

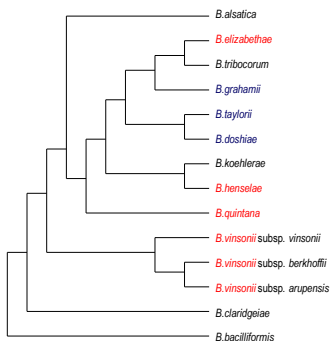
DIJAGNOSTIKA BARTONELOZA

Prim.dr.sc. Oktavija Đaković Rode
Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević"
Zagreb

Bartonella spp.

- Fakultativno intracelularni kratki pleomorfni Gram-negativni štapići ili kokobacili
- Subgrupa α_2 razreda *Proteobacteria*

Filogenetsko stablo *Bartonella* spp. porodica *Bartonellaceae*



Clin Diagn Lab Immunol. 2002;9(1):8-18

MIKROBIOLOŠKE KARAKTERISTIKE BARTONELA

- Katalaza, oksidaza, ureaza i nitrat reduktaza negativne
- Pokretljivost:
 - *B. bacilliformis* i *B. claridgeiae* – flagele
 - *B. henselae* i *B. quintana* – pili

OSJETLJIVOST NA ANTIBIOTIKE

- Standardni postupci in vitro određivanja MIK ne koreliraju dobro s kliničkim iskustvima!
 - In vitro osjetljivost
 - Beta laktami (osim oksacilin, cefalotin)
 - Aminoglikozidi
 - Makrolidi
 - Tetraciklini
 - Rifampin
 - Rezistencija
 - Klindamicin
 - Baktericidna aktivnost
 - aminoglikozidi (gentamicin, tobramicin, amikacin)

Bartonella sp. prirodni rezervoari, način prijenosa

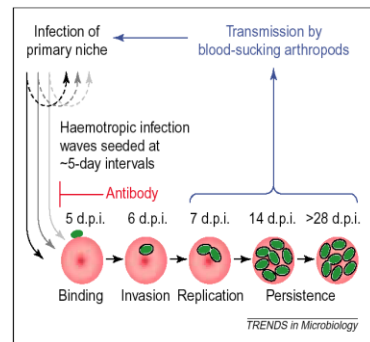
BARTONELLA SP.	REZERVOAR	VEKTOR
HUMANE VRSTE		
<i>B. bacilliformis</i>	čovjek	Nevid (<i>Lutzomyia</i> sp.)
<i>B. quintana</i>	čovjek	Uš (<i>Pediculus humanus corporis</i>)
ZOOZOZE		
<i>B. henselae</i>	mačka	Mačja buha (<i>Ctenocephalides felis</i>)
<i>B. clarridgeiae</i>	mačka	Mačja buha (<i>Ctenocephalides felis</i>)
<i>B. elizabethae</i>	štakor	
<i>B. grahamii</i>	miš	
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>arupensis</i>	miš	Krpelj (<i>Ixodes scapularis</i>)
<i>B. washoensis</i>	vjeverice	
ŽIVOTINJSKE VRSTE		

Bartonella spp. povezanost s bolestima u ljudi, prijenosnici i rasprostranjenost

VRSTA	BOLEST	PRIENOSNIK (VEKTOR)*	RASPROST (RANJENOST)
<i>B. henselae</i>	BMO, okluzivne manifestacije - encefalopatija, meningitis, hemipleģija, demencija, akutni poliartritijski sindromi, FKO, hepatosplenitni apscesi, bakterijemija, osomjenjivost, BA, pejsos hepatitis, svrbežna nodosum, druge kožne lezije	Mačja buha, krpelj - čovjek je slučajni domaćin!	Europa, Južna Amerika, SAD, Afrika, Azija
<i>B. quintana</i>	Endokarditis, rozeška groznica, BMO, bacilarna angiomatoza (BA), bacilarna pelioza	Tijelna uš, mačja buha, krpelj	Europa, Južna Amerika, SAD, Afrika
<i>B. elizabethae</i>	Endokarditis	Štakorska buha	Europa, SAD, Azija
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>berkhoffii</i> , <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>arupensis</i>	Endokarditis, artralģija i mišlģija glavobolja/ slabost	<i>I. pacificus</i> , krpelj, miš	Europa, SAD
<i>B. grahamii</i>	Endokarditis, neuroretinitis,	Buha	Europa, Kanada, Azija
<i>B. dothiae</i>	BMO	Štakorska buha	Europa
<i>B. clarridgeiae</i>	BMO, sepsa, endokarditis	Mačja buha, buha glodalovca, ekto paraziti	Europa, SAD, Azija

VRSTA	BOLEST	PRIENOSNIK (VEKTOR)*	RASPROST (RANJENOST)
<i>B. clarridgeiae</i> like		Vrućica i splenomegalija	Nepoznato Peru
<i>B. bacilliformis</i>	Carionozna bolest, Orupa groznica, Vermija peruvana	Nevid (<i>Lutzomyia verrucosum</i>) - čovjek je prirodni domaćin	Južna Amerika
<i>B. rochalimaea</i>	Bakterijemija, vrućica, kožne lezije, splenomegalija	Nepoznato (vjerojatno <i>L. verrucosum</i>)	Peru
<i>B. koehlerae</i>	Endokarditis, BMO	Buha mačaka i glodalovca	SAD
<i>B. washoensis</i>	Vrućica i mikraditis	Krpelj <i>I. pacificus</i> , igojevica	SAD
<i>B. taylorae</i>	Vrućica	Nepoznato	Tajland

Životni ciklus *Bartonella* sp. u rezervoaru



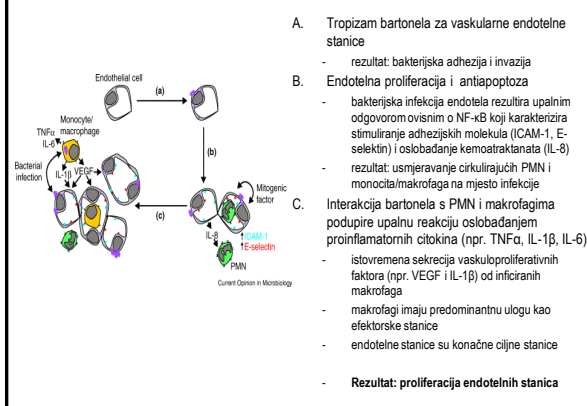
from Dehio, C. Trends in Micro 2001; 9:279

PATOGENEZA BARTONELOZA

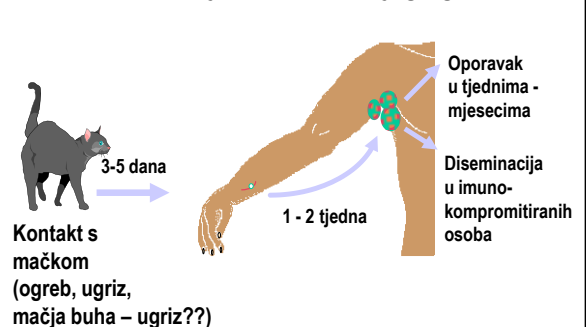
- Primarni prostor mogu biti endotelne stanice
 - bartonele proizvode faktore angiogeneze
- Bartonele napadaju i inficiraju eritrocite u domaćinu-rezervoaru
 - komponente VirB/VirD4 sekrecije tipa IV (T4SS)
 - faktor patogenosti bartonela
 - za uspostavljanje perzistentne infekcije: VirB i Trw (invazijski geni)

- Bartonele mogu izazvati **angiogenezu** (proliferaciju krvnih žila-kapilara) s dva neovisna mehanizma:
 - **Direktno**: poticanjem proliferacije i inhibicijom apoptoze endotelnih stanica
 - **Indirektno**: stimuliranjem produkcije faktora rasta vaskularnog endotela putem inficiranih makrofaga

MODEL VASKULARNE PROLIFERACIJE STIMULIRAN BARTONELAMA



Prirodni tijek bolesti mačjeg ogreba



DIJAGNOSTIKA BARTONELOZA

IZRAVNE METODE

Mikroskopski preparat

- krvni razmaz
- tkivni preparat – bojanje srebrom (Warthin Starry)
- imunohistokemijske metode

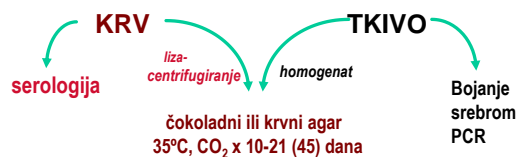
Kultivacija uzročnika

- Kultivacija na krutim i polukrutim hranilištima
- Stanična kultura
- Hemokulture

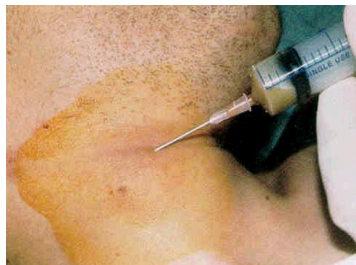
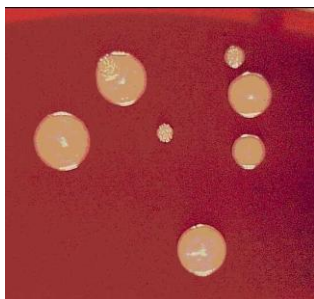
Metode molekularne dijagnostike

- umnožavanje DNA ili rRNA (u referentnim laboratorijima)

Mikrobiološka dijagnostika *Bartonella* infekcija



Bartonella henselae osebujan dimorfizam na krvnom agaru



NEJM 1999;340:108

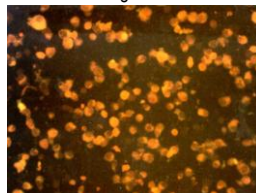
NEIZRAVNE DIJAGNOSTIČKE METODE

- Određivanje specifičnih protutijela IgM i IgG testom neizravne imunofluorescencije (IFA)
- **Kožni test - napuštena metoda**
 - antigen za BMO nije komercijalno dostupan ni standardiziran

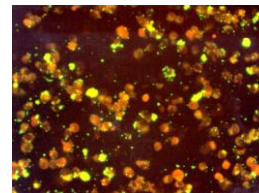
INDIREKтни TEST IMUNOFLORESCENCIJE

Bartonella henselae /quintana

Negativno



Pozitivno



SPECIFIČNA PROTUTIJEJA

- Detektabilna 1-2 tjedna nakon početka simptoma
- IgM vrh 4 tjedna nakon početka infekcije
 - Postepeni pad
 - Nedetektabilna 100 dana nakon početka simptoma
- IgG detektabilna kratko nakon pojave IgM
 - Visoka razina 7-8 tjedana nakon početka simptoma
 - Mogu perzistirati ili vremenom padaju
- Moguća perzistentno pozitivna protutijela, ali i nereaktivni s pozitivnim kulturama

INTERPRETACIJA NALAZA PROTUTIJEJA IFA

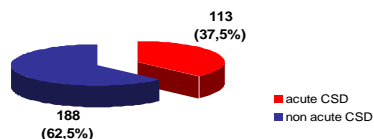
TITAR	INTERPRETACIJA
IgM \geq 20	Moguća trenutna ili nedavna infekcija IgM odgovor je visno specifičan, no moguća je ukrížena reaktivnost!
IgM < 20	Nema potvrde akutne infekcije
IgG \geq 256	Vjerojatni dokaz nedavne infekcije
IgG < 256 + IgG \geq 64	Jedan uzorak = infekcija neodređenog trajanja ⇒ Uzeti parni serum 10 do 21 dana nakon prvog seruma ✓ Titar parnog seruma \geq 256 ili četverostruki porast titra protutijela = dokaz AKUTNE INFEKCIJE ✓ Nepromijenjeni titar protutijela parnog seruma = prošla infekcija
IgG < 64	Nema potvrde akutne infekcije

Rezultati testiranja seruma na bartonele u Klinici za infektivne bolesti, Zagreb

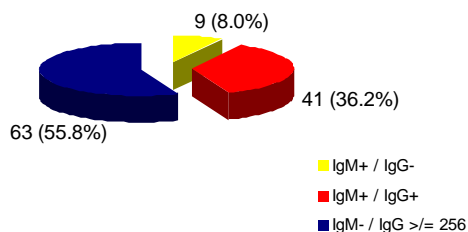
- Određivanje protutijela IgM i IgG za *B. henselae* i *B. quintana* imunofluorescentnom metodom
- Testirano je 383 seruma od 301 osobe
- Razdoblje od 01.05.2001. - 30.04.2002.

REZULTATI

- Reaktivni odgovor protutijela na bartonele u 232 / 383 (60,6%) uzoraka
- Značajan nalaz za akutnu bartonelezu u 113 / 301 (37,5%) pacijenata



Značajke protutijela za *Bartonella henselae* u 113 pacijenata sa serološki potvrđenom bolesti mačjeg ogreba



- Serološki testovi određivanja specifičnih protutijela ključni su za postavljanje etiološke dijagnoze
- Specifična protutijela u simptomatskih pacijenata s BMO obično su visoka
- U suspektnoj bartonelezi prvi (inicijalni) serum može pokazivati nisku razinu protutijela, pa treba uzeti drugi serum oko 3 tjedna kasnije i testirati ga paralelno

KOCHOVI POSTULATI

1. Mikroorganizam mora biti izoliran kod svakog slučaja određene bolesti
 2. Mikroorganizam mora biti izoliran u čistoj kulturi *in vitro* i tako rasti u nekoliko generacija
 3. Ako se takva čista kultura ucijepi u osjetljivu životinju, mora u njoj izazvati tipičnu bolest
 4. Mikroorganizam mora biti ponovo izoliran iz tipičnih lezija pokusne životinje
- Danas se dodaje i 5.
5. Tijekom bolesti dolazi do pojave specifičnih protutijela u serumu bolesnika protiv uzročnika koji je uzrokovao infekciju

