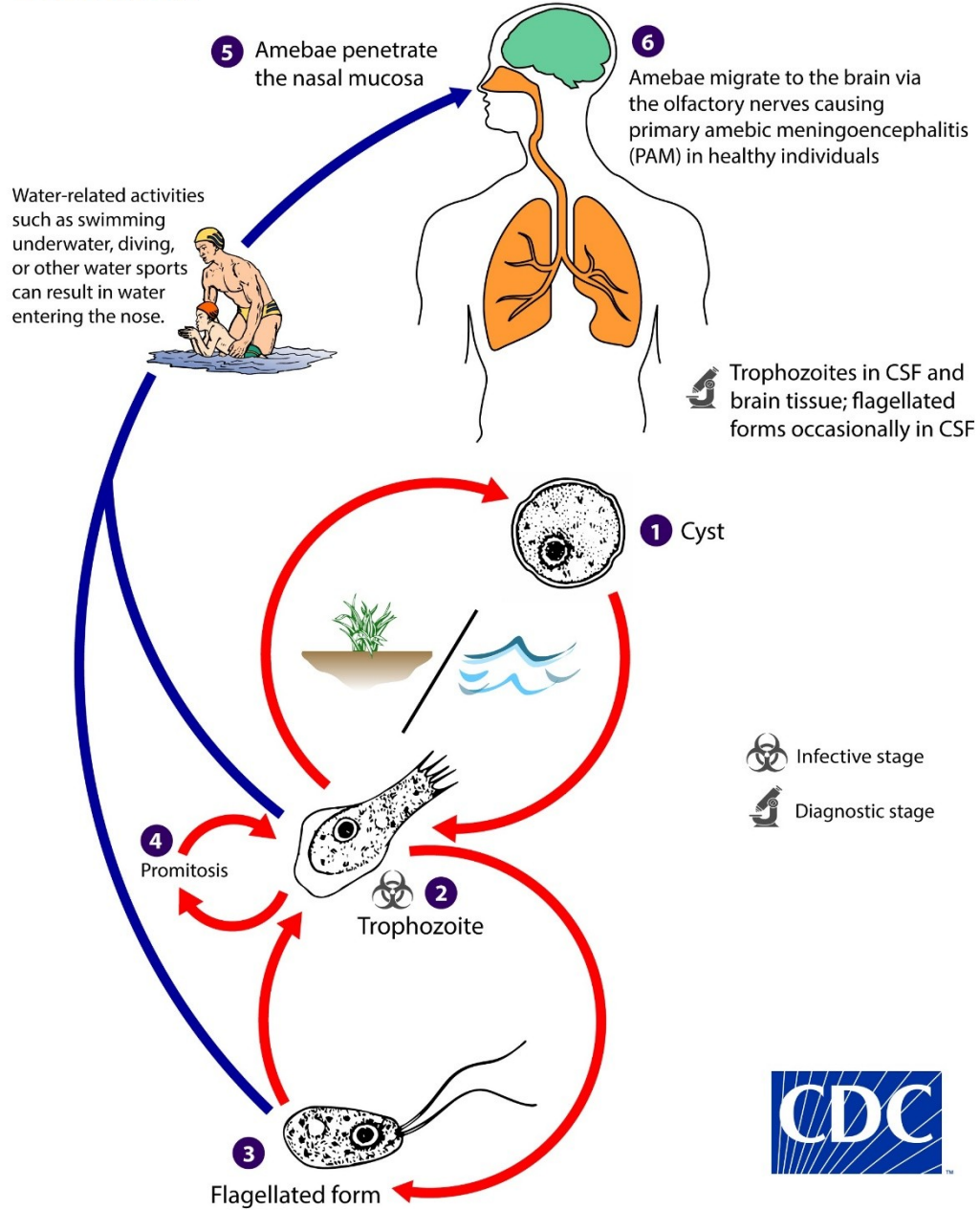


Děkuji za  
pozornost

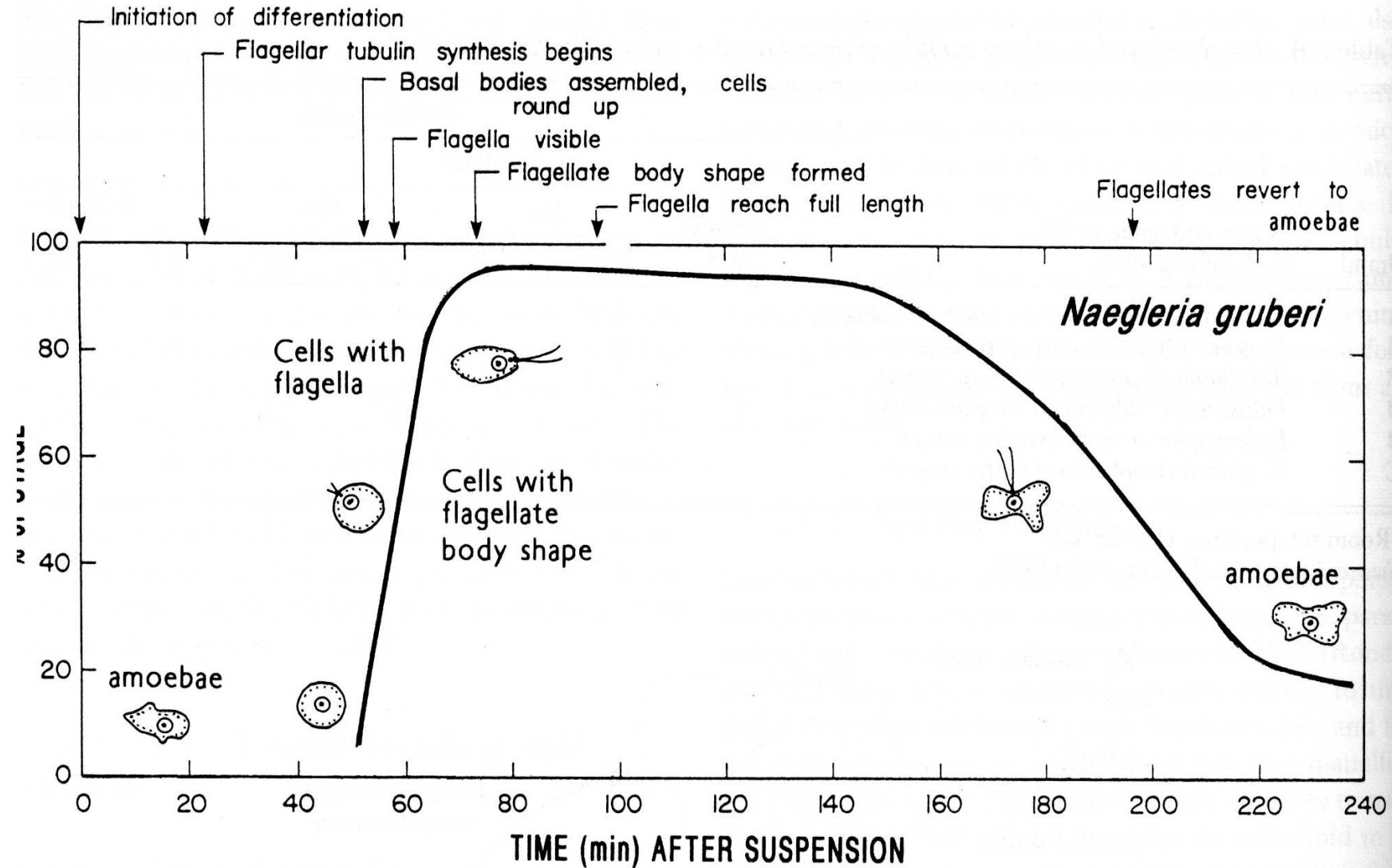




# Naegleria fowleri



# Transformance *Neagleria fowleri*





## Obecná charakteristika

- jednobuněční, nepigmentovaní, primitivní
- nemají Golgiho aparát
- peroxisomy obvykle přítomny
- mitochondrie s plochými nebo diskovitými kristami
- vzácně jsou přítomny hydrogenosomy
- 1 – 4 bičíky avšak bez mastigonem
- některé druhy ve formě améby i s bičíky
- sladkovodní i mořští zástupci
- někteří jsou fakultativními cizopasníky

Zástupci: Naegleria, Tetramitus, Vahlkampfia  
Acanthamoeba, Balamuthia

# Volně žijící améby

Současná klasifikace těchto améb je založena na těchto znacích:

- 1) struktura jádra
- 2) velikost trofozoita
- 3) tvar pseudopodií
- 4) počet jader
- 5) struktura cysty
- 6) sexuální reprodukce
- 7) formace bičíkatých stádií
- 8) antigenní charakter
- 9) typ isoenzymové migrace
- 10) typ media umožňující kulturu in vitro
- 11) tolerance a preference teploty