Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Onemocnění z kočičího škrábnutí (*Bartonella henselae*)

Anežka Mensová

Bakalářská práce
2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	**Anežka Mensová**
Osobní číslo:	**C17187**
Studijní program:	**B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor:	**Zdravotní laborant**
Téma práce:	**Onemocnění z kočičího škrábnutí (*Bartonella henselae*)**
Zadávající katedra:	**Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1) Vypracujte literární rešerši popisující patogenní působení bakterie *Bartonella henselae* v souvislosti s poraněním způsobených kočkou. Popište používané laboratorní diagnostické metody i zajímavé kazuistiky v ČR i v zahraničí.

2) Literární zdroje čerpejte zejména z databázích WOS a Medline. Prostudujte kazuistiky z klinické praxe.

3) Bakalářskou práci zpracujte dle platné směrnice Univerzity Pardubice.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kanďár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 22. 6. 2020 Anežka Mensová

PODĚKOVÁNÍ:

Tímto bych velice ráda poděkovala vedoucí své práce doc. Ing. Marcele Pejchalové, Ph.D., za její čas, ochotnou pomoc, trpělivost a cenné rady, jež napomohly zpracování mé bakalářské práce. Velké díky patří také mé rodině, příteli a blízkým přátelům, kteří mě ve studiu i při psaní práce podporovali.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá zkoumáním nemoci z kočičího škrábnutí (CSD). Bartonelové infekce se vyskytují na území České republiky vzácně a většinu případů tak lze těžko rozpoznat. Celá teoretická část je zaměřena na podrobný popis rozvoje CSD u člověka a možnou identifikaci bakterie Bartonella henselae, jež je původcem tohoto onemocnění. Na počátku je podrobně popsána její charakterizace. Následuje popis přenosu onemocnění z koček na člověka a popis specifických příznaků projevujících se při vzniku této bartonelové infekce. Důležitá část je věnována diagnostice CSD různými metodami. Pozornost byla věnována také primárnímu ošetření vzniklého škrábance, léčbě a prevenci před možným vznikem bartonelózy. Další kapitola se zabývá kočičím chováním, vlivy způsobující agresi u koček. Zmíněn byl také výskyt Bartonella henselae u jiných zvířat, konkrétně u psů, jež jsou druhou nejčastější skupinou, které B. henselae napadá. Přiblížena byla i situace výskytu onemocnění z kočičího škrábnutí v České republice, zpracována byla data z několika po sobě jdoucích let. Druhá kapitola je zaměřena na tři zajímavé kazuistiky pacientů s onemocněním z kočičího škrábnutí včetně fotodokumentace.

KLÍČOVÁ SLOVA

Bartonelóza, napadení kočkou, Bartonella henselae, symptomatologie, mikrobiologická diagnostika, ošetření, prevence

TITLE

Cat scratch disease (Bartonella henselae)

ANNOTATION

The bachelor's thesis deals with the study of cat scratch disease (CSD). Bartonella infections are rare in the Czech Republic and most cases are difficult to detect. The whole theoretical part is focused on a detailed description of the development of CSD in humans and the possible identification of the bacteria Bartonella henselae, which is the cause of this disease. The beginning of this thesis deals about characterization of CSD in detail. The following chapter is about the transmission of the disease from cats to humans and a description of the specific symptoms of this bartonella infection. An important part is devoted to the diagnosis of CSD by various methods. Attention was also paid to the primary treatment of scratches, treatment and prevention of possible bartonellosis. The next chapter deals with cat behavior, the effects of aggression in cats. The occurrence of Bartonella henselae in other animals was also mentioned, specifically in dogs which are the second most common group attacked by B. henselae. The situation of the occurrence of cat scratch disease in the Czech Republic was also presented and data from several consecutive years were processed. The second chapter is focused on three interesting case reports of patients with cat scratch disease including photo documentation.

KEYWORDS

Bartonellosis, cat attack, Bartonella henselae, symptomatology, microbiological diagnostics, treatment, prevention

OBSAH

ÚVOD **10**

1. ONEMOCNĚNÍ Z KOČIČÍHO ŠKRÁBNUTÍ **11**

1.1. PŮVODCE ONEMOCNĚNÍ **12**
1.1.1. *Bartonella henselae* 12
1.2. PŘENOS ONEMOCNĚNÍ **14**
1.2.1. Kontagiozita 16
1.3. INVAZIVITA **16**
1.3.1. Adheze 16
1.3.2. Penetrace 17
1.4. PROJEVY A PŘÍZNAKY **18**
1.4.1. Inkubační doba 20
1.5. DIAGNOSTIKA **20**
1.5.1. Sérologické vyšetření, kožní test 21
1.5.2. Histopatologické vyšetření 23
1.5.3. Polymerázová řetězcová reakce (PCR) 24
1.5.4. Kultivace a izolace 25
1.5.5. Testování citlivosti 26
1.5.6. DNA fingerprinting 26
1.5.7. Hmotnostní spektrofotometrie (MALDI-TOF MS) 27
1.5.8. Polymorfismus délky restrikčních fragmentů 28
1.5.9. Analýza buněčných mastných kyselin (CFA) 29
1.5.10. Biochemické testy 29
1.6. IMUNOLOGIE BARTONELOVÉ INFEKCE **30**
1.7. PRIMÁRNÍ OŠETŘENÍ KOČIČÍHO ŠKRÁBNUTÍ OPLACHOVÝMI ROZTOKY **30**
1.7.1. Jodovaný povidon 30
1.7.2. Prontosan 31
1.8. LÉČBA **31**
1.8.1. Azithromycin 33
1.8.2. Rifampicin 33
1.8.3. Ciprofloxacin 33
1.8.4. Gentamicin 34
1.8.5. Trimethoprim 34
1.9. PREVENCE **34**
1.10. AGRESE U KOČEK **35**
1.11. CSD POHLEDEM VETERINÁŘŮ **36**
1.12. *BARTONELLA HENSELAE* U OSTATNÍCH ZVÍŘAT **37**
1.13. SITUACE ONEMOCNĚNÍ CSD V ČESKÉ REPUBLICE **37**

2. KONKRÉTNÍ PŘÍPADY PŘI NAPADENÍ KOČKOU **39**

2.1. KAZUISTIKA Č. 1 ..... **39**
2.2. KAZUISTIKA Č. 2 ..... **41**
2.3. KAZUISTIKA Č. 3 ..... **43**

ZÁVĚR **45**

POUŽITÁ LITERATURA **46**

SEZNAM PŘÍLOH **51**

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Onemocnění vyvolaná bartonelami 15
Tabulka 2: Hodnocení titru protilátek *Bartonella henselae* 22
Tabulka 3: Statistika hlášených počtů poranění způsobenými zvířaty v letech 1999-2004 38
Tabulka 4: Před a pooperační výsledky laboratorních testů 44

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Morfologie bakterie *Bartonella henselae* 12
Obrázek 2: Vstup *Bartonella henselae* do endoteliální buňky 18
Obrázek 3: Zvětšená lymfatická uzlina v podpaží po poškrábání kočkou na ruce 19
Obrázek 4: Technika barvení Warthin-Starry v biopsii lymfatických uzlin 23
Obrázek 5: Nanášení vzorku a aplikace matrix na MALDI destičku 28
Obrázek 6: Schéma MALDI-TOF MS 28
Obrázek 7: Chemická struktura jodovaného povidonu 31

SEZNAM ZKRATEK

ATB	Antibiotika
BadA	Bartonelový adhezin A
Beps	Bartonelové efektorové proteiny
CRP	C-reaktivní protein
CSD	Nemoc z kočičího škrábnutí
ČR	Česká republika
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EIA	Enzymová imunoanalýza
ERIC-PCR	*Enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR*
FhaB	Vláknitý hemaglutinin
FW	Sedimentace erytrocytů
IFA	Nepřímá imunofluorescence
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
KO	Krevní obraz
LDH	Laktátdehydrogenáza
MALDI-TOF MS	Hmotnostní spektrofotometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátorem
PCR	Polymerázová řetězcová reakce
PFGE	Pulzní gelová elektroforéza
REP-PCR	*Repetitive extragenic palindromic PCR*
RFLP	Polymorfismus délky restrikčních fragmentů
RNA	Ribonukleová kyselina
rRNA	Ribozomální RNA
T4SS	Sekreční systém typu 4
TAAs	Trimerní autotransportní adheziny
USA	Spojené státy americké

ÚVOD

Tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku onemocnění z kočičího škrábnutí a bakterii *Bartonella henselae*. Obecně bartonely způsobují u člověka nespočet závažných infekčních onemocnění, kam spadá například meningoencefalitida či endokarditida. Četnost výskytu poranění kočkami je závislá na počtu těchto zvířat chovaných v domácnostech.

Rod *Bartonella* zahrnuje 25 druhů patogenních, podmíněně patogenních i nepatogenních bakterií. Jedná se o malé gramnegativní zakřivené tyčinky, které vyvolávají bartonelové infekce. Bakterie *Bartonella henselae* je původcem nemoci z kočičího škrábnutí (CSD – *cat scratch disease*), která je považována za nejstarší známé onemocnění vyvolávané těmito bakteriemi. CSD má velice rozmanitou symptomatologii. Mezi typické příznaky patří lymfadenitida, vznik papul, oční postižení a další. *Bartonella henselae* může způsobit také onemocnění označované jako bacilární angiomatóza. Bartonelové infekce jsou nejčastěji prokázány u lidí s oslabenou imunitou nebo u imunokompetentních pacientů trpících například chorobou AIDS. Mezi mikrobiologickou diagnostiku patří například metoda PCR. Vektorem bartonelové infekce CSD je nejčastěji blecha kočičí - *Ctenocephalides felis.*

Cílem této bakalářské práce je přiblížení situace závažnosti patogenní bakterie *Bartonella henselae* napadající člověka a veškeré spojitosti s poraněním kočičím škrábnutím. Popisován je celý průběh působení *Bartonella henselae* na člověka, proces napadení hostitele a rozvoj infekčního onemocnění CSD.

První kapitola se zaměřuje na původce nemoci CSD, jeho přenos a průnik do hostitele. Jsou popsány veškeré příznaky spojené s tímto onemocněním. Nadále jsou zmíněny laboratorní diagnostické metody využívající se k identifikaci *Bartonella henselae*. Není opomenuta ani léčba specifickými oplachovými roztoky nebo antibiotiky, preventivní ochrana před nepříznivým chováním a agresí koček či výskyt *Bartonella henselae* u ostatních zvířat. Samostatnou podkapitolou je pohled na situaci výskytu felinózy v České republice.

Navazující druhá kapitola pojednává o konkrétních případech při napadení kočkou. Jsou zmíněny zajímavé kazuistiky jak z České republiky, z kraje Moravskoslezského a Zlínského, tak ze zahraničního prostředí, Japonska. Popsán je celý průběh nemoci od úplného počátku.

Na onemocnění z kočičího škrábnutí se často nebere zřetel, a proto se řadí mezi opomíjené zoonózy. Je zapotřebí si uvědomit nebezpečí této infekční choroby. CSD je v České republice poměrně vzácné onemocnění, o kterém nemají lidé ani tušení. Proto jsem si přiblížení včetně charakterizace této nemoci a bakterie *B. henselae* vybrala jako téma své bakalářské práce.

1. ONEMOCNĚNÍ Z KOČIČÍHO ŠKRÁBNUTÍ

Jedna z nejčastějších nemocí způsobená kočičím škrábnutím přenositelná zvířetem na člověka, tzv. zoonóza, je bartonelóza, jinými slovy felinóza. Toto onemocnění je přenášeno kočkami infikovanými blechou kočičí – *Ctenocephalides felis*. Jedná se o bakterii *Bartonella henselae*, která prostřednictvím přítomnosti bleších výkalů na drápech a zubech kočky přenáší toto onemocnění. Mezi nejčastější příznaky patří vyrážka a horečka. Bartonelóza může být závažná u lidí staršího věku s oslabenou imunitou, kteří jsou díky ní náchylnější k rozvoji endokarditidy nebo peliózy. Častěji má pouze lehký průběh, jež se dá léčit například antibiotiky. (Rehabilitace.info, 2018)

Bartonelóza byla objevena na konci 19. století. První záznamy o této nemoci pocházely od francouzského neurologa Henriho Parinauda a datují se do roku 1889. Onemocnění z kočičího škrábnutí bylo poprvé klinicky rozpoznáno o několik let déle, a to v roce 1931. (Beneš, 2009) Všechna tato tvrzení a souvislosti potvrdil roku 1950 francouzský lékař Robert Debré, který rozpoznal typické klinické projevy zapříčiněné kočičím škrábnutím u několika pacientů. (Cimolai, 2001) Celá nauka o příčinách vzniku této nemoci a o původcích tohoto onemocnění byla vyjasněna o desítky let později. (Beneš, 2009)

Bartonelóza je rozšířena celosvětově. Nejvíce pacientů trpících touto chorobou se nachází v oblastech o vyšších teplotách, ale i o vyšší vlhkosti. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017) V těchto zemích je proto promořenost infikovaných koček větší jak 60 %, u kočky domácí je v rozmezí 25–40 %. (Beneš, 2009) Na celém světě je během roku evidováno kolem čtyř až devíti případů na sto tisíc obyvatel. Nejvíce případů způsobených onemocněním z kočičího škrábnutí je v USA, kde se nakazí zhruba 22–25 tisíc lidí za jeden rok. Situace výskytu bartonelózy v ČR bude podrobněji popsána níže. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017)

Onemocnění z kočičího škrábnutí se řadí mezi bartonelové infekce. Je nejstarším onemocněním v historii, které bartonely způsobují. Pospíšil, Svoboda a kolektiv (1996, s. 1) definují infekci jako *„střetnutí patogenního mikroorganizmu s makroorganizmem.“* Jedná se o proces vniknutí patogenu do hostitele, kde mikrob způsobí poškození organismu hostitele. Následně dojde ke spuštění jeho obranných mechanismů. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996)

Felinóza je stav často benigní. Mnohdy má vliv na orgánový systém člověka, který může vést ke komplikacím, k doživotním následkům nebo dokonce i k smrti lidského organismu. Je velmi důležité felinózu včas rozpoznat a prokázat laboratorními testy. Následná aplikace léčby tak může zamezit možnému vzniku nepříznivých komplikací. (Magno, Spatar, 2009)

1.1. Původce onemocnění

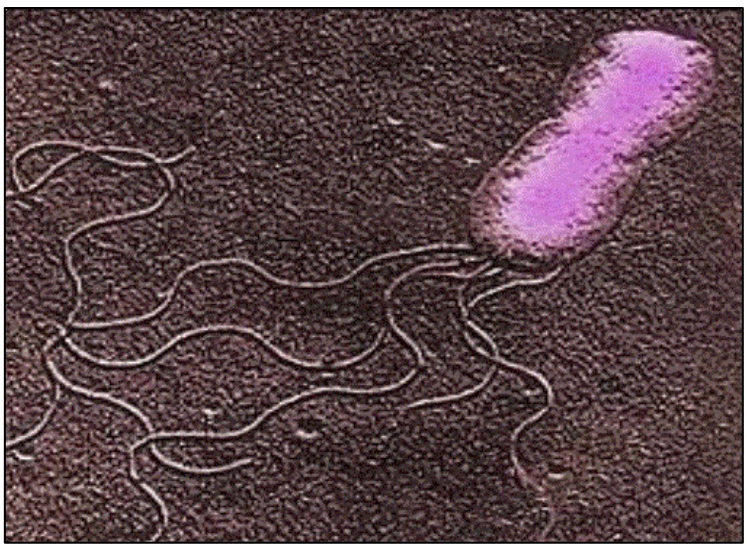
Za původce felinózy neboli bartonelózy se považuje *Bartonella henselae*. Ojediněle může vyvolat stejné příznaky i *Bartonella clarridgeiae* a *Afipia felis*. Všechny tyto druhy se řadí do rodu *Bartonella*, který se v dřívějších dobách označoval jako rod *Rochalimea*. (Beneš, 2009)

Až do roku 1992 bylo považováno za původce onemocnění mnoho organismů, například chlamydie, *Pasteurella*, herpes viry a další bakteriální nebo virová agens. Od roku 1993 se původci CSD (z anglického *cat scratch disease*) zabývali další vědci. Mezitím velké množství sérologických a molekulárních studií prokázalo, že hlavním původcem je pouze bakterie *Bartonella henselae*. (Cimolai, 2001)

1.1.1. *Bartonella henselae*

Historie objevu bakterie *Bartonella henselae* spadá až do konce 20. století. Poprvé byl tento kmen identifikován v roce 1990 metodou polymerázové řetězcové reakce, přesněji amplifikací genu pro bakteriální 16S rRNA. O dva roky déle byla *B. henselae* označena jako nový druh bakterie. (Jacomo, Kelly, Raoult, 2002)

Bartonella henselae patří do rodu *Bartonella* a je řazena mezi fakultativně aerobní bakterie s negativní oxidázou. Jedná se o pomalu rostoucí gramnegativní tyčinku, jejíž tvar je mírně zakřivený. (Chenoweth et al., 2004) Velikostně dosahuje dvou mikrometrů do délky, půl mikrometru do šířky. (Regnery et al., 1992) Struktura a tvar této bakterie je vyobrazen na obrázku č. 1.



Obrázek 1: Morfologie bakterie *Bartonella henselae*

Zdroj: Girma et al. (2019)

Jednotlivé buňky bartonely mohou být vláknité, korálkové, uspořádány do řetízků. Někdy se vyskytují i v kruhové podobě. (Minnick, Anderson, 2015) Při prohlížení zhotoveného preparátu pod mikroskopem uskupení kolonií tohoto kmene může připomínat květák. (Chenoweth et al., 2004)

Povrch *B. henselae* není pokryt bičíky. (Chenoweth et al., 2004) Typický škubavý pohyb je umožněn díky pili – fimbriím. Tyto výběžky neslouží pouze k pohybu, hrají také důležitou roli v procesu adheze. (Cimolai, 2001)

Jedná se o druh bakterie, který je velmi citlivý ke změnám pH. Nejlépe roste v rozmezí pH 6,8 až 7,2. Celkově se jedná o náročné bakterie pro pěstování. Jejich optimální teplota růstu je 37 °C, proto jsou pro kultivaci nejvhodnější obohacené půdy. Často se užívá speciální tekuté kultivační médium. (Chenoweth et al., 2004)

Bartonella henselae patří mezi intracelulární tyčinky, které se dají barvit. K barvení se používá metoda podle Grama, která slouží k rozlišení gramnegativních bakterií od grampozitivních. (Votava, 2003) Toto barvení je také důležité k odlišení *B. henselae* od některých kmenů rodu *Corynebacterium*, jež mají obdobné reakční profily. (Cimolai, 2001) Méně častěji se využívá Giemsovo barvení, které barví buňky fialově. (Votava, 2003)

B. henselae má jednu zvláštnost, a to neschopnost využívat glukózu jako zdroj energie, neboť má neúplnou cestu glykolýzy. Pro tvorbu energie proto využívá katabolismu aminokyselin – sukcinát, glycin, glutamát s histidinem nebo serin. (Chenoweth et al., 2004) Mezi další důležitou schopnost těchto bakterií se řadí stimulace angiogeneze. Angiogeneze je definována jako proces vývoje a růstu nových krevních cév. Tento děj je zásadní pro vývoj i zánět. (Votava, 2003)

V případě onemocnění z kočičího škrábnutí je hostitelem pro *Bartonella henselae* kočka a přenašečem blecha kočičí. Při vzniku onemocnění se bartonely dostávají do endoteliálních buněk savců, ve kterých dojde k rozmnožení. Bartonely v nich spouštějí dlouhotrvající infekci, uvolňují se do krve. V krvi se přilnou na červené krvinky, pomocí kterých jsou chráněny a zde přetrvávají. Pokud dojde k identifikaci infikovaných červených krvinek pomocí imunitních mechanismů, začne se rozvíjet těžká anémie. (Beneš, 2009)

Bartonella henselae se řadí mezi patogeny a může u lidí rozpoutat mnoho infekcí, kam spadá například pelióza, CSD nebo neurologické poruchy. (Votava, 2003) Tato bakterie je zodpovědná i za bacilární angimatózu – onemocnění malých krevních cév v kůži a viscelárních orgánů, které je pozorováno primárně u pacientů s AIDS. Vzniklé infekce se dají úspěšně léčit pomocí antibiotik, jako je rifampicin v kombinaci s doxycyklinem. (Strohl,

Rouse, Fisher, 2001) Pokud jsou veškeré příznaky bartonelózy špatně diagnostikovány nebo nesprávně léčeny, může dojít dokonce i k smrti lidského organismu. (Maurin, Birtles, Raoult, 1997) Jelikož *B. henselae* využívá parazitární strategii, tvoří v hostiteli bakteriémii, která je spojena s běžnými již zmíněnými bakteriálními syndromy. (Minnick, Anderson, 2015) Pro diagnostiku se tyto bakterie izolují z erytrocytů koček, dále pak z lymfatických uzlin člověka, jak bude popsáno níže. (Sander et al., 1998)

Výskyt *B. henselae* u domácích či toulavých koček je rozšířen celosvětově. Největší prevalence bakteriémie vyvolané *Bartonella henselae* u koček je na území USA (89 %). Druhou nejvíce zasaženou zemí bakteriémií je Austrálie (40 %), nadále Indonésie (21 %), Filipíny (19 %). Mimo tyto země je také výskyt objeven v zemích, jako jsou Japonsko, Francie, Německo, Nizozemí, dokonce i Zimbabwe a ostatní země. (Cimolai, 2001)

Z biochemického hlediska má *Bartonella henselae* kromě negativní oxidázy také negativní katalázu. Většina biochemických testů, včetně testu na průkaz tvorby indolu, močoviny, jsou taktéž negativní. Co se týče produkce laktózy, maltózy, mannitolu, sacharózy a dalších cukrů tyto bakterie je neprodukují. I test na průkaz hydrolýzy eskulinu se jeví jako negativní. (Cimolai, 2001)

1.2. Přenos onemocnění

Bartonelóza je vyvolána bakterií *Bartonella henselae*, která se přenáší především domácími zvířaty jako jsou kočky. Toto onemocnění vzniká u lidí prostřednictvím defektu kůže a vniknutím bakterií do místa poranění. Primárními přenašeči této bakterie jsou infikované blechy. (Centers for Disease Control and Prevention, 2019)

Za přenos *Bartonella henselae* mezi kočkami je zodpovědná kočičí blecha. (Durden, Hinkle, 2019) Obecně se blecha řadí do skupiny bezkřídlého hmyzu. *Ctenocephalides felis* parazituje především na kočkách (z 98 % zablešených), ale vyskytuje se i u jiných zvířat jako jsou psi, králíci, ovce. Blecha kočičí dorůstá velikosti až čtyř mikrometrů. Tělíčko má zploštělé, zbarvené do hněda až červena. Její pohyb je závislý na třech párech končetin, z nichž poslední pár je určený pro skákání. K lepšímu pohybu blechy kočičí v srsti kočky slouží dvě řady ostnů. *Ctenocephalides felis* je parazit živící se krví. Krev získává od hostitele a potřebuje ji pro přežití. Většinu svého života proto přežívá v srsti koček, kde má neustálý přísun potravy. Strávené množství krve pak částečně vylučuje trusem, který zůstává na srsti koček. (Ježková, 2017). K uhnízdění a množení blech kočičích dochází na povrchu kůže kočky. Aby se tam blecha dostala, musí proklouznou mezi jejími chloupky. *Ctenocephalides*

felis během svého života vyprodukuje velké množství vajíček, cca 25 za den. Životní cyklus blechy kočičí je složen z vajíček, larev a kukel, dospělého jedince. Po vylíhnutí dospělí jedinci vyhledávají primární teplokrevné hostitele, kterými jsou právě kočky. (Durden, Hinkle, 2019)

Jak bylo zmíněno, kočky patří mezi přirozené rezervoáry pro tyto bakterie. V době nákazy se u nich nevyskytují žádné příznaky onemocnění, a tudíž není možné poznat zdravou kočku od infikované. Zřídka kdy se u infikovaných koček objeví neurčité příznaky, jež jsou často spojené se stresem. Při čištění srsti u zablešené kočky jsou drápy a zuby kontaminovány infikovanými blešími exkrementy, v nichž se rozmnožují bakterie *Bartonella henselae*, které se při kočičím poškrábání dostávají do rány a následně pronikají do organismu. *B. henselae* přežívá v trusu blechy několik dní. (Minnesota Department of Health, 2019)

Vzniklá rána po kontaktu s kočkou bývá hluboká, znečištěná a může vyústit v infekci. Rozvíjení infekce je podmíněno několika faktory. Zohledňuje se mikroflóra, jak bylo zranění ošetřeno, charakter zranění – jeho rozsah. U ranných infekcí dochází k ohraničenému kožnímu projevu i zarudnutí kůže. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996) Infekce se šíří uvnitř těla nakaženého. Později se v místě poranění projeví příznaky charakteristické pro toto onemocnění. Mladé kočky představují mnohem větší riziko nákazy než starší, neboť jsou více hravé, agresivní a častěji dochází k nechtěnému poranění. (Rehabilitace.info, 2018)

Na celém světě je dosud známo 25 druhů bartonel, které napadají nejen člověka, ale i jiná zvířata. Z těchto 25 druhů je pro člověka 14 patogenních, včetně *B. henselae*. Mezi vzácné rezervoáry *B. henselae* patří také hlodavci nebo psi. Naopak vektorem pro přenos se stává i klíště rodu *Ixodes ricinus*. (Hozáková et al., 2018) Další tři nejznámější patogenní bakterie tohoto rodu způsobující onemocnění u člověka jsou uvedeny v tabulce č.1.

Tabulka 1: Onemocnění vyvolaná bartonelami

Druh	Hostitel	Vektor	Výskyt	Nemoc
Bartonella quintana	člověk	veš šatní	endemicky	volyňská horečka, febrilní bakteriémie, endokarditida, bacilární angiomatóza
Bartonella baciliformis	člověk	komárci (*Lutzomyia*)	Peru, Ekvádor, Kolumbie	horečka Oroya, verruga peruviana
Bartonella elizabethae	potkan	krysí blecha	celosvětově	febrilní bakteriémie, endokarditida

Zdroj: vlastní zpracování podle Beneše (2009)

1.2.1. Kontagiozita

Kontagiozita neboli přenosnost, nakažlivost, se řadí mezi složky virulence. Je to míra schopnosti mikrobů přenášet se mezi hostiteli. Hostitelem pro infikovanou blechu u felinózy je kočka. Přenosnost bakterie *Bartonella henselae* závisí na počtu vylučovaných mikrobů v období nakažlivosti, rezistenci vzhledem k okolnímu prostředí, množství mikroorganismů potřebných k vyvolání infekce (tzv. infekční dávka) a v neposlední řadě závisí na chování hostitele a jeho individuální citlivosti. Někteří napadení jedinci mohou být proti infekčnímu agens specificky imunní, v takovém případě je nutné zvýšit přísun mikrobů o několik řádů, tak, aby došlo k vyvolání bakteriální infekce. U bartonelózy je přenos zprostředkován pomocí zvířecího vektoru, nejprve z blechy na kočku, později z kočky na člověka. (Votava, 2005)

1.3. Invazivita

Invazivita je další složkou nejen virulence, ale i patogenity. Zahrnuje průnik infekčního agens do hostitele. Jedná se o schopnost adheze na jeho povrch a o schopnost penetrace do jeho vnitřního prostředí, kde se mikrob šíří a množí. Uvnitř hostitele se nadále snaží přemoci jeho obranné mechanismy. (Votava, 2005)

1.3.1. Adheze

Adheze neboli přilnutí mikroorganismu k hostiteli znamená možný vznik počáteční fáze infekce. *Bartonella henselae* patří mezi patogenní bakterie napadající člověka. Obsahuje autotransportní adheziny (TAAs – *trimeric autotransporter adhesins*), díky nímž může přilnout k endotelovým buňkám. Jedná se o bartonelový adhezin A (BadA). Jinými adheziny u *B. henselae* jsou Trw-konjugační systémy umožňující adhezi k erytrocytům nebo vláknité hemaglutininy. (O'Rourke et al., 2011)

Autotransportní adheziny patří do sekrečního systému typu V (T5SS). Jsou to proteiny usnadňující adhezi. Nejvíce významným TAAs adhezinem u *Bartonella henselae* je již zmíněný bartonelový adhezin A. BadA je složen z více než 3000 aminokyselin vyskytujících se na polypeptidovém řetězci. Jeho délka dosahuje rozmezí od 100 nm do 300 nm. (Eicher, Dehio, 2012). Strukturu má vláknitou až spirálovitou. BadA hraje velice důležitou roli v adhezi *B. henselae* na hostitelskou buňku a proteiny extracelulární matrix, jako je kolagen či fibronektin. (O'Rourke et al., 2011)

Kromě BadA obsahuje *Bartonella henselae* další adhezin, kterým je vláknitý hemaglutinin (FhaB). Tyto adheziny též hrají velmi důležitou roli v adhezi na hostitelské buňky. Aby mohla

být zprostředkována jeho funkce, musí být přítomen partnerský protein, a to FhaC/HecB. Kooperace těchto dvou proteinových adhezinů umožňuje průchod vláknitého hemaglutininu (FhaB) přes vnější membránu do buňky. (Franz, Kempf, 2011)

Celému procesu přilnutí napomáhají kromě adhezinů i pili, vyskytující se na povrchu *Bartonella henselae*. Jedná se o duté tyčinkovité útvary tvořené bílkovinnými podjednotkami nazývajících se pilin. Pili hrají důležitou roli v adherenci, ale slouží také k pohybu. Adheze se účastní jejich konce, které reagují s receptorem přítomným na povrchu hostitelské buňky. Jiné označení pro pili jsou fimbrie. Velikost fimbrií přesahuje do délky mnohdy i 100 nm a jejich počet se odhaduje na několik desítek či stovek. Fimbrie nelze vidět okem. Jsou patrné až při pozorování elektronovým mikroskopem. (Votava, 2005)

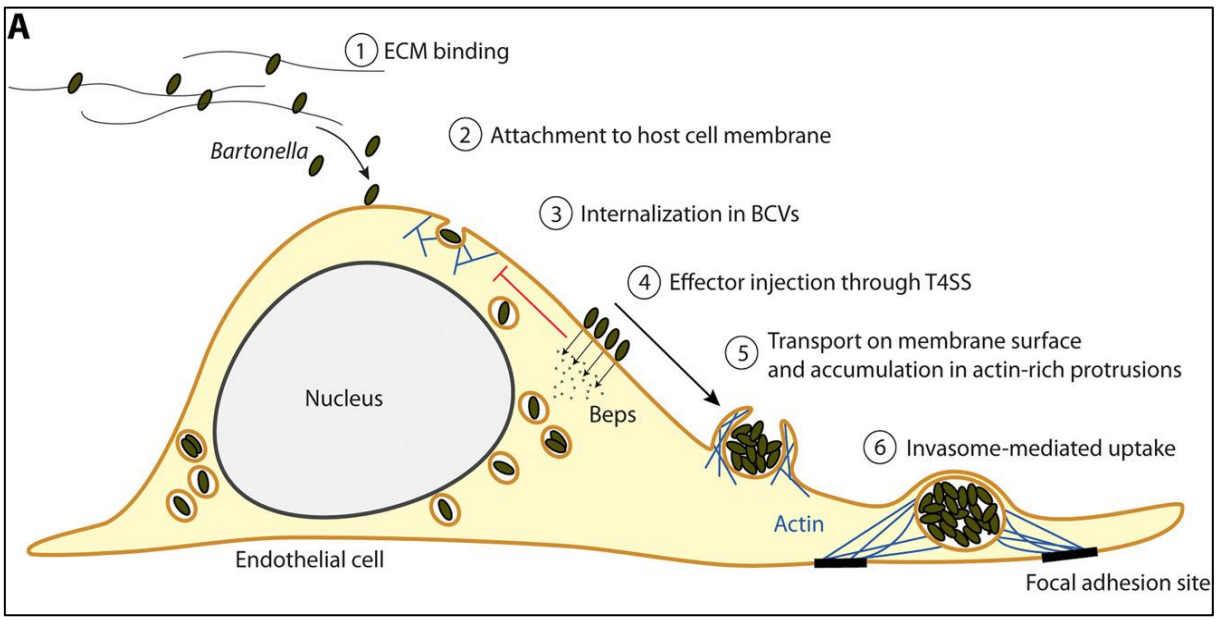
1.3.2. Penetrace

I penetrace hraje velmi důležitou roli v procesu vzniku infekce. Předchází ji proces adheze, který zapříčiní přichycení mikroba na hostitelskou buňku. Již zmíněné adheziny *B. henselae* doplňuje sekreční systém VirB/D4 typu IV (T4SS), který způsobuje translokaci efektorových proteinů, tzv. Beps (*Bartonella effector proteins*), do hostitelských buněk. Jakmile se Beps dostanou do hostitelské buňky, začnou modulovat buněčné procesy ve prospěch bakterie. U *Bartonella henselae* se vyskytuje sedm efektorových proteinů – BepA, BepB, BepC, BepD, BepE, BepF, BepG. (Siamer, Dehio, 2015) Tyto fenotypy zahrnují aktivaci prozánětlivé signalizace, dále inhibici apoptózy v endotelových buňkách, a v neposlední řadě modulaci angiogeneze a přestavby aktinového cytoskeletu v průběhu invazivní tvorby. Tento sekreční systém hraje klíčovou roli ve vytvoření infekce v primárním výklenku hostitele. (Harms, Dehio, 2012)

Kromě sekrečního systému VirB/D4 existuje u *Bartonella henselae* tzv. Trw-konjugační systém, jenž umožňuje bakteriální vazbu, adhezi, na červené krvinky. Trw-konjugační systém dokáže určit i hostitelskou specifičnost a řadí se též do sekrečního systému typu IV – T4SS. Jedná se o takový sekreční systém, který zprostředkovává interbakteriální přenos DNA. (Harms, Dehio, 2012)

Vstup bartonely do endoteliální buňky je závislý na aktinovém cytoskeletu. (Eicher, Dehio, 2012) Průnik jednotlivých bakterií *Bartonella henselae* do hostitelských buněk je dělen do tří kroků. (Harms, Dehio, 2012) Na úplném začátku dochází k bakteriální adhezi a agregaci na povrchu hostitelské buňky. Tento krok je doprovázen efektorem vylučování. Následně je bakteriální agregát pohlcen buněčnými výstupky a internalizován. Proces invaze je pomalý a trvá kolem 24 hodin. (Harms, Dehio, 2012) Po průniku bakterie do vnitřního prostředí

hostitelské buňky se začne rozmnožovat a šířit. Později přechází v rozvoj infekce. (Votava, 2005) Vstupní proces bartonely do endoteliálních buněk je znázorněn na obrázku č. 2.



Obrázek 2: Vstup *Bartonella henselae* do endoteliální buňky

Zdroj: Eicher, Dehio (2012)

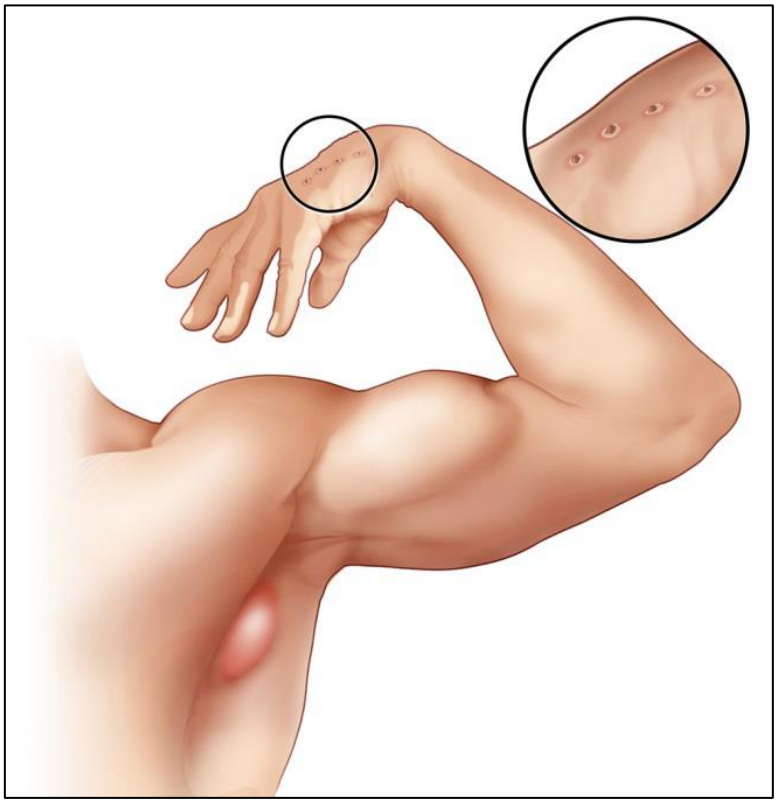
1.4. Projevy a příznaky

Nemoc z kočičího škrábnutí se vyskytuje z největší části u chovatelů koček, kteří jsou s nimi v každodenním styku. Riziko poškrábání či pokousání je u nich výrazně zvýšeno. Náchylnější jsou také lidé trpící vážnými chorobami nebo lidé mající oslabenou imunitu. Ti snáze podléhají propuknutí a rozvoji infekce. (Klíště.cz, 2018) S onemocněním vzniklým kočičím škrábnutím se můžeme setkat i u imunokompetentních pacientů, kteří můžou trpět například onemocněním AIDS. (Cimolai, 2001)

Mezi prvotní klinické projevy patří primární léze při inokulaci, která se objevuje tři až deset dní po kontaktu s kočkou. Může se jednat o vezikulární nebo erytematózní lézi, jež se vyskytuje u pacienta v délce od několika dnů až několika týdnů. V místě poranění se vytvoří vyrážka nebo puchýře. Po dvou týdnech od inokulace dochází ke zvětšení lymfatických uzlin a rozvíjí se horečka. Zvětšení uzlin přetrvává zhruba další dva týdny, následně ustoupí. Obvyklá doba trvání onemocnění je dva až čtyři měsíce, ale za určitých okolností může trvat i déle. (Cimolai, 2001)

Jako jeden z nejčastějších projevů nemoci z kočičího škrábnutí je otok lymfatických uzlin neboli lymfadenopatie. Mízní uzliny hrají zásadní roli při obraně organismu proti infekci. Ke zvětšení uzlin dochází v blízkosti místa poranění. Lymfadenopatie se nejčastěji vyskytuje

na krku, v podpaží, ale může se vyskytnout na čelisti, v tříslech nebo kolem ucha. Zvětšená lymfatická uzlina je pak bolestivá a citlivá. Zduření uzliny je viditelné na kůži vyskytující se přímo nad postiženou oblastí. Může dojít k barevné změně kůže, jež má načervenalou až fialovou barvu. Velikost lymfatické uzliny u zdravého jedince dosahuje maximálně pěti centimetrů, u bartonelózy může dojít ke zvětšení až na deset centimetrů. (Medicabaze.cz, 2007) Názorná ukázka tohoto příznaku je viditelná na obrázku č. 3.



Obrázek 3: Zvětšená lymfatická uzlina v podpaží po poškrábání kočkou na ruce

Zdroj: převzato z Centers for Disease Control and Prevention (2016)

U většiny lidí se vyvinou systémové příznaky. Dochází k malátnosti, zřídka kdy i k nechuti jídla. K běžným symptomům souvisejících s bartonelózou se řadí bolest hlavy, svalů a zad, břicha nebo dokonce i dochází k zimnici či artropatii, tedy onemocnění kloubu. (Healthline, 2020) Artropatie se vyskytuje převážně u žen. Postiženou částí jsou kolena, kotníky nebo lokty či zápěstí. (Magno, Spatar, 2009)

Asi u jedné desetiny všech nemocných má felinóza atypický průběh. Onemocnění má za následek oční postižení. Zásah oka je evidován nanejvýš u 10 % lidí s bartonelózou a zcela nejvíce se jedná o zánět očních spojivek nebo o zánětlivé postižení živnatky (*uveitida*). Zrakové postižení je obvykle benigní. Dochází k poškození zrakového nervu, nebo dokonce i ke krvácení do sítnice. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017)

Ve vzácných případech může nemoc z kočičího škrábnutí vést k rozvoji závažných srdečních či neurologických onemocnění, kam řadíme například meningoencefalitidu, endokarditidu, encefalopatii a jiné závažné choroby. Tato onemocnění se vyskytují u méně než dvou procent veškerých pacientů. U případů, kdy je zasaženo srdce, se většinou jedná o endokarditidu. Endokarditida je zánět vnitřního povrchu srdce – endokardu. Dochází k postižení srdeční chlopně, které je způsobeno zmíněnými mikroorganismy. Endokarditida spojená s infekcí *Bartonella henselae* má zejména vysokou úmrtnost. Toto onemocnění nevyvolává pouze *B. henselae*, ale můžou ho vyvolat i jiné druhy bartonel, například *Bartonella elizabethae*, *Bartonella quintana*. (UpToDate, 2020) Primárními příznaky postižení srdce je srdeční šelest a dušnost. (Magno, Spatar, 2009) Další studie prokázaly, že *B. henselae* může vyvolat dysfunkci centrálního nervového systému nebo zánětlivou polyartritidu. V důsledku tohoto onemocnění může u pacienta dojít k trombocytopenii, lymfocytóze, dokonce i k eozinofilii. S dysfunkcí mozku, encefalopatií, se častěji setkáváme u dětí. Následkem je snížená aktivita mozku, doprovázejícím projevem encefalopatie jsou pak křeče. (Breitschwerdt, 2008)

1.4.1. Inkubační doba

Podle Beneše (2009, s. 8) je inkubační doba definována jako: „časový úsek od vstupu agens do organismu k prvním příznakům nemoci.“ U bartonelózy se rozmezí inkubační doby pohybuje od prvního až do konce třetího týdne. Poté se u člověka začnou projevovat první příznaky nasvědčující CSD. V některých případech se doba inkubace může prodloužit. K takové situaci, kdy inkubační doba přesáhne stanovenou hranici, dochází například při pasivní imunizaci kontaktní osoby. (Beneš, 2009)

1.5. Diagnostika

Diagnóza CSD je velice náročná. Projevující se příznaky jsou často nespecifické a u každého pacienta rozdílné. Atypické infekce se vyskytují cca u 25 % pacientů. Mezi hlavní určující faktory se řadí specifická imunita hostitele. Sleduje se, jak se u něj nemoc klinicky projeví. Pro stanovení průběhu nemoci se zohledňuje schopnost mikroorganismů vyvolat infekci a také způsob infekce. (Magno, Spatar, 2009)

K testování nemoci z kočičího škrábnutí dochází až po potvrzení několika kritérií. Do těchto kritérií spadá nález škrábanců, přítomnost primárních lézí u pacienta, potvrzení možného kontaktu s kočkou v několika dnech či týdnech zpátky. Nadále se bartonelóza vyšetřuje několika testy, jež jsou pro identifikaci důležité. (Cimolai, 2001)

Bartonelóza se dá stanovit na základě vzniku prvotních příznaků. Je nezbytně nutné určit veškerá infekční agens. Vyšetřuje se odebraný materiál z hlubší časti tkáně nebo zánětlivý výpotek pomocí jehlové aspirační biopsie. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996) Nejčastěji se jedná o odběr vzorku tkáně srdeční chlopně nebo lymfatické uzliny. (Magno, Spatar, 2009)

K rychlému stanovení se využívá mikroskopické vyšetření, kde je zhotovený preparát, nátěr, obarven metodou podle Grama nebo Giemsy a hodnotí se pomocí světelné mikroskopie. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996) Obě zmíněná barvení poskytují informaci o možnosti výskytu bakterií ve vzorku. Pokud je ve vzorku přítomna bakterie *Bartonella henselae*, po barvení metodou dle Grama se bakterie zbarví červeně. Červené zbarvení je typické pro gramnegativní bakterie, jimiž bartonely jsou. K barvení fixovaného preparátu podle Grama se užívá krystalová violeť. Po její aplikaci se všechny bakteriální buňky obarví modrofialově. V druhém kroku se využívá Lugolův roztok, díky němuž se v obarvených buňkách tvoří komplex barvivo-jód. Následujícím krokem je oplach barveného preparátu alkoholem, dobarvení karbolfuchsinem. Gramovo barvení se používá k rozlišení grampozitivních a gramnegativních bakterií na základě rozdílného zbarvení. Druhým možným barvením je barvení podle Giemsy, které se řadí mezi speciální a je používáno méně častěji než barvení Gramovo. (Votava, 2005) Mikroskopie se obecně řadí mezi nejstarší metody pro pozorování jednotlivých mikroorganismů, zejména i *Bartonella henselae*. Podává nám důležitou informaci o přítomnosti mikroba ve vyšetřovaném vzorku, která je doplněna o informace z dalších testů, především kultivace. (Beneš, 2009)

Laboratorní testy pro zjištění bartonelózy zahrnují kompletní vyšetření krevního obrazu. U pozitivních pacientů se vyšetřuje leukocytóza – míra zmnožení bílých krvinek, trombocytopenie – snížený počet krevních destiček, anémie – snížený počet červených krvinek. V mnohých případech se krevní obraz od fyziologických hodnot neliší. Oproti tomu rychlost sedimentace svědčí o přítomnosti zánětu v těle, a tím se stává dobrým ukazatelem špatné prognózy při jejím zvýšení. (Magno, Spatar, 2009)

1.5.1. Sérologické vyšetření, kožní test

V minulosti se k diagnostice onemocnění z kočičího škrábnutí využíval především kožní test. Vzorek byl připraven z punktátu uzlin nemocných, následně pak vyšetřen. Jednalo se o poměrně jednoduché diagnostické vyšetření, avšak pro svou malou specifičnost se od něho opustilo. Mnohem jednodušším vyšetřením je v dnešní době sérologický průkaz specifických protilátek. Pro toto stanovení se používá metoda nepřímé imunofluorescence. (Veterinářství, 2006)

Nepřímá imunofluorescence, IFA, se využívá k průkazu specifických protilátek imunoglobulinu M a imunoglobulinu G proti *Bartonella henselae* v séru. (Cimolai, 2001) Principem je označení jedné složky fluorescenčním barvivem a následná interpretace, odečet výsledků pomocí fluorescenčního mikroskopu. (Votava, 2005) U pacientů, jež vykazují známky onemocnění CSD, je výška titru vysoká. Po nástupu bartonelózy je obvykle hodnota titru větší než 1:256. V průběhu dochází k postupnému poklesu. V případě zdravých kontrol titr protilátek je nízký, hodnotu 1:256 překročí pouze v 1–3 % případů. Vyšetření titrů udává informaci o předešlém kontaktu s *Bartonella henselae* nebo o počátku či konečné fázi CSD. (Cimolai, 2001) Výsledek popisuje největší ředění séra, které ještě poukazuje na imunofluorescenci. Protilátky nemusí být na počátku infekce detekovatelné, proto se testování opakuje po několika dnech. Při propuknutí infekce dochází k vzrůstu hladiny IgM, ta je nejvyšší cca po čtyřech týdnech. Maximální vzrůst hladiny IgG se projeví o několik týdnů později než u IgM. Ročně je tímto způsobem provedeno asi 200 testů, z nichž je 18–24 % pozitivních. Jedná se o vyšetření lidského séra na průkaz protilátek proti antigenům ze vzorku krve. (Veterinářství, 2006) Jistý vliv na sérologické vyšetření pacientů může mít křížová reaktivita, jež za určitých podmínek může interpretaci omezit. (Cimolai, 2001) Jednotlivé hodnocení výše titrů protilátek třídy IgM a IgG je naznačeno v tabulce č. 2.

Tabulka 2: Hodnocení titru protilátek *Bartonella henselae*

	Hodnocení protilátek třídy IgM
≥ 1:20	→ současná/dřívější infekce
< 1:20	→ pacient v současné době neprodělal infekci → dřívější titr po prodělané infekci klesl pod detekovatelnou hranici
	Hodnocení titru protilátek třídy IgG
≥ 1:256	→ nedávná akutní infekce
≥ 1:64 < 1:256	nutný odběr s odstupem 10-21 dní k posouzení akutní či proběhlé infekce → dojde-li k vzestupu titru nad 1:256, je zvýšen, jedná se o akutní infekci → stabilní titr – jedná s o proběhlou infekci
< 1:64	pacient v současné době infekci neprodělal → pacient se s infekcí nikdy nesetkal → infekci prodělal dříve, titr protilátek klesl pod detekovatelnou hranici

Zdroj: zpracováno podle Stejskalová et al. (2016)

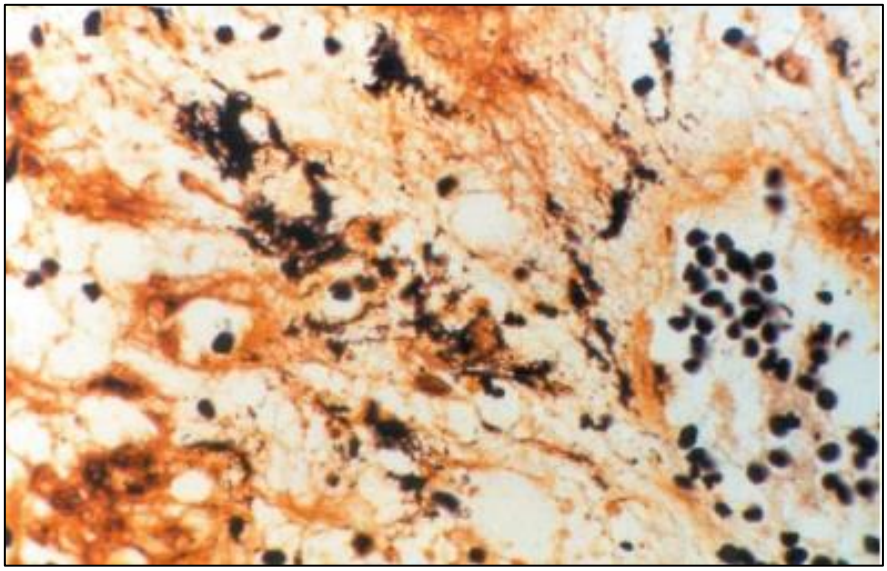
Dalšími sérologickými metodami pro vyšetření nemoci z kočího škrábnutí je EIA a Western blot. EIA je citlivá metoda, jež se využívá k detekci IgG protilátek. V průběhu

bakteriální infekce právě tyto protilátky stoupají. Principem této metody je reakce antigenu s protilátkou, kdy jedna z těchto složek je značená enzymem. Naopak Western blot je taková analýza, při níž dochází k reakci 83 kD proteinu *B. henselae* se všemi séry CSD. (Cimolai, 2001) Principem Western blotu je štěpení surového antigenního preparátu na glykopeptidy nebo polypeptidy pomocí detergentů. Jednotlivé části se poté oddělí elektroforézou za užití polyakrylamidového gelu. Získané pruhy se následně aplikují na nitrocelulosovou membránu za vzniku úzkých pásků, na kterých se provádějí sérologické reakce, které se projeví zbarvením. (Votava, 2005)

1.5.2. Histopatologické vyšetření

Toto vyšetření se provádí u pacientů při zasažení lymfatických uzlin. První stádium onemocnění lymfatických uzlin je vizualizováno zvětšením, ke kterému dochází v důsledku expanze kůže. Ve druhém stádiu se začne rozvíjet nekróza, v posledním stádiu je přítomno na kůži patrné množství dutin naplněné hnisem, kdy může dojít až k jejich prasknutí. Zduření lymfatických uzlin patří k typickým projevům bartonelózy. (Cimolai, 2001)

Při histopatologickém vyšetření se k diagnostice přítomnosti mikroorganismů využívá barvení podle Warthin-Starryho, kde fixovaný tkáňový řez je obarven stříbrem. Tato metoda byla zavedena roku 1920. Po obarvení se organismy zbarví tmavě hnědě až černě, pozadí získá světle hnědo-žlutou až zlatou barvu. Přítomnost bakterií je možno touto technikou detekovat pouze v ranných stádiích lymfadenopatie. (Cimolai, 2001) Výsledek obarvení preparátu metodou Warthin-Starry je znázorněn na obrázku č. 4.



Obrázek 4: Technika barvení Warthin-Starry v biopsii lymfatických uzlin

Zdroj: Huarcaya et al. (2002)

V některých specializovaných laboratořích se v dnešní době užívá kromě barvení Warthin-Starry imunohistopatologické barvení, které též slouží k detekci nežádoucích mikroorganismů *Bartonella henselae* v tkáňových řezech. (Cimolai, 2001)

1.5.3. Polymerázová řetězcová reakce (PCR)

Spolehlivým testem pro detekci *Bartonella henselae* při infekcích je PCR. Přesněji se jedná o metodu sloužící ke zmnožení daného úseku DNA, jejímž principem je opakovaná replikace nukleových kyselin. Polymerázová řetězcová reakce zahrnuje denaturaci, hybridizaci a syntézu DNA daného organismu. Jedná se o nejčastěji využívanou metodu pro vyšetření bartonelózy. Výsledky se touto metodou získají do několika hodin. (Ciervo et al., 2005) Technika polymerázové řetězcové reakce se dnes řadí mezi vysoce účelné metody, jejichž provedení je poměrně jednoduché. (Staněk, 2013)

K aplikaci této metody je zapotřebí páru primerů obsahujících určité cílové geny. Primery jsou malé úseky DNA složené z nukleotidů. Dalšími potřebnými reagenciemi pro amplifikaci vybrané části genomu jsou deoxyribonukleotidtrifosfáty, DNA polymeráza. Reakce je složena ze tří kroků. Probíhá v přístroji zvaném termocykler. V jednotlivých fázích celé reakce dochází ke změně teploty. Prvním krokem je denaturace DNA, kde při teplotě 94 °C dochází ke vzniku jednovláknové DNA. V druhém kroku dojde k nasednutí primerů na určité pozice vyšetřované DNA. Pro tento krok se teplota sníží a pohybuje se v rozmezí 50–65 °C. V závěrečném kroku za pomoci DNA polymerázy dojde ke vzniku komplementární molekuly DNA. Teplota pro třetí krok se pohybuje v rozmezí 65 až 75 °C. Již zmíněný cyklus všech tří kroků nestačí pro amplifikaci vyšetřované molekuly DNA. Je potřeba, aby proběhlo cca 30 až 35 navazujících cyklů. (Staněk, 2013)

Potřebné primery pro PCR byly objeveny roku 1990, kdy Relman a kolektiv navrhli první primerový pár, který sloužil k detekci bartonel na genu pro 16S rRNA. Jednalo se o dvojici primerů p24E-p12B. O pár let později, roku 1994, Anderson a kol. objevili primery CAT1, CAT2. Tyto primery sloužili k amplifikaci fragmentu o velikosti 414 bp, jednalo se o lidský patogen *Bartonella henselae, B. quintana*. K odlišení těchto dvou patogenů od sebe se využívala Dot-blot hybridizace s oligonukleotidovými sondami. Kromě těchto zmíněných párů primerů existují i další. Mezi geny, jimiž se diagnostika nejvíce zaobírá patří například gen pro citrát syntázu (*gltA*), protein buněčného dělení (*ftsZ*) nebo gen pro riboflavinovou syntázu (*ribC*). Studiemi se zjistilo, že jednotlivé metody a typy primerů mají vliv na citlivost této techniky. (Cimolai, 2001)

1.5.4. Kultivace a izolace

Kultivace nespadá mezi metody, které jsou jednoduché na provedení. *Bartonella henselae* se obtížně kultivuje, proto se raději k průkazu užívají již zmíněné sérologické anebo PCR metody. Aby byla izolace úspěšná, musí být lidský vzorek odebrán v časném stádiu propukající felinózy, a to ještě před léčbou antibiotiky. (Cimolai, 2001)

Pro správné určení diagnózy se původce onemocnění pěstuje na vhodných kultivačních půdách. Kultivace může probíhat buď za aerobních nebo anaerobních podmínek. Za výsledek se považuje nárust, který se hodnotí. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996)

Vhodným kultivačním médiem pro růst *Bartonella henselae* je médium obohacené krví (lidskou, králičí, ovčí, koňskou) v přítomnosti 5−10% oxidu uhličitého, neboť růst této bakterie závisí na přítomnosti heminu. Optimální teplota vhodná pro růst je 37 °C. Pro snadnější izolaci těchto bakterií se také využívá čokoládový agar, TSA agar s obsahem 5% ovčí krve, BHIA agar s obsahem 5% ovčí krve, HIA agar s obsahem 5% králičí krve nebo agar Columbia. Růst kolonií na agaru je ovlivněn kvalitou krve. Nejvíce vhodné jsou agarové destičky obsahující krev čerstvou. Během kultivace musí být dodržena vhodná vlhkost. K tomu slouží parafilm. Ten udržuje nejen potřebnou vlhkost pro kultivaci, ale chrání také agarové destičky před kontaminací nežádoucími mikroorganismy, jako jsou plísně. (Cimolai, 2001)

Kultivace těchto mikrobů je nejen obtížná, ale i časově náročná. Tento druh bakterií na agarech roste velmi pozvolna, proto inkubační doba trvá i déle jak 4−6 týdnů. Po tak dlouhé inkubaci se na agaru ukážou malé kolonie různého tvaru, s nepravidelným okrajem, hrubým povrchem. Narostlé kolonie mají krémovou, lehce béžovou barvu a jsou zapuštěné do agaru. Na povrchu jsou však vypouklé, vzhledem připomínají květák. (Cimolai, 2001)

Aby se bakterie *Bartonella henselae* na kultivačních půdách dobře rozmnožovaly a rostly, musí se dodržovat podmínky určené pro jejich pěstování. Je třeba zajistit optimální pH, optimální teplotu, vhodný osmotický tlak po celou dobu kultivace. Nezbytně nutný pro kultivaci je dostatečný přísun živin, tedy zdroj energie. Musí se zamezit případné kontaminaci či nevhodnému působení záření. Veškeré tyto podmínky jsou dodrženy, pokud je *B. henselae* kultivována na vhodné kultivační půdy/média za optimální atmosféry i optimální teploty. (Votava, 2005)

Dalším vhodným diagnostickým průkazem v oblasti izolace *B. henselae* je využití izolační zkumavky s obsahem saponinu, který má účinek na červené krvinky. Tento druh bakterií

v erytrocytech přežívá a saponin právě způsobuje jejich lýzu. Principem je centrifugace lyzované krve následované vyočkováním odstředěného sedimentu na pevnou kultivační půdu, agarovou destičku. Dále dochází ke klasické kultivaci, inkubaci. (Cimolai, 2001)

1.5.5. Testování citlivosti

Jednotlivé bakterie rodu *Bartonella* se také testují na citlivost antibiotik. Pro testování citlivosti bakterií k antibiotikům se využívá diskový difúzní test. Při této metodě jsou antibiotické disky aplikovány na diagnostickou půdu. Pokud kolem antibiotického disku bakterie nevyroste, tak je k danému antibiotiku citlivá – vytvoří se zóna inhibice. (Votava, 2005) Testování citlivosti antibiotickými disky se provádí na Columbia agaru s obsahem 5% koňské krve nebo může být využit Mueller-Hintonův agar s obsahem 5% ovčí krve. U několika bakterií, *B. henselae, B. elizabethae, B. vinsonii* a *B. quintana*, byla zjištěna obdobná citlivost. Výsledky testování citlivosti bakterií k ATB jsou velice důležité pro určení správné léčby pacienta. Poskytují důležitou informaci o koncentraci antimikrobiální látky, která je proti dané bakterii účinná. Zmíněné kmeny jsou nejvíce citlivé na cefalosporiny, tetracykliny, makrolidy, rifampicin. (Cimolai, 2001)

Jako druhou možností v testování citlivosti na antibiotika se využívá E-test, který se provádí na čokoládovém agaru. Tato metoda pomáhá určit minimální inhibiční koncentraci, sloužící k zastaví růstu nežádoucích bakterií. Kvůli obtížné kultivaci bakterie *Bartonella henselae* trvá inkubace kolem pěti dní, dokud není viditelný nárust. E-test slouží k testování citlivosti na doxycyklin, erytromycin, tetracyklin, rifampicin, azitromycin, ciprofloxacin, vankomycin. (Cimolai, 2001)

1.5.6. DNA fingerprinting

DNA typizace slouží k identifikaci jednotlivých druhů bartonel. Na základě jednoho výzkumu za použití 16S rRNA sekvenční analýzy se zjistilo, že bakterie *B. henselae* má dva genotypy (genotyp I a II), které jsou spojené s nemocí způsobenou kočičím škrábnutím. Odlišnost těchto dvou genotypů závisí pouze na počtu nukleotidů v 16S rRNA genu. (Cimolai, 2001) Studiemi se dokázalo, že první ze dvou genotypů, genotyp I, odpovídá sérotypu Houston-1. O několik let později, v roce 1996, Drancourt a kolektiv objevili nový, druhý genotyp *B. henselae*, který se označoval pod názvem Marseille. (La Scola et al., 2002)

Mezi metody DNA fingerprintingu sloužících k identifikaci bartonel na úrovni druhů spadají například Rep-PCR metody. Tyto techniky zahrnují ERIC-PCR (z anglického *enterobacterial repetitive intergenic consensus*) a REP-PCR (z anglického *repetitive*

extragenic palindromic). Výhodou těchto metod je především jednoduchost provedení. (Cimolai, 2001)

Naopak pro identifikaci bartonel na úrovni specifické se využívá pulzní gelová elektroforéza (PFGE). Slouží k výrobě otisku DNA, tedy separaci molekul. Principem je oddělení velkých fragmentů DNA po štěpení restrikčními enzymy a aplikace na gel, kde elektrické pole mění svůj směr v různých časových intervalech. Nejčastěji se jako nosič využívá agarózový gel. (Cimolai, 2001)

1.5.7. Hmotnostní spektrofotometrie (MALDI-TOF MS)

Metoda MALDI-TOF MS (*Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry*) je další technikou sloužící k identifikaci *Bartonella henselae*. Na základě této metody se rozlišují infikované blechy bakterií *Bartonella henselae* od neinfikovaných blech. Hmotnostní spektrofotometrie umožňuje rychlou identifikaci těchto bakterií porovnáváním proteinových profilů s referenční databází. (El Hamzaoui et al., 2018)

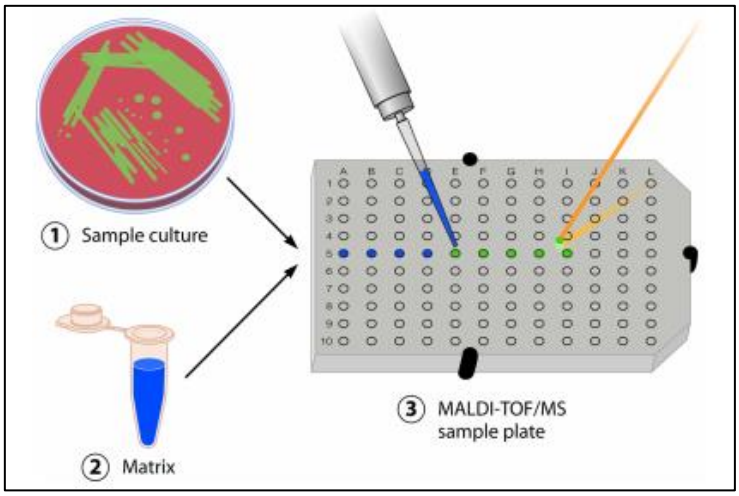
Hmotnostní spektrofotometrie byla objevena v 80. letech 19. století. K první identifikaci mikrobů metodou MALDI-TOF MS došlo roku 1975. Tehdy bylo možné identifikovat pouze velké molekuly, protože byly méně ovlivněné kultivačními podmínkami. Postupem času se tato technika výrazně posouvala dopředu. (Wieser et al., 2011)

Hmotnostní spektrofotometrie se v dřívějších dobách užívala především pro kvalitativní analýzu proteinů, peptidů. Dnes je možné tuto metodu užít pro detekci nízkomolekulárních anorganických, organických látek, nukleových kyselin, ale i identifikaci infekčních agens. Je možné stanovit složitější směsi v kombinaci s ostatními separačními metodami, například gelovou elektroforézou. (Havliš, 1999) MALDI-TOF MS je technika velmi citlivá, proto se k analýze používá jen malé množství mikrobiální biomasy. (Wieser et al., 2011)

Principem hmotnostní spektrometrie je dělení částic nesoucích náboj na základě jejich molekulových hmotností v elektrickém nebo magnetickém poli. V dnešní době se využívá ionizace vzorku laserem přes matrici, neboť ta umožňuje měření více látek ve stejném vzorku najednou, kde výsledek není rušen okolními vlivy. (Havliš, 1999)

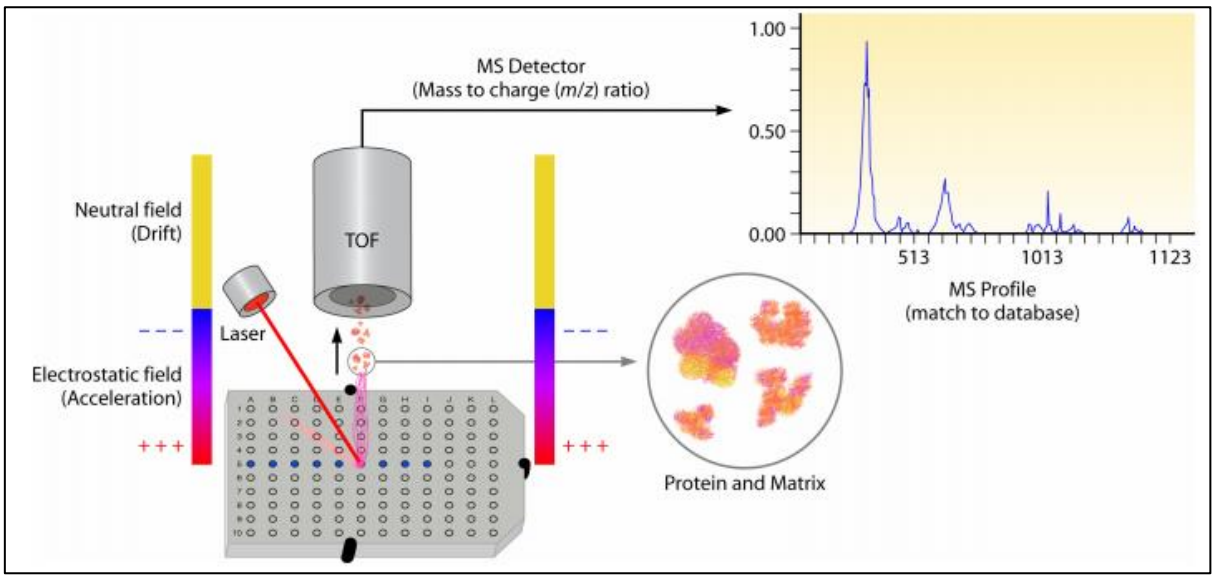
Na kovovou destičku se přímo aplikují kolonie bakterií, které byly vypěstované na kultivačních půdách. Souběžně se přidává i matrice. Tento krok je znázorněn na obrázku č. 5. Takto zhotovená destička se poté vkládá do přístroje, kde na ni působí krátké pulzy laseru. (Wieser et al., 2011) Energie pulzu je absorbována matricí. Její rozklad způsobuje ionizaci molekul vzorku. Celý proces je zaměřen na měření doby letu částice, za pomocí níž

se dopočítává poměr molekulové hmotnosti ku náboji částice. Získaná spektra pak na závěr zpracovává počítač. (Havliš, 1999) Schématické znázornění průběhu detekce hmotnostní spektrofotometrií je viditelné na obrázku č. 6.



Obrázek 5: Nanášení vzorku a aplikace matrix na MALDI destičku

Zdroj: Clark et al. (2013)



Obrázek 6: Schéma MALDI-TOF MS

Zdroj: Clark et al. (2013)

1.5.8. Polymorfismus délky restrikčních fragmentů

Užitečnou a vhodnou metodou pro identifikaci kmenů rodu *Bartonella* je RFLP analýza genu citrát syntázy. (Cimolai, 2001) RFLP (*Restriction fragment length polymorphism*) v českém překladu Polymorfismus délky restrikčních fragmentů je postarší metoda zabývající se identifikací *Bartonella henselae* pomocí restrikčních endonukleáz a genomové DNA.

(Minnick, Anderson, 2015) RFLP slouží především k odlišení dvou různých organismů, rodů nebo kmenů od sebe navzájem. (Aryal, 2018)

Celý proces RFLP začíná izolací DNA ze vzorku. Dále se izolovaná DNA štěpí restrikčními enzymy. Rozštěpený vzorek se přenese do gelové elektroforézy, kde dojde k separaci DNA na základě její velikosti. Produkty elektroforézy jsou fragmenty DNA s obdobnou délkou. Po elektroforéze následuje southern blotting, ve kterém dojde k přenosu DNA z gelu na nylonovou membránu. Následně se na nylonové membráně spouští hybridizace vybraných sekvencí DNA působením radioaktivních komplementárních nukleotidových sond. Po umístění membrány pod účinky rentgenového filmu se začne tvořit autoradiogram. RFLP analýza se využívá k detekci rozdílů ve struktuře jednotlivých identifikovaných kmenů bartonel. (Aryal, 2018)

Výsledky získané RFLP metodou jsou založeny převážně na genotypových vlastnostech. Před aplikací není třeba předchozí informace o sekvenci. Nevýhodou je pomalé provedení, nemožná automatizace, velká spotřeba vzorku DNA. (Aryal, 2018)

1.5.9. Analýza buněčných mastných kyselin (CFA)

Pro identifikaci rodu *Bartonella* se využívá také metody analýzy mastných kyselin. Jednotlivé druhy bartonel jsou rozlišovány pomocí techniky plynové chromatografie. Hlavní mastné kyseliny tohoto rodu zahrnují cis-11-oktadekanovou (C18:1ω7c), hexadekanovou (C16:0) a oktadekanovou kyselinu (C18:0). Konkrétně *B. henselae* obsahuje největší množství kyseliny oktadekanové (C18:0). (Cimolai, 2001)

1.5.10. Biochemické testy

Jak již bylo zmíněno výše, k vyšetření *Bartonella henselae* se využívají i samotné biochemické testy, které napomáhají identifikovat tato infekční agens. Většina těchto testů u *Bartonella henselae* vykazuje negativní výsledek. Testuje se nejen průkaz oxidázy, katalázy, ale i test na indol, ureázu, laktózu a další. (Cimolai, 2001)

Výsledky těchto nejzákladnějších biochemických testů, které se v dnešní době provádějí, se dají zhodnotit tak, že při negativní reakci na oxidázu nedochází k fialovému zabarvení indikátorového papírku, u negativní katalázy nedochází k tvorbě bublinek v závislosti na unikání plynu, při testování indolu se na hladině netvoří červený prstenec, u ureázy nedojde pomocí indikátoru fenolové červeně ke změně barev z béžové na červenou. Tyto zmíněné biochemické testy jsou doplněny řadou dalších, především těmi, jež jsou zaměřeny na průkaz zkvašování cukrů. (Mikrobiologie, 2006)

1.6. Imunologie bartonelové infekce

Bartonella henselae je v prostředí in vitro citlivá na cytolýzu. Tyto bakterie jsou schopné stimulovat fagocytózu, způsobit oxidační vzplanutí v polymorfonukleárních leukocytech, aktivovat komplement cestou klasickou i alternativní. Ze znalosti onemocnění z kočičího škrábnutí dochází k produkci IgM protilátek proti *Bartonella henselae* pouze na počátku infekce. Jejich zvýšené hodnoty přetrvávají pouze krátkou dobu. Naopak protilátky třídy IgG je možné detekovat později. K návratu do normálních hodnot dochází až po několika měsících. Proti bartonelové infekci způsobené bakterií *Bartonella henselae* neexistuje celoživotní imunita. V mnohých případech dochází k reinfekcím nebo k relapsům. (Cimolai, 2001)

1.7. Primární ošetření kočičího škrábnutí oplachovými roztoky

Poškrábání kočkou se řadí mezi povrchová zranění. K jejich zahojení stačí pouze klasické ošetření mýdlovou vodou následovaným ošetřením oplachovým, dezinfekčním prostředkem. Aby nedošlo k hnisání, může se do rány aplikovat framykoinový prášek. Při rozsáhlejších poraněních, komplikacích je nutné chirurgické ošetření. (Havlík, 2005)

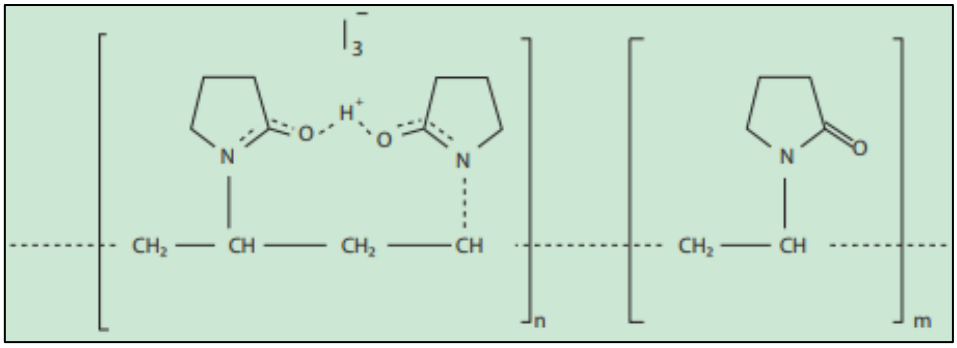
Oplachové roztoky a dezinfekční prostředky slouží k ošetření ran. Působením zabraňují vzniku infekce, podporují hojení. Jejich účinek napomáhá z rány odstranit odumřelé buňky, patogenní bakterie, zbytky exsudátu. Slouží k bezbolestnému odloučení přischlého obvazu z rány, eliminaci zápachu. Je důležité, aby oplachový roztok nebyl toxický, nespouštěl alergie. Takovými vhodnými prostředky jsou Jodovaný povidon, Prontosan, dále Ringerův roztok, Dermacyn, Borová voda. (Šmídová, 2013) Kromě těchto oplachových a dezinfekčních prostředků slouží k odstranění nečistot i roztoky vzniklé z kvartérních amonných bazí. Vhodným přípravkem pro výplach abscesů je peroxid vodíku. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996)

1.7.1. Jodovaný povidon

Povidon jod je jednou z nejvíce užívaných látek sloužících k ošetření ran, ale i léčbě bakteriálního onemocnění. Může být dostupný jako vodný roztok, vaginální čípek, ale i mast. Před vlastním použitím je zapotřebí správného naředění na vhodnou koncentraci. (Pavlíková, Kavalírová, 2012)

Jedná se o komplex tvořený jodem a povidonem (polyvinylpyrrolidonem). Jeho struktura je vyobrazena na obrázku č. 7. Jodovaný povidon je prášek, červenohnědého zbarvení nebo žlutohnědého, jenž je dobře rozpustný v ethanolu i ve vodě. Aby byl jeho účinek

největší, je třeba ho chránit před slunečním zářením, vlhkem. Naopak ke snížení účinnosti jodovaného povidonu dochází v přítomnosti organických látek – hnisu nebo krve. Nežádoucími účinky při aplikaci mohou být bolesti, teplo, pálení, alergie. Jodovaný povidon se v ČR prodává pod označením Braunol a Betadine. (Pavlíková, Kavalírová, 2012)



Obrázek 7: Chemická struktura jodovaného povidonu

Zdroj: Pavlíková, Kavalírová (2012

1.7.2. Prontosan

Oplachový roztok Prontosan je na trhu od roku 2005. Je složen z polyhexanidu, jehož funkcí je ochrana před růstem bakterií a undecylenamidopropylbetainu působícím jako povrchově aktivní látka. Účinek Prontosanu způsobí dekontaminaci rány, narušení biofilmu, ztrátu nepříjemného zápachu. Výhodou tohoto prostředku je urychlení procesu hojení. Jedná se o druhý nejpoužívanější oplachový prostředek. (Šmídová, 2013)

1.8. Léčba

Důležité je včasné zachycení počáteční nastupující fáze. Pokud je bartonelóza zachycena včas, dá se předejít závažným komplikacím. Sama o sobě totiž nemoc z kočičího škrábnutí není závažná, pouze ve výjimečných případech. (Rehabilitace.info, 2018)

Bartonelóza se mnohdy řadí k nemocem, k jejichž samotnému uzdravení nejsou potřeba léky ani lékařské ošetření. Onemocnění tak postupem času samo odezní. Mnoho lékařů proto nechává nemoci volný průběh. K léčbě za pomocí léků přistupuje až u komplikovaných případů (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017) nebo v případě přetrvávajícího výskytu vysoké horečky, bolesti hlavy nebo při náhlé ztrátě zraku. (Cimolai, 2001)

Vhodnými léky pro léčbu vznikající infekce jsou antibiotika s dobrým účinkem na bakterie *Bartonella henselae*. Vytvořené izoláty z rány po zásahu kočkou se testují na citlivost antibiotik. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996) Pro léčbu lze použít antibiotika jako jsou rifampicin, ciprofloxacin, makrolidy. Zmíněná antibiotika jsou velmi dobře účinná

na *Bartonella henselae*. (Nervi, 2018) Podané množství antimikrobiální dávky musí být vždy selektivně toxické pro mikroorganismus, ale nesmí být nebezpečné pro lidský organismus. (Votava, 2005)

Naopak *Bartonella henselae* je rezistentní, tedy odolná, na amoxicilin, penicilin. (Nervi, 2018) Rezistenci na antimikrobiální látky způsobují mikroby. Může být navozena několika mechanismy. Jedním z mechanismů bránící účinku antibiotik je zábrana vstupu antimikrobiálních látek do buňky. Jiným příkladem mechanismu rezistence může být tvorba inaktivujících enzymů, které způsobují inaktivaci, později rozpad ATB. (Beneš, 2009)

U pacientů s lehkým průběhem onemocnění CSD jsou nejúčinnější makrolidy. Léčba u takových pacientů trvá po dobu dvou týdnů. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017) Vysoce až středně účinnými antibiotiky pro pacienty s těžkou CSD jsou rifampicin, gentamicin, trimethoprim, ciprofloxacin. Účinky těchto antibiotik nastupují během prvních dnů, kdy za jejich vlivu dochází ke snížení rychlosti sedimentace, útlumu zánětu a k vymizení většiny příznaků. (Nervi, 2018)

K zahájení léčby se přistupuje dle závažnosti nemoci pacienta. Pokud jsou v důsledku kočičího škrábnutí zvětšeny lymfatické uzliny, přistupuje se neprodleně k léčbě antibiotiky. Aktivních a dostatečně účinných antibiotik pro tento případ je jen několik. Nejužívanější je azitromycin, který má příznivý vliv na zmenšení lymfatických uzlin již po měsíci léčby. (Cimolai, 2001)

Při výskytu atypických příznaků CSD se neužívá pouze jedno antibiotikum, ale využívá se jejich kombinace. U pacientů s felinózou se pro léčbu kombinuje rifampicin s doxycyklinem. V případě vážných stavů se užívá kombinace azitromycinu s rifampicinem, někdy i azithromycinu s gentamicinem. Některé atypické formy nelze léčit pouze antibiotiky. Například pro léčbu artritidy je kromě antibiotik nutné drénovaní ložiska. U léčby endokarditidy se aplikuje aminoglykosid s doxycyklinem. Pokud léčba endokarditidy není příznivá, je nutno v některých případech přistoupit k operaci srdeční chlopně. Obecně léčba antibiotiky trvá několik týdnů a k celkovému vyléčení pacienta dochází po dvou až šesti měsících. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017)

V některých případech se mohou u pacienta vyskytovat příznaky charakterizující rannou infekci i po více jak týdnu léčby antimikrobiálními látkami. V takovém případě se musí zamezit jejich dalšímu přísunu. V několika následujících dnech se hledá a opětovně testuje možný původce onemocnění. Pokud je odhalen, dochází k další terapii léčivy. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996)

Antibiotika se používají k cílené terapii infekčního onemocnění. Pro vhodnou volbu léčiva je zapotřebí znát původce onemocnění včetně jeho citlivosti. Lékař se zaměřuje nejen na citlivost mikroorganismu, ale hodnotí stav pacienta, z důvodu, aby mu předepsaná antibiotika neuškodila. (Beneš, 2009)

1.8.1. Azithromycin

Azithromycin byl objeven roku 1980. Jedná se o makrolidové antibiotikum ze třídy azalidů. Je odvozen z erytromycinu s rozdílem v obsahu látek v laktonovém kruhu. Antibiotická aktivita je vyjádřena vazbou na 50S ribozomovou podjednotku. Obdobně jako jiné makrolidy inhibuje proteosyntézu, tedy syntézu bakteriálních proteinů. Azithromycin je využíván pro léčbu bakteriálních infekcí. Toto antibiotikum může mít bakteriocidní i bakteriostatický účinek. Je velmi účinné na gramnegativní bakterie. Vedlejšími účinky při užívání těchto antibiotik můžou být křeče, nadýmání, nespavost, nechuť k jídlu, závratě. (Bakheit, Al-Hadiya, Abd-Elgalil, 2014) Pro jeho dlouhý biologický poločas, jež činí 60 hodin, se dávkuje ve formě tabletek pouze jedenkrát za den. (Votava, 2005) Tyto antimikrobiální látky dobře pronikají do tkání, kde se rychle vstřebávají a působí. Později se vylučují močí či žlučí. Obecně se makrolidy řadí mezi antibiotika s nízkou toxicitou se středně širokým antibakteriálním spektrem. (Beneš, 2009)

1.8.2. Rifampicin

Rifampicin se řadí mezi baktericidní antimikrobiální látky, ansamycinová antibiotika, pomáhající léčit bakteriální infekce. Byl objeven v roce 1965 v Itálii. Jedná se o derivát, jež je odvozen od rifamycinu. Jeho účinek způsobuje inhibici RNA polymerázy v bakteriálních buňkách. (National Center for Biotechnology Information, 2019) Toto antibiotikum se podává perorálně jednou denně. Mezi jeho vedlejší účinky patří poškození jater, vznik hepatitidy, obvyklejšími jsou průjmy, nechuť k jídlu. Dalšími nežádoucími účinky jsou z oblasti neurologické, hematologické. (Nervi, 2018)

1.8.3. Ciprofloxacin

Třetím neúčinnějším, nejvíce používaným antibiotikem k léčbě nemoci z kočičího škrábnutí je ciprofloxacin. Patří do skupiny chinolonů, respektive fluorochinolonů, protože se v jeho molekule vyskytuje atom fluoru. Jeho předností je snadný průnik do tkání, dobré vstřebávání, proto se velmi často používá. Jeho mechanismus účinku způsobuje inhibici DNA–gyrasy. (Votava, 2005) Jedná se o léčebné antibiotikum, které není určeno k podávání

dětem. Nežádoucími účinky mohou být závratě, bolesti hlavy, vyrážka, nebo dokonce i třes. (Nervi, 2018)

1.8.4. Gentamicin

Molekula gentamicinu je složena z aminocyklitolového cyklu. Patří do skupiny antibiotik nazývajících se aminoglykosidy. Gentamicin má účinek na 30S ribozomovou podjednotku, inhibuje proteosyntézu. Jeho účinek je baktericidní. Působí na většinu gramnegativních bakterií, mezi které spadá i *Bartonella henselae*. Nežádoucím účinkem u tohoto antibiotika je oxotoxicita, jež může způsobit vážné zdravotní komplikace, například hluchotu. Jelikož se gentamicin špatně vstřebává, podává se jednou denně parenterálně. Později je z těla vylučován močí. (Votava, 2005)

1.8.5. Trimethoprim

Trimethoprim je posledním důležitým antibiotikem využívaným k léčbě nemoci z kočičího škrábnutí. Spadá do skupiny sulfonamidů. Podle svého účinku se řadí mezi antimetabolity. Způsobuje inhibici syntézy kyseliny listové. Jeho výsledný účinek je jen bakteriostatický. (Votava, 2005) K nežádoucím účinkům patří zvracení, nechuť k jídlu. V dnešní době je trimethoprim nahrazován jinými antibiotiky stejného účinku. (Beneš, 2009)

1.9. Prevence

Před infekcí, která vzniká v důsledku onemocnění z kočičího škrábnutí, se dá chránit několika možnými způsoby. V případě poranění je důležité jednat včas. Důkladné pročištění rány může zamezit uhnízdění bakterií v tržné ráně, a tím i vzniku infekce. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996) K očištění rány po poranění kočkou se využívá teplá voda s mýdlem. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017)

Nejen pečlivé starání se o ránu patří mezi zásady preventivního opatření. Jedním z nejvíce účinných opatření je kastrace koček, která výrazně ovlivňuje jejich chování. Kastrované kočky jsou totiž v důsledku zákroku více klidné, šťastné, kamarádské. (Svoboda, Pospíšil et al., 1996)

Mezi další účinné preventivní opatření patří dezinsekce kočky. Jedná se o metodu sloužící k čištění srsti kočky, pomocí níž je srst zbavena nežádoucích blech, klíšťat, hmyzu. Aby se snížilo nebezpečí vzniku onemocnění CSD, je v takovém případě nutné odblešovat kočku několikrát za rok. (Beneš, 2009) Jiná opatření, jako je například vakcinace koček není možná kvůli nedostatku zkřížené imunity. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017)

Velké opatrnosti a uplatnění prevence je potřeba u nemocných lidí. U pacientů majících závažné zdravotní komplikace se chov koček v domácím prostředí nedoporučuje, neboť další vzniklé infekce by mohly mít nepříznivý vliv na zdraví pacienta. (Beneš, 2009) Zejména imunokompromitovaní pacienti by se měli vyhýbat všem kočkám žijícím ve venkovním prostředí, protože ty jsou nejvíce vystavené riziku chytnutí blech, ve kterých pak nebezpečné bakterie přežívají. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017)

Nejvíce rizikovou skupinou přenášející bakterie *Bartonella henselae* jsou koťata, dále pak mladé kočky. U těchto koček je výskyt bartonel v krvi nejvíce pravděpodobný. Mladé kočky jsou více agresivní, proto je vhodné se vyhnout hrubé hře s nimi. Pokud však nějaké poranění vznikne, je třeba jej urychleně ošetřit. Následně se musí zamezit dalšímu olizování, hraní s nimi. Nejdůležitější zásadou v prevenci proti vzniku CSD je mytí rukou po každém kontaktu s kočkou. (Tonnessen, Konvalinová, Svobodová, 2010)

1.10. Agrese u koček

Vyskytující se agrese u koček je jedním z nejčastějších problémů jejich chování, které může způsobit nespočet potíží. Jedná se o nepřátelské chování k člověku či jiným zvířatům. Agrese u koček se řadí mezi obranné reakce. Pro každý druh má určitou specifitu, neboť jednotlivé druhy koček se svým agresivním chováním liší. Agrese je často definována jako nevyprovokovaný útok. Nepříznivé, bojovné chování je nutné pro jejich přežití. Agrese koček je dělena do několika skupin, a to na základě příčiny vzniku. Může se jednat o agresi vyvolanou strachem, o naučnou agresi, nechtěnou agresi vyvolanou při hraní nebo agresi spojenou se stresem vyskytujícím se u kočky. Dále lze rozdělit útočné chování kočky na dvě části. První částí je útok, druhou útěk. (Navarová, 2011)

Proces vzniku agrese u koček řídí dvě centra – humorální, nervové. Významný vliv na útočnost mají androgeny, které ji zvyšují. Nejen androgeny se podílejí na útočnosti. Účinné jsou také gonadotropní hormony nadledvin či hypofýzy. (Navarová, 2011)

Ne všechny kočky žijí ve smečkách. Samo žijící kočka musí spoléhat pouze na své lovecké schopnosti. V případě hrozícího nebezpečí se snaží za pomoci zvuků, řeči těla konflikt oddálit. Obdobně jako u ostatních živočichů je obranný mechanismus kočky tvořen třemi složkami – znehybněním, útěkem, útokem. V případě, že je kočka napadena, nejprve znehybní. Pokud to situace dovolí vyhne se konfliktu a uteče. V několika případech, kdy není možnost úniku, přichází na řadu útok za použití zubů, drápů. Agresivita u koček se vyskytuje například v případě sporů o teritorium, během sporu o jídlo nebo při hrozbě nebezpečí

ze strany člověka i ostatních živočichů. Agresivní chování koček je nejvíce ovlivněno bolestí, stresem, úzkostí, strachem. Proto v takových případech, kdy kočka zaútočí, často dochází k poranění kočičím škrábnutím. (Navarová, 2011)

U koček se dá snadno poznat jejich strach, jenž je spojen s přípravou k boji. Nápadným rysem na její hlavě je přitáhnutí ušních boltců dozadu, jež zvýrazní kulatou hlavu. (Navarová, 2011) Známky agresivity vykazují rozšířené zornice, naježené chlupy, vzpřímený ocas, kulatý hřbet. (Cornell University, 2016)

Aby se zamezilo útočnému chování koček, především možnému vzniku poranění, je zapotřebí dodržovat některé zásady. Fyzický trest by se měl zcela vynechat, neboť situaci často ještě zhorší. Nejčastější agresí je agrese kočky ze strachu. Ta je vyvolána například při setkání s cizí osobou, zvířetem, situací – například návštěva veterináře. Jistým projevem strachu je syčení, odvrácení hlavy, stažený ocas. Jediný způsob, jak zamezit vzniku agrese ze strachu je vyhnutí se nepříjemné situaci. (Cornell University, 2016)

Druhým závažným typem agrese je tzv. přesměrovaná. Jedná se o stav, kdy kočka zbystří podnět, na nějž nemůže reagovat. Svou agresi pak směřuje na člověka. Nejnebezpečnější kočky jsou ty, které mají koťata. V takovém případě se jedná o mateřskou agresi. Aby se snížilo riziko vzniku škrábnutí, je nutné pro kočky zajistit tiché prostředí, které je nevystavuje stresu, dále tak omezit pohyb k nim. Veškeré nešetrné zacházení s nimi proto často končí zraněním. (Cornell University, 2016)

Soužití koček s lidmi je v dnešní době často viditelným aspektem. Za posledních padesát let došlo k velkému nárustu jejich obliby. Lidé si je častěji pořizují jako domácí mazlíčky. Nesmí se opomínat, že tento druh zvířat je citlivý ke změnám. Změny u koček vyvolávají stres, který se právě řadí mezi prvotní příčiny vzniku agresivního chování. (Navarová, 2011)

1.11. CSD pohledem veterinářů

Důležitou roli při detekci zoonotických onemocnění u zvířat hrají veterináři. Ti mají kromě toho vliv i na prevenci. Zoonóza je nemoc či infekce přenášející se ze zvířete na člověka přímým kontaktem. Dochází k přenosu etiologických agens, kterými jsou nejčastěji bakterie. K ochraně lidského, zvířecího zdraví je nutné hlásit vyskytující se zoonózu zdravotním pracovníkům. U veterinářů je riziko interakce s infikovanými zvířaty zvýšeno. Zvířata jsou často v klinickém prostředí neklidná, proto je s nimi potřeba manipulovat opatrně. Užívání ochranných pomůcek, jako jsou rukavice, obličejové štíty, snižují možné riziko přenosu nemoci na ošetřujícího veterináře. Veterinář je lékař léčící zranění, nemoci zvířat.

Je proto nutné, aby znali veškerá možná rizika zoonotických onemocnění a během práce chránili sebe i ostatní. (Venkat et al., 2019)

1.12. *Bartonella henselae* u ostatních zvířat

Pro *Bartonella henselae* nemusí být přirozeným hostitelem pouze kočka, ale může to být také pes. Nejvíce ohroženými zvířaty této skupiny jsou psi domácí. U těch dochází k infekci nejčastěji. K první izolaci *Bartonella henselae* u psa došlo roku 2003 ve městě Gabon. (Álvarez-Fernández et al., 2018)

U psů není zcela znán vektor přenosu. Uvádí se, že *Bartonella henselae* je šířena i u psů blechou kočičí. Dalšími možnými přenašeči mohou být roztoči, klíšťata. (CVBD, 2016)

Psi, tak jako kočky, jsou v neustálém kontaktu s lidmi. Často si je lidé pořizují jako domácí mazlíčky. V případě, že jsou infikované bartonelou, jsou rizikem vzniku infekce u člověka. Stejně jako u lidí způsobuje *Bartonella henselae* u psů peliózu. Nadále se projevuje jako endokarditida. (Álvarez-Fernández et al., 2018)

Aby nedocházelo k přenosu infekce na psy, je důležité je chránit. Preventivní ochranou psů je používání akaricidů, jež hubí blechy, roztoče, klíšťata. Ty se podávají ve formě nástřiků nebo v podobě obojků. Nejvíce účinnou ochranou by byly vakcíny proti *Bartonella henselae,* ale prozatím žádné nebyly vyvinuty. (CVBD, 2016)

1.13. Situace onemocnění CSD v České republice

V mezinárodní klasifikaci se onemocnění z kočičího škrábnutí zaznamenává pod značkou A28. Bartonelóza je také hlášena pod jiným označením, jako je A79, jež se zabývá rickettsiózami nebo W55, které zahrnuje kousnutí jinými savci. Z důvodu, že diagnóza CSD je hlášena pod různými značkami mezinárodní klasifikace, je těžké určit přesný počet postižených touto nemocí. Veškeré zaznamenané a hlášené případy infekčních nemocí včetně bartonelózy jsou evidovány systémem EPIDAT. (Máslová, Martinková, Vašutová, 2014) V dnešní době není na území ČR nutné onemocnění z kočičího škrábnutí hlásit. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017)

Zvýšený výskyt onemocnění z kočičího škrábnutí připadá nejčastěji na období podzimních, zimních měsíců. (Fojtíková, 2009) Podle novodobého výzkumu dochází k poranění a vzniku felinózy častěji u dospělých než dětí. (Hozáková, Rožnovský, Janout, 2017) V České republice je škrábnutí, ale i kousnutí zvířetem častým jevem. Poranění způsobují jak domácí, tak divoká zvířata. K nechtěnému úrazu proto může dojít doma, v lese, na ulici, tedy všude,

kde se vyskytují. Počty hlášených případů poraněním zvířetem v letech 1999–2004 jsou dle poskytnutých informací z Centra epidemiologie a mikrobiologie Státního zdravotního ústavu České republiky zpracovány v tabulce č. 3. Nejedná se však o celkový počet poranění, neboť část drobných poškrábání je ošetřena pouze doma, tedy není ani hlášena. (Havlík, 2005)

Tabulka 3: Statistika hlášených počtů poranění způsobenými zvířaty v letech 1999-2004

Rok	Počet hlášených případů
1999	3 708
2000	3 374
2001	2 982
2002	2 851
2003	2 466
2004	2 064

Zdroj: vlastní zpracování podle Havlíka (2005)

Další údaje o onemocnění z kočičího škrábnutí pocházejí z Fakultní nemocnice v Ostravě z Kliniky infekčního lékařství, kde od roku 2008 do roku 2017 bylo evidováno a ošetřeno 73 pacientů (36 dospělých, 37 dětí) ve věku 1-74 let. 66 pacientů potvrdilo předešlý kontakt s kočkou, pouze 22 pacientů přiznalo kočičí poranění. Většina měla zasažené krční uzliny, u 19 případů došlo k její exstirpaci. Pomocí sérologického vyšetření byla diagnóza felinózy potvrzena u všech 73 pacientů. Zvýšený titr IgM protilátek byl zjištěn u 47 pacientů. V důsledku onemocnění došlo také ke zvýšení titru protilátek třídy IgG. Naměřené výše titrů IgM protilátek vztažené k jednotlivým pacientům jsou uvedeny v příloze A, hodnoty IgG protilátek v příloze B. Důležitým parametrem sledování byla doba přetrvávání uzlinového syndromu u postižených, vyjma pacientů po exstirpaci, viz příloha C. Nadále lékaři všem pacientům v průběhu onemocnění měřili teplotu, sledovali u nich únavu, zjišťovali bolestivost hlavy, prováděli několik dalších testů. Přehled výsledků těchto vyšetřovaných parametrů je uveden v příloze D. (Hozáková et al., 2018)

2. KONKRÉTNÍ PŘÍPADY PŘI NAPADENÍ KOČKOU

Bartonella henselae způsobuje bartonelové infekce. Jedná se o onemocnění přenositelné z kočky na člověka. Následující kazuistiky jsou zaměřeny právě na onemocnění z kočičího škrábnutí neboli *cat scratch disease*. Kazuistikou se rozumí vědecká dokumentace popisující pozorování u nemocného pacienta. Zabývá se popisem, analýzou diagnózy, ale i léčbou nemocných. Může popisovat neobvyklé klinické syndromy či například vedlejší účinky na léčbu. (Gopikrishna, 2010)

2.1. Kazuistika č. 1

Na oddělení dětského lékařství Fakultní nemocnice Ostrava byla přivezena 7letá dívka pocházejí z Vietnamu. Holčička byla přijata pro podezření z abscedující parotitidy. Týden před hospitalizací prodělala akutní tonsilitidu s postupujícím rozvojem rezistence v pravé oblasti mandibuly.

Anamnéza

- Osobní anamnéza - pacientka zdráva, bez pravidelné dispenzarizace.
- Rodinná anamnéza - bez pozoruhodností, rodiče zdrávi.
- Alergická anamnéza - pacientka netrpí žádnými alergiemi.
- Farmakologická anamnéza - chronická medikace žádná.

Hlavní diagnóza

Dívka beze změn a poškození celkového stavu, afebrilní, na tváři v okolí *glandula parotis* hmatatelná rezistence dosahující v průměru velikosti 3 cm, oblast tváře a místa poranění bolestivá, proteplená, zarudlá. Podezření na abscedující parotitidu.

Vstupní vyšetření

Provedeno ultrazvukové vyšetření jako vstupní. Obraz odpovídal suspektní parotitidě s incipientní kolikvací, v oblasti *glandula parotis* nález zvětšených uzlin.

Vyšetření krevního obrazu

Erytrocyty 4,8 x 10^{12}/l, trombocyty 333 x 10^{9}/l, leukocyty 9 x 10^{9}/l, hemoglobin 135 g/l.

KO mikroskopicky

Tyče 0 %, segmenty 73 %, monocyty 2 %, lymfocyty 23 %, bazofily 2 %, eozinofily 0 %.

Další testy

Lipáza 0,32 μkat/l, amyláza-S 0,77 μkat/l, LDH 4,7 μkat/l, FW 16 mm/hod, CRP 4,6 mg/l.

Medikace

ATB léčba, nasazen Amoksiklav.

Následná vyšetření

Lékař z oddělení ORL provedl v oblasti rezistence punkci. Získaný 2 ml sekret hnisu byl použit pro kultivační vyšetření. Nadále indikována chirurgická revize. V oblasti parotické žlázy nález lymfadenitidy. Odebrán vzorek lymfatické tkáně pro histologické vyšetření. Ultrazvuk břicha – bez splenomegalie. Rentgen plic, srdce – nález fyziologický. Sérologické vyšetření na toxokarózu, toxoplazmózu, EBV, CMV, bartonelu, mykoplazmata, chlamydie.

Průběh hospitalizace

Po prodělaném chirurgickém zákroku a několika vyšetření dochází k pravidelným kontrolám zánětlivé oblasti. Lékaři je sledováno hojení rány po operaci. Holčička v průběhu stále afebrilní, její stav je uspokojivý. Lokální nález zlepšen, ultrazvuk nadále ukazuje na kolikvaci lymfatické uzliny. Substituce ATB nadále pokračuje. Výsledky kultivačního nálezu z punktátu negativní. Po dvou týdnech od hospitalizace je zpozorována progrese procesu kolikvace. Následuje chirurgická revize. Při druhé chirurgické revizi došlo k odstranění dvou zánětlivě postižených lymfatických uzlin v intraparotické oblasti. Získané vzorky uzlin předány k opětovnému histologickému, bakteriologickému vyšetření. Negativní výsledky na mykobakterie, bakteriální agens nepotvrzeno, T-spot negativní. Přítomné abscesy obklopené epiteloidními histiocyty svědčí pro granulomatózní hnisavou lymfadenitidu, viz příloha E. Výsledky poukazují na onemocnění z kočičího škrábnutí (*cat scratch disease*). Další provedené testy neprokázaly přítomnost acidorezistentních tyčí v histopatologickém preparátu. Diagnostikováno pozitivní zvýšení titru protilátek třídy IgG *Bartonelly* na 1:256, potvrzení CSD. Pozměněna ATB léčba. Amoksiklav nahrazen makrolidy. Terapie ATB na 21 dní. Po třech týdnech léčby provedeno další sérologické vyšetření *Bartonella henselae*. Nárust titru IgG na 1:512, potvrzení prodělané bartonelové infekce. Hospitalizace dívky trvala po dobu 4 týdnů, následně byla propuštěna domů. Nadále ambulantní kontroly u lékaře.

Zhodnocení

Anamnéza onemocnění z kočičího škrábnutí potvrzena rodiči. Pacientka s rodiči žije v domácím prostředí s kočkou. (Stejskalová et al., 2016)

2.2. Kazuistika č. 2

Chlapec, 14 let, byl přiveden na dětské oddělení Krajské nemocnice Tomáše Bati ve Zlíně. Ze spádové onkologické ambulance byl odeslán ke čtrnáctidenní hospitalizaci z důvodu přítomné lymfadenopatie vyskytující se v okolí axily a kubity. Podezření na onemocnění z kočičího škrábnutí.

Anamnéza

- Osobní anamnéza - pacient zdráv, bez nápadností, nekřišen, porod v termínu, očkován dle normy, běžná dětská onemocnění, PMV norma.
- Rodinná anamnéza – matka recidivující flebitida, otec matky hypertenze, infarkt myokardu.
- Alergická anamnéza – pacient trpí alergiemi na pyl, alergické testování neprovedeno.
- Farmakologická anamnéza -při obtížích užívá Zodac.

Hlavní diagnóza

Chlapec si přivedl poranění v oblasti prsteníčku levé ruky. Po dobu třech týdnů sledoval kožní lézi, jejíž původ byl neznámý. Následně došlo v chirurgické ambulanci k ošetření. Pacientovi byla diagnostikována lymfadenopatie. Chlapec nejeví projevy únavy, je afebrilní, bez příznaku pocení, kašle, otok kubity, axily velmi bolestivý. Klinický stav bez alterace. Podezření na CSD.

Vstupní vyšetření

Vstupní vyšetření bylo sonografické, které se provedlo ambulantně. Výsledkem byl nález svazku 8–10 zvětšených lymfatických uzlin v oblasti axily. Největší uzlina v této oblasti dosahovala velikosti 3 cm. Zduření uzliny pokračovalo vedle subclavie, další nález odpovídal kubitální lymfatické uzlině dosahující velikosti 23 mm.

Vyšetření krevního obrazu

Erytrocyty 4,75 x 10^{12}/l, trombocyty 316 x 10^{9}/l, leukocyty 10,4 x 10^{9}/l, hemoglobin 138 g/l, hematokrit 0,400, segmenty 50,3 %, lymfocyty 25,5 %, monocyty 7,8 %, bazofily 0,4 %, eozinofily 16,1 %,

KO mikroskopicky

Tyče 2 %, segmenty 48 %, monocyty 7 %, lymfocyty 31 %, eozinofily 12 %, polymorfie lymfocytů, anizocytóza +.

Další testy

CRP < 5 mg/l, FW 12/38.

Medikace

K léčbě byl indikován gentamicin.

Následná vyšetření

Potvrzení diagnózy se provádělo za pomoci laboratorních vyšetření a paraklinických. Mediastinum bez rozšíření, rentgen plic bez patologického nálezu, sonografické vyšetření břicha: játra velikosti 132 mm v přední axilární čáře, echogenita v normě, žlučník bez výskytu konkrementu, slezina zvětšená na velikost 132x55 mm, echogenita v normě. Biochemické vyšetření taktéž v normě. Průkaz průtokovou cytometrií neprokázal žádné hematologické onemocnění. Imunologické vyšetření poukázalo na lehkou reaktivní elevaci cytotoxických CD8+ T lymfocytů.

Sérologické vyšetření protilátek

VCA: IgG 2,319, IgM: 0,47, EBV: IgG 2,98, CMV: negativní, *Mycoplasma pn.*: negativní, *Chlamydophila pn.*: IgM negativní, IgA a IgG pozitivní, *Chlamydophila tr.*: negativní, *Yersinie enterocol.*: 1 : 20, Mantoux test: negativní, zoonózy: negativní (vyloučena tularemie, brucellóza, toxokaróza, toxoplazmóza, listéria). Pro sérologické vyšetření na bartonelózu byl vzorek poslán do FN Brno Bohunice. Výsledek byl dodán do třech týdnů. Stanovení se provádělo metodou MIF, která určila *Bartonella* IgM negativní, IgG pozitivní ++.

Průběh hospitalizace

Při přijetí do nemocnice první den byl pacient subfebrilní, následující dny afebrilní, bez větších obtíží. Terapie prováděna pomocí ATB gentamicinu po dobu 14 dní. Následně došlo k ústupu lymfadenopatie, brachiální lymfatická uzlina podléhá kolikvaci. Lékaři provedli incizi, kdy došlo k odstranění 10 ml hnisu. Odebraný hnis byl použit pro kultivační test, nímž však nebyl žádný patogen prokázán, nález pouze *Staphylococcus epidermidis*. Chlapec po úspěšné léčbě opustil nemocnici, nadále zůstává v ambulantní péči lékařů z důvodu vleklého hojení rány. K zahojení došlo po měsíci od propuštění.

Zhodnocení

Nemoc z kočičího škrábnutí nebyla potvrzena. Infekční agens spouštějící toto onemocnění nebylo závěrečným kultivačním testem prokázáno. Z aplikovaných vyšetřovacích metod tomuto onemocnění odpovídal pouze sérologický test na vyšetření *Bartonella henselae*

protilátek třídy IgM, IgG. Dále pro CSD svědčil výskyt inokulační léze, která se vyvinula v lymfadenopatii. Celá kazuistika poukazovala na typický průběh bartonelózy. (Fojtíková, 2009)

2.3. Kazuistika č. 3

Do nemocnice v Japonsku byl přijat 5letý chlapec s příznaky zvětšených submentálních uzlin, které přetrvávaly přes pět dní. Chlapec si několik dní předtím přihodil poranění poškrábáním kočkou. Příznaky zvětšených lymfatických uzlin nasvědčovaly pro podezření z onemocnění kočičího škrábnutí, viz příloha F.

Anamnéza

- Osobní anamnéza – zdráv, bez zdravotních komplikací.

Hlavní diagnóza

U chlapce byly prokazatelně zvětšené lymfatické uzliny v oblasti submentální na přední straně krku pod čelistí. Dosahovaly velikosti 3,5 x 2,5 cm, na pohmat byly měkké, viditelně ohraničené, pohyblivé. Supraklavikulární, kubitální, axilární, tříselné uzliny bez zvětšení.

Vstupní vyšetření

Jako vstupní vyšetření se provedlo vyšetření krve – KO, FW, vyšetření enzymů, proteinů.

Další testy

Dále byl pacient testován na tuberkulinovou reakci, jejíž výsledky byly negativní. Následně bylo provedeno CT, ultrasonografie krku a hlavy odhalila zvětšené, pohyblivé submentální lymfatické uzliny. Provedená biopsie v celkové anestezii poukázala na granulomatózní onemocnění. Tomografie za užití intravenózního kontrastního média potvrdila zvětšenou submentální lymfatickou uzlinu, viz příloha G. Histologické vyšetření léze odhalilo přítomnost epiteloidních buněk, granulomatózní lymfadenitidy tvořící absces. Výsledky histologie taktéž poukázaly na onemocnění z kočičího škrábnutí. Na ověření CSD se provedl průkaz protilátek *Bartonella henselae* pomocí sérologického vyšetření. Sérologie byla pozitivní, titr protilátek třídy IgG byl 1:1024.

Laboratorní výsledky provedených testů

U pacienta se prováděly tytéž laboratorní testy na CSD před zahájením operace a následně po operaci. Výsledky vyšetření krevního obrazu, sedimentace erytrocytů, některých bílkovin včetně C-reaktivního proteinu, enzymů, imunoglobulinů jsou zaznamenány v tabulce č. 4.

Tabulka 4: Před a pooperační výsledky laboratorních testů

	Předoperační	**Pooperační**
Leukocyty	6,2 x 10^9/l	6,2 x 10^9/l
Erytrocyty	4,29 x 10^{12}/l	4,16 x 10^{12}/l
Hemoglobin	125 g/l	121 g/l
Hematokrit	38,0%	36,2%
Trombocyty	315 x 10^9/l	363 x 10^9/l
CRP	0,002 g/l	0 g/l
FW	18 mm/hod	–
Celková bílkovina	0,75 g/l	0,70 g/l
Albumin	0,45 g/l	0,43 g/l
Albumin/globulin	0,15 g/l	0,15 g/l
Hladina dusíku močoviny v krvi	0,08 g/l	0,13 g/l
Glutamát-oxalacetát transamináza	4,5 U/l	15,5 U/l
Glutamát-pyruvát transamináza	15,5 U/l	16 U/l
Laktátdehydrogenáza	550 U/l	463 U/l
Bartonella henselae Imunoglobulin G	≥ 1024 titr	< 256 titr
Bartonella henselae Imunoglobulin M	< 16 titr	< 16 titr

Zdroj: zpracováno podle Miyauchi et al. (2004)

Průběh hospitalizace

U chlapce, jenž byl hospitalizován do nemocnice pro lymfadenitidu submentálních uzlin bylo provedeno nespočet vyšetření k potvrzení onemocnění z kočičího škrábnutí. V důsledku rozsáhlé lymfadenitidy musel pacient prodělat chirurgickou exstirpaci. Po zákroku nedošlo k recidivě, došlo ke snížení protilátky třídy IgG proti *Bartonella henselae* pod hodnotu 1:256. Pacient se podrobil pouze chirurgickému vyříznutí lymfatické uzliny, antibiotická léčba nebyla lékaři předepsána. Po několika dnech léčby a zahojení rány byl chlapec propuštěn do domácí péče.

Zhodnocení

Výsledky histologického i sérologického vyšetření potvrdily diagnózu malého chlapce. Jak naznačily provedené testy, jednalo se o onemocnění z kočičího škrábnutí. Chlapec prodělal bartonelovou infekci. (Miyauchi et al., 2004)

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo přiblížit problematiku onemocnění z kočičího škrábnutí, které způsobuje bakterie *Bartonella henselae*. Práce obsahovala podrobnou charakteristiku původce onemocnění. Ta se týkala především vzhledu bakterie. Nebyly opomenuty ani její specifické vlastnosti, zdroj energie nebo přibližný výskyt ve světě.

Důležitou podkapitolou byl přenos onemocnění, kde část byla věnována vektoru tohoto onemocnění, bleše kočičí (*Ctenocephalides felis).* Součástí přenosu je i invazivita *Bartonella henselae* do lidského organismu. V souvislosti byl proto popsán proces adheze umožněný díky adhezinům a penetrace, jež je podpořena efektorovými proteiny.

Zmíněny byly také specifické projevy bartonelózy u člověka. Těmi nejčastějšími jsou pouze systémové příznaky, jako je horečka, nevolnost. CSD může vyústit i v nepříjemné komplikace, které mají vliv na život postiženého. K závažným příznakům je proto řazena meningoencefalitida, endokarditida.

Velká část byla věnována mikrobiologické diagnostice onemocnění z kočičího škrábnutí, tím i identifikaci kmene *Bartonella henselae*. V dnešní době je velice úspěšnou metodou sérologické vyšetření protilátek třídy IgM, IgG, kdy se zjišťuje zvýšená hodnota titru. Podrobně byl popsán i druhý spolehlivý, osvědčený test vhodný pro rozlišení bartonelových druhů, a to metoda PCR. Zmíněny byly také další techniky, které se užívají v menší míře.

Součástí této práce bylo seznámení s primárním ošetřením rány po kočičím škrábnutí. Definovány byly některé známé oplachové roztoky, například Jodovaný povidon, který je jedním z prostředků často užívaných. S touto kapitolkou souvisela léčba s aplikací antibiotik při potvrzení bartonelové infekce, felinózy.

Nedílnou součástí bylo ozřejmění a doporučení zásad správné prevence před napadením kočkou nebo možným rozvojem CSD onemocnění. Specifikovány byly projevy mající vliv na špatné, útočné chování kočky. Aby nedocházelo k útokům na člověka, je třeba udržet si s nimi dobrý vztah a nevystavovat je zbytečnému stresu.

Poslední řádky první kapitoly byly věnovány situaci výskytu onemocnění CSD v České republice. Ačkoliv případů souvisejících s tímto onemocněním není tolik, neměla by se tato nemoc podceňovat. Mnoho lidí nemá o následcích onemocnění z kočičího škrábnutí tušení, proto je nutné, aby se případné poranění kočkou ihned řešilo.

Druhá a závěrečná kapitola byla zaměřena na konkrétní pacienty trpící nemocí z kočičího škrábnutí. Detailně byla popsána jejich diagnóza. Popsané případy byly z ČR i ze zahraničí.

POUŽITÁ LITERATURA

[1] ARYAL, S. *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). Online Microbiology Notes* [online]. 2018 [cit. 2020-04-08]. Dostupné z: https://microbenotes.com/restriction-fragment-length-polymorphism-rflp/

[2] ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, A., BREITSCHWERDT, E. B., SOLANO-GALLEGO, L. *Bartonella infections in cats and dogs including zoonotic aspects. Parasites & Vectors*. 2018, 11(1), 1-21.

[3] BAKHEIT, A. H. H., AL-HADIYA, B. M. H., ABD-ELGALIL, A. A. *Azithromycin. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. 2014, 39, 1-40. ISSN 1871-5125

[4] BENEŠ, J. *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, 2009. 651 s. ISBN 978-80-7262-644-1.

[5] BREITSCHWERDT, E. B. *Feline bartonellosis and cat scratch disease. Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2008, 123(1-2), 167-171.

[6] Centers for Disease Control and Prevention. *Cat Scratch Disease FAQs* [online]. 2016 [cit. 2020-04-17]. Dostupné z: https://www.cdc.gov/bartonella/cat-scratch/index.html

[7] Centers for Disease Control and Prevention. *Transmission CSD* [online]. 2019 [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: https://www.cdc.gov/bartonella/transmission/index.html

[8] CIERVO, A., MASTROIANNI, C. M., AJASSA, C., PINTO, A., CICERONI, L. *Rapid identification of Bartonella henselae by real-time polymerase chain reaction in a patient with cat scratch disease. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2005, 53(1), 75-77.

[9] CIMOLAI, N. *Laboratory diagnosis of bacterial infections*. New York: Marcel Dekker, 2001. 922 s. Infectious disease and therapy, [vol.] 26. ISBN 0-8247-0589-0.

[10] CLARK, A. E., KALETA, E. J., ARORA, A., WOLK, D. M. *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology. Clinical Microbiology Reviews.* 2013, 26(3), 547-603.

[11] Cornell University. College of Veterinary Medicine. *Feline Behavior Problems: Aggression* [online]. 2016 [cit. 2020-03-29]. Dostupné z: https://www.vet.cornell.edu/departments-centers-and-institutes/cornell-feline-health-center/health-information/feline-health-topics/feline-behavior-problems-aggression

[12] CVBD, Companion Vector-Borne Diseases. *Canine Bartonellosis* [online]. 2016 [cit. 2020-03-31]. Dostupné z: http://www.cvbd.org/en/flea-borne-diseases/canine-bartonellosis/

[13] DURDEN, L. A., HINKLE, N. C. *Fleas (Siphonaptera). Medical and Veterinary Entomology*. 2019, 145-169. doi:10.1016/b978-0-12-814043-7.00010-8

[14] EICHER, S. C., DEHIO, C. *Bartonella entry mechanisms into mammalian host cells. Cellular Microbiology*. 2012, 14(8), 1166-1173. ISSN 1462-5822

[15] EL HAMZAOUI, B., LAROCHE, M., ALMERAS, L., BÉRENGER, J. M., RAOULT, D., PAROLA, P. *Detection of Bartonella spp. in fleas by MALDI-TOF MS. PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2018, 12(2), 1-14.

[16] FOJTÍKOVÁ, M. *Nemoc z kočičího škrábnutí. Pediatrie pro praxi*. 2009, 10(2), 107-108.

[17] FRANZ, B., KEMPF, V. A. *Adhesion and host cell modulation: critical pathogenicity determinants of Bartonella henselae. Parasites and Vectors*. 2011, 4(1), 1-5.

[18] GIRMA, G., DUGUMA, M., HAILE, G. *A Review on Cat Scratch Disease and it's Zoonotic Significance. Madridge Journal Veterinary Medicine Research*. 2019, 1(1), 1-7.

[19] GOPIKRISHNA, V. *A report on case reports. Journal Conservative Dentistry*. 2010, 13(4), 265-271.

[20] HARMS, A., DEHIO, C. *Intruders below the Radar: Molecular Pathogenesis of Bartonella spp. Clinical Microbiology Reviews.* 2012, 25(1), 42-78.

[21] HAVLIŠ, J. *Hmotnostní spektrometrie MALDI TOF. Vesmír*. 1999, 78(8), 448.

[22] HAVLÍK, J. *Poranění zvířaty a jak předcházet komplikacím. Medicína pro praxi.* 2005, 2(2), 62-63. ISSN 1214-8687.

[23] HOZÁKOVÁ, L., ROŽNOVSKÝ, L., FAKHOURI, F., DOLEŽÍLKOVÁ, J., JANOUT, V. *Uzlinový syndrom u nemoci z kočičího škrábnutí dětí a dospělých. Časopis lékařů českých*. 2018, 157(3), 146-151. ISSN 0008-7335.

[24] HOZÁKOVÁ, L., ROŽNOVSKÝ, L., JANOUT, V. *Nemoc z kočičího škrábnutí – opomíjená zoonóza. Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*. 2017, 66(2), 99-104. ISSN 1210-7913.

[25] HUARCAYA, E. et al. *A prospective study of cat-scratch disease in Lima-Peru. Revista do Instituto de Medicina tropical Sao Paulo*. 2002, 44(6), 325-330. ISSN 0036-4665

[26] CHENOWETH, M. R., SOMERVILLE, G. A., KRAUSE, D. C., O'REILLY, K. L., GHERARDINI, F. C. *Growth Characteristics of Bartonella henselae in a Novel Liquid*

Medium: Primary Isolation, Growth-Phase-Dependent Phage Induction, and Metabolic Studies. Applied and Environmental Microbiology. 2004, 70(2), 656-663.

[27] JACOMO, V., KELLY, P. J., RAOULT, D. *Natural History of Bartonella Infections (an Exception to Koch's Postulate). Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2002, 9(1), 8-18.

[28] JEŽKOVÁ, T. *Zablešení: Blecha kočičí* [online]. 2017 [cit. 2020-03-31]. Dostupné z: https://zverolekarka.com/zableseni/

[29] Klíště.cz. *Bartonelóza* [online]. 2018 [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: https://www.kliste.cz/cz/vse-o-klistatech/clanek/bartoneloza

[30] LA SCOLA, B., LIANG, Z., ZEAITER, Z., HOUPIKIAN, P., GRIMONT, P. A. D., RAOULT, D. *Genotypic Characteristics of Two Serotypes of Bartonella henselae. Journal of Clinical Microbiology*. 2002, 40(6), 2002-2008.

[31] MAGNO, S. L., SPATAR, L. *Cat Scratch Disease in Primary Care. The Journal for Nurse Practitioners*. 2009, 5(5), 353-358.

[32] MAURIN, M., BIRTLES, R., RAOULT, D. *Current knowledge of Bartonella species. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 1997, 16(7), 487-506.

[33] MÁSLOVÁ, L., MARTINKOVÁ, I., VAŠUTOVÁ, M. *Bartonelóza – nemoc z kočičího škrábnutí. Medicína pro praxi.* 2014, 11(3), 131-132.

[34] Medicabaze.cz. *Lymfadenopatie u infekčních onemocnění* [online]. 2007 [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: http://www.medicabaze.cz/index.php?sec=term_detail&categId=16&termId=1596&tname=Lymfadenopatie+u+infek%C4%8Dn%C3%ADch+onemocn%C4%9Bn%C3%AD

[35] Mikrobiologie. *Biochemická identifikace bakterií* [online]. 2006 [cit. 2020-03-17]. Dostupné z: https://mikrobiologie.webgarden.cz/rubriky/biochemicka-identifikace

[36] Minnesota Department of Health. *About Cat Scratch Disease* [online]. 2019 [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: https://www.health.state.mn.us/diseases/bartonella/basics.html

[37] MINNICK, M. F., ANDERSON, B. E. *Bartonella. Molecular Medical Microbiology*. 2015, 1911-1939. doi:10.1016/b978-0-12-397169-2.00105-0

[38] MIYAUCHI, M., ISHIKAWA, T., HIGASIKAWA, K., SHIMASUE, H., TOMORI, H., INOUE, S., SUGIYAMA, M. *Cat Scratch Disease. Asian Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2004, 16(2), 139-142.

[39] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. *Rifampicin, CID 135398735* [online]. 2019 [cit. 2020-03-23]. Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rifampicin

[40] NAVAROVÁ, Š. *Agresivita koček – Klinická psychologie ve veterinární praxi* [online]. 2011 [cit. 2020-03-29]. Dostupné z: https://www.vetkom.cz/agresivita-kocek-klinicka-psychologie-ve-veterinarni-praxi-3/

[41] NERVI, S. J. *Cat Scratch Disease (Cat Scratch Fever) Treatment & Management: Antibiotic Treatment. Medscape* [online]. 2018 [cit. 2020-03-22]. Dostupné z: https://emedicine.medscape.com/article/214100-treatment#d9

[42] O'ROURKE, F., SCHMIDGEN, T., KAISER, P. O., LINKE, D., KEMPF, V. A. J. *Adhesins of Bartonella spp. Bacterial Adhesion*. 2011, 51-70. ISSN 0065-2598

[43] PAVLÍKOVÁ, J., KAVALÍROVÁ, L. *Jodovaný povidon v magistraliter receptuře. Praktické lékárenství*. 2012, 8(6), 283-285.

[44] REGNERY, R. L., ANDERSON, B. E., CLARRIDGE, J. E., RODRIGUEZ-BARRADAS, M. C., JONES, D. C., CARR, J. H. *Characterization of a novel Rochalimaea species, R. henselae sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. Journal of Clinical Microbiology*. 1992, 30(2), 265-274.

[45] Rehabilitace.info. *Bartonelóza – nemoc z kočičího škrábnutí – příznaky a léčba* [online]. 2018 [cit. 2020-03-08]. Dostupné z: https://www.rehabilitace.info/zdravotni/bartoneloza-nemoc-z-kociciho-skrabnuti-priznaky-a-lecba/

[46] SANDER, A., RUESS, M., DEICHMANN, K., BÖHM, N. *Two Different Genotypes of Bartonella henselae in Children with Cat-Scratch Disease and their Pet Cats. Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 1998, 30(4), 387-391.

[47] SIAMER, S., DEHIO, C. *New insights into the role of Bartonella effector proteins in pathogenesis. Current Opinion in Microbiology*. 2015, 23, 80-85.

[48] STANĚK, L. *Polymerázová řetězcová reakce: princip metody a využití v molekulární patologii. Česko-slovenská patologie*. 2013, 49(3), 119-121. ISSN 1210-7875.

[49] STEJSKALOVÁ, J., STRMEŇOVÁ, H., DOLEŽÍLKOVÁ, J., HOLEČKOVÁ, A., TOMANOVÁ, R., VANTUCH, P. *Od diagnózy abscedující parotitidy k Bartonellóze. Pediatrie pro praxi*. 2016, 17(4), 248-250.

[50] STROHL, W. A., ROUSE, H., FISHER, B. D. *Microbiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. 516 s. ISBN 0-397-51568-5.

[51] SVOBODA, M., POSPÍŠIL, Z. et al. *Infekční nemoci psa a kočky*. Brno: Česká asociace veterinárních lékařů malých zvířat, 1996. 504 s.

[52] ŠMÍDOVÁ, I. *Oplachové roztoky včera a dnes. Braunoviny* [online]. 2013 [cit. 2020-04-12]. Dostupné z: https://www.braunoviny.cz/oplachove-roztoky-vcera-a-dnes

[53] TONNESSEN, R., KONVALINOVÁ, J., SVOBODOVÁ, V. *Nemoc z kočičího škrábnutí – epidemiologie infekce Bartonella henselae* [online]. 2010 [cit. 2020-03-28]. Dostupné z: https://www.vetweb.cz/nemoc-z-kociciho-skrabnuti-epidemiologie-infekce-bartonella-henselae/

[54] UpToDate. *Endocarditis caused by Bartonella* [online]. 2020 [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: uptodate.com/contents/endocarditis-caused-by-bartonella

[55] VENKAT, H., YAGLOM, H. D., ADAMS, L. *Knowledge, attitudes, and practices relevant to zoonotic disease reporting and infection prevention practices among veterinarians — Arizona, 2015. Preventive Veterinary Medicine*. 2019, 169. doi:10.1016/j.prevetmed.2019.104711

[56] Veterinářství. *Infekce koček a člověka způsobená Bartonella henselae* [online]. 2006 [cit. 2020-03-13]. Dostupné z: https://www.vetweb.cz/infekce-kocek-a-cloveka-zpusobena-bartonella-henselae/

[57] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2., přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. 351 s. ISBN 80-86850-00-5.

[58] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902896-6-5.

[59] WIESER, A., SCHNEIDER, L., JUNG, J., SCHUBERT, S. (2011). *MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics - identification of microorganisms and beyond. Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011, 93(3), 965-974.

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha A Výsledky vyšetření protilátek IgM proti *Bartonella henselae* u všech pacientů

Příloha B Výsledky vyšetření protilátek IgG proti *Bartonella henselae* u všech pacientů

Příloha C Doba trvání uzlinového syndromu, pokles protilátek třídy IgG proti *B. henselae* na nejnižší hodnotu

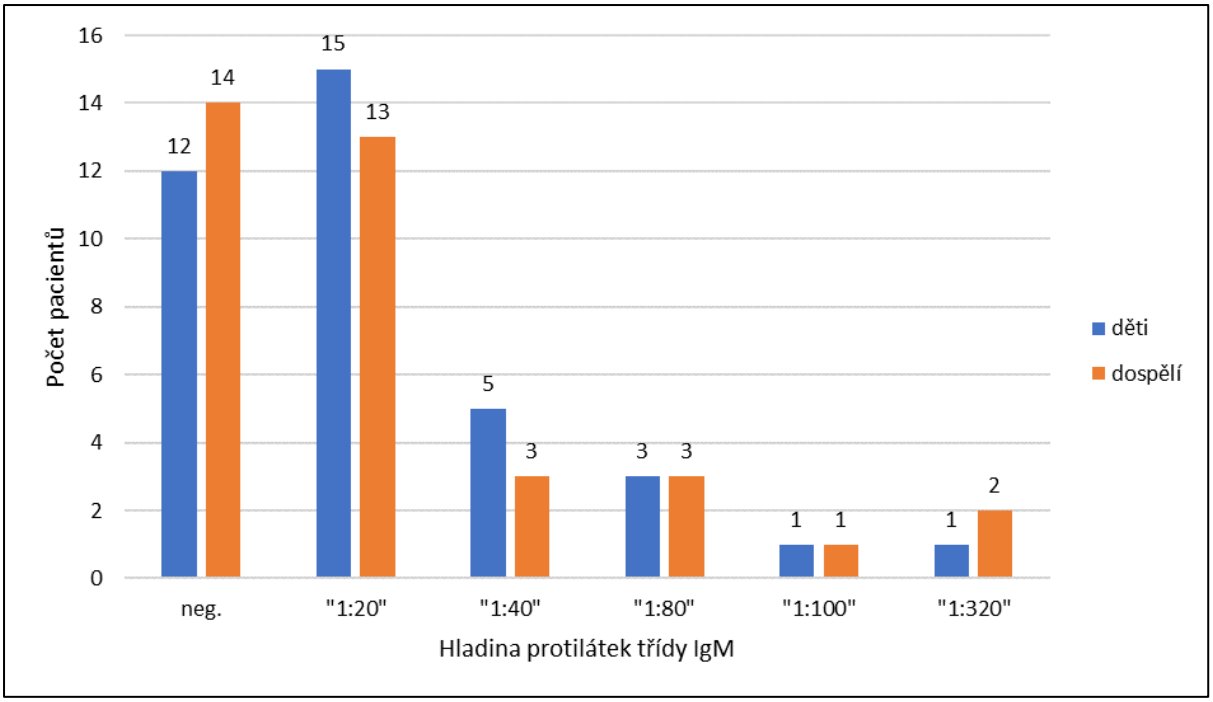
Příloha D Klinické projevy a patologické hodnoty laboratorních vyšetření pacientů s CSD

Příloha E Fotodokumentace zobrazení purulentní lymfadenitidy

Příloha F Fotodokumentace zvětšené lymfatické uzliny v podčelistní oblasti

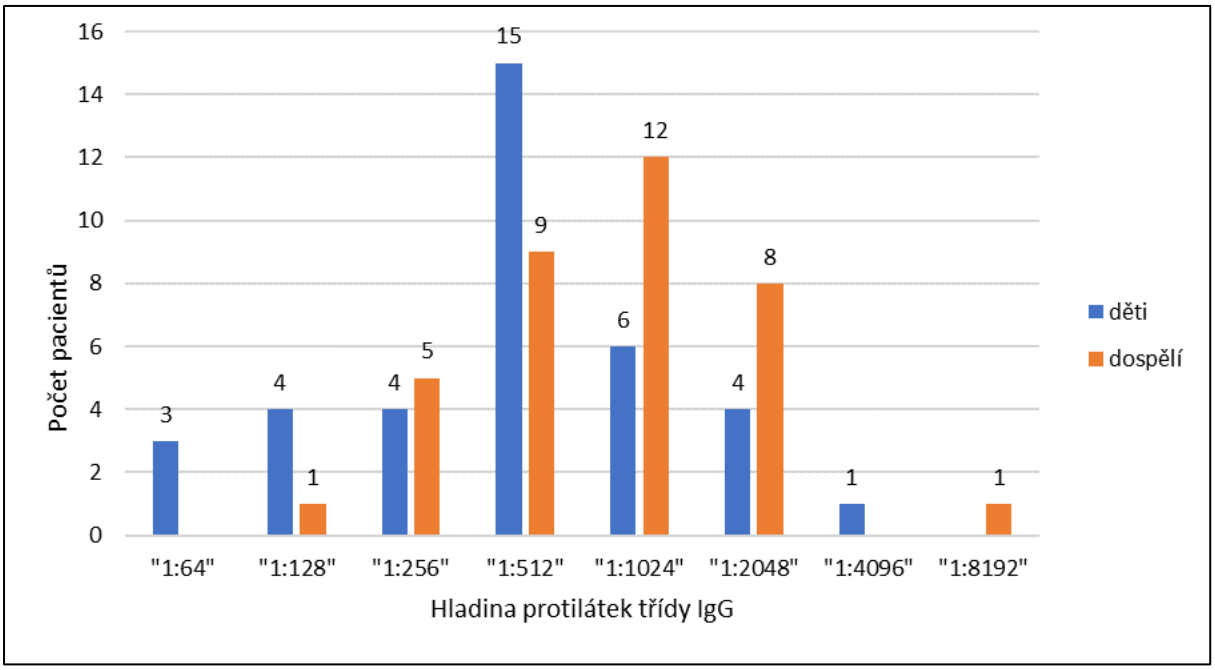
Příloha G Záznam tomografického vyšetření znázorňující lymfadenitidu

Příloha A Výsledky vyšetření protilátek IgM proti *Bartonella henselae* u všech pacientů



Zdroj: vlastní zpracování podle Hozáková et al. (2018)

Příloha B Výsledky vyšetření protilátek IgG proti *Bartonella henselae* u všech pacientů



Zdroj: vlastní zpracování podle Hozáková et al. (2018)

Příloha C Doba trvání uzlinového syndromu, pokles protilátek třídy IgG proti *B. henselae* na nejnižší pozitivní hodnotu

Sledování (M = měsíc)	**≤ 4 M**	**5-8 M**	**9-12 M**	**> 12 M**	**Nedostavili se ke kontrole**	**Sledování ukončeno**
Délka přetrvávání uzlinového syndromu	43	6	1	2	-	2
Pokles titru IgG protilátek na 1:64-1:128	19	12	7	2	21	12

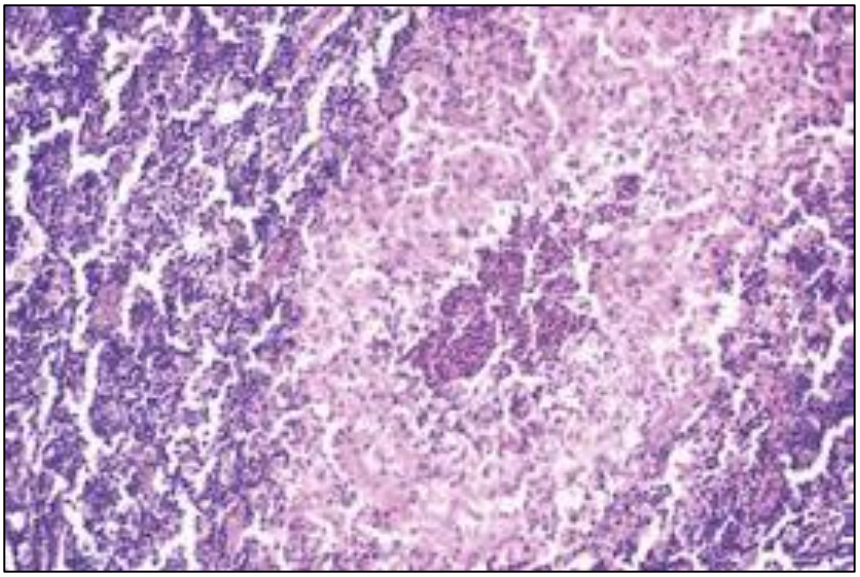
Zdroj: zpracováno podle Hozáková et al. (2018)

Příloha D Klinické projevy a patologické hodnoty laboratorních vyšetření pacientů s CSD

Sledovaný parametr	**Teplota < 37,9 °C**	**Teplota ≥ 38 °C**	**Trvání teploty**		**Bolest hlavy**	**Únava**	**↑ Leukocyty**	**↑ ALT**	**↑ CRP**
			< 1 týden	**1-3 týdny**					
Počet dětí	7	11	10	7	-	1	1	1	14
Počet dospělých	5	7	8	5	2	-	-	2	5

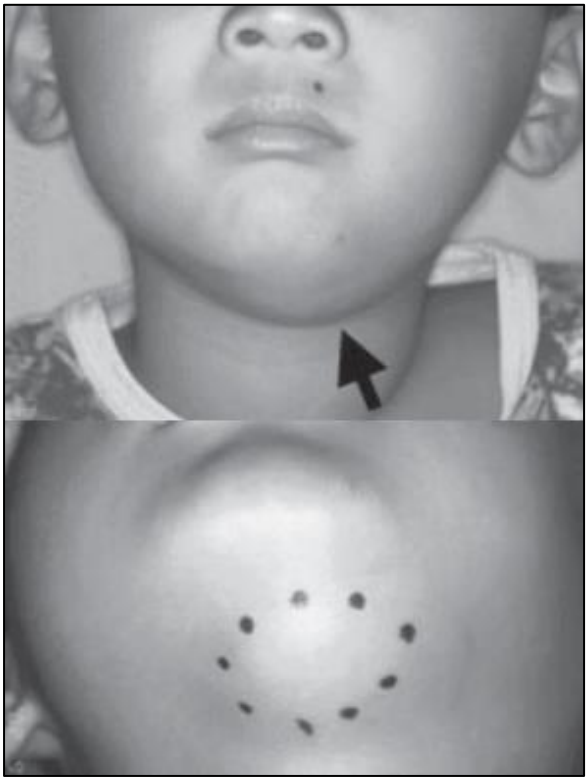
Zdroj: zpracováno podle Hozáková et al. (2018)

Příloha E Fotodokumentace zobrazení purulentní lymfadenitidy



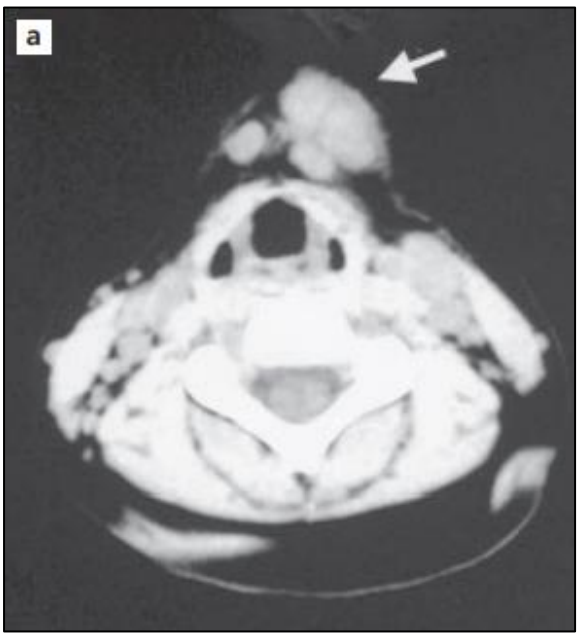
Zdroj: Stejskalová et al. (2016)

Příloha F Fotodokumentace zvětšené lymfatické uzliny v podčelistní oblasti



Zdroj: Miyauchi et al. (2004)

Příloha G Záznam tomografického vyšetření znázorňující lymfadenitidu



Zdroj: Miyauchi et al. (2004)