

Mikrobiologija patogena

interna skripta

Ivan Kosalec, URL*

*URL = uredio, recenzirao i lektorirao

Sveučilište u Zagrebu

Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Zagreb, 2016. godine

Ovaj oblik skripte nastao je ponajviše radom i marom studentica i studenata koji su upisali izborni kolegij **Mikrobiologije patogena** na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Obostranom suradnjom između studenata i mene kao nastavnika-mentora nastale su vrlo interesantne prezentacije gradiva o, jednako tako uzbudljivom - oku nevidljivom svijetu mikrobnih patogena. Svi seminarski radovi su recenzirani i lektorirani i predstavljaju presjek bakterijske etiologije zaraznih bolesti (legionele, rikecije, klamidije, *E. coli*), gljivične (plijesni), virusne (herpes virusi) te parazitarne etiologije (vezane uz gastro-inestinalni sustav). Opisan je i primjer vektora (krpelj iz roda *Ixodes*). Ova skromna skripta nudi pregršt informacija sakupljenih iz raznih izvora, a naglasak bih dao na mikrobnj patogenezi imajući u vidu osjetljivost nositelja te uvijek prisutne metode sprječavanja zaraznih bolesti poznavajući širi sistemski i dinamički kontekst u kojemu je *Homo sapiens* samo član, kao što je to i mikrob.

Kao i svaki život i ova je skripta teži evoluirati.

Ivan Kosalec

U Zagrebu, studenog 2016. godine

Sadržaj:

1. Legionele	4
2. Francisele.....	9
3. Klamidije.....	13
4. Rikecije	25
5. Uropatogeni serovari <i>E. coli</i> (UPEC)	33
6. Prioni i prionske bolesti.....	41
7. Parazitarne infekcije (infestacije)	53
8. HERPSEVIRIDAE.....	67
9. Biologija krpelja	82

1. LEGIONELE

Legionele su aerobne, gram-negativne, štapičaste bakterije otkrivene 1977. godine nakon što je u srpnju 1976. prilikom Konvencije američkih legionara u Philadelphiji izbila epidemija dotad nepoznate bolesti¹.



Nime, oboljelo je 221 ljudi, od kojih je 34 preminulo, zbog čega je došlo do velike panike u američkoj javnosti. Prvobitne teorije bile su raznolike, od mišljenja da se radi o bioterizmu pa do virusima uzrokovane bolesti. Nakon što je napokon otkriveno da je uzrok bakterija, ona je dobila naziv *Legionella pneumophila*, u čast legionarima i gradu Philadelphiji, a bolest se naziva legionarska ili legioneloza.

Legioneloze su bolesti uzrokovane bakterijama iz porodice Legionellaceae, a 90% ih je uzrokovano vrstom *L. pneumophila* i to najčešće sa **serotipom 1**. Među ostalim bakterijama roda *Legionella* najvažnije su vrste *L. micdadei*, *L. bozemanii* i *L. dumoffi* koje su uzročnici bolesti u imunokompromitiranih bolesnika. Usporedbom sa sačuvanim materijalima specifičnih protutijela i izolata iz 50.-ih godina dokazano je da se bolest pojavljivala u manjim razmjerima i puno puta prije, te su tako retrospektivno riješeni mnogi prijašnji neobjašnjivi slučajevi. Legionarska bolest izaziva simptome akutne upale pluća uz popratno oštećenje unutrašnjih organa, no može proći bez vidljivih simptoma, ovisno o jačini imunološkog sustava inficiranog nositelja te može izazvati i slabiji oblik bolesti koji se naziva pontijačka groznica (engl. *pontiac fever*). Naziv je dobila po epidemiji koja je izbila 1967. godine u gradu Pontiac, u američkoj državi Michigan. Do sada je identificirano 35 vrsta *Legionella*, a svaka od njih ima i podvrste (serološke skupine ili serogrupe).

Razlog što ova bakterija nije ranije otkrivena je njezino relativno teško uzgajanje u *in vitro* uvjetima, te slabo vizualiziranje bojenjem po Gramu i drugim uobičajenim histološkim tehnikama i bojanjima. Legionele i danas predstavljaju svakidašnji rizik pa je stoga 1986. godine osnovana organizacija akronima **EWGLI** (engl. *European Working Group for Legionella Infections*²) sa sjedištem u Londonu, koja prikuplja i djeli znanja o epidemiološkim i mikrobiološkim aspektima legioneloza. Ova radna skupina također predlaže metode tipiziranja legionella, predlaže standarde i protokole izolacije antigena u urinu te PCR-vezujućih tehnika kojih se treba pridržavati kako bi se smanjila mogućnost infekcije te pravodono odredila identifikacija legionela.

Vrsta *L. pneumophila*

Vrsta *Legionella pneumophila* je tanka, štapičasta, pleomorfna bakterija (od 0.5 do 0.7 μm) sa filamentoznim oblicima koje mogu biti dugačke i do 20 μm . Pokretne su sa polarnim, subpolarnim ili lateralnim bičevima. Strukturno ima osobine slične drugim gram-negativnim bakterijama: tipičnu vanjsku membranu, peptidoglikanski sloj i citoplazmatsku membranu. Legionela nema staničnu stijenku, iz čega proistječu njezina najvažnija patogenetska i klinička obilježja te otpornost prema β -laktamskim antibioticima. Toksičnost njenog lipopolisaharida (LPS) je mnogo manja nego kod drugih gram-negativnih bakterija. Dotočno svojstvo je pripisano kemijskom sastavu LPS postraničnih lanaca koji su homopolimeri neuobičajenog ugljikohidrata – **legionamične kiseline** koja pokazuje visoku hidrofobnost, a što pridonosi mogućnosti prianjanja na druge bakterijske stanice i njihovoj visokoj

¹ <http://www.cdc.gov/legionella/about/history.html>

² <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1202-TED-ELDSNet-operating-procedures.pdf>

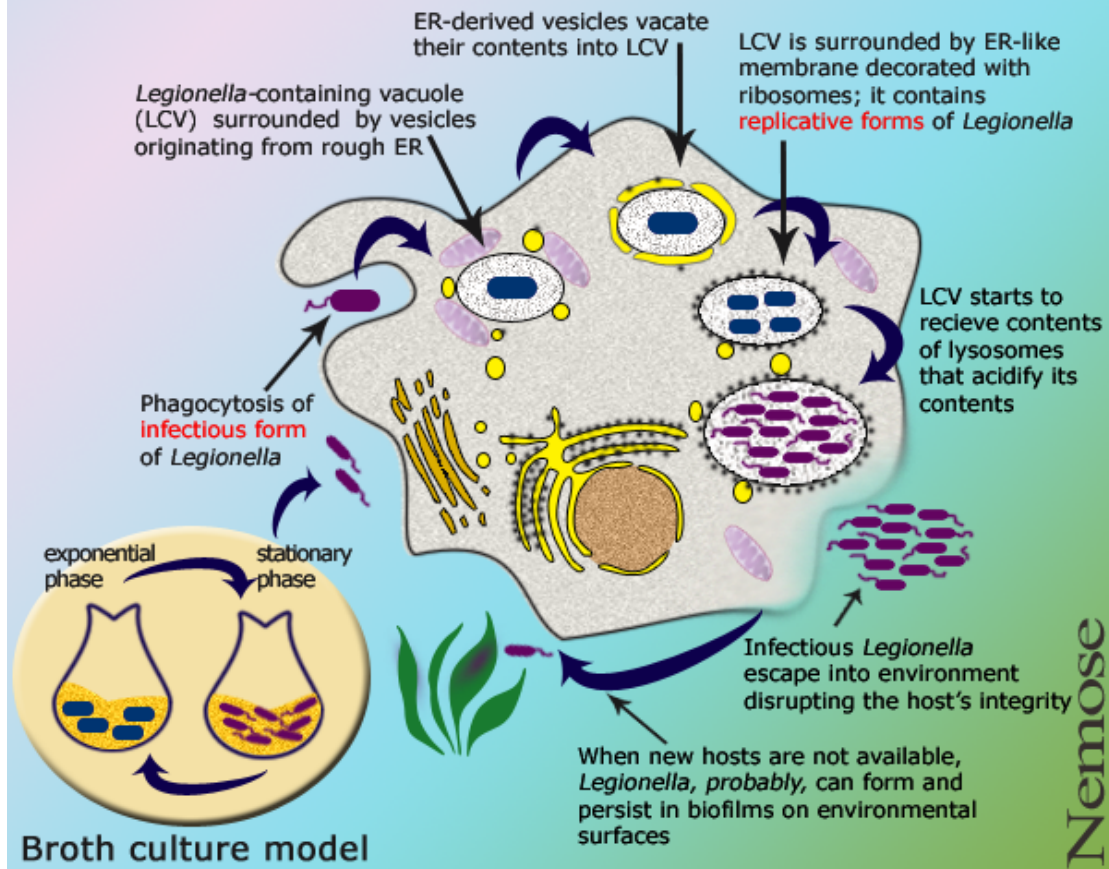
koncentraciji u aerosolima. Za rast na hranjivim podlogama ova bakterija zahtijeva aminokiselinu cistein te željezo, pa se ne može uzgojiti na uobičajenom u mikrobiološkoj praksi krvnom agaru. Najčešće se uzgaja na selektivnom BCYE (engl. *Buffered Charcoal Yeast Extract*) agaru. Potrebna joj je i blago kisela sredina, optimalni pH za uzgoj je 6.9. Temperaturni optimum za uzgoj u laboratoriju je 37 °C, iako legionele različito reagiraju na temperaturni stres, a što je važno sa epidemiološke strane. Pod navedenim uvjetima za rast joj treba 2-5 dana nakon čega stvara kolonije slične satiniranom staklu. Potom se koriste imunološke tehnike kako bi se ustanovilo o kojoj je serogrupi legionela. Vrsta *L. pneumophila* ima 14 serogrupa/seroloških skupina – originalni Philadelphia soj (serogrupa 1) je najučestalija, a sojevi 1-4 predstavljaju uzročnike 80-90% slučajeva zaraze.

Ovisnost temperature i preživljavanja vrste *L. pneumophila* (priloženo iz: www.who.int)

Temperatura (°C)	Preživljavanje vrste <i>L. pneumophila</i>
>70	ne preživljava
60	90% ne preživljava nakon 2 min
50	90% ne preživljava nakon 80-124 min
48-50	preživljavaju uz nemogućnost replikacije
32-42	optimalni rast
<20	moгу preživjeti u dormantnom stanju

Legionele su uglavnom prisutne u slatkovodnim staništima kao obligatni ili fakultativni unutarstanični paraziti u praživotinjama, posebice u amebama. Unutar ameba preživljava i razmnožava se u odjeljcima endoplazmatskog retikuluma (ER) uz uspješno izbjegavanje acidifikacije i stapanje sa lizosomima. Nakon ulaska u stanicu, vezikule koje sadrže bakteriju odmah napadaju vezikule između ER i Golgijevog kompleksa i prisvajaju ih. Prisvojene vezikule se spljošte i postanu dio membrane oko vezikule s bakterijama, koja se spoji s ER gdje se može replicirati. Signalni proteini stanice nositelja koji su potrebni za usmjeravanje transporta su: Rab1, Arf1, Sec22b i Cdc48/p97. Tijekom ko-evolucije s protozoama kao nositeljima (domaćinima), ove su bakterije usvojile neobično puno eukariotskih gena kao rezultat interakcije s proteinskim strukturama stanice nositelja. Moguće je da je usvajanje dotičnih gena pre-adaptiralo bakterije roda *Legionella* da postanu patogene za sisavce. Prilikom infekcije legionele inficiraju alveolarne makrofage. Primijećena je velika sličnost u signalnim putovima i proteinima citoskeleta između stanica praživotinja u kojima legionela parazitira i stanica makrofaga. Ljudi se inficiraju kapljičnim pute najčešće preko uređaja u kojima voda cirkulira u zatvorenom sustavu kao što su klimatizacijski sustavi. Često ih se može naći unutar velikih zgrada, kao što su hoteli, bolnice, tvornice, poslovne zgrade. Osim rashladnih uređaja često koloniziraju tuševe, kade, respiracijske uređaje. Podnose relativno visoke razine klora, ali općenito viša pH vrijednost, niža temperatura i manji sadržaj klora mogu pogodovati duljem preživljavanju.

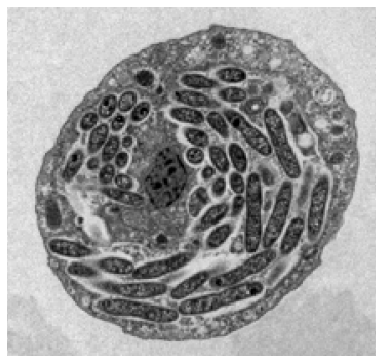
Growth cycles of *Legionella pneumophila*



Intracelularni životni ciklus vrste *L. pneumophila* unutar stanice nositelja
(<http://www.metapathogen.com/legionella/>)

Legionarska bolest

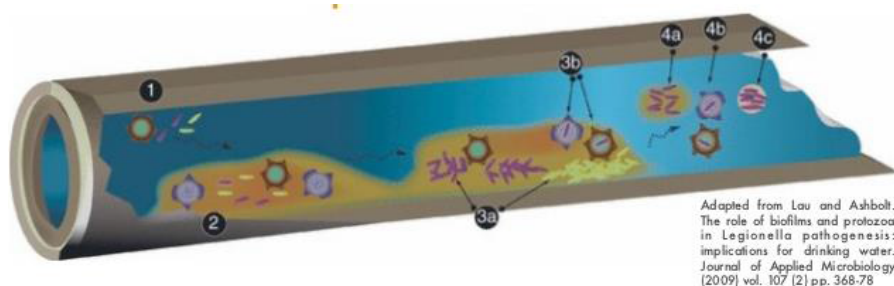
Kad se u vodoopskrbnim sustavima (klimatski uređaji, rezervoari, ovlaživači zraka i sl.) stvore povoljni uvjeti za razvoj legionela, one se toliko namnože da vodeni aerosol postane infektivan za ljude. Tomu posebno pogoduje dulji zastoj vode u cirkulaciji, hidranti i slijepi završetci cijevi, temperatura vode od +20 do +40 °C, korozija cijevi sa stvaranjem mulja i odgovarajuće protozoe - posebno amebe.



Vrsta *L. pneumophila* unutar amebe (izvor: www.wolf-umwelttechnologie.de)

Dosad nije dokumentiran prijenos sa čovjeka na čovjeka. Legionarska bolest je izrazito sezonska;

većina slučajeva je u toplijem dijelu godine, najviše u rujnu i kolovozu i to na sredozemnom području. Često se povezuje s turistima, putnicima te zaposlenicima u velikim poslovnim zgradama. Općenito rijetko oboljevaju djeca, a često stariji ljudi i kronični bolesnici, odnosno imunokompromitirane osobe. Bolest je otprilike triput učestalija u muškaraca nego u žena, a rizične čimbenike predstavljaju i starija životna dob, pušenje i alkoholizam. No, oboljevaju i posve zdrave osobe, bez poznatih rizičnih čimbenika. Na legionarsku bolest otpada 2-15% svih pneumonija u populaciji. Puno se lakše otkriva kada dođe do epidemije, ali sporadični slučajevi mnogo su brojniji i teže se otkrivaju.



Biofilm u cijevima sa legionelom. 1) legionela ulazi u vodeni sistem s praživotinjama, 2) apsorpcija unutar biofilma, 3a) Legionele koloniziraju biofilm ili 3b) parazitiraju unutar praživotinja 4) nakon oslobađanja iz biofilma, legionele odlaze nizvodno u drugi biofilm ili ulaze u vodu za piće (prema Lau i Ashbolt, 2009)

Patogeneza

Kad kapljičnim putem legionela inficira čovjeka, ona inficira alveole i terminalne bronhiole, štedeći veće bronhiole i bronhije. S obzirom da ima odnos spram nositelja kao intracelularni parazit, cilj joj je ući unutar stanica makrofaga. Na površini svoje membrane legionela posjeduje protein **OMP** koji se veže za **C3**, te inducira stvaranje pora u membrani makrofaga. Druga vrsta OMP proteina koji se naziva **Mip** (engl. *Macrophage invasion potentiator*) omogućava ulazak u stanicu. Unutar vezikule, bakterije se nastavljaju replicirati u stanici na način da onemogućavaju spajanje fagosoma i lizosoma, te nastanjuju ER. Bakterije kontroliraju vezikule inficirane stanice na isti način kao što kontroliraju vezikule protozoa na kojima parazitiraju: **luče proteine kojima moduliraju vezikularni transport**. Preživljavanje unutar makrofaga pospješuje i sposobnost legionela da izdvajaju željezo iz unutarstaničnog transferina i lučenje peptidnog toksina koji inhibira aktivaciju oksidativnih radikala polimorfonuklearnih neutrofila. Općenito su mehanizmi preživljavanja legionele unutar ljudskih makrofaga vrlo slični mehanizmima preživljavanja unutar praživotinja. Makrofazi inficirani legionelama izlučuju citokine koji s drugim posrednicima upale privlače polimorfonuklearne neutrofile i monocite iz krvnog optjecaja na mjesto infekcije, pri čemu se monociti transformiraju u makrofage koji također fagocitiraju legionele. Oštećenje tkiva uvjetovano je produkcijom citokina i upalnim odgovorom, više nego izravnim invazivnim djelovanjem legionela. **IL-1** je najvažniji citokin u tom procesu, a odgovoran je za visoki febrilitet u oboljelih. Budući da se fagocitozom legionele ne odstranjuju, dapače, vrlo brzo se razmnožavaju, fagociti ih krvnom cirkulacijom iz pluća raznose i u druge organe. U tim su organima upalne promjene mnogo manje i nisu specifične. Destruktivna pneumonija izazvana legionelom ima **simptome glavobolje, groznice, suhog kašlja i boli u prsima**. Očituje se vrlo različito, od blagih oblika do vrlo teških upala pluća s visokom stopom smrtnosti. Žarište je najčešće u plućima i eventualno prošireno na pleuru, a rijetko izvan respiracijskog sustava. Upalne izlučevine sadrže fibrin, polimorfonuklearne neutrofile, makrofage i eritrocite. Inkubacija iznosi od 2 do 10 dana, a kod imunokompromitiranih bolesnika može biti i dulja. Prvi simptom je povišena temperatura, za koju je karakteristično da je vrlo visoka (često viša od +41° C). Temperaturu prati zimica i drhtavica. U početku bolesnik ne kašlje, ali nakon 2 - 5 dana pojavljuje se suhi nadražajni kašalj. Nakon kašlja pojavljuju se i

drugi respiratorni simptomi, kao što je bol u plućima, dispneja i tahipneja. Sve je popraćeno općom slabosti, povraćanjem i dijarejom. Plućne su promjene vrlo agresivne i brze, što se očituje na rendgenskoj slici pluća. Ponekad se očituju i simptomi zahvaćenosti središnjeg živčanog sustava, kardiovaskularnog sustava, jetre i bubrega. U prošlosti je mortalitet bio vrlo visok (20%), a danas je oko 5% kod bolesnika iz opće populacije i 15% kod imunokompromitiranih bolesnika, te onih koji su se zarazili u bolnici. Pontijačka groznica je samoograničavajuća bolest i može označavati reakciju na endotoksin ili hipersenzitivnost na antigene legionele ili njenog protozoanskog domaćina.

Imunološki odgovor

Humoralna imunost najvjerojatnije nema važnu ulogu u obrani, jer specifična protutijela ne zaustavljaju intercelularnu replikaciju legionela u alveolarnim makrofazima. Nakon aktivacije stanične imunosti, protutijela imaju sporednu ulogu kroz pojačanje fagocitoze. Stanična imunost je stoga osnovna komponenta obrane, te je legionarska bolest mnogo teža i češća kod bolesnika koji imaju oštećenu staničnu imunost, primjerice nakon dužeg liječenja kortikosteroidima ili presadbe organa. Nepoznato u kolikom je razmjeru legionela sposobna interferirati sa imunološkim odgovorima, ali primijećena je smanjena ekspresija MHCI i MHCII molekula na makrofagima koji sadržavaju bakterije. Kod imunokompetentnih osoba, citokinima aktivirani makrofagi uspijevaju spriječiti unutarstaničnu replikaciju legionele. Nije još poznato jesu li ljudi koji su preboljeli legionarsku bolest imuni na osnovnu infekciju i bolest.

Laboratorijska dijagnostika

Brojnim se mikrobiološkim metodama može dokazati **uzročna kultura, antigeni** u respiratornom sekretu ili u mokraći, **protutijela** u serumu, a danas se koriste i molekularne dijagnostičke metode. Legionarska bolest se najčešće dijagnosticira serološki, otkrivanjem visokog titra protutijela u serumu. Najprikladnija i najuspješnija je metoda indirektno imunofluorescencije, a potom imunoenzimski (ELISA) test. Izravnom se imunofluorescencijom, otkriva nazočnost antigena legionele u iskašljaju i u drugim respiratornim uzorcima. Iako je ova metoda vrlo brza, ima relativno nisku osjetljivost jer najviše ovisi o broju legionela u uzorku. **Brzi dijagnostički test za otkrivanje antigena u mokraći ima veoma visoku specifičnost.** On je najjednostavniji za izvođenje, jer se uzorak najlakše nabavlja, a ne zahtijeva specijaliziranu tehniku pa je i jeftin. Zato je vrlo prikladan i pouzdan u svakodnevnome kliničkom radu. Nedostatak mu je što otkriva samo **serotip 1** vrste *L. pneumophila*, ali ovaj je serotip odgovoran za više od 80% slučajeva legionarske bolesti pa je ovaj nedostatak u praksi manje bitan. **Topljivi antigen se pojavljuje rano u mokraći, već prvih dana bolesti, a katkad se zadržava nekoliko tjedana.** Lančana reakcija polimerazom (PCR) je danas već u kliničkoj dijagnostičkoj primjeni, ali zahtijeva visokospecijaliziranu opremu, kao i stručno osoblje za izvođenje testa.

Literatura:

WHO, Legionella na the prevention og legionellosis, WHO, 2007, dostupno na:
http://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/legionella.pdf

Legionella, <http://www.metapathogen.com/legionella/>

Legionella, www.wolf-umwelttechnologie.de

Lau HY, Ashbolt NJ, The role of biofilms and protozoa in Legionella pathogenesis: implications for drinking water, J Appl Microbiol. 2009; 107(2):368-78.

2. FRANCISELE

Rod *Francisella* uključuje sitne, kokoidne, gram-negativne bakterije, koje su nazvane u čast američkom mikrobiologu Edwardu Francisu. On je 1922. identificirao uzročnika tularemije- bakteriju koja je kasnije imenovana *Francisella tularensis*. Organizam je prvi put izoliran iz malih sisavaca 1911. u okrugu Tulare u Kaliforniji. Tularemija je zoonoza glodavaca i zečeva, rijetka u Europi, a čovjek se može inficirati direktnim kontaktom, preko artropodnog vektora (muhe, komarci, krpelji) ili putem čestica prašine. **Postoje 4 glavne podvrste *F. tularensis*: *F. tularensis* (*Francisella* tip A), *F. holarctica* (tip B), *F. novicida*, *F. mediasiatica*, ali i varijanta *F. holarctica* tipa koja je nađena uglavnom samo u Japanu.** Samo tip A i tip B mogu izazvati ozbiljne posljedice kod imunokompetentnih ljudi, posebice tip A koji je mnogo virulentniji i odgovoran je za veliku većinu teških slučajeva infekcije. Tip A nalazimo kod zečeva i rasprostranjen je u Sjevernoj Americi, a tip B uglavnom kod glodavaca Sjeverne Amerike i Europe. Tularemija je u prošlosti izazvala veliko zanimanje kao potencijalno biološko oružje, posebice u doba hladnog rata.

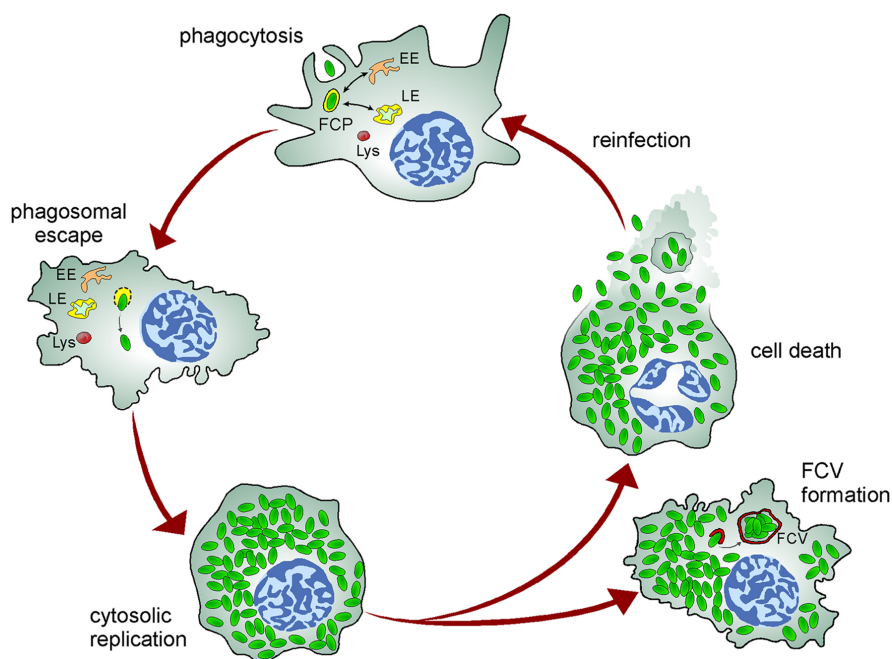
Podvrste vrste *F. tularensis*, njihova endemičnost i letalnost za ljude (izvor: Oyston i sur., 2009)

PODVRSTE <i>F. TULARENSIS</i>	PRIMARNA GEOGRAFSKA LOKACIJA	LD ₅₀ ZA LJUDE
<i>Tularensis</i>	Sj. Amerika, Meksiko	<10 CFU*
<i>Holarctica</i>	Europa, Sibir, Kazahstan, Daleki Istok, Sjeverna Amerika, Meksiko	<10 ³ CFU
<i>Mediasiatica</i>	Središnja Azija, dijelovi bivšeg SSSR-a	nema podataka
<i>Novicida</i>	Sj. Amerika, Australija	>10 ³ CFU

*CFU (eng. Colony Forming Units)- broj kolonija

Vrsta *Francisella tularensis* je mala (0.2-0.7 μm), asporogena, aerobna, pleomorfna i nepokretna bakterija koja ne posjeduje pile. Kapsula joj je vrlo tanka i građena je prvenstveno od manoze, ali također sadržava aminokiseline i masne kiseline. Koncentracija lipida u kapsuli i staničnoj stijenci je neobično velika za gram-negativnu bakteriju i iznosi 50-70%. U kliničkom materijalu i svježim kulturama ima kokoidni oblik, ali u starijim kulturama javljaju se i duži štapićasti oblici. **Glavni rezervoari francizele su glodavci i zečevi, a vektori bolesti su muhe, krpelji i komarci.** Ubod krpelja na zečju kožu smatra se jednim od najčešćih načina ljudskih infekcija, osobito u južnim dijelovima SAD-a. Zečevi roda *Sylvilagus* i roda *Lepus* smatraju se najvažnijim nositeljima (domaćinima). Zbog toga je tularemija poznata i kao "**zečja groznica**". Francizele mogu preživjeti mjesecima na niskoj temperaturi, u vodi, blatu ili leševima životinja. Vrsta *F. tularensis* fakultativni je unutarstanični parazit u velikom broju stanica, od kojih su glavni makrofagi za razmnožavanje u uvjetima *in vivo*. Da bi i tim uvjetima preživjela, ona uništava brojne fukcije makrofaga i djelove nespecifične imunosti nositelja. Iako je ova bakterija gram-negativna, njen endotoksin ima vrlo malu bioaktivnost koja nije dovoljna da bi se aktivirali makrofagni *Toll-like* receptori. Pokazalo se da je za ulazak u stanicu ključan makrofagni manoz-a-receptor (MR). U slučajevima kad su MR blokirani određenim ksenobioticima, infekcije su smanjene ovisno o dozi. MR se u velikoj količini nalaze na alveolarnim makrofagima, pa to objašnjava nisku infektivnu dozu pri aerosolnom prijenosu francizele. Fagocitozu vrste *F. tularensis* od

strane neutrofila, makrofaga i dendrita pojačava i receptor komplekta 3. Aktivacija MR supresira lučenje TNF- α i drugih upalnih citokina, pa je taj način ulaska u stanicu sigurniji za bakteriju. Nakon, ulaska u stanicu makrofaga, vrsta *F. tularensis* ulazi u rani endosom i sprječava njegovo dozrijevanje. Kasni fagolizosomi imaju vrlo razvijene sustave za uništavanje mikroba: reaktivne oksidativne vrste (ROS), reaktivni dušikovi radikali, kationski antimikrobni peptidi i lizosomalne kisele hidrolaze. Bakterije stoga izbjegavaju fuziju s lizosomom i zrenje endosoma. Istraživanja učinaka vrste *F. tularensis* na ljudske fagocite pokazala su i supresiju brojnih drugih signalnih puteva kao što je TLR signalizacija, autofagija, prezentiranje MHC molekula, signalizacija interferonima i PI3K (fosfatidilinozitol 3-kinaza) signaliziranje. Bitna prilagodba koja joj omogućava preživljavanje je i izbjegavanje oksidativnog praska PMN stanica, odnosno supresija NADPH oksidaze. Iako se razmnožava u endosomu, najkasnije sat vremena nakon infekcije izlazi iz fagosoma bez obzira radilo se o ljudskim ili mišjim makrofagima. Ubrzo nakon toga velik broj bakterija slobodan je i razmnožava se u citoplazmi. Inficiran makrofagima bakterije se šire po čitavom tijelu.



Životni ciklus vrste *F. tularensis* unutar makrofaga (prema Chong i Celli, 2010)

Istraživanja pokazuju da vrsta *F. tularensis* dobro preživljava u vodi, hrani i na različitim temperaturama. Najbolje se replicira na staničnim podlogama koje sadržavaju aminokiselinu cistein i željezo (slično kao i legionele). Vrlo uspješno se razmnožava i u mlijeku, što se pokazalo na primjeru epidemije u Moskvi 1996. godine kad je mnogo ljudi oboljelo od tularemije koja se prenijela kontaminiranim mlijekom. Obično se uzgaja na čokoladnom agaru; nakon 2 do 4 dana kultivacije pri temperaturi od 37 °C, izrastu glatke, bijel obojene kolonije promjera oko 2 mm. Na krvnom agaru vidljiva je i uska zona alfa-hemolize. Biokemijski testovi pokazuju da je oksidaza negativna, ureaza negativna i katalaza slabo pozitivna. Ako se bakterije pohrane na -70° C ili se liofiliziraju, virulenciju mogu zadržati godinama. Preživljavaju zagrijavanje na temperature do 65° C. Vrsta *Francisella tularensis* je izrazito infektivna patogena bakterija, pa inokulacija ili inhalacija **samo deset stanica** već može izazvati kliničke manifestacije tularemije. **Prijenos bakterije interhumano nije do sada zabilježen, slično kao i kod legionela.** Primarni učinak nakon infekcije je upala na mjestu ulaska uzročnika. Bolest se među životinjama širi direktnim ili indirektnim kontaktom, preko hrane i vode ili hematofagnim artropodnim vektorom. Čovjek se zarazi kontaktom sa zaraženom životinjom, ingestijom zaraženog mesa, ugrizom glodavca ili insekta te kapljičnim putem. Posebno su ugroženi

mesari, lovci i krznari. Tularemija je sezonska bolest; češće dolazi do infekcija ljeti (zbog kontakta sa životinjama i insektima). U zimskim mjesecima, većina je slučajeva posljedica kontakta sa zaraženim divljim zečevima pri deranju kože. Slučajevi bolesti zabilježeni su uglavnom u ruralnim predjelima, dok je incidencija bolesti na urbanim prostorima vrlo rijetka. Početak bolesti je nagla groznica ili treskavica, uz visoku temperaturu i ostale opće simptome infekcije (glavobolja, slabost, povraćanje). Budući da uzročnik može ući u organizam na više načina i mjesta, tako i bolest u kliničkoj slici može biti jako različita. Inkubacija traje od 3 do 10 dana. Oblici bolesti mogu se podijeliti na unutarnje i vanjske. Vanjski oblici su: ulceroglandularni (preko kontakta sa životinjom ili ugriza), glandularni, okuloglandularni (umivanje zagađenom vodom, zagađeni prsti), anginiozni (zahvaća tonzile). Unutarnji oblici bolesti su: plućni (udisanje kontaminiranog zraka), abdominalni (konzumacija zaraženog mesa ili pijenje vode), tifoidni (septički, može nastati bilo kojim putem prijenosa). Ulceroglandularni oblik je najčešći, francizela redovito ulazi preko kožne mebrane na ruci. Prvotno se javlja bezbolni čvorčić (papula) koja brzo nekrotizira. Stvori se ulkus, a potom dolazi do regionalnog povećanja limfnih čvorova. Limfni čvorovi nisu bolni, ali često razmekšaju i perforiraju kožu sa stvaranjem fistule. Glandularni oblik uključuje upalu limfnih čvorova bez vidljivog primarnog efekta. Simptomi okuloglandularnog oblika su jednostrani konjuktivitis, natečenost vjeđe, crvena i otečena spojnica, povećani limfni čvorovi ispred uške i vratni limfni čvorovi. Primarni efekt kod angioznog oblika je obostrana ili jednostrana ulceromembranozna angina, veliko povećanje vratnih limfnih čvorova. Promjene na tonzilama su relativno male, ali otok limfnih čvorova je značajan. Kod plućnog oblika dolazi do atipične pneumonije s povećanjem traheobronhalnih limfnih čvorova. Na plućima često dolazi do komplikacija u vidu apscesa, gangrene, kaverna i pleuritisa. Ostali simptomi vezani uz respiratorni sustav su slabo izražene (kašalj, tahipneja, dispneja). Promjene na plućima se najviše očituju na rendgenskoj slici u obliku mrljastih zasjenjenja s jakim povećanjem limfnih čvorova. Za abdominalni oblik tularemije karakteristične su ulceracije na tankom i debelom crijevu te oteklina mezenterijalnih limfnih čvorova. Kod bolesnika se javljaju bolovi u trbuhu, ponekad proljev i povraćanje. Čvorovi se mogu napipati kroz trbušnu stijenu, te mogu uzrokovati peritonitis. U tifoidnom obliku postoje samo opći znakovi infekcije bez primarnog efekta i nateknuća čvorova. Najznačajniji simptom je vrlo dugotrajna vrućica, praćena poremećajima svijesti i simptomima intoksikacije. Osip se često javlja kod svih oblika infekcije, kao simptom upalne reakcije izazvane prodorom bakterije. Ukoliko se ne obuzda lokalna upala, doći do sistemske uslijed širenja zaraženih makrofaga po tijelu putem limfe ili krvi. Ozbiljniji oblici tularemije su fatalni u 60% slučajeva u odsutnosti pravilne antibiotske terapije. NOD-like receptori prepoznaju francizele u citosolu i potiču aktivaciju inflammasoma. Ovaj kompleks aktivira kaspazu-1, što rezultira sekrecijom IL-1 β i IL-18 i potiče piroptozu. Pokazalo se da urođena imunost ima veliki značaj u obrani od francizele. Interferon γ i TNF su posebno važni u ranim stadijima infekcije, jer aktiviraju makrofage i produkciju reaktivnih oksidativnih vrsta i dušikovih oksida. Humoralni specifični odgovor, odnosno stvaranje antitijela je manje važno za eliminaciju ovog mikrobnog patogena zbog dugog vremenskog perioda potrebnog za aktivaciju. Antitijela se počinju stvarati tek drugi tjedan nakon infekcije. U liječenim slučajevima smrtnost je vrlo niska. Do smrti obično dolazi zbog rasprostranjene infekcije, pneumonije, meningitisa ili peritonitisa. U slučajevima koji nisu liječeni na odgovarajući način može doći do recidiva. Jednom preboljena bolest donosi otpornost. Na dijagnozu se sumnja ako je bolesnik imao dodir sa zečevima ili divljim glodavcima ili izlaganju artropodima, uslijed nagle pojave simptoma i karakteristične primarne promjene. Bolesnicima treba učiniti hemokulturu te kulture iz odgovarajućeg kliničkog materijala (npr. sputuma, kožnih promjena), te odrediti titrove protutijela. Serum bolesnika od bruceloze također može križano reagirati s antigenima *F. tularensis*, no obično s puno manjim titrovima. U nekim se laboratorijima rabe fluorescentna protutijela. Problem s dijagnozom čini i relativno dugotrajan uzgoj *in vitro*, te kasna pojava protutijela. Leukocitoza je česta, no broj leukocita može biti normalan, uz porast samo broja PMN. Budući da je uzročnik iznimno zarazan, s uzorcima i podlogama za uzgoj u

slučajevima sumnje na tularemiju treba postupati vrlo oprezno, te ih ako je moguće, obraditi u visoko specijaliziranom laboratoriju.

Literatura:

Chong A, Celli J, The *Francisella* Intracellular Life Cycle: Toward Molecular Mechanisms of Intracellular Survival and Proliferation, *Front Microbiol.* 2010; 1: 138

Denyer, S, Hugo, W. (1998). *Hugo and Russell's pharmaceutical microbiology*. 6th ed. Chichester, UK: Wiley-Blackwell, pp.7-208.

Kayser, F. (2005). *Medical microbiology*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, pp.311-316.

Oyston, P., Sjöstedt, A. and Titball, R. (2004). Tularaemia: bioterrorism defence renews interest in *Francisella tularensis*. *Nat Rev Micro*, 2(12), pp.967-978

Rakić, A., Perić, J. i Štambuk-Giljanović, N. (2013). Prisutnost bakterija *Legionella pneumophila* u toploj vodovodnoj vodi u ovisnosti o ekološkim čimbenicima. *Hrvatske vode*, 21(83), pp.1-6.

Ryan, K., Ray, C. i Sherris, J. (2004). *Sherris medical microbiology*. New York: McGraw-Hill, pp.415-421.

Schaible, U. i Haas, A. (2009). *Intracellular niches of microbes*. Weinheim: Wiley-VCH, pp.315-424.

Semić, V., Brezovec, M., Lazarić, I. i Šantić, M. (2009). Ekologija, domaćini i vektori bakterije *Francisella tularensis*. *Medicina*, 49(2), pp.154-159.

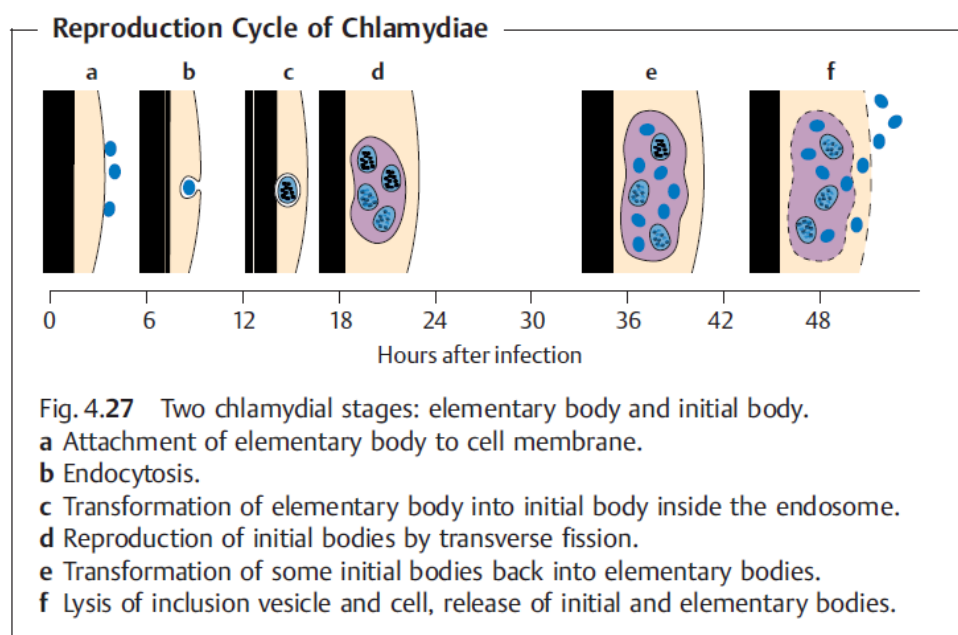
3. KLAMIDIJE

Uvod

Klamidije su male, kokoidne, gram-negativne bakterije koje imaju parazitaran oblik života u stanicama nositelja (domaćina) gdje stvaraju specifične uklopine (inkluzije) vidljive svjetlosnim mikroskopom. Reproductivni ciklus klamidija sastoji se od dva razvojna stadija kojima se razlikuju od ostalih bakterija. Elementarno tjelešće je optimalno prilagođeno preživljavanju izvan stanica domaćina, dok se unutar stanice nositelja razvija inicijalno tjelešće, poznato i kao retikularno tjelešće. **U rodu Chlamidiae su 4 vrste klamidija: *Chlamydia trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae* i *C. pecorum*** koje se još nazivaju i energetskim parazitima jer ne mogu same proizvesti ATP. Zbog toga potpuno ovisne o energiji stanice u kojoj parazitiraju za sintezu vlastitih DNA, RNA, proteina i lipida. ATP stvoren u eukariotskoj stanici nositelja ulazi u inicijalno tjelešće pomoću ATP/ADP translokaze. U klamidijama nije dokazano postojanje citokroma niti flavoproteina pa su one vjerovatno anaerobni organizmi.

Morfologija i razvojni ciklus

Klamidije se javljaju u dva različita morfološka oblika koja su usko vezana za razmnožavanje ovih bakterija. **Elementarno tjelešće** je okruglog ili ovalnog oblika veličine u promjeru oko 300 nm. Predstavlja infektivni oblik patogena i specijaliziran je za preživljavanje izvan stanica nositelja. Elementarno tjelešće veže se za specifične receptore na stanicama nositelja i ulaze putem endocitoze. Tijekom cijelog razvoja ostaju obavijene ovojnicom endosoma jer specifično sprječavaju spajanje endosoma i lizosoma. Nekoliko sati nakon ulaska u stanicu nastaju promjene u staničnoj stijenci, DNA se rasprši i nestaje centralni nukleoid. Započinje sinteza DNA, RNA i proteina, povećava se citoplazma s ribosomima i nastaje **inicijalno tjelešće** koje se dijeli na dva. Citoplazma vakuola se povećava i nastaju inkluzivna tjelešca (ili retikularna tjelešca) specifična za klamidije čija je veličina u promjeru 1000 nm. Nakon toga inicijalno tjelešće se prestane dijeliti, smanjuje se, zgušnjava se citoplazma, javlja se centralni nukleoid i nastaju tipična zrela **elementarna tjelešca** koja se oslobađaju iz stanica domaćina i započinju novi ciklus infekcije.



Reproduktivni ciklus klamidije (prema Kayser i sur., 2005)

Struktura antigena

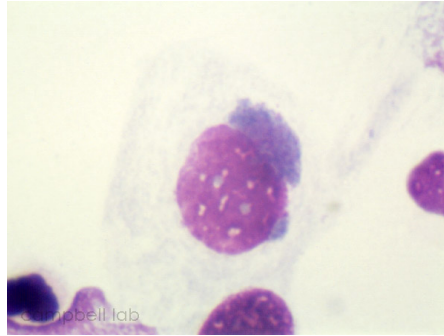
Svi članovi roda *Chlamydia* imaju zajednički termostabilni antigen. To je toplivi **lipopolisaharid (LPS)** koji se nalazi na staničnoj stijenci elementarnog i inicijalnog tjelešca, a može se dokazati reakcijom vezanja komplementa (RVK), elektroforezom u gelu, enzimskim imunotestom (EIA) te intradermalnim pokusom. Ustanovljeno je da klamidije imaju u glavnom proteinu vanjske membrane i za rod karakterističan **proteinski antigen** koji ima važnu ulogu u nastanku imunopatoloških procesa tijekom infekcije. **Termolabilni površinski polipeptidi glavnog proteina vanjske membrane elementarnog tjelešca nose epitope specifične samo za određene izolate iste vrste (serovare)**. Ti su antigeni važni za serološku tipizaciju, a djeluju kao faktori virulencije te imaju ključnu ulogu u stvaranju zaštitnih protutijela. Dokazuju se postupkom neutralizacije toksičnosti na mišu i mikroimunofluorescencije.

Osjetljivost na fizikalne, kemijske i antimikrobne čimbenike

Klamidije su osjetljivije od drugih vrsta bakterija pa kratko preživljavaju izvan stanice domaćina samo kao elementarno tjelešce. Pri sobnoj temperaturi sporije gube infektivnost ako se nalaze u mediju s bjelančevinama ili ostatcima stanica. Pri 56°C gube infektivnost već za 5-10 min, a dobro podnose -70°C pa se na toj temperature čuvaju. Dezinficijensi na bazi etera, etanola, joda i Na-hipoklorita uspješno uništavaju klamidije. U kloriranoj vodi ostaju infektivne 2-3 dana, a na vlažnom ručniku 45-90 min. Vrsta *C. psittaci* mjesecima preživljava u perju, prašini i fecesu dok vrsta *C. pneumoniae* gubi 50% infektivnosti pri 4°C u roku od 24 h. Od antimikrobnih lijekova najbolji inhibitorni učinak pokazali su tetraciklini koji su prvi izbor u liječenju infekcije klamidijama. Eritromicin i azitromicin djeluju nešto slabije, ali se koriste kod trudnica. Sulfonamidi se se pokazali djelotvornima samo kod vrste *C. trachomatis*, dok aminoglikozidi, cefalosporini, linkomicini, vankomicini i penicilini nisu korisni u liječenju.

Patogeneza i dijagnostika

Inficirani nositelj redovno stvara protutijela na antigene klamidije, ali ona imaju slab učinak pošto su smještene unutar stanica zbog čega je značajniji odgovor **posredovan stanicama**. Imunosni odgovor može biti i štetan pa su nakon drugog dodira sa uzročnikom opažene mnogo teže kliničke slike bolesti, nastaje kasna preosjetljivost i granulomatozne upale. Tako u novije vrijeme sve više seroloških i anatomskih podataka ukazuje na **moćnu ulogu kronične infekcije vrstom *C. pneumoniae* u nastanku ateroskleroze i bolesti koronarnih arterija**. Za izolaciju klamidija primjenjuje se oplođeno kokošje jaje, laboratorijske životinje i kultura stanica. U stanicama žumanjčane vrećice pilećeg embrija mogu se naći za rod specifični antigen LPS i karakteristične inkluzije nakon određenog vremena inkubacije. **Inkluzije i elementarna tjelešca mogu se prikazati bojenjem po Macchiavellu ili po Gimenezu**. Svi sojevi vrste *C. psittaci* i LGV sojevi vrste *C. trachomatis* ucijepljeni mišu intracerebralno uzrokovat će infekciju, dok sojevi od A do K vrsta *C. trachomatis* kao i *C. pneumoniae* ne mogu inficirati miševе. *In vitro* kulture stanica (McCoy, HeLa, HL i Hep-2) pokazale su se najpogodnijim za uzgoj i izolaciju klamidija iz bioloških uzoraka. Prisutnost klamidija u kulturi stanica dokazujemo bojenjem po Giemsi, Lugolovom otopinom ili specifičnim monoklonskim antitijelima obilježenim fluorescentnom bojom. Na isti način se mogu direktno pretraživati i razmazi brisa sluznice zaražene osobe, a danas se najviše koristi serološka dijagnostika, test mikro-imunofluorescencije jer dokazuje za vrstu ili serovar specifična protutijela koja zaražene osobe obično proizvode.



Inkluzivna tjelešca vrste *C. trachomatis* bojana pa Giemsi (prema Kayser i sur., 2005)

Vrsta *Chlamydia trachomatis*

Vrsta *Chlamydia trachomatis* je bakterija koja živi samo unutar ljudskih stanica. Filogenetski se razlikuje od bakterija i pripada posebnom redu *Chlamydiales*, porodici *Chlamydiaceae*, koja sadrži rod *Chlamydia* u kojemu su tri vrste: ***Chlamydia trachomatis*** (ljudski patogen), ***Chlamydia muridarum*** (patogen miševa i hrčaka) i ***Chlamydia suis*** (patogen svinja) te rod *Chlamydophila*. U tablici su prikazane relevantne bolesti *C. trachomatis* sa pripadajućim biovarima te najučestalijim serovarima.

Table 4.16 Human Infections Caused by *Chlamydia trachomatis*

Disease/syndrome	Biovar	Most frequent serovars *
Trachoma	<i>trachoma</i>	A, B, Ba, C
Inclusion conjunctivitis	<i>trachoma</i>	D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J, K
Urethritis, cervicitis, salpingitis (pharyngitis, otitis media)	<i>trachoma</i>	B, C, D, E, F, G, H, I, K, L ₃
Lymphogranuloma venereum (syn. lymphogranuloma inguinale, lymphopathia venerea, Favre-Durand-Nicolas disease)	<i>lymphogranuloma venereum</i>	L ₁ , L ₂ , L _{2a} , L ₃

* Determined with microimmunofluorescence.

Bolesti koje uzrokuje *C. trachomatis*, biovari i serovari (prema Kayser i sur., 2005)

Vrsta ***Chlamydia trachomatis*** (klamidija trahomatis) je uzročnik najčešće bakterijske spolno prenosive bolesti u svijetu, genitalne klamidijske infekcije. Uzrokuje i trahom, bolest oka koja je glavni je uzrok sljepoće u svijetu, te spolno prenosivu bolest limfogranuloma venerum, proširenu u tropskim i suptropskim zemljama. Klamidijska infekcija je najraširenija i po ljudsku plodnost najpogubnija spolno prenosiva bolest. Naziva se i "tihom epidemijom" jer djeluje "podmuklo i potih", najčešće bez uočljivih simptoma, te postaje vidljiva tek kada dođe do ozbiljnih posljedica. Ako se klamidijska infekcije ne liječi, ostavlja teške medicinske, psihosocijalne i ekonomske posljedice na žene, muškarce, dojenčad i sustav zdravstvene zaštite.

Način prijenosa

Genitalna klamidijska infekcija, odnosno uzročnik *C. trachomatis*, najčešće se prenosi direktnim kontaktom tijekom mehanički (bez kondoma) nezaštićenog spolnog odnosa s inficiranom osobom. Drugi način prijenosa je vertikalno s majke na dijete, tijekom poroda, prolaskom novorođenčeta kroz porođajni kanal majke inficirane s klamidijskom genitalnom infekcijom. U zapadnim industrijaliziranim zemljama, gotovo u potpunosti sve klamidijske infekcije su prenesene spolnim kontaktom s

inficiranom osobom ili vertikalno, s inficirane trudnice na dijete tijekom poroda. Kontaminacija prstiju s genitalnim iscjetkom može dovesti do infekcije konjunktive oka (klamidijski konjunktivitis).

Čimbenici rizika

Dob je najveći faktor rizika za genitalnu klamidijsku infekciju. Adolescentna dob je socio-demografski čimbenik najsnažnije povezan s klamidijskom infekcijom. Incidencija genitalne klamidijske infekcije se smanjuje poslije 25. godine života. Ostali rizični faktori su faktori povezani sa spolnim ponašanjem (rani početak spolnih odnosa, često mijenjanje spolnih partnera, višestruki spolni partneri ili novi spolni partner, nezaštićeni spolni odnosi, odnosno neredovita uporaba prezervativa), anatomske odnosno biološke faktori, te nisko obrazovanje i nizak socioekonomski status. Većina dosadašnjih istraživanja upućuje na ženski spol kao faktor rizika za klamidijsku infekciju. Osobito ugrožena grupa su adolescentice u kojih postoje i biološki uvjeti koji povećavaju mogućnost klamidijske infekcije nezrelog cerviksa. Cervikalna "ektropija" cilindričnog epitela umjesto pločastog i manja gustoća cervikalne sluzi olakšavaju klamidijsku infekciju. Aspekti spolnog ponašanja, kao što je dob stupanja u spolne odnose, broj spolnih partnera, učestalost mijenjanja partnera, i nezaštićeni spolni odnosi su ključne determinante prijenosa spolno prenosivih infekcija. Mladi ljudi su zbog karakteristika spolnog ponašanja vulnerabilniji jer imaju i češću izmjenu spolnih partnera i uglavnom veći broj spolnih partnera od starijih dobnih skupina. Osim toga, mladi ljudi su pod povećanim rizikom za reinfekcije jer nemaju vještine i sposobnost pregovaranja o primjeni zaštite pri spolnim odnosima i sigurnom odnosu. Faktor povezan s povećanim rizikom klamidijske infekcije je i uporaba oralne hormonske kontracepcije koja može usporiti normalni proces pločaste epitelizacije cerviksa i regresiju cilindričnog epitela u endocervikalni kanal. Dok je hormonska kontracepcija faktor rizika za samu klamidijsku infekciju, istovremeno smanjuje rizik za razvoj zdjelice upalne bolesti.

Infekcije oka i spolnog sustava

Serovari od D do K vrste *C. trachomatis* inficiraju stanice cilindričnog i prijelaznog epitela sluznica uretre, endocerviksa, endometrija, jajovoda, anorektuma, dišnih puteva i konjunktive. Obično se prenose spolnim putem. U muškaraca vrsta *C. trachomatis* uzrokuje negonokokni uretritis sa karakterističnim sluzavo-gnojnim iscjetkom. Ovi serovari su najčešći uzročnici akutnog epididimitisa u spolno aktivnih muškaraca. Među homoseksualcima često se javlja klamidijski proktitis. **U mlađih muškaraca u toku ili nakon negonokoknog uretritisa javlja se Reiterov sindrom (uretritis, konjunktivitis, poliartritis).** Čini se da je infekcije s vrstom *C. trachomatis* mnogo češća u žena. Dokazano je da neliječene infekcije mogu uzrokovati izvanmaterična začeća i neplodnost. Spolno aktivne osobe mogu sekretima genitalnog trakta prenijeti serovare D-K na konjunktive pri čemu nastaje inkluzijski konjunktivitis. Vjeruje se da je glavni način prijenosa autoinokulacija kontaminiranim prstima, ali se može javiti i nakon kontaminacije vode sa sekretima genitalnog trakta u bazenima.

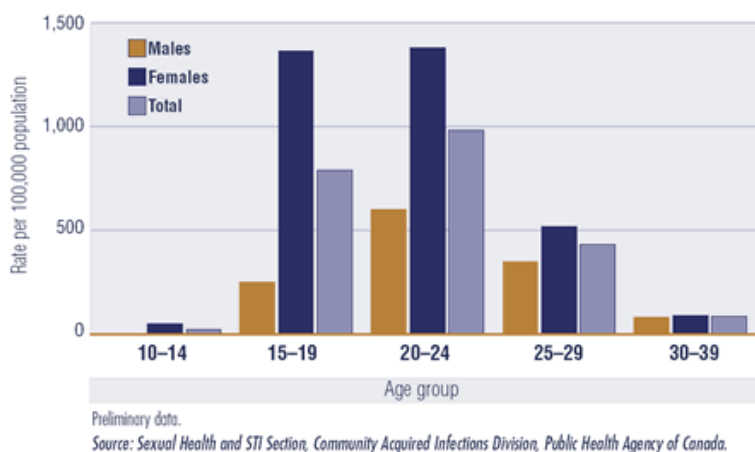
Glavne karakteristike infekcije

Klamidijske infekcije su vrlo proširene, premda uglavnom asimptomatske, spolno prenosive infekcije. Sposobnost da uzrokuju produljenu i kroničnu infekciju, često bez kliničkih znakova i simptoma, ali uz upalne procese i velika oštećenja tkiva, glavne su karakteristike klamidijske infekcije. Genitalna klamidijska infekcija može biti perzistentna, odnosno kronična. Bez liječenja, klamidije mogu perzistirati mjesecima, a infekcija se može reaktivirati. Liječenje takvih klamidijskih infekcija je ozbiljan problem. Kronična ili perzistentna klamidijska infekcija se uglavnom manifestira asimptomatskim ili vrlo blagim, subkliničkim tijekomom, a ima veliku važnost zbog uloge u održavanju infekcije u populaciji, osobito u mladim, spolno aktivnim osobama. Osim toga, kronična perzistentna klamidijska infekcija uzrok je raznim bolestima i komplikacijama urogenitalnog i reproduktivnog trakta stoga svaku

asimptomatsku klamidijsku infekciju treba liječiti. U slučaju da se ne liječi, klamidijska infekcija može dovesti do teških dugoročnih zdravstvenih posljedica uključujući zdjeličnu upalnu bolest, neplodnost i izvanmaterničnu (tubarnu) trudnoću. Ozbiljne i trajne posljedice klamidijskih infekcija javljaju se samo ako klamidijska bolest ostaje perzistentna, odnosno kronična bolest koja rezultira kroničnom upalom odgovornom za fibrozu i ožiljavanje tkiva. Jedan od mehanizama kako klamidija izaziva kroničnu infekciju i posljedice (teška oštećenja tkiva s trajnim posljedicama) je upravo njena karakteristika "tihe bolesti", rezultirajući asimptomatskim infekcijama koje nisu otkrivene i liječene na vrijeme. To dovodi do bakterijske progresije iz donjeg genitalnog trakta sve do unutarnjih reproduktivnih organa žene. Premda nema nikakvih simptoma, upalni klamidijski procesi napreduju, zahvaćaju sve reproduktivne zdjelične organe i razvija se zdjelična upalna bolest. Trajne posljedice zdjelične upalne bolesti uključuju izvanmaterničnu trudnoću, neplodnost uzrokovanu neprohodnošću jajovoda (tubarna neplodnost) i kroničnu bol u zdjelici. Epidemiju genitalne klamidijske infekcije, dakle, slijedi sekundarna epidemija zdjelične upalne bolesti i tercijarna epidemija izvanmaternične trudnoće i tubarne neplodnosti.

Epidemiologija genitalne klamidijske infekcije

Godišnje se u svijetu registrira oko 700 milijuna klamidijske genitalne infekcije, s oko 90 milijuna novih slučajeva. Ocjenjuje se da u SAD-u broj novih infekcija iznosi 4 milijuna na godinu, dok u Europi dostiže do 10 milijuna novih infekcija godišnje. Zbog različitih sustava prijavljivanja spolno prenosivih bolesti u različitim zemljama te imajući u vidu velik broj asimptomatskih infekcija, procjene incidencije klamidijske genitalne infekcije samo su približne. Stvarna proširenost klamidijskih genitalnih infekcija bila bi 2 do 3 puta veća kada bi se uključile i kronične infekcije s blagim simptomima, kao i asimptomatski slučajevi genitalne klamidijske infekcije. Prema spolu, klamidijska infekcija je češća u žena nego u muškaraca, najviše adolescentne dobi. Prema različitim istraživanjima u SAD-u i Europi, prevalencija genitalne klamidijske infekcije kreće se od 4% do 28% u adolescentica i mladih žena do 24 godine, te između 1% i 14% među muškarcima iste dobi. Najviše stope su registrirane na mjestima koja skrbe za visoko rizičnu populaciju - ambulante za adolescente, za spolno prenosive bolesti, ambulante za planiranje obitelji itd. S obzirom da su simptomi minimalni ili potpuno nedostaju u većine žena i mnogih muškaraca, postoji veliki rezervoar asimptomatskih infekcija koji održava patogenog uzročnika trajno u populaciji. Stope prevalencije smanjene su u onim sredinama koje provode programe skrininga i liječenja otkrivenih infekcija.



Učestalost klamidijske infekcije prema spolu i dobi (izvor: Public Health Agency, Canada).

Infekcije novorođenčadi

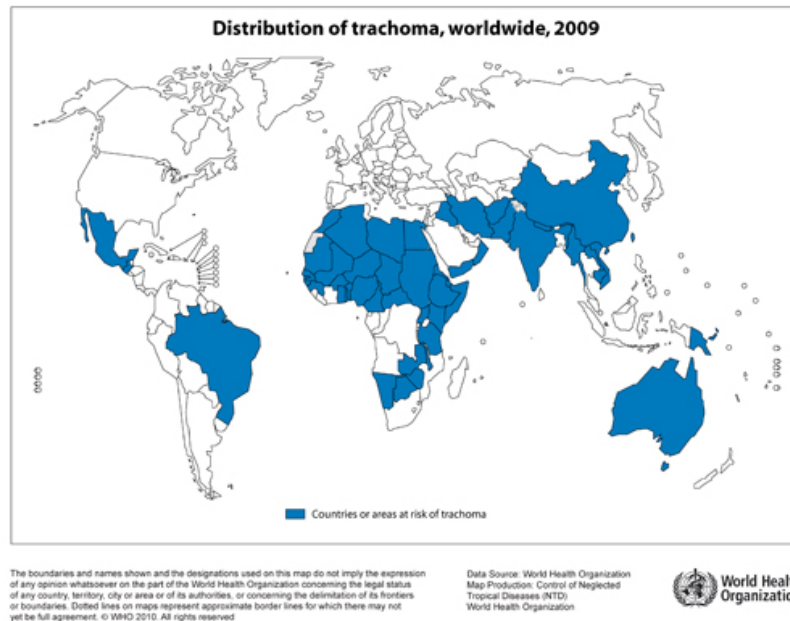
Prolazom kroz inficirani porođajni kanal novorođenčad se može inficirati genitalnim serovarima D-K vrste *C. trachomatis*. Mnoga od te novorođenčadi prerano su rođena, klamidijska infekcija majki povezana je sa brojnim komplikacijama i za majku i za dijete. Od 5 do 12 dana nakon poroda javlja se obično na jednom oku otok donje vjeđe, hiperemija i obilan gnojni iscjedak. Neliječene infekcije mogu trajati i do 12 mjeseci, a mogu se javiti i ožiljci te vaskularizacija rožnice. Uz infekciju oka može se javiti i infekcija srednjeg uha, rinitis i vulvovaginitis te u 10-20% slučajeva intersticijska pneumonija koja ima za posljedicu kroničnu bolest dušnog sustava. Infekcije genitalnog sistema i inkluzijski konjuktivitis uzrokovan klamidijama mogu se spriječiti sigurnijim spolnim običajima, pravovremenim liječenjem osoba sa simptomima i njihovih spolnih partnera, kao i traganjem za asimptomatskim nositeljima. Lijek izbora su tetraciklini. Očne i genitalne infekcije odraslih mogu se liječiti jednom dozom azitromicina kroz usta. **U novorođenčadi eritromicinske ili tetraciklinske kapi nakon poroda mogu spriječiti nastanak inkluzijskog konjuktivitisa, ali ne i pneumonije pa bi zato trebalo redovito kontrolirati trudnice te one s infekcijom liječiti eritromicinom.** Za liječenje pneumonije u novorođenčadi primjenjuje se eritromicin 14-21 dan.

Trahom

Trahom je vrlo stara bolest, spominje se još u Papirusu Ebers napisanom oko 3800 godina p.n.e. **To je kronični keratokonjuktivitis, javlja se isključivo u ljudi i može uzrokovati sljepoću.** Prenosi se direktnim kontaktom sa zaraženim okom ili kontaminiranim ručnicima. Vrsta *C. trachomatis* se razmnožava u cilindričnim stanicama konjunktive gornje vjeđe pa bolest počinje kao akutni purulentni konjuktivitis koji se zbog nakupljanja limfocita i stvaranja folikula ispod konjunktive razvija u kronični folikularni konjuktivitis, a dolazi i do prodora krvnih žila u rožnicu (panus). Folikule nekrotiziraju pa nastali ožiljci uvrću vjeđu i trepavice koje stružu i oštećuju rožnicu. Ta mehanička oštećenja uz sekundarne bakterijske infekcije pogoduju nastanku lezija koje će dovesti do sljepoće. Gubitak vida obično se javlja 20-30 godina nakon primarne infekcije.

Epidemiologija trahoma

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, u svijetu preko 400 milijuna ljudi ima trahom, a godišnje ih između 4 i 20 milijuna od njega oslijepi. Trahoma ima najviše u Africi, Aziji i u području Mediterana. Posebno je proširen u područjima gdje je pitke vode malo i gdje se ona šteti, pa su higijenski uvjeti slabi. Pokazalo se da u takvim područjima (tzv. hiperendemskim područjima) gotovo sva školska djeca imaju trahom. Ako se ne liječi, trahom u roku od desetak i više godina oslijepi ili jako ošteti vid većine zaraženih. U SAD ima malo trahoma, ali postoji nekoliko manjih endemskih izvora. Prije ga je bilo više među nativnim Amerikancima.



Distribucija pojave trahoma u svijetu 2009. god. (Zemlje visokog rizika obojene tamnije plavo, izvor: WHO)

Trahom se najlakše suzbija poboljšanjem higijenskih uvjeta stanovnika i liječenjem već zaraženih osoba, a tek nakon toga upotrebom tetraciklinske masti za oči kroz duže vrijeme. Kada se socioekonomski uvjeti nekog geografskog područja poboljšaju, trahom nestaje ili njegovi simptomi postaju slabije izraženi. Trahom se pokušalo suzbijati i vakcinacijom, ali pokusna cijepljenja nisu dala zadovoljavajuće rezultate. Kod izliječenih dugogodišnjih kroničnih slučajeva često je potrebno napraviti i korekcijsku kirurgiju očnih kapaka.

Lymphogranuloma venereum (LGV)

LGV biovar vrste *C. trachomatis* razlikuje se od biovara trahoma po nekim biološkim odlikama. **Serovari L1, L2, L3 invazivniji su od ostalih serovara *C. trachomatis*.** Infekcije sa serovarima su sistemske, zahvaćaju i endotelne stanice i mononuklearne makrofage što im omogućava širenje limfnim sustavom. Očituje se prolaznim primarnim promjenama na koži nakon kojih nastaje gnojni limfadenitis i limfangitis. Isto tako, može doći do začepljenja limfnih žila, stvaranja fistula i proktitisa. Dijagnoza se često postavlja klinički, no obično se može potvrditi serološkim ili imunofluorescentnim pretragama. Liječi se 21 dana tetraciklinom ili eritromicinom. **Javlja pet puta češće u muškaraca nego u žena te se obično javlja u tropskim i subtropskim područjima.** Učestalost pojave bolesti tijekom godina prikazana je na slici.

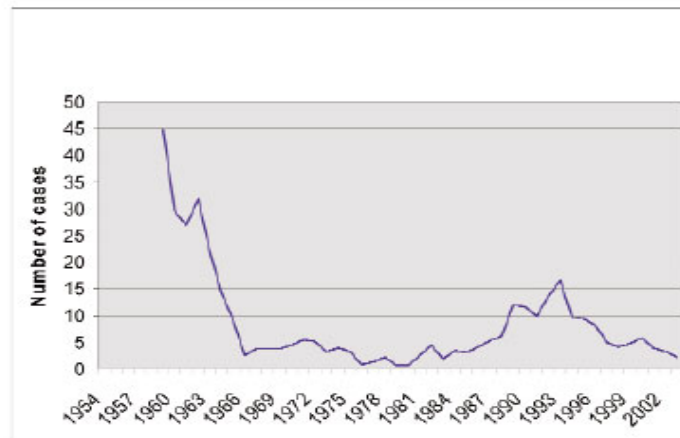


Fig. 4: Graph of cases reported per year for Lymphogranuloma venereum (1959–2003).

Učestalost pojave Lymphogranuloma venerum (1959.-2003.).

Nakon razdoblja inkubacije koje traje ≥ 3 dana, stvara se neindurirana vezikula, koja ulcerira i zacijeli tako brzo da može proći nezamijećena. Obično se nakon 2–4 tj. limfni čvorovi povećaju, postanu bolni i spajaju se tvoreći velike bolne, fluktuirajuće mase (tzv. bubone) koje srastaju za duboka tkiva a prekrivene su upaljenom kožom. Moguća je pojava vrućice, malaksalosti, glavobolje, boli u zglobovima, anoreksije i povraćanja. U žena, kod kojih početna promjena može biti na cerviksu ili u gornjem dijelu rodnice, dovodeći do povećanja i gnojenja perirektalnih i zdjeličnih limfnih putova često dolazi do križobolje. Mogu se razviti brojni sinusi kroz koje izlazi gnoj ili krv. Konačno dolazi do cijeljenja uz stvaranje ožiljaka, no sinusi mogu zaostati ili recidivirati. Kronična upala začepљуje limfne žile, izazivajući edem, vrijedove, fistule te je u konačnici moguća i genitalna elefantijaza. U području spolovila ili rektuma se mogu razviti velike polipoidne limfedematozne mase. Zahvaćanje stijenke rektuma u žena ili homoseksualaca može dovesti do ulcerirajućeg proktitisa s krvavo-gnojnim iscjetkom iz rektuma, a u slučaju kronične infekcije i do striktura. Sistemski je rasap rijedak.

Vrsta *Chlamydia psittaci*

Sojevi vrste *C. psittaci* razlikuju se od druge dvije vrste po antigenu specifičnom za vrstu. U inficiranoj stanici stvaraju više inkluzija, različitih oblika i veličina, ali bez matriksa glikogena pa se ne mogu obojiti jodom. Prirodni nositelji vrste *C. psittaci* su različite ptice i sisavci kod kojih se najčešće uspostavlja asimptomatska, latentna infekcija koja se može uslijed stresa aktivirati te u ptica uzrokovati **bolest psitakoza, odnosno ornitoza, a u domaćih sisavaca pneumonije, pobačaje, artritise i enteritise**. Inficirane životinje izlučuju velike količine klamidija u fecesu i slini koje sasušene u prašini mjesecima mogu ostati žive. Ptičji sojevi klamidija, naročito oni papiga i purana su visoko infektivni za čovjeka, koji se najčešće inficira udisanjem elementarnih tjelešaca iz sasušenih ptičjih ekskreta.

Psitakoza u ptica

Papige i druge ptice kućni ljubimci zaraze se u uzgajalištima ili kod trgovaca kućnim ljubimcima udisanjem zaražene prašine s izmetom, sekretom ili perjem bolesne ptice. Ponekad se kod zaražene ptice ne vide simptomi i ona izgleda potpuno zdravo, a bolest može završiti uginućem ptice čak i kad nije imala vidljivih znakova bolesti. Ipak, oboljela ptica najčešće ima proljev, smanjen tek, iscjedak iz očiju i nosa, nakostriješeno perje, teško diše i pokazuje izrazitu pospanost. U ptica koje su nosioci zaraze infekcija se obično aktivira zbog stresa, npr. kod prijevoza životinje, pothlađivanja, prenatalne nastambe, nekvalitetne prehrane ili zbog neke druge bolesti. Uzročnik je vrlo otporan i može u

sasušenom stanju preživjeti nekoliko tjedana, smatra se i mjeseci. Pregled ptica i dijagnoza na ptičju klamidiju u Hrvatskoj se provodi prema **Naredbi o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju**³ koju svake godine propisuje Ministarstvo poljoprivrede, a službeni referalni laboratorij je Laboratorij za klamidije Zavoda za bolesti peradi s klinikom Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Ustanovi li se bolesna ptica, posebno u ranoj fazi bolesti, može se uspješno liječiti davanjem antibiotika, tetraciklina, putem hrane ili injekcija. Nažalost, u podmakloj fazi bolesti ptica se obično mora eutanizirati. Istodobno, treba pregledati i sve druge ptice s kojima je zaražena bila u kontaktu, preventivno im dati antibiotik i provesti stroge sanitarne mjere.

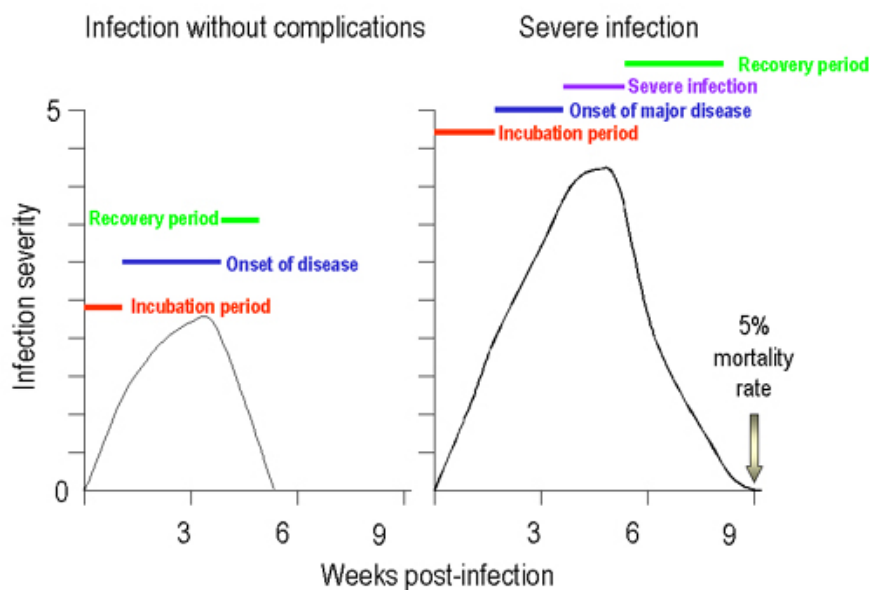
Psitakoza u ljudi

Čovjek se zarazi vrstom *C. psittaci* preko zaražene ptice. Najčešće obolijevaju osobe koje rade s pticama u uzgajivačnicama ili prodavači kućnih ljubimaca, a u obiteljima se može javiti infekcija nakon nabave ptice iz nekontroliranog uzgoja ili neovlaštene prodavaonice kućnih ljubimaca. Gotovo nisu primijećene zaraze iz kontakta s divljim pticama jer su one rjeđe nosioci ove bakterije. Ipak, oprez je potreban nakon kontakta, na primjer, sa zebom ili fazanom. Infekcija se u ljudi, kao i u ptica, prenosi udisanjem bakterije iz prašine u kojoj ima izmeta ili sekreta zaražene ptice. Odrasle osobe obolijevaju češće od djece, muškarci češće od žena, kao što je i češća pojavnost bolesti tijekom zime nego u ostalim godišnjim dobima. Primijećeno je da su teži oblici bolesti vezani uz zarazu od papiga i pura. U Hrvatskoj se svake godine javi poneki slučaj psitakoze u čovjeka.

Patogeneza psitakoze

Vrsta *C. psittaci* je invazivna te ima afinitet za stanice retikuloendotelnog sustava pa se lako širi i oštećuje mnoge organe uključujući pluća, bubrege, jetru, slezenu, srce i CŽS. Bakterija preko respiratornog sustava ulazi u krv i putuje u retikuloendotelne stanice jetre i slezene. U njima se umnaža, razara ih te nastaju nekrotična žarišta. U plućima nastaje upalni odgovor gdje u alveolama i u intersticiju dominiraju limfociti. Nastaje zadebljanje stijenke alveola, infiltracija mononuklearnim stanicama te nekroza. Inkubacija bolesti, odnosno razdoblje od zaraze do pojave simptoma, obično traje 10-ak dana. Težina bolesti ovisi o tipu uzročnika i otpornosti same osobe, a može varirati od posve blagih i neprepoznatih oblika do teške upale pluća s komplikacijama. Bolest traje 2–3 tjedna, a u početku se najčešće javljaju simptomi slični gripi: vrućica do 40 °C, izrazita glavobolja, bol u mišićima i zglobovima, malaksalost, vrlo izražen umor. Krajem prvog tjedna započinje suhi, nadražajni kašalj, a simptomi hunjavice, kao što je curenje nosa, vrlo su rijetki. Potom slijedi karakteristična slika upale pluća s kašljem i teškim disanjem. Može se javiti i teška sistemska bolest (tifoidni oblik) sa simptomima encefalitisa, miokarditisa i hepatitisa. Smrt obično u starijih osoba nastupa zbog istovremenog zatajenja pluća, toksičnog šoka i cirkulatornog kolapsa. Mogući tijek bolesti prikazan je na slici.

³ http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_12_160_3358.html



Intenzitet psitakoze kroz tjedne u slučaju teške infekcije i infekcije bez komplikacija.

Bolest se dijagnosticira krvnim i rentgenskim pretragama, ali kako se sam uzročnik teško dokazuje, najvažnija je potvrda kontakt s pticom i nalaz specifičnih protutijela. Ljudi se, kao i ptice, liječe antibioticima. Ako se oboljela osoba zarazila od nekontroliranog kućnog ljubimca, treba pregledati i ostale ukućane, jer bolest u mnogih osoba može biti prikrivena oblika. Nakon ozdravljenja od psitakoze osoba može ponovo oboljeti. Vrsta *C. psittaci* može perzistirati u respiratornom sustavu čovjeka godinama nakon preboljele bolesti te se povremeno izlučivati u sputumu. Nije poznat prijenos uzročnika s čovjeka na čovjeka.

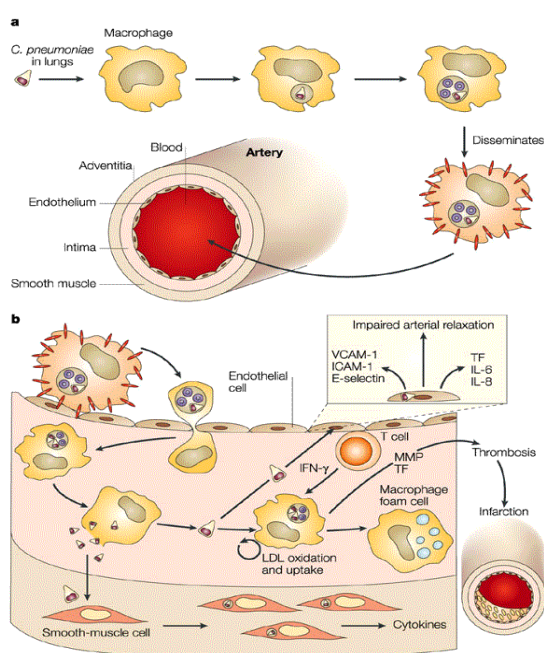
Vrsta *Chlamydia pneumoniae*

Čovjek je jedini poznati domaćin vrste *C. pneumoniae*. Elementarno tjelešce ove vrste je često kruškoliko sa širokim periplazmatskim prostorom. **Do sada je poznat samo jedan serovar ove klamidije (TWAR), prvi puta izolirana i zabilježena kao uzročnik respiratorne infekcije 1986. godine. Ne sadrži plazmide, inkluzije su joj male, guste i okrugle.** Na vrstu *C. pneumoniae* otpada 5 do 10% svih izvanbolničkih pneumonija i na drugom je mjestu najčešćih uzročnika plućne infekcije u imunokompetentnih osoba od 5 do 35 godine života. Obično je odgovorna za širenje respiratorne infekcije unutar obitelji, u spavaonicama studentskih domova i u vojarnama. Izaziva relativno benigni oblik pneumonije koji rijetko zahtjeva bolničko liječenje. Česte su ponovljene infekcije, a 50-70% odraslih je seropozitivno. Bolest se najčešće očituje kao faringitis s umjerenom temperaturom, ali se može javiti i sinusitis, bronhitis i pneumonija. U starijih i onih s kroničnom respiratornom bolesti javlja se teška i ponekad smrtonosna atipična pneumonija.

Patogeneza i ateroskleroza

U respiratornom sustavu vrsta *C. pneumoniae* inficira i razara stanice trepetljivog epitela respiratornog sustava. Brojna su seroepidemiološka ispitivanja ukazala na njenu ulogu patogenezi ateroskleroze. Budući da vrsta *C. pneumoniae* može inficirati stanice glatkih mišića krvnih žila, endotelne stanice koronarnih arterija i makrofage, pretpostavlja se da bolest nastaje zbog upalnog odgovora na kroničku infekciju ovom klamidijom. Vrsta *C. pneumoniae* se iz respiratornog sustava u vaskularni zid transportira cirkulirajućim monocitima u kojima može perzistirati najmanje 10 dana bez lize stanice. Postoji sve više studija koje povezuju infekciju sa slučajevima vaskulitisa i miokarditisa.

Studije na animalnim modelima potvrdile su ubrzanu progresiju ateroskleroze što je vjerovatno povezano sa prokoagulantnim proteinima i ekspresijom proinflamatornih citokina. Kardiovaskularne bolesti uzrokovane aterosklerozom vodeći su uzroci smrti i velik javnozdravstveni problem u brojnim zemljama. Epidemiološki podaci o kretanju pobola i pomora od ishemične bolesti srca te cerebrovaskularnih bolesti koje su mahom posljedice ateroskleroze krvnih žila pokazuju zadnjih desetak godina trend smanjenja smrtnosti u najrazvijenijim zemljama Europe, a i prosječna smrtnost u Europi se smanjila značajno od 70-ih do 90-ih godina. Nedvojbenog dokaza o ulozi vrste *C. pneumoniae* u nastavku i napredovanju ateroskleroze, zasad još nema. Progresiji bolesti mogla bi pridonositi direktnim oštećenjem stanica i/ili disfunkcijom proliferacije glatkih mišića, odnosno, indirektno kroničnom infekcijom, cirkulirajućim endotoksinima, aktivacijom upalnih medijatora, produkcijom protutijela ili modifikacijama fizičnih faktora kao što su lipidi, lipoproteini, C-reaktivni protein, fibrinogen i drugi koagulacijski protein. Na slici je prikazan jedan od takvih predloženih modela uloge infekcije vrstom *C. pneumoniae* u aterosklerozi.



Uloga infekcije vrstom *C. pneumoniae* u nastanku ateroskleroze – inficirani makrofag odlazi u cirkulaciju. Tvorba inkluzija povećava ekspresiju adhezijskih liganada (crveno prikazani) kojima se vežu za arterijski endotel i migriraju u intimu. Otpuštanjem elementarnih tjelešaca inficiraju se arterijski makrofagi koji onda povećavaju unos LDL-a i njegovu oksidaciju, nakupljaju kolesterol i postaju “pjenaste stanice” (rani marker aterosklerotskih lezija). U inficiranom glatkom mišićju potiče se proliferacija dok inficirane endotelne stanice proizvode proinflamatorne citokine i kemokine kojima se potiče kronična upala. Infekcija makrofaga uključuje i produkciju matriksnih metaloproteinaza te ekspresiju tkivnih faktora što void destabilizaciji plaka i formaciji tromba koji može uzrokovati infarct miokarda (izvor: Campbell i Kuo, 2004)

Nature Reviews | Microbiology

Zaključak

Klamidije su obvezatni unutarstanični paraziti koji mogu koegzistirati u asimptomatskim stanjima u određenim nositeljima koji su onda prirodni rezervoar za ove vrste. Sve poznate klamidije se mogu replicirati samo unutar eukariotskih stanica, a mogu biti reda veličine virusa ili manje. **Klamidije važne za zdravlje ljudi su vrste *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* i *C. psittaci* koje se razlikuju po antigenu specifičnom za vrstu te uzrokuju različite bolesti odnosno entitete.** Vrsta *C. trachomatis*, ovisno o serovaru, može uzrokovati *lymphogranuloma venerum*, trahom te genitalne klamidijske infekcije i infekcije oka. Kod genitalne klamidijske infekcije može doći do infekcije novorođenčeta prilikom poroda pa se trudnice posebno trebaju testirati na *C. trachomatis* kako bi se to izbjegla infekcija ili pristupilo terapiji po rođenju djeteta da se izbjegnju posljedice na vid, dišne puteve djeteta i dr. Vrsta *C. psittaci* uzrokuje bolest psitakozu, to je zoonoza čiji su glavni izvor zaraze papige iz divljih uzgajališta, ali za praćenje postoje vrlo učinkovite mjere. Prijenos među ljudima nije zabilježen. Vrsta *C. pneumoniae* prenosi se samo među ljudima, a uglavnom ima blage simptome ili je infekcija

asimptomatska. U zadnje vrijeme sve je više istraživanja koja povezuju infekciju ovom bakterijom sa pojavom ateroskleroze i drugih kardiovaskularnih bolesti koje su danas najveći uzrok smrtnosti u svijetu. **Najveću pažnju danas klamidije imaju zahvaljujući činjenici da je vrsta *C. trachomatis* najčešća spolno prenosiva bolest u svijetu, najčešće je asimptomatska i uzročnik neplodnosti što stvara socijalne i psihološke problem.** Zbog toga se razvijaju sve bolji sustavi otkrivanja, praćenja i liječenja ove bolesti. *C. pneumoniae* je također predmet intenzivnog istraživanja zbog otkrivanja povezanosti sa nastankom bolesti kardiovaskularnog sustava u svrhu razvijanja odgovarajuće terapije.

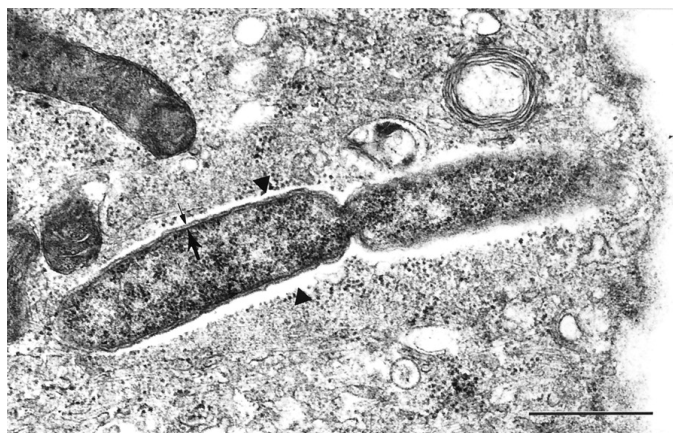
Literatura

- Brade L., Schramek S., Schade U., Brade H.; Chemical, biological, and immunochemical properties of the *Chlamydia psittaci* lipopolysaccharide. *Infect. Immun.* 54;1986: 568-574
- Gottlieb S. L., Brunham R. C., Byrne G.I., Martin D. H., Xu F., Berman S.M.; Introduction: The Natural History and Immunobiology of *Chlamydia trachomatis* Genital Infection and Implications for Chlamydia Control, *JID* 2010;201 (Suppl 2)
- Campbell L.A., Kuo Ch-ch., *Chlamydia pneumoniae* — an infectious risk factor for atherosclerosis? *Nature Reviews Microbiology* 2;2004; 23-32
- Numazaki K., Asanuma H., Niida Y.; *Chlamydia trachomatis* infection in early neonatal period, *BMC Infectious Diseases* 2003, 3:2
- Peeling R. W., Mabey D., Herring A. , Hook E.W.; Why do we need quality-assured diagnostic tests for sexually transmitted infections? *Nature Reviews Microbiology* 4; 2006: S7–S19
- Gail M., Krickeberg K., Samet J.M., Tsaitis A., Wong W.; *Modern Infectious Disease Epidemiology- Concepts, Methods, Mathematical Models, and Public Health*, 2010 Springer Science+Business Media, LLC
- Kayser F. H., Bienz K. A., Eckert J, Zinkernagel R.M.: *Medical Microbiology*, 2005 Thieme, Stuttgart-New York
- Knobler S. L., O'Connor S., Lemon S. M., Najafi M.: *The infectious etiology of chronic diseases- defining the relationship, enhancing the research, and mitigating the effects;* 2001 THE NATIONAL ACADEMIES PRESS 500 Fifth Street, NW Washington, DC
- Tilton R. C.: *Microbiology- Self-Assessment and Review*, 10th Edition, 2002 The McGraw-Hill Companies

4. RIKECIJE

Uvod

Rikecija (lat. *Rickettsia*) je rod aerobnih, gram-negativnih, nepokretnih bakterija koje su obligatni unutarstanični paraziti. Ovisno o vrsti, mogu biti štapićastog (1–4 μm duge), kokobacilnog (0.1 μm u promjeru) ili končastog (10 μm duge) oblika. Pod elektronskim mikroskopom na njima se vidi tipična gram-negativna stjenka sastavljena od unutarnje i vanjske membrane sa srednjim slojem peptidoglikana. Izvan vanjske membrane rikecije imaju proteinsku mikrokapsulu i bogati sluzavi sloj koji se vidi kao svijetlo područje. Inače se slabo boje po Gramu, pa se za njih koristi bojanje Giemskom. Rikecije se prenose vektorima člankonošcima putem njihove sline ili fecesa, a u tijelo čovjeka dopijevaju preko ozlijeđenog područja kože. Kada uđu u organizam razmnožavaju se u endotelnim stanicama krvnih žila.



Stanična morfologija roda *Rickettsia* (promatrano elektronskim mikroskopom)

Povijest

Prvu rikeciju otkrio je američki patolog Howard Taylor Ricketts 1910. godine prilikom istraživanja američkog pjegavog tifusa. Uspio ju je izolirati iz krpelja, no nije mogao definirati o kakvom je točno patogenu riječ. Nekoliko dana nakon izolacije mikroorganizma, sam Ricketts je obolio i umro od pjegavog tifusa. Nakon njega, bakteriju iz roda rikecija uspio je 1913. izolirati češki zoolog i parazitolog Stanislav Prowazek koji je proučavao epidemiju velikog pjegavog tifusa u Srbiji i Istanbulu. Par godina kasnije, radeći u zatvorskoj bolnici u Njemačkoj zarazio se tifusom i umro od njegovih posljedica. Njegov suradnik, brazilski liječnik Henrique da Rocha Lima, 1915. godine dao je prvi detaljan opis i naziv vrsti *Rickettsia prowazekii*, u čast svojim kolegama.

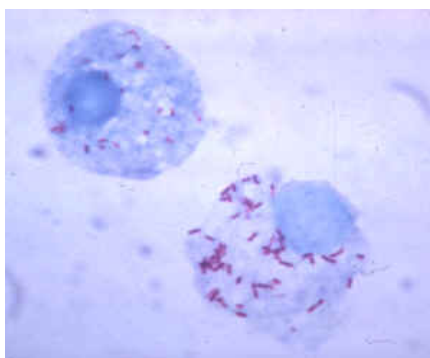
Metabolizam rikecija

Rikecije ulaze u eukariotsku stanicu putem fagocitoze, uz pomoć svoje **fosfolipaze A** koja kida lipide citoplazmatske membrane. Da bi izbjegle razgradnju i preživjele u stanici, nakon ulaska moraju razoriti membranu fagosoma i ući u citoplazmu, prije nego se fagosom spoji sa lizosomom. U citoplazmi se dijele, a generacijsko vrijeme im je između 8 i 12 sati. Razmnožavaju se dok potpuno ne ispune stanicu pa citoplazmatska membrana puca, a rikecije se oslobađaju i inficiraju nove stanice. Rikecije imaju metaboličke sposobnosti kao i druge bakterije, ali su im za pravilan razvoj potrebni neki metaboliti koje dobivaju od stanice domaćina pa su razvile strategiju za preuzimanje molekula bitnih za svoj metabolizam. Posjeduju enzim ADP/ATP translokazu, koji zamjenjuje molekulu ADP-a iz rikecije za molekulu ATP-a iz inficirane stanice domaćina (kad nestane tih visokoenergetskih fosfata, sposobne su

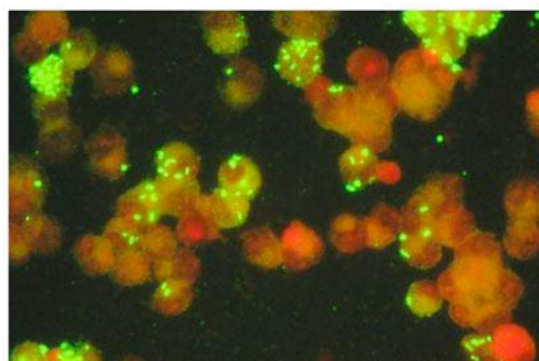
sintetizirati i vlastiti ATP). Sličnim mehanizmom prijenosa rikecije uvlače i uridin-5-difosfoglukozu koja im je potrebna za sintezu polisaharida.

Uzgoj i mikrobiološka dijagnostika

Budući da su obligatni unutarstanični paraziti, rikecije se ne mogu kultivirati bez živih stanica. Zbog toga se za uzgoj u laboratoriju koriste pokusne životinje ili kulture stanica i žumanjčana vrećica oplođenih kokošijih jaja. Optimalna temperatura za rast rikecija je 33-35°C, a bolje se razmnožavaju u stanicama usporenog metabolizma. Mikrobiološka laboratorijska dijagnostika rikecioza može se postići izolacijom uzročnika, serološkim reakcijama ili izravnim dokazom uzročnika u tkivu. Budući da su rikecije vrlo infektivni mikroorganizmi, izolacija se radi vrlo rijetko. U tom slučaju uzima se krv u epruvetu s heparinom na početku bolesti, prije nego je započelo antimikrobno liječenje. Izolacija se radi na kulturi stanica. Nakon 2-3 dana inkubacije uzorka u kulturi pravi se razmaz i dokazuje prisutnost rikecija bojanjem po Giemzi, Gimenezu ili s antitijelima obilježenim imunofluorescentnom bojom (vidi slike).



Dokazivanje rikecije bojanjem Giemnezom



Stanice zaražene rikecijom – vizualizacija putem antitijela obilježenih fluoresceinom

Rikecije se izravno mogu dokazati u uzorku kože uzetom biopsijom s mjesta s osipom ili primarnom lezijom. Njihova prisutnost u endotelnim stanicama kapilara kože vizualizira se pomoću specifičnih antitijela obilježenih fluoresceinom ili enzimom. Isti postupak vrijedi i za dokazivanje rikecija u postmortalno uzetim komadićima tkiva. PCR se može primijeniti za amplifikaciju DNA rikecija u punoj krvi, leukocitno-trombocitnom sloju stvorenom iznad koncentriranih eritrocita, plazmi ili u biopsijskim uzorcima kože s osipnom promjenom. Ipak, najčešći način potvrđivanja dijagnoze rikecijskih bolesti je putem seroloških reakcija. Antitijela u serumu se stvaraju tek u drugom tjednu bolesti pa je potrebno uzeti prvi serum na početku bolesti i drugi serum nakon 3 tjedna. Za potvrdu dijagnoze važno je dokazati barem četverostruki porast titra specifičnih antitijela nastao kao odgovor na infekciju rikecijama. Razlikovanje antitijela IgM ili IgG omogućuje da se u jednom serumu odredi je li infekcija akutna ili nije. Weil-Felixova reakcija aglutinacije zasniva se na unakrsnoj reaktivnosti epitopa u lipopolisaharidima mnogih rikecija s onima u **O antigenu sojeva OX-2 i OX-19 iz vrste *Proteus vulgaris***. Antitijela koja aglutiniraju sojeve proteusa mogu se javiti 7-14 dana nakon pojave bolesti, pretežno su IgM klase. Druga opcija je reakcija vezanja komplementa. Antitijela koja vežu komplement obično se razvijaju kasnije u toku bolesti i godinama ostaju prisutna. To su obično antitijela IgG klase čiji se klinički značaj dokazuje titrom većim od 1:16. Test indirektna hemaglutinacije – IHA dokazuje antitijela za antigen ESS kojim se oblažu ljudski ili ovčiji eritrociti. Ovaj test otkriva antitijela i IgM i IgG klase. U testu latex-

aglutinacije ESS je vezan na lateks čestice. S ovim testom moguće je dokazati antitijela 1 tjedan nakon početka bolesti. Test indirektno imunofluorescencije - IFA je mikrometoda kojom se može iz jedne kapi seruma istovremeno otkriti antitijela za više od 9 riketsijskih antigena. Otkrivanje antitijela IgM klase dokaz je svježije infekcije. ELISA tehnika služi za dokazivanje IgM i IgG antitijela ali je manje osjetljiva od IFA

Antigeni rikecija

Na osnovi razlike u antigenima i biološkim svojstvima, vrste u rodu rikecija svrstane su u dva različita tipa: **biotip pjegavih tifusa – PT (*R. prowazekii* i *R. typhi*)** i **biotip pjegavih groznica- PG (*R. rickettsii*, *R. sibirica*, *R. conorii*, *R. akari*, *R. australis*, *R. africae*, *R. japonica*, *R. slovaca*, *R. helvetica*, *R. felis*, i mnoge druge rikecije za koje nije dokazano da izazivaju bolest kod čovjeka).**

Antigeni specifični za skupinu

Termostabilni topljivi lipopolisaharid (LPS) koji se nalazi u staničnom zidu rikecija nosi antigene determinante specifične za skupinu, odnosno biotip. LPS se oslobađa iz rikecija nakon obrade s eterom. Ti su antigeni specifični za sve članove istog biotipa pa se po njima razlikuje biotip tifusa od biotipa pjegavih groznica, a dokazujemo ih pomoću reakcije vezanja komplementa (RVK). Zagrijavanjem topljivog grupno specifičnog antigena u alkalnom mediju oslobađa se tvar koja senzibilizira eritrocite (ESS). ESS se adsorbira na ovčije ili ljudske eritrocite O- skupine i pokazuje grupnospecifičnu reaktivnost za rikecije u jednom biotipu. **ESS dokazujemo testom indirektno hemaglutinacije (IHA) ili latex-aglutinacijom. Taj antigen ne možemo dokazati u RVK.** LPS u vrstama oba biotipa ima zajedničke epitope OX-19 (srodniji više s biotipom tifusa) i OX-2 (srodniji s biotipom pjegave groznice). Ova je unakrsna reakcija osnova nespecifičnog testa aglutinacije po Weil-Felixu koji pokazuje djelomičnu grupnu specifičnost.

Antigeni specifični za vrstu

U vanjskoj membrani rikecija se nalaze termolabilni proteinski antigeni koji sadrže epitope specifične za vrstu rikecija, a izvan vanjske membrane rikecije stvaraju mikrokapsulu, površinski proteinski sloj, koji je specifičan za vrstu. Ovi proteinski antigeni potiču stvaranje zaštitnih antitijela. Antitijela za ove antigene se dokazuju reakcijom vezanja komplementa, testom imunofluorescencije, mikroaglutinacije, ELISA ili testom neutralizacije toksičnosti za miša.

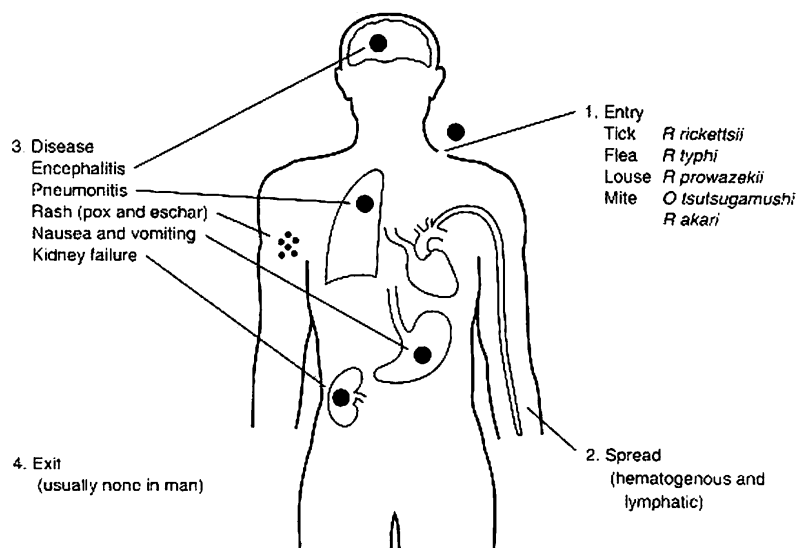
Osjetljivost rikecija na fizikalne i kemijske faktore te antimikrobne lijekove

Izvan stanice rikecije su nestabilne jer kroz svoju membranu gube proteine, nukleinske kiseline, NAD i ATP, što znači da vrlo brzo prestaju biti infektivne i potom ugibaju. Inaktiviraju ih i uobičajeni dezinficijensi poput Na-hipoklorita, 5% vodikovog peroksida, 8% formaldehida, 1% fenola, 70% etanola i UV zrake. Pri temperaturi od 56°C rikecije ugibaju za 30 minuta. **Ipak, u sasušenom fecesu zaraženih uši vrsta *R. prowazekii* može ostati infektivna i više mjeseci, ako su vlažnost i temperatura okoliša niski.** Osjetljivost rikecija na antibiotike određuje se na kulturi stanica postupkom inhibicije stvaranja plakova u prisutstvu određenog antibiotika. *In vitro* na njih inhibitorno djeluju tetraciklini, kloramfenikol, fluorirani kinoloni, neki makrolidi i rifampicin. Najbolji učinak imaju tetraciklini pa se zbog toga najviše upotrebljavaju u liječenju. Sulfonamidi pojačavaju rast rikecija, pa su kontraindicirani u liječenju rikecioza. Penicilini, cefalosporini i aminoglikozidi ne djeluju na rikecije.

Patogeneza

Nakon uboda zaraženog člankonošca rikecije ulaze u endotelne stanice kapilara i u njima se razmnožavaju. Inficirane endotelne stanice nabreknu i nekrotiziraju – nastaje tromboza, pa to dovodi do začepjenja, nekroze i razdora kapilara. Oko takvih se mjesta uz kapilare nakupljaju mononuklearne

upalne stanice (limfociti, makrofagi) i stvaraju patognomonične tifusne čvoriće. Iz raspuklih endotelnih stanica oslobađaju se rikecije i krvlju prenose po cijelom organizmu. Oštećenje malih krvnih žila najizraženije je u koži, miokardu i mozgu, ali i u drugim organima i odgovorno je za većinu kliničkih znakova, uključujući osip. **Epidemični tifus, pjegava groznica Stjenovitog gorja i šikarski tifus spadaju među najteže poznate zarazne bolesti s visokom smrtnosti.** Oštećenje stanica vjerovatno nastaje zbog toksičnosti metaboličkih produkata rikecija, natjecanja rikecija sa stanicom nositelja za vitalne supstrate, iscrpljenja ATP-a i oštećenja stanične membrane zbog ulaska brojnih rikecija i kasnije zbog masovnog napuštanja stanice.



Općeniti prikaz načina ulaska i širenja rikecija u čovjeku nakon uboda člankonošca, te prikaz simptoma i organa pogođenih njihovim razmnožavanjem u tijelu

Imunološki odgovor organizma na prisutnost rikecija

Jedan od najzanimljivijih aspekata patogeneze rikecijskih infekcija je obrana domaćina putem imunološkog sustava. I CD4 i CD8 stanice sudjeluju u zaštitnom odgovoru organizma na rikecije, a usmjeravanje limfocita i makrofaga na mjesto infekcije u mikrocirkulaciji predstavlja osnovu za uklanjanje patogena. Studije provedene na mišjim modelima rikecijozna otkrile su nove mehanizme imunološkog odgovora, uključujući citokinima posredovanu aktivaciju baktericidne kontrole endotelnih stanica s intracelularnom infekcijom, te ulogu autofagije u ubijanju rikecija. Dokazano je da mišje endotelne stanice aktivirane putem IFN- γ i TNF- α počinju proizvoditi dušikov oksid putem inducibilne NO-sintaze. Kod čovjeka je također otkriveno da endotelne stanice aktivirane putem IFN- γ , TNF- α , IL-1 β ubijaju intracelularne rikecije proizvodnjom dušikovog oksida ili vodikovog peroksida. Humani makrofagi, iako manje značajni u rikecijskim infekcijama, nakon aktivacije citokinima ubijaju intracelularne rikecije produkcijom vodikovog peroksida i uzrokovanjem manjka triptofana zbog njegove razgradnje putem indolamin-2,3-dioksigenaze. U ranim fazama infekcije ulogu imaju i NK stanice koje inhibiraju rast rikecija zajedno s proizvodnjom IFN- γ . Uklanjanje rikecija zahtijeva i aktivaciju citotoksičnih CD8 T stanica koje eliminiraju inficirane endotelne stanice induciranjem apoptoze koja je povezana sa stvaranjem pora putem perforina. Humoralna imunost ima značajnu ulogu u stvaranju memorije na rikecijsku infekciju. Protutijela protiv rikecijskih antigena OmpA i OmpB, ali ne i rikecijskog lipopolisaharida, mogu štiti od reinfekcije. Ipak, protutijela na te proteine ne pojavljuju se dok se ne uspostavi kontrola infekcije i bar djelomični oporavak, što znači da ne igraju

značajnu zaštitnu ulogu u prvom izlaganju patogenim rikecijama. Ravnoteža između podložnosti i otpornosti domaćina na infekciju se izražava kao rizični faktor težine bolesti. **Za ljude u tome značajnu ulogu igraju starija dob, deficijencija glukoza-6-fosfat dehidrogenaze, terapija sulfonamidima, diabetes mellitus i muški spol.** Eksperimentalni podaci potvrđuju podložnost starijih muških životinja čak i manjim dozama rikecija.

Rikecije iz skupine pjegavih tifusa

Vrsta *Rickettsia prowazekii*

Vrsta *R. prowazekii* uzrokuje epidemični pjegavi tifus (typhus exanthematicus). To je bolest prisutna u siromašnim područjima gdje vladaju nehigijenski uvjeti, a kretanje neimunog stanovništva omogućava održavanje ciklusa prijenosa između čovjeka i prtene uši (*Pediculus humanus* var. *corporis*). Uši žive u odjeći, zaražavaju se uzimanjem obroka krvi (hematofagne su) na bolesniku s rikecijemijom, a nakon što im se rikecije umnože u stanicama crijeva, izlučuju *R. prowazekii* fecesom. Čovjek se zarazi utrljavanjem rikecija u kožu ozlijeđenu ubodom ili aerosolom preko sluznice oka i respiratornog sustava. *R. prowazekii* ubija svog vektora nakon 2-3 tjedna pa nema prijenosa na sljedeće generacije.

Klinička slika

Bolest počinje naglo nakon inkubacije od 9 do 12 dana s povišenom temperaturom, glavoboljom, bolovima u mišićima. Oko petog dana bolesti javlja se osip na trupu koji se širi centrifugalno i obično ne zahvaća lice, dlanove i stopala. Mogu se javiti i neurološke promjene, delirij, ali i miokarditis, hipotenzija i gangrene na ekstremitetima. Nakon 2-3 tjedna od pojave simptoma, bolesnik će ili ozdraviti ili umrijeti. Smrtnost je niska u dječijoj dobi, ali može biti i do 50% u osoba starijih od 50 godina. Imunitet je dugotrajan, a rikecije ostaju u retikuloendotelnim stanicama, a da pri tome čovjek nema nikakvih simptoma bolesti. **Brill-Zinsserova bolest** je recidiv epidemičnog tifusa koji se javlja godinama nakon primarne infekcije (najvjerojatnije uzrokovan slabljenjem imuniteta za rikecije koje su ostale skrivene u retikuloendotelnom sustavu).

Prevenција i liječenje

Suzbijanje epidemičnog tifusa može se postići prekidom lanca prijenosa i infekcije, uništavanjem vektora ili imunizacijom. Važno je i poboljšati higijenske navike (redovno pranje odjeće i glačanje). Vakcina pripremljena iz inficiranih žumanjčanih vrećica sadrži ubijene uzročnike i služi kao djelomična zaštita od bolesti. Atenuirana živa vakcina (**Madrid-E-soj**) štiti od bolesti za vrijeme epidemijskog širenja. Tetraciklini i kloramfenikol su djelotvorni u liječenju i primarnog epidemičnog tifusa i Brill-Zinsserove bolesti.

Vrsta *Rickettsia typhi*

Vrsta *R. typhi* je morfološki i metabolički slična vrsti *R. prowazekii*. Uzročnik je endemičnog ili murinog (štakorskog) tifusa, bolesti koja je klinički i patološki slična epidemičnom pjegavom tifusu, ali je obično blaža. Murini tifus je zoonoza raširena po cijelom svijetu, naročito u umjerenim i suptropskim priobalnim krajevima. Prirodni rezervoar su štakori, a glavni vektor koji prenosi rikeciju je štakorska buha (*Xenopsylla cheopis*). Buhe mogu prenositi rikeciju i transovarijalno pa su one i rezervoar i vektor za tu rikeciju. Čovjek se zarazi slučajno kad se njegovom krvlju hrani inficirana štakorska buha, koja pri tom defecira i izlučuje rikecije.

Klinička slika

Nakon inkubacije 1-2 tjedna, bolest počinje naglo s povišenom temperaturom i bolovima u mišićima. Makulopapulozni osip javlja se na trupu i širi se centrifugalno. Bolest je obično blaga, posebno u djece, a smrtnost je niska.

Prevenција i liječenje

U endemskim područjima primjenjuju se insekticidi i rodenticidi. Ne postoji djelotvorna vakcina. U liječenju endemičnog tifusa uglavnom se koriste tetraciklini. Djelotvorni su i kloramfenikol i fluorirani kinoloni.

Rikecije iz skupine pjegavih groznica

Rikecije iz ove skupine se mogu razmnožavati i u jezgri i u citoplazmi inficiranih stanica. Uzrokuju zoonoze, a ljudi su obično slučajni domaćini. U ljudi ove rikcije izazivaju pjegave groznice, koje su nazvane prema području u kojem se javljaju. U ovoj skupini se nalaze rikcije koje prenose krpelji (Ixodidae) ubodom prilikom uzimanja krvi na kralježnjaku. Rikcija se u krv prenosi tek nakon 6-10 sati jer je to vrijeme potrebno da se neaktivne rikcije aktiviraju, dođu do slinovnica i prodru u krv čovjeka. Krpelji mogu biti i vektori i rezervoari jer rikcije pjegavih groznica ne oštećuju krpelje. Do sada je dokazano da bolest u čovjeka može uzrokovati 12 rikcija ove skupine. To su vrste: *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. australis*, *R. sibirica*, *R. japonica*, *R. honei*, *R. africae*, *R. felis*, *R. mongolotimonae*, *R. slovaca*, *R. helvetica* i *R. akari*.

Vrsta *Rickettsia conorii*

R. conorii je najubikvitarnija od svih rikcija pjegavih groznica. Uzrokuje mediteransku pjegavu groznicu koja se javlja u svim mediteranskim i subtropskim zemljama. Pas je glavni domaćin. Smeđi pseći krpelj *Rhipicephalus sanguineus* glavni je vektor i rezervoar *R. conorii*.

Klinička slika

Nakon inkubacije od obično 7 dana, bolest počinje naglo s povišenom temperaturom, glavoboljom i bolovima u mišićima i zglobovima. Karakteristična je pojava primarne lezije, malog ulkusa sa crnim nekrotičnim središtem, koji se javlja na mjestu uboda krpelja, gdje nastaje perivaskularni edem i nekroza kože zbog umnožavanja *R. conorii* u endotelu. Nakon nekoliko dana javlja se papularni osip prvo na podlakticama, a zatim se širi po cijelom tijelu. Mediteranska pjegava groznica je obično blaga bolest, iako se mogu javiti i teži oblici s petehijalnim osipom, neurološkim i kardiovaskularnim simptomima.

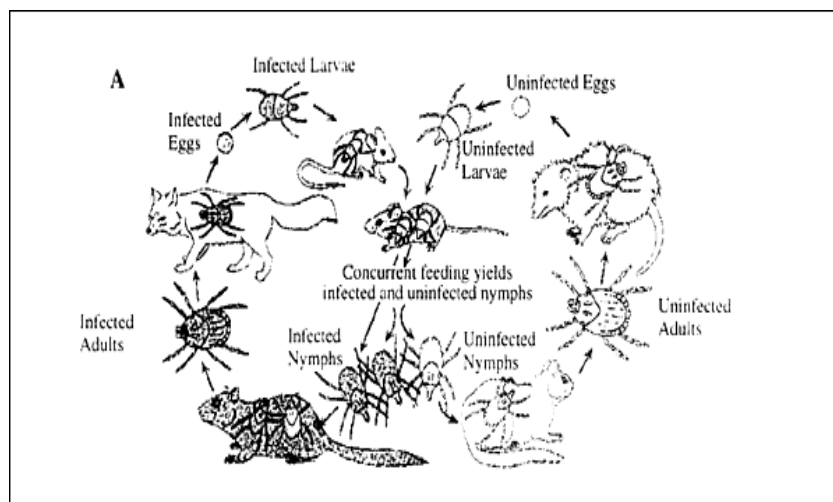
Prevenција i liječenje

U endemskim krajevima za vrstu *R. conorii* najvažnije je izbjegavati dodir s krpeljima i, ako je to moguće, potrebno ih je što češće odstranjivati sa tijela jer se krpelj mora hraniti najmanje 4 sata prije nego zarazna rikcija može biti prenijeta. Također je važno kontrolirati invaziju krpelja na pse. Tetraciklini i kloramfenikol su djelotvorni u liječenju mediteranske pjegave groznice.

Vrsta *Rickettsia rickettsii*

Ova rikcija u SAD-u uzrokuje pjegavu groznicu Stjenjaka, vrlo tešku i po život opasnu bolest. Glavni vektori i rezervoari za vrstu *R. rickettsii* jesu krpelji iz roda *Dermacentor*. Životinjski rezervoari su divlji

glodavci, veće divlje i domaće životinje, posebno psi. U pasa se javlja izražena rikecijemija od koje ugibaju.



Prikaz životnog ciklusa vrste *R. rickettsii*

Klinička slika

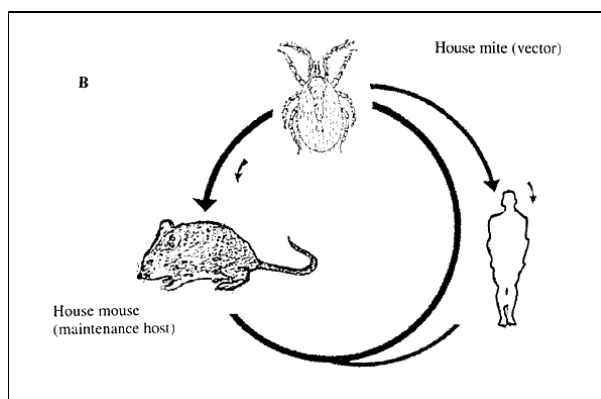
Bolest počinje naglo s povišenom temperaturom, glavoboljom, slabošću i bolovima u mišićima. Osip je makulopapulozan, ali u teškim slučajevima može biti i hemoragičan. Često se javljaju komplikacije, kao npr. trombocitopenija te zatajivanje bubrega i srca. U neliječenih smrtnost je oko 20%.

Prevenција i liječenje

Prevenција i liječenje su isti kao u slučaju mediteranske pjegave groznice

Vrsta *Rickettsia akari*

Vrsta *R. akari* razlikuje se od ostalih rikecija u skupini pjegavih groznica jer ne stvara toksični učinak na mišu i ne posjeduje zajedničke antigene s bakterijskom vrstom *Proteus vulgaris*. Ova rikecija uzrokuje nekrozu epitelnih stanica, nastaju intra-epidermalne vezikule i javlja se vezikulozni osip, pa se zbog toga bolest naziva rikecijskim boginjama. **Rezervoar vrste *R. akari* je sivi kućni miš, a vektor mišija grinja (*Allodermomyssus sanguineus*).**



Prikaz životnog ciklusa vrste *R. akari*

Klinička slika

Čovjek je slučajni domaćin i obolijeva ako ga ubode inficirana grinja. Na mjestu uboda nastaje primarna lezija u obliku papule koja se pretvara u vezikulu s crnom krastom. Nekoliko dana nakon pojave primarne lezije javlja se povišena temperatura, glavobolja, mijalgija i generalizirani vezikulozni osip nalik variceli.

Prevenција i liječenje

Liječenje tetraciklinima i kloramfenikolom skraćuje tok bolesti na 1-2 dana

Zaključak

Iz roda rikecija dosad su opisane 24 vrste, a sve dijele obilježje unutarstaničnih parazita koji se prenose vektorima, najčešće člankonošcima. Uzrokuju bolesti zvane rikecioze (16 poznatih) koje karakterizira osip, povišena temperatura, glavobolja i bolovi u mišićima. Tomu je uzrok upala i nekroza endotelnih stanica u kojima se rikecije razmnožavaju. Vrste roda rikecija podijeljene su u dvije glavne skupine, ovisno o nekoliko obilježja. Rikecije iz skupine pjegavih groznica povezane su s krpeljima, buhama i grinjama, optimalna temperatura rasta im je 32°C, a mogu polimerizirati aktin i ući u jezgru stanica domaćina. Vrste iz skupine pjegavih tifusa prenose se ljudskom tjelesnom uši i buhama, optimalna temperatura rasta im je 35°C, ne mogu polimerizirati aktin i zato se razmnožavaju u citoplazmi stanica uzorkujući tifus. Iako se isprva razmnožavaju u endotelnim stanicama, mogu se proširiti po cijelom tijelu i zahvatiti druge organe. Letalni ishod rikecioza najviše ovisi o zahvaćenosti pluća i mozga. Većina rikecija poznata kao ljudski patogeni isprva je identificirana u krpeljima godinama prije nego je dokazana konačna povezanost s bolestima ljudi. To je slučaj za osam od trinaest vrsti ili podvrsti patogenih rikecija krpeljnog tifusa od 1984. godine. Visoka razina svijesti, uključujući pažljivo uzimanje u obzir povijesnih podataka, suradnja liječnika i laboratorijska dijagnostika s primjenom suvremenih molekularnih metoda olakšali su otkriće i opis dosad poznatih rikecioza, a vjerojatno će i u budućnosti voditi k otkrivanju novih vrsta u svijetu.

Literatura

Baron S., Medical Microbiology, 4th edition, University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996

Harvey R.A., Champe P.C., Fisher B.D.; Microbiology, 3rd Ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2007

Hugo W.B., Russell A.D.; Pharmaceutical Microbiology, Blackwell Science, 1998

Raoult D., Parola P., Rickettsial Diseases, Taylor&Francis group, LLC, 2007

Kováčová E, Kazár J.; Rickettsial diseases and their serological diagnosis, Clin Lab. 2000; 46(5-6): 239-45

Walker D.H.; Rickettsiae and Rickettsial Infections: The Current State of Knowledge, Clin Infect Dis. 45; 2007: S39-S44

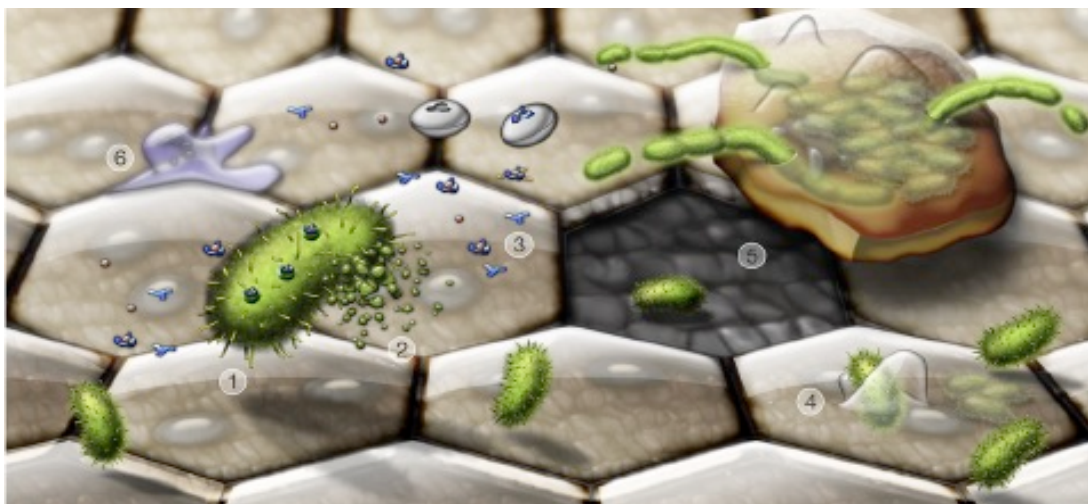
5. UROPATOGENI SEROVARI *E. COLI* (UPEC)

Uz iznimku distalnog dijela sluznice uretre, normalni je uro-sustav sterilan i otporan na kolonizaciju bakterijama te u većini slučajeva putem nekoliko obrambenih mehanizama brzo i djelotvorno eliminira mikroorganizme koji su dospjeli u mokraćni mjehur. Unatoč obrani organizma (čimbenicima nositelja) i povećanoj uporabi antibiotika, infekcije mokraćnog sustava (IMS) su i dalje jedne od najučestalijih infekcija širom svijeta i uzrokuju ozbiljne ekonomske i medicinske probleme. Oko 95% svih IMS su nekomplikirane infekcije mokraćnog mjehura - cistitisi. Infekcije bubrega (pijelonefritis) su mnogo ozbiljnije i ako se ne liječe, mogu rezultirati otkazivanjem bubrega, bakteremijom i sepsom. Rekurentne ili relapsirajuće IMS su posebno problematične kod mnogih pojedinaca. Gotovo 80% žena svjetske populacije u tijeku svoga života ima najmanje jednu IMS, a 27-44% ovih bolesnica unutar sljedećih šest mjeseci ima i rekurentnu epizodu bolesti, unatoč antimikrobnoj terapiji. Među brojnim uropatogenim bakterijama, primarni uzročnik IMS su sojevi uropatogeni sojevi *E. coli* (UPEC). UPEC izolati se klasificiraju kao ekstraintestinalne patogene *E. coli* (ExPEC) i kao takve perzistiraju u intestinalnom sustavu bez štetnih posljedica za nositelja, ali imaju sposobnost da se šire i koloniziraju druge sustave, u ovom slučaju mokraćne puteve, gdje uzrokuju infekcije. UPEC sojevi uzrokuju oko 80% nekomplikiranih IMS, uključujući cistitis i pijelonefritis, te veliki udio bolničkih IMS (50%). Dugo se smatralo da je UPEC isključivo ekstracelularni patogen. Međutim, posljednjih desetljeća, rezultati nekoliko *in vitro* i *in vivo* istraživanja su opovrgli tu uobičajenu pretpostavku. UPEC sojevi su oportunistički intracelularni patogeni, koji koriste slabosti nositelja te posjeduju veliki broj razolikih čimbenika virulencije i strategije postanka u nepovoljnoj sredini noistelja kako bi kolonizirale mokraćni sustav. Jednom kad se nađe u mokraćnom sustavu, UPEC preferira kolonizaciju mokraćnog mjehura uzrokujući cistitis, ali se također može uspeti kroz uretere do bubrega, uzrokujući pijelonefritis. Primarni izvor zaraze obično je vlastita crijevna flora, no može biti riječ i o kontaminiranoj hrani ili vodi, u pojedinim slučajevima i o spolno prenesenoj infekciji.

UROPATOGENA *E. coli* (UPEC)

Vrsta *Escherichia coli*, jedina je vrsta iz roda *Escherichia*, porodica *Enterobacteriaceae* koja je bitna u kontekstu humane patologije. Najčešće se radi o infekcijama mokraćnih puteva uzrokovane uropatogenim, te crijevnim infekcijama izazvanim enteropatogenim sojevima. Iznimna raznolikost ove bakterijske vrste omogućuje joj kolonizaciju i opstanak u različitim uvjetima, bilo u vanjskom okolišu ili u životinjskim domaćinima. Fiziološki je pronalazimo kao dio normalnog crijevnog mikrobioma, gdje zajedno s ostalim mikroorganizmima tvori simbiotsku vezu s nositeljem, priskrbujući hranjive tvari, signalne molekule za regulaciju razvoja i imunskog sustava, a ujedno pruža zaštitu od vanjskih patogena. Ipak, neki serotipovi *E. coli* mogu poprimiti patogene karakteristike i uzrokovati infekciju gotovo svih tkiva ili organa. Patogene sojeve *E. coli* može se podijeliti na dijareagenične i ekstraintestinalne, ExPEC (engl. *Extraintestinal pathogenic E. Coli*). Unutar ovih širokih skupina, nalazimo patotipove, skupine sojeva sa zajedničkim čimbenicima virulencije i sličnim patogenetskim ishodom. Upravo takav patotip unutar ekstraintestinalnih ExPEC čine i uropatogene *E. coli* (UPEC). Obilježene specifičnim somatskim ili O-antigenima, najčešći su ekstraintestinalni tip povezan s bolešću u ljudi. Uzročnik su 80% infekcija mokraćnog sustava, uključujući i cistitis i pijelonefritis. Primarni izvor zaraze obično je vlastita crijevna flora, no može biti riječ i o kontaminiranoj hrani ili vodi, u pojedinim slučajevima i o spolno prenesenoj zarazi. Cijeli proces infekcije praćen je obrambenim reakcijama imunskog sustava nositelja: dolazi do tvorbe citokina, infiltracije neutrofila, eksfolijacije inficiranih epitelnih stanica, produkcije mikrobicidnih dušikovih i kisikovih spojeva. Jasno je da je za perzistiranje UPEC unutar mokraćnog sustava nužno upotrijebiti veliki broj različitih strategija izbjegavanja

imunskog sustava domaćina. Čimbenici virulencije koje posjeduju ove bakterije stoga su od iznimne važnosti, a uključuju posjedovanje kapsule, endotoksin, bakterijske adhezine, siderofore, hemolizin, te različite toksine. UPEC su oportunistički intracelularni patogeni, koji iskorištavaju slabosti domaćina koristeći veliki broj razolikih čimbenika virulencije kako bi kolonizirale mokraćni sustav. Ključni element u kolonizaciji tkiva je sposobnost UPEC da se veže za stanice domaćina, što onemogućuje otplavlivanje bakterija mokraćom i ujedno promovira UPEC invaziju uroepitela. Nakon adheriranja bakterije na površinu epitelnih stanica dolazi do brzog prodora UPEC u epitelne stanice, a cijeli proces posredovan je specifičnim adhezinom na vrhu fimbrija koji otpočinje signalnu kaskadu u domaćinovim epitelnim stanicama, što rezultira lokaliziranim preslagivanjem aktina, te uvlačenjem adherirane bakterije u stanicu zatvaranjem membrane oko mikroorganizma. Nakon ulaska u stanicu domaćina, UPEC se u vezikulama, koje imaju karakteristike kasnog endosoma ili lizosoma, prenose u citosol stanice. U velikim, terminalno diferenciranim površinskim epitelnim stanicama, koje se nalaze na luminalnoj strani mokraćnog mjehura, UPEC može probiti u citoplazmu domaćina gdje se ubrzano dijeli, stvarajući velike intracelularne bakterijske zajednice nalik biofilmu koje mogu sadržavati nekoliko tisuća bakterija. Takve stanice, koje sadržavaju velik broj UPEC, vrlo su podložne ekfolijaciji, čime se velike količine bakterija mogu otplaviti mlazom mokraće iz mokraćnoga sustava. S druge strane, ekfolijacijom površinskih stanica, osjetljive nediferencirane stanice nižih slojeva postaju izložene i podložnije infekciji. U istraživanjima je uočeno da UPEC prodire u nezrele uroepitelne stanice nižih slojeva, ulazi u odjeljke slične kasnim endosomima koji su često zapleteni mrežom aktinskih filamenata. Replikacija ovih aktinom omeđenih bakterija je ograničena, što ih čini manje osjetljivim na brojne antibiotike i vjerovatno manje imunogenim. Ove bakterije u stanju mirovanja, mogle bi poslužiti kao izvori rekurentnih (ili relapsirajućih) IMS. Preslagivanje aktinskih filamenata tijekom terminalne diferencijacije inficiranih nezrelih stanica može biti ključni poticaj za pojačano intracelularno umnažanje bakterija i pojavu kliničkih simptoma. Slika ispod prikazuje brojne ključne događaje tijekom infekcije mokraćnog mjehura. Pretpostavlja se da će bolje razumijevanje ovih događaja i drugih čimbenika koji promoviraju UPEC kolonizaciju urinarnog sustava dovesti do otkrića novih ciljnih mjesta za djelovanje vakcina i razvoj učinkovitijih terapija.



Dinamična interakcija UPEC invazije i domaćina tijekom IMS. Prikazani su ključni događaji tijekom UPEC infekcije mokraćnog mjehura. UPEC koji eksprimiraju tip 1 fimbrije (1, zeleno), sekretijski toksini i drugi čimbenici virulencije (2). Siderofore poput enterobaktina i salmotelina (3, plave strukture) koje izlučuje UPEC, hvataju željezo, natječući se sa domaćinovim željezo-kelatirajućim molekulama i lipokalinom 2 (bijeli diskovi). Vezanje bakterija preko tip 1 fimbrija za epitelne stanice mokraćnog mjehura i invazija stanica (4). Velike terminalno diferencirane superficijalne epitelne stanice, često binuklearne, heksagonalnog ili pentagonalnog oblika, prekrivaju luminalnu površinu mokraćnog

mjehura i glavna su meta UPEC invazije. UPEC se može ubrzano dijeliti unutar superficijalnih stanica, oblikujući velike zajednice nalik biofilmu. Eksfolijacija inficiranih stanica mokraćnog mjehura olakšava uklanjanje bakterija iz domaćina, ali i ostavlja izloženima manje nezrele stanice nižih slojeva, koje su podložnije infekciji (5). Oslobođanje, ili izlivanje, UPEC iz inficiranih stanica domaćina prije nego dođe do eksfolijacije, vjerovatno promovira bakterijsku diseminaciju i opstanak unutar urinarnog trakta. Tijekom izlivanja, UPEC često postaje filamentozan, pretpostavlja se da na taj način UPEC preživljava napad imunološkog sustava domaćina. Ovo uključuje priličnu neutrofilu (6), stvaranje mikrobicidnih reaktivnih dušikovih i kisikovih spojeva i antimikrobnih peptida.

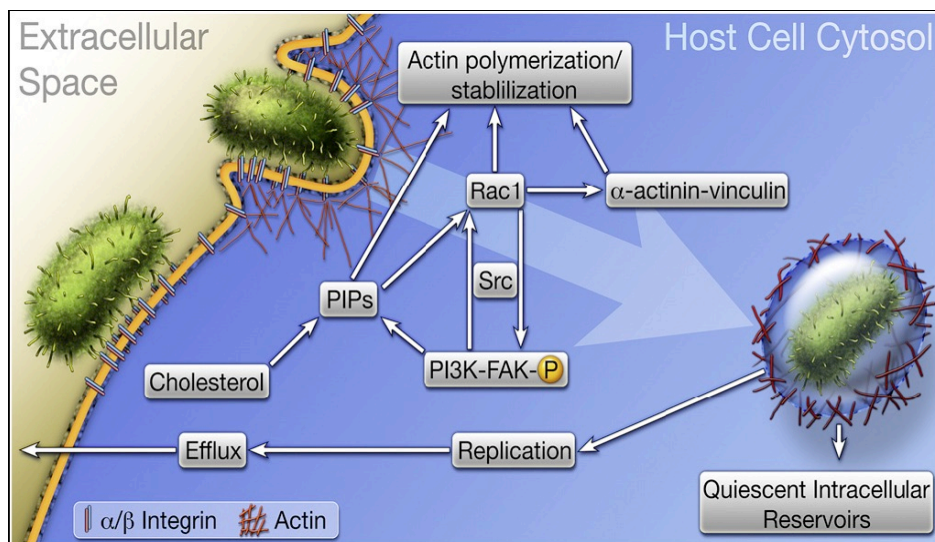
Čimbenici virulencije

Kao i većina ostalih *E. coli* sojeva i UPEC posjeduje kapsulu. Kapsularni polisaharidi štite uropatogene bakterije od fagocitoze i lize posredovane komplementom. Budući da se radi o gram-negativnim bakterijama, njihova složena stanična stijenka ih štiti ili usporava djelovanje toksičnih tvari i antibiotika. Endotoksin, lipopolisaharid vanjske membrane stanične stijenke (LPS) stimulira stanice imunskog sustava na stvaranje i otpuštanje citokina poput čimbenika nekroze tumora (engl. TNF), interferona γ (IFN γ) te interleukina 1 i 8. Tako pokrenut sustav endogenih biomedijatora pospješuje upalnu reakciju, nekrozu stanica, a odgovoran je i za konstitucijske simptome tijekom IMS. Endotoksin ima pirogena svojstva, koji osobito dolaze do izražaja prilikom sepse i pijelonefritisa. Ključni čimbenik u virulenciji uropatogene *E. coli* (UPEC) jest njezina sposobnost prijanjanja za uroepitelne stanice. UPEC, kao i druge uropatogene bakterije, prijanja uz uroepitelne stanice vezanjem za specifične receptore, ali isto tako i koristeći se nespecifičnim mehanizmima kao što su elektrostatske sile i hidrofobne veze. U procesu prijanjanja UPEC za uroepitel, odlučujuća je uloga adhezina koji su smješteni na specijaliziranim izdancima – fimbrijama ili pilima. Fimbrije su filamentozne adhezivne organele, izgrađene od proteina koje se od citoplazme protežu kroz staničnu membranu i staničnu stijenku bakterije. Sami proces prijanjanja bakterije za uroepitel stimulira i prodor bakterije u stanicu, što povećava mogućnost preživljavanja bakterije unutar mokraćnog sustava. U UPEC najčešće se nalaze fimbrije tipa 1, P, S i F1C, od kojih je transkripcija gena svakoga kodirana posebnim operonom. UPEC ima sposobnost promjene ekspresije jedne vrste fimbrija u druge, procesom znanim kao fazna varijacija gdje uslijed vanjskih utjecaja dolazi do međusobnog utjecanja jednog operona na drugi. Time mogu nastati nove subpopulacije s većom sposobnošću prijanjanja i invazije tkiva domaćina, ili pak većom specifičnošću prema domaćinu. Dva najčešća i najproučavanija tipa adhezivnih organela u UPEC su fimbrije tipa 1 te P fimbrije.

Fimbrije tipa 1

Fimbrije tipa 1 široko su rasprostranjene i uobičajene i u patogenih i nepatogenih *E. coli*. Oko 80% UPEC izolata na površini ima **fimbrije tipa 1** pa se one smatraju najvažnijim bakterijskim virulencijskim čimbenikom u razvoju IMS. To potvrđuju i istraživanja u kojima su "knockout" sojevi za adhezinski protein FimH, fimbrija tip 1, pokazali značajno smanjenu mogućnost kolonizacije urinarnog trakta, što nije bio slučaj u analognom ispitivanju sa P fimbrijama. Fimbrije tipa 1, preko podjedinice FimH vežu se za manozilirane ostatke na integralnim membranskim proteinima koji su izraženi na površini uroepitelnih stanica. Zanimljivo je da FimH adhezin, istodobno omogućava adheziju na uroepitel i invaziju uroepitela, doprinosi uspostavljanju intracelularnog bakterijskog biofilma, te potiče upalni proces. Na intenzitet upale i prisutnost općih simptoma u IMS vjerojatno utječe i činjenica da se i na mastocitima nalaze specifični receptori na koje se veže FimH te tako potiče lučenje niza inflamatornih biomedijatora. Smatra se da je ključni receptor za FimH adhezin, integralni membranski protein UROPLAKTIN (UP), koji je izražen na luminalnoj strani superficijalnih epitelnih stanica mokraćnog mjehura, iako FimH može vezati mnoge druge proteine domaćina. Tako su novija istraživanja potvrdila receptorsku ulogu $\alpha 3\beta 1$ INTEGRINSKIH PODJEDINICA koje su izražene na mnogim staničnim

tipovima, uključujući i epitelne stanice mokraćnog mjehura. Integrini su površinske adhezijske molekule koje povezuju proteine izvanstaničnog matriksa sa aktinskim citoskeletom, pri čemu služe kao receptori koji aktiviraju unutarstanične signalne putove (kao što je stanična proliferacija i preživljavanje) u odgovoru na adheziju. Manipulacije integrinima i nizvodnim signalnim kaskadama je uobičajen mehanizam kojim patogeni postižu ulazak u stanicu domaćina. FimH-posredovana bakterijska invazija stanica domaćina uključuje lokalizirano preslagivanje aktinskog citoskeleta domaćina, nekoliko signalnih faktora vezanih za integrine i proteine adaptore koji reguliraju dinamiku aktina (vidi sliku u nastavku).



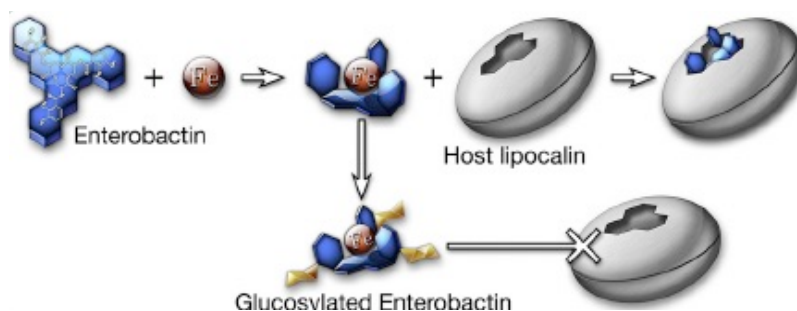
UPEC invazija stanica domaćina. FimH adhezin, smješten na vrhovima fimbrija tip 1 veže se za $\alpha\beta 1$ integrinske receptore, koji se nakupljaju u kolesterolom bogatom području membrane. Vežanje receptora potiče signalne kaskade koje uključuju FAK, Src, PI 3-kinazu, Rho GTP-aze poput Rac1, fosfoinozitide (PIP) i prolazni kompleks proteina koji stabiliziraju citoskelet, α -aktinin-vinkulin. Ovi događaji stimuliraju lokalizirano preslagivanje aktinskog citoskeleta na način da se plazma membrana domaćina ovije, preklopi i zatvori oko bakterije te ju tako uvuče u stanicu. Internalizirana UPEC može biti prenesena unutar vezikula nalik kasnom endosomu koje su često smještene unutar mreže aktinskih vlakana. Bakterija tako opstaje u pritajenom stanju i može koristiti kao razervoar za rekurentnu IMS. Oslobođanje UPEC u citoplazmu domaćina stimulira brzi bakterijski rast i formiranje intracelularnih zajednica nalik biofilmu.

Fimbrije tipa P

Fimbrije tipa P drugi su po značenju virulencijski čimbenik UPEC. Na vrhovima ovih fimbrija nalaze se specifični adhezini zvani **PapG** koji se vežu za bubrežne glikosfingolipide (varijante globotriasileramida) receptore koji se inače nalaze na uroepitelnim stanicama čitavoga mokraćnog sustava. Fimbrije tipa P su najvažnije u procesu ascenzije bakterija u gornje dijelove mokraćnog sustava i nastanku pijelonefritisa. Među UPEC izoliranim iz urina bolesnika s pijelonefritsom, 80% izolata posjeduje P-fimbrije, dok u bolesnika s cistitisom samo 20% izoliranih sojeva *E. coli* ima P-fimbrije. Osim epidemiološke povezanosti s UPEC sojevima koji uzrokuju akutni pijelonefritis, točna uloga P fimbrija u razvoju IMS je još uvijek nejasna.

Siderofore

Željezo je esencijalno za mnoge stanične procese unutar prokariotske i eukariotske stanice. Koncentracije željeza dostupne bakteriji unutar domaćina su vrlo niske i nedovoljne za njezin rast, stoga su patogene bakterije razvile različite strategije kojima mogu efikasno crpiti željezo iz okoline i koncentrirati ga u citosolu. Jedan od takvih mehanizama uključuje ekspresiju sustava siderofora. Siderofore su molekule male molekulske mase koje izlučuje bakterija, a koje imaju izrazito visok afinitet za feri-ione (Fe^{3+}). Nakon vezanja željeza, kompleks se posebnim receptorima na površini bakterijske stanice uvlači kroz bakterijsku membranu i otpušta u citosol. Vrsta *E. coli*, patogeni i K12 sojevi, često koriste sideroforu enterobaktin, koja ima veći afinitet za željezo od transferina, te time omogućuje bakteriji uspješno prikupljanje zaliha koje će joj trebati u intenziviranim staničnim procesima prilikom infekcije. To je posebno korisno za UPEC, budući da je urinarni trakt okoliš izrazito siromašan željezom. Osim enterobaktina, UPEC i ostale ExPEC, ekspimiraju i druge siderofore kao što su salmokelin, aerobaktin, yersiniabaktin i dr. Kao obranu od siderofora domaćin koristi posebne molekule kao što je protein lipokalin 2, koji djeluje kao bakteriostatik upravo iz razloga što specifično veže i odvaja enterobaktin. Lipokalin 2 normalno izlučuju aktivirani neutrofil, koji su primarni odgovor organizma na infekciju i nalaze se u velikom broju u zahvaćenoj regiji. Unatoč tome, UPEC ipak uspijeva nadvladati obranu domaćina pa se da zaključiti da UPEC možda posjeduje nekakve načine zaobilaznja obrane lipokalinom 2. Odgovor se nalazi u siderofori salmokelin. Salmokelin je zapravo enterobaktin modificiran glukozilacijom. Ova modifikacija onemogućuje lipokalinu 2 da prepozna i sekvestira enterobaktin. Bakterije sa tom sposobnošću modifikacije, koje je nosilac *iroA* klaster gen, imaju značajnu prednost u uspostavljanju IMS.



Prikupljanje željeza. Domaćin i patogen kompetiraju za željezo. Bakterijska siderofora enterobaktin sekvestira željezo velikim afinitetom, dok domaćinov lipokalin 2 veže enterobaktin i sprječava njegov povratak u UPEC. Bakterija koja nosi *iroA* klaster gen može modificirati enterobaktin glukozilacijom, stvarajući salmokelin, koji uspješno veže željezo, ali ga lipokalin 2 ne prepoznaje.

Sekrecijski toksini

Toksini koje izlučuje UPEC, α -hemolizin, citotoksični nekrotizirajući faktor 1 (CNF1) i autotransporteri Vat i Sat, mogu prouzročiti ozbiljna oštećenja tkiva i uzrokovati bakterijsku diseminaciju. Toksini mogu djelovati i na suptilniji način. Mogu izmjeniti signalne kaskade stanica domaćina, modulirati upalni odgovor, utjecati na citoskeletnu dinamiku, stimulirati apoptozu stanica domaćina pri čemu se otpuštaju potrebni nutrijenti za UPEC i omogućava se bakterijama bolji pristup dubljim slojevima tkiva unutar urinarnog trakta.

α -hemolizin (HlyA)

Toksin lociran u više od 50% izolata UPEC je α -hemolizin (HlyA). Utvrđeno je da je prisutnost ovog toksina povezana sa klinički težim oblicima urinarnih infekcija, te s oštećenjem tubularnih stanica i leukocita. Jedan od načina na koji hemolizin propagira infekciju je liza stanica, kojim se brojni nutrijenti i faktori ključni za razvoj bakterija otpuštaju u, inače nutrijentima siromašan okoliš. Ipak,

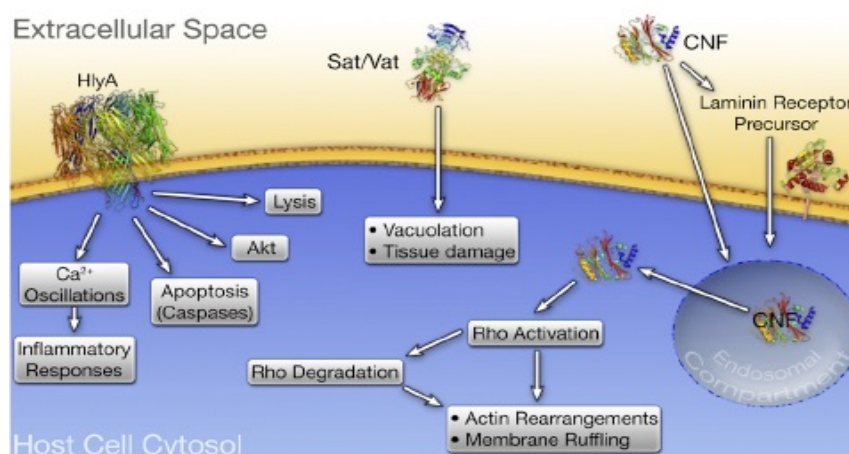
kako istraživanja nisu potvrdila značajnu učestalost količine toksina dovoljno velike da bi prouzročile lizu stanica u akutnih infekcija, smatra se da je češći i fiziološki važniji učinak sublitickih koncentracija hemolizina. Istraživanja su pokazala kako subliticke koncentracije različitih toksina sa sposobnošću stvaranja pora, a među njima i hemolizin, mogu na brojne načine modulirati signalne putove domaćina, uključujući prolaznu stimulaciju oscilacije Ca, aktivaciju MAP kinaza, alteraciju fosforilacije i acetilacije histona te inaktivaciju serin/treonin kinaze Akt koja ima glavnu ulogu u staničnoj progresiji, metabolizmu, vezikularnom transportu, staničnom preživljavanju i upalnim signalnim putovima.

Citotoksični nekrotizirajući faktor 1 (CNF1)

U prosijeku, trećina UPEC izolata kodira citotoksični nekrotizirajući faktor 1 (CNF1). UPEC ekspresija CNF1 može utjecati na patogenezu IMS na više načina. Toksičnost ovog proteina je u njegovoj sposobnosti da aktivira porodicu Rho GTP-aza (RhoA, Rac i/ili Cdc42) koje imaju ključnu ulogu u nadzoru brojnih eukariotskih staničnih procesa poput organizacije aktinskog citoskeleta, stanične pokretljivosti, adheziji i dr. CNF1-posredovana aktivacija Rho GTP-aza je privremeni fenomen i citotoksičnost CNF1 sadržana je u prolongiranoj neprirodnoj Rho aktivaciji i posljedičnoj proteosomalnoj Rho degradaciji što inducira preslagivanje aktina u stresna vlakna, filopodije i lameliopodije što dovodi do proširenja stanica domaćina i izmjene njihova oblika i „uzburkavanje“ plazma membrane što rezultira povećanom pokretljivošću stanica domaćina i unosu bakterija. CNF1 može promovirati apoptozu epitelnih stanica mokraćnog mjehura, vjerovatno stimulira njihovu eksfolijaciju i omogućuje bakterijski pristup dubljim tkivnim slojevima. Istraživanja su pokazala da sekrecija CNF1 inhibira fagocitnu i kemotaksijsku aktivnost neutrofila. Sve to ukazuje da ovi CNF1-posredovani efekti mogu olakšati diseminaciju i preživljavanje UPEC unutar urinarnog trakta.

Autotransporter i Vat i Sat

UPEC kodira nekoliko toksina iz skupine autotransportera. Vakuolizirajući autotransporter toksin (Vat) i sekrecijski autotransporter toksin (Sat) su često ekspimirani UPEC izolatima. Vat i Sat su karakterizirani po njihovoj sposobnosti da induciraju brojne citopatske efekte u ciljnim stanicama domaćina, uključujući vakuolizaciju i bubrenje stanice.



UPEC toksini. α-hemolizin (HlyA), Vat, Sat i CNF1 su kodirani mnogim UPEC izolatima. (lijevo) Pri visokim koncentracijama, insercija HlyA u membranu ciljne stanice domaćina što potiče lizu stanice, dok pri sublitickim koncentracijama HlyA prilagođuje signalne kaskade što utječe na preživljavanje stanice domaćina i upalni odgovor. (sredina) Intoksikacija stanica domaćina s Vat i Sat inducira

vakuolizaciju i druge citopatske efekte što dovodi do oštećenja tkiva. (desno) Endocitoza CNF1 odvija se preko laminin receptor prekursora. Kiseli uvjeti unutar endosoma stimuliraju translokaciju CNF1 katalitičke domene u citoplazmu domaćina gdje aktivira Rho GTP-aze, inducirajući njihovu eventualnu degradaciju i posljedično „uzburkavanje“ membrane.

Svojstva nositelja koja utječu na infekciju

Uspostavljanje infekcije urinarnoga sustava sa UPEC, ovisi i o čimbenicima samoga domaćina. Cistitisi su, zbog kratke uretre, učestaliji u žena kao i kod pojedinaca sa prethodnim abnormalnostima mokraćnoga mjehura. Opstrukcija otjecanja mokraće znatno pridonosi nastanku infekcije. Žene koje pate od učestalih nekompliranih IMS, posjeduju više receptora za *E. coli* na periuretralnim i vaginalnim epitelnim stanicama no što je uobičajeno. Osim toga, infekciji su podložnije osobe s oslabljenim imunološkim sustavom.

Mikrobiološka dijagnostika

Nakon uzimanja uzorka mokraće od bolesnika, izolacije *E. coli* pomoću diferencijalnih podloga, te kultivacije, vrši se serotipizacija specifičnim antiserumima za uropatogene O-skupine. Bitno je odrediti posjeduju li bakterije O-antigen, jer time možemo pratiti uspjeh liječenja rekurentnih infekcija. Ukoliko je izoliran isti serotip, terapija je neuspješna i došlo je do relapsa, a utvrdi li se novi serotip, tada je terapija bila uspješna i radi se o reinfekciji. U tom slučaju, treba potražiti razlog čestih urinarnih infekcija. Prognoistički je značajno utvrditi i postoje li P pili kod izoliranih bakterija, jer su često uzročnici težih infekcija mokraćnog mjehura i pijelonefritisa.

Liječenje

Veliki broj IMS prolazi spontano ili nakon kratkotrajnog liječenja antibiotikom. Koriste se antibiotici koji se izlučuju putem urina, fluorokinoloni, beta-laktamski antibiotici, aminoglikozidi, kotrimoksazol, nitrofurantoin i dr., a najbolji učinak pokazuju fluorokinoloni i kotrimoksazol. S obzirom na veliku rezistenciju *E. coli* na ampicilin, on se praktički više ne upotrebljava, a oprez je potreban i sa kotrimoksazolom, kojemu je rezistencija porasla na 20%. Učinkovitija terapija za rekurentne i teže oblike infekcija mogla bi proistjeci iz sve većeg razumijevanja čimbenika virulencije i mehanizma nastanka i perzistiranja infekcije. U razvitku je i terapija bakteriofagima -terapija virusima programiranima da specifično uništavaju određene mikrobe, te cijepivo.

Antiadhezijska terapija

Zbog kronične prirode IMS i potencijalne rezistencije na antibiotike, kao i poremećaja vaginalne i intestinalne flore, poželjan je prirodni pristup profilaksi i tretmanima upala mokraćnog sustava. Adhezija je preduvjet za bakterijsko preživljavanje i glavni korak u patogenezi. Prevencija adhezije u ranom stadiju nakon izlaganja domaćina patogenu, moglo bi spriječiti bolest. Smatra se da bi ugljikohidrati mogli biti idealno profilaktičko sredstvo. Blokiranjem FimH-receptor interakcije može se spriječiti bakterijska adhezija na uroepitelne stanice, a time i infekcija. Na tome se bazira antiadhezijska terapija. Antiadhezijska terapija ugljikohidratima je blaga i sigurna u usporedbi s kemoterapeutskim sredstvima. Ugljikohidrati su idealni za to jer izgleda da nisu toksični ni imunogeni, na njih se ne razvija rezistencija i mnogi od njih, koji su sposobni inhibirati bakterijsku adheziju, normalni su sastavni dijelovi staničnih površina ili tjelesnih tekućina.

D-manoza kao antiadhezijska terapija

FimH, adhezin koji je smješten na vrhu fimbrije ima vezno mjesto za ugljikohidrat D-manozu. Blokiranjem FimH-receptor interakcija pokazalo se da se time sprječava bakterijska adhezija na uroepitel mokraćnog mjehura, a time sprječava i upala. Najjače djeluju u blokiranju te interakcije D-manoza i derivati D-manoze. U kliničkim istraživanjima, D-manoza se pokazala kao uspješno sredstvo za profilaktičku primjenu kod žena koje su podložne rekurentnim nekomliciranim upalama mokraćnog mjehura. Uspješnost liječenja potvrđena je klinički smanjenjem simptoma, a bakteriološki smanjenjem bakteriurije i leukociturije kao osnovnih pokazatelja upale.

Zaključak

Vrsta *Escherichia coli* svakako je jedna od najrasprostranjenijih bakterijskih vrsta. O njenoj važnosti svjedoči i činjenica da je jedan od prvih organizama čiji je genom u potpunosti sekvencioniran. Osim što je poslužila, i još uvijek služi, kao model nebrojenim mikrobiološkim ispitivanjima, ona je i simbiotski stanovnik ljudskih i životinjskih crijeva, gdje omogućuje normalnu probavu i funkcioniranje organizma. Ipak, *E. coli* uzročnik je i brojnih infekcija - enterokolitisa praćenih obilnim proljevom, cistitisa, pijelonefritisa, neonatalnog meningitisa, sepse i dr. Soj *E. coli* koji je uzročnik infekcija urinarnoga trakta tzv. uropatogene *E. coli* (UPEC), osobito je dovitljiv u izbjegavanju obrambenih mehanizama našega organizma. Razvijeni i raznoliki čimbenici virulencije omogućuju joj kolonizaciju i preživljavanje u inače nepovoljnom i nutrijentima oskudnom okolišu mokraćnoga sustava. Koristeći specifične adhezivne organele, fimbrije za pričvršćivanje uz stanice domaćina i invaziju, siderofore kako bi dobavila dovoljne količine željeza i različite toksine kako bi pribavila nutrijente i modificirala svoj biokemijski okoliš, UPEC predstavlja i izazov za ciljanu terapiju, u slučaju težih i rekurentnih infekcija. Detaljno i jasno razumijevanje mehanizama uspostavljanja infekcije i održavanja iste možda će omogućiti razvoj novih pristupa terapiji, pa čak i onih individualnih, prilagođenih samom domaćinu i specifičnom tipu UPEC koji je izazvao bolest.

Literatura

T.J. Wiles, R.R. Kulesus, M.A. Mulvey. Origins and Virulence Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli*. *Exp Mol Pathol* 2008;85:11–9.

B.K. Dhakal, R.R. Kulesus, M.A. Mulvey. Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*, *Eu J Clin Invest* 38.

V. Škerk. Infekcije mokraćnog sustava - novosti u patogenezi i liječenju. *MEDICUS* 2003. Vol. 12, No. 2.

G. Tešović, D. Batinić. Infekcije mokraćnog sustava u djece. *MEDICUS* 2006. Vol. 15, No. 2.

J. Vraneš, V. Leskovar. Značenje nastanka mikrobnog biofilma u patogenezi i liječenju kroničnih infekcija. *Medicinski Glasnik*, Volumen 6, Number 2, August 2009

6. PRIONI I PRIONSKE BOLESTI

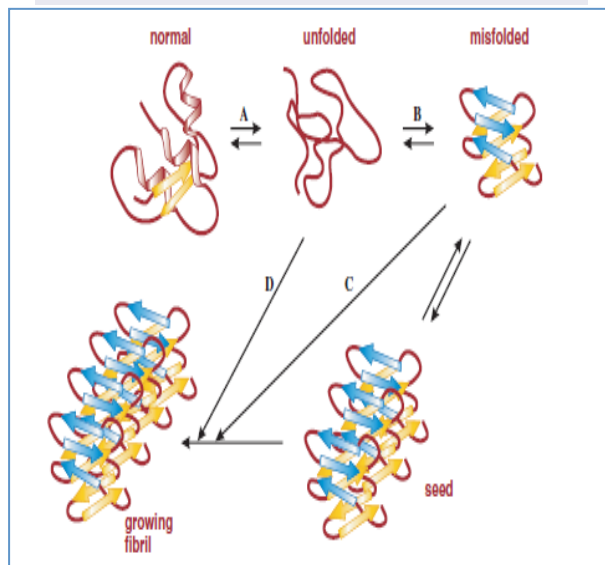
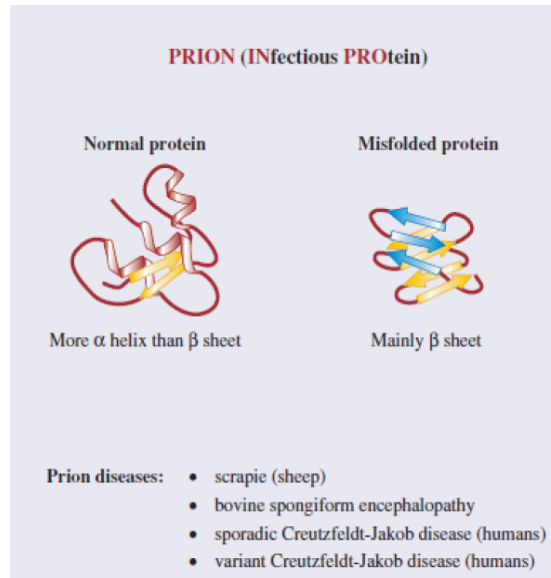
Prionske bolesti (vidi tablicu), poznate kao prenosive spongiformne encefalopatije (engl. *transmissible spongiform encephalopathies*, TSEs), obuhvaćaju skupinu subakutnih degenerativnih bolesti mozga karakteriziranih dugom inkubacijom (i do nekoliko godina) i letalnim ishodom. Uzrokovane su nekonvencionalnim filtrabilnim česticama, prionima. Stanica nositelj sadrži **prion protein gen** (PRNP gen) koji kodira sintezu staničnog prionskog proteina (**PrP^C**) prisutnog u stanicama gotovo svih sisavaca, uključujući i čovjeka. PrP^C je solubilna protein osjetljiv na proteinazu i nalazi se na citoplazmatskoj membrani zdrave stanice. Do pojave bolesti dolazi kada „normalni“ prion prelazi u „patološki“ prion, **PrP^{Sc}** (engl. *scrapie associated prion protein*) koji je **neosjetljiv na razgradnju proteinazom** (nagomilavanje abnormalne izoforme staničnog proteina u endosomima i lizosomima). U laboratorijskim istraživanjima bolesti su prenosive na životinje inokulacijom, obično intracerebralno ili oralnom ingestijom hrane. Kod čovjeka prionske bolesti nastaju sporadično, mogu biti nasljedne ili stečene. Ove bolesti ne izazivaju imunološki odgovor stoga za sada ne postoje serološke reakcije za dokaz infekcije. Histološki, bolesti iz ove skupine karakterizirane su **vakuolarnom degeneracijom u središnjem živčanom sustavu (SŽS)**. **Prioni se bitno razlikuju od virusa; otpori su na visoke temperature, UV-zračenje i na standardna dezinfekcijska sredstva, nije dokazan prisutnost nukleinskih kiselina (DNA ili RNA), molekularna masa prionske čestice je 30-50 kD i veličina joj je 4-6 nanometara.**

Prionske bolesti

Disease	Affected Species
Kuru	
Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)	
sporadic Creutzfeldt-Jakob disease (sCJD)	
iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease (iCJD)	
variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD)	<i>Human</i>
familial Creutzfeldt-Jakob disease (fCJD)	
Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome (GSS)	
Fatal familial insomnia (FFI)	
Scrapie	<i>sheep, goat</i>
Bovine spongiform encephalopathy (BSE)	<i>cattle</i>
Chronic wasting disease (CWD)	<i>elk, mule deer, moose</i>
Feline spongiform encephalopathy (FSE)	<i>cat</i>

Prionski gen i protein

Riječ prion skraćenica je izvedena iz engleskog naziva "*proteinaceous infectious particle*" ili hrvatski rečeno: proteinska zarazna čestica. Prionski protein ili PrP, predstavlja proizvod prionskog gena PRNP. Razlikuju se dva tipa ovog proteina (vidi sliku) koje kodira isti gen (PRNP): stanično prionsko protein, **PrP^C** (engl. *prion protein of the cell*) koji predstavlja normalan, prirodan oblik ovog proteina prisutan u brojnim stanicama, vezan za vanjsku stranu njihove membrane glikofosfatidilinozitolnim sidrom i patološki prionsko protein, **PrP^{Sc}** (engl. *prion protein scrapie*), koji uzrokuje prionske bolesti i pretpostavlja se da nastaje transformacijom staničnog prionskog proteina. PrP^{Sc} ne izaziva uvijek kliničke simptome bolesti, stoga je PrP^{Sc} koji uzrokuje kliničke simptome bolesti označen kao **PrP^D** (engl. "*disease prion*"). Primarni slijed aminokiselina je identičan u obje izoforme, PrP^{Sc} i PrP^C, međutim imaju različitu sekundarnu i tercijarnu strukturu koja im daje različita biokemijska i biofizikalna svojstva (vidi tablicu).



Struktura prionskog proteina

Model stvaranja patološkog priona

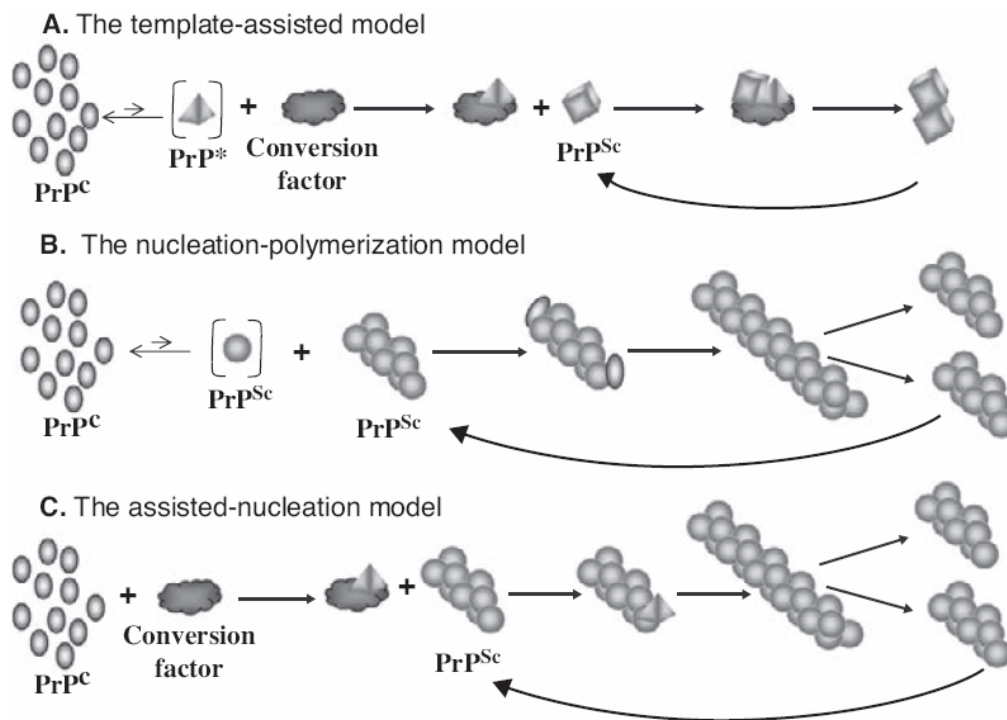
PrP^C ima 43% α -uzvojnici i 3% β -nabranu ploču, a PrP^{Sc} ima 30% α -uzvojnici i 43% β -nabranu ploču. Iako su svojstva poznata od početka istraživanja razlika u strukturi otkrivena je kasnije. Danas se još uvijek ne zna kako oblik djeluje na funkciju, jer ni sama funkcija nije jasna. No, zna se da je β -nabrana ploča dio zarazne čestice.

Tablica: Svojstva PrP^C i PrP^{Sc}

Osobina	PrP ^C	PrP ^{Sc}
otpornost prema proteinazi K	neotporan	otporan
topljivost u neionskim detergentima	topljiv	netopljiv
sposobnost agregacije	ne	da (fibrili)
vezanost za GPI-sidro*	da	ne
neurotoksičnost	ne	da

*GPI - glikofosfatidilinozitolno sidro

Eksperimentalnim uklanjanjem gena za PrP je utvrđeno da PrP^C ima ulogu u razvoju infekcije. Životinje kojima je eksperimentalno uklonjen taj gen nisu oboljele od prionske bolesti i nisu mogle stvoriti novu infektivnu česticu. Isto tako tijekom vremena inkubacije nakon izlaganja infektivnom proteinu došlo je do porasta PrP^{Sc} što sugerira da je došlo do konformacijske promijene endogenog PrP^C u PrP^{Sc}. Transformacija PrP^C u PrP^{Sc} je oblik lančane reakcije u kojem se infektivni prion (PrP^{Sc}) veže za stanični prion (PrP^C) i stvara heterodimer (sadrži po jedan molekul PrP^C i PrP^{Sc}), heterodimer se pretvara u homodimer (2 molekula PrP^{Sc}) te dolazi do eksponencijalan rast broja molekula patološkog prionskog proteina. Precizni molekularni mehanizmi konvertaze PrP^C u PrP^{Sc} su nepoznati, međutim predloženo je nekoliko modela.



Model konvertaze PrP^C u PrP^{Sc}

Povijest

Scrapie, bolest ovaca i koza, poznata je već 200 godina pod raznim imenima ("rubbers", "rickets", "goggles", "shakings", "shrewcroft" u Engleskoj; "scratchie", "cuddie trot" u Škotskoj; "der Trab", "der Traberkrankheit", "die Zitterkrankheit" u Njemačkoj; "la maladie convulsive", "la maladie folle", "le tremblante", "la prurigo lombaire" u Francuskoj; i "trzęsawka" u Poljskoj). Scarpie je prvi put prijavljen 1732. kod Španjolskih merino ovaca. Uvozom merino ovaca iz Španjolske scarpie je uveden u mnoga stada ovaca Ujedinjenog Kraljestva (U.K.) i kontinentalne Europe (1779. u Njemačkoj i 1810. u Francuskoj). Poslije Drugog svjetskog rata bolest se proširila i izvan Europe – u Indiju, Afriku, obje Amerike, a povremeno je ima i u Australiji i Novom Zelandu. Najranija znanstvena publikacija objavljena je 1788. u *The Agricultural Improvement Society at Bath* (kasnije *Bath and West Society*), autor nepoznat. Besnoit je 1899. prvi pretpostavio da scarpie ima virusnu etiologiju, dok je prenosivost dokazana 1930. prvobitnim pokusima (Cuille i Chelle) i potvrđena 1938. eksperimentom na 687 ovaca (oko 200 oboljelih ovaca) korištenjem Loupinga (infektivni encefalitis ovaca) ili vakcina baziranih na formalin-fiksiranim mozgovima ovaca (W.S. Gordon, Moredun Institute in Edinburgh, Scotland). Unatoč opsežnim istraživanjima, uzrok bolesti još je nepoznat (utvrđeno je da je riječ o čestici koja prolazi kroz ultrafilter, 30 nanometara i koja je visoko hidrofobna).

Kuru (encefalopatija) su prvi put opisali 1957. D. Carleton Gajdusek (virolog i pedijatar) i Vin Zigas (litvanski liječnik). Utvrđena je među urođeničkim plemenima (pleme Fore) Nove Gvineje u kojih je postojao običaj ritualnog kanibalizma, i to uglavnom u žena i djece jer su oni jeli mozak pokojnika (bolest izostaju kod kanibalističkog plemena Ku Ku Ku Ku, Anga, koje ne jede mozak). Obredni kanibalizam prestaje godine 1950. te je danas ta bolest rijetka i incidencija se kreće do deset oboljelih na godinu. **Smatra se da je uzrokovana prionima, odnosno filtrabilnim, samoreplicirajućim agensom koji se eksperimentalno može prenijeti na primata i druge životinje.** Spongiformna encefalopatija jelena poznata pod nazivom „*chronic wasting disease*“ (CWD) tvrđena je 1967. u državi Colorado kod jelena i elka. Uzročnik je sličan uzročniku bolesti scarpie ovaca, nema dokaza da je hrana izvor infekcije. Stanley B. Prusiner je 1982. postavio prionsku hipotezu koja je duboko ukorijenjena u povezanosti između prionskog proteina (PrP) i infekcije. Teorija o prionima nastala je kad se pokušala objasniti velika otpornost uzročnika Creutzfeld-Jacobove bolesti (CJD) na ultraljubičaste zrake (nukleinske kiseline se pod utjecajem UV-zraka degradiraju) i reakcija na tvari koje razgrađuju bjelančevine. Preokret u istraživanju dogodio se kad su otkrivene proteinske čestice „*protease-resistant protein*“ PrP, otporne na proteazu - enzim koji cijepa proteine po peptidnim vezama na aminokiseline ili proteolizu. Otkriveno je da zaraženo tkivo ovaca koje su oboljele od scrapia (tzv. grebež ovaca je letalna, kronična prionska bolest ovaca i koza) sadrži dvije vrste PrP: normalni stanični protein PrP^C i abnormalnu formu PrP^{SC}. To je pomoglo Prusineru da dovrši postavljenu teoriju pa PrP^{SC} naziva **PRION** („*proteinaceous infectious particle*“). Za otkriće priona (novog biološkog principa infekcije) je 1997. godine dobio Nobelovu nagradu za fiziologiju i medicinu.

Goveđa spongiformna encefalopatija (GSE) prvi put se javlja 1985. u Engleskoj. Epizootiološkom anamnezom je utvrđeno da su sve oboljele životinje hranjene peletama za telad u dobi od 1. do 3. mjeseca. Pelete su, uz ostale uobičajene sastojke, sadržavale mesno i koštano brašno porijeklom od ovaca, često i od ovaca uginulih od scarpie. Na temelju epizootioloških spoznaja, kliničke slike, a osobito histopatološkog nalaza, bolest je dovedena u izravnu vezu scarpie u ovaca. Od srpnja 1988. zabranjena je uporaba mesnog i koštanog brašna porijeklom od preživača za hranu preživačima. Od 1990. u U.K. je od spongiformne encefalopatije oboljelo i nekoliko mačaka.

Prionske bolesti čovjeka

Za prione se vezuju neka vrlo teška oboljenja živčanog sustava, koja se ubrajaju u skupinu prijenosnih neurodegenerativnih bolesti, TSE.

Transmissible spongiform encephalopathies, TSEs

Human TSE	First Reported
Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD): ¹	
Sporadic (85-90%)	1921
Familial (5-10%)	1924
Iatrogenic (<5%)	1974
Variant (vCJD)	1996
Gerstmann-Sträussler-Scheinker Syndrome (GSS)	1936
Kuru	1957
Fatal Insomnia	
Familial	1986
Sporadic	1999

Creutzfeldt-Jakobova bolest, CJB (CJD)

Creutzfeldt-Jakobova bolest u ljudi je sporo progredirajuća bolest središnjeg živčanog sustava, koja se očituje kao subakutna presenilna demencija i ima letalan ishod. Zabilježena je u svim zemljama svijeta s prosječnom godišnjom stopom smrtnosti od oko 0,51 na 100 000 stanovnika. Postoje dva oblika bolesti: klasična CJB prvi put opisana 1920. i varijanta CJB opisana početkom 1980-e. Rezervoar i izvor zaraze jesu čovjek i njegovo tkivo, a za novu varijantu CJB-a vjerojatno govedo oboljelo od spongiformnu encefalopatiju goveda. Klasična CJB se javlja u tri oblika : **sporadični, familijarni i iatrogeni**. Pojavljuje se nakon 60-e godine života i vrijeme inkubacije je oko 20 godina (14 godina kod iatrogenih infekcija). **Kliničku sliku karakterizira trajni gubitak intelektualne sposobnosti, depresija, gubitak apetita, demencija, ataksija, mišićna distrofija, a u kasnoj fazi paraliza**. Bolesnici umiru 4 do 6 mjeseci od pojave simptoma. Sporadična oblik CJB je najčešći i čini 85-90 % slučajeva CJB. Uzrok sporadične CJB zasada je nejasan, pojavljuje se u zemljama kojima nikada nije zabilježen ni jedan slučaj BSE-a (engl. „*bovine spongiform encephalopathy*“). Familijarni oblik CJB se nasljeđuje autosomno-dominantnim načinom, a povezan je s točkastim mutacijama u kodonima (najčešće 200 ili 178) ili insercijama u PRNP genu. Čini 5-10 % od svih slučajeva CJB-a. Iatrogeni oblik CJB-a povezan je s primjenom humanih materijala i krvnih preparata dobivenih frakcioniranjem plazme (prenosi se interhumano različitim dijagnostičkim i terapijskim postupcima). Bolest je relativno rijetka, brzo progredira i smrt nastupa unutar 3-12 mjeseci. Varijanta CJB-a (vCJB) prvi je put zabilježena 1996.godine. Pojavila se u Velikoj Britaniji, no bilo je nekoliko slučajeva u Italiji, Francuskoj i Irskoj. Povezuje se uz spongiformnu encefalopatiju goveda (BSE), a nastaje kada osoba pojede govedinu zaraženu s BSE-om. Uglavnom pogađa mlađe osobe, u prosječnoj dobi od 29 godina. Razlika između vCJB i klasičnog oblika CJB-a jest u promijeni psihijatrijskih simptoma u početku kliničke slike, trajanju bolesti do dvije godine i odsutnosti mutacije na PRNP genu.

Dijagnoza

Dijagnoza se postavlja na temelju epidemioloških podataka, kliničke slike, laboratorijske analize urina (prisutan PrP^{Sc}) i seruma (prisutan plazmogen koji veže PrP^{Sc}), elektroencefalograma, CT-a, MR-a, analize cerebrospinalne tekućine i definitivna dijagnoza se postavlja postmortalno (neuropatološki nalaz i identifikacija PrP^{Sc} u uzorku mozga i tonzila).

Prevenција

S obzirom na životinje u zemljama gdje je utvrđen BSE, obavezno je :

- prijaviti svaki slučaj bolesti i sumnju na bolest
- zabranjeno je hraniti preživače proteinima podrijetlom od preživača
- zabranjena je uporaba mlijeka zaraženih životinja
- zabranjeno je za ljudsku prehranu rabiti mozak, kralježničnu moždinu, mozak, slezenu, timus, tonzile i crijeva svih goveda
- pri sumnji na bolest zabranjena je pomoć pri teljenju ili obavljanju carskog reza

Otkrićem priona u krvi ljudi te postojanjem ijtrogenog oblika bolesti, kao i unosom goveđeg priona u ljude (**vCJB**) osobitu pozornost treba usmjeriti na sterilizaciju medinskih instrumenata (**autoklaviranje na temperaturi 136-138°C u kombinaciji s NaOH**) i pribora. Zbog otpornosti i otežane inaktivacije priona nastojati što više upotrebljavati instrumente za jednokratnu upotrebu. Preporuka SZO je da se u proizvodnji lijekova, imunobioloških preparata i kozmetičkih proizvoda ne rabe bilo kakvi sastojci porijeklom od goveda. Ministarstvo zdravstva RH je 21. prosinca 2000. donijelo pismenu uputu transfuzijskoj službi o zabrani uzimanja i prerade krvi od osoba koje su se svojim boravkom duljim od šest mjeseci u području s visokom incidencijom vCJB mogle izložiti toj zarazi. Isto tako izdvajanje davatelja krvi s višim rizikom od CJB-a temeljem anamneze i statusa (sve osobe koje su do sada liječene ljudskim hormonima priređenim iz hipofize umrlih osoba, osobe koje u obiteljskoj anamnezi imaju CJB te osobe kojima je presađena tvrda moždana ovojnica). Isto tako donesena je Naredba o zabrani uvoza u RH tkiva visokog rizika, krmiva animalnog podrijetla i gotove stočne hrane koja sadrži krmiva animalnog podrijetla (NN,127/2000.), kao i zabrana uvoza u RH te provoza preko RH goveda i krmiva animalnog podrijetla iz zemalja s utvrđenom zarazom BSE (NN, 120/2000.).

Suzbijanje

U RH obavezno je prijavljivanje CJB-a (NN, br.126/2000.). U slučaju bolesti i smrti od ove bolesti potrebno je provoditi dezinfekciju u tijeku i završnu sterilizaciju; sve biološke materijale bolesnika, kiruršku opremu i sekrete iz rane inaktivirati autoklaviranjem (vodena para uz temperaturu 136-138°C ijeikom jednog sata uz dodatak NaOH). Kod životinja svaku sumnju na BSE treba prijaviti Veterinarskom zavodu, a u slučaju pojave bolesti postupiti prema Pravilniku o mjerama za otkrivanje, suzbijanje i niskorjenjavanje BSE.

Gerstmann – Sträussler – Scheinkerov sindrom, GSS

GSS je krajnje rijetka neurodegenerativna bolest koja je do danas pogodila nekoliko obitelji (do 2000. otkriveno je 50 obitelji). Riječ je o nasljednoj bolesti (vjeruje se da je varijanta genskog oblika CJB), simptomi se razvijaju u četrdesetoj godini života. Smrt nastupa 2 do 10 godina nakon pojave prvih simptoma. U kliničkoj slici u tipičnim slučajevima dominiraju cerebralni simptomi s demencijom koja se nastavlja oštećenjem inteligencije, gubitkom pamćenja, gubitkom koncentracije i kognitivnih sposobnosti. Bolest se očituje kroz ataksiju koja s vremenom prelazi u potpuno oduzetost, neorijentiranost, slabost pri hodu. Nadalje, ataksija prelazi u potpunu oduzetost. Laboratorijske pretrage u postavljanju dijagnoze pomažu ukoliko isključuju ostale slične bolesti. Definitivna dijagnoza zahtijeva histološku pretragu mozga. Slično ostalim prionskim bolestima, GGS sindrom može biti prenesen na životinje (eksperimentalno) inokulacijom malih količina mozga inficiranih (umrlih) ljudi. Liječenjem GSS-a najviše se bavi National institute for neurological diseases and stroke-NINDS. Za sada, kao i kod svih ostalih TSE-a, nema većih uspjeha.

Fatalna obiteljska nesanica, FFI

FFI je posljedica mutacije gena za sintezu PrP-a koja se nasljeđuje kao i svaka mutacija. Mutacija na genu za sintezu PrP-u događa se na 178 kodonu. Točnije kod zdravog PrP-a na 178. mjestu nalazi se asparagin, a kod bolesnog asparaginska kiselina. Ova je bolest dominantna i autosomna, znači napada oba spola jednako i nemoguće ju je spriječiti. Bolest napada područje koje upravlja spavanjem – talamus, odnosno, mutacije PrP-a događaju se u stijenkama stanica talamusa. Bolest se može prepoznati tek u srednjoj dobi i to najčešće nakon što su osobe imale potomaka i bolest se vjerojatno već prenijela. Zato je iznimno važna genetska terapija i rano otkrivanje bolesti da se spriječi njezino širenje. Bolest nastupa u 4 razine. Prva se razina koja traje oko četiri mjeseca može

prepoznati po psihičkim problemima poput paranoje i bizarnih fobija. Druga razina u trajanju od oko pet mjeseci, uključuje halucinacije, paranoju, povećano znojenje i razdražljivost. Treća razina koja traje oko tri mjeseca očituje se kroz potpunu nesanicu i gubitak tjelesne mase. Na četvrtoj razini koja može potrajati i šest mjeseci, a potpuna nesanica još traje, uočena je demencija. Prije smrti koja nastupa naglo oboljeloga zahvaća motorna afazija.

Prionske bolesti životinja

Prionske bolesti opisane kod životinja su:

- kravlje ludilo ili točnije spongiformna encefalopatija goveda, GSE (lat. *bovine spongiform encephalopathy*, BSE)
- spongiformna encefalopatija jelena (engl. *chronic wasting disease*, CWD), oboljevaju kanadski jelen i los
- scrapie : kod ovaca, koza, muflona
- feline spongiformna encefalopatija kod mačaka mačaka

Prionske bolesti životinja slične su kao i one u ljudi. Razlika je u tome što životinjske bolesti utječu i na društvo. Kada se negdje u svijetu otkrije samo jedan slučaj kravljeg ludila cijeli svijet zabrani uvoz stoke iz te države. To ostavlja trag na svjetsku ekonomiju. U svim većim državama, poput SAD-a i Ujedinjenog Kraljevstva te Australije i Novog Zelanda, rade instituti koji istražuju kontrolu i prevenciju scrapiea, kravljeg ludila ili pak CWD-a, bolesti koja napada losove i jelene. Zaražene životinje se odstranjuju da ne prenesu bolest. Rezervoari prionskih bolesti u prirodi su inficirane životinje. Prionske bolesti mogu se prenesti između životinja istih i različitih vrsta, zatim sa životinje na čovjeka, kao i sa čovjeka na čovjeka (kanibalizam, presađivanje rožnice itd). Horizontalni prijenos infekcije kod životinja je primarni, a još uvijek se sa sigurnošću ne može dokazati vertikalni prenos oboljenja iako postoje neki podaci. Unutar jedinki iste vrste prioni se lako prenose dok se na jedinke druge vrste znatno teže prenose i za umnožavanje priona u drugoj vrsti potrebno je prisustvo proteina nazvanog protein X. Kod životinja se infekcija prenosi direktnim kontaktom (peroralno i preko povrijeđene kože) i indirektno preko sekundarnih izvora zaraze (pašnjaci, mesno koštano brašno i dr.). Pajnjaci se kontaminiraju putem tjelesnih sekreta inficiranih životinja i putem tkiva placentae. S obzirom da je uzročnik veoma otporan pajnjaci mogu ostati kontaminirani par godina nakon prestanka ispaše.

Goveđa spongiformna encefalopatija, GSE (BSE)

Goveđa spongiformna encefalopatija (GSE) neurološka je bolest odraslih životinja. Očituje se progredirajućim promjenama u ponašanju i kretanju. Klinička bolest počinje nakon dugotrajne inkubacije (mjesecima i godinama), obično traje više tjedana i završava smrću. Mikroskopske promjene u SZS-u očituju se bilateralno simetričnom neupalom vakuolizacijom živčanih perikariona i

neuropila sive supstancije. U ekstraktima mozga bolesne krave nalaze se neprirodne fibrile, slične kao i kod scrapie ovaca (tzv. SAF = engl. *scrapie-associated fibrils*). One potječu od normalna domaćinova proteina, PrP, koji je prošao normalnu (posttranskripcijsku) modifikaciju. modifikirani Prp je molekula identificirana u pripravcima koji imaju visoku infektivnost, pa je, prema hipotezi „prion“, moguće da je modifikirani PrP sam po sebi infektivan agens. Na europskom kontinentu se prvi put pojavljuje u studenom 1990. u Švicarskoj i to u krave koja je oteljena i othranjena u toj zemlji. Incidencija bolesti je najviša u krava od 4 i 5 godina. najstarija do sada oboljela krava imala je 15 godina, a najmlađa 22 mjeseca. Dobna incidencija je uvjetovana dugotrajnom inkubacijom (od 2.5 do 8 godina) , a ujedno upozorava da je većina oboljelih životinja izložena uzročniku u prvoj godini života. Utvrđeno je da bolest nije vazana uz stadij zrelosti, godišnje doba, pasminu, nije nasljedna te da genetska različitost domaćina nema posebno značenje.

Diferencijalna dijagnostika

Postavlja se terapijsko dijagnostičkim metodama (bakteriološke metode – listerioza, imunoflorescentna pretraga mozga – bjesnoća, neprimjena $MgSO_4$ – hipomagnezija itd.) možemo razlučiti stanja s sličnom kliničkom slikom od GSE, za koji nema djelotvorna lijeka. Za sada ne postoje laboratorijski testovi kojima bi se moglo potvrditi bolest na živoj životinji. U uporabi su brzi laboratorijski testovi moždanog tkiva kao koji se koriste kao probirna metoda. Bolesti je moguće potvrditi samo nakon provedene postmortalne pretraga mozga životinje koja se mora obaviti u skladu s **Pravilnikom za sprječavanje pojave, kontrolu i iskorjenjivanje određenih transmisivnih spongiformnih encefalopatija** („Narodne novine“, broj 85- /2009). Propisani priznati test za potvrdu bolesti je imunohistokemijska pretraga kojom se može utvrditi prisutnost prionskih proteina u moždanom tkivu sumnjivog goveda.

Prevenција

Zemlje u kojima nema GSE pokušavaju se zaštititi zabranom uvoza živih životinja ili kontaminirane hrane iz zemalja u kojima bolesti ima. Za sada to je jedino Velika Britanija, u kojoj je epizootija do kraja 1991. odnijela 48 069 grla stoke. Budući da je jedini poznati izvor infekcije hrana koja sadrži mesno i koštano brašno, donesena je zabrana o umotremi krmiva animalnog porijekla. Sve oboljele životinje treba neškodljivo ukloniti zakopavanjem ili spaljivanjem. U Republici Hrvatskoj je Naredbom o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2011. godini za GSE propisano slijedeće:

Na goveđu spongiformnu encefalopatiju (GSE) moraju biti pretražena sva goveda starija od 24 mjeseca :

- koja su zaklana iz nužde odnosno upućena na prisilno (hitno) klanje od strane veterinara nakon nesreće ili zbog ozbiljnih fizioloških ili funkcionalnih poremećaja, uključujući poremećaje središnjeg živčanog sustava;
- koja, pri ante mortem pregledu, pokazuju kliničke znakove zarazne bolesti ili znakove na temelju ili funkcionalne poremećaje, uključujući poremećaje središnjeg živčanog sustava.

sva goveda starija od 30 mjeseci:

- pri redovnom klanju za ljudsku prehranu;
- koja su zaklana u okviru programa iskorjenjivanja bolesti, a ne pokazuju kliničke znakove bolesti.

sva goveda starija od 24 mjeseca koja nisu zaklana za ljudsku prehranu (uginula stoka, engl. fallen stock), nego su:

- uginula ili usmrćena na gospodarstvu, osim goveda usmrćenih u okviru suzbijanja epidemije

odnosno iskorjenjivanja bolesti;

- uginula ili usmrćena tijekom prijevoza ili u klaonici.

Suzbijanje

Primjenjuju se metode prevencije i suzbijanja kao i kod njezinog ljudskog ekvivalenta Creutzfeldt – Jakobove bolesti. Budući da je utvrđeno interspecijsko prenošenje, zabranjeno je koristiti u prehrani mozak, leđnu moždinu, slezenu, timus tonzile i crijeva svih goveda koja se kolju u Ujedinjenom Kraljevstvu (izuzeta telad do 6 mjeseci). Smatra se da telad sigurno nije hranjena proteinskom hranom, a ako se bolest prenese i vertikalno (što nije dokazano), u toj životnoj dobi nema (analogno scrapie) ni u jednom tkivu infektivnog agensa.

Scrapie

Scrapie fatalna je kronična bolest ovaca i prigidice koza i muflona. Bolest počinje podmuklo, sporo progredira i završava smrću. Nakon inkubacije od više mjeseci do nekoliko godina (kod prirodne infekcije nema sigurnih podataka, eksperimentalno traje 4 mjeseca do dvije i više godina), pojavljuju se inkoordinacije, hiperestezija i svrbež po koži. Zbog propadanja središnjeg živčanog sustava životinje imaju stalni poriv za češanje. Ovce umiru u velikim mukama: zbog češanja opada im krzno, a grče se zbog propadanja mišića. Zanimljivo je da je za scrapie potrebna genetska sklonost. Dokazano je da su ovce, koje nose kodon za alanin na 136. mjestu i arginin na 171. mjestu, potpuno otporne na scrapie. Uzročnik još nije pouzdano dokazan. Scrapie se dijagnosticira na temelju kliničkog nalaza (svrbež i lokomotorni poremećaji), epizootioloških podataka, aprije svega na temelju histološke pretrage produžene moždine. Bolest se može pouzdano dijagnosticirati tzv. SAF (engl. *scrapie-associated fibrils*) u mozgovnom tkivu. Tkivo se dostavlja na pretragu smrznuto (-70°C). Dokaz SAF potvrđuje dijagnozu, ali je negativan nalaz ne isključuje. Početni rezultati postignuti tehnikom imunoblotinga govore da se može koristiti za dokazivanje PrP^{Sc}. Scrapie se preventira i uklanja upravnim mjerama. Ovce za rasplod treba nabavljati samo iz sigurno zdravih gojidaba. U enozootskim područjima jedina prava profilatička mjera sastoji se u striktnom provođenju prinudnih klanja svih ovaca u zaraženom stadu. Selekcijom pojedinih linija može se smanjiti vertikalno prenošenje, jer se genetski primljive ovce uklanjaju iz stada.⁹ Borba protiv scrapie ostvaruje se u četiri stupnja (osim naravno genetskog rata protiv scrapiea). Prvi stupanj je pronalazak zaraženih grla te kontrolirano klanje zaraženih životinja. Drugi stupanj je prepoznavanje zaraženih i nezaraženih životinja te odvajanje jednih od drugih. U trećem stupnju se ograničava kretanje zaraženih ovaca prije klanja. Posljednji stupanj je naobrazba veterinara i ovčara ne bi li znali prepoznati predznake te tako rano uočili bolest. Mjesto janjenja i svu opremu koja se pri tome koristi treba temeljito očistiti od organske tvari, a potom dezinficirati s 2% klorom ili 1M NaOH pri sobnoj temperaturi 30 minuta. No u terenskim uvjetima takav postupak ne daje pouzdan rezultat.

Suzbijanje

Iako je scarpie poznata već više od 250 godina, nema nikakva dokaza da ugrožava zdravlje čovjeka. Rezultati brojnih istraživanja govore da nema uzročne veze između scarpie i spongiformne encefalopatije čovjeka.

Spongiformna encefalopatija jelena, CWD

Spongiformna encefalopatija nalik bolesti scarpie utvrđena je u divljih preživača iz porodice *Cervidae*, držanih u ograđenim prostorima u Sjevernoj Americi. Bolest je nazvana „*chronic wasting disease*“ (CWD; engl. *waste* = slabiti, venuti), očituje se malim lezijama mozga koje rezultiraju gubitkom tjelesne mase i kondicije, promjenama u ponašanju i na kraju smrti. Bolest je dokazana u državama

Colorado i Wyoming (SAD) i u jednom zoološkom vrtu u Kanadi. Sve govori u prilog tome da je uzročnik sličan uzročniku bolesti scrapie ovaca. Može se prenijeti pokusnom infekcijom mozga oboljelog jelena u mozak američke vidrice, domaće lisice, majmuna squirrel (*Saimiri sciureus*), jelena i koze. Dijagnoza se postavlja postmortalno histološkom analizom mozga. Znanstvenici su, proučavajući CWD, zaključili da je ta bolest prijenosna samo između sobova i jelena. Do danas nije pronađen nijedan slučaj koji bi CWD povezao s ljudima. Za sada nije otkrivena nikakva genetska sklonost za bolest, tako da je odstrel bolesnih životinja još uvijek najbolje rješenje.

Prevenција

Uzgajalište jelena u kojima nema CWD-a treba štiti od ulaska dvakog jelena koji je bio u izravnom ili neizravnom dodiru s bolesnim životinjama. U zemljama gdje se scrapie pojavljuje enzootski ne smiju se zajedno s jelenima držati mufloni, domaće ovce i koze. također, u zemljama gdje je dokazan GSE jeleni se ne smiju hraniti proteinskom hranom porijeklom od preživača. Dosadašnji pokušaji eradikacije bolesti nisu zadovoljili.

Fenilna spongiformna encefalopatija mačaka

Bolest slična GSE (BSE), najvjerojatnije uzrokovana konzumacijom zaraženog goveđeg mesa. Pojavljuje se kod odraslih mačaka oko 5 godine života, progredira kroz duži period (promjenama u ponašanju, inkoordinacija pokreta) i završava smrću. Lešina se uklanja spaljivanjem, konačna dijagnoza se postavlja postmortalno histološki.

Detekcija prionske infekcije i PrP^{Sc}

Biological material	Prion strain/host species	Prion detection method	Disease status
Milk	scrapie/sheep	ovine bioassay	clinical
	scrapie/sheep	rodent bioassay	clinical/preclinical
	scrapie/sheep	sPMCA	clinical/preclinical
Feces	scrapie/hamster	CDI	clinical/preclinical
	scrapie/hamster	sPMCA	clinical
	CWD/deer	cervid bioassay	clinical/preclinical
	scrapie/sheep	sPMCA	clinical/preclinical
Urine	scrapie/mouse	rodent bioassay	clinical/preclinical
	scrapie/hamster	sPMCA	clinical
	scrapie/hamster	rodent bioassay	clinical
	scrapie/hamster	sPMCA	clinical
	CWD/deer	murine bioassay and sPMCA	clinical
Saliva	CWD/deer	cervid bioassay	clinical
	CWD/deer	cervid bioassay	preclinical
	CWD/deer	murine bioassay	clinical
	scrapie/sheep	sPMCA	preclinical
Nasal secretions	TME/hamster	rodent bioassay and QUIC ^a	clinical
Skin	BSE/kudu	rodent bioassay	clinical
	BSE/hamster	Western blot	clinical
	scrapie/hamster	Western blot	clinical/preclinical
	scrapie/sheep	Western blot	clinical
	vCJD/human	Western blot	clinical
	CWD/elk	rodent bioassay and sPMCA	clinical
Placenta	scrapie/sheep	sheep/goat bioassay	clinical
	scrapie/sheep	Western blot	preclinical
	scrapie/sheep	Western blot, IHC	clinical/preclinical
	scrapie/sheep	ELISA	preclinical

^aQUIC (Quake-induced Conversion) assay affords the high level in vitro amplification of PrP^{Sc}

Nova istraživanja u *in vivo* dijagnostici orjentirana su na mogućnost cikličke amplifikacije proteina (POMC) i konceptijski su analogna PCR metodi, a imaju za cilj da se male količine PrP^{Sc}, ukoliko postoje, umnože do detektibilne granice. Praktično, ukoliko se uzročnik nalazi u krvi u maloj nemjerljivoj količini, on bi ovim putem mogao biti umnožen i dijagnosticiran.

Zaključak

Za sada su prionske bolesti kobne i neizlječive. Treba shvatiti da prioni nisu dokazani uzročnici bolesti i da je njihova funkcija u organizmu nepoznata. Isto tako su nepoznati mehanizmi konverzije PrP^C u PrP^{Sc}, kao i mnoga pitanja vezanih uz etiologiju. Za sada u borbi protiv ovoga uzročnika ostaju samo mjere prevencije i suzbijanja, te osvještavanje i edukacija šire populacije osobiti visokorizičnih skupina koje dolaze u direktan i indirektan kontakt s oboljelim pojedincima i životinjama. „Drugim rječima, kada je osoba zdrava sve njene stanice sadrže PrP^C, a kada je bolesna PrP^{Sc}. Sve ostalo je “tajna.”

Literatura

Belay,E.D. i Schonberger,L.B. 2005. The public health impact of prion diseases, Annu. Rev. Public Health 26:191–212.

Ropac,D. i sur. 2003. Epidemiologija zaraznih bolesti. Medicinska naklada, Zagreb

Imran,M. i Mahmood,S. 2011. An overview of human prion diseases. Virology Journal 8: 559

Marković,D. i Marković,M. 2004. Prioni i prionske bolesti. Glas. pul. boln. 1: 5-11.

Ropac,D. i sur. 2010. Epidemiologija zaraznih bolesti. Medicinska naklada, Zagreb

Carter,J.B. i Saunders,V.A. 2007. Virology: Principles and applications, Wiley and Sons, England

Corsaro,A. i sur. 2012. Role of Prion Protein Aggregation in Neurotoxicity. Int. J. Mol. Sci. 13: 8648-8669.

Liberski,P.P. 2012. Historical overview of prion diseases: a view from afar. Folia Neuropathol 50 (1): 1-12.

Cvetinić,S. 2005. Virusne bolesti životinja. HAZU i Školska knjiga, Zagreb

Lee,J. i sur. 2013. Prion diseases as transmissible zoonotic diseases. Osong Public Health Res Perspect. 4(1): 57–66.

Soto,C. 2006. Prions: The new biology of proteins. Taylor & Francis Group, N.Y.

http://www.who.int/csr/resources/publications/bse/WHO_CDS_CSRAPH_2000_3/en/

Aleksić-Kovačević,S. i sur. 2003 .Metode dijagnostike TSE. Tehnologija mesa 44 (3-4): 145-148.

Gough.K.C. i Maddison,B.C. 2010. Prion transmission. Prion 4(4): 275-282.

http://www.hah.hr/zoonoze_Goveda_spongiformna_encefalopatija.php

7. PARAZITARNE INFEKCIJE (INFESTACIJE)

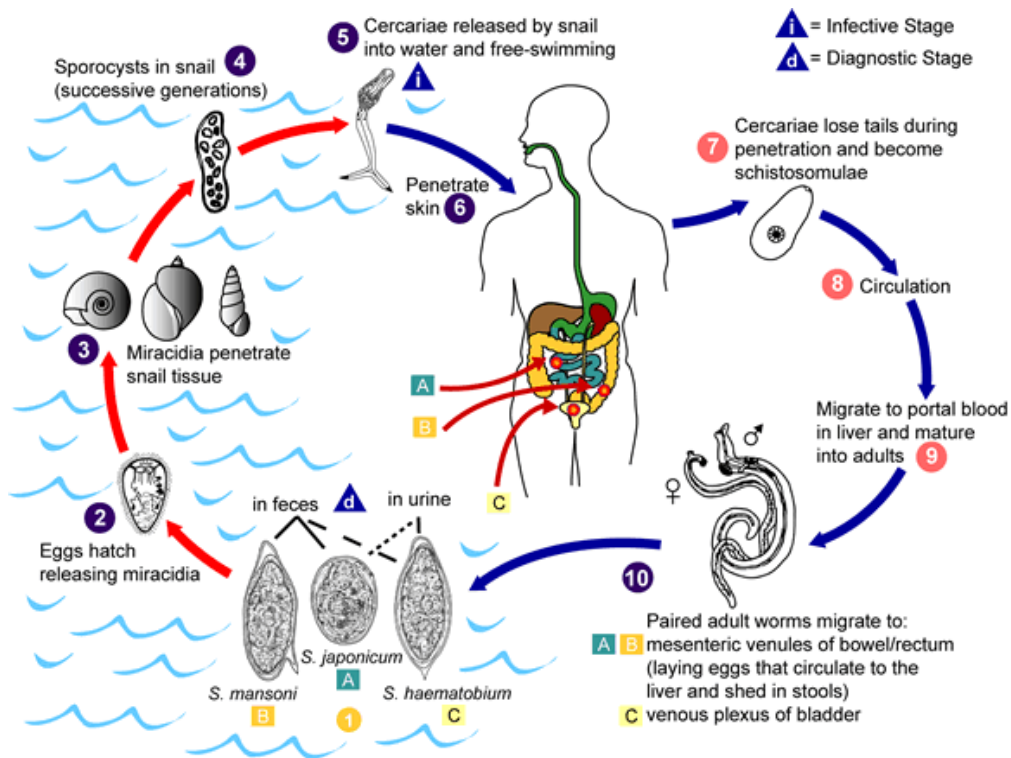
Helmintoze

Helmintoze su infekcije što ih uzrokuju vrste koje žive kao paraziti u ljudskom ili životinjskom organizmu. Na temelju današnje sistematizacije crvi se dijele na dva koljena: **Platyhelminthes (plosnati crvi; metilji i trakavice) te Nematoda (valjkasti crvi; oblići)**. Kako se većinom radi o endoparazitima, imaju kutikulu koja je otporna na probavne sokove i obrambene mehanizem domaćina, a katkad služi i kao prehrambeni organ. Razvoj parazita ide preko ličinačkog stadija koji se razvija ili u slobodnoj prirodi ili u drugom nosiocu. U svojem metabolizmu koriste ugljikohidrate i kisik, ako im je dostupan, inače žive anaerobno. Helminti najčešće parazitiraju u probavnom traktu, ali i u drugim tjelesnim šupljinama, tkivima i u krvi. Uništavajući tkivo i organe u kojima se nalaze, uzrokuju bol u abdomenu, crijevne smjetnje, anemiju te čireve gastrointestinalnog trakta. Organizam se brani upalnom reakcijom. Dolazi do reakcije na metabolite parazita kao antigene razvijajući specifična antitijela IgE. Većina parazita ima složeni razvojni ciklus, čime se se izbjegava imunosna reakcija domaćina. Na taj način je helmintes dobro prilagođen domaćinu, čime ne izaziva veće tegobe, jer bi smrt domaćina nužno dovela do smrti parazita. U krvnoj slici razvija se **eoziñofilija**, koja ima svoju dinamiku. Teška ili kronična infekcija može dovesti do smrti, ako terapija nije primjenjena na vrijeme. Temeljni put prijenosa helminata je fekalno-oralni. Mogu biti uneseni hranom i vodom, a katkad aktivno prodiru kroz kožu domaćina. Paraziti koji obitavaju u krvi nužno trebaju za svoj prijenos hematofagnog insekta. Stoga je rasprostranjenost različita. Oni koji se prenose nečistim rukama bit će široko rasprostranjeni u područjima s niskim higijenskim navikama i standardom. Helminti koji za svoj razvoj trebaju određene ekološke uvjete u slobodnoj prirodi bit će rasprostranjeni tamo gdje su ti uvjeti zadovoljeni ili gdje postoji specifični vektor.

Četiri najčešće vrste koje izazivaju infekciju kod ljudi su: ***Ascaris lumbricoides* (dječja glista), *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* te *Trichuris trichuris***. Prema podacima više od 3,5 biliona ljudi je zaraženo nekom vrstom helmintoze. Iako su analize pokazale da su sve dobne skupine pogođene, najčešće oboljevaju djeca predškolske i školske dobi te djevojke pubertetske dobi. Suzbijanje helmintoza ovisi o vrsti parazita i načinu njihova prijenosa. Prijenos parazita nečistim rukama može se spriječiti higijenskim mjerama i zdravstvenim odgojem stanovništva. Prijenos parazita vektorom suzbija se prekidom transmisije. Značajna je mjera i sustavni liječenje zaraženih domaćina antihelminticima.

ŠISTOSOMIJAZA (schistosomiasis, bilharziasis)

Šistosomijaza je tropska bolest uzrokovana parazitom iz roda *Schistosoma*. Parazit obitava u velikim venama pretežno u trbušnim organima i maloj zdjelici (mezenterične i visceralne vene). Simptomi ovise o broju i lokalizaciji parazita u čovjeka. Na čovjeka su se prilagodile tri vrste: *Schistosoma haematobium* (uzročnik urinarne šistosomijaze, rasprostranjen u Africi), *S. mansoni* (uzročnik intestinalne šistosomijaze u tropskim područjima Afrike i Južne Amerike) i *S. japonicum* (uzročnik japanske ili dalekoistočne šistosomijaze).



Životni ciklus *Schistosoma* sp.

Odrasli oblici su bijele do sivkaste boje, dužine 7-20 mm. Za razliku od ostalih trematoda, kod njih imamo spolni dimorfizam. Ženka je duža i tanja od mužjaka. Dnevno proizvede od nekoliko stotina do nekoliko tisuća jaja, unutar kojih se nalazi trepetiljkava ličinka miracidij. Jaja se izbacuju urinom ili fecesom, gdje mogu preživjeti i do 7 dana. Kada dospiju u vodu, iz jaja se oslobađa miracidij, koji pronalazi međudomaćina puža iz roda *Bulinus*. U pužu se višestruko umnoži aseksualno u mnogostaničnu sporocistu. Iz sporociste se razvija ličinka cercarija, karakteristična po svom dvorašljastom repu. Cercarije napuštaju puža 4-6 tjedana nakon infekcije, plivajući slobodno u vodi i tražeći novog domaćina. Jedan puž, zaražen miracidijama, može dnevno oslobađati tisuće cercarija i do nekoliko mjeseci. Ukoliko u roku od 72 sata pronađu odgovarajućeg domaćina, probijaju kožu i migriraju krvotokom do pluća i jetre, gdje se razvijaju u mlade crve (šizosomule). Nakon 4-6 tjedana one sazrijevaju u portalnoj veni, pare se i migriraju u mezenteričnu ili visceralnu venu, gdje ciklus ponovo počinje. Životni vijek odrasle jedinice procjenjuje se na 3-5 godina, ali mogu živjeti i do 30 godina.



a) *S. mansoni* b) *S. haematobium* c) *S. japonicum*

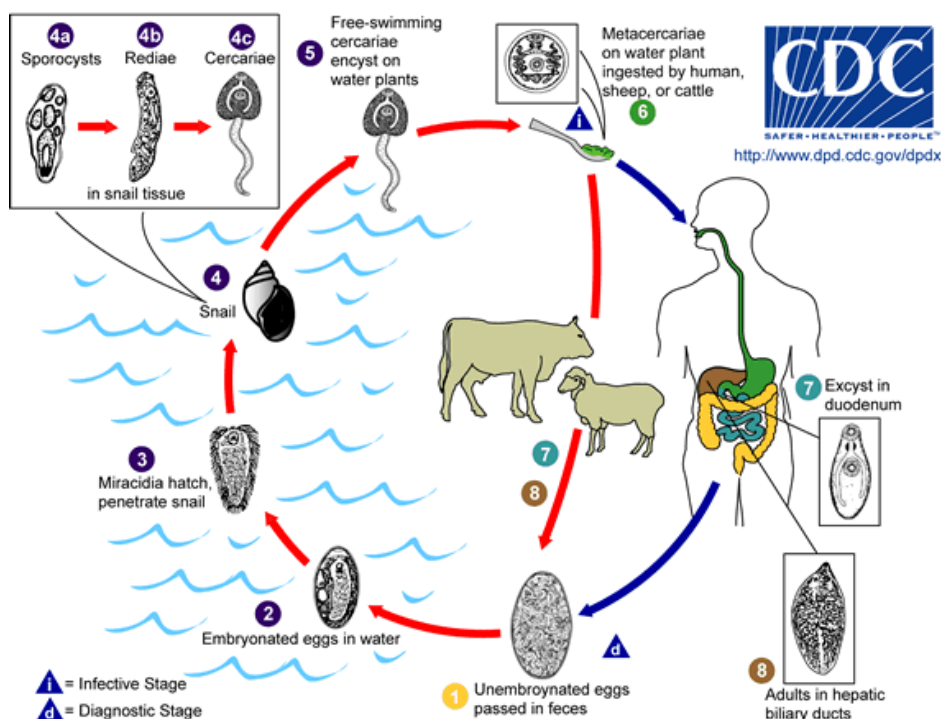
Jajašca *Schistosoma* (a-lateralna bodlja, b-terminalna bodlja, c-mala lateralna bodlja)

Najzastupljenija dijagnoza infekcije je i dalje mikroskopski pregled uzorka stolice ili urina. Jaja je lako otkriti i morfološki identificirati, na temelju njihove veličine te tipične lateralne ili terminalne bodlje.

Epidemiološki podaci olakšavaju postavljanje prave dijagnoze bolesti (da li je bolesnik boravio u tropskom ili subtropskom području gdje je bolest prisutna). Analize antitijela (IgG, IgM, IgE) u krvi su dosta osjetljive, međutim ne mogu dati stvarnu sliku infekcije, jer mogu biti rezultat križne reakcije na druge helminte. Do zaraze dolazi dolazi vodom u kojoj se nalaze slobodno plivajuće ličinke cercarije. Čovjek je glavni rezervoar vrsta *S. haematobium* i *S. mansoni*. Za *S. japonicum* to su čovjek, pas, mačka, svinja, govedo, konj te divlji glodavci. Osjetljivost je univerzalna. Bolest se pojavljuje sporadično. Oboljevaju djeca i osobe profesionalno vezane za rad u vodi. Mjere za prevenciju šistosomijaze su vrlo kompleksne, jer ne postoji jedna i efikasna mjera. Stoga je važna edukacija stanovništva u endemskim područjima. Potrebno je posebno obratiti pozornost na pravilnu dispoziciju mokraće i izmeta kako bi se spriječio dolazak jaja u vodu s puževima.

FASCILOZA (fascioliasis)

Fascioloza je bolest jetre uzrokovana velikim trematodom (metiljem) iz roda *Fasciola*, koja je prirodni parazit ovaca, goveda i srodnih životinja. Ova bolest je dugo vremena popraćena kao veterinarski problem, dovodeći do velikih ekonomskih gubitka u stočarstvu, međutim od 1980. godine sve je više slučajeva fascioloze kod ljudi.



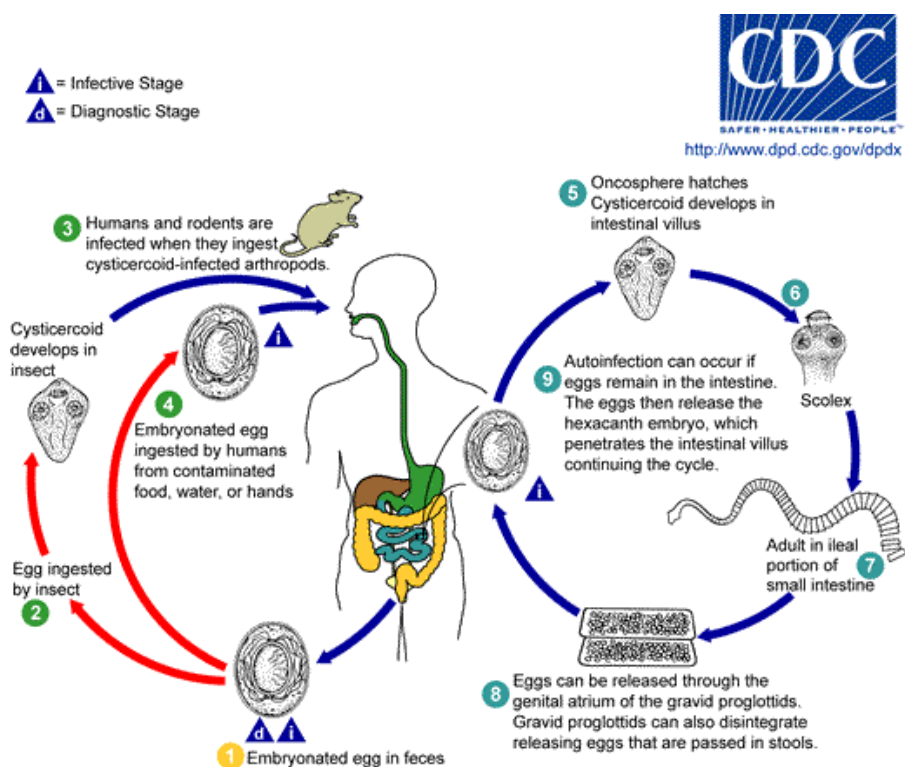
Životni ciklus vrste *Fasciola hepatica*

Za čovjeka je značajna vrsta *Fasciola hepatica* ili ovčji metilj. Tijelo metilja je poput lista veličine 3 mm i debljine 1 mm. Nastanjuje žučovod biljoždera te preko žuči jaja ulaze u probavni trakt, odakle fecesom dospijevaju u zemlju. Važno je da dospiju u plitke stajačice da bi se kroz dva tjedna pri temperaturi od 22 do 25°C razvili miracidiji koji neko vrijeme slobodno plivaju u vodi dok ne nađu **puža iz roda *Lymnea*** (međudomadar). Kroz slijedeća četiri tjedna u pužu parazit prolazi razvojne stadije sporociste, redije i cercarije. Cercarije izlaze iz puža i začahure se na vlat trave (metacercarije), koje zatim popase stoka. Kada dođu u probavni trakt biljoždera, probijaju stijenku crijeva i dospijevaju u jetru. Tu se hrane hepatocistama, dok ne sazriju, a nakon toga odlaze u žučovod, gdje se pare nakon čega ženke proizvode i do 25 000 jaja dnevno. Životni ciklus parazita zbiva se u prirodi bez sudjelovanja čovjeka. Međutim kako je čovjek u stalnom kontaktu sa zaraženim životinja, došlo je do

prilagodbe metilja. Do zaraze dolazi konzumiranjem neoprانog i nekuhanog bilja na kojem se nalaze metacerkarije. Etiološku dijagnozu je nemoguće postaviti na temelju kliničke slike. Uz oštećenje jetre i pojave eozinofilije (60-80%), javljaju se i bolovi u trbuhu, proljev, vrućica te povraćanje. Odrasle jedinice se mogu potvrditi ukoliko su u uzorku stolice primjećena žučkasta jaja. A raniji stadij bolesti se utvrđuje pretragama krvi na određena protutijela. Do ozbiljna posljedica dolazi kada se latentne spore *Chlostridium novyi* aktiviraju zbog niske koncentracije kisika uzrokovane oštećenjima jetre, uzrokujući tzv. „crnu bolest“ (*C. novyi* tip B) ili haemoglobinuriju (*C. novyi* tip D). Čovjek je osjetljiv na zarazu cijeloga života. Kada jednom dođe do zaraze, bolest vrlo često postaje kronična. Nema razvoja efikasne specifične imunosti, stoga ni samoizlječenja. Smanjivanjem ove parazitoze među domaćim životinjama smanjuje se rasprostranjenost i učestalot pojave među ljudima. Rezultati liječenja su općenito nezadovoljavajući, a za sada se od lijekova primjenjuje bitionol.

HIMENOLEPIDOZA (hymenolepidosis)

Himenolepidoza je pretežno bolest djece. Uzročnik je mala dječja trakavica *Hymenolepis nana*, koja je zapravo parazit u miševima i štakorima, odlično adaptirana tankom crijevu djeteta. Jedinstvena je među trakavicama po tome što joj nije potreban **međudomadar**. Često dolazi do autoinfekcije s pojavom toksemije (otrovanje krvi zbog toksina bakterije ili parazita) u kojoj dominiraju opći simptomi bolesti uz proljeve i svrbež. Bolest je raširena u toplim i suhim područjima, gdje je higijenski standard nizak. Vrlo je česta u mediteranskim zemljama, Bliskom Istoku i Indiji.



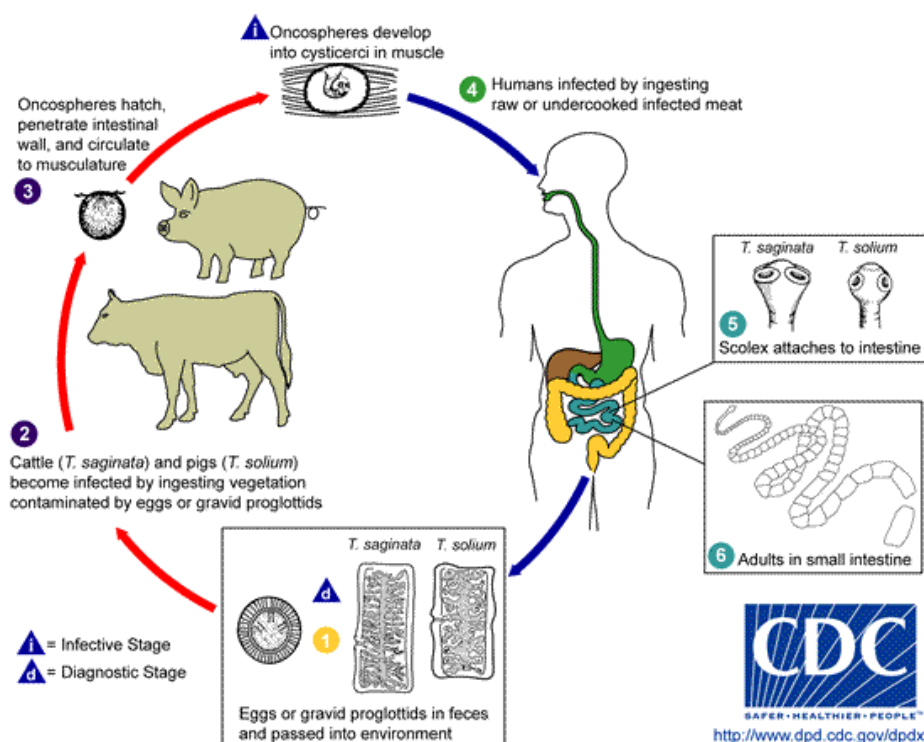
Životni ciklus vrste *Hymenolepis nana*

H. nana ima tijelo duljine od 2,5 do 4 m, koje se sastoji od članaka (proglotida), vrata i glavice (skoleks) s vijencem kukica i četiri prijanjaljke ili acetabula. Iz gravidnih članaka koji se raspadaju izlaze jaja. Kada dospiju u crijevo, oslobađa se onkosfera koja se pričvrsti za resicu duodenuma i za četiri dana razvije se cisticercoid. Nakon 2 do 3 tjedna oslobađa se i stiže u jejunum, gdje dozrijeva u odraslu trakavicu. Zaraza nastupa ingestijom jaja iz kontaminirane hrane i vode ili češće neposredno fecesom preko nečistih ruku. Stoga je moguć prijeos neposrednim dodirom s osobe ns osobu. Zbog nastanka

specifične imunosti razvija se otpornost na reinfekciju. Klinička dijagnoza nije moguća zbog nerazvijene i netipične kliničke slike. Pojava simptoma varira, a kod zaraze manjim brojem trakavica klinička slika može biti prikrivena ili asimptomatska. Masovna infestacija izaziva enteritis s proljevom ili abdominalne bolove uz gubitak težine i malaksalost. Tipičan je svrbeža nosa i anusa uz glavobolju, gubitak teka, vrtoglavicu i proljeve. Etiološka dijagnoza moguća je samo mikroskopskim nalazom velikih, prozirnih tipičnih jaja u izmetu bolesnika. U trećine bolesnika pojavljuje se eozinofilija od 5%. Premda je primarni rezervoar ove trakavice miš ili štakor, osnovni rezervoar za čovjeka je čovjek u kojem *H. nana* može perzistirati više godina. Temeljna prevencija jest edukacija stanovništva o osobnoj higijeni i sanitarnoj dispoziciji izmeta. Potrebno je osigurati ispravne i čiste nužnike, a vodu i hranu zaštititi od kontaminacije ljudi i glodavaca. Korisna je i deratizacija u blizini ljudskih nastambi. U specifičnoj terapiji se koristi parazikvantel ili niklosamid.

TENIJAZA (teniasis)

Tenijaza je crijevna zaraza s odraslim oblikom trakavice. U slučajevima invazije tkiva ličinačkim oblikom vrste *Taenia solium* nastaje cisticerkoza. Invazija ovom trakavicom može biti značajna u područjima gdje se često jede nedovoljno pečena ili kuhana govedina i svinjetina. Stoga je bolest široko rasprostranjena po svijetu.



Životni ciklus vrste *Taenia solium*

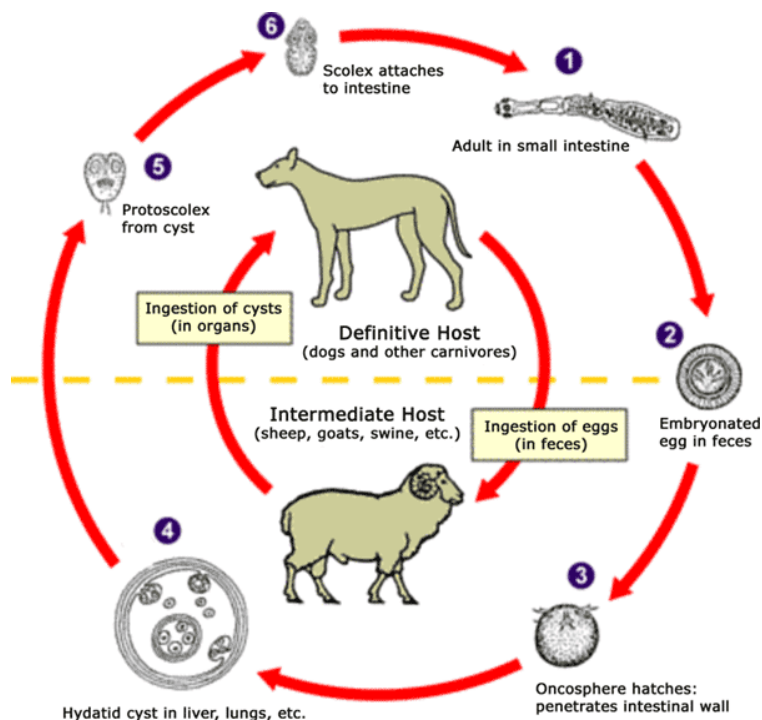
Za čovjeka su značajne dvije vrste: *T. solium* (svinjska trakavica) i *T. saginata* (goveđa trakavica). *T. solium* na glavici ima četiri acetabula. Može doseći duljinu od 2 do 7 m s 1 000 članaka. Po nekoliko zrelih članaka otkida i izmetom izlazi u okoliš. Jaja moraju što brže ponovo dospjeti u probavni trakt svinje, vepra ili čovjeka, nakon čega probavni sokovi razaraju ovojnicu jaja iz kojih izlaze onkosfere i preko mezenterijalne vene dospijevaju do raznih organa. Najčešće se nađu u mišićima, ali i u mozgu, oku, srcu, jetri, plućima i koži. Nakon dva mjeseca nastaju cisticerki ili ikrice, veličine 5 do 8 mm, s osnovom budućeg skoleksa. Čovjek se zarazi jedući upravo takvo ikričavo meso. Ako žive ikrice dospiju

u čovjekov probavni sustav, počinje se razvijati zrela trakavica koja završava rast nakon 5 do 12 tjedana. *T. sagita* ili goveđa trakavica slična je svinjskoj, ali joj duljina može doseći i 25 m (najčešće 4-5 m). Za razliku od svinjske trakavice ova nikad ne uzrokuje cisticerkozu, nego samo intestinalnu invaziju odraslim oblikom trakavice.

Kliničke manifestacije infestacije s odraslom trakavicom mogu prolaziti asimptomatski, a ako se pojave simptomi to su najčešće pojava nervoze, nesаницe, anoreksije, gubitak težine, abdominalni bolovi i digestivne smetnje. Tenijaza obično nije fatalna bolest. Ličinačka invazija svinjskom trakavicom uzrokuje ozbiljnu somatsku bolest koja obično uključuje središnji živčani sustav. Simptomatologija ovisi o migraciji ličinki i njihovom pretvaranju u cisticerke (potkožno tkivo, miškulatura, unutarnji organi). Stoga su simptomi različiti poput epilepsije, porast intrakranijalnog tlaka i psihičkih smetnji, što nedvojbeno upućuje na invaziju u mozgu. Neurocisticerkoza može izazvati fatalni ishod, pa ipak nije toliko česta. Svi ti simptomi mogu se pojaviti nakon nekoliko dana ili nekoliko godina. Jedina prava etiološka dijagnoza jest identifikacija proglotida (članaka) ili jaja u stolici ili analnim otiskom. Kako jaja trakavica nije lako morfološki razlikovati, specifična dijagnoza se zasniva na morfologiji skoleksa ili gravidnih proglotida. Specifični serološki testovi podupiru kliničku dijagnozu cisticerkoze. Intrakranijalna cisticerkoza utvrđuje se pomoću tehnike CT, MRI te rengenki, kad je cisticerk kalcificiran. Glavni rezervoari parazita su svinje, govedo i čovjek, a čovjek je konačni domaćin u oba slučaja. Osjetljivost na infekciju je opća, ali nakon zaraze razvija se imunost. Svinjska trakavica je rijetkost u Europi (osim istočne), a češća u Africi, Indiji i Latinskoj Americi. Goveđa je kozmopolit i češća je od svinjske. Izrazito je česta u Etiopiji. Postojali su slučajevi zaraze i u Hrvatskoj, međutim nije tako česta da bi bila od većeg značenja. Temelj prevencije jest edukacija stanovništva kako bi se izbjegla fekalna kontaminacija tla, vode te ljudske i stočne hrane. Za uništavanje cisticerka korisno je zamrzavanje mesa na -5°C dulje do 4 dana. Značajna je mjera i inspekcija mesa nakon klanja. Kod intestinalne infestacije korisna je terapija niclosamidesom (Niclocide, Yomesan) i praziquantelom (Biltricide). Kod liječenja cerebralne cisticerkoze obavezna je hospitalizacija uz primjenu praziquantela ili albendazola te davanje kortikosteroida radi suzbijanja edema mozga koji se pojavljuje uništavanjem cisticerka.

EHINOKOKOZA (echinococcosis)

Ehinokokoza je parazitarna bolest uzrokovana trakavicom *Echinococcus granulosus* (mala pseća trakavica). U čovjeka izaziva nastanak hidatidne ciste u različitim unutarnjim organima. U početku je bolest asimptomatska, a znatno kasnije pojavljuju se određeni znakovi bolesti, koji ovise o veličini, brojnosti i lokalizaciji ciste.



Životni ciklus vrste *Echinococcus granulosus*

Odrastao oblik ovog parazita obitava u probavnom traktu psa ili srodne životinje (lisica, vuk), dok se ciste nalaze u ovci, svinji, govedu i čovjeku. Bliski srodnik ove trakavice je vrsta *E. multilocularis* koji obitava u probavnom traktu lisice, a na čovjeka može biti prenesen jajašcima koja se nalaze u izmetu lisice. Odrasli oblik je dugačak 3 do 9 mm, a na glavici ima četiri acetabula i vijenac kukica, kojima se drži pripijena uz gornji dio tankog crijeva psa, gdje živi 5 do 20 mjeseci. Tijelo se sastoji još od vrata i tri članka. Pas se zarazi jedući životinjske organe koji sadrže ehinokokusne ciste. Jaja se izlučuju u okoliš izmetom (u jednom zreлом članku nalazi se 200-500 jajašca). Ovce i goveda unose jajašca pasući travu, a čovjek gladeći psa. Iz unesenih jajašca u početnom dijelu tankog crijeva razvija se onkosfera koja probija crijevnu stijenku te limfom i krvlju dospijeva u portalni krvotok i jetru. Najčešće se zadržavaju u jetri, međutim mogu dospjeti i do sraca, pluća, bubrega, mišića, slezene pa čak i u mozak. Iz zametka u tim organima postupno razvije mjehurić, a zatim cista, koja može doseći različitu veličinu. U cistama se nalazi žućkasta tekućina, čija se količina s vremenom povećava kako cista raste.

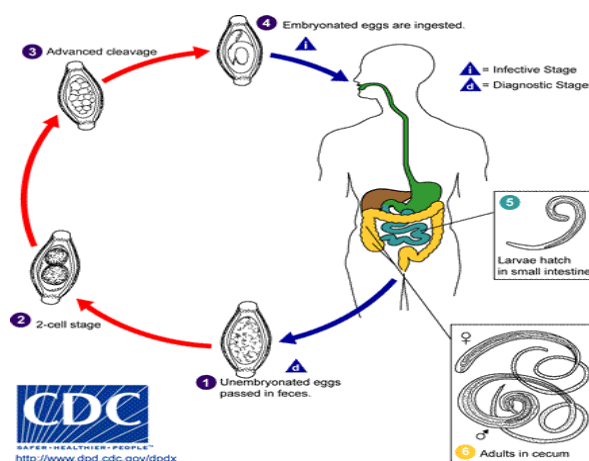
Klinička slika postavlja se na osnovi postojanja određenih simptoma i nalaza cističnih promjena na pojedinim organima. Simptome koje izaziva ehinokokoza zapravo odgovaraju onima koje stvara lagano rastući tumor. Sve, dakle ovisi o organu u kojem se cista nalazi te o prokrvljenosti zahvaćenog organa. Stoga najbrže raste u jetri i plućima, po 2-3 cm u promjeru na godinu. Kako jetra ima veliku sposobnost regeneracije, često se dogodi da ni velike ciste ne štete previše. Međutim, ako cista pritisne žučovod, može nastati žutica kao vodeći znak bolesti, uz pojavljivanje mučnine, gubitak apetita, nadutost nakon jela i izljev tekućine u trbušnu šupljinu. Ozbiljni problemi nastaju ako cista pukne, a njezin se sadržaj razlije po potrbušnici. Može nastati ozbiljna anafilatička reakcija te nastanak brojnih novih cista, koje brzo rastu (sekundarna ehinokokoza). Ako su zahvaćena pluća, ciste su dva puta učestalije u desnom plućnom krilu nego u lijevom. Najčešće je simptom kašljanje te pritisak u prsnoj koži. U iskašljaju se katkad pojavljuje krv, a pri pucanju ciste nastaje upala pluća ili pleure. Moguća je i iznenadna smrt zbog anafilaktičkog šoka. Kod djece se mogu pojaviti ciste u mozgu, dok kod odraslih zbog sporog rasta mogu ostati neotkrivene. Simptomi su slični simptomima kod tumora mozga uz pojavu epilepsije. Ako se cista inficira bakterijama, pojavljuju se znakovi upale određenog

organa, nastaje gnojna nakupina pa je operacija jedini mogući izlaz. Epidemiološki podaci nisu od velike pomoći pri postavljanju dijagnoze jer je inkubacija kod ehinokokoze od jedne do više godina. Moderne tehnike medicinske dijagnostike mogu dijagnozu utvrditi s velikom sigurnošću. Pri tome se koriste radiografske metode, kompjutorizirana tomografija i sonografija pojedinih organa.

Bolest je široko rasprostranjena. U Hrvatskoj je godišnje registrirano nešto manje od deset slučajeva ehinokokoze. Najznačajniji rezervoar i domaćin ovog parazita jest domaći pas i njemu srodne životinje. U njegovom probavnom sustavu može obitavati više tisuća odraslih parazita bez vidljivih znakova infekcije. Djeca su izloženija infekciji jer imaju bliži i češći kontakt s inficiranim psima, a nemaju usvojene adekvatne higijenske navike. No, nije utvrđeno da su djeca osjetljivija na infekciju od odraslih. Premda je prognoza same bolesti dobra, ona ipak ovisi o lokalizaciji ciste i o mogućnosti njezina pucanja i širenja. Jedina stvarno uspješna terapija jest kirurško uklanjanje cističnih promjena pod zaštitom albendazola.

TRIHURIOZA (trichurias)

Infestacija nematomom vrste *Trichurus trichurus* kod čovjeka često protječe asimptomatski. Rasprostranjen je po cijelom svijetu, a posebice u toplim i vlažnim područjima. Ima je i u Hrvatskoj



Životni ciklus vrste *Trichuris trichuris*

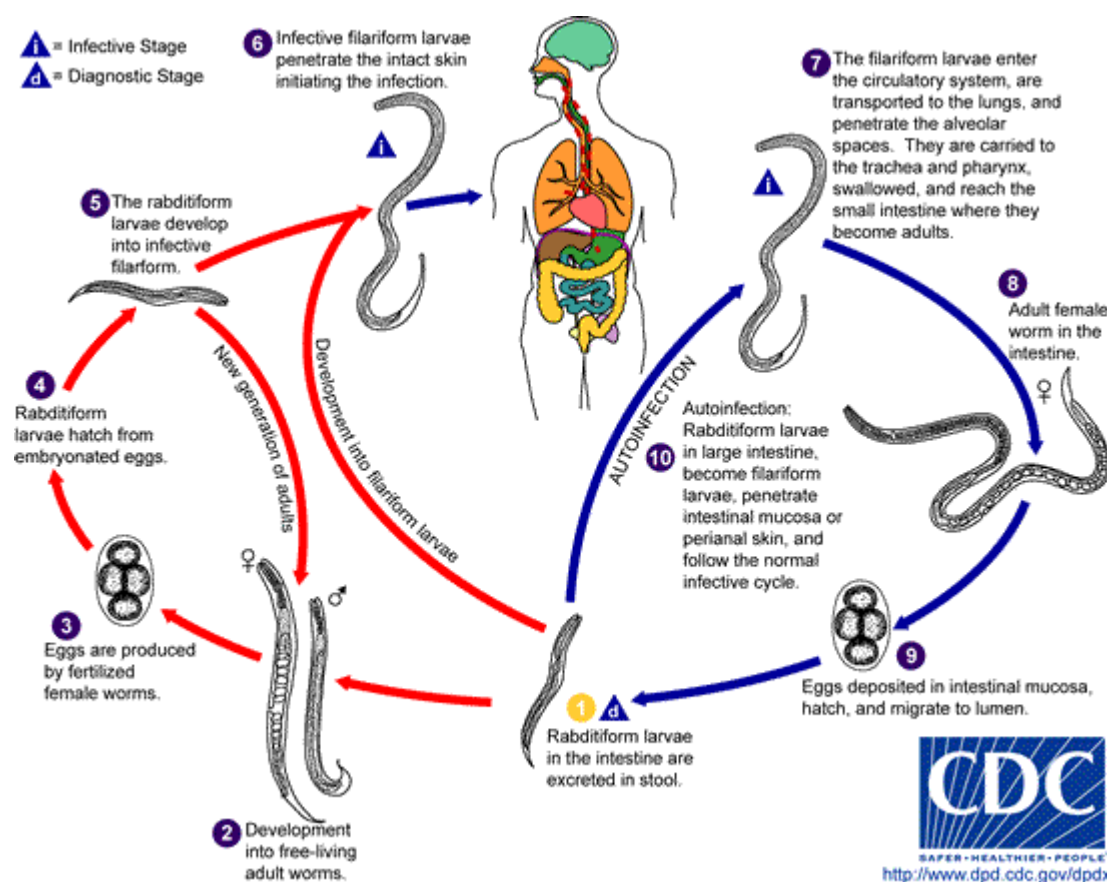
Mušjak je duljine 30 do 40 mm i spiralno je zavijen, dok je ženka nešto dulja, do 50 mm. Parazitira u debelom crijevu (ileocekalna regija i proksimalni kolon) čovjeka pričvršćen za sluznicu. Ženka ispušta jajašca koja ekskretima izlaze u okoliš. Ako dospiju u toplo i vlažno tlo, kroz deset dana razvijaju se invazivne ličinke. Čovjek se zarazi indirektno ingestijom embrionalnih jajašaca s neoprano voća i povrća, nakon čega se u crijevu razvije odrasli oblik. Nije moguć neposredni prijenos parazita s čovjeka na čovjeka jer jajašcima trebaju određeni okolišni uvjeti da bi nakon deset dana postala zarazna. Međutim, vrlo su česte istodobne invazije ovim parazitom i vrstom *Ascaris lumbricoides*.

Klinička slika nije tipična. U većini slučajeva ne pojavljuju se nikakvi simptomi. Ako postoji masovna infestacija pojavljuje se nadražaj debelog crijeva uz sluz i sukrvicu u stolici. Ponekad je moguć i proljev, a u najtežim i kroničnim slučajevima prolaps rektuma, hipoproteinemija, pojava batičastih prstiju, anemija i zastoj rasta. Jaja se u stolici mogu dokazati mikrobiološkom pretragom nakon 2 do 3 mjeseca od infekcije, dok se simptomi mogu pojaviti puno prije. Specifično liječenje provodi se mebendalolom. U pravilu, trudnice u prvom tromjesečju ne smiju primati ovaj lijek.

STRONGILODIOZA (strongyloidosis)

Bolest je uzrokovana parazitom *Strongyloides stercoralis* iz razreda *Phasmidea*. Bolest se pojavljuje u tropskim te vlažnim i toplim područjima. Stvarna prevalencija ove parazitoze nije poznata. U Hrvatskoj je bolest imala manje značenje u seoskim područjima Hrvatskog zagorja.

Životni ciklus parazita odvija se u slobodnoj prirodi, a pod određenim uvjetima uzročnik prodire kroz kožu nekih sisavaca i time poprima parazitski način života. Stoga ovaj parazit ima jednu slobodnu i jednu parazitsku generaciju. Slobodna generacija živi na toplom i vlažnom tlu, zaštićena od izravnog utjecaja sunčevih zraka. Tamo ženka polaže jajašca iz kojih se razvija ličinka i tako ciklus ide mimo domaćina. Ličinka je veličine 1 mm i u nepovoljnim uvjetima prelaz u filariformni oblik te probija kožu čovjeka ili nekog drugog sisavca. Krvotokom dolaze prvo do srca, a potom u pluća, odakle se popne dušnikom do ulaza grkljana i gutanjem dospijevaju u probavni trakt. Tamo se razvijaju samo ženke, duljine 2 mm, koje polažu jajašca. U crijevima se oslobađaju ličinke koje su osnova za razvoj slobodne generacije, nakon što ove dospiju izmetom u povoljnu okolinu. U slučaju razvoja filariformnih ličinki u samom crijevu moguć je ponovni prodor u istog domaćina u analnoj regiji (autoinfekcija).



Životni ciklus vrste *Strongyloides stercoralis*

U kliničkoj slici klasični su simptomi abdominalne bol u epigastriju uz proljev i urtikariju. Moguća je pojava mučnine, povraćanja, slabost i gubitak tjelesne težine, a katkad i dermatitisa s priritusom koji iridira iz anusa. Uobičajena je umjerena eozinofilija. (10-25%). Nakon invazije crijeva izazivaju enteritis s dugotrajnim proljevom. Od trenutka penetracije filariformnih ličinki u organizam do pojave ličinki u izmetu prođe 2 do 4 tjedna, dok je preiod do pojave simptoma bolesti neutvrđen i promjenjiv. Etiološka dijagnoza postavlja se mikroskopskim pretragama nativnog preparata stolice uz koncentraciju uzorka i aspirata duodenuma gdje se nalaze žive ličinke. Bolji se rezultati postižu

pretragom uzorka stolice koji se čuva 24 sata na temperaturi od 24°C, zbog razvoja parazita. Serološki testovi, temeljeni na antigenu ličinačkog stadija, pozitivni su u 80% inficiranih osoba.

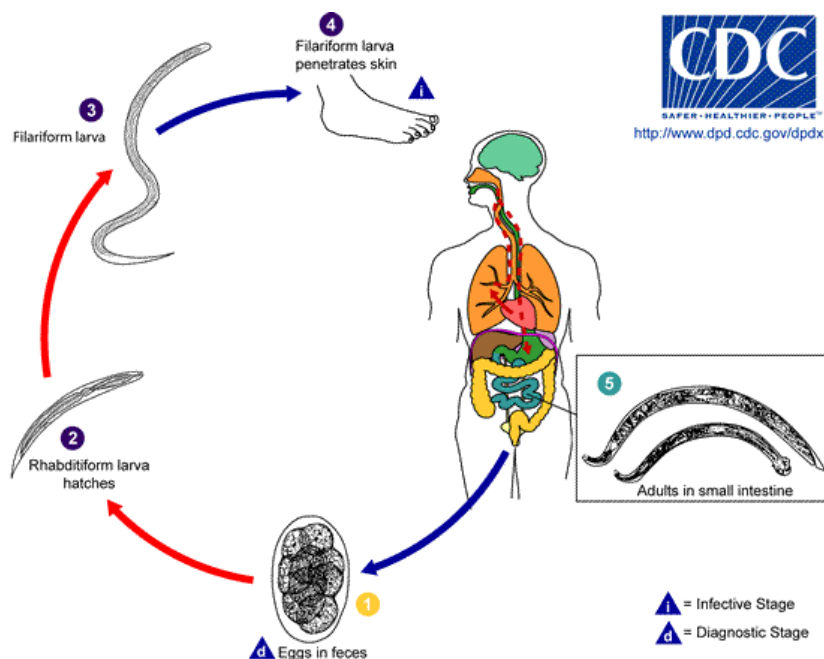
Čovjek je osnovni rezervoar *S. stercoralis* uz vrlo rijetku transmisiju parazita sa psa i mačke na čovjeka. Ostali su primati rezervoar za *S. fullerborni* koja je registrirana u Africi i Papui Novoj Gvineji. Izvor zaraze je stolica bolesnika u kojoj se nalaze jajašca ili ličinke parazita. Temeljni je put prijenosa kontakt između kože i vlažnog tla u kojem se nalaze filariformni oblici ličinki. Osjetljivost je univerzalna, a stečena imunost se može utvrditi kod laboratorijskih životinja, ali ne i kod čovjeka. Bolesnici koji imaju AIDS, malignu bolest ili su pod imunosupresivnom terapijom imaju povećani rizik od diseminacije parazita. Za specifičnu terapiju koristi se tiabendazole ili albendazole.

ANKILOSTOMATOZA (ancylostomosis)

Uzročnik je *Ancylostoma duodenale* koji parazitira u gornjem dijelu tankog crijeva. Glavni patogeni učinak parazita je vezan za odrasle oblike koji sišu krv u crijevnoj sluznici uzrokujući sekundarnu mikrocitnu hipokromnu anemiju (izražen nedostatak željeza). Ova bolest je bila poznata i ako „rudarska anemija“, jer su često oboljevali rudari dok su bosonogi radili u rudnicima. Anemija nastaje 2 do 6 mjeseci nakon invazije. Bolest je široko rasprostranjena u tropskim i subtropskim područjima u kojima je tlo toplo i vlažno, a na koje se disponira ljudski izmet. U Hrvatskoj bolest nema veće značenje.

Odrasli oblik ovog parazita se zadržava u duodenumu i gornjem jejunumu. Ženka je nešto veća, 10-13 mm. Tijelo parazita je zdepasto s proširenom usnom šupljinom, gdje se nalaze zubići i pločice, kojima se drži za sluznicu crijeva. Mužjak ima karakterističan oblik kopolacijskog aparata, po čemu se razlikuje od srodne vrste *Necator americanus*, koji je također patogen za čovjeka. Jajašca se luče ekskretima pa ako dospiju u povoljne ekološke uvijete, nastavlja se razvoj u ličinke. Infektivna ličinka čeka svoju priliku dodira s ljudskom kožom, a na tlu može preživjeti i više tjedana. Nakon prodora kroz kožu put parazita istovijetan je kao kod *S. stercoralis*. Nakon 6 tjedana dosežu spolnu zrelost, dok u crijevu može preživjeti jednu do više godina. Ženka dnevno otpušta 25 000-30 000 jaja.

Na mjestu prodora ličinke u kožu mogu se uočiti sitne gnojne ozljede. Migracijom kroz pluća mogu nastati upalne plućne infiltracije, kašalj i traheitis. No, glavni patološki procesi zbivaju se u tankom crijevu. Odrasla jedinka godinama siše krv, pri čemu dnevno posiše 0,2 do 0,6 mL krvi. Anemija je često popraćena leukocitozom i eozinofilijom. Kod slabije invazije javlja se bol u epigastriju, žgaravica i nadutost. Ozbiljnu invaziju prati suha koža, otekline oko očiju, žutica i proljevi, a kod djece zaostajanje u razvoju i nevoljkost. Simptomi se mogu razviti nakon nekoliko tjedana do više mjeseci, što ovisi o intenzitetu zaraženosti i količini dnevnog unosa željeza. Etiološka dijagnoza postavlja se standardnom mikroskopskom pretragom svježe stolice u kojoj se utvrđuju jaja.



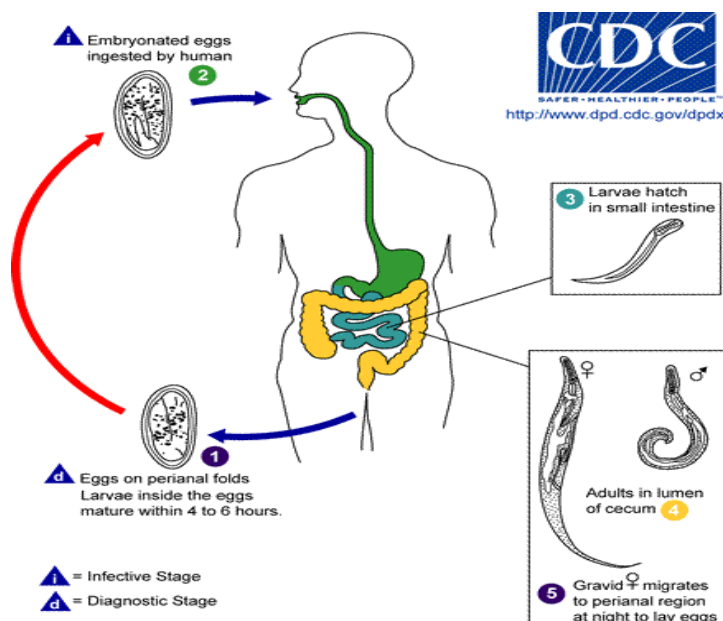
Životni ciklus vrste *Ancylostoma duodenale*

Čovjek je osnovni rezervoar za vrste *A. duodenale* i *N. americanus*, a izvor zaraze je izmet kojim jaja dospijevaju u tlo i prelaze u invazivni ličinački oblik. Ličinke su lagano pokretne u krugu od desetak centimetara. Glavni put prijenosa je kontaktni, ali do infestacije može doći i ingestijom infektivnih ličinki. Iako je osjetljivost opća, pokazalo se da su djeca i žene podložnije infekciji od muškaraca te da ne dolazi do razvoja imunosti. Zato je potrebno provoditi pravilnu dispoziciju izmeta uz dezinfekciju radi sprečavanja kontaminacije tla. Za specifičnu terapiju koriste se mebendazol, albendazol ili levamizol, pirantel pamoat, a kod težih slučajeva potrebna je i transfuzija.

ENTEROBIJAZA (enterobiosis)

Vrlo raširena crijevna helmintoza uzrokovana malom dječjom glistom *Enterobius vermicularis*. S obzirom na veliku rasprostranjenost ove parazitoze po svijetu, kao i intenzitet zaraženosti školske djece, enterobioza ima veliko značenje u parazitolnoj patologiji čovjeka. Srećom, klinička slika je najčešće asimptomatska ili blaga.

E. vermicularis živi u tankom crijevu čovjeka. Bijele su ili ružičaste boje. Ženka ima oblik izduženog vretena dužine 8-13 mm, dok je mužjak nešto kraći oko 2-5 mm. Obitavaju u ileocekalnoj regiji, na prijelazu tankog u debelo crijevo. Hrane se crijevnim sadržajem, kao i površinom crijevne sluznice, izazivajući sitne ulceracije. Oplođena ženka polaže više od 10 000 jajašca, i to izlazeći noću kroz analni otvor. Jaja polažu u analnoj i perianalnoj regiji, skrotumu ali i u vagini, mjehuru i uterusu. Potom ženka ugiba, a jaja ostaju zalijepljena na mjestu polaganja. Kada čovjek proguta ta jaja, u tankom crijevu izlazi ličinka i sazrijeva. Spolnu zrelost doseže za 15 do 43 dana. Odrasli oblici žive oko dva mjeseca.



Životni ciklus vrste *Enterobius vermicularis*

Kod invazije malim brojem parazita klinička slika nije izražena. Do masovne invazije dolazi rein vazijom te nakon nekoliko mjeseci dolazi do pojave simptoma. Izražen je svrbež analne i perianalne regije, posebice noću kad ženka polaže jaja. Zbog jakog svrbeža, bolesnik se grebe, često nesvjesno, i time oštećuje kožu i sluznicu te na tim mjestima nastaju sekundarne bakterijske upale. Metoda koja se koristi kod dijagnosticiranja je analni otisak koji se uzima pomoću prozirne ljepljive trake ujutro prije kupanja. Mikroskopski se mogu lako utvrditi karakteristična jaja, kao i odrasle ženke. Nalaz jajašaca i odraslih oblika je rijetkost u stolici.

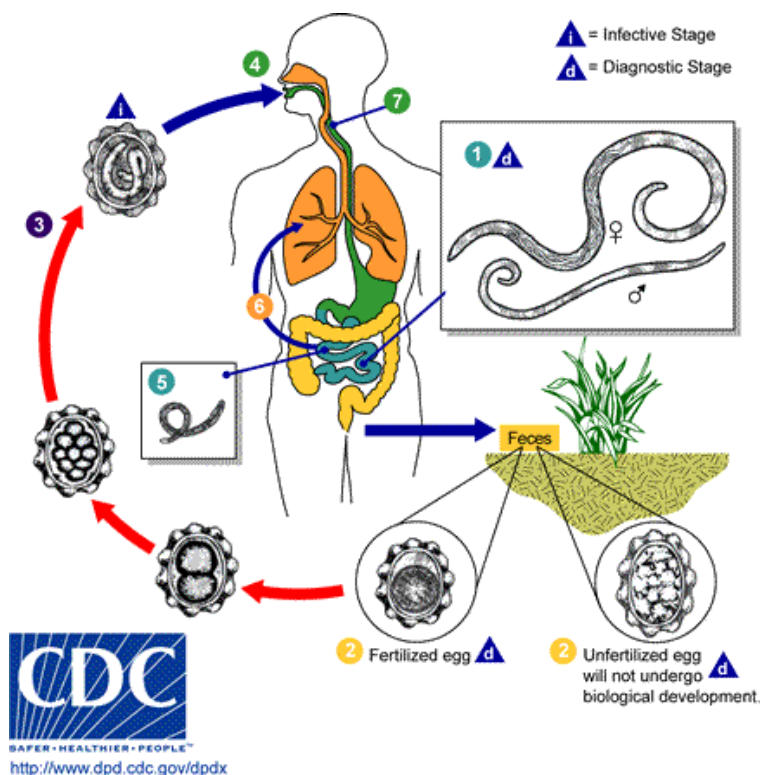
Rezervoar za vrstu *E. vermicularis* jest čovjek, a izvor zaraze je dodir s područjem oko anusa u kojem ženka polaže jaja, rjeđe bolesnikova stolica. Zbog toga je put prijenosa kontaktni, onečišćenim rukama. Naime, zbog svrbeža dijete nesvjesno češe područje oko anusa i tako onečišćuje prste i nokte jajima parazita. Tako onečišćenim prstima jaja se prenose na novog domaćina ili dolazi do autoinvazije. Takođe je moguć posredni put prijenosa preko nečistog donjeg rublja ili posteljine na kojoj se nalaze jaja parazita. Nakon polaganja jaja postaju infektivna i mogu opstati izvan domaćina oko dva tjedna. Osjetljivost je opća, a zaraza je češća u djece zbog nedostataka higijenskih navika i bližeg socijalnog kontakta u dječijem kolektivu. Otpornost se ne razvija. Zaraza je učestalija u hladnijim klimatskim područjima, gdje djeca stalno hodaju obučena i gdje nisu stvoreni uvjeti određene razine higijene. Rublje se treba dezinficirati pranjem na povišenoj temperaturi (viša od 55°C uništava jajašca u nekoliko sekundi). Primjenjuje se terapija s pirantel pamoat, mebendazol ili albendazole.

ASKARDIJOZA (*ascariidosis*)

Ova parazitska bolest u čovjeka uzrokovana je vrstom *Ascaris lumbricoides* (dječja glista). Uzročnik parazitira u tankom crijevu, a jaja sazrijevaju vanjskoj sredini na vlažnom i toplom tlu. Bolest je široko rasprostranjena, a posebno je česta među seoskom djecom, gdje je nepravilna dispozicija ljudskog izmeta.

Askaris ima oblik obične gliste. Mužjak je dugačak 15-17 cm, a ženka 20-25 cm. Bijele je do ružičaste boje. Parazit je pokretan i može migrirati. Jaja izlaze u okoliš izmetom, gdje u povoljnim ekološkim uvjetima (vlažno i toplo tlo) nastaju ličinke nakon 30 do 40 dana. Embrionalno jaje zarazno je za

čovjeka i kada dospije u probavni sustav razgrađuje se i oslobađaju se ličinke, koje probijaju sluznicu crijeva te limfom ili krvlju dopijevaju do jetre, gdje se zadržavaju 4 do 5 dana. Od šestog do devetog dana prolaze kroz pluća probijajući se iz alveola u dišnu cijev te na kraju dolaze do jednjaka i budu progutani. Nakon osam tjedana parazit završava svoj razvojni ciklus i u tankom crijevu se razvija u odrasli oblik, koji živi do godinu i pol. Jajašca se pojavljuju u stolici nakon 70 dana, a ženka dnevno polaže do 200 000 jajašca.



Životni ciklus vrste *Ascaris lumbricoides*

Klinički simptomi nastaju ovisno o količini parazita te njihovih metaboličkih produkata i migracija. Manja infekcija obično ne uzrokuje nikakve smetnje. U slučaju teže invazije bolesnik može osjećati određene tegobe u trbuhu, poput težine, nadutosti i mučnine. Kod masovne infekcije može doći do začepjenja crijeva i ileusa, a kako je domaćin često senzibiliziran na metaboličke produkte parazita javlja se glavobolja, nevoljkost i urtikarija. Katkad migriraju kroz želudac i jednjak na usta ili nos, ovo se obično događa kod masovne invazije u febrilne djece. Međutim mogu se probiti i izvan prirodnih kanala te izazvat teške upalne promjene trbušne šupljine i probavnih organa. Ove komplikacije iako rijetke, mogu dovesti do smrti. Tijekom migracije kroz pluća mogu se pojaviti plućne manifestacije u obliku pneumonitisa i Löfflerova sindroma, što je popraćeno plućnom infiltracijom, kašljem, temperaturom i eozinofilijom u krvi. Etiološka dijagnoza postavlja se na temelju nalaza jaja u nativnom preparatu stolice ili nalazom odraslog parazita. Moguća je i vizualizacija odraslih oblika radiološkim tehnikama u probavnom traktu. Pri migraciji kroz pluća moguće je pronaći ličinku u iskašljaju.

Rezervoar je čovjek, a izvor zaraze je onečišćeno tlo na kojem se nalaze dozrela jaja parazita. Zaraza neposrednim dodirom nije moguća, već nastaje ingestijom infektivnih jaja iz tla ili preko nekuhanog voća i povrća koje je onečišćeno pri nekontroliranom odlaganju izmeta u okolinu ili gnojenjem povrtnjaka. Moguć je prijenos i prašinom. Askaridoza je široko rasprostranjena po svijetu. Osjetljivost je opća, a češća je u tropskim i klimatski toplijim područjima, posebice u zemljama s nižim higijenskim

standardom. Prevalencija infestacije može biti i do 50%, a obično je viša među djecom od 3 do 8 godina.

Paleoparazitologija

Praziti su organizmi koji su našli svoju ekološku nišu živeći unutar različitih vrsta (domaćina). Paleoparazitologija je grana parazitologije koja proučava parazite u arheološkim materijalima. Kroz takve nalaze možemo otkriti vrijedne informacije o vezi ljudi i parazita u prošlosti, o samoj rasprostranjenosti parazita, kao i o migracijama i načinu ishrane ljudi tijekom prošlosti. Ostaci fecesa su najčešće nađeni u arheološkim slojevima za vrijeme iskopavanja, u sedimentu sa starih zahoda, osušenih ispljuvaka ili na mumijama. Paraziti su očuvani u suhom okolišu gdje postoje velike koncentracije topljivih soli. Takav osušen ili mineraliziran feces se u paleoparazitologiji naziva **koprolit**. Da bi se obavila analiza takvog uzorka potrebno ga je rehidratizirati. Od 1960. godine (Callen i Cameron) se kao standardna tehnika za rehidraciju koristi 0,5%-tna vodena otopina natrijevog fosfata, a za razdvajanje mineraliziranog koprolita 5-10%-tna otopina klorovodične kiseline. Najčešće se u uzorku nalaze jajašca ili ličinke koje je onda lako identificiraju modernim tehnikama. U brojnim nalazima utvrđena je razlika u parazitizmu kod sakupljača-lovaca i kod ljudi nakon što su se počeli baviti agrikulturom, odnoseći se na različiti stupanj higijene, tip staništa i ishrane. Postoje paraziti koji su se prilagodili na specifične domaćine i oni koji to nisu. Neki od njih su tako nađeni samo u filogenetički srodnim vrstama, što upućuje na zajedničkog pretka kao prvotnog domaćina. Paraziti koji se ne pojavljuju u specifičnim i srodnim vrstama, upućuju na određeno ponašanje, socijalne i biološke promjene, koje su dovele do „susreta“ parazita i domaćina nekad tijekom evolucijskog razvoja. Kao primjer za specifičnog parazita koji je „naslijeđen“ od davnih predaka je vrsta *Enterobius vermicularis*, za razliku od *Diphyllobothrium latum* (riblja trakavica), koja je, iako nađena u precima, predstavlja vrstu parazita, koji se radi novog načina ishrane davno u povijesti prilagodio čovjeku kao domaćinu. Glavni problem s kojim se susreću znanstvenici na ovom području je točna indentifikacija koprolita, tj. da li se radi o ljudskom ili životinjskom izmetu. Osim toga, postoje vrste koje su jako slične i teško ih je razlikovati na temelju nalaza jaja ili ličinki iz kopolita (npr. ličinke vrsta *A. duodenale* i *N. americanus*). Paleoparazitologijske analize ljudskih mumija, koprolita i isušanih ispljuvaka govore nam o rasprostranjenosti i starosti ljudskih prazita. Kako moderne tehnike postaju sve osjetljivije i točnije, otkriva se sve više parazitskih infekcija, a sva ta saznanja pomoći će u sadašnjem razumjevanju veze između domaćina i parazita, te načinima kako suzbiti infekciju.

Literatura:

T. V. Luong: Prevention of Intestinal Worm Infections through Improved Sanitation and Hygiene, UNICEF East Asia & Pacific Regional Office, Bangkok, Thailand, 2002.

D. Ropac i suradnici: Medicinska naklada, Zagreb, 2003.

B.Gryseels, K. Polman, J. Clerinx, L.Kestens : Human schistosomiasis, Institute for Tropical Medicine Antwerp, Belgium

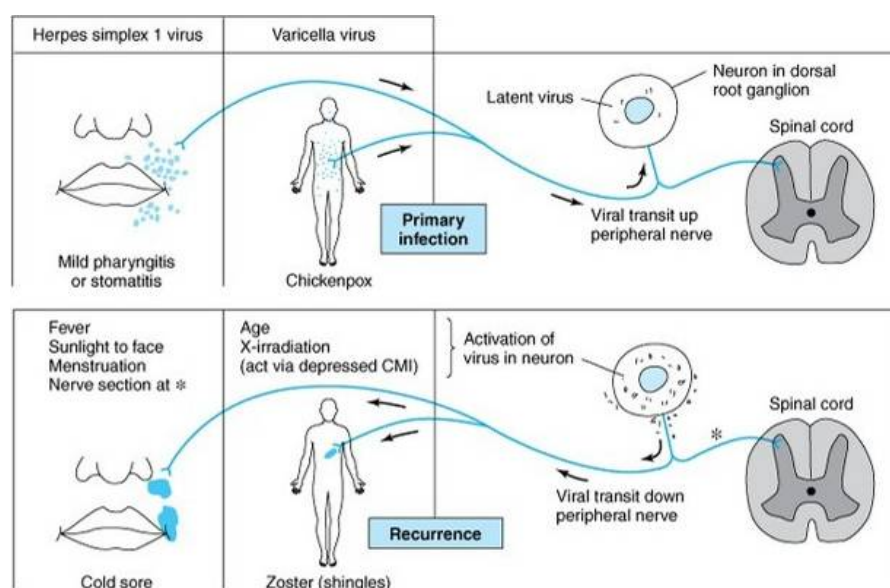
<http://www.parasitesinhumans.org/fasciola-hepatica-liver-fluke.html>

M. L. C. Goncalves, A. Araujo, L. Fernanda Ferreira: Human Intestinal Parasites in the Past: New Findings and a Review, Rio de Janeiro, Brasil, 2003.

8. HERPSEVIRIDAE

Herpesviridae

Porodica herpesvirusa obuhvaća neke od najčešćih ljudskih patogena. Herpesvirusi koji obično inficiraju ljude su **Herpes simplex virus tipa 1 i 2 (HSV)**, **Varicella-zoster virus (VZV)**, **citomegalovirus (CMV)**, **Epstein-Barrov virus (EBV)**, **herpesvirusi 6 and 7** i **ljudski herpesvirus 8 (herpesvirus povezan s Kaposijevim sarkomom)**. Herpes B virus majmuna najznačajniji je među životinjskim herpesvirusima koji mogu inficirati i ljude. U skupini postoji još gotovo 100 virusa koji mogu inficirati životinje različitih vrsta. Jedno od svojstava herpesvirusa je mogućnost uspostavljanja dugih perzistentnih infekcija i periodična reaktivacija. Do reaktivacije latentnih virusa dolazi zbog različitih čimbenika, kao što su fiziološki stres, opekline od sunca, imunosupresija, vrućica i dr. Česte reaktivacije kod imunosuprimiranih osoba uzrokuju opasne komplikacije, dok kod osoba normalnog imunološkog sustava ti virusi uglavnom ne uzrokuju teže bolesti. Kod nekih virusa, reaktivirane infekcije mogu se po simptomima razlikovati od primarne infekcije, npr. Varicella-zoster virus uzrokuje vodene kozice, a reaktivirani virus uzrokuje drugačiju bolest koja se naziva herpes zoster. Karakteristika herpesvirusa je i velik broj nositelja u populaciji (za većinu ljudskih herpesvirusa 60-90%). Neki herpesvirusi povezani su s nastankom raka u ljudi i životinja, npr. EBV je povezan s nastankom Burkittovog limfoma kod djece u Africi, a humani herpesvirus 8 je povezan s Kaposijevim sarkomom.



Građa herpesvirusa

Herpesvirusi su relativno veliki virusi, promjer s ovojnicom je 150- 200 nm. U središtu je dvolančana DNA okružena proteinskom kapsulom ikozaedarske građe od 162 kapsomere. Nukleokapsida je okružena ovojnicom koja nastaje od membrane inficirane stanice i sadrži virusom kodirane glikoproteine i Fc receptore za protutijela. Amorfnu strukturu između kapside i ovojnice, tegument, sadrži virusne proteine i enzime koji sudjeluju u započinjanju replikacije. Ovojnica je dosta krhka, a ako je oštećena, virus nije infektivan i zato je osjetljiv na isušivanje, kiseline, detergente i organska

otapala te ne može dugo ostati infektivan u vanjskom okolišu. Genom je dvolančana linearna DNA, od 125-240 tisuća parova baza (kpb). Homologija između različitih herpesvirusa je mala, osim između Herpes simplex virusa 1 i 2 te humanih herpesvirusa 6 i 7, koji imaju do 50 % homolognih sekvenci. Replikacija se odvija u jezgri, a pupaju sa stanične membrane. Pomoću restriktivskih endonukleaza mogu se razlikovati vrste, a i sojevi herpesvirusa. Herpesvirusi sadrže velik broj gena, kodiraju više od 100 različitih proteina, od kojih virion nosi više od 35 proteina, a 10 ih je u virusnoj ovojnici. Ostali proteini sudjeluju u metabolizmu nukleinskih kiselina, sintezi DNA, ekspresiji gena i regulaciji aktivnosti proteina vezanih za transkripciju i translaciju. Mnogi od tih gena su homolozi staničnih gena i specifični su za vrstu virusa, a neki sudjeluju u izbjegavanju imunološkog sustava domaćina.

Replikacija herpesvirusa

Virus ulazi u stanicu fuzijom virusne ovojnice sa staničnom membranom i preko glikoproteina veže stanične receptore i koreceptore. Neki herpesvirusi vežu kao receptore glikozaminoglikane, osobito heparin sulfat, a primjer koreceptora su molekule imunoglobulinske porodice. Zatim kapsida ulazi u citoplazmu, a DNA se oslobađa u jezgri i postaje kružna molekula. Replikacija DNA i morfogeneza odvijaju se u jezgri. VP16 protein tegumenta sudjeluje u aktivaciji ekspresije gena. Slijedi sinteza virusnih proteina. Virusni glikoproteini i proteini tegumenta nakupljaju se uz membrane organela, uglavnom jezgre, na mjestima s kojih će pupati virusi. Virusi s ovojnicom zatim se vezikularnim transportom odvede na površinu stanice. Replikacija virusa traje od 18 do 70 sati. Produktivna infekcija većinom završava smrću stanice jer dolazi do zaustavljanja stanične sinteze makromolekula. Citopatski efekti razlikuju se za pojedine viruse.

Podjela herpesvirusa

Na temelju bioloških osobina, herpesviruse dijelimo u sljedeće potporodice. **Alfa-herpesvirusi** su citolitički virusi koji se brzo umnožavaju i mogu uspostaviti latentnu infekciju u neuronima. U tu skupinu spadaju Herpes simplex virusi 1 i 2 te Varicella-zoster virus. **Beta-herpesvirusi** se sporije umnožavaju i mogu uzrokovati citomegaliju- povećanje inficiranih stanica te mogu biti latentni u egzokrinim žlijezdama i bubrezima. Takav je citomegalovirus i ljudski herpesvirusi 6 i 7 koji u tu skupinu spadaju prema genomskoj sličnosti, dok su po biološkim značajkama sličniji gama-herpesvirusima jer inficiraju limfocite T. **Gama-herpesvirusi** inficiraju stanice limfocitne loze i prelaze u latentni oblik, u toj potporodici su EBV i humani herpesvirus 8.

Od virusa koji inficiraju životinje najznačajniji su B virus (herpesvirus simiae), saimiri herpesvirusi i ateles virus majmuna; herpesvirus marmozeta (rod *Simplexvirus*); virus pseudobjesnoće svinja te zarazni goveđi rinotraheitis stoke (rod *Varicellovirus*)-

Alfa-herpesvirusi

Herpes simplex virus tip 1 (HSV-1)

Herpes simplex je jako rasprostranjen uzročnik bolesti. Više od 90% odraslih ima protutijela na HSV-1 do petog desetljeća života. U najčešćem obliku infekcija počinje u ustima i grlu. Perzistentna infekcija traje cijeli život, a virus se prenosi preko sline, trajno je prisutan u latentnom obliku te često dolazi do reaktivacija. Kod osoba koje imaju zdrav imunološki sustav, virusna infekcija ostaje lokalizirana i vrlo

rijetko predstavlja tešku bolest, no može imati ozbiljne komplikacije kod novorođenčadi, te kod osoba s AIDS-om ili čiji je imunološki sustav oslabljen drugim poremećajima ili lijekovima.

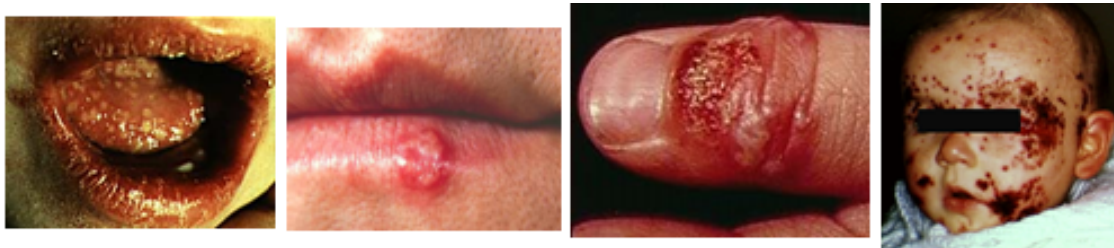
Etiološki čimbenik

Herpes simplex virus tipa 1 sličan je tipu 2, homologija DNA je oko 50%. Za ulazak u stanicu receptor je proteoglikan heparan sulafat, koji je prisutan na različitim stanicama. To su veliki virusi, kodiraju najmanje 80 proteina, od kojih su mnogi uključeni u interakciju s domaćinovima stanicama i izbjegavanje imunološkog odgovora. Primjer su gC protein koji veže komponentu komplekta C3 i gE koji veže Fc dio imunoglobulina G pa se virus njime oblaže i 'skriva' od imunološkog sustava. Oba tipa HSV-a mogu se prenijeti na područje kože ili sluznice spolnog trakta ili sluznice usta s kojom dođu u kontakt. Najveća razlika između HSV-1 i HSV-2 je u načinu ulaska u organizam. Tip 1 ulazi u organizam najčešće oralno direktnim dodirima, slinom ili oralnim sekretima, za vrijeme ljubljenja ili korištenja kontaminiranog pribora za jelo, dok se tip 2 najčešće prenosi spolnim putem, ili pak tijekom porođaja prelazi od majke na dijete. Izvor zaraze je zaraženi čovjek. HSV-1 u većini slučajeva uzrokuje labijalni herpes (u području usta, nosa i lica), a samo u 5 do 10% slučajeva može uzrokovati genitalni herpes (prilikom oralno-genitalnih aktivnosti). HSV-2 obično uzrokuje genitalni herpes, i u većini slučajeva primarna infekcija javlja se kod odraslih osoba i spada u spolno prenosive bolesti.

Mikrobna patogeneza i simptomi

Virus se umnožava u epitelu usta i grla te lizira inficirane stanice. Nastaju mjehurići koji sadrže veliki broj infektivnih neurona. Neke epitelne stanice fuziraju i nastaju velike višezegrene stanice. Inficirane stanice često sadrže intranuklearno inkluzijsko tijelo na mjestu gdje se odvija replikacija virusa. Dio virusa dospjeva do limfnih čvorova pa se razvija imunološki odgovor i ograničava infekcija, ali virusi nisu potpuno uklonjeni jer neki virioni ulaze u senzoričke neurone, gdje godinama ostaju u latentnom obliku i povremeno dolazi do reaktivacije, pod utjecajem stresa, bolesti koje uzrokuju porast temperature, pretjeranog izlaganja UV-zračenju ili menstruacije. Kod infekcije oralne sluznice, virus odlazi u trigeminalni ganglij, a kod infekcije genitalne sluznice virus ulazi u sakralni ganglij. Tijekom reaktivacije virus senzoričkim živcima odlazi do kože ili sluznica, gdje uzrokuje simptome reaktivirane bolesti, najčešće kao *herpes labialis* ili groznica.

Primarna infekcija obično nastaje u djetinjstvu bez simptoma ili uz povišenu temperaturu i mjehuriće koji prelaze u ulceracije i krastice u ustima i grlu (primarni gingivostomatitis). Unutar 10 dana dolazi do spontanog oporavka, nakon čega ostaje latentna infekcija. HSV ponekad može inficirati i druge dijelove kože gdje su već prisutna oštećenja, npr. kod ljudi koji rukama dolaze u dodir s inficiranim tjelesnim tekućinama može uzrokovati bolnu infekciju prstiju, engl. *herpetic whitlow*, a kod hrvača su poznate infekcije na raznim dijelovima kože gdje dolazi do abrazije. Virus utrljan u oko može uzrokovati keratinitis, a u SAD-u je to drugi najčešći uzrok sljepoće, nakon traume. U djece kod koje postoje neka druga oštećenja kože, može se razviti osip, herpetički ekcem. U tom slučaju nastaje teža infekcija i virus se može proširiti i na druge organe. Ponekad zbog infekcije HSV-1 nastaje encefalitis, najčešći tip virusnog encefalitisa. To je febrilna bolest koja može uzrokovati oštećenje temporalnih režnjeva, prilikom čega se pojavljuje krv u cerebrospinalnom likvoru i dolazi do napadaja, a moguć je i smrtni ishod. Reaktivirana bolest počinje peckanjem ili svrbežom kože ili sluznice, najčešće oko usta, zatim se pojavljuju mjehurići pa ulceracije i krastice, a zacjeljivanje slijedi u 7 do 10 dana i obično je manjeg intenziteta nego primarna infekcija, a može proći i bez simptoma.



S lijeva na desno: gingivostomatitis, herpes *labialis*; *herpetic whitlow*, herpetički ekcem

Izolacija i identifikacija etiološkog čimbenika

Virus se može izolirati iz uzoraka biopsije lezija i uzgajati u kulturama tkiva gdje formira karakteristične citopatske pojave. Prisutnost protutijela na virus kod pacijenta može se koristiti za dijagnozu primarne infekcije, ali reaktivirane infekcije obično nisu praćene porastom titra protutijela.

Stanice se obično uzorkuju s dna lezija. Na histokemijskom preparatu mogu se vidjeti fuzirane višezegrene stanice i intranuklearna inkluzijska tijela. Moguće je i imunohistokemijsko obilježavanje protutijelima ili detekcija virusne DNA *in situ* hibridizacijom. Specifičnim protutijelima mogu se razlikovati HSV 1 i 2.

Epidemiološka slika

HSV je jako raširen. Prenosi se bliskim fizičkim kontaktom, iako može preživjeti nekoliko sati na plastici ili odjeći. Najvjerojatniji je prijenos preko lezija ili sline nekoliko dana od pojave bolesti, ali i slina osoba bez simptoma može biti zarazna. Prema podacima o raširenosti protutijela na HSV, velik dio populacije je izložen virusu. U nerazvijenim zemljama, zbog loše higijene protutijela su prisutna kod 90% djece. Općenito, incidencija je najviša kod djece stare 6 mjeseci do 3 godine. Nasuprot tome, HSV-2 ima veću incidenciju kasnije u životu jer se uglavnom širi spolnim odnosima, a najveća prevalencija je među prostitutkama (80%).

Varicella-zoster virus (VZV)

Bolesti koje uzrokuje VZV su vodene kozice i herpes zoster. Vodene kozice su akutna, vrlo zarazna bolest, uglavnom dječje dobi, s generaliziranim osipom i obično diskretnim općim simptomima. Do 18. stoljeća smatralo se da je to samo blaži oblik varirole. Bolest je teža kod odraslih osoba, a kod imunokompromitiranih pacijenata često i fatalna, a sve je češća pojava težih oblika bolesti i simptoma u središnjem živčanom sustavu. Kod odraslih osoba VZV uzrokuje herpes zoster. Herpes zoster je sporadična bolest odraslih ili imunosuprimiranih osoba, očituje se kao osip ograničen na područje kože inervirano određenim osjetnim ganglijem. Smatra se da su vodene kozice akutna bolest kod prvog dodira s virusom, a zoster je odgovor djelomično imunog domaćina na reaktivaciju latentnog virusa.

Etiološki čimbenik

Uzročnik vodenih kozica i herpes zoster je *varicella zoster virus* koji se danas naziva i ljudski herpes virus 3. Isti virus uzrokuje vodene kozice i herpes zoster i nema značajne genske varijacije između virusnih izolata iz mjehurića tih dviju bolesti. Virus ima izraziti afinitet za kožu i sluznice, a u vanjskoj sredini se može održati nekoliko dana. Vodene kozice su isključivo bolest čovjeka, nema životinjskog rezervoara. VZV je morfološki identičan herpes simplex virusu. Citopatske promjene su više

ograničene i sporije se šire nego kod HSV-a. U kulturama ljudskog embrionalnog tkiva nastaju tipična inkluzijska tijela u jezgri. Serijska propagacija se lakše postiže prijenosom zaraženih stanica nego tekućine iz kulture tkiva.

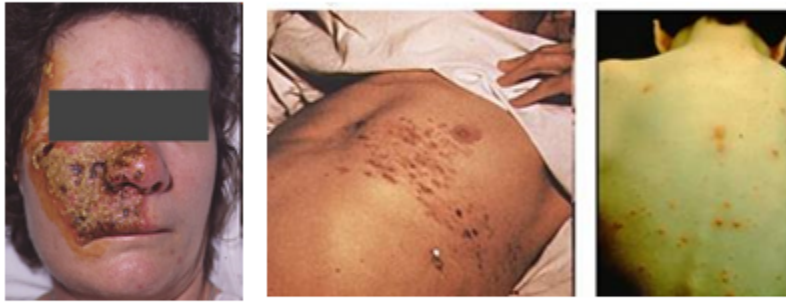
Mikrobna patogeneza i simptomi

Put zaraze ide preko sluznice gornjeg dišnog sustava ili spojnice oka. Nakon replikacije u regionalnim limfnim čvorovima i primarne viremije dolazi do replikacije u jetri i slezeni. Slijedi sekundarna viremija u kojoj virus inficira i mononuklearne stanice te dolazi do sluznica i kože pa nastaje tipični osip. Virus se u koži širi preko susjednih stanica te nastaju karakteristične lezije, odnosno osip. U inficiranim stanicama nastaju inkluzijska tijela u jezgri, a neke inficirane stanice fuziraju te nastaju višejezgrene divovske stanice. Inficirane stanice bubre i naposljetku su lizirane. Osip započinje malim crvenim mrljama, makulama, a zatim se razvijaju kvržice, papule, koje se ispune tekućinom pa nastaju mali mjehurići ili vezikule. Vezikule se kasnije isuše, nastaje krasta i slijedi zacjeljivanje. U istom trenutku mogu biti prisutni različiti stadiji lezija. Osip svrbeža, a češanje može dovesti do ozbiljnih sekundarnih infekcija bakterijama *Streptococcus pyogenes* ili *Staphylococcus aureus* te mogu ostati ožiljci.

Inkubacijski period vodenih kozica traje od 10 do 21 dan. Početni simptomi su umor i blago povišena temperatura, a uskoro se pojavljuje osip, prvo na trupu, a zatim na ostalim dijelovima kože. Osip traje oko pet dana i obično nastaje više stotina vezikula. Subklinički slučajevi su rijetki, kao i komplikacije kod normalne djece. U rijetkim slučajevima dolazi do encefalitisa. Novorođenčad se može zaraziti preko majke neposredno prije ili nakon rođenja kad još nije razvijen imunološki sustav pa nastaje raširena infekcija, a mortalitet je do 30%. Kod odraslih, novorođenčadi i imunokompromitiranih pacijenata najčešća je komplikacija upala pluća, a kod normalne djece je rijetka. Za imunokompromitirane osobe opasna je intravaskularna koagulacija te oštećenja pluća, jetra, bubrega i mozga.

Imunološki sustav obično zaustavlja infekciju, jednom preboljena infekcija ostavlja trajnu imunost, ali neki virioni ulaze u senzoričke živce i tamo mogu dugo ostati u latentnom obliku. Virusna DNA nalazi se u senzoričkim ganglijima uz leđnu moždinu, iako u neuronima nema potpune ekspresije virusnog genoma. Ne zna se koji je mehanizam supresije replikacije u živčanim stanicama, vjerojatno je važnija stanična imunost, s čijim je slabljenjem povezana pojava herpesa zoster. Pretpostavlja se da tad dolazi do produkcije infektivnih virusa u ganglijima koji se aksonima prenose do kože, gdje se infekcija reaktivira. U gangliju i živcu razvija se upalna reakcija te zoster ubrzo nestaje. Lezije kože histopatološki su identične kao kod vodenih kozica i obično zauzimaju područja kože inervirana određenim ganglijem.

Herpes zoster se pojavljuje kod osoba kojima je imunitet oslabio zbog bolesti, starenja ili liječenja, a povremeno i kod zdravih odraslih osoba. Obično počinje jakim boli na području inerviranom zahvaćenim senzoričkim živcima, a nakon toga nastaje nakupina vezikula na zahvaćenom području kože, najčešće na trupu, vratu ili licu. Najčešća komplikacija zoster kod starijih je postherpetička neuralgija- kronična bol koja može potrajati mjesecima. Za imunosuprimirane pacijente postoji opasnost od nastanka upale pluća i drugih visceralnih bolesti, a osip je često raširen po cijelom tijelu.



Lijevo i sredina: herpes zoster,
Desno: vodene kozice.

Izolacija i identifikacija etiološkog čimbenika

U tekućini iz mjehurića (Tzanckov razmaz) vide se višejezgrene divovske stanice. Unutarstanični virusi mogu se dokazati imunofluorescencijskim bojanjem sličnih razmaza. Virus se može izolirati iz tekućine mjehurića na početku bolesti upotrebom kultura ljudskih stanica u 3-7 dana. Virusi su u toj tekućini labilni pa je potrebna brza inokulacija kultura. U klinici se koriste brzi dijagnostički postupci. Antigeni virusa i virusna DNA mogu se detektirati u tekućini iz mjehurića, strugotinama kože i materijalu biopsije. Virusna DNA može se analizirati lančanom reakcijom polimeraze (PCR). VZV možemo razlikovati od poxirusa po i po morfologiji virusnih čestica u tekućini iz mjehurića gledanoj elektronskim mikroskopom. Porast titra specifičnih protutijela u serumu može se dokazati različitim serološkim testovima. Stanična imunost je važna, ali teška za dokazati.

Epidemiologija

Vodne kozice su bolest male i školske djece, u gradovima se pojavljuju endemijski, a u ruralnim područjima epidemijski. Česte su epidemije u školama, dječjim domovima i sličnim ustanovama. Veće epidemije nastaju svakih nekoliko godina, češće su zimi i u proljeće (kao i bolesti dišnog sustava) jer se šire izravnim kontaktom sa sekretima dišnog sustava, a uz to je zarazna i tekućina iz vezikula. Visoka kontagioznost uzročnika omogućuje prenošenje bolesti i preko kontaminiranih predmeta. Pacijenti su zarazni prvih nekoliko dana osipa.

Vodne kozice rasprostranjene su po cijelome svijetu. Godišnje u Hrvatskoj od vodenih kozica oboli oko 20 000 pacijenata, a prema podacima Zavoda za javno zdravstvo, 2008 godine broj oboljelih iznosio je 17 607. Iako je to obično blaga bolest, postoje i rijetki smrtni ishodi, obično kod novorođenčadi, imunokompromitiranih osoba i kod pacijenata s rijetkim živčanim komplikacijama (meningoencefalitis). U RH zabilježena su četiri smrtna ishoda od 1976. do sada. Deset do 20 % odraslih ispoljava herpes zoster jednom ili više puta u životu, obično nakon 50-te godine.

Prevenција

Radi prevencije potrebno je izolirati oboljele do stadija krasta, važna je dezinfekcija predmeta i izbjegavanje kontakta s neimunim osobama. Živo atenuirano cjepivo protiv vodenih kozica je 1995. odobreno za upotrebu u SAD-u. Cjepivo je učinkovitije kod djece nego kod odraslih, uspješnost sprječavanja ozbiljne bolesti je oko 95% i smatra se da imunitet nakon vakcinacije traje više od 20 godina. Oko 5% ljudi razvije blagi osip mjesec dana nakon imunizacije, a rijetko je moguće da se tako prenese virus iz vaccine. Cjepivo protiv herpesa zostera je jača verzija cjepiva protiv vodenih kozica i učinkovito je u smanjivanju pojave zostera ili ublažavanju bolesti kod starijih osoba.

Beta-herpesvirusi

Citomegalovirus (CMV)

Citomegalovirus je važan zbog visoke učestalosti u svijetu. Ljudi se obično zaraze u djetinjstvu ili adolescenciji i primarna infekcija obično prolazi bez simptoma, a nakon toga virus prelazi u latentni oblik. Najopasniji je za odrasle imunosuprimirane osobe, jer mogu nastati teške i često za život opasne infekcije, a jedna od posljedica može biti sljepoća. Novorođenčad se može zaraziti preko posteljice ili ranog postnatalnog prijenosa i oboljeti od citomegalične inkluzijske bolesti, koja može ostaviti trajna oštećenja.

Etiološki čimbenik

Citomegalovirus izgleda pod elektronskim mikroskopom kao i drugi herpesvirusi, ali ima najveći genom, 240 kpb. Opisano je samo nekoliko od proteina koje kodira, među njima Fc receptor koji veže protutijela i tako zaobilazi djelovanje imunološkog sustava. CMV ima jedan od najjačih poznatih pojačivača transkripcije, s puno vezujućih mjesta za stanične transkripcijske faktore.

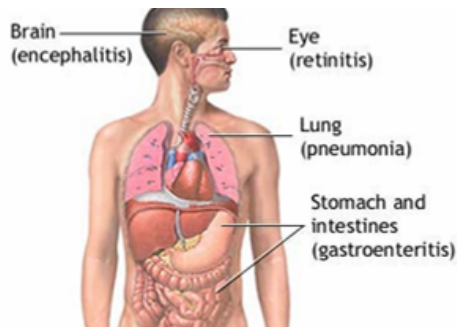
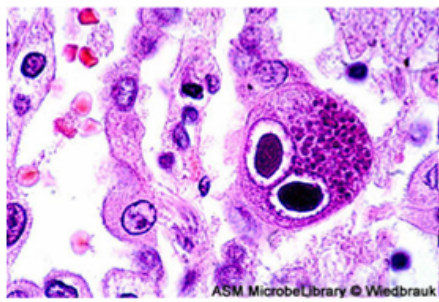
Postoji puno genetički različitih sojeva citomegalovirusa u ljudskim populacijama. Iako postoje, antigenske razlike među sojevima nisu velike i vjerojatno nisu važne determinante bolesti. Postoje i brojni životinjski citomegalovirusi koji su, kao i ljudski CMV, specifični za vrstu životinje i vrstu stanica, zato nije uspjelo prenošenje ljudskog CMV na laboratorijske životinje.

CMV se *in vitro* razmnožava samo u kulturama ljudskih fibroblasta. U stanicama *in vitro* se vrlo sporo replicira, stoga treba nekoliko tjedana da se inficira cijeli sloj stanica. Malo virusa se oslobađa iz stanica jer se uglavnom šire od stanice do stanice. CMV uzrokuje karakteristične citopatske efekte: inficirane stanice su značajno veće od normalnih i imaju velika inkluzijska tijela u jezgri okružena svijetlim područjem, zbog čega se pojava često naziva 'sovino oko', a uz to se javljaju i perinuklearne inkluzije. Često se mogu vidjeti i višejezgrene stanice.

Mikrobna patogeneza i simptomi

Primarna infekcija starije djece i odraslih je obično bez simptoma, a samo ponekad se javljaju simptomi slični mononukleozi. Takvi simptomi su blagi, a komplikacije su rijetke. Česti simptomi su umor, bolovi mišića, povišena temperatura, povećanje slezene i limfnih čvorova te poremećaji u funkciji jetre. Inkubacijski period kod djece i odraslih je 4 do 8 tjedana. Virus su pronađeni u plućima, jetri, jednjaku, kolonu, bubrezima, monocitima i limfocitima, dakle nastaje sistemska infekcija. Stanična imunost je smanjena, a za oporavak imuniteta treba nekoliko mjeseci. CMV, kao i drugi herpesvirusi, uspostavlja latentnu infekciju koja traje cijeli život. U serumu većine ljudi postoje protutijela na CMV.

Primarna infekcija je opasnija kod imunosuprimiranih pacijenata, kao što su oboljeli od HIV-a, primatelji transplantata i pacijenti na terapiji malignih oboljenja. Ekskrecija virusa je povećana i produžena te je češća diseminirana infekcija, npr, javljaju se gastroenteritis i korioretinitis koji dovodi do progresivne sljepoće. Najčešća komplikacija je upala pluća.



Lijevo: citopatologija CMV ,

Desno: diseminirana infekcija

Infekcije fetusa i novorođenčadi mogu biti ozbiljne, osobito ako nastane citomegalična inkluzijska bolest, kod koje dolazi do infekcije središnjeg živčanog sustava i retikuloendotelnog sustava. Simptomi su bol u zglobovima, povećanje jetre i slezene, mikrocefalija i retinitis, a kod velikog postotka oboljele djece (5-20%) uzrokuje poremećaje u razvoju, gluhoću i mentalnu retardaciju. Mortalitet je oko 20%. Dijete se u maternici može zaraziti od majke. Djeca majki koje su tijekom trudnoće imale primarnu infekciju češće obolijevaju od inkluzijske bolesti, a kod onih s reaktiviranom infekcijom češća je kronična bolest bez simptoma.

Isolacija i identifikacija etiološkog čimbenika

Za izolaciju CMV koriste se kulture ljudskih fibroblasta. Virusi se mogu uzeti iz lavaže grla i urina. Za pojavu citopatskih promjena u kulturama potrebna su dva do tri tjedna, uočavaju se male nakupine nabubrenih, prozirnih stanica s velikim inkluzijama u jezgri.

Budući da je uzgoj virusa u kulturama stanica prespor, umjesto izolacije umnoženih virusa koriste se PCR i serološki testovi. Najčešće se analiziraju krv i urin. Za serološku detekciju koriste se monoklonska protutijela na virusne antigene kojima se otkrivaju inficirani leukociti. Mnogi testovi mogu otkriti IgG protutijela na CMV koja ukazuju na infekciju u prošlosti, dok detekcija IgM protutijela dokazuje trenutnu infekciju. Serološki testovi nisu od koristi kod imunokompromitiranih pacijenata i ne mogu se koristiti za razlikovanje sojeva u kliničkim izolatima.

Epidemiologija

Citomegalovirus je stalno prisutan u svim dijelovima svijeta, s jednakom učestalošću bez obzira na doba godine. Razlike postoje jedino s obzirom na higijenske uvjete i kvalitetu života, npr. u razvijenim zemljama prevalencija protutijela kod odraslih iz bogatijih slojeva je 40-70%, dok je nerazvijenim zemljama i u siromašnijim populacijama razvijenih zemalja prevalencija kod djece i odraslih oko 90%.

Ljudi su jedini domaćini za CMV. Za prijenos je potreban bliski kontakt. Virusi se mogu nalaziti u urinu, slini, mlijeku, spermi, cervikalnim sekrecijama, leukocitima i u transplantatima tkiva. Smatra se da je najčešći put prijenosa oralni i preko dišnog sustava, a moguće je širenje i preko posteljice, transfuzijama krvi, transplantacijama i spolnim odnosima. Inficirane osobe mogu dugo širiti viruse, čak i po nekoliko godina, stoga se može reći da je izloženost CMV-u vrlo velika. Primarne infekcije su gotovo uvijek bez simptoma.

U SAD-u je 1% novorođenčadi inficirano CMV-om, većina ima subkliničku kroničnu infekciju, a 5-10% oboli od citomegalične inkluzijske bolesti koja je povezana s poremećajima u razvoju i visokom smrtnošću. Sve kongenitalne infekcije su kronične i širenje virusa dugo traje, uglavnom preko sline i urina. Više djece je zaraženo u prvim mjesecima života, većinom su to asimptomatske infekcije s također dugim razdobljem širenja virusa.

Prevenција

Zasad nema odobrenog cjepiva protiv CMV, ali radi se na razvoju živog i rekombinantnog cjepiva. Moguće su neke preventivne mjere, npr. izolacija novorođenčadi s citomegaličnom inkluzijskom bolesti. Zbog velikog rizika za imunosuprimirane primatelje transplantata koji su seronegativni na CMV, važna je kontrola davatelja i primatelja. Kod djece koja trebaju transfuziju, preporuča se korištenje krvi seronegativnih donora.

Ljudski herpesvirus 6 (HHV 6)

T-limfotropni humani herpesvirus 6 prvi je put prepoznat 1986. Prvo je izoliran iz kultura mononuklearnih stanica periferne krvi pacijenata s limfoproliferativnim poremećajima i AIDS-om.

Etiološki čimbenik

HHV 6 je po rasporedu gena sličan citomegalovirusu, a po antigenima je sličan samo humanom herpesvirusu 7, s kojim pokazuje djelomičnu križnu reaktivnost. Genom je veličine 160-170 kpb. Izolati HHV 6 dijele se na dvije antigenske grupe, A i B. Virusi se najbolje umnožavaju u CD4 T limfocitima, a replikaciju također podržavaju B stanice, glija stanice, fibroblasti i megakariociti. Receptor za virus je površinska molekula CD46. Virus je prisutan u slini, dakle mora inficirati stanice usta i ždrijela. Inficirane stanice su veće od normalnih, s virusnim inkluzijama u citoplazmi i jezgri.

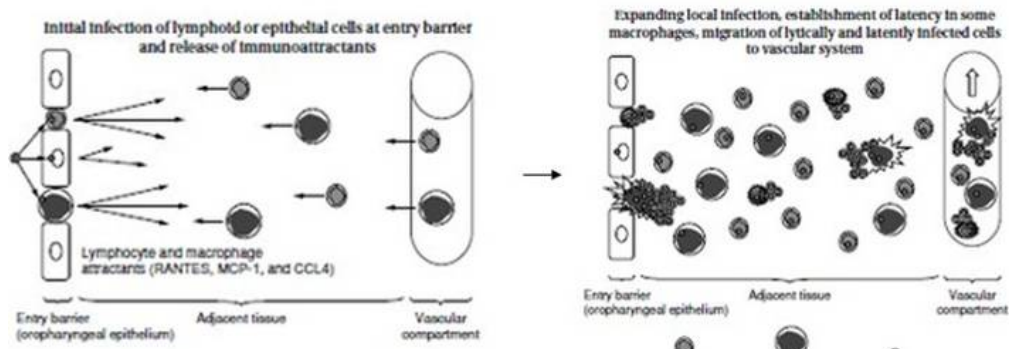
Mikrobna patogeneza i simptomi

Ljudi se obično inficiraju humanim herpesvirusom 6 u ranom djetinjstvu. Primarna infekcija uzrokuje *exanthem subitum* koji se još naziva *roseola infantum* i šesta bolest (Slika 5). To je blaga i česta dječja bolest kod koje se javlja nagli porast temperature i osip na koži¹. Ponekad dolazi i do infekcije gornjeg dišnog sustava i povećanja limfnih čvorova. Simptomi traju nekoliko dana nakon inkubacijskog perioda od oko 14 dana³. Smatra se da je uzročnik HHV-6B, a za HHV-6A nije dokazana povezanost s nekom bolešću¹. Bolest uzrokovana HHV-6B se kod odraslih jako rijetko pojavljuje, a simptomi su slični mononukleozi².



Roseola infantum

Infekcija je perzistentna, virus je prisutan cijeli život. Patogeneza i posljedice reaktivacije još nisu razjašnjene, ali zna se da dolazi do reaktivacije tijekom trudnoće i kod transplantiranih pacijenata. Prilikom transplantacije hematopoetskih matičnih stanica, dolazi do reaktivacije virusa kod polovice pacijenata¹, što je povezano s plućnim infekcijama, encefalitisom, dužim prihvaćanjem transplantata i povećanom smrtnošću.



Tijek
infekcije
HHV-6

Epidemiologija

Epidemiološke studije, u kojima su korišteni imunofluorescencijski testovi za protutijela u krvi i PCR za virusnu DNA iz sline ili krvnih stanica, pokazale su da je virus raširen u populacijama. Procijenjeno je da je 90% djece starije od 1 godine i odraslih pozitivno na virus. Virus postoji u latentnom obliku u slinovnicama i smatra se da se djeca većinom zaraze preko sline.

Izolacija i identifikacija etiološkog čimbenika

HHV-6 se može uzgajati u kulturama limfocita djece izoliranih tijekom febrilne faze bolesti, a potrebna je aktivacija limfocita fitohemaglutininom, protutijelom na CD3 i održavanjem IL-2. Dijagnostičke metode su PCR i serološki testovi.

Ljudski herpesvirus 7 (HHV 7)

Humani herpesvirus 7 također je T-limfotropni virus. Prvi put je izoliran 1990. iz aktiviranih T stanica iz periferne krvi zdravih osoba. Na razini DNA pokazuje homologiju od 50% s HHV 6, ali imunološki se razlikuju.

HHV 7 je sveprisutan virus. Većina ljudi zarazi se u ranom djetinjstvu, ali ipak se radi o nešto starijoj dječjoj dobi nego kod HHV-6. Virus uspostavlja perzistentu infekciju u žlijezdama slinovnicama i može se pronaći u slini većine ljudi. U longitudinalnom istraživanju tijekom 6 mjeseci pronađeno je da 75% zdravih odraslih ljudi izlučuje virus u slini jednom ili nekoliko puta. Još nije dokazana povezanost s nekom bolešću.

Gama-herpesvirusi

Epstein-Barrov virus (EBV)

Epstein-Barrov virus je uzročnik infektivne mononukleoze, zarazne bolesti retikuloendotelnog i limfnog sustava. Povezan je i s nastankom Burkittovog limfoma, nazofaringealnog karcinoma i drugih limfoproliferativnih poremećaja kod imunodeficijentnih osoba.

Etiološki čimbenik

Infektivna mononukleoza dobila je ime po povećanju broja mononuklearnih leukocita u krvi. Prvi put je opisana 1889. godine, ali etiologija bolesti dokazana je tek 1967. godine kad je otkriveno da oboljeli stvaraju protutijela na prethodno otkriveni Epstein-barrov virus. EBV je prvi put izoliran na početku 1960-tih iz Burkittovog limfoma, malignog tumora nastalog od B limfocita. EBV je specifičan za vrstu, ali eksperimentalno je zaražena vrsta majmuna tamarina i kod njih se razvijaju maligni limfomi.

Genom EBV-a sadrži 172 kpb i kodira oko 100 gena. Problem kod istraživanja EBV-a je nedostatak potpuno permissivnih stanica za uzgoj virusa. Virus veže receptor za C3d komponentu komplementa (CR2 ili CD21) koja je eksprimirana na B limfocitima i epitelnim stanicama orofarinksa, a problem je što stanice u kulturi izgube receptor.

U limfocitima odmah ulazi u latentno stanje, s ograničenom ekspresijom virusnih produkata i potencijalom za reaktivaciju i litičku replikaciju. EBV najradije inficira ljudske B limfocite koje može

imortalizirati, takvi limfociti mogu se neograničeno dijeliti. U latentnom stanju stanica sadrži nekoliko neugrađenih kopija (episoma) virusnog genoma koje se repliciraju kad se stanica dijeli. Mali dio imortaliziranih stanica proizvodi infektivne viruse, manje od 10%. Ekspimirano je 10-ak gena, uključujući šest različitih EBV- nuklearnih antigena, EBNA, dvije male RNA i dva membranska proteina, LMP1 i 2 (engl. *latent membrane proteins*)³. EBV je povezan s brojnim limfoproliferativnim poremećajima.

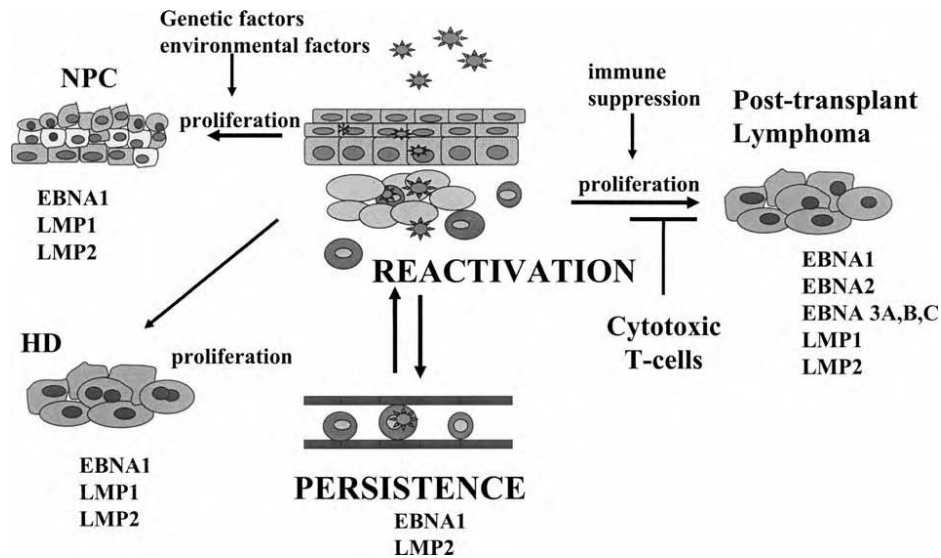
Postoje tri vrste virusnih antigena: antigeni latentne faze (EBNA) otkrivaju da je prisutan virusni genom, rani antigeni su nestrukturalni proteini čija ekspresija indicira nastupanje produktivne replikacije, a kasni antigeni su dijelovi kapside i virusne ovojnice koji nastaju tijekom produktivne virusne infekcije.

Mikrobna patogeneza i simptomi

Infekcija počinje u epitelu usta, slinovnica i grla, a zatim se virus limfom prijenosi do limfnih čvorova gdje inficira limfocite B. Tijekom bolesti je inficirano 20% cirkulirajućih B limfocita. Infekcija može biti produktivna, kad se virus replicira i ubija stanicu; ili neproduktivna, kad virus uspostavlja latentnu infekciju. U većini stanica infekcija je neproduktivna. Virus aktivira B stanice, uzrokujući proliferaciju više staničnih klonova i proizvodnju imunoglobulina. Takve stanice su imortalizirane, što znači da se mogu neograničeno uzgajati u kulturama.

T limfociti odgovaraju na infekciju i uništavaju limfocite B s produktivnom infekcijom. 'Abnormalni' limfociti koji se uočavaju u krvnim razmazima zapravo su aktivirani pomoćnički limfociti T. Proliferirajući limfociti su mnogobrojni i zato se uočava povećan broj mononuklearnih limfocita, a aktivna replikacija se očituje i kao povećanje limfnih čvorova.

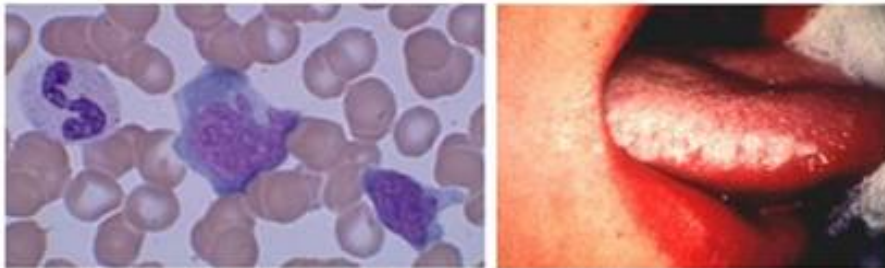
Primarna infekcija kod djece najčešće prolazi bez simptoma, a kod mlađih odraslih osoba često nastaje bolest infektivna mononukleoza. Nakon inkubacije od 5 do 15 dana, a katkad i do šest tjedana, bolest počinje visokom temperaturom, rinofaringitisom i anginom uz gubitak apetita, umor i glavobolju. Uz to dolazi do generaliziranog povećanja limfnih čvorova, što je najuočljivije na vratu i okcipitalno, a pojavljuje se i povećanje slezene i jetre. U većini slučajeva simptomi nestaju za 2 do 3 tjedna. Glavni uzrok smrtnosti kod mononukleoze je ruptura slezene, ali to je vrlo rijetka komplikacija. Najrizičniji je period 3 do 4 tjedna od početka bolesti. Bolesnicima se preporuča oprez i nenaprezanje. Mnogi ljudi šire virus tjednima i mjesecima nakon infekcije⁵. Kod većine pacijenata, većina inficiranih stanica je eliminirana, ali dio limfocita ostaje latentno inficiran. Latentni virusi mogu se reaktivirati, što se očituje kao porast razine virusa u slini i virusne DNA u limfocitima, a takve infekcije su obično bez kliničkih simptoma.



Ekspresija gena EBV-a u različitim fazama patogeneze.

NPC-nazofaringealni karcinom, HD- Hodgkinova bolest, EBNA- EB nuklearni antigen, LMP- *latent membrane proteins* .

Dijelovi genoma i antigeni EBV-a izolirani su iz Burkittovog limfoma, koji je najčešći kod djece u Istočnoj Africi i Novoj Gvineji, i nazofaringealnog karcinoma, koji je najčešći u jugoistočnoj Kini. Genom virusa je prisutan u 90% slučajeva. U Africi je malarija prepoznata kao važan kofaktor u nastanku Burkittovog limfoma, uz EBV. Nije dokazano da EBV povećava rizik pojave maligniteta u ostalim dijelovima svijeta, osim kod imunokomprimiranih osoba oboljelih od AIDS-a ili pacijenata nakon transplantacije, kod kojih je povezan s nastankom benigne hiperplazije B limfocita i nekoliko vrsta malignih limfoma B limfocita. Kod imunokomprimiranih osoba javlja se i oralna 'dlakava' leukoplakija, bijela nakupina bradavičastih struktura na jeziku, gdje se repliciraju B limfociti.



lijevo: krvna slika i desno: oralna leukoplakija

Izolacija i identifikacija etiološkog čimbenika

EBV se može izolirati iz sline, periferne krvi ili limfnog tkiva imortalizacijom normalnih ljudskih limfocita, koji se obično dobivaju iz umbilikalne krvi. To je spor postupak, traje 6 do 8 tjedana, stoga se rijetko koristi. U dijagnostici mononukleoze se uz povišene vrijednosti jetrenih transaminaza može uočiti izrazito povećanje reaktivnih limfocita, odnosno mononukleara. Prije se bolest serološki dokazivala nespecifičnim Paul-Bunnelovim testom, kojim se u serumu dokazuju heterofilna protutijela, tj. protutijela koja aglutiniraju eritrocite nekoliko životinjskih vrsta. Danas se prisutnost

specifičnih protutijela IgG i IgM frakcije na EBV može dokazati metodom indirektno imunofluorescencije, a koriste se i ELISA te imunoblotting. Radi se o protutijelima na nekoliko virusnih antigena: protutijela na VCA (engl. *viral capsid antigen*) ostaju prisutna cijeli život, protutijela na EA (engl. *early antigen*) su prisutna samo tijekom aktivne bolesti, a protutijela na EBNA (engl. *Epstein-Barr nuclear antigen*) se javljaju nekoliko tjedana nakon manifestacije bolesti i ostaju cijeli život. U slučaju kronične mononukleoze prisutna su protutijela na VCA i EA. Prisutnost IgG protutijela specifičnih za VCA interpretira se kao marker ranije infekcije, a protutijela IgM klase su marker trenutne infekcije, iako su mogući lažno pozitivni rezultati. U dijagnostiku limfoproliferativnih bolesti uključena je histologija stanična imunotipizacija. Hibridizacija nukleinskih kiselina je najosjetljivija metoda za dokazivanje EBV-a jer su EBER (engl. *Epstein-Barr encoded RNAs*) prisutne i u latentno inficiranim stanicama.

Epidemiologija

Jedini izvor bolesti je čovjek. Zarazni su i oboljeli i osobe sa subkliničkim oblikom bolesti, a dio ljudi i nakon infekcije EBV-om ostaje stalan izvor zaraze jer mogu dugo nositi virus u orofarinksu i izlučivati ga slinom. Prenosi se dodiranjem s orofaringealnim sekrecijama EBV je rasprostranjen u cijelom svijetu, oko 90% odraslih je seropozitivno. U nerazvijenim zemljama do infekcije dolazi u ranom djetinjstvu, većina djece je zaražena do 6. godine bez prepoznatljive bolesti; a u razvijenijim zemljama većina ljudi se zarazi u adolescenciji i pola slučajeva se očituje kao mononukleoza. Pojava komplikacija kod mononukleoze je rijetka, u RH nikad nije zabilježen smrtni slučaj zbog te bolesti. Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, 2008. godine oboljelo je 1461 osoba.

Prevenција i liječenje

Acyclovir smanjuje širenje virusa iz orofarinksa, ali ne utječe na broj imortaliziranih B stanica. Ne postoji cjepivo protiv EBV-a niti kemoprofilaktički lijekovi. U liječenju limfoproliferativnih bolesti koriste se aciklovir i ganciklovir, a razmatra se i liječenje adoptivnim prijenosom T limfocita.

Humani herpesvirus 8 (HHV-8 ili herpesvirus povezan s Kaposijevim sarkomom)

Etiološki čimbenik

HHV 8 je nedavno, 1994., identificiran kao važan čimbenik u nastanku Kaposijevog sarkoma, stoga se virus često naziva i herpesvirus povezan s Kaposijevim sarkomom. Obični, sporadični oblik tog malignog tumora je opisan 1872. na području Sredozemlja, a pojavljuje se i nakon transplantacija te je uzrok smrti oboljelih od AIDS-a u 12% slučajeva. To je limfotropni virus i srodniji je EBV-u i herpesvirusu nego drugim herpesvirusima. Genom od 165 kpb sadrži brojne gene homologne staničnim regulatornim genima za staničnu proliferaciju, apoptozu i imunološki odgovor, što pridonosi virusnoj patogenezi.

Mikrobna patogeneza

HHV vjerojatno uzrokuje poremećaj u regulaciji citokina i hormona i tako pridonosi nastanku Kaposijeva sarkoma, a povezuje se i s nastankom limfoma podrijetlom iz tjelesnih šupljina kod oboljelih od AIDS-a i multicentrične Castelmanove bolesti.



Kaposijev sarkom kod pacijenta oboljelog od AIDS-a.

Izolacija i identifikacija etiološkog čimbenika

Dijagnosticira se otkrivanjem protutijela serološkim testovima (ELISA, indirektna fluorescencija, *Western blot*). Virusna DNA može se otkriti PCR testovima. Uzgoj u kulturama je težak i nepraktičan.

Epidemiologija

HHV-8 nije toliko raširen kao ostali herpesvirusi. U Europi, 6 zemalja ima prevalenciju ispod 6,5%: Mađarska, Švicarska, Velika Britanija, Francuska, Španjolska i Njemačka; dok je u Albaniji prevalencija 20%. Kod Europljana zaraženih HIV-om prevalencija je od 16-31 %, a kod pacijenata s Kaposijevim sarkomom, virus je prisutan u 75-100% slučajeva, ovisno o zemlji. Smatra se da se često prenosi spolnim odnosima između homoseksualnih muškaraca, jer je kod njih viša seroprevalencija (30-60%), a kod homoseksualaca u Španjolskoj prevalencija je čak 87%. U Africi je prevalencija protutijela viša od 50%, a infekcija je stečena u ranijoj dobi, vjerojatno preko oralnih izlučevina. Smatra se da se virus uvijek izlučuje u slinu, a virusna DNA pronađena je i u mlijeku žena iz Afrike. Virus može biti prenesen u transplantatu i povećava rizik od maligniteta kod imunosuprimiranih pacijenata. Za oboljele od HIV-a postoji veći rizik od nastanka Kaposijevog sarkoma. S primjenom HAART (engl. *highly active anti-retroviral therapy*) liječenja HIV-a smanjila se incidencija, ali i dalje postoji rizik zbog pojave rezistentnih sojeva HIV-a.

Literatura

Brooks et al. (2007): Chapter 33: Herpesviruses. In: Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 24th ed. McGraw-Hill, USA.

Kayser et al. (2005): Medical Microbiology. Thieme, New York, 396- 399.

Hunt R. (2010): Virology- Chapter 11 Herpes viruses. In: Microbiology and immunology on-line, University of South Carolina, <http://pathmicro.med.sc.edu/virol/herpes.htm>

Ropac D. i sur. (2003): Epidemiologija zaraznih bolesti. Medicinska naklada, Zagreb.

Nester, G. et al. (2004): Part 4, Infectious diseases. In: Microbiology: a human perspective, 4th ed. McGraw-Hill, New York, 533-739.

Nemeth Blažić, T. (2005): Herpesvirus infekcije. U: Zdravlje.hr, <http://www.zdravlje.hr/clanak.php?id=12825>, pristupljeno 15.01.2011.

<http://www.hzjz.hr/baze.htm>

Braun D.K. et al (1997): Human Herpesvirus 6. Clinical microbiology reviews, 10:3, 521-567.

Edelman D.C. (2005): Human herpesvirus 8 – A novel human pathogen. Virology Journal, 2: 78.
dostupno na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1243244/?tool=pmcentrez>, pristupljeno 15.01.2011.

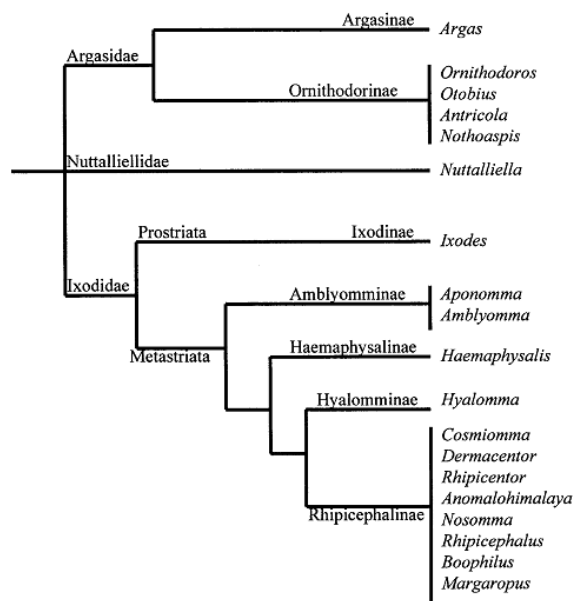
<http://www.cdc.gov/herpesvirus/cause-incidence.html>

<http://www.dentistry.leeds.ac.uk/oralpath/viruses/viral%20infections/340%20images/other%20viral%20images/hairy%20leukoplakia.jpg>

<http://www.dentistry.leeds.ac.uk/oralpath/viruses/viral%20infections/340%20images/other%20viral%20images/KS%20composite.jpg>, pristupljeno 22.01. 2010.

9. BIOLOGIJA KRPELJA

Krpelji su obligatni hematofagni člankonošci koji parazitiraju na kralježnjacima te nastanjuju skoro sva područja na Zemlji. Uz grinje su smješteni kao članovi podrazreda Acari što je najveći podrazred unutar razreda Arachnida. Krpelji dalje taksonomski pripadaju redu Parasitiformes, podred Ixodida, superporodica Ixodoidea. Dosada je zabilježeno 869 vrsta ili subvrsta krpelja. Postoje 3 porodice krpelja – Ixodidae (tvrđi krpelji) koja obuhvaća 694 vrste, Argasidae (meki krpelji) s 177 vrsta te Nuttalliellidae koja obuhvaća samo jednu vrstu ograničenu na Južnu Afriku. Porodica Ixodidae obuhvaća 2 glavne grupe – Prostriata i Metastriata, dok su trenutno poznate dvije podporodice Argasidae – Argasinae i Ornithodorinae (Slika 1.). Klasični koncept dugotrajne evolucije krpelja baziran je na hipotezi koja predlaže da strukturne, fiziološke i biološke modifikacije krpelja predstavljaju adaptacije povezane sa specijalizacijom za određene domaćine što dovodi do pojma kospecijacije. Pretpostavlja se da su se krpelji pojavili u kasnom Paleozoiku ili ranom mezozoiku (otprilike prije 225 milijuna godina) gdje su parazitirali na gmazovima (Parola i Raoult, 2001).



Klasifikacija krpelja (prema Parola i Raoult, 2001)

Krpelji nastanjuju različita staništa, a obzirom na to da su za njihovu aktivnost vrlo važne temperatura i vlažnost, najbrojniji i najaktivniji su u proljeće i početkom ljeta, te nešto rjeđe u jesen. Najčešće se nalaze u prizemnom sloju rubnih područja šuma, u grmlju i niskom raslinju, po šikarama i travnjacima (http://www.emedicinehealth.com/ticks/article_em.htm).

Svojim ubodom krpelji mogu na ljude i životinje prenijeti neke uzročnike zaraznih bolesti te se zato kaže da su oni vektori različitih bolesti. Problem je u tome što bolesti ne uzrokuju ugrizi krpelja već toksini ili patogeni organizmi koji se mogu nalaziti u krpelju koji putem sline uđu u nositeljev (domaćinov) organizam te uzrokuju

bolest. Krpelji su drugi po značaju (nakon komaraca) kao vektori za ljudske bolesti (infektivne i toksične). Iz perspektive prijenosa bolesti na ljude nužna karakteristika krpelja je njihova potreba za ingestijom krvi kako bi se mogli presvući u sljedeći razvojni stadij. Iz tog razloga su opasniji oni krpelji koji nisu usko vezani na određenu vrstu domaćina. No srećom nisu svi krpelji zaraženi patogenim organizmima, već samo njihov vrlo mali dio, te također postoje određena područja gdje je veća vjerojatnost da dođe do zaraze (<http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>).

Povijest istraživanja krpelja

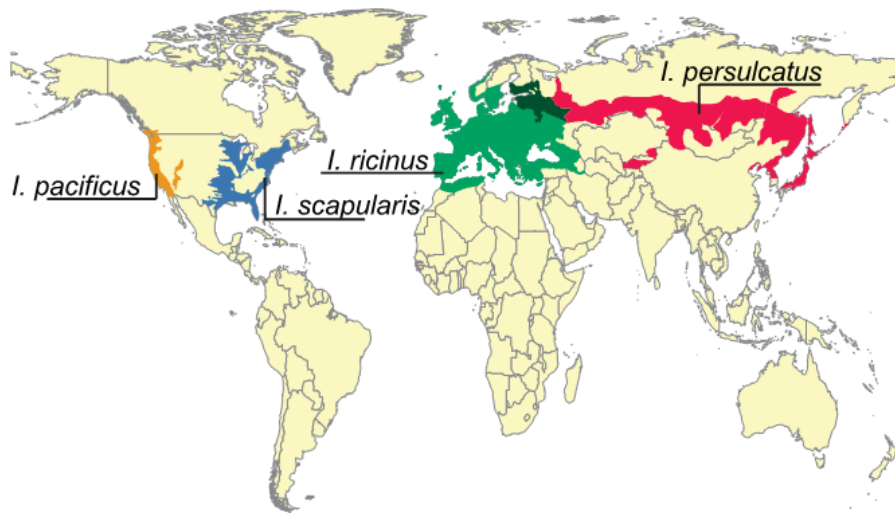
Krpelji su prepoznati kao ljudski paraziti već od doba starih Grka. Prvi dokaz da krpelji prenose infektivne bolesti utvrđen je tek 1893. g. kada su Smith i Kilbourne pokazali da *Boophilus annulatus* (stočni krpelj) prenosi uzročnika Texas groznice stoke *Babesia bigemina* (protozoa). Na početku 20. st. krpelji su implicirani kao vektori ljudskih bakterijskih bolesti. Krpeljna povratna groznica, uzrokovana bakterijskom vrstom *Borrelia duttonii* te se prenosi krpeljom *Ornithodoros moubata*, prvi put je opisana 1905. g. Ricketts je pokazao kako je krpelj vrste *Dermacentor andersoni* uključen u prijenos *Rickettsia rickettsii* što je uzročnik Rocky Mountain pjegavog tifusa. To je bio prvi prepoznati slučaj i pokazana uloga krpelja kao vektora za ljudske bolesti. 1910. g. prvi slučaj Mediteranskog pjegavog tifusa zabilježen je u Tunisu (Conor i Bruch), dok je uloga vrtse *Rhipicephalus sanguineus* (smeđi pseći krpelj) i prijenos bolesti dokazan 30-ih godina 20. st. Francis je 1929. g. opisao epidemiologiju tularemije i ulogu krpelja te drugih člankonožaca koji sišu krv (Parola i Raoult, 2001). Prvi prepoznati slučaj bolesti uzrokovan krpeljom roda *Ixodes* dogodio se na početku 20. st. kada je švedski dermatolog otkrio da je ugriz krpelja *Ixodes ricinus* povezan s nastankom karakteristične kožne lezije nazvane *erythema chronicum migrans*. 40.-ih godina 20. st. u lezijama su uočene spirohete *Borrelia burgdorferi*, ali sve do 1975. g. nije se uočila poveznica s krpeljima. Tada je Steere s kolegama otkrio da je nekoliko djece oboljelo od juvenilnog reumatoidnog artritisa u gradiću Lyme, Connecticut. Prvo je opazio kako je većina djece bolest imala na početku ljeta ili jeseni te se većina sjećala osipa prije početka artritisa. Kasnije je pokazano kako je vrsta *Ixodes scapularis* odgovoran za prijenos te bolesti nazvane Lyme borelioze (Swanson i sur., 2006). Još od 30-ih godina 20. st. virus krpeljnog encefalitisa je poznat u Europi koji uzrokuje infekcije mozga u ljudi, a krpeljni prijenosnici su vrste *Ixodes ricinus* i *Ixodes persulcatus* (Randolph, 2001). Nakon 2. svjetskog rata velik broj viralnih, bakterijskih i protozoa krpeljnih bolesti su opisane u ljudima i životinjama. Prvi dokumentirani slučaj babezioze u ljudi zapsan je 1957. g., ali je tek 1977. g. ustanovljeno da je uzročnik vrsta *Babesia microti* (danas *Theileria microti*) što je otkriveno na 5 oboljelih stanovnika Nantucket otoka. 1979. g. vektor za ovu bolest je indentificiran kao krpelj roda *Ixodes* te je otkriveno kako je jedna vrsta miša rezervoar i za *B. microti* i *B. burgdorferi*. Slučaj ljudske anaplazmoze prvi je put prijavljen među pacijentima iz Wisconsin i Minnesote 1994. g., dok je etiološki uzročnik *Anaplasma phagocitophilum* otkriven u uzorcima krvi iz 12 pacijenata s groznicom, glavoboljom i mijalgijama. Kao vektor je potvrđen *Ixodes scapularis*. Ova bolest je najčešća u Sjevernoj Americi i Europi (Swanson i sur., 2006). U novije vrijeme sve se više otkriva velik broj emergentnih krpeljnih riketioza po čitavom svijetu (Parola i Raoult, 2001).

Biologija krpelja

Razumijevanje biologije krpelja izrazito je važno za shvaćanje njegove uloge u različitim krpeljnim bolestima te u prevenciji nekih od njih. Od 3 porodice krpelja samo tvrdi krpelji (porodica Ixodidae) i meki krpelji (porodica Argasidae) imaju medicinsku važnost. Obje dvije navedene porodice veoma se razlikuju anatomski (glavna razlika je prisutnost tvrdog štita (*scutum*) na leđima tvrdih krpelja) i po životnom ciklusu (<http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>). **Postoje 3 glavna razvojna stadija krpelja – larva, nimfa i odrasli oblik.** Kako krpelji za razvoj i razmnožavanje trebaju krv, imaju usne organe prilagođene za bodenje i sisanje te zato krpelji žive kao povremeni ili trajni paraziti na kralježnjacima. Veličina njihova tijela ovisi o količini posisane krvi pa tako odrasla i gladna ženka može biti duga oko 4 mm, dok puna krvi čak do 15 mm (<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1377/>). Krpelji osim kao vektori mogu služiti i kao rezervoari bakterija koje prenose. Te bakterije se mogu prenositi iz stadija u stadij krpelja (transstadijalno) te s jedne generacije krpelja na drugu (transovarijski). Postoje optimalni okolišni uvjeti i biotopi za svaku krpeljnu vrstu koja određuje geografsku distribuciju krpelja te prema tome i rizična područja na krpeljene bolesti (Parola i Raoult, 2001).

Ixodidae

Od otprilike 865 vrsta krpelja koliko ih postoji diljem svijeta, čak je oko 650 vrsta smješteno u porodicu Ixodidae. Ovi krpelji nazivaju se tvrdi krpelji jer su karakterizirani postojanjem sklerotizirane dorzalne ploče (*scutum*). Rod *Ixodes* obuhvaća oko 245 vrsta među kojima je njih 14 dio ricinus kompleksa. U taj kompleks spadaju i 4 vrste (*I. scapularis*, *I. pacificus*, *I. ricinus* te *I. persulcatus*) koje su najzaslužnije za prijenos bolesti na ljude. U sjevernoj i sjevernoistočnoj Americi *I. scapularis* je kompetentni vektor, *I. pacificus* na zapadnoj obali Amerike, *I. ricinus* u Europi dok je *I. persulcatus* u istočnoj Europi i Aziji (Slika). U mnogim područjima krpelji roda *Ixodes* nađeni su izvan područja endemičnosti patogena koje prenose. Rizik za krpeljne bolesti je usko povezan s životnim ciklusom *Ixodes* krpelja te s dostupnošću vektora na svakom stadiju. Mala veličina nimfe (oko 1 mm) dozvoljava im da se hrane neprimjećeni pa postoji dulji period za prijenos bolesti. Odrasli krpelji su veći te je veća vjerojatnost da će biti uočeni i odstranjeni prije prijenosa bolesti. Larve su nezaražene te s epidemiološkog stajališta nezanimljive. Krpelji koji nisu specifično vezani za određenog domaćina su važniji kao vektori ljudskih bolesti (Swanson i sur., 2006). *Amblyomma*, *Dermacentor* i *Ixodes* su 3 roda tvrdih krpelja koji prenose bolesti na ljude u SAD-u (<http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>). Ovi krpelji su relativno osjetljivi na isušivanje te su česti na travnjacima i šumama gdje svaka vrsta ima svoje optimalne okolišne uvjete i biotope koji određuju geografsku distribuciju krpelja. *Ixodes ricinus* u Europi favorizira drveće i šume s visokom vlažnošću te ih se ne može naći u suhim područjima (Parola i Raoult, 2001).



Geografska distribucija četiri medicinski važne vrste krpelja roda *Ixodes* (prema Swanson i sur., 2006)

Krpelji ove porodice veliki su 2-30 mm. Odrasli stadij i nimfa imaju po 4 para nogu dok larve imaju 3 para (Slika 3.). Niti jedan razvojni stadij nema antene te za razliku od insekata njihova tijela nisu strogo podijeljena na glavu, toraks i abdomen. Prednji dio tijela (*capitulum*) sadrži usne dijelove koji uključuju osjetilne organe, organe za rezanje te središnji imobilni dio (*hipostoma*) s brojnim zubićima koji služe za sidrenje krpelja na kožu domaćina. Karakterizirani su prisustvom sklerotizirane ploče (*scutum*) na dorzalnoj strani tijela te se ostatak tijela može proširiti tijekom hranjenja. Mnogim krpeljima nedostaju oči, ali zato imaju mnogo perifernih osjetilnih organa. Oni uključuju strukture nalik dlaki na njihovom tijelu, nogama i usnim dijelovima te osjetilni kompleks koji je lociran na dorzalnoj strani tarzusa prve noge koja sadrži mnoštvo olfaktornih (mirisnih) i gustatornih (ukusnih) receptora (Hallerov organ). Ovi senzorni organi omogućuju lociranje domaćina i komunikaciju s drugim krpeljima (Parola i Raoult, 2001).



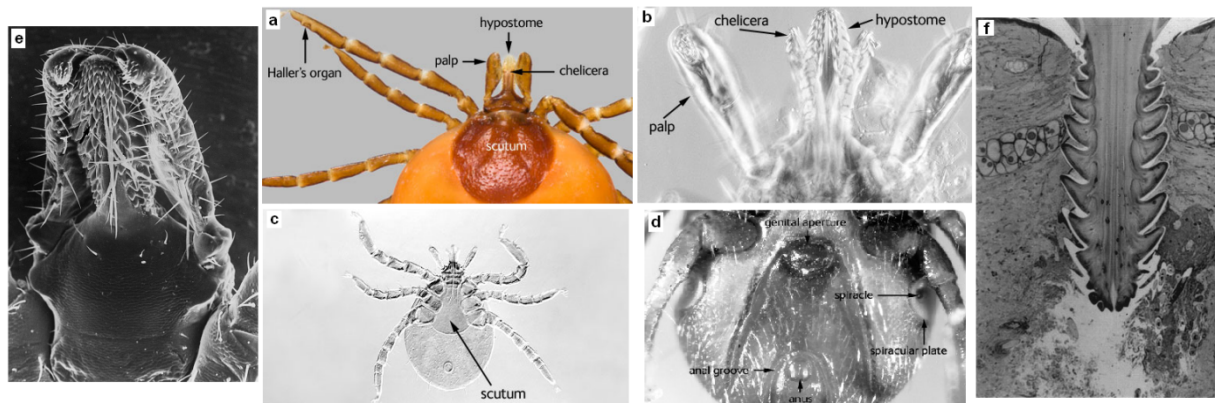
Razvojni stadiji krpelja *Ixodes ricinus*, s lijeva na desno: larva (0.5 mm), nimfa (nenahranjena, nahranjena) (1.5 mm), odrasli mužjak (nahranjen, nenahranjen) (2.5 – 3.5 mm), odrasla ženka (nenahranjena, 3.5 – 4.5 mm; nahranjena, 10 mm) (<http://www.isw-tbe.info/upload/medialibrary/Figure-04.jpg>, <http://www.fsbio-hannover.de/oftheweek/65.htm>)

Ovi krpelji provode >90% svog života neprihvaćeni za domaćina te je većina njih egzofilna što znači da žive na otvorenim područjima (poljima i šumama). Obično su sezonski aktivni pri traženju svojih domaćina, kada su okolišni uvjeti najprikkladniji. Vrlo brzo odgovaraju na podražaj koji upućuje na prisustvo domaćina. To mogu biti različiti podražaji: kemijski (CO₂, NH₃, fenoli), vlažnost, vibracije putem zraka te temperatura tijela toplokrvnih životinja. Dva tipična oblika ponašanja prilikom traženja domaćina se događaju kod egzofilnih krpelja. **Strategija zasjede** (*Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*) znači da se krpelj penje na vegetaciju i čeka domaćina u prolazu, ima ispružene prednje noge poput antena insekata. **Strategija lovac** (*Amblyomma*) znači da krpelj napada domaćina na način da izađe iz svog skrovišta i trči prema domaćinu kada je u blizini. Neke vrste čak koriste obje strategije. Druge vrste krpelja (roda *Ixodes*) su endofilni i pokazuju treću strategiju traženja domaćina – ostaju sakriveni u gnijezdu domaćina gdje se zakopaju čekajući njihov dolazak. Brojne krpeljne vrste su specifične za pojedinog domaćina, ali neki imaju različite domaćine za različite stadije. *Ixodes ricinus* se obično hrani na različitim vrstama domaćina, od velikih sisavaca do malih sisavaca i ptica. Različite vrste krpelja isto tako imaju i različite afinitete prema ljudima (Parola i Raoult, 2001). Prije hranjenja krpelji mogu lutati po domaćinu nekoliko sati dok ne nađu pogodno mjesto za hranjenje. U kožu umeću samo **hipostomu** te proizvode brojne tvari u žlijezdama slinovnicama koje ulaze u domaćina tijekom probijanja kože. Prilikom prvih 24-36 sati nakon prihvaćanja postoji vrlo mala ili nikakva ingestija krvi te je dominantna aktivnost penetracija i prihvaćanje. Sekreti iz žlijezdi slinovnica uključuju tvari kojima se usni dijelovi usidre na kožu domaćina, enzime, vazodilatatore, antiupalne, antihemostatske i imunosupresivne tvari. Sve one omogućuju uspješno hranjenje krvlju, dok anestetske tvari iz sline sprječavaju osjet boli nakon uboda. Isto tako mogu postojati i neki toksini u slini koji uzrokuju paralizu domaćina. Ovi krpelji se hrane dulji period te je potrebno 2-15 dana za kompletan obrok što pak ovisi o stadiju, vrsti krpelja i domaćina te mjestu prihvaćanja. Nakon početnog sporog perioda hranjenja (prvih 3-4 dana) slijedi brzo „punjenje“ i povećanje krpelja (1-3 dana). Tijekom hranjenja postoje alternirajući periodi sisanja krvi i salivacije. Krpelji brzo koncentriraju obrok eliminirajući vodu i elektrolite preko fecesa, transpiracije i sekrecijom žlijezda slinovnica. Svaki stadij krpelja se hrani samo jednom i to se može dogoditi na različitim vrstama domaćina na vrlo različitim staništima (Parola i Raoult, 2001). Ako domaćin ima neku krvnu infekciju, krpelj će ingestirati patogene u krvi. S druge strane, male količine sline mogu prijeći na domaćina te ako krpelj u sebi nosi patogena prenijet će se na domaćina koji će se inficirati. Nakon hranjenja većina krpelja će otpasti i pripremiti se za sljedeći stadij. Prilikom sljedećeg hranjenja može prenijeti stečenu bolest (patogena) na novog domaćina. Prijenos bolesti se uglavnom događa pri kraju njihova hranjenja (http://www.cdc.gov/ticks/life_cycle_and_hosts.html).

Vrsta *Ixodes ricinus* (eng. *European castor been tick*, *Sheep tick*; hrv. šumski krpelj)

To je vrsta krpelja koji inficira stoku, jelene, pse te širok spektar drugih vrsta (najviše na sisavcima i pticama, ali može se naći i na gmazovima) uključujući i čovjeka. *I. ricinus* je član porodice Ixodidae (tvrdi krpelji) koji imaju dorzalni štit (*scutum*) i duge usne organe (*capitulum*) probijene prema naprijed pa njegov ugriz može biti bolan. Krpelji ovog roda spolno su dimorfni. Ventralna površina mužjaka ima 7 ploča poput štita. Odrasli *I. ricinus* je crvenosmeđe boje, ali su ženke svijetlo sive kada se napune krvlju. Prije hranjenja mužjaci su otprilike 2.5 – 3

mm dugi, a ženke 3 – 4 mm. Kada su ženke pune krvi mogu višestruko premašiti svoju veličinu i postati velika poput zrna graška te izgledom i bojom podsjeća na plod biljke ricinusa (prema tome je ova vrsta krpelja dobila ime *Ixodes ricinus*) (Slika). **Može prenositi veliki broj patogena uključujući vrstu *Babesia divergens*, virus krpelnog encefalitisa, vrstu *Borrelia burgdorferi* te vrstu *Anaplasma phagocytophila*.** Domaćina može dovesti do anemije, ako se na njemu hrani velik broj krpelja. Vrsta *I. ricinus* je krpelj na 3 domaćina. Odrasli krpelji se hrane uglavnom na velikim sisavcima (stoka, jelen, ovca), larve se hrane na manjim sisavcima (posebno na glodavcima), pticama i reptilima, dok nimfe parazitiraju na malim i srednje velikim kralježnjacima. Krpelji ove vrste su uglavnom nađeni oko ustiju, uši i očnih kapaka ovaca, psa i mačaka te oko vimena stoke. Mogu se na domaćinu naći po nekoliko dana dok se ne nahrane te se zatim otpuste i padnu kako bi se presvukli u novi stadij. Životni ciklus *I. ricinus* obično treba 2 do 4 godine da bude u potpunosti gotov. Najviše se hrani u proljeće i rano ljeto dok mu je sekundarna aktivna sezona u jesen u nekim područjima. Kada ne traži domaćina vrsta *I. ricinus* može se naći na hladnim, relativno vlažnim, šumovitim područjima. No isto tako se može naći i na otvorenim područjima kada je vegetacija gusta te su obilne padaline. Ovaj krpelj je endemičan u većini Europe (izuzetak je Mediteranska regija gdje je topla i suha klima), te je vrlo čest i u Hrvatskoj. Može se naći sve do Kaspijskog jezera i sjevernog Irana te i u sjevernoj Africi (http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/ixodes_ricinus.pdf).



Anatomija krpelja *Ixodes ricinus*: a - prednji dio ženke, b - usni dijelovi, c – larva, d - genitalno područje ženke, e – usni dijelovi ženke (SEM, strelica označuje zube na hipostomi), f - hipostoma u koži domaćina (<http://www.nhm.ac.uk/nature-online/species-of-the-day/scientific-advances/disease/ixodes-ricinus/index.html>; Parola i Raoult, 2001)

Argasidae

Ovo je porodica tzv. mekih krpelja koji su tako nazvani zbog njihove fleksibilne kutikule (Slika 5.) te su dosta različiti od porodice Ixodidae. Krpelji iz ove porodice uglavnom žive na suhim područjima, a hrane se kratko (< 1 h), pa se bolest može prenijeti u manje od 1 minute, i često uglavnom na jednoj vrsti kao domaćinu. Ugrizi nekih od ovih krpelja mogu uzrokovati jake bolne reakcije. Osim stadija larve, ovi krpelji mogu se hraniti do 10 puta te postaju puni kroz nekoliko sati. Žlijezde slinovnice ne proizvode tvari kojima se dodatno učvrsti na domaćinu, ali sadrže antikoagulacijske i citolitičke tvari budući se hranjenje odvija vrlo kratko. Koksalni organi koncentriraju krvni obrok. Vrijeme provedeno na domaćinu je dosta kratko te nakon svakog obroka, nakon što se odvoje od domaćina, ovi se krpelji mogu naći u pukotinama njihovih staništa ili ispod zemljine površine (Parola i Raoult, 2001). U SAD-u jedino rod *Ornithodoros* prenosi ljudske bolesti (uglavnom povratnu groznicu) (<http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>).



Meki krpelj (http://www.emedicinehealth.com/ticks/article_em.htm)

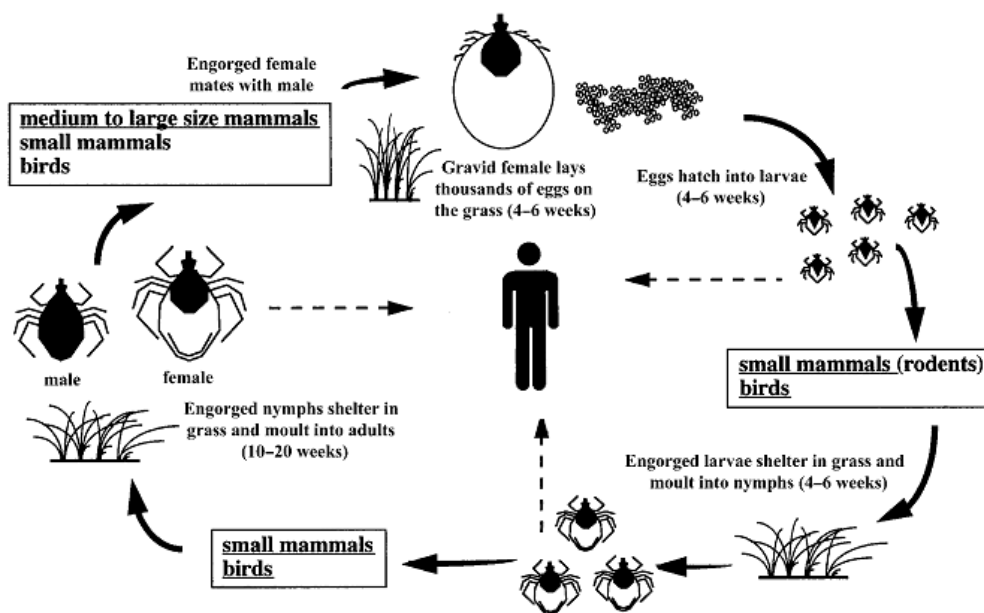
Životni ciklus krpelja

Većina krpelja prolazi kroz 4 razvojna stadija – **jaje, šesteronožna larva, osmonožna nimfa te odrasla jedinka**. Nakon izlijeganja iz jajeta krpelj se mora prehranjivati krvlju na svakom razvojnom stadiju kako bi mogao preživjeti. Krpelji koji zahtijevaju dovoljno puno domaćina mogu čak do 3 godine živjeti dok ne završe svoj životni ciklus te ih većina ugiba jer ne uspiju naći prikladnog domaćina prije sljedećeg hranjenja. Mogu se hraniti na sisavcima, pticama, gmazovima i vodozemcima (http://www.cdc.gov/ticks/life_cycle_and_hosts.html). Svaki razvojni stadij krpelja traži domaćina, prihvati se za njega te se zatim hrani na njemu nekoliko dana. Kad je napunjen krpelj se odvoji, padne s domaćina, pronade mirno mjesto gdje može probaviti obrok krvi te se presvuče u sljedeći razvojni stadij ili prijeđe u stanje mirovanja (gdje je metabolizam reducirana te dolazi do zakašnjelog razvoja) (Parola i Raoult, 2001). Larve se hrane oko tjedan dana prije odvajanja te se nakon 1 tjedna do 8 mjeseci presvlače u sljedeći stadij. U stadiju nimfe krpelji se hrane od 3 do 11 dana nakon čega se odvajaju od domaćina te otprilike oko mjesec dana kasnije prijeđu u odrasli stadij (ovisno o okolišnim uvjetima) (<http://www.skindsight.com/firstaid/firstAidTickBites.htm>). Općenito, odrasli mužjaci se hrane vrlo kratko i oskudno dok se neki uopće ne hrane. Parenje se uglavnom događa na domaćinu (Slika). Nakon toga ženka se

odvoji i padne s domaćina kako bi probavila obrok krvi. Zatim liježe jaja od 400 do >20 000 ovisno o vrsti u skrivenom okolišu te uginu. Životni ciklus krpelja je uglavnom gotov za 2-3 godine no može trajati do 6 mjeseci do 6 godina ovisno o okolišnim uvjetima – temperaturi, relativnoj vlažnosti, fotoperiodu (Slika) (Parola i Raoult, 2001).



Parenje krpelja vrste *Ixodes ricinus*

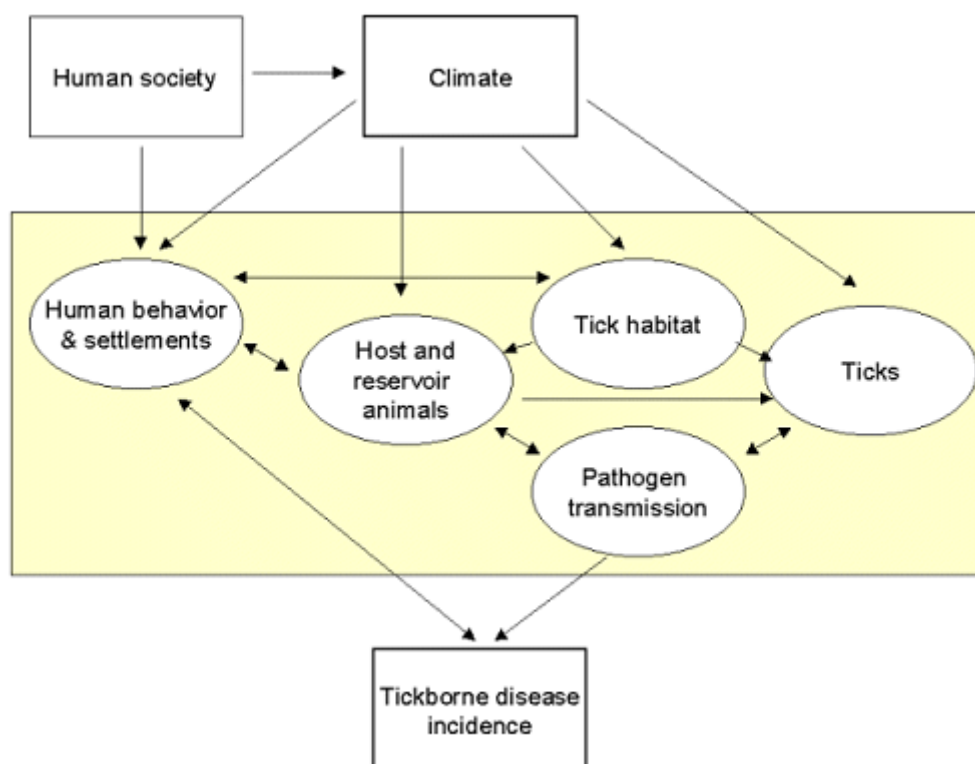


Životni ciklus krpelja vrste *Ixodes ricinus* (prema Parola i Raoult, 2001)

Bolesti povezane s krpeljima

Sposobnost patogenih organizama da prijeđu barijeru između vrsta objašnjava zašto se pojavljuju brojne zoonoze i bolesti prenašane vektorima koji pogađaju ljude. Krpelji su opisani kao vektori za ljudske bakterijske

bolesti još od početka 20. st. Porijeklo i širenje krpeljnih zoonoza bilo je pitanje brojnih istraživanja te se pretpostavlja da je vjerojatan koncept koevolucije mikroorganizama, krpelja i životinja domaćina. U umjerenim zonama sjeverne hemisfere krpelji su drugi po važnosti (nakon komaraca) kao glavni vektori za ljudske infektivne bolesti (prvi po važnosti u sjevernoj Americi). Krpeljne bolesti javljaju se sezonski te su geografski lokalizirane i javljaju se samo u područjima gdje su najoptimalniji uvjeti za krpelje i životinje uključene u cirkularizaciju patogena. Za sve bolesti prenošene vektorima, rizik od infekcije ovisi o stupnju kontakta između ljudi i inficiranih vektora (preko većeg kontakta sa životinjama, mobilnosti za rekreativne, kulturalne i socioekonomske svrhe te transportacija zrakom). Ali osim ponašanja i aktivnosti ljudi, na nastajanje vektorskih bolesti utječu i klimatske promjene (Slika) (Vorou i sur., 2007; Randolph, 2001; Parola i Raoult, 2001).



Shematski prikaz veze između ljudskog ponašanja i klimatskih promjena na rizik od krpeljnih bolesti (prema Lindgren i Jaenson, 2006)

Krpelji mogu prenositi velik broj različitih patogena – uključujući **bakterije, spirohete, rikecije, protozoe, viruse, nematode te različite toksine**. Jedan ugriz krpelja može dovesti do prijenosa mnogih patogena što je fenomen koji dovodi do atipičnog izgleda nekih klasičnih krpeljnih bolesti. Do 1972. g. iz više od 80 vrsta krpelja je izolirano 68 različitih virusa, od kojih se za njih 20 vjeruje kako uzrokuju bolesti u ljudima i domaćim životinjama (**virus krpeljnog encefalitisa, virus Crimean Congo hemoragijske groznice, Bhanja virus, Thogoto virus, Dhori**

virus, Tribec virus, Tettang virus, Eyach virus). Otkad je identificiran uzročnik Lyme boreliozе, čak 11 krpeljnih bakterijskih patogena za ljude je opisano diljem Europe. To uključuje 5 vrsta koje uzrokuju rikecijozе, uzročnik ljudske granulocitne erlihiozе, 4 vrste *Borrelia burgdorferi* complex te uzročnik povratne groznice (http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/98765/e82481.pdf). U sjevernoj Americi krpelj može uzrokovati nekoliko bolesti – lajmsku bolest, ljudsku granulocitnu i monocitnu erlihiozu (engl. *human granulocytic and monocytic ehrlichiosis*), babezijoza (engl. *babesiosis*), povratnu groznicu (engl. *relapsing fever*), Rocky Mountain pjegavi tifus (engl. *Rocky Mountain spotted fever*), Colorado krpeljnu groznicu (engl. *Colorado tick fever*), tularemiju, Q groznicu (engl. *Q fever*) te krpeljnu paralizu (<http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>). U Europi popis bolesti je sličan, ali postoje još i krpeljni encefalitis (engl. *tick-borne encephalitis*) te butoneuzna groznica (engl. *boutonneuse fever*) koju uzrokuje manje virulentna rikecija pjegavog tifusa vrste *Rickettsia conorii* (<http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>). Kao dvije najznačajnije i najraširenije bolesti u Europi koje se prenose krpeljima su Lyme borelijoza i krpeljni virusni meningoencefalitis. Obje bolesti se prenose istom vrstom krpelja (vrsta *Ixodes ricinus*) te kao rezervoari služe mali glodavci no njihova je epidemiologija potpuno različita. Novi modeli predviđaju kako bi do 2020. godine krpeljni virusni meningoencefalitis mogao u potpunosti nestati u zemljama koje su na južnoj granici trenutne raširenosti (Hrvatska, Slovenija, Mađarska) (Randolph, 2001). Većina krpeljnih ugriza ne rezultira prijenosom infekcije (npr. kod lajmske bolesti svega 2 – 3% svih osoba koje ugrize vrste *Ixodes scapularis* u endemičnim područjima razviju tu bolest). Isto su moguće i sekundarne infekcije te alergijske reakcije na proteine u slini krpelja. Jedno istraživanje je čak pokazalo da ponovljeni ugrizi krpelja mogu dovesti do zaštite protiv lajmske bolesti, najvjerojatnije zbog razvijanja hipersenzitivnosti od ranijih ugriza krpelja koji nisu bili inficirani (<http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>). Većina krpeljnih bolesti ima slične simptome, a oni su groznica, bolovi, osip (različiti kod različitih bolesti). Krpeljne bolesti mogu uzrokovati samo blage simptome izlječive kod kuće do teških infekcija koje zahtijevaju hospitalizaciju. Iako se lako mogu tretirati s antibioticima ove bolesti su teške za dijagnozu. Ali naravno rano prepoznavanje i tretman infekcije smanjuje rizik od ozbiljnih komplikacija (<http://www.cdc.gov/ticks/symptoms.html>).

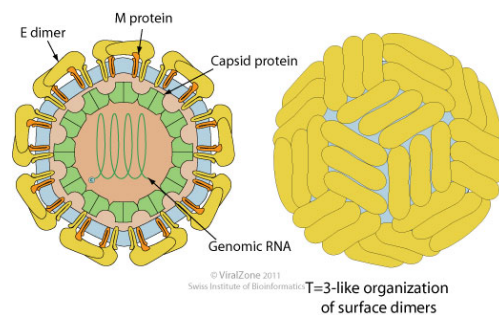
Krpeljna paraliza

Produženo zadržavanje nekih vrsta krpelja (5-7 dana) može rezultirati paralizom domaćina što je neinfektivna krpeljna bolest. Ona je uzrokovana neurotoksičnim tvarima koje se stvaraju u žlijezdama slinovnicama, uglavnom kod ženki. Paraliza je prvi put uočena u Australiji 1824. godine. Više od 40 vrsta iz obje porodice krpelja mogu uzrokovati ovakvo stanje, no *Demacentor andersoni* i *Demacentor variabilis* u Sjevernoj Americi, *Ixodes ricinus* u Europi, *Ixodes holocyclus* u Australiji te *Rhipicephalus evertsi* u Africi najčešći su uzročnici. Klinički simptomi uključuju slabost u nižim ekstremitetima koja se nakon nekoliko sati ili dana podiže do gornjih ekstremiteta i glave. Pacijenti mogu razviti i ataksiju ili respiratorne probleme, a zabilježena smrtnost je do 10%. Micanje krpelja dovodi do brzog oporavka unutar 24h (Parola i Raoult, 2001).

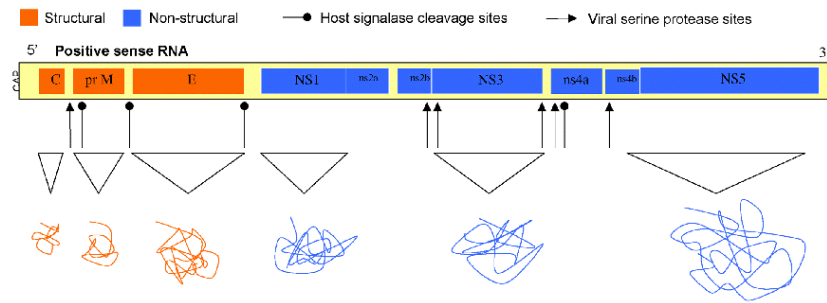
Krpeljni virusni meningoencefalitis

Virus krpeljnog encefalitisa (TBEV) je uzročnik krpeljnog virusnog meningoencefalitisa, potencijalno fatalne neurološke infekcije koja pogađa ljude diljem Europe i Azije. Krpeljni meningoencefalitis poznat je u čak 16 europskih država te su zabilježeni slučajevi u područjima gdje ga prije nije bilo. Povećanje pobola TBEV tijekom zadnjih 20 godina uzrokovano je zbog klimatskih promjena, promjeni u upotrebi zemlje te sve veće popularnosti boravljenja u prirodi. Još su mnoge druge socioekonomske promjene utjecale na povećanje populacije glodavaca koji služe kao rezervoar za virus te na sve veću populaciju krpelja koji ih prenose. U zadnje vrijeme je utvrđeno kako veliku ulogu imaju i migrirajuće ptice te su one možda razlog zbog kojih se infekcija s TBEV toliko proširila na područja gdje je prije nije bilo. Rusija ima najveći broj potvrđenih slučajeva iza koje slijedi Češka Republika gdje se godišnje prijavi 400-1000 slučajeva (Mansfield i sur., 2009). 2010. g. u Americi je zabilježeno više od 22,500 potvrđenih i 7,500 mogućih slučajeva (<http://www.cdc.gov/niosh/topics/tick-borne/>).

TBEV je član roda *Flavivirus* unutar porodice Flaviviridae, a prvi put je izoliran 1937. godine. Flavivirusi su mali virusi s **lipidnom ovojnicom** sferične strukture, promjera 40-60 nm. Genom se sastoji od jednolančane pozitivne RNA otprilike 11 kb dug. Jedan okvir čitanja kodira za 3 strukturalna proteina – **kapsidni protein C**, **membranski protein M** te veliki glikoprotein ovojnice **E**, te **7 nestrukturalnih proteina** – NS1 (glikoprotein), NS2A, NS2B (komponente proteaza), NS3 (proteaza, helikaza, NTPaza), NS4A, NS4B te NS5 (RNA ovisna polimeraza) (Slika). Poznato je da E protein (postoji kao dimer) sadrži krajeve važne za vezanje antitijela, dok je druga transmembranska regija potrebna za formaciju viriona. E protein također ima sposobnost da tvori rekombinantne subviralne čestice. Pokazano je da nizak pH igra ključnu ulogu u ulasku i otpuštanju novo stvorenih virusnih čestica. Prilikom prve faze životnog ciklusa ovog virusa, virioni se vežu na površinu stanice domaćina što je posredovano proteinom E i heparan sulfatom što je stanični receptor. Virioni su zatim transportirani preko receptora i klatrin ovisne endocitoze do ranog endosoma. Fuzijom viralne membrane s endosomom se inducira čime se virusna nukleokapsida otpušta u citoplazmu stanica domaćina gdje započinje translacija genomske RNA (Slika) (Mansfield i sur., 2009).



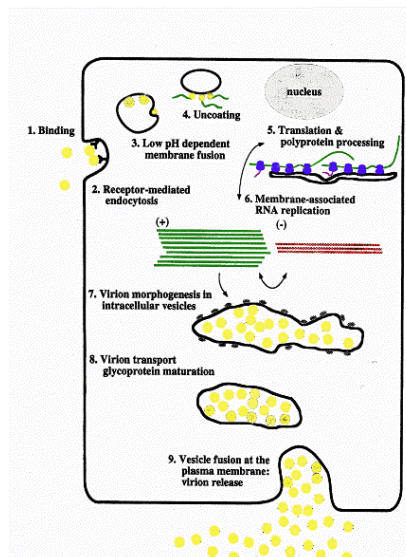
Virion Flavivirusa (http://viralzone.expasy.org/all_by_species/24.html)



Important flaviviral proteins and their functions

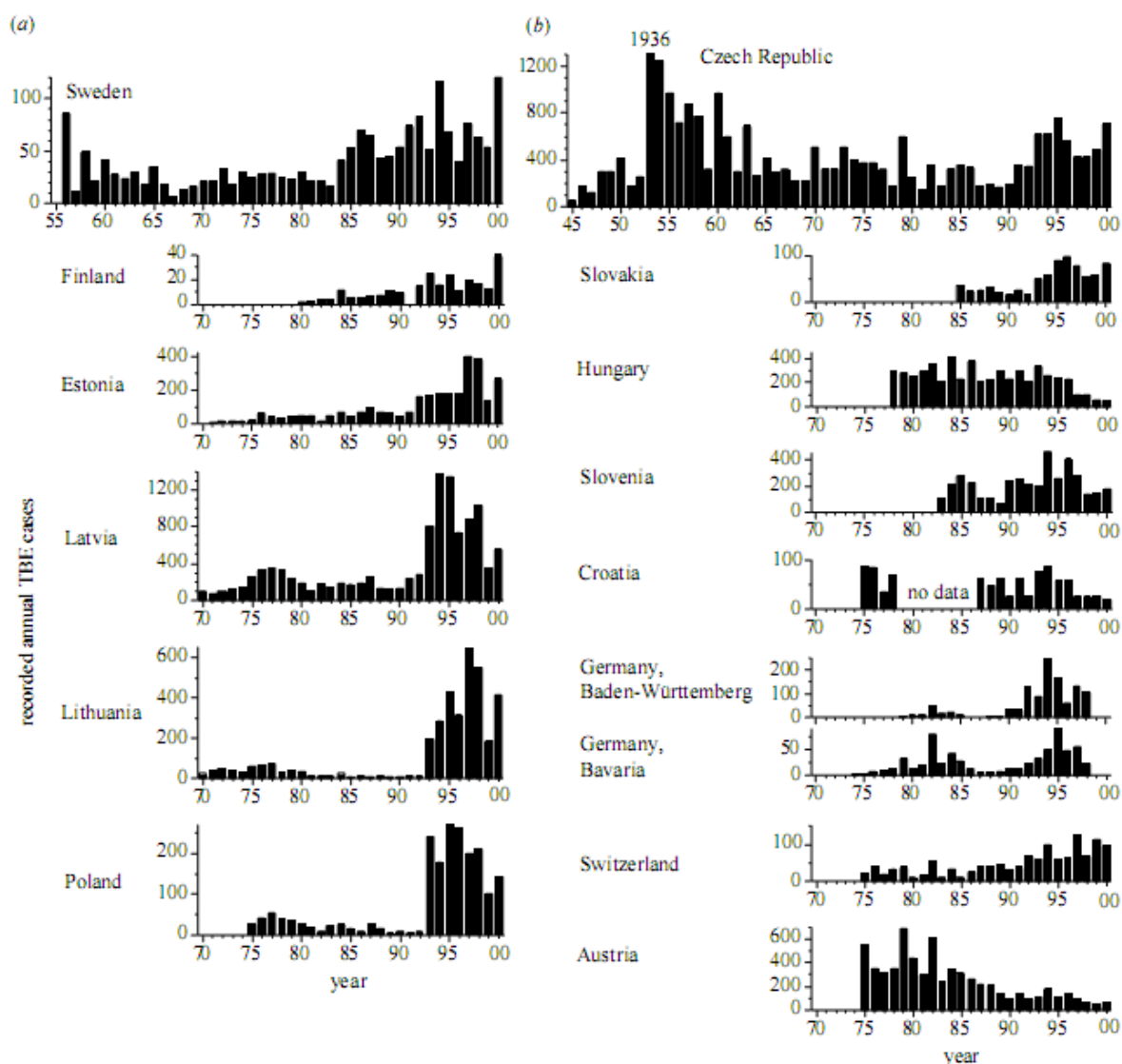
STRUCTURAL	FUNCTION	NON-STRUCTURAL	FUNCTION
C	A highly basic component of the nucleocapsid. Cleaved upon virus exit from cell to form "pr" and "M" segments. The hydrophilic "pr" segment gets secreted into the extracellular medium. "M" becomes a structural part of the lipid envelope.	NS1	Membrane soluble haemagglutinin.
pr M		NS3	Protease/polymerase.
E		NS5	Polymerase.
		ns2a	Works in tandem with NS3 as a protease.

Struktura genoma Flavivirusa (<http://www.stanford.edu/group/virus/1999/asb-flavi/bio.htm>)



Replikacija Flavivirusa (<http://www.stanford.edu/group/virus/1999/asb-flavi/bio.htm>)

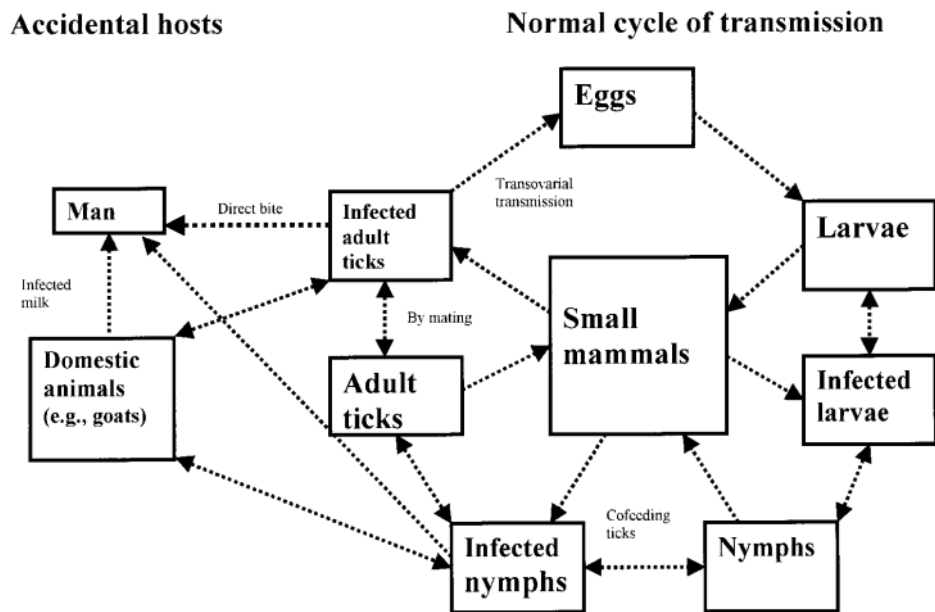
Postoje 3 glavna subtipa TBEV – zapadnoeuropski (raniji naziv srednjoeuropski, primarni vektor je krpelj vrste *Ixodes ricinus*), sibirski (primarni vektor je krpelj vrste *Ixodes persulcatus*) i dalekoistočni (raniji naziv ruski proljetno-ljetni, primarni vektor je krpelj vrste *Ixodes persulcatus*). Sva 3 subtipa su vrlo blisko povezana genetički i antigenično te je pokazano da je TBEV prilično stabilan u prirodnim ekološkim uvjetima. TBEV je danas endemičan u području od sjeverne Kine i Japana kroz Rusiju sve do Europe. U Europi se pojavljuje srednjoeuropski krpeljni meningoencefalitis koji je blažeg karaktera, dok je varijanta koja se pojavljuje u Aziji teška, često s visokom smrtnošću. U Rusiji se može naći europski tip i sibirski, dok je dalekoistočni tip endemičan u području oko Kine i Japanu (Mansfield i sur., 2009, http://eol.org/data_objects/14844520, <http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/2026/>).



Zabilježen godišnji broj slučajeva krpeljnog meningoencefalitisa od 1970. do 2000. godine (Randolph, 2001)

Bolest je sezonskog karaktera te postaje aktualna u proljeće i ljeto (u Europi sezona se može produljiti te se može javiti još jedan epidemični val u jesen), a maksimum oboljelih bilježi se u lipnju i srpnju. Ovom bolesti najčešće su pogođene osobe koje dolaze u dodir s krpeljom profesionalno ili turistički, provodeći vrijeme na livadama i šumskim predjelima u prirodnim žarištima bolesti. Prirodnim rezervoarom bolesti smatraju se uglavnom različiti mali šumski glodavci, ali mogu biti i ptice i velike divlje životinje. Glodavci kao domaćini održavaju perzistentnu infekciju tijekom godine. Krpelj može biti rezervoar virusa i može se zaraziti u svim stadijima svog životnog ciklusa (prilikom hranjenja na životinji u čijoj se krvi nalazi virus) te ostaje inficiran do kraja životnog ciklusa, ali i prenosi virus na sljedeću generaciju krpelja (virus se razmnožava u krpelju te se transovarijski prenosi na sljedeću generaciju – može se održati u dvije do tri generacije). Dokaz za transovarijski prijenos je potvrđen kada je virus pronađen i izoliran iz nenahranjenih larvi. U krpeljima koji su se putem hranjenja inficirali s TBEV, virus se replicira u krpelju te se infekcija žlijezdi slinovnica događa prije transmisije i

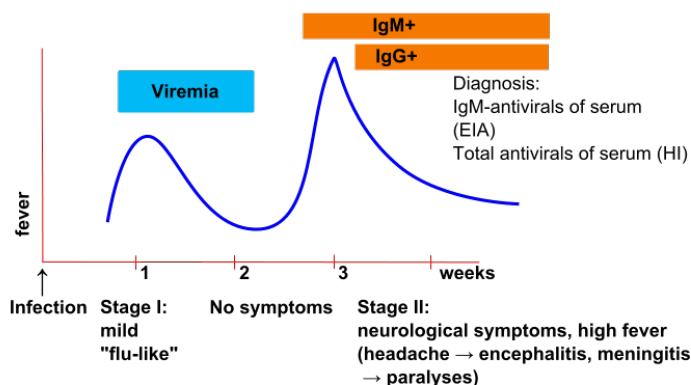
sljedećeg obroka krvi. Inficirani krpelj može prenijeti virus na domaćina prilikom hranjenja, ali je moguće da prenese virus i na nezaraženog krpelja koji se hrani na istom mjestu na domaćinu. Smatra se da su nimfe najvažnije u prijenosu bolesti jer ih je puno više nego odraslih jedinki (Mansfield i sur., 2009; <http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/312/>).



Prijenos virusa krpeljnog encefalitisa unutar životnog ciklusa krpelja (Dumpis i sur., 1999)

Nakon infekcije s TBEV virus se prvo replicira na mjestu inokulacije te zatim u limfnim čvorovima koji su najbliži inokulacijskom mjestu. Virus je nađen i u Langerhansovim stanicama kože. Nakon toga dolazi do viremije plazme prilikom čega su mnogi zasebni neuralni organi inficirani te otpuštanje virusa dopušta da se viremija održi kroz nekoliko dana. Inficirani postaju retikuloendotelni organi poput jetre, slezene i koštane srži te nakon toga virus prelazi krvno-moždanu barijeru te invadira u središnji živčani sustav gdje replikacijom uzrokuje upalu, lizu i staničnu disfunkciju. Mehanizmi kojima se akutna nefatalna infekcija proširi u ozbiljnu bolest središnjeg živčanog sustava nije još u potpunosti razjašnjena. Ubrzo nakon početka neuroloških simptoma mononuklearne stanice u cerebrospinalnoj tekućini su uglavnom CD4⁺ T limfociti i manje brojnih CD8⁺ T limfocita, dok je NK stanica i B limfocita vrlo malo. Razina antitijela IgM je najviša u ranoj fazi bolesti i traje oko 6 tjedana dok je vrhunac IgG protutijela nešto kasnije opažen. IgG antitijela perzistiraju tijekom čitavog života u ljudima i pružaju razinu imunosti koja sprječava ponovnu infekciju. Nedavno je pokazano kako neki viralni proteini poput NS5 su uključeni u imunološki odgovor domaćina (NS5 inhibira JAK-STAT signalni put preko fosforilacije STAT1 čime se inhibira ekspresija antiviralnih gena). Za razliku od ljudi kad su životinje prirodno zaražene s TBEV njihov imunostni sustav je sposoban spriječiti nastanak bolesti (Mansfield i sur., 2009).

TBE: symptoms and diagnosis



Simptomi i dijagnoza krpeljnog meningoencefalitisa

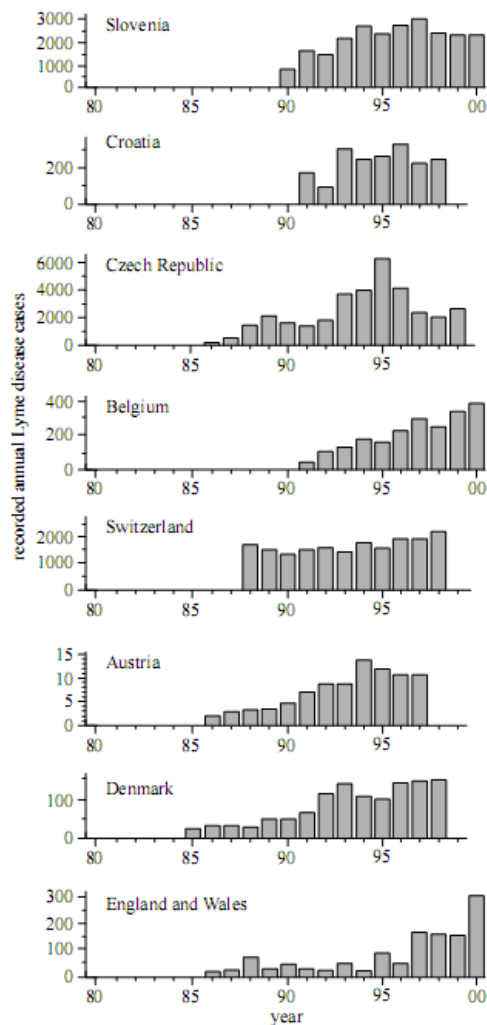
Klinička manifestacija ove bolesti u ljudi pokazuje širok spektar simptoma, te većina zaraženih osoba uopće ne oboli. Iako dalekoistočni tip TBEV uzrokuje monofazni tijek bolesti, infekcija s europskim tipom uzrokuje bifazni tijek bolesti. Inkubacijski period je uglavnom 7-14 dana te simptomi tijekom kratkog grozničavog perioda obuhvaćaju umor, glavobolje, bolove u vratu, ramenima i leđima, visoka temperatura i povraćanje. Nakon toga slijedi asimptomatski period koji traje 2 do 10 dana te ako bolest napreduje dalje dolazi do sekundarne faze koja je karakterizirana visokom temperaturom i infekcijom središnjeg živčanog sustava. Takva se infekcija može manifestirati kao upala moždane ovojnice (meningitis), upala mozga (encefalitis), upala leđne moždine (mijelitis), korijena živaca (radikulitis) ili bilo koja kombinacija od navedenih. Akutni krpeljni meningoencefalitis je karakteriziran s encefalitičnim simptomima u 45-56% pacijenata. Simptomi se razlikuju od blagog meningitisa do teškog meningoencefalomijelitisa koji je karakteriziran s mišićnom slabošću koja se razvije 5-10 dana nakon popuštanja groznice. Teško oboljeli pacijenti pokazuju i stanje promijenjene svijesti i sindrome slične poliomijselitisu. Akutni grozničavi period bolesti korelira s prisustvom viremije. Sekundarna faza bolesti korelira s ulaskom virusa u središnji živčani sustav. Ozbiljnost bolesti se povećava sa starošću pacijenata. Kronični oblik bolesti je zapažen u bolesnika iz Sibira i istočne Rusije te se smatra da je povezana sa sibirskim tipom virusa. Postoje dva oblika kroničnog krpeljnog meningoencefalitisa. Prvi nastaje kao dugotrajna posljedica akutnih oblika te do neuroloških simptoma dolazi godinama nakon ugriza zaraženog krpelja. Klinički simptomi uključuju Kozshevnikovu epilepsiju, progresivni neuritis ramenog pleksusa, lateralnu i raspršenu sklerozu, bolest nalik Parkinsonovoj te progresivnu mišićnu atrofiju. Drugi oblik je povezan s hiperkinezijom i epileptoidnim sindromima. Pojavnost različitih oblika kronične infekcija ovisi o području. Domaće životinje ako se zaraze prolaze asimptomatski (Mansfield i sur., 2009).

Dijagnoza TBEV infekcije mora se ustanoviti u laboratoriju putem različitih metoda – izolacija virusa, RT-PCR (detektira prisustvo viralne RNA prije pojave antitijela), ELISA (detektira specifična antitijela). Ne postoji terapija za ovu bolest tako da liječenje uključuje nesteroidne protuupalne lijekove. Aktivna vakcinacija je najučinkovitija

metoda za sprječavanje TBE te trenutno postoji 4 vrlo dobra cjepiva protiv ove bolesti. Nakon što je godišnje cijepljenje uvedeno 1981. g. u Austriji došlo je do opadanja brojeva slučajeva krpeljnog meningoencefalitisa. Nakon ugriza krpelja, ako se smatra da je bio zaražen moguće je cijepiti se sa specifičnim imunoglobulinima te ako se daju unutar 96 h od izloženosti krpelju bolest se sprječava u otprilike 60% pacijenata. Antitijela na TBEV su nađena u ljudi koji redovito provode vrijeme u prirodi ili koji su konzumirali nepasterizirano kozje mlijeko. Pokazano je i kako je oralni put infekcije moguć te da TBEV zadržava svoju aktivnost čak i na niskom pH u želucu (Mansfield i sur., 2009). Za prevenciju ove bolesti postoji preekspozicijsko cjepivo (pasivna imunizacija), koje se preporuča osobama koje profesionalno borave u prirodi ili koje trajno ili povremeno borave u prirodi u području u kojem je prisutan endemski krpeljni meningoencefalitis. Cjepivo se primjenjuje intramuskularno u području nadlaktice u 3 doze. Druga doza daje se mjesec dana nakon prvog cijepljenja, a treća godinu dana nakon drugog cijepljenja. Da bi se postigla imunizacija prije sezone aktivnosti krpelja, prvo i drugo cijepljenje preporučuje se u zimskim mjesecima. Tako postignuta zaštita traje između tri do pet godina pa je potrebno docjepljivanje svake tri godine s ciljem održavanja zaštitne razine titra antitijela u krvi (<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/312/>). 2010. godine sezona krpeljnog virusnog meningoencefalitisa izazvala je veliku pozornost javnosti zbog toga što je nekoliko pacijenata završilo u komi. To je bilo vrlo neobično budući je u zadnjih desetak godina zabilježen samo jedan smrtni slučaj zbog ove bolesti. Pretpostavke su bile da je možda došlo do ruske varijante ovog virusa koji dovodi i do težeg oblika bolesti (<http://www.jutarnji.hr/csi-za-krpelje-u-potrasi-za-virusom/843736/>).

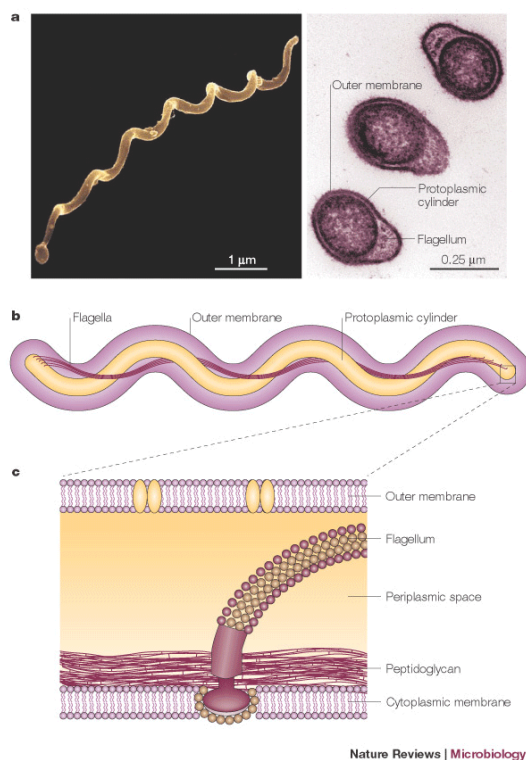
Lyme borelioz (lajmska bolest)

Ovo je multisistemičan upalni poremećaj uzrokovan imunološkim odgovorom na patogeni genom vrste *Borrelia burgdorferi sensu lato*. To je najčešća ljudska krpeljna bolest u umjerenim područjima sjeverne hemisfere (Rizzoli i sur., 2011). Od ostalih danas u svijetu poznatih 11 zoonoza koje prenose krpelji, bilježi se porast Lyme borelijoze, osobito ljeti i u ranu jesen, te se i dalje širi geografska distribucija. Stručnjaci smatraju da je razlog tomu taj što se bolest ne zna ispravno prepoznati (na svakih deset prepozna se i prijavi jedan slučaj). Osobito visok porast obolijevanja posljednjih je godina zabilježen u Belgiji, Norveškoj, Finskoj i Bugarskoj (<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1678/>). Godišnje se zabilježi od 20 do 100 slučajeva na 100000 ljudi u SAD-u te 100 do 130 slučajeva na 100000 ljudi u Europi (Rupprecht i sur., 2008).

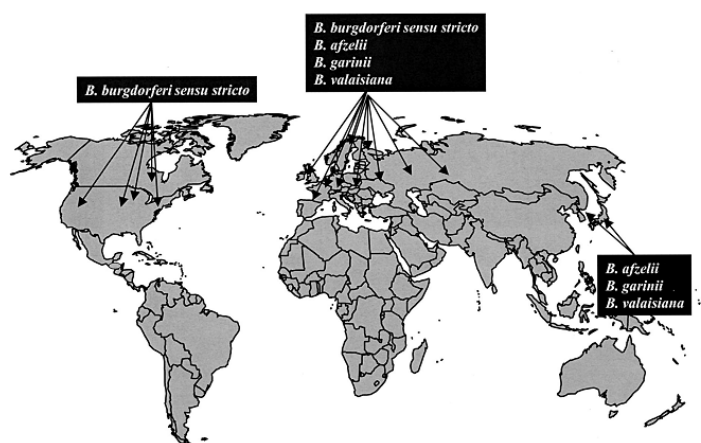


Zabilježen godišnji broj slučajeva Lyme borelioze od 1980. do 2000. godine (Randolph, 2001)

Uzročnik Lyme borelioze (vrsta *Borrelia burgdorferi* sensu lato) je bakterija koja pripada redu eubakterija Spirochaetes. Članovi ove grupe organizama dijele morfologiju koja uključuje spiralno tijelo te imaju flagelu ugrađenu između vanjske i unutarnje membrane. Spirohete uključuju nekoliko ljudskih patogena uključujući vrste *Treponema pallidum* (uzročnik sifilisa), vrsta *Leptospira interrogans* (leptospiroza) te nekoliko *Borrelia* spp. koje uzrokuju povratnu groznicu. Lyme borelioza trenutno predstavlja glavnu bolest koja se prenosi vektorima u SAD-u (Tilly i sur., 2008). ***Borrelia burgdorferi* sensu lato kompleks** trenutno se sastoji od 18 genovrsta. U Europi je nekoliko njih patogeno za ljude – ***Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia bavariensis*, *Borrelia spielmanii*** (Rupprecht i sur., 2008; Rizzoli i sur., 2011; Vorou i sur., 2007). U krpeljima *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii* su najčešće genovrste u Europi i Aziji, dok je *Borrelia burgdorferi sensu stricto* jedina vrsta koja se pojavljuje i u SAD-u i Europi (Parola i Raoult, 2001). Iako sve patogene genovrste mogu uzrokovati *erythema migrans* (crveni osip na koži) različite genovrste su povezane s drugim kliničkim manifestacijama bolesti: vrsta *Borrelia burgdorferi* je najčešće povezana s artritisom i neuroboreliozom, vrsta *Borrelia garinii* sa neuroboreliozom, dok vrsta *Borrelia afzelii* sa kroničnim kožnim stanjem acrodermatitis chronica atrophicans (Rizzoli i sur., 2011).



Mikrokorfologija vrste *Borrelia burgdorferi* (<http://lymediseaseawareness.com/wp-content/uploads/2008/09/borrelia-burgdorferi.gif>)

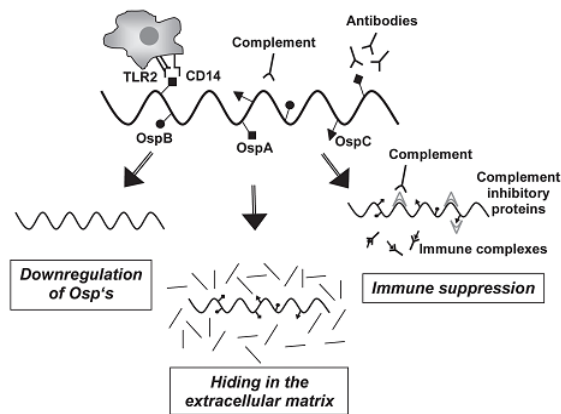


Geografska distribucija patogena koji uzrokuju Lyme boreliozu (Parola i Raoult, 2001)

Borrelia je Gram negativna spiroheta, te je vrsta *Borelia burgdorferi* najduža i najuža (20-30 µm x 0.2 – 0.3 µm) i ima najmanje flagela od svih borelija (Parola i Raoult, 2001). Genom je linearan kromosom te sadrži velik broj malih plazmida od kojih su neki kružni, a neki linearni. Linearna struktura kromosoma je vrlo neobična u bakterijskom svijetu, ali osim te atipične forme DNA većina gena kodirana na kormosomu su normalno nađeni u

većini drugih bakterijskih genoma. Geni na plazmidima su manje prepoznatljivi te je većina karakteristična za rod *Borrelia*. Za nekoliko gena kodiranih na plazmidima je pokazano da su potrebni za infektivnost i perzistenciju u krpelju ili domaćinu sisavcu. Još nisu dokazani klasični virulentni faktori, najvjerojatnije zato što *Borrelia burgdorferi* nije evoluirala da uzrokuje bolesti u sisavaca. Ali isto tako, za velik broj lipoproteina koje *Borrelia* sadrži pokazano je da mogu aktivirati komponente imunološkog sustava. Kako je flagela umetnuta između dvije membrane, upravo joj to omogućuje da pliva u vrlo viskoznom mediju te služi kao zaštita od imunološkog sustava. Genom je vrlo malen budući je to obligatni parazit te mu nedostaje mašinerija za sintezu nukleotida, aminokiselina, masnih kiselina i kofaktora enzima te sve to dobavlja od domaćina (Tilly i sur., 2008). Vrsta *Borrelia burgdorferi* inficira širok spektar kralježnjaka – male sisavce, guštere te ptice. Krpelji roda *Ixodes* prenose ovu bakteriju u nove domaćine te su jedini prirodni vektori kojima se ljudi mogu inficirati. Svjetska geografska distribucija Lyme borelioze korelira sa područjima gdje su prisutni rezervoari *Borrelia burgdorferi* i krpeljnog vektora. U sjevernoistočnoj i središnjoj Americi glavni vektor je *Ixodes scapularis* (crnonožni krpelj), a na zapadnoj obali Amerike *Ixodes pacificus* (zapadni crnonožni krpelj). Europski i azijski vektor je primarno *Ixodes ricinus* (europski ovčji krpelj) i manje čest *Ixodes persulcatus* (tajga krpelj) (Rizzoli i sur., 2011). *Borrelia* genovrste su također povezane s određenim domaćinima koji služe kao rezervoari te genetičko sturkturiranje genovrsta ovisi o migracijskom uzorku populacije domaćina (npr. one čiji su domaćini ptice su više raširene nego one koje su povezane sa sisavcima) (Rizzoli i sur., 2011). Krpelj može zaraditi ovu spirohetu ako se hrani na zaraženom domaćinu, ako se hrani vrlo blizu zaraženog krpelja na istom domaćinu ili ako se hrani s mjesta gdje je zaraženi krpelj nedavno završio svoj krvni obrok. Nakon što se jednom inficira krpelj ostaje doživotno zaražen te prenaša patogene na sve razvojne stadije. U Europi kompetentni domaćini rezervoari uključuju mnoge vrste malih i srednje velikih glodavaca (miš, štakor, vjeverica, zečevi i kunići), ali i nekoliko vrsta ptica, gmazova i nekih većih životinja poput jelena, ovaca, krava (Rizzoli i sur., 2011). Krpelji se najčešće zadobiju spirohetu hraneći se u stadiju larve na zaraženim glodavcima. Spirohete su vrlo rijetko prenesene transovarijskim putem tako da su najvažniji stadiji za održavanje spiroheta stadij larve i nimfe (jer se odrasli stadij hrani na većim sisavcima koji nisu kompetentni rezervoar za odražavanje bakterije) (Tilly i sur., 2008). Nakon što se krpelj inficira, *Borrelia* ostaje inaktivna u crijevu dok se krpelj ne pretvori u sljedeći razvojni stadij. Zatim se vrlo brzo unutar 3 dana raširi na sve druge organe posebno u žlijezde slinovnice kako bi se prenijela na novog domaćina prilikom hranjenja krpelja (Parola i Raoult, 2001). Kapacitet krpelja da prenese *Borrelia* na različite domaćine ovisi o nekoliko faktora – ponašanje krpelja, preferiranje domaćina, gustoća populacije krpelja, ali ovisi i o klimatskim uvjetima, tipu vegetacije, ponašanju domaćina te mnogim drugim faktorima. Pokazano je kako krpelji inficirani s ovom spirohetom imaju povećanu sposobnost pronalaska domaćina. Krpelj u stadiju nimfe je najčešće glavni krivac za prijenos bolesti. Prijenos bolesti se uglavnom ne događa unutar prvih 24 h nakon što se krpelj prihvatio za domaćina i počeo krvni obrok tako da je preventivna mjera skidanje krpelja odmah (Rizzoli i sur., 2011). Krpelj i domaćin sisavac bakteriji pružaju različite okolišne uvjete za rast – sisavcima je tjelesna temperatura 37-39 °C dok kod krpelja to varira ovisno o okolišu. Isto tako pH tkiva sisavca i krvi je neutralan dok je crijevo krpelja više bazična okolina. Kako bi to mogla prevladati, *Borrelia* varira u genskoj ekspresiji te sintetizira različite proteine kako bi se tome mogla prilagoditi (Tilly i sur., 2008). Infekcija s *Borrelia burgdorferi*

započinje premještanjem iz crijeva u žlijezde slinovnice krpelja tijekom hranjenja na domaćinu. Prije ulaska u domaćina spiroheta mora izbjeći imunološki sustav. Tijekom prvih 24 do 48 h nakon hranjenja krpelja *Borrelia* je prihvaćena za crijevo krpelja preko interakcije njenog proteina OspA sa receptorom na krpelju TROSPA te dok se krpelj hrani i krv prolazi kroz crijevo spiroheta se umnožava i priprema za širenje u žlijezde. U tom trenutku se već susreće s imunološkim sustavom domaćina. *Borrelia* posjeduje nekoliko mehanizama kojima izbjegava imunološki odgovor domaćina – uključuje negativnu regulaciju imunogeničnih površinskih proteina, inaktivaciju efektivnih mehanizama, skrivanja u manje dostupnim kompartmentima kao što je ekstracelularni matriks (Rupprecht i sur., 2008).



Mehanizmi kojima borelija izbjegava imunološki sustav domaćina (prema Rupprecht i sur., 2008)

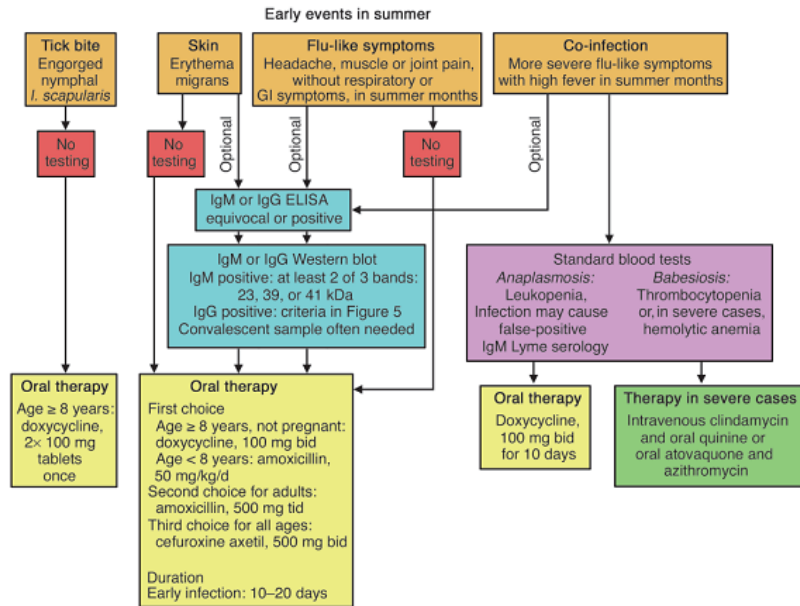
Klinička manifestacija Lyme borelioze rangira od akutne do kronične bolesti. Nekoliko dana ili tjedana nakon ugriza krpelja ako dođe do infekcije u 60-80% pacijenata se javlja *erythema migrans*, osip na koži oko 10 cm u promjeru koji se periferno može širiti te može ili ne mora svrbiti. Isto tako rana infekcija može biti potpuno asimptomatska. Drugi rani simptomi uključuju simptome nalik gripi – visoka temperatura, umor, glavobolje, bolovi u mišićima i zglobovima (Rizzoli i sur., 2011). Najčešće spontano nestane, no važno je što prije početi s antibioticima da bi se spriječio rizik prijelaza u kroničnu fazu. Ostali organi obično nisu zahvaćeni. U ranom diseminiranom stadiju dolazi do rasapa bakterija krvlju i limfom po tijelu, uz osip poput onoga u prvom stadiju na drugim mjestima tijela, zatim do pojave "satelitskih" prstenastih lezija kože na raznim dijelovima tijela, uz povećanje limfnih čvorova i slezene (<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1678/>). Nekoliko tjedana ili mjeseci nakon infekcije i ugriza krpelja može doći do nastanka neuroborelioze (primjećeno u 10-20% pacijenata) u obliku meningoradikulitisa, meningitisa ili meningoencefalitisa, Lyme artritisa ili borelia limfocitoma. Mjesecima ili čak godinama nakon infekcije može doći do kroničnog artritisa, encefalomijelitisa, kronične neuroborelioze, limfocitoma, acrodermatitis chronica atrophicans (Rizzoli i sur., 2011). Kasni stadij se manifestira godinama nakon početka bolesti kod osoba koje nisu izliječene u ranim stadijima. Još su mogući su i ozbiljni psihijatrijski simptomi (napadaji panike, dezorijentacija, halucinacije, impulsivno nasilje, manično ili opsesivno ponašanje, paranoja, shizofreniji slična stanja, suicidalne težnje, demencija i drugi simptomi), promjene na očima, koži, srcu i krvnim žilama, zglobovima, jetri, plućima, mišićima, želucu i crijevima (<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1678/>).



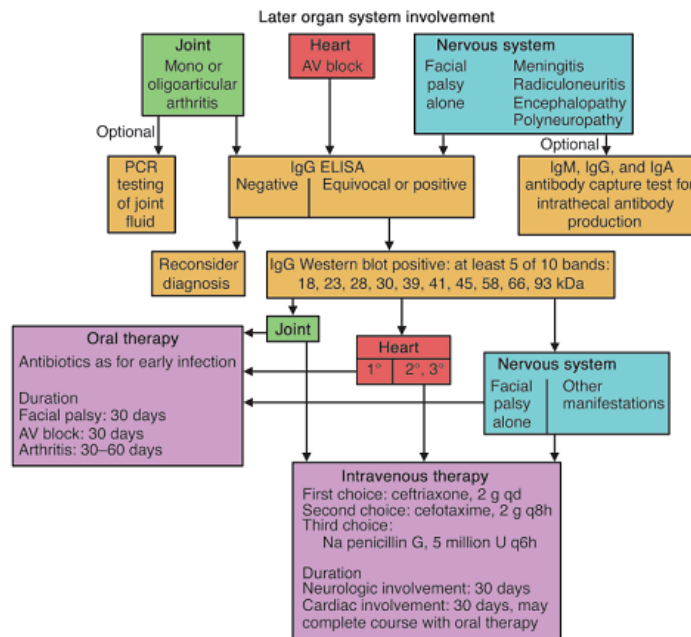
Klinička manifestacija *Erythema chonica migrans*

(http://www.emedicinehealth.com/slideshow_lyme_disease/article_em.htm)

Klinička slika, epidemiološki podaci o boravku u kraju endemičnom za boreliozu te mikrobioloških pretraga ključni su u postavljanju dijagnoze, a konačnu dijagnozu osigurava jedino uzgoj uzročnika. Dijagnoza se primarno bazira na najuočljivijem kliničkom znaku, erythema migrans, dok se potvrđuje serološkim pretragama na specifična protutijela ili pcr-om. koristi se i dokaz igm i igg protutijela nastalih kao odgovor na zarazu boreliom (testiranje se provodi četiri do šest tjedana nakon ugriza krpelja) te ifa-imunofluorescentni test. Nedostatak testa je što može dati lažno pozitivnu reakciju u osoba koje u krvi imaju pozitivan nalaz biljega na vrstu *Treponemu pallidum* (uzročnika sifilisa) i neke autoimune bolesti. Kao potvrdni test na boreliozu koristi se western blot. Zbog rizika od progresije bolesti, liječiti se trebaju sve osobe koje uz pozitivan nalaz PCR testa na borelije i/ili protutijela u serumu imaju kliničke simptome koji upućuju na bolest. Ne postoji cjepivo nego se liječi antibioticima ovisno o fazi bolesti i simptomima. Isto tako bolje je što prije početi s terapijom kakio bi se suzbila mogućnost razvijanja kasnijih ozbiljnijih simptoma (Rizzoli i sur., 2011). Prvi stadij (*erythema migrans*) liječi se antibioticima peroralno (doksiciklinom, a trudnice i djeca mlađa od osam godina amoksicilinom, eritromicinom ili azitromicinom), a za neurološke i kardiološke poremećaje potrebna je intravenska primjena visokih doza penicilina G ili cefalosporina (<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1678/>). Kako za ovu bolest ne postoji preventivno cjepivo, osobe cijepljene protiv krpeljnog virusnog meningoencefalitisa, kojima se krpelj zario u kožu, trebaju nadzirati mjesto uboda tijekom mjesec dana. Ako u tom vremenu uoče navedene promjene, trebaju se javiti liječniku (<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1377/>).



Shema za dijagnozu i liječenje rane faze Lyme borelioze (prema Steere i sur., 2004)



Shema za dijagnozu i liječenje kasne faze Lyme borelioze (prema Steere i sur., 2004)

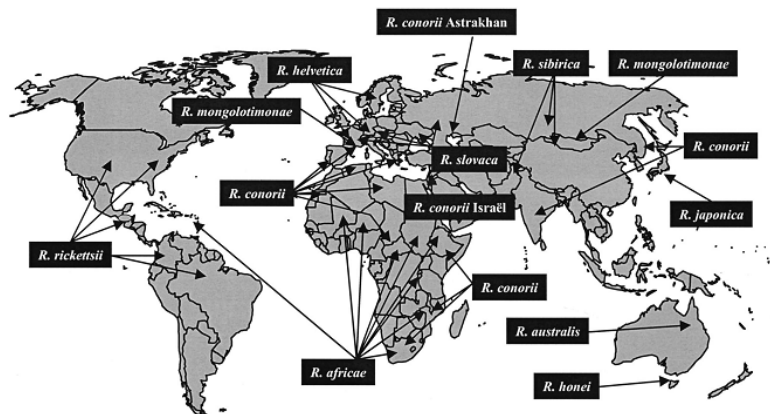
Iako LB nije pretjerano nova emergentna bolest točan opis LB epidemiologije u Europi i dalje nije moguć budući se samo nekoliko država ova bolest obavezno prijavljuje. Pacijenti mogu biti inficirani s jednom do dvije (rjeđe tri) patogene genovrste te je zbog toga teže otkrivanje i liječenje budući zbog heterogenosti simptoma. Veći rizik za LB je povezan s određenim aktivnostima u prirodi i sa starošću – uglavnom su pogođena djeca 5-14 godina te odrasli između 50-64 godine. Budući je bolest korelirana s pojavom krpelja i izloženosti njima

dijagnoza akutne LB je najveća u lipnju i srpnju u najvećem dijelu europskih država te nešto manje u južnim državama na kraju ljeta te ranoj jeseni (Rizzoli i sur., 2011).

Ostale krpeljne bolesti

Rikecioze

Rikecijoze su bolesti koje svojim simptomima mogu nalikovati gripi, ali mogu izazvati teške, pa čak i smrtonosne komplikacije. Uzrokovane su obligatnim intracelularnim bakterijama iz roda *Rickettsia* te su jedne od najstarije poznatih bolesti koje se prenašaju putem člankonožaca. Inficiraju skoro sve organe krpelja, najviše žlijezde slinovnice što omogućuje da se tijekom hranjenja prenesu na domaćina. Kao vektori služe krpelji iz porodice Ixodidae. U krpelju se održavaju i transovarijski i transstadijalno (Parola i Raoult, 2001). Uzročnici pjegavog tifusa su rikecije – *R. slovaca*, *R. helvetica*, *R. aeschlimannii* te mnoge druge (Slika). U novije vrijeme rikecioze su sve više raširene po Europi te postoji sve veća prijetnja od tih bolesti (Vorou i sur., 2007). Mediteranska pjegava groznica akutna je sustavna bolest obilježena visokom temperaturom i osipom. Danas je ova bolest raširena diljem svijeta, a najčešće se javlja u proljeće i ljeto u zemljama mediteranskog bazena. Uzročnik ove bolesti je *Rickettsia conorii* (i srodni mikroorganizmi), a glavni prijenosnik u području mediteranskog bazena i u Hrvatskoj je smeđi pseći krpelj (vrsta *Rhipicephalus sanguineus*). Vrijeme od nastalog uboda krpelja do pojave simptoma bolesti iznosi 5 do 7 dana te su početni znakovi bolesti vrućica, jaka glavobolja, malaksalost, mučnina, bolovi u zglobovima i mišićima. Trećeg do petog dana bolesti javlja se tamnocrveni osip u obliku pjega i kvržica, bez popratnog svrbeža, a često i u obliku sitnih točkastih krvarenja. Osip je raširen po trupu, udovima, dlanovima, tabanima i licu. Jačina osipa uglavnom je razmjerna težini bolesti. Kožni osip traje dva do tri tjedna, a nakon nestanka osipa nastaje blago ljuštenje kože, koja na tim mjestima ostaje blago hiperpigmentirana tijekom nekoliko tjedana. U nekih bolesnika na mjestu uboda krpelja vidljiva je crvena promjena s crnim središtem, okruženim crvenim prstenom, promjera oko 1 cm i popratno povećanim limfnim čvorovima. Ova kožna promjena najčešće je smještena na udovima, glavi, trupu, u pazušnim jamama i u preponama. Do prije desetak godina ova bolest smatrala se benignom, čak i u neliječenih bolesnika. No danas se sve više pojavljuje s teškim oblicima i simptomima bolesti bubrega, središnjeg živčanog sustava i srca. Ranom primjenom antibiotske terapije (prvih 48 sati od početka simptoma) smanjuje se mogućnost nastanka teškog kliničkog stanja i smrtnog ishoda. Liječi se antibioticima (doksiciklin, kinoloni i azitromicin). U sezonskom razdoblju krpeljne aktivnosti (proljeće, ljeto) očekivana je ova bolest, ali se točna uzročna dijagnoza može postaviti tek serološkim pretragama (<http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/16299/Mediteranska-pjegava-groznica.html>).



Geografska distribucija patogena koji uzrokuju riketioze (prema Parola i Raoult, 2001)

Erlihioza

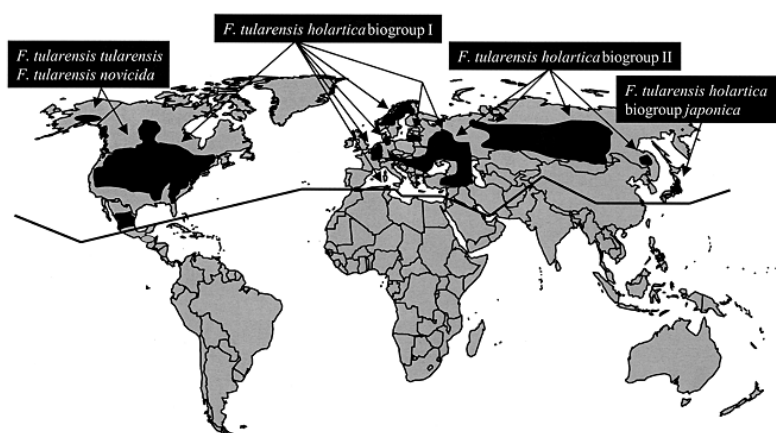
Iako su erlihioze dugo poznate kao veterinarski patogeni u novije vrijeme se sve više identificiraju kao emergentne ljudske bolesti prenašane krpeljima. Prvi ljudski slučaj monocitne erlihioze je opisan 1987. g. uzrokovan s *Ehrlichia canis* (uzročnik pseće erlihioze) (Parola i Raoult, 2001). Erlihioza se najčešće javlja tamo gdje ima i Lyme boreliozu, a uzrokovana je organizmima sličnim riketijama iz roda *Ehrlichia* koje primarno napadaju bijele stanice ili leukocite. Poznata su dva oblika humane erlihioze, potencijalno vrlo opasne bolesti: humana monocitna (uzročnik *E. chaffeensis*) i humana granulocitna (uzročnik još bez imena, ali se gotovo ne razlikuje od *E. equi* koji je patogen za životinje). Iako je erlihioza poznatija u Japanu i Sjevernoj Americi, rijetko se pojavljuje i u Hrvatskoj. Prenose je krpelji srodnici vrste *Ixodes ricinus*, a najčešće se javlja za ljetnih mjeseci u seoskim (ruralnim) područjima. Prosječna inkubacija je osam do devet dana, a prosječno trajanje bolesti oko tri tjedna. Simptomi koji se mogu javiti su sljedeći: vrućica, glavobolja, bolovi u mišićima, povraćanje, osip, kašalj, upala ždrijela (faringitis), proljev, oteklina limfnih čvorova, bolovi u trbuhu, smetenost. Kao komplikacija mogu se javiti oportunističke gljivične infekcije. U težim slučajevima može doći do poremećaja disanja, neuroloških simptoma i zatajenja bubrega. Jednom kad se posumnja na erlihiozu, treba što prije početi liječenje lijekom izbora, a to je doksiciklin (<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/312/>).



Geografska distribucija patogena koji uzrokuju erlihiozu (prema Parola i Raoult, 2001)

Tularemija

Prvi zabilježeni slučaj vjerojatne tularemije je opisan 1837. g. u Japanu te je kao bolest stvarno dokazana 1911. g. u vjevericama. Uzročnik je kultiviran godinu dana kasnije i nazvan *Bacterium tularense*. Prvi dokumentirani ljudski slučaj je bio 1914. g. te je uzročnik preimenovan u *Francisella tularensis* u čast E. Francisu. Tularemija je široko rasprostranjena na sjevernoj hemisferi diljem sjeverne Amerike, sjeverne Azije te Europe. Epidemiologija ove bolesti vrlo je kompleksna te je bakterija uzročnik, gram-negativan kokobacil, zabilježena u više od 250 vrsta uključujući sisavce ali i beskralježnjake (Parola i Raoult, 2001). Kao rezervoari infekcije služe glodavci, a kao vektori su krpelji (zaslužni za bolest u središnjoj Europi) i komarci (Vorou i sur., 2007). Tularemija je akutna bolest koja se uglavnom očituje lokalnim promjenama na mjestu ulaska uzročnika, uz razvoj promjena na koži i sluznicama, povećanje limfnih čvorova, pneumoniju te druge rjeđe oblike bolesti (<http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/9687/Bolesti-koje-prenose-krpelji.html>)



Geografska distribucija patogena koji uzrokuju tularemiju (prema Parola i Raoult, 2001)

Ljudska granulocitna anaplazmoza (ljudska granulocitna erlihioza)

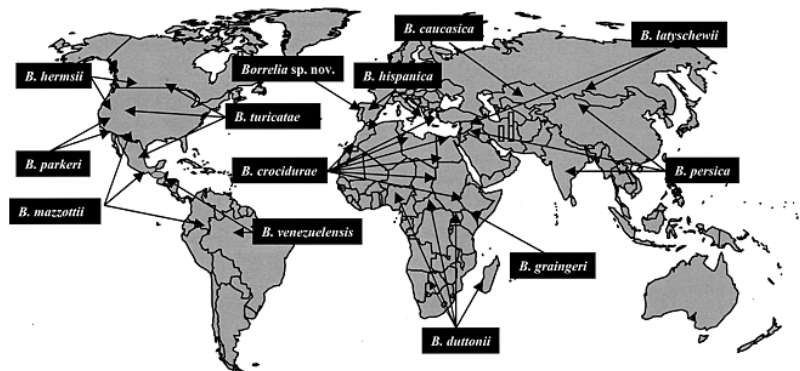
To je krpeljna zoonoza uzrokovana patogenom vrste *Anaplasma phagocytophilum*. Desetljećima je povezivana s krpeljnom groznicom u stoci, ovcama i kozama kroz Europu te su se ljudski slučajevi pojavili tek 1996. Kao vektori služe vrste *I. ricinus* i *I. persulcatus* (Vorou i sur., 2007).

Babezijoza

To je primarno bolest životinja koju uzrokuju protozoe *Babesia divergens* i *Babesia microti*. U većine osoba zaraženih babezijama bolest prolazi bez simptoma ili kao blaža bolest nalik gripi, dok se teži oblici bolesti razvijaju uglavnom u imunodeficijentnih, splenektomiranih i starijih osoba (<http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/9687/Bolesti-koje-prenose-krpelji.html>). Babezijoza može nalikovati i malariji s visokom temperaturom, hemolitičkom anemijom, hemoglobinurijom te otkazivanjem bubrega. Asimptomatske infekcije mogu perzistirati godinama u mlađih osoba (Bratton i Corey, 2005).

Krpeljna povratna groznica

Uzrokovana je s barem 13 vrsta *Borrelia* bakterija te se prenosi širem svijeta na ljude preko mekih krpelja roda *Ornithodoros*. Svaka *Borrelia* vrsta koja uzrokuje ovu bolest je specifična na krpeljnog vektora (Slika 26.) (Parola i Raoult, 2001). Nakon inkubacije oko tjedan dana, javljaju se simptomi nalik gripi, mučnina, povraćanje, vrtoglavica, vrlo visoke temperature. Kao komplikacije se mogu javiti znakovi meningitisa, puknuće slezene, koma te brojni drugi (Bratton i Corey, 2005).



Geografska distribucija patogena koji uzrokuju povratnu groznicu (prema Parola i Raoult, 2001)

Crimean Congo hemoragijska vrućica

Ova teška bolest uz opće simptome očituje se poremećajem koagulacije s posljedičnim nastankom krvarenja. Uzrokuje ju virus Crimean Congo hemoragijske groznice koji pripada rodu *Nairovirus*, porodici Bunyviridae te je raširena po Africi, Aziji, Bliskom Istoku te Istočnoj Europi. Smrtnost je do 30% te se prenosi krpeljima iz porodice Ixodidae (Vorou i sur., 2007;

http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/98765/e82481.pdf).

Q -groznica

Prvi put prepoznata u Australiji od strane Derrick 1935. g. kao sveprisutna zoonoza uzrokovana s vrstom *Coxiella burnetii*. Bolest se očituje vrućicom, mijalgijama i glavoboljom, a u težim slučajevima i razvojem hepatitisa, pneumonije i meningoencefalitisa. Uloga krpelja u ljudskoj infekciji smatra se da je minimalna te da je Q-groznica uglavnom nastaje nakon ingestije ili inhalacije virulentnih organizama sa inficiranih sisavaca (uglavnom koze, ovce i mačke) (Parola i Raoult, 2001; <http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/9687/Bolesti-koje-prenose-krpelji.html>).

Koinfekcije

Kako svi ovi patogeni mogu koegzistirati u krpeljima roda *Ixodes* zabilježene su i koinfekcije. Ali epidemiologija i povijest koinfekcija nisu u potpunosti razjašnjene te većina doktora ima limitirana iskustva u njihovom prepoznavanju i suzbijanju. Rizik od koinfekcije s višestrukim patogenima nakon ugriza krpelja roda *Ixodes* se razlikuje ovisno o geografskoj lokaciji, no nikakva sistematična istraživanja takve vrste još nisu provođena. U Europi, prisustvo dvaju patogena u krpelju *I. ricinus* ovisi o geografskoj lokaciji gdje je krpelj sakupljen te o metodologiji, no najveći zabilježeni postoci takvih slučajeva bili su u Bugarskoj i Poljskoj. Još se manje zna o prisustvu dvaju patogena u krpelju vrste *I. persulcatus*, te najmanje o prisustvu triju patogena (vrste *B. burgdoreferi*, *Babesia microti*, *Anaplasma phagocytophilum*) (Swanson i sur., 2006).

Epidemiologija krpelja vrste *Ixodes ricinus* u Republici Hrvatskoj

U kontinentalnoj Hrvatskoj se najčešće susreću krpelji vrste *Ixodes ricinus*, dok u priobalnom pojasu veću opasnost predstavlja kontakt sa psećim krpeljom *Rhipicephalus sanguineus*. Krpelji su najaktivniji u proljeće i rano ljeto dok se u manjem broju opet pojavljuju na početku jeseni te se zato i bolesti javljaju sezonski. Među bolestima koje se u Hrvatskoj najčešće pojavljuju nakon ugriza krpelja su krpeljni virusni meningoencefalitis, Lyme boreliozna, erlihioza, mediteranska pjegava groznica i tularemija. To su tzv. bolesti prirodnih žarišta jer se pojavljuju samo na određenim područjima ovisno o prirodnom staništu vektora. Postotak krpelja koji je zaražen je mali, no ovisno o području dolazi do pojave određene bolesti. Iako krpelja ima po cijeloj Hrvatskoj, zbog njihove brojnosti i rasprostranjenosti, kao i potencijalne opasnosti od bolesti koje prenose, područje sjeverozapadne Hrvatske proglašeno je "crvenom" ili najugroženijom zonom. Krpeljni virusni meningoencefalitis endemičan je u sjevernoj i sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Javlja se u kontinentalnom dijelu između Drave i Save (okolica Zagreba, Varaždin, Koprivnica, Vinkovci, Bjelovar) sa slobodnim područjem oko Slavenskog Broda te u novije vrijeme u Gorskom kotaru. Godišnje se u Hrvatskoj registrira 20 do 150 oboljelih, sa smrtnošću ispod 1%. Krpeljni meningoencefalitis je prvi put u Hrvatskoj zabilježen 1953. g. Lyme boreliozna endemična je u cijeloj kontinentalnoj Hrvatskoj i u Hrvatskom primorju. U Hrvatskoj se godišnje prijavi oko 300 slučajeva (najviše na području Međimurske županije), a najčešće oboljevaju djeca i osobe mlađe životne dobi. Lyme boreliozna je prvi put u Hrvatskoj zabilježena 1984. g. iako se *erythema migrans* javljala već ranijih desetljeća. Rikecioze se u Hrvatskoj javljaju u endemskim područjima gdje su životinje (osobito ovce i psi) glavni rezervoar bolesti. Mediteranska pjegava groznica javlja se samo na području Dalmacije (osobito u

priobalnom i otočnom području oko Zadra i Splita), a prosječna godišnja stopa pobola raste od sjevera prema jugu Dalmacije (Mulić i sur., 2011; Topolovec i sur., 2003; <http://www.monitor.hr/clanci/sezona-je-krpelja/12643/>;

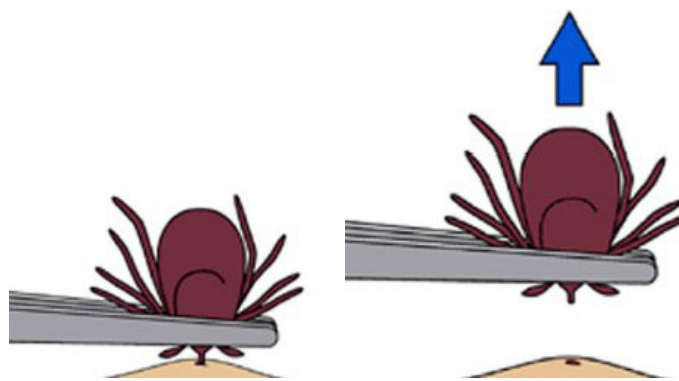
Sprječavanje krpeljnih bolesti

Reduciranje i kontroliranje populacije krpelja je vrlo teško. Modifikacije njihova staništa (upotreba herbicida, spaljivanje, rezanje i isušivanje) jedna je od strategija, ali nije dugotrajna te samo dovodi do ekološkog disbalansa. U nekim područjima isključivanje domaćina ili depopulacija može dovesti do redukcije gustoće krpelja no to nije praktično rješenje. Upotreba organofosfata ili piretroida uzrokuju okolišna oštećenja i toksični su za životinje i ljude. Biološke metode kontrole uključuju puštanje prirodnih predatora (mravi, pauzi, kornjaši) te bakterijskih patogena krpelja, masovno otpuštanje steriliziranih mužjaka zračenjem ili hibridizacijom te imunizacijom domaćina protiv krpelja (Parola i Raoult, 2001). Prevencija protiv ugriza krpelja i prijenosa bolesti može se podijeliti u nekoliko različitih strategija – okolišna, osobna te profilaktična (nakon ugriza). Okolišna strategija podrazumijeva kontrolu populacije životinja domaćina i drugih vektora. Osobna strategija podrazumijeva izbjegavanje travnatih područja s grmovima, nošenje bijele i svijetle odjeće kako bi se lakše uočili krpelji, krajeve hlača treba ugurati u čarape, hodanje po sredini puteva kako bi se izbjegla niska vegetacija, upotreba insekticida koji sadrže permetrin (na odjeću) ili N, N-dietilmetatoluamide (DEET, na odjeću i direktno na kožu) te često samopregledavanje (obično se krpelj nađe iza uha, na vratu, preponama, pazusima, iza koljena, pupku) te upotreba repelenata. Nakon ugriza krpelja, ako se sumnja da je krpelj zaražen, treba ga maknuti što prije (12-24 h neće doći do prijenosa bolesti) te sljedećih 30 dana promatrati to mjesto kako ne bi došlo do osipa. Krpelja je najbolje maknuti tako da se krpelj uhvati blizu kože te čvrsto ali postupno izvuče iz kože (nikako ga se ne smije stiskati prilikom izvlačenja), a nakon izvlačenja krpelja treba očistiti područje ugriza s alkoholom. Profilaktične mjere uključuju upotrebe cjepiva. Samo se krpeljni meningoencefalitis liječi cjepljenjem, dok se druge bolesti liječe simptomatski antibioticima (Rizzoli i sur., 2011; <http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>).



Područja na tijelu gdje se krpelji najčešće prihvaćaju

(http://www.zjzka.hr/index.php?option=com_content&view=article&id=78:oprez-sezona-krpelja&catid=36:aktualno-lanci&Itemid=37)

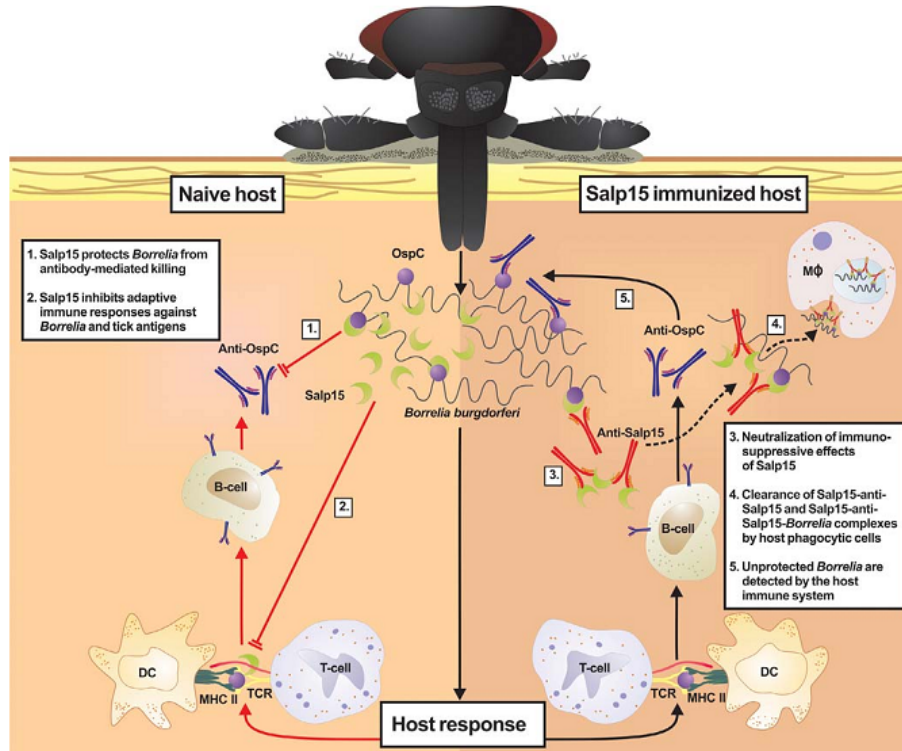


Postupak vađenja krpelja pincetom (http://www.cdc.gov/ticks/removing_a_tick.html)

Potencijalne farmakološke tvari u slini krpelja

Dok su krpelji prihvaćeni na domaćinu kako bi se nahranili krvlju, u kožu domaćina ispuštaju svoju slinu. Kao slina drugih hematofagnih životinja i njihova sadrži veliki raspon fiziološki aktivnih molekula koje su nužne za prihvaćanje na domaćina, za prijenos patogena ili za interakciju s procesima u domaćinu (koagulacija, fibrinoliza, imunost, upala i angiogeneza). Novijim istraživanjima je pokazano kako neke molekule iz sline krpelja mogu služiti kao potencijalni budući antikoagulansi ili imunosupresivni lijekovi te se zato istražuju *in vitro* ili na životinjskim modelima za ljudske bolesti. Isto tako je pokazano kako bi se moglo napraviti cjepivo bazirano na krpeljnim antigenima zbog dokaza kako ponovljeno izlaganje nekih životinja ugrizima krpelja sprječava daljnje ugrize krpelja i prijenos patogena (Hovius i sur., 2008). Hranjenje krpelja je otežano hemostatskim odgovorom domaćina te zato slina krpelja sadrži brojne antikoagulacijske molekule koje sprječavaju koagulaciju, povećavaju fibrinolizu te sprječavaju agregaciju trombocita. Slina iz mekog krpelja vrste *Ornithodoros moubata* sadrži serinsku proteazu koja je inhibitor faktora X – nazvan je antikoagulacijski peptid (TAP). TAP inhibira zgrušavanje ljudske plazme *ex vivo*. Slina krpelja sadrži nekoliko inhibitora puta tkivnog faktora (TFPI) te je nedavno identificiran Ixolaris iz *I. scapularis*. Ixolaris je pokazao uspješnu antitrombocitnu aktivnost bez hemoragije ili krvarenja. Direktni inhibitori trombina još uspješnije dovode do antitrombocitnog učinka te je nekoliko takvih specifičnih inhibitora nađeno u slini krpelja no istraživanja još nisu testirana *in vivo*. Jedan od takvih inhibitora je variegina iz tropskog krpelja vrste *Amblyomma variegatum* (Hovius i sur., 2008). Stanični urođeni imunološki odgovor ovisi o mnogim receptorima (npr. *Toll-like* receptor) koji su prva linija obrane protiv invadirajućih mikroba. Isto tako urođeni mehanizam je kaskadni sustav komponenti komplementa. Budući se krpelji na domaćinu hrane po nekoliko dana organizam može razviti imunološki odgovor. Iz tog razloga krpelj je morao osmisliti mehanizme kojima se može zaštititi od upale i imunološkog odgovora domaćina. Kako sustav komplementa je uključen u patogenezu mnogih autoimunih poremećaja, inhibicija tog puta može biti potencijalno klinički zanimljiva. Slina krpelja sadrži mnoge molekule kojima se specifično inhibira aktivacija komplementa. Jedan od takvih molekula je OMCI, inhibitor aktivacije komponente C5, iz mekog krpelja *Ornithodoros moubata*. Pokazano je kako takva inhibicija C5 inhibira hemolitičku aktivnost i razvoj patoloških značajki za autoimunu bolest myasthenia gravis (dokazano na štakoru). Inhibitorni protein B

limfocita iz *Ixodes ricinus* krpelja (BIP) je jedan od proteina u slini krpelja koji suprimira proliferaciju mišjih B limfocita. Protein iz *Ixodes scapularis* Salp15 inhibira aktivaciju T limfocita (veže se na CD4 molekulu što dovodi do smanjenog stvaranja IL-2 i smanjene proliferacije limfocita T) (Slika). Iris je immunosupresivni protein iz *Ixodes ricinus* koji inhibira IFN- γ , IL-6 i TNF- α te na taj način modulira odgovor T limfocita (Hovius i sur., 2008).



Anti-Salp15 cjepivo moglo bi spriječiti prijenos *Borrelia burgdorferi* (Hovius i sur., 2008)

Rezultati istraživanja brazilskih znanstvenika s Instituto Butantan u Sao Paulu pokazuju kako protein iz sline jedne vrste južnoameričkog krpelja, vrste *Amblyomma cajennense*, može uništiti stanice raka kože, jetre i gušterače, pri tome ne uzrokujući oštećenja zdravih stanica. Analize su pokazale kako je ovaj protein sličan antikoagulansu TFPI za kojeg je poznato da utječe i na rast stanica. No trebaju još proći godine istraživanja prije nego će se točno moći ustvrditi učinkovitost ovog proteina te možda razviti potencijalni lijek temeljen na njemu (<http://www.plivazdravlje.hr/vijesti/clanak/17098/Krpelji-kao-izvor-lijeka-za-rak.html>).

Zaključak

Krpelji su člankonošci koja naseljavaju gotovo sva područja na Zemlji. Kako bi preživjeli potreban im je obrok krvi, tako da parazitiraju na velikom broju razolikih vrsta kralježnjaka. Kako se velik broj krpelja može prehranjivati na većem broju različitih domaćina, ovisno o vrsti i razvojnom stadiju, može se zaraziti nekim patogenim organizmom te ga prenijeti na sljedećeg domaćina. Iz tog razloga, iako su poznati od davnina, krpelji dobivaju sve veću medicinsku pozornost zbog patogena koje prenose. Kao najčešće bolesti ljudi javljaju se Lyme boreliozu, krpeljni virusni meningoencefalitis, riketioze, babezioze, erlihioze te mnoge druge. Iako su ove bolesti dosta teške i mogu dovesti do vrlo ozbiljnih posljedica, samo je vrlo mali postotak krpelja zaražen te ako

se krpelj i prihvatiti potrebno ga je što prije odstraniti budući da do prijenosa bolesti dolazi tek kasnije. Osim za krpeljni virusni meningoencefalitis, za ove bolesti ne postoji cjepivo već se bolesti liječe prema simptomima. Kao najbolji način sprječavanja ovih krpeljnih bolesti i samih ugriza krpelja trebalo bi se kloniti šumskih područja gdje krpelji uglavnom obitavaju.

Literatura

Bratton RL, Corey R, 2005. Tick-borne disease. *American Family Physician* **71 (12)**, 2323-2330

Dumpis U, Crook D, Oksi J, 1999. Tick-Borne Encephalitis. *Clinical Infectious Diseases* **28**, 882-890

Hovius JWR, Levi M, Fikrig E, 2008. Salivating for Knowledge: Potential Pharmacological Agents in Tick Saliva. *Public Library of Science Medicine* **5 (2)**, 202-208

Lindgren E, Jaenson TGT, 2006. Lyme borreliosis in Europe: influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. World Health Organization, Regional Office for Europe, 1-35

Mansfield KL, Johnson N, Phipps LP, Stephenson JR, Fooks AR, Solomon T, 2009. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis. *Journal of General Virology* **90**, 1781-1794

Matoničkin I, Habdija I, Primc-Habdija B, 1999. Beskralješnjaci, Biologija viših avvertabrata. Školska knjiga, Zagreb, pp.194-195

Mulic R, Petkovic B, Klismanic Z, Jeroncic I, 2011: Bolesti koje se prenose krpeljima na području Hrvatske. *Liječnički vjesnik* **133 (3-4)**, 89-95

Parola P, Raoult D, 2001. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. *Clinical Infectious Diseases* **32**, 897-928

Randolph SE, 2001. The shifting landscape of tick-borne zoonoses: tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis in Europe. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **356**, 1045-1056

Rizzoli A, Hauffe HC, Carpi G, Vourc'h GI, Neteler M, Rosà R, 2011. Lyme borreliosis in Europe. *Eurosurveillance* **16 (27)**, 2-9

Rupprecht TA, Koedel U, Fingerle V, Pfister HW, 2008. The Pathogenesis of Lyme Neuroborreliosis: From Infection to Inflammation. *Molecular Medicine* **14 (3-4)**, 205-212

Steere AC, Coburn J, Glickstein L, 2004. The emergence of Lyme disease. *Journal of Clinical Investigation* **113**, 1093-1101

Swanson SJ, Neitzel D, Reed KD, Belongia A, 2006. Coinfections Acquired from *Ixodes* Ticks. *Clinical Microbiology Reviews* **19 (4)**, 708-727

Tilly K, Rosa PA, Stewart PE, 2008. Biology of Infection with *Borrelia burgdorferi*. *Infectious Disease Clinic of North America* **22 (2)**, 217-234

Topolovec J, Puntarić D, Antolović-Požgain A, Vuković D, Topolovec Z, Milas J, Druško-Barišić V, Venus M, 2003. Serologically Detected „New“ Tick-borne Zoonoses in Eastern Croatia. *Croatian Medical Journal* **44 (5)**, 626-629

Vorou RM, Papavassiliou VG, Tsiodras S, 2007. Emerging zoonoses and vector-borne infections affecting humans in Europe. *Epidemiology and Infection* **135**, 1231-1247

Internet izvori:

http://www.emedicinehealth.com/ticks/article_em.htm

<http://emedicine.medscape.com/article/786652-overview>

http://www.emedicinehealth.com/slideshow_lyme_disease/article_em.htm

http://www.cdc.gov/ticks/life_cycle_and_hosts.html

http://www.cdc.gov/ticks/removing_a_tick.html

<http://www.cdc.gov/ticks/symptoms.html>

<http://www.cdc.gov/niosh/topics/tick-borne/>

<http://www.isw-tbe.info/upload/medialibrary/Figure-04.jpg>

<http://www.fsbio-hannover.de/oftheweek/65.htm>

http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/ixodes_ricinus.pdf

<http://www.nhm.ac.uk/nature-online/species-of-the-day/scientific-advances/disease/ixodes-ricinus/index.html>

<http://www.skinsight.com/firstaid/firstAidTickBites.htm>

http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/98765/e82481.pdf

<http://www.bada-uk.org/homesection/about/diseases/tick-borneviruses.php>

http://viralzone.expasy.org/all_by_species/24.html

<http://www.stanford.edu/group/virus/1999/asb-flavi/bio.htm>

<http://www.stanford.edu/group/virus/1999/asb-flavi/bio.htm>

http://eol.org/data_objects/14844520

<http://lymediseaseawareness.com/wp-content/uploads/2008/09/borrelia-burgdoferi.gif>

<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1377>

<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/2026/>

<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/312/>

<http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1678/>

<http://www.jutarnji.hr/csi-za-krpelje-u-potrazi-za-virusom/843736/>

<http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/16299/Meditranska-pjegava-groznica.html>

<http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/9687/Bolesti-koje-prenose-krpelji.html>

<http://www.plivazdravlje.hr/vijesti/clanak/17098/Krpelji-kao-izvor-lijeka-za-rak.html>

http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/98765/e82481.pdf

<http://www.monitor.hr/clanci/sezona-je-krpelja/12643/>