

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

RADEK ŠMAJSTRLA

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Naegleria fowleri

Bakalářská práce

28.5.2023

Radek Šmajstrla

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Radek Šmajstrla**
Osobní číslo: **C18287**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: ***Naegleria fowleri***
Téma práce anglicky: ***Naegleria Fowleri***
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Vypracujte literární rešerši popisující patogenní amébu *Naegleria fowleri*. Zaměřte se na historický kontext, taxonomii, výskyt, možnosti infekce, rizikové faktory.
- 2) Popište příznaky a průběh onemocnění primární amébovou meningoencefalitidou (PAM), terapii.
- 3) Věnujte se i historickému kontextu epidemie PAM v Ústí nad Labem. Popište současnou epidemiologickou situaci ve světě. Seznamte se zajímavými kazuistikami.
- 4) Literární zdroje čerpejte zejména z databází WOS a Medline. Prostudujte historické i současné materiály týkající se epidemie PAM v ČR.
- 5) Bakalářskou práci zpracujte dle směrnice Univerzity Pardubice upravující formální zpracování závěrečných prací.

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: **23. prosince 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Poděkování

Na tomto místě bych moc rád upřímně poděkoval především doc. Ing. Marcele Pejchalové, Ph.D. za opravdu velmi trpělivé vedení, cenné rady a připomínky při vypracovávání této bakalářské práce. Také děkuji svým nejbližším za oporu.

Prohlášení

Prohlašuji: Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byl jsem seznámen 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 28.5.2023

Radek Šmajstrla v.r.

Anotace

Práce je věnována amébě *Naegleria Fowleri*, která představuje volně žijící jednobuněčný organismus vyskytující se nejčastěji v otevřených vodních zdrojích. Za situace, kdy se dostane do lidského organismu se však dokáže změnit v infekční patogen a způsobovat smrtelné onemocnění zvané primární amébová meningoencefalitida (PAM). Vůči tomuto onemocnění neexistuje doposud adekvátní léčba a mnoho pacientů v důsledku něj zemřelo. Doposud největší počet lidí zemřel při epidemii tohoto onemocnění v Ústí nad Labem v letech 1962-1965, kdy v důsledku nákazy touto chorobou zemřelo 16 mladých lidí, kteří se nakazili v plaveckém bazénu.

Klíčová slova

Naegleria Fowleri, primární amébová meningoencefalitida (PAM), Ústí nad Labem, epidemie, plavecký bazén

Annotation

The work is devoted to the amoeba *Naegleria Fowleri*, which is a free-living single-celled organism most often found in open water sources. However, when it gets into the human body it can turn into an infectious pathogen and cause a fatal disease called primary amoebic meningoencephalitis (PAM). There is still no adequate treatment for this disease and many patients have died as a result. Until now the largest number of people died during the epidemic of this disease in Ústí nad Labem in the years 1962-1965 when 16 young people who contracted the disease in a swimming pool died as a result of the disease.

Key words

Naegleria Fowleri, primary amoebic meningoencephalitis (PAM), Ústí nad Labem, epidemic, swimming pool

Naegleria Fowleri

Obsah

Úvod	1
1. Naegleria Fowleri.....	3
1.1. Popis a charakteristika	3
1.2. Ekologie.....	6
2. Primární amébová meningoencefalitida (PAM).....	9
2.1. Popis onemocnění.....	9
2.2. Příznaky a rizikové faktory onemocnění	11
2.3. Diagnostika onemocnění.....	12
2.4. Léčba onemocnění.....	17
3. Výskyt a prevalence onemocnění PAM	21
3.1. Příklad z ČR	23
3.1.1. Nákaza v Ústní nad Labem v letech 1962-1965.....	23
3.1.2. Lázeňská budova a opatření	31
Závěr	36
Použitá literatura	39

Seznam obrázků

Obrázek 1: Tři podoby <i>N. Fowleri</i> (améba, bičíkaté stádium a cysta).....	4
Obrázek 2: <i>N. Fowleri</i> ve své nejčastější amébové podobě.....	5
Obrázek 3: Potencionální místa výskytu <i>N. Fowleri</i>	7
Obrázek 4: Cesta <i>N. Fowleri</i> coby patogenu do mozku svého hostitele.....	10
Obrázek 5: Ameboidní trofozoité <i>N. Fowleri</i> v mikroskopickém vyšetření mozkové tkáně pacienta.....	14
Obrázek 6: Chemická struktura léku miltefosin.....	19
Obrázek 7: Celosvětové případy výskytu onemocnění PAM.....	22
Obrázek 8: Dobová fotografie plaveckého bazénu, který byl označen za zdroj nákazy.....	25
Obrázek 9: Spáry kachliček a nalezení rezervoáru améb <i>N. Fowleri</i>	29
Obrázek 10: Lázně dr. Vrbenského ve městě v Ústí nad Labem (původně Johann Schicht Bad).....	32

Seznam tabulek

Tabulka 1: Základní údaje osob, u kterých byl prokázán výskyt amébové meningoencefalitidy v Ústí nad Labem.....	26
---	----

Seznam zkratek a značek

DNA	Deoxyribonukleová kyselina
IFA	nepřímé imunofluorescenční protilátky
IHC	imunohistochemické barvení
IIF	nepřímé imunofluorescenční barvení
PAM	primární amébová meningoencefalitida
PCR	polymerázová řetězová reakce
ÚEM	Ústavu epidemiologie a mikrobiologie
USA	Spojené státy americké

Úvod

Lidská infekční onemocnění se podílejí i v rámci současné moderní a technologické společnosti až na čtvrtině všech úmrtí, a z toho důvodu představují závažný zdravotní problém třetího tisíciletí. Jedná se o choroby, které jsou vyvolávány v lidském těle přítomností virů, bakterií nebo parazitů. Při rozvoji infekčního onemocnění dochází k proniknutí cizorodého organismu do lidského těla, nejčastěji skrze ústní nebo nosní dutinu, popřípadě skrze otevřenou ránu na kůži, pohlavním stykem nebo přenosem skrze tělní tekutiny. Choroboplodné zárodky následně poškozují vnitřní prostředí svého hostitele, ze kterého se stává nové životní prostředí parazita, který se zde množí.

Některá infekční onemocnění nepředstavují pro hostitele větší zátěž, a nezpůsobují mu větší zdravotní újmu. Některé mikroorganismy však mohou zavinit i smrt svého hostitele. To, o jak závažnou infekci se bude jednat, je dáno hned několika faktory. V první řadě se jedná o vlastnosti samotného parazita (patogenu), jako je inkubační doba, produkce toxinů, ale i o schopnost imunitního systému hostitele reagovat na přítomnost cizorodých organismů.

Naegleria Fowleri představuje jednobuněčný organismus patřící mezi jeden ze 47 druhů améboflagelátů rodu *Naegleria* (De Jonckheere, 2014). Za většiny okolností se jedná o neškodný eukaryotický organismus, který se v prostředí živí pohlcováním bakterií. Pokud však dojde ke shodě náhod, může tato améba napadnout i savčího hostitele, v jehož těle se následně projevuje paraziticky. Je původcem onemocnění, které je nazýváno primární amébovou meningoencefalitidou, které může ve výjimečných případech postihnout i člověka. Jedná se o smrtící chorobu, jejíž výskyt je však u člověka velice vzácný (Visvesvara, 2010).

Primární amébová meningoencefalitida představuje velice závažné onemocnění, jejíž závažnost je umocněna i tím, že na léčbu této choroby v současné době neexistují účinné a efektivní prostředky. Většina lidí se touto chorobou nakazila při plavání v rámci vodního prostředí (ve sladkých vodách jako jsou jezera, rybníky, řeky, dokonce i bazény), kdy améba pronikla do jejich těla skrze nosní sliznici. Odtud následně putuje skrze sliznice do čichového nervu a poté do mozku. V mozku následně způsobuje rozklad mozkových buněk a zánět, v důsledku čehož pacient upadá do kómatu a následně umírá (Visvesvara, 2010, De Jonckheere, 2014).

Cílem bakalářské práce s názvem „*Naegleria Fowleri*“ bude popsat tohoto parazita, a stejně tak závažné onemocnění, které způsobuje. Ačkoliv se jedná o chorobu vzácného výskytu, většina napadených do několika dní umírá. Tento konkrétní patogenní parazit nebyl vybrán náhodou, jelikož k největší epidemii v rámci celého světa došlo mezi léty 1962-1965 v Ústí nad Labem, kdy v důsledku nákazy touto chorobou zemřelo 16 mladých lidí, kteří se nakazili v plaveckém bazénu.

1. Naegleria Fowleri

V rámci první kapitoly teoretické části se bude bakalářská práce soustředit na hlavní objekt jejího zájmu, kterým je jednobuněčná améba *Naegleria Fowleri*. V úvodní části bylo naznačeno, že spadá do rodu améb, které v drtivé většině žijí ve volné přírodě, kde se živí požíráním bakterií. *N. Fowleri* je výjimkou v tomto rodu, jelikož za vhodných podmínek se může stát smrtícím patogenem.

V rámci této kapitoly bude nejprve tento druh améby popsán a definován, a následně bude analyzován její životní cyklus. V druhé podkapitole bude pozornost zaměřena na ekologii této améby. Bude také vysvětleno, čím je právě améba od ostatních ze stejného rodu specifická, že se může stát původcem onemocnění zvaného *primární amébová meningoencefalitida*.

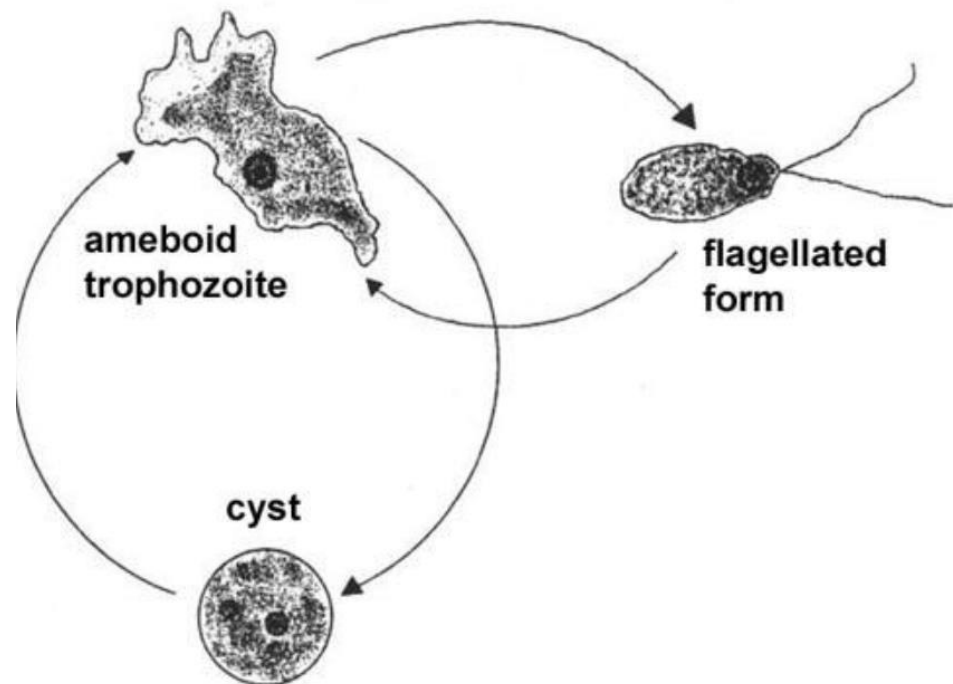
1.1. Popis a charakteristika

Améba *N. Fowleri* byla objevena dvěma vědci, Dr. Fowlerem a Dr. Carterem v Austrálii. Popsána byla jako původce onemocnění *primární amébová meningoencefalitida* (PAM), a pojmenována byla na počest Dr. Malcoma Fowlera, který jako první toto onemocnění popsal a rozpoznal (Fowler & Carter, 1965).

V rámci rodu *Naegleria* představuje *N. Fowleri* jediný v současné době známý patogenní druh. Améba prochází během svého života třemi rozdílnými fázemi (Fulton & Dingle, 1967):

- améboidní stadium,
- bičíkaté stadium,
- stadium cysty.

Bičíkatého stádia améba nabývá pouze po přechodnou dobu. Během této etapy nepřijímá žádnou potravu, nerozmnožuje se a nedochází k její cyklizaci. Za příznivých podmínek přechází stádium cysty do améboidního stádia. Tyto tři formy a jejich vzájemná konverze činí z tohoto protista vynikající model pro studium procesů buněčné diferenciacce (Schuster, 1963).



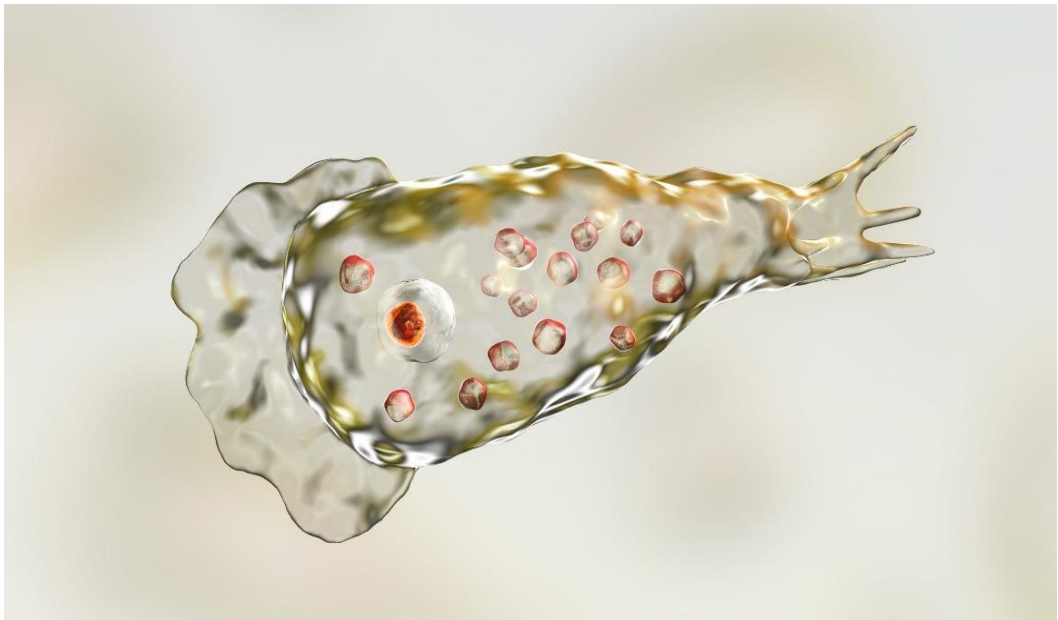
Obrázek 1: Tři podoby *N. Fowleri* (améba, bičíkaté stádium a cysta)¹.

Améboidní stádium je charakterizováno velkým jádrem s jadérkem, četnými mitochondriemi, potravními vakuolami, kontraktilní vakuolou, endoplazmatickým retikulem uzavřeným v plazmatické membráně, ribozomy, membránově vázanými cytoplazmatickými organelami. Améboidní stádium je dlouhé a štíhlé (8-15 μm) a pohybuje se vytvářením jedné nebo více laločnatých pseudopodií. V tomto stádiu se lze s *N. Fowleri* setkat nejčastěji, je schopná v něm přijímat potravu a rozmnožovat se binárním dělením. Právě tato forma je patogenní formou. Améba je schopná napadnout svého hostitele, přežít v něm a rozmnožovat se v něm (Forrester et al., 1967).

¹ ZÍTKOVÁ, K. 2014. Životní cyklus *Naegleria fowleri*: trofozoit, bičíkovec a cysta. Op. Cit.

Stadium cysty nabývá *N. Fowleri* za nepříznivých podmínek. Cysta je kulovitěho tvaru, opatřena jedinou hladkou vrstvou. Cysty se často nacházejí shluknuté těsně vedle sebe, kdy jedna cysta dosahuje průměru 7-12 μm . Poté, co se *N. Fowleri* probudí ze stádia cysty, nabývá podobu améby (John, 1982).

Bičíkaté stádium má protáhlé tělo hruškovitého tvaru, které disponuje obvykle dvěma bičíky stejné délky, jádrem v užší přední oblasti a žádným cytosomem. Na povrchu bičíkovce je pozorovatelná zřetelná jaderná membrána a jadérko, vakuoly a cytoplazmatické inkluze, mitochondrie a drsné endoplazmatické retikulum. Kinetický aparát se skládá z bičíků a s nimi spojených kinetosomů, rhizoplastů a tenkostěnných fibril (Forrester et al., 1967).



Obrázek 2: *N. Fowleri* ve své nejčastější amébové podobě².

Jak již bylo zmíněno, améba *N. Fowleri* se živí požíváním bakterií ve volné přírodě, a to jak na zemském povrchu, tak i ve vodním prostředí. Améby jsou schopny vykázat velice silnou chemotaktickou a chemokinetickou reakci při přítomnosti živých buněk v jejím okolí. Tato vlastnost je tedy zodpovědná za udržování směru pohybu améby. Při pohybu ve vodě se améba nachází v bičíkatém stádiu a využívá pro pohyb povrchového napětí na hladině vody. Toto stádium je však schopné navrátit se opět v amébové stádium, když se vyskytuje na suché

² GONZALEZ, R. 2018. A Brain-Eating Amoeba Just Claimed Another Victim. Op. Cit.

zemi. Stejně tak suchozemské amébové stádium je schopné se změnit ve stádium s bičíky, aby mohlo uniknout do vodního prostředí (Forrester et al., 1967).

Během pokusů bylo zjištěno, že k významnému růstu améby a ke zvýšení její pohyblivosti dochází s rostoucí teplotou. Nejvíce amébě svědčí teploty kolem 37 stupňů, ale jsou bez problému schopné snášet i teploty do 45 stupňů (Forrester et al., 1967).

Co se klasifikace *N. Fowleri* týče, *Mezinárodní společnost protistologů* klasifikovala eukaryota do šesti „super skupin“, jmenovitě *Amoebozoa*, *Opisthokonta*, *Rhizaria*, *Archaeplastida*, *Chromalveolata a Excavata*, přičemž rod *Naegleria* patří do poslední zmiňované skupiny jménem *Excavata*. Dále do čeledi *Vahlkampfiidae* a třídy *Heterolobosea* (Simpson et al., 2005).

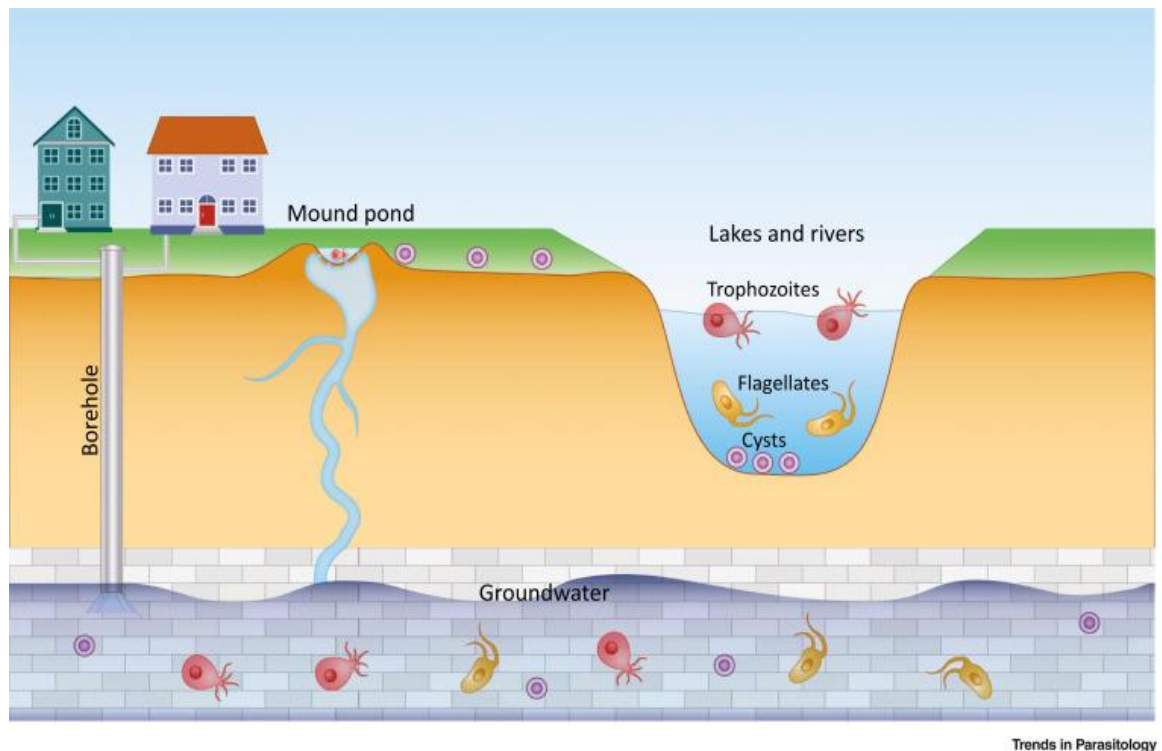
1.2. Ekologie

N. Fowleri představuje volně žijící amébu, která se vyskytuje v různých prostředích včetně půdy, vody a vzduchu. Byla objevena na všech světových kontinentech vyjma Antarktidy (De Jonckheere, 2011). *N. Fowleri* je široce rozšířena především ve sladkovodních jezerech. Populace ve třech z pěti zkoumaných jezerech ve Spojených státech amerických běžně dosahovaly úrovně jedné améby na 25 ml testované vody během horkých letních měsíců (Wellings et al., 1977). Při testování na sezónní distribuci populační hustoty volně žijících améb bylo zjištěno, že jejich počet vrcholí koncem léta (Kyle & Noblet, 2006).

Výskyt *N. Fowleri* je často spojován se zvýšenými teplotami a také průmyslovými odpadními vodami. *N. Fowleri* vykazovala 100 % přežití ve vodách o pH od 2,1 do 8,15 (Sykora et al., 2003). Umělý ohřev vody elektrárenskými výboji usnadňuje proliferaci, avšak *N. Fowleri* nebyla detekována mimo dosah tepelného znečištění, což naznačuje, že teplá vypouštěná voda z elektráren by neměla být využívána pro sportovní a rekreační účely (Cerva et al., 2012).

N. Fowleri se však nevyskytuje pouze ve sladkovodních jezerech nebo u výpustí elektráren. Bazénové vody v Mexiku vykazovaly prevalenci této patogenní améby až v 17 % testovaných bazénů. *Naegleria* zde přežívala ve formě cyst, z toho důvodu je doporučováno, aby byly kryté bazény ošetřovány vyšším množstvím chlóru, který je v určité koncentraci pro *N. Fowleri* smrtelný (Rivera et al., 2003). Kadlec et al. (1978) dále lokalizovali *N. Fowleri* i v popraskané stěně bazénu, ve kterém byla v minulosti pozorována opakovaná ohniska onemocnění PAM.

N. Fowleri se také často vyskytuje v geotermálních lázních nebo v jejich blízkosti. Její výskyt v rámci geotermálních lázní může být snížen instalací potrubí mezi geotermálními zdroji a lázněmi a zabráněním vnikání záplavové vody do lázní (Moussa et al., 2014). *N. Fowleri* byla také izolována z přírodních horkých pramenů v národních parcích *Yellowstone* a *Grand Teton* (Sheehan et al., 2003).



Obrázek 3: Potencionální místa výskytu *N. Fowleri*³.

Pokud se améba neživí paraziticky, není tzv. patogenem, pak se ve volné přírodě živí požíváním mikroskopických řas, kvasinek nebo bakterií (Stahl & Olson, 2020). Drobné částičky potravy jsou *N. Fowleri* pohlcovány prostřednictvím tzv. potravních vakuol, v rámci kterých si améba vybírá mezi částičkami, které polkne a které naopak vyloučí (Xinyao et al., 2006).

³ MCIVER, SK, PINERO, JE, MORALES, JK. 2020. Is *Naegleria fowleri* an Emerging Parasite? Op. cit.

N. Fowleri představuje obligátně aerobní organismus, který dýchá prostřednictvím početných mitochondrií ve svém těle. Spotřeba kyslíku je však u tohoto specifického druhu améby mnohem nižší než u jiných druhů stejného rodu. To je vysvětlením, proč je právě *N. Fowleri* schopná přežít ve vodním prostředí chudém na kyslík, ve kterém současně panují vysoké teploty (Weik & John, 1979).

2. Primární amébová meningoencefalitida (PAM)

Poté, co bylo v rámci první kapitoly popsáno vzezření, životní cyklus a ekologie mikroorganismu, který stojí za onemocněním primární amébová meningoencefalitida (zkráceně PAM), v další kapitole bude pozornost zaměřena již na samotné onemocnění.

Smrtící choroba zvaná primární amébová meningoencefalitida bude nejprve popsána, stejně jako mechanismus, kterým nejčastěji dochází k nákaze. Dále budou zmíněny příznaky, které se k onemocnění pojí. Analyzovány budou klasické a konvenční metody pro diagnostiku této nemoci, stejně jako metody a postupy moderní. V poslední podkapitole bude zkoumáno, jaké existují v současné době léčebné postupy, v případě, že je nemoc jedinci diagnostikována. Jak již bylo zmíněno, přes značný pokrok v oblasti medicíny, je onemocnění PAM stále typické vysokou mortalitou pacientů.

2.1. Popis onemocnění

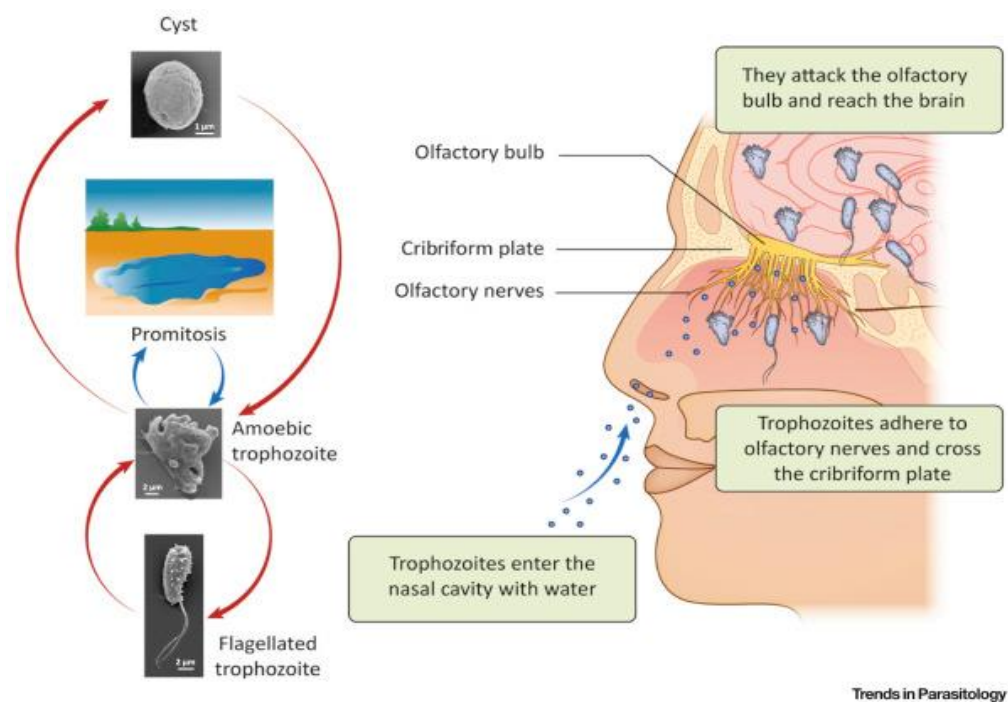
Primární amébová meningoencefalitida představuje hemoragicko-nekrotizující meningoencefalitidu, mezi jejíž příznaky patří: silná bolest hlavy, ztuhlost šíje, horečka mezi 38, 5 °C–41 °C, změna duševního stavu, výskyt záchvatů a kómatu. Je nutné dodat, že v drtivé většině onemocnění končí smrtí pacienta, úmrtnost i v současné době přesahuje 95 % (Dzikowiec et al., 2017). PAM provází silný zánět, často tvořený neutrofily, eozinofily, makrofágy a lymfocyty. Inkubační doba od kontaktu s parazitem *N. Fowleri* do rozvoje onemocnění se pohybuje od jednoho do 16 dnů. Nakažení mohou být mimo lidí i všichni další savci (Martínez, 1977).

K nákaze tímto onemocněním dochází nejčastěji vystavením se kontaminované vodě. Jak již bylo řečeno, *N. Fowleri* vyhledává především sladkovodní prostředí (jezera, rybníky, elektrárenské odpadní vody, termální prameny, ale i bazény a koupaliště), (Martínez, 1977). Jistou zajímavostí může být, že nákaza onemocněním PAM byla prokázána i z důvodu výplachu nosních dutin během očištění rituálu. V takových případech byla k výplachu využita

kontaminovaná voda, popřípadě nebyla řádně očištěna výplachová konvička (Watson 2011, Naqvi et al., 2016).

Muž na jihozápadě Floridy zemřel na počátku roku 2023 poté, co se nakazil vzácnou amébou, což podle státních zdravotnických úředníků bylo právě v důsledku praktik vyplachování dutin pomocí vody z vodovodního řádu (Treisman 2023).

K infekci *N. Fowleri* dochází tak, že améba v jakémkoliv svém stádiu proniká nejčastěji nosní dutinou do těla hostitele. Zde dochází k její přeměně v amébové stádium, což jí umožňuje dostat se skrze sliznici a podél čichového nervu přímo do mozku. V mozku vyvolává *N. Fowleri* meningoencefalitidu s rychlým cerebrálním edémem, což vede k cerebelárnímu kómatu a následné smrti (Martínez, 1977).



Obrázek 4: Cesta *N. Fowleri* coby patogenu do mozku svého hostitele⁴.

K zánětu nejdříve dochází v rámci čichového nervu. Čichové bulby vykazují silné krvácení a produkují zánětlivý exsudát. Odsud se zánět šíří do mozku pacienta, kde dochází k lýze mozkových buněk, přičemž améba nejčastěji útočí na hypotalamus a střední mozek (Visvesvara, 2013).

⁴ PINERO, JE, CHÁVEZ-MUNGIE, B, MOLINA, MO. 2019. Naegleria Fowleri. Op. cit.

2.2. Příznaky a rizikové faktory onemocnění

Již bylo zmíněno, že inkubační doba od kontaktu s parazitem *N. Fowleri* do rozvoje onemocnění se může pohybovat v rozmezí od jednoho do 16 dnů. Během této doby dochází k výskytu prvních příznaků (Visvesvara, 2013).

Počáteční příznaky zahrnují závažnou bolest hlavy a horečku (38,5 – 41 °C), dále nevolnost, zvracení a známky podráždění mozkových blan. Je pozoruhodné, že postižení čichových laloků může vést k poruchám čichu nebo chuti a může být nápadné na počátku i v době progresu onemocnění. U nemocného se také může vyskytnout zraková nestabilita. Pacient může pociťovat zmatenost, podrážděnost a může se chovat iracionálně. Tyto příznaky předchází upadnutí pacienta do mozkového kómatu (John, 1982).

Jako volně žijící améba se *N. Fowleri* vyskytuje v řekách, sladkovodních jezerech, kanálech, lázních, geotermálních pramenech, neupravených zásobárnách domácí vody či bazénech a koupalištích. Ve většině případů se PAM vyskytuje u mladých lidí, kteří byli v nedávné době vystaveni kontaktu s kontaminovanou vodou. Je až pozoruhodné, že případy PAM se takřka nevyskytují v rozvojových zemích, kde bují miliony dalších infekcí a není zde pozornost kladena na hygienu (Visvesvara, 2013).

Například v zemích, jako je Pákistán, mohou teploty dosahovat až 50 °C, zatímco teploty otevřených vodních ploch dosahují 30–35 °C. V Pákistánu je tradicí, že ve chvílích volna chodí miliony lidí k vodě, ať již ke sladkovodním kanálům, rybníkům či jezerům. Z průzkumů je známo, že se i v této krajině hojně *N. Fowleri* vyskytuje, což spolu s absencí informovanosti a kontrolních opatření, se špatnou zdravotnickou infrastrukturou a nedostupností účinných léků proti této nemoci, představuje pro tamní komunity velké zdravotní riziko (Siddiqui & Khan, 2014).

Onemocnění PAM je také úzce spojováno s „očistným“ mytím v rámci náboženských skupin. Zejména muslimové se modlí pětkrát denně. Omývání je prováděno před každou modlitbou za účelem očištění. Očištění zahrnuje mytí rukou, úst, obličeje, nosu, uší, paží a nohou. Mnoho jedinců si však při čištění nosu tlačí vodu násilně do nosních dírek, přestože to není povinností. I když toto omývání přináší pozoruhodné benefity pro lidské zdraví, proces může splnit svůj účel pouze tehdy, pokud jsou vodní plochy bez patogenních mikrobů, a jsou nekontaminované (Siddiqui & Khan, 2014).

Použití převařené nebo filtrované vody, nebo dokonce vody, která byla dezinfikována pomocí schválených koncentrací chlóru ve spojení s pečlivějším omýváním, značně minimalizuje riziko onemocnění PAM. Kromě toho je v mnoha rozvojových zemích hlavním problémem nedostatek vody a veřejnost je nucena skladovat vodu v nádržích i po dobu několika týdnů. Tato voda je následně používána pro běžnou spotřebu, což představuje hlavní rizikový faktor. Je proto naprosto nezbytné, aby byly zásobníky vody běžně čištěny a dezinfikovány (Siddiqui & Khan, 2014).

2.3. Diagnostika onemocnění

Klinické symptomy a známky infekce *N. Fowleri* se obvykle objevují během 2 až 8 dnů po nakažení, i když u některých jedinců byly symptomy pozorovány již během 24 hodin (Visvesvara et al., 2007).

Navzdory absenci specifických příznaků naznačujících infekci *N. Fowleri*, patří mezi nejčastější příznaky silná bolest hlavy, horečka, zimnice, pozitivní Brudzinského příznak (= vleže při pasivní flexi hlavy pacient flektuje dolní končetiny v kolenou), pozitivní Kernigův příznak (= pro bolest nebo tuhý odpor nelze provést extenzi v kolenou), fotofobie, zmatenost, záchvaty a možné kóma. Kromě toho byly v některých případech pozorovány abnormality srdečního rytmu a nekróza myokardu (Martínez, 1985).

Snad nejdůležitější je, že dochází ke zvyšování intrakraniálního tlaku a tlaku mozkomíšního moku. Výskyt těchto proměnných byl přímo propojen s následnou smrtí pacienta. U pacientů s infekcí *N. Fowleri* byly pozorovány tlaky v mozkomíšním moku o hodnotě až 600 mm H₂O, který by se měl za normálních okolností pohybovat do hodnoty 250 mm H₂O (Visvesvara et al., 2007).

Analýza mozkomíšního moku prokázala různé abnormality v barvě, od šedé v časných stádiích infekce, po červenou v pozdním stádiu onemocnění v důsledku významného nárůstu červených krvinek (Hebbar et al., 2005).

Další příznak, který lze zjistit z diagnostického vyšetření, představuje navýšení koncentrace polymorfonukleárních buněk (až na hodnotu 26 000 mm³), a také v přítomnost trofozoitů v mozkomíšním moku (Visvesvara et al., 2007). Magnetická rezonance mozku infikovaného pacienta často ukazuje abnormality v různých oblastech mozku, včetně středního mozku a subarachnoidálního prostoru (Martínez, 1985).

Hlavním problémem při léčbě této infekce i v současné době zůstává, že je onemocnění diagnostikováno pacientům až v pozdějších stádiích a v době, kdy je již infekce v pokročilém stádiu. To je způsobeno nejednoznačnými příznaky, kdy pacient povětšinou navštíví lékaře až v době, kdy je již schvácen vysokými teplotami a silnými bolestmi hlavy (Robinson et al., 2006).

Jako u každého závažného onemocnění, představuje i v případě onemocnění PAM včasná diagnóza základní kámen úspěšné léčby. Pokud je onemocnění detekováno v pokročilém nebo finálním stádiu, již povětšinou není ve schopnostech současné medicíny pacientovi efektivně pomoci (Wang et al., 2018).

V diagnostice tohoto onemocnění však existují v současné době efektivní metody, prostřednictvím kterých lze onemocnění úspěšně odhalit. Těchto metod existuje hned několik typů (Rocha-Azevedo et al., 2009, Visvesvara, 2010). Jedná se konkrétně o:

1) Vyšetření mozkomíšního moku

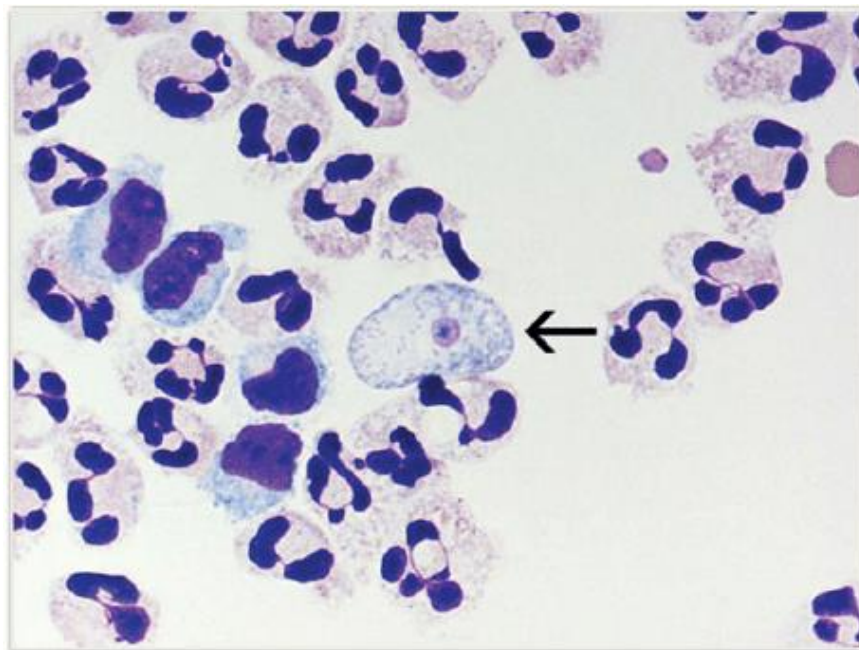
Diagnózu infekce *N. Fowleri* lze provést mikroskopickým vyšetřením čerstvého, nezmraženého, nechlazeného mozkomíšního moku. Čerstvě odstředěný sediment mozkomíšního moku může vykazovat aktivně se pohybující trofozoity *N. Fowleri* o rozměrech 15-30 μm , který se v sedimentu rychle pohybuje ($\sim 1 \mu\text{m/s}$) prostřednictvím svých pseudopodů, a to sinusovým pohybem v obecně lineárním dopředném směru (Rocha-Azevedo et al., 2009).

Mimo to může být *Naegleria* identifikována v kulturách mozkomíšního moku využitím hematoxylinu a eosinu, kyseliny jodové, trichromu, barviva Giemsa nebo Wright-Giemsa. Je třeba vyhnout se Gramovu barvení, protože by během tohoto procesu mohlo dojít ke zničení améb. Zabarvení mozkomíšního moku ukáže ameboidní trofozoity s morfologií typickou pro *Naegleria* (tj. jádro s velkým, centrálně umístěným a hustě zbarveným jadérkem). Pokud jsou v moku identifikovány améby, měla by být diagnóza PAM následně potvrzena polymerázovou řetězovou reakcí (tzv. testu PCR), (Visvesvara, 2010).

2) Vyšetření tkáně

Diagnózu lze také stanovit na základě mikroskopického vyšetření biopsií odstraněného vzorku mozkové tkáně. K biopsií odebrané tkáni mozku je následně přidáno barvivo hematoxylin a eosin, kyselina jodová, trichrom, Giemsa nebo Wright-Giemsa, díky nimž bude prokázána přítomnost trofozoitů s morfologií typickou pro *N. Fowleri* (Rocha-Azevedo et al., 2009).

Ameboidní trofozoité měří mezi 10-35 μm , ale když jsou zakulacení dosahují obvykle průměru kolem 10-15 μm . Cytoplazma buňky je granulovaná a obsahuje mnoho vakuol. Jediné jádro je velké a má velký, hustý karyozom. *N. Fowleri* ale v lidské tkáni nevytváří cystická stádia (Pugh & Levy, 2016).



Obrázek 5: Ameboidní trofozoité *N. Fowleri* v mikroskopickém vyšetření mozkové tkáně pacienta⁵.

⁵ CAPEWELL, LG, HARRIS, AM, YODER, MB. 2014. Diagnosis, Clinical Course, and Treatment of Primary Amoebic Meningoencephalitis in the United States, 1937–2013. Op. cit.

3) Imunohistochemické barvení

Imunohistochemické (IHC) barvení a nepřímé imunofluorescenční (IIF) barvení představují metody, které využívají protilátku specifickou pro *N. Fowleri* s následným mikroskopickým vyšetřením, které má za cíl identifikovat přítomnost *N. Fowleri* ve tkáni, která je fixovaná formalínem, popřípadě ve vzorku mozkomíšního moku (Rocha-Azevedo et al., 2009).

4) Serologické vyšetření

Sérologické testování krve pacienta na přítomnost *N. Fowleri* je realizováno využitím nepřímé imunofluorescenční protilátky (IFA). Prostřednictvím této látky je možné měřit množství protilátek v séru pacientů. Tato metoda má však pouze malou diagnostickou hodnotu, jelikož většina pacientů s PAM zemře dříve, než dojde ke kýžené imunitní odpovědi (Pugh & Levy, 2016).

5) Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Specifické molekulární nástroje mohou amplifikovat DNA z améb v rámci mozkomíšního moku nebo tkáně, a specificky tak identifikovat, zda jsou améby *N. Fowleri* v těchto vzorcích přítomny. Tato metoda byla již úspěšně provedena u některých pacientů, a to jak v případě mozkomíšního moku, tak i odebraného vzorku tkáně (Rocha-Azevedo et al., 2009). Typizaci izolátů lze provést, ale o populacích tohoto druhu je v současné době známo pouze málo informací na to, aby bylo možné tyto informace chápat v biologickém kontextu. Pro detekci a následnou identifikaci volně žijících amébových infekcí v klinických vzorcích je však výzkumy popisováno stále více technik, které jsou založeny na metodě PCR. Tyto postupy je však možné provést pouze v několika specializovaných referenčních diagnostických laboratořích (Pugh & Levy, 2016).

Ve Spojených státech amerických byla vyvinuta metoda PCR v reálném čase, prostřednictvím které lze zjistit přítomnost améb *N. Fowleri*, *Acanthamoeba spp.* a *Balamuthia mandrillaris* v rámci klinických vzorků (Visvesvara, 2010). Tento test používá specifické primery a sondy pro současnou identifikaci všech tří volně žijících améb. Kmeny nebo podtypy *N. Fowleri* lze sice pomocí této metody v rámci vzorků sledovat, ale o přirozených populacích v prostředí je známo pouze málo informací, což přirozeně ztěžuje interpretaci nálezů (Rocha-Azevedo et al., 2009).

6) Kultivace

Kultivační postup lze použít k identifikaci volně žijících améb v klinických a environmentálních vzorcích. Zahrnuje naočkování savčích buněčných kultur a monitorování cytopatogenity nebo růstu populací *E. coli*. Pro pěstování améb v rámci populace *E. coli* je vzorek přidán na plochu, ve které je přítomna populace bakterie *E. Coli*, která může následně sloužit jako zdroj potravy pro *N. Fowleri* (Rocha-Azevedo et al., 2009).

Počáteční screening je prováděn pomocí inkubací destičky, za současného využití vyšší teploty (okolo 42 °C), která usmrtí většinu volně žijících améb, zatímco přežijí termofilní améby, jako je *N. Fowleri*. Tento postup zobrazí stopy vytvořené amébami, které se pohybují po dané ploše a požírají přítomné bakterie (Pugh & Levy, 2016).

Pokud se na ploše nevyskytují žádné améby odolné vyšším teplotám, je to důkaz toho, že *N. Fowleri* není ve vzorku přítomna. Pokud jsou však na ploše vyšším teplotám odolné améby přítomny, podstoupí tyto améby další specifické testování, aby bylo zjištěno, zda se jedná přímo o druh *N. Fowleri*, jelikož není vyloučeno, že by zde mohly být přítomny i jiné, volně žijící, termofilní améby. Volně žijící vodní améby, které odolávají vyšším teplotám, by mohly být přítomny, ale žádná taková nezpůsobuje onemocnění PAM (Pugh & Levy, 2016).

Naeglerii lze specificky identifikovat v rámci kultur klinických vzorků využitím hematoxylinu a eosinu, kyseliny jodové, trichromu nebo specifických barviv Giemsa nebo Wright-Giemsa. Obarvené kultury pak mohou prokázat přítomnost trofozoitů s morfologií typickou pro *N. fowleri*, jak již bylo popsáno v předcházejících odstavcích. V kultuře mohou trofozoiti měřit i více než 40 μm . Negativní výsledek kultivace nevylučuje přítomnost volně žijících améb a je třeba provést další testy (Rocha-Azevedo et al., 2009).

2.4. Léčba onemocnění

Primární amébová meningoencefalitida (PAM) je v současné době léčena kombinací léků, jako je konkrétně amfotericin B, azithromycin, flukonazol, rifampin, miltefosin a dexametazon. Tyto léky jsou po diagnostice tohoto onemocnění používány, protože se obecně předpokládá, že jsou vůči amébě *N. Fowleri* efektivní. To je předpokládáno, jelikož právě kombinace těchto léčiv byla použita při léčbě pacientů, kteří tuto závažnou infekci v minulosti přežili (Kaminski, 2002).

Miltefosin představuje nejnovější druh v rámci těchto léků, a v laboratorních podmínkách prokázal aktivitu zabíjející volně žijící améby, včetně *N. Fowleri*. Miltefosin byl také úspěšně použit při léčbě pacientů infikovaných balamuthií a amébou *Acanthamoeba* (Aichelburg et al., 2008).

Ačkoli většina případů primární amébové meningoencefalitidy (PAM) způsobené infekcí *N. Fowleri* ve Spojených státech byla smrtelná (150 pacientů z celkových 154 nakažených v rámci USA do roku 2010 zemřelo), (Yoder et al., 2010), na území Severní Ameriky bylo zdokumentováno pět případů, kterých onemocnění přežilo. Jeden pacient přežil tuto nákazu roku 1978 ve Spojených státech amerických (Visvesvara et al., 2007), jeden v Mexiku roku 2003 (Vargas-Zepeda et al., 2005), dva další jedinci přežili nákazu ve Spojených státech amerických roku 2013 (Aichelburg et al., 2008), a jeden taktéž ve Spojených státech amerických roku 2016 (Gharpure et al., 2021).

V té době bylo odbornou společností zvažováno, že původní kmen *N. Fowleri*, který se v té době vyskytoval na území Spojených států amerických, byl pravděpodobně méně virulentní, nežli bylo do té doby obvyklé, což významně přispělo k zotavení nakažených jedinců. Tento původní kmen byl následně zkoumán v laboratorních podmínkách, a bylo zjištěno, že skutečně nezpůsobuje poškození buněk tak rychle, jako jiné kmeny. To opravdu naznačilo, že by mohl být méně virulentní nežli kmeny, které způsobovaly infekce do té doby (Aichelburg et al., 2008).

Po mnoha letech, kdy onemocnění způsobené amébou *Naegleria* ve Spojených státech amerických nepřežil žádný nakažený jedinec, během léta 2013 přežily tuto infekci dvě děti. První, 12leté dívce, bylo onemocnění PAM diagnostikováno zhruba 30 hodin po nákaze, a během 36 hodin byla zahájena doporučená léčba amfotericinem B, flukonazolem, rifampinem, azithromycinem a dexamethasonem. Dívce byl také podán v tu dobu teprve testovaný lék miltefosin (Gharpure et al., 2021).

Mimo farmakologickou léčbu, byla u dívky zahájena i jiná léčba, která sestávala z ochlazení jejího těla pod úroveň normální tělesné teploty (tzv. terapeutická hypotermie). Pacientka se zcela neurologicky zotavila a vrátila se do školy. Její uzdravení bylo přičítáno včasné diagnóze, a včasnému zahájení léčby včetně nového léku v podobě miltefosinu, a současně i navození hypotermie (Linam et al., 2015).

Druhým nakaženým dítětem byl v té době 8letý chlapec, který sice nákazu amébou přežil, avšak utrpěl trvalé poškození mozku. Byl sice také léčen amfotericinem B, flukonazolem, rifampinem, azithromycinem, miltefosinem a dexamethasonem, ale u něj bylo onemocnění diagnostikováno a léčba zahájena až několik dní poté, co se u něho začaly objevovat první příznaky. Stejně tak u tohoto chlapce nebylo využito ochlazení jeho těla pod úroveň normální tělesné teploty (Cope et al., 2016).

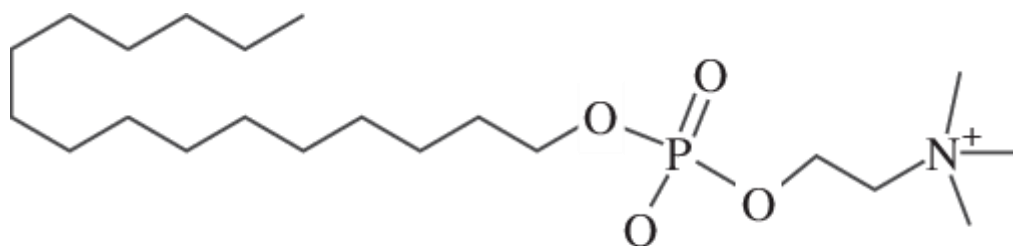
K přeživším onemocnění PAM byl roku 2016 zařazen i 16letý chlapec, který se tak stal teprve historicky čtvrtým přeživším této infekce na území Spojených států amerických. Infekce byla tomuto chlapci diagnostikována již během několika hodin poté, co vyhledal lékařskou pomoc. Následně byl léčen stejným postupem, jako předešlý chlapec. Tento pacient se však zcela úplně zotavil a mohl se tak navrátit ke svému předešlému standardnímu životu (Gharpure et al., 2021).

Jak lze vidět, úspěšná léčba infekce PAM tkví podle všeho především v co nejranější diagnostice. Pakliže je onemocnění odhaleno již několik hodin po nákaze, mají pacienti zvýšenou šanci na to, že tuto nemoc ve zdraví přežijí. Zajímavou metodou je i navození terapeutické hypotermie, která může souviset s tím, že se v případě *N. Fowleri* jedná spíše

o termofilní bakterii, která i v přirozených podmínkách vyhledává především teplejší vody ke svému životu (Gharpure et al., 2021).

Pozornost bakalářské práce bude ještě několik odstavců věnována nejnovějšímu léku, který je v boji proti infekci PAM zdá se efektivní. Tímto lékem je již zmíněný miltefosin. Jak již bylo zmíněno, tento lék byl roku 2013 podán dvěma dětským pacientům nakaženým onemocněním PAM, a oba tito pacienti svoji nemoc úspěšně porazili. Ovšem v prvním případě byl lék podán několik hodin po nákaze, a pacientka se mohla zcela v pořádku navrátit ke svému životu, v druhém případě byl však lék podán až několik dní po nákaze, a chlapec zůstal s doživotním poškozením mozku. Proto odborníci vyzdvihují, že lék je sice v boji proti této chorobě úspěšný, ale jeho úspěšnost závisí především na tom, v jaké době bude aplikován (Dorlo et al., 2016).

Chemicky je miltefosin fosfolipid s navázaným cholinem, tzv. alkyfosfocholin. Celková molekula je amfifilní, s polární oblastí hlavy fosfocholinu a alifatickým ocasem. Hlavní účinek miltefosinu spočívá v jeho inhibičním účinku vůči proteinkináze B. Tento mechanismus je prokázán, a proto byl miltefosin schválen mimo jiné i jako protirakovinné činidlo. Miltefosin však stále prochází studiiemi ke stanovení absolutní biologické dostupnosti u lidí. Prokázal příznivou (> 80 %) orální biologickou dostupnost u hlodavců a psů (Dorlo et al., 2016).



Miltefosine

Obrázek 6: Chemická struktura léku miltefosin⁶.

⁶ CHAZALET, MPS, BRAHIM, MB, MOYEC, LL. 2009. Chemical structure of miltefosin. Op. cit.

Roku 2023 se objevila další významná zpráva, a to, že mezinárodní tým parazitologů a medicínálních chemiků z centra BIOCEV vyvinul a úspěšně otestoval látku proti smrtícímu cizopasníkovi *Naegleria fowleri*. Nová látka, která je v současné době ve fázi testování, vyléčila primární amébovou meningoencefalitidu u nakažených laboratorních myší. Na vývoji léčebné látky spolupracovali významní čeští odborníci pracující v mnoha různých vědeckých oborech (Ženíšková et al., 2023).

„Navrhli jsme deriváty molekuly, které se řídí molekulárním mechanismem účinku se schopností dokonaleji procházet hematoencefalickou bariérou. Zdá se, že jsme jen pár kroků od objevu prvního účinného terapeutického zásahu proti této děsivé nemoci. Pro další vývoj je navíc důležité, že nebyla pozorována žádná toxicita související s léčivem“. Látka byla pojmenována MitoTam a tým, který ji vynalezl se domnívá, že se může jednat o látku, která bude efektivní i při léčbě dalších závažných onemocnění, jako je spavá nemoc, malárie nebo například rakoviny (Ženíšková et al., 2023).

3. Výskyt a prevalence onemocnění PAM

V rámci své poslední kapitoly se bude bakalářská práce věnovat svému hlavnímu tématu, kterým je výskyt a prevalence onemocnění PAM, které má na svědomí améba *N. Fowleri*. Bude podrobně zmapován případ nákazy na území České republiky, ke kterému konkrétně došlo v severočeském městě Ústí nad Labem, a to mezi léty 1962 a 1965.

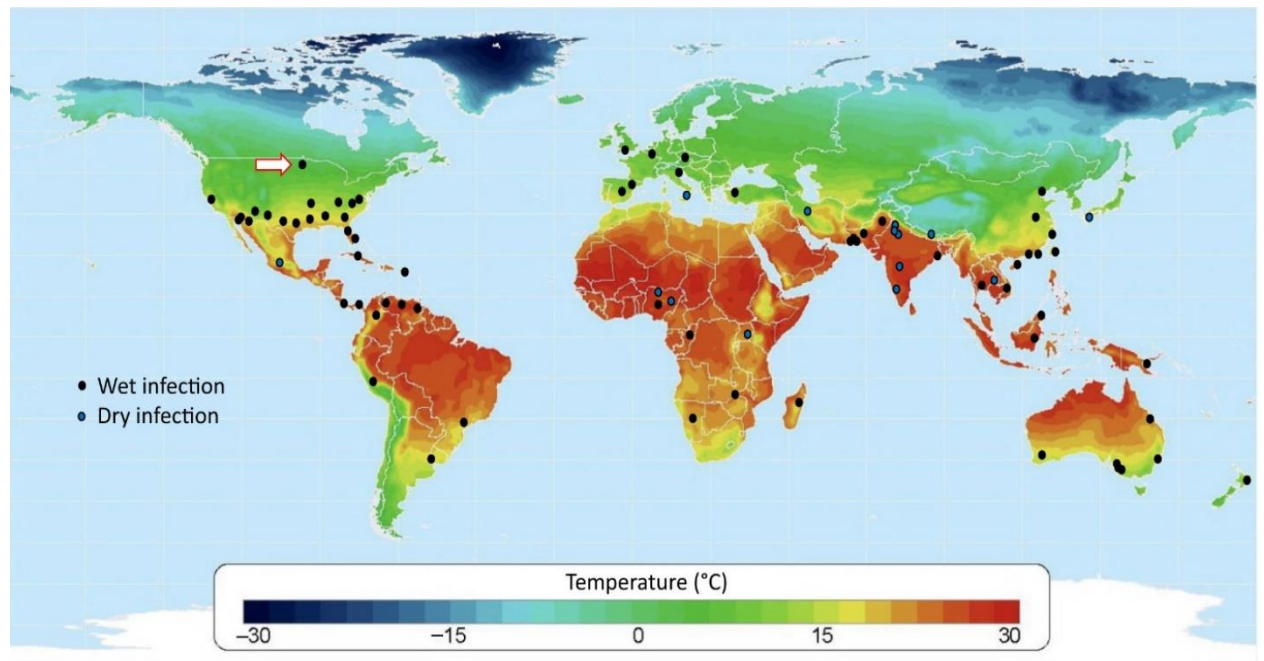
Celý tento incident, v důsledku, kterého vyhasl život hned 16 mladých lidí, bude mapován jak s využitím dobových článků, tak i odborných článků, které se jím zabíraly později. Nákaza onemocněním PAM v České republice je tragickým světovým unikátem, protože nikdy v historii lidstva nebyl zmapován případ, kdy by se tolik lidí nakazilo touto bakterií na jednom jediném místě, a v důsledku své nákazy nakonec i zemřelo. Je potřebné si uvědomit, že se incident odehrál v 60. letech 20. století, kdy byla diagnostika i léčba tohoto onemocnění pouze ve svých úplných začátcích, a v českém prostředí se o této chorobě všeobecně příliš mnoho informací nevědělo.

„Celosvětově bylo zatím potvrzeno kolem dvou set případů, ústecká epidemie z let 1962–1965 zůstává počtem obětí největší. Nové infekce PAM se vyskytují téměř každoročně v USA (dosud bylo registrováno 132 případů), řada případů byla pozorována v Austrálii, v Mexiku, ale i ve Francii, v Belgii, Velké Británii a dalších zemích“ (Novák 2014, s. 489). Co se celosvětové prevalence této choroby týče, lze vyvodit, že se jedná o poměrně vzácné onemocnění, kdy se každým rokem nákaza vyskytne u jedinců v řádu jednotek.

Při pročítání mnoha různých odborných vědeckých článků bylo také zjištěno, že místem, ve kterém se toto onemocnění často vyskytuje, je i Pákistán, ve kterém kupříkladu roku 2012 v důsledku nákazy zemřelo během několika měsíců hned 10 lidí. Všechny zmíněné osoby žily ve městě Karáčí, a pravidelně se koupaly v místní řece. Pitva následně potvrdila, že všechny oběti byly napadeny amébou *N. Fowleri* (ČTK, 2012).

Co se zvýšené pravděpodobnosti nákazy touto chorobou, potažmo améby, týče, pak lze mnohé vyvodit z ekologických nároků tohoto parazita. Jak již bylo předesíláno v předcházejících kapitolách, nákaza je nejčastěji tzv. mokrá, tudíž jedinci se améba dostane do těla ve vodním prostředí, kdy se jedinec koupe v jezerech, řekách nebo rybnících. Jedná-li se však o to, v jakých konkrétních oblastech existuje vyšší pravděpodobnost nákazy, a budou-li v úvahu vedeny místa, kde již k nákaze došlo, lze říct, že améba se vyskytuje na všech

světových kontinentech, kdy i na všech kontinentech, vyjma Antarktidy, došlo v nedávné lidské historii k nakažení lidí (Maciver et al., 2019).



Trends in Parasitology

Obrázek 7: Celosvětové případy výskytu onemocnění PAM⁷.

Jak lze ale z výše uvedeného grafického znázornění, viz Obr. 7, vyčíst, améba *N. fowleri* pro svůj život vyhledává spíše teplejší vody, a proto je nákaza, co se týče přírodních vodních zdrojů, pravděpodobnější v tropických, subtropických nebo mírných podmínkách. Pokud však k tomuto zjištění bude přičten fakt, že k mnohým nakažám došlo i v rámci umělého prostředí bazénů a vodních koupališť, nelze vyloučit žádnou světovou oblast, mimo oblasti vyloženě studené.

Z mapy je také jasné, že počtem nakažených osob, mohou být za zvláště rizikovou oblast považovány Spojené státy americké, severní oblasti Jižní Ameriky, jižní část střední Ameriky, Indie, Pákistán, Indonésie nebo jihovýchodní Asie.

⁷ MACIVER, SK, PINERO, JE, LORENZO-MORALES, J. 2020. Is *Naegleria fowleri* an Emerging Parasite? Op. cit.

3.1. Případ z ČR

Hlavním cílem této bakalářské práce je analyzovat incident nákazy amébou *Naegleria Fowleri* v Ústí nad Labem, při kterém zemřelo 16 lidí, a ke kterému došlo mezi léty 1962-1965. Počtem obětí se tak jedná nejenom o největší případ nákazy onemocněním PAM v České republice, ale i na celém světě. Tento incident je o to horší, že při něm umírali především mladí lidé a děti. Věk obětí se totiž pohyboval mezi 8 a 25 lety. Stejně tak je tento incident zajímavý i tím, že se nákaza šířila z vnitřního bazénu v rámci veřejně přístupného koupaliště v budově zvané Lázně Dr. Vrbenského.

V rámci této podkapitoly tak bude nejprve zmapován postup nákazy v Ústí nad Labem, ale pozornost bude věnována i samotné budově lázní.

3.1.1. Nákaza v Ústí nad Labem v letech 1962-1965

Nejprve bude pozornost věnována průběhu epidemie, na které je zajímavé to, že se uskutečnila čtyřech různých časových intervalech v rámci let 1962–1965. Jelikož však byli všechny oběti nakažené v rámci jednoho a toho samého místa a zdroj infekce zůstal u všech případů neměnný, je celý incident považován za jednu rekurentní epidemii (Kožíšek et al., 2019). Průběh epidemie vychází z dobového lékařského článku z Časopisu lékařů českých, který byl sepsán roku 1968.

Během měsíce srpna roku 1962 došlo v severočeském městě Ústí nad Labem ke smrti tří mladých osob. Všechny tyto osoby zemřely ze stejného důvodu, a to kvůli velice akutní a rychle probíhající hnisavé meningitidě a meningoencefalitidě, tedy kvůli zánětu mozku a mozkových blan. Mimo podobný věk a toho, že se dvě oběti spolu navzájem přátelily, nebyla prokázána žádná jiná souvislost mezi těmito třemi úmrtími. Nebylo nalezeno ani etiologické agens (Červa & Novák, 1968).

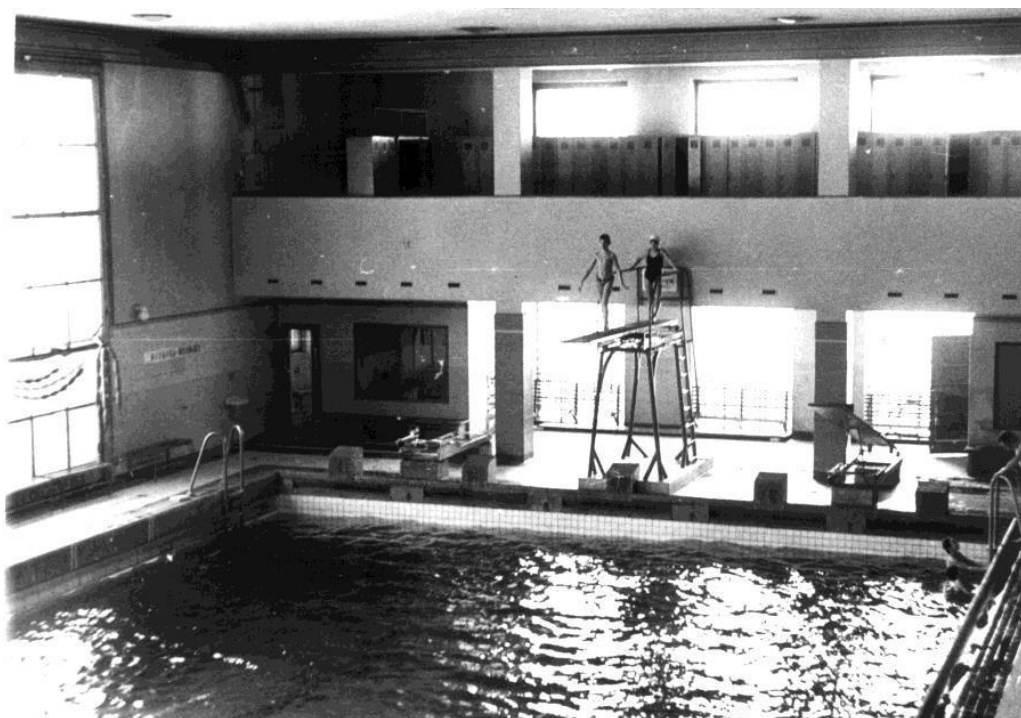
Následujícího roku 1963 došlo opět v letním měsíci, tentokrát červenci, k úmrtí dalších šesti osob nízkého věku. Všech těchto 6 osob zemřelo během 14 dnů. Ve čtyřech případech se jednalo o žákyně vzdělávacích institucí v jiných městech, které podnikaly v Ústí nad Labem pouze plavecký kurz. I zbývající dvě osoby před tím, než onemocněly, navštívily některý z plaveckých bazénu ve městě Ústí nad Labem (Červa & Novák, 1968).

Lékaři označili za nejvíce pravděpodobného původce této epidemie nějakou bakterii meningokokového původu, ačkoliv při testech nakažených osob nebyla tato bakterie zachycena, stejně jako nebyl nalezen žádný jiný prokazatelný zdroj nákazy. Nebylo však možné si nepovšimnout vzájemné podoby všech těchto úmrtí, i stejného načasování. Díky tomu se předpokládalo, že všechna úmrtí spolu souvisejí, a že k nákaze pravděpodobně došlo z vody v plaveckém bazénu, který všechny oběti před svojí nákazou navštívily. Začal tak být hledán konkrétní zdroj nákazy v plaveckých kurzech (Červa & Novák, 1968).

V Ústí nad Labem bylo v té době možné nalézt hned několik plaveckých bazénů. Ve dvou případech se jednalo o vnitřní bazény, které se nacházely v krytých lázních (Lázně Dr. Vrbenského a Městské lázně), a v dalších dvou případech se mohlo jednat i o dva venkovní nekryté bazény (Na Klíši a v Brné). Z jakého konkrétního bazénu však nákaza pocházela, nebylo roku 1963 zjištěno, a tak byla epidemiology navržena protiepidemická opatření, která se zaměřila na plavecké kurzy. Konkrétně bylo doporučováno, aby nedocházelo k fyzickému přetěžování účastníků těchto kurzů, jelikož právě zvýšená tělesná námaha byla považována za faktor, který by mohl onemocnění spouštět (Červa & Novák, 1968).

I přes zavedená epidemiologická opatření však i o rok později, konkrétně v říjnu roku 1964, došlo k další vlně „neznámé“ epidemie. Na přelomu října a listopadu roku 1964 došlo ke smrti dalších pěti osob, které opět spojoval nízký věk. Konkrétně se jednalo o tři děti školního věku a o dva posluchače pedagogických institutů. Dvě děti ze tří zemřelých nebydlely ve městě Ústí nad Labem, a toto město navštěvovaly pouze za účelem plaveckého kurzu, který se konal jednou za týden v bazénu ve Vrbenského lázních. Bylo vyloučeno, že by zemřelé děti, kdy navštívily jiné plavecké zařízení (Červa & Novák, 1968).

Toto zjištění velice napomohlo epidemiologům, kteří zpětně dokázali zjistit, že všichni zemřelí jedinci se před vypuknutím onemocnění skutečně koupali pouze ve Vrbenského lázních (viz Obr. 8). Tím bylo zjištěno, že nákaza musela propuknout právě v bazénu této budovy. Lázně byly epidemiology na několik měsíců uzavřeny, a během těchto měsíců došlo k řádnému vyčištění bazénu i celé budovy lázní. Také došlo ke zlepšení úpravy vody v bazénech, a především k tomu, že namísto vody z tamní řeky, začala být do bazénů dodávána voda z vodovodního řádu. Po karanténní době a důkladnému vyčištění všech prostor byla budova opět otevřena veřejnosti (Červa & Novák, 1968).



Obrázek 8: Dobová fotografie plaveckého bazénu, který byl označen za zdroj nákazy⁸.

I přes veškerou snahu však došlo i následující rok, konkrétně v září roku 1965, k úmrtí dalších dvou osob. Opět se jednalo o děti školního věku, které se v bazéně účastnily plaveckého kurzu. I tyto děti spojovala stejná diagnóza, která se vyskytla u všech předchozích zemřelých osob. Budova lázní tak byla pro veřejnost znovu uzavřena, a tentokrát na delší dobu, během které došlo k celkové rekonstrukci. Přesto se koncem září 1965 vyskytla další dvě úmrtí dětí z plaveckých kurzů na stejnou diagnózu. Lázně pak byly pro veřejnost uzavřeny na delší dobu, během které prošel bazén a technologie úpravy rekonstrukcí (Červa & Novák, 1968, Novák 2014).

Po roce 1965 již nedošlo v Ústí nad Labem k výskytu žádných podobných úmrtí, a tím byla celá epidemie s neznámým pachatelem uzavřena. Dohromady během let 1962-1965 zemřelo 16 osob ve věku od 8 do 25 let. V 11 případech se jednalo o děti účastnící se plaveckého kurzu, ve 2 případech o osoby z plaveckého tréninku, ve 2 případech o osoby, které bazén navštěvovaly rekreačně a v 1 zbylém případě o mladou instruktorku plavání. Ačkoliv nebyla v roce 1965 známa konkrétní příčina nákazy, vědělo se, že zdrojem nákazy je voda, a také to, že se nejedná o onemocnění, které by bylo přenositelné kontaktem mezi osobami. Většina nakažených osob se totiž ani spolu navzájem neznala (Kožíšek et al., 2019).

⁸ KOŽÍŠEK, F, RYCHLÍKOVÁ, E, PUMANN, P. 2019. 16 obětí a 16 let do objasnění případu. Op. cit., s. 54.

Souhrnný přehled obětí s časovými souslednostmi nákazy, onemocnění a úmrtí je uveden níže, viz Tabulka 1.

Tabulka 1: Základní údaje osob, u kterých byl prokázán výskyt amébové meningoencefalitidy v Ústí nad Labem⁹.

Případ číslo	Pohlaví	Věk	Bydliště	Začátek onemocnění	Datum hospitalizace	Datum úmrtí	Pozdější nález améb
1	M	12	Ústí n. Lab.	7. 8. 1962	9. 8.	9. 8.	+
2	Ž	15	Ústí n. Lab.	20. 8. 1962	23. 8.	23. 8.	+
3	M	16	Ústí n. Lab.	1. 9. 1962	2. 9.	3. 9.	+
4	M	13	Neštědvice	26. 6. 1963	29. 6.	30. 6.	+
5	Ž	16	Vejprty	2. 7. 1963	5. 7.	8. 7.	+
6	Ž	16	Litoměřice	3. 7. 1963	6. 7.	9. 7.	+
7	Ž	25	Praha	6. 7. 1963	7. 7.	9. 7.	+
8	Ž	18	Nymburk	8. 7. 1963	8. 7.	11. 7.	+
9	Ž	8	Rakovník	11. 7. 1963	12. 7.	13. 7.	+
10	M	20	Liberec	31. 10. 1964	1. 11.	9. 11.	+
11	Ž	20	Ústí n. Lab.	31. 10. 1964	2. 11.	3. 11.	+
12	M	13	Litoměřice	8. 11. 1964	9. 11.	11. 11.	+
13	Ž	14	Roudnice	8. 11. 1964	12. 11.	14. 11.	+
14	Ž	10	Ústí n. Lab.	6. 11. 1964	7. 11.	13. 11.	+
15	Ž	15	Vodochody	30. 9. 1965	1. 10.	4. 10.	+
16	M	12	Ústí n. Lab.	29. 9. 1965	30. 9.	1. 10.	+

Ačkoliv k výskytu nově nakaženého jedince již po rekonstrukci lázní Dr. Vrbenského nedošlo, epidemiologové stále nevěděli, jaký patogen za nákazou a úmrtím 16 osob mladého věku stojí. Obávali se, že pokud nebude konkrétní příčina odhalena, může velice lehce dojít k opakování scénáře a ke smrti dalších osob. Z toho důvodu stále intenzivně pátrali po konkrétním zdroji nemoci (Novák, 2014, Kožíšek et al., 2019).

Jak již bylo řečeno, v tu dobu epidemiologové věděli, že zdrojem nákazy je voda, a že se nejedná o onemocnění, které by bylo přenositelné kontaktem osob. Stejně tak oběti spojovaly i samotné příznaky a průběh nemoci. Klinický obraz průběhu nemoci odpovídal akutní meningitidě a meningoencefalitidě. Stejně tak bylo zjištěno, že doba inkubace této choroby se pohybuje od 4 do 7 dní. Ke smrti nakažených pak docházelo zhruba 2-7 dní poté, co došlo k výskytu prvních příznaků (Kožíšek et al., 2019).

⁹ KOŽÍŠEK, F, RYCHLÍKOVÁ, E, PUMANN, P. 2019. 16 obětí a 16 let do objasnění případu. Op. cit., s. 54.

U všech hospitalizovaných osob byly samozřejmě provedeny nejrůznější testy. Realizovaná laboratorní vyšetření krve sice poukázala na bakteriální hnisavou meningitidu, avšak během samotného bakteriologického vyšetření nebyl výskyt meningokoka prokázán. Bakteriologické testy byly několikrát opakovány, a to věhlasnými a zkušenými bakteriology, avšak výsledek zůstával neměnný. Na to, že původcem nebudou bakterie také poukázalo to, že nemocní nikterak neodpovídali na medikaci sulfonamidy a antibiotiky (penicilin, tetracyklin, oxytetracyklin, chlortetracyklin, oleandomycin, chloromycetin). Jedná se totiž o léky, které jsou primárně funkční právě vůči bakteriím (Červa & Novák, 1968).

Jelikož nebyl znám důvod úmrtí, byly zemřelé osoby následně vyšetřovány i patologicky. Toto vyšetření však poukázalo na to, že z hlediska makroskopického ani mikroskopického nebyly na tělech obětí nalezeny žádné významné rozdíly od klasické bakteriální meningitidy. Když však byly oběti *post mortem* opětovně zkoumány na přítomnost hlavních bakterií, které způsobují meningitidu (meningokok, pneumokok nebo hemofilus), byla jejich přítomnost opět vyvrácena (Červa & Novák, 1968).

Neznámá epidemie byla v té době intenzivně zkoumána skupinou odborníků, kteří byli zaměstnáni v rámci Ústavu epidemiologie a mikrobiologie (ÚEM, který je v současné době známý jako Centrum epidemiologie a mikrobiologie Státního zdravotního ústavu v Praze). Skupina odborníků byla vedena doc. MUDr. Bělou Vysokou-Buriánovou, CSc. a prof. MUDr. Karlem Raškou, DrSc. Touto skupinou také byla zformulována i závěrečná zpráva o této epidemii, v rámci které byla za původce označena bakterie *Mima polymorpha*, a za hlavního spouštěče onemocnění zde byl označen silný fyzický stres, který oběti zažívaly během plaveckého kurzu. V dokumentu také bylo zmíněno, že bakterie byla v těle obětí skutečně nalezena, avšak v současné době již lze předpokládat, že tato bakterie se na těla obětí dostala až kvůli sekundárnímu znečištění (Novák 2014).

Závěrečnou zprávou byla celá kauza z Ústí nad Labem uzavřena. V rámci zprávy však byl za příčinu označen nesprávný patogen. K dalšímu zásadnímu milníku v rámci celé této kauzy došlo až koncem roku 1967. O smrtící epidemii v Ústí nad Labem se totiž právě v tuto dobu doslechl L. Červa, který byl parazitologem z Vojenského ústavu hygieny, epidemiologie a mikrobiologie v Praze. Ten četl vědecké články vydané v letech 1965 a 1966, ve kterých byly poprvé popsány případy meningoencefalitidy, která se vyskytla u člověka, a která byla podle autorů článků způsobená amébami rodu *Hartmannella* nebo *Acanthamoeba*. Bylo zde navíc zmíněno, že k nákaze dochází nejčastěji během koupání v přirozených vodních zdrojích, a to během letních měsíců (Butt, 1966).

Již zmiňovaný parazitolog L. Červa tak začal nabývat podezření, že by za zvláštní smrtící epidemii v Ústí nad Labem, mohla ve skutečnosti stát améba. S tímto podezřením se obrátil na významného epidemiologa té doby, MUDr. K. Nováka, který se na vyšetřování epidemie na severu Čech osobně podílel. Novák domluvil Červovi návštěvu patologie v nemocnicích v Teplicích, Ústí n. L. a Liberci, ve kterých probíhaly pitvy zemřelých osob, a ve kterých byly i roku 1968 uchovávány vzorky mozkových tkání a míšní tekutiny všech obětí (Červa & Novák, 1968, Novák, 2014).

Histologické vyšetření všech dostupných vzorků skutečně prokázalo přítomnost améb, které svojí morfologií odpovídaly amébám skupiny *limax*. Tyto útvary histologové při prvním vyšetření považovali za bílé krvinky. Nesprávné určení bylo způsobeno tím, že histologové neměli s amébami doposud žádné zkušenosti. Histologické vyšetření provedené Červou se však týkalo vzorků, které již několik let ležely zafixované, a proto nebylo možné určit konkrétní druh améby, ani její virulenci nebo patogenitu (Kožíšek et al., 2019).

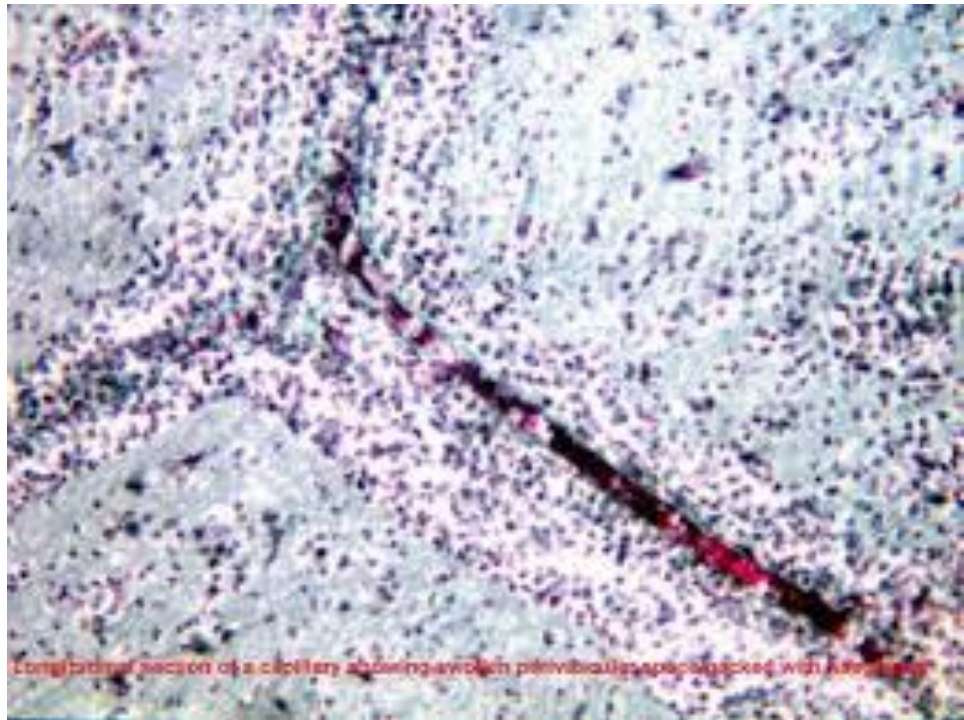
Stejně tak nebylo možné v roce 1968 ani přesně stanovit, jak dochází k nákaze jedinců skrze vodu. K tomu napomohly následné pokusy na zvířatech, které poukázaly na to, že k nákaze dochází skrze nosní dutinu (Novák, 2014). Tento model je podporován i v současné době. Pokud je hlava ponořena prudce pod vodní hladinu, k čemuž běžně dochází během plaveckého výcviku, vniká voda infikovaná amébami do nosu, odkud se již patogeny dostávají skrze čichové nervy do mozku (Kožíšek et al., 2019).

Poté, co byla odhalena přesná příčina epidemie v Ústí nad Labem, docházelo v pravidelných intervalech k rozboru kvality vody v rámci dříve kontaminovaného bazénu. Vyšetření vody bylo cíleno na odhalení přítomnosti améb. Výsledky těchto vyšetření byly vždy neměnné, améby se v rámci tohoto bazénu vyskytovaly neustále, avšak nebyly zde nalezeny druhy, které byly považovány za patogenní. To se však změnilo roku 1977, kdy byly při další rutinní kontrole v tamní vodě nalezeny opět améby skupiny *limax*, které rostou při teplotě 42°C. V do té doby běžných rodech améb (*Acanthamoeba*, *Flabellula*, *Hartmanella* a *Vahlkampfia*) byly tak poprvé objeveny i améby z rodu *Naegleria*, (Novák, 2014, Kožíšek et al., 2019).

Podrobnější laboratorní testy následně prokázaly, že se jedná o konkrétní druh améb, zvaný *Naegleria Fowleri*, který byl již v té době považován za virulentní. Tyto améby byly posléze nalezené hned v několika místech v rámci plaveckého bazénu i v rámci recirkulačního systému. V průměru bylo jejich množství stanoveno na 80 améb v rámci 1 litru vody (Kadlec et al., 1979).

Plavecký bazén tak musel být znovu okamžitě uzavřen před veřejností, jelikož by jinak bylo dost pravděpodobné, že dojde k opětovné nákaze, a ke vzniku epidemie. Na počátku roku 1978 byl vnitřní bazén, ve kterém byly améby nalezeny, zcela vypuštěn. Epidemiologové si kladli za cíl objevit rezervoár virulentních améb rodu *N. Fowleri* (Kadlec et al., 1990).

Rezervoár byl později skutečně nalezen, a to konkrétně v dutinách a spárách dlaždic v čelní stěně hluboké části bazénu (viz Obr. 9). Jelikož byl původní rozměr bazénu větší nežli požadovaných 25 metrů, byla do bazénu vsazena tzv. Moniérova stěna, kterou bylo dosaženo požadované délky 25 metrů. Těchto rozměrů by totiž měl dosahovat, aby mohl být označen jako bazén určený pro závodní plavání (Kadlec et al., 1990).



Obrázek 9: Spáry kachliček a nalezení rezervoáru améb *N. Fowleri*¹⁰.

Stěna plaveckého bazénu tak byla tvořena zhruba pěticentimetrovou vrstvou betonu, která byla následně vyztužena železnými pruty a drátěným pletivem, a navenek byl tento prostor obložen kachlovými dlaždicemi (Kadlec et al., 1990).

¹⁰ KOŽÍŠEK, F, RYCHLÍKOVÁ, E, PUMANN, P. 2019. 16 obětí a 16 let do objasnění případu. Op. cit., s. 54.

Díky opotřebením, ke kterému došlo časem, však došlo k mechanickému narušení izolační vrstvy, která se vyskytovala mezi samotnou vanou bazénu a vnitřním obkladem. Do vzniklého prostoru začala časem skrze štěrbinu, popřípadě skrze mikroskopické póry v již zmíněné Moniérově stěně, prosakovat voda z plaveckého bazénu, která pocházela z vedle tekoucí vody, tedy z přirozeného vodního zdroje. Tím, že se voda v prostoru začala kumulovat, docházelo k rozšiřování tohoto prostoru. V okamžiku, kdy byl prostor nalezen, dosahoval šířky zhruba 10 cm (Kadlec et al., 1990).

Tento prostor je v rámci textu zmiňován z toho důvodu, že právě v něm docházelo postupem let k hromadění organického nánosů pocházejícího z řeky. V tomto organickém materiálu byla nalezena také rozsáhlá populace patogenních améb rodu *Naegleria*. Růst améb byl v tomto prostředí podporován nejenom nahromaděným organickým materiálem, ale i tím, že do štěrbin se dostávalo pouze minimální množství dezinfekčních prostředků. Stejně tak zde panovala i ideální teplota, která se pohybovala mezi 27–30 °C. Jednotlivé améby pak byly z této štěrbinu pravidelně vyplavovány, a to skrze praskliny v již zmiňované Moniérově stěně. Náhodné také nebylo, že k vyplavování docházelo vždy při plaveckých závodech, jelikož právě při nich docházelo k navýšování vodní hladiny plaveckého bazénu, a to až o 40 cm. Po ukončení závodů byla vodní hladina opět snížena na normální hodnoty (Kadlec et al., 1979, Kadlec et al., 1980).

Během vyšetřování, ke kterému došlo v letech 1977 a 1978, bylo v rámci tohoto jednoho plaveckého bazénu izolováno na 23 kmenů améb *Naegleria fowleri*. Z drtivé části se navíc jednalo o druhy, které byly považovány za vysoce virulentní. Améby byly nalezeny v mnohých místech plaveckého bazénu, ale i v rámci cirkulačního systému. Již zmíněný objevený rezervoár, který byl lokalizován v čelní stěně bazénu, obsahoval až 17 jednotlivých kmenů virulentních améb (Kadlec et al., 1979, Kadlec et al., 1980).

Vědci, kteří se na tomto vyšetřování podíleli, byli toho názoru, že se jedná o stejné améby, které způsobily epidemii v letech 1962-1965. Améby zde podle nich přežily. Tomu však odporovalo to, že od roku 1965 do 1977 nedošlo k výskytu žádného dalšího nakaženého jedince. Na to konto vědci argumentovali, že k nákaze nedošlo pouze z toho důvodu, že nedošlo k souhře všech potřebných faktorů, které jsou zapotřebí k vyplavení améb z rezervoáru. Za tyto faktory byl považován kupříkladu vysoký počet améb nebo nízký obsah dezinfekčních prostředků (Kadlec et al., 1979, Kadlec et al., 1980).

Celá epidemie v Ústí nad Labem měla zcela zásadní dopad nejenom na výzkum améb v rámci českého vědeckého prostředí, ale značný ohlas měla tato událost i v zahraničí. Epidemie v Ústí nad Labem totiž představovala první lidské spontánní mozkové amébiázy zachycené na území Evropy, a současně se jednalo o mimořádný epidemický výskyt, který nebyl ještě do současné doby překonán. Ve většině případů nákazy PAM se totiž do té doby jednalo spíše o ojedinělé případy, které se týkaly jedné, popřípadě dvou osob. Mimořádné na této události také bylo, že se nejednalo o nákazu z vody přírodní, ale o nákazu v rámci sportovního vnitřního plaveckého bazénu, ve kterém je voda temperována (Kadlec, 2014).

Z těchto všech důvodů byl tento incident ihned publikován v mnoha světových vědeckých časopisech, jako je článek v rámci německého časopisu *Münchener medizinische Wochenschrift* (Červa et al., 1968), amerického *American Journal of Epidemiology* (Červa et al., 1968) a *Science* (Červa & Novák, 1968). Tyto publikace byly následně velice často citovány jinými články (Kožíšek et al., 2019). V okamžiku, kdy byl zjištěn i konkrétní rezervoár améb v rámci plaveckého bazénu, opět došlo k hojnému výskytu dalších článků, kupříkladu v rámci vědeckého časopisu *Science* (Kadlec et al., 1978) nebo *Journal of Protozoology* (Kadlec et al., 1978).

Český případ se stal do značné míry důležitý i pro další evropské parazitology. Konkrétně česká epidemie v Ústí nad Labem posloužila belgickým parazitologům, kterým se právě díky českým zkušenostem podařilo roku 1970 odhalit v Antverpách příčinu tří případů úmrtí malých dětí ve věku 11 až 14 let. Tři děti zemřely v důsledku onemocnění PAM, a nakazily se rovněž v rámci plaveckého bazénu (Jadin et al., 1971).

3.1.2. Lázeňská budova a opatření

K výskytu epidemie došlo, jak bylo dříve řečeno, v rámci vnitřního plaveckého bazénu, který se vyskytoval v Lázních dr. Vrbenského ve městě v Ústí nad Labem, v konkrétní čtvrti Střekov. Lázeňská budova byla dostavena roku 1931, a původně byla pojmenována jako *Johann Schicht Bad*. Původní jméno vycházelo ze jména hlavního investora výstavby, kterým byla ústecká drogisticko-potravinářská firma Georg Schicht A. G. Firma tento prostor nechala postavit původně z důvodu, aby svým zaměstnancům umožnila rekreaci v podobě plavání (Kadlec et al., 1979).



Obrázek 10: Lázně dr. Vrbenského ve městě v Ústí nad Labem (původně Johann Schicht Bad)¹¹.

Po ukončení druhé světové války došlo ke znárodnění lázeňské budovy tehdejším režimem, a k jejímu přejmenování na Lázně Dr. Vrbenského, kdy B. Vrbenský představoval významného politika První republiky. Za komunistického režimu začala lázeňská budova sloužit k rekreačním i sportovním účelům (Kadlec et al., 1979).

Přestože bylo do vybudování lázní investováno velké množství peněz, a celá budova byla vybavena nejkvalitnějšími a nejmodernějšími technologiemi, technologie úpravy vody a recirkulace vody v rámci plaveckého bazénu na počátku 60. let fungovala obdobným způsobem jako ve 30. letech. Od vybudování lázní do 60. let 20. století tak nedošlo ke větším změnám v rámci používaných technologií. Pitná voda byla v rámci lázeňské budovy přítomna pouze v pítkách, sprchách a rozprašovačích, které fungovaly v budově v teplých letních měsících jako ochlazování. Pro všechny další účely byla využívána voda z nedaleko tekoucí řeky Labe. Tato voda byla sice upravena a ošetřena, ale pouze tak, jak umožňovaly tehdejší technologie (Maier, 1931).

¹¹ ARKIVI-BILDAGENTUR. 2016. Schreckenstein Aussig Stadt, Das Johann Schicht Bad. Op. cit.

Voda byla nejprve nahrubo filtrována a následně byla umístěna do usazovací nádrže o objemu 120 m³. V této obří nádobě byla voda míchána po dobu 2,5 hodin za využití síranu hlinitého, díky kterému bylo odstraněno velké množství organických látek. Z nádrže voda následně vytékala na štěrkové a pískové filtry, které dosahovaly plochy 12 m². Z filtrů voda tekla do nádrže, kde docházelo k dezinfekci vody prostřednictvím chloru, mědi a stříbra. V poslední etapě byla voda čerpána z této nádrže do dvou nadzemních zásobníků vody, které se od sebe lišily tím, zda je v nich teplá nebo studená voda (Maier, 1931).

Voda v rámci plaveckého bazénu neustále cirkulovala, což znamenalo, že při rychlosti recirkulace 70 m³ za hodinu došlo k obměně vody v bazénu až třikrát denně. Okruh sestával z vlasového filtru, aerace (při které voda ve formě deště padala na pískový filtr) a filtrace. Z okruhu voda ještě směřovala směrem do nádrže na čistou vodu, kde opět docházelo k jejímu dezinfikování. Až 10 % vody v rámci plaveckého bazénu bylo za jeden den nahrazeno upravenou vodou z řeky Labe (Maier 1931). Do samotného prostoru bazénu voda přitékala skrze 4 nátokové hlavice, které byly lokalizovány na dně bazénu, a to v části přední čelní stěny na mělké oblasti. Naopak voda z bazénu vytékala skrze odtokový žlab, který byl umístěn na dně bazénu, a to v nejhlubší oblasti (Maier, 1931, Červa, 1971).

V celkovém měřítku plavecký bazén dosahoval rozměrů 12x25 metrů a hloubka se zde pohybovala od 2 do 4 metrů. Celkový objem vody v bazénu pak činil 530 m³ (Červa, 1971). V 60. letech 20. století, kdy došlo k výskytu epidemie, byla voda v plaveckém bazénu temperována na teplotu od 22–24 °C (Červa, 1971). Pokud se však v plaveckém bazénu odehrávalo závodní plavání, pak byla teplota navyšována na teplotu 25–27 °C (Kadlec et al., 1980).

Dobový tisk se epidemiemi zabíral ve velkém množství. Lze z něj však kupříkladu vyčíst, že v prvních dvou vlnách epidemie (roku 1962 a 1963) byla sice lázeňská budova pro veřejnost uzavřena, ale nedošlo během těchto uzavírek k větším zásahům ze strany zaměstnanců lázní. Plavecký bazén prý nebyl během prvních dvou incidentů nikterak důkladněji vyčištěn ani sanován. K tomu došlo až při třetí vlně epidemie v roce 1964, kdy již bylo odborníky skutečně potvrzeno, že právě plavecký bazén v budově těchto lázní je zdrojem infekce. Během roku 1964 tak došlo podle médií ke „zlepšení úpravy vody pro bazén“ (Červa & Novák, 1968) a pro naplnění plaveckého bazénu začala být využívána již pouze voda z vodovodního řádu (Novák, 2014).

Poté, co se onemocnění vyskytlo i napočtvrté, konkrétně v roce 1965, došlo k rozsáhlejší rekonstrukci plaveckého bazénu. Rekonstrukcí prošla kupříkladu hydraulická technologie plaveckého bazénu i technologie, která se týkala úpravy vody. Následně byl také zaveden i nový systém pro úpravu vody i přístup k péči o prostředí plaveckého bazénu. V okamžiku, kdy byl vědci popsán konkrétní patogen, který způsobil epidemii, byla voda z plaveckého bazénu, z jednotlivých nádrží a filtrů důsledně prozkoumána, a zjišťovalo se, zda obsahuje améby. Podrobná analýza vody v bazénu byla realizována pravidelně, a to od roku 1967 do roku 1969. V této době byla sice ve vodě zjištěna přítomnost různých améb, avšak nejednalo se o druhy, které by byly schopné způsobit onemocnění. To, že jsou získané améby nevirulentní bylo zjištěno díky pokusům na laboratorních zvířatech (Červa, 1971).

Celkem bylo ve vzorcích vody nalezeno 11 již známých a 22 neznámých druhů améb. Nejčastěji byly ve vodě popisovány hartmanelly (konkrétně *H. vermiformis*, *H. limacoides* nebo *H. exudans*), z rodu *Acanthamoeba* se ve vodě vyskytovaly v největším množství *A. polyphaga* nebo *A. castellanii*. Další popsané rody améb, kupříkladu *Vahlkampfia*, *Naegleria*, *Flabellula* a *Hyalodiscus*, byly ve vzorcích popsány pouze výjimečně. Co se konkrétní lokace v plaveckém bazénu týče, nejčastěji se améby nacházely u dna nebo v rozích bazénu, popřípadě i na schodech, které do bazénu vedly, popřípadě byla větší koncentrace améb nalezena i na filtrech. V jednom litru vody v tomto plaveckém bazénu byly nalezeny stovky až tisíce jednotlivých améb (Červa, 1971).

Od provedené rekonstrukce plaveckého bazénu, ke které došlo po roce 1965, již k výskytu žádného onemocnění PAM v Ústí nad Labem nedošlo (Novák, 2014). Aby se incident nemohl již nikdy opakovat, byla přijata různá opatření. Kupříkladu každých 7 týdnů dochází k celkové výměně vody v bazénu, denně je obměněno zhruba 60 m³ vody, což odpovídá 10 % celkového množství vody v bazénu. Veškerá voda, která přichází do bazénu, prochází třikrát recirkulací a skrze pískové filtry. Upraven byl i nátok vody do plaveckého bazénu. Každé ráno před tím, než je bazén otevřen, dochází ke stěru usazenin ze dna bazénu. Stejně tak je zvýšená pozornost kladena i na celkový úklid všech ostatních prostor. pH vody je udržováno na hodnotě od 7,4 do 7,6, a hladina chloru je udržována na úrovni 0,3 mg/l. Teplota vody v bazénu je udržována na 22–24 °C (Červa, 1971).

Pro Lázně Dr. Vrbenského se již od 90. let nedaří najít nové využití. Různé soukromé podniky, které se staly majiteli komplexu za posledních 30 let, neměly na opravu budovy ve stylu abstrahovaného neoklasicismu finanční zdroje, anebo sílu. To se týká i současného majitele, firmy Power Get, která lázně odkoupila i s vedlejší tělocvičnou. Sportovní halu zrekonstruovala, na opravu lázní ale chybí finance. Roku 2018 firma Power Get oznámila úmysl

budovu lázní prodat. O koupi se začalo zajímat i samotné město Ústí nad Labem, které o budovu projevilo zájem již dříve (Hrouda 2019).

Závěr

Cílem bakalářské práce s názvem „*Naegleria Fowleri*“ bylo popsat parazita vyskytujícího ve vodním prostředí, a stejně tak i závažné onemocnění, které může tento parazit v lidském těle způsobovat. Ačkoliv se jedná o chorobu vzácného výskytu, většina napadených do několika dní umírá. Tento konkrétní patogenní parazit nebyl vybrán náhodou, jelikož k největší epidemii v rámci celého světa došlo mezi léty 1962-1965 v Ústí nad Labem, kdy v důsledku nákazy touto chorobou zemřelo 16 mladých lidí, kteří se shodně nakazili v plaveckém bazénu.

Améba *N. Fowleri* byla objevena dvěma vědci, Dr. Fowlerem a Dr. Carterem v Austrálii. Popsána byla jako původce onemocnění *primární amébová meningoencefalitida* (PAM). Jedná se o patogenní druh améby, který se může vyskytovat ve třech různých stádiích (ve stádiu améby, stádium opatřené bičíky nebo stadium ve formě cysty). *N. Fowleri* se živí požíváním bakterií ve volné přírodě, a to jak na zemském povrchu, tak i ve vodním prostředí. Při pohybu ve vodě se améba nachází v bičíkatém stádiu a využívá pro pohyb povrchového napětí na hladině vody. Toto stádium je však schopné navrátit se opět v amébové stádium, když se vyskytuje na suché zemi.

Jedná se tedy o volně žijící amébu, která se vyskytuje v různých prostředích včetně půdy, vody a vzduchu. Byla objevena na všech světových kontinentech vyjma Antarktidy. *N. Fowleri* je široce rozšířena především ve sladkovodních jezerech. Populace ve třech z pěti zkoumaných jezerech ve Spojených státech amerických běžně dosahovaly úrovně jedné améby na 25 ml testované vody během horkých letních měsíců. *N. Fowleri* totiž svědčí vyšší teploty, ideálně ty, které se pohybují od 37 stupňů, ale jsou bez problému schopné snášet i teploty do 45 stupňů.

N. Fowleri se však nevyskytuje pouze ve sladkovodních jezerech nebo u výpustí elektráren. Bazénové vody v Mexiku vykazovaly prevalenci této patogenní améby až v 17 % testovaných bazénů. A pokud se améby dostanou do živého organismu, mění se v patogeny, které jsou schopné svého hostitele usmrtit. Primární amébová meningoencefalitida (PAM) představuje hemoragicko-nekrotizující meningoencefalitidu, mezi jejíž příznaky patří: silná bolest hlavy, ztuhlost šíje, horečka mezi 38,5°C – 41°C, změna duševního stavu, výskyt záchvatů a kómatu. Je nutné dodat, že v drtivé většině onemocnění končí smrtí pacienta, úmrtnost i v současné době přesahuje 95 %.

K nákaze tímto onemocnění dochází nejčastěji vystavením se kontaminované vodě. Jak již bylo řečeno, *N. Fowleri* vyhledává především sladkovodní prostředí (jezera, rybníky, elektrárenské odpadní vody, termální prameny, ale i bazény a koupaliště). K infekci *N. Fowleri* dochází tak, že améba v jakémkoliv svém stádiu proniká nejčastěji nosní dutinou do těla hostitele. Zde dochází k její přeměně v amébové stádium, což jí umožňuje dostat se skrze sliznici a podél čichového nervu přímo do mozku. V mozku vyvolává *N. Fowleri* meningoencefalitidu s rychlým cerebrálním edémem, což vede k cerebelárnímu kómatu a následné smrti.

Hlavním problémem při léčbě této infekce i v současné době zůstává, že je onemocnění diagnostikováno pacientům až v pozdějších stádiích, a v době, kdy je již infekce v pokročilém stádiu. To je způsobeno nejednoznačnými příznaky, kdy pacient povětšinou navštíví lékaře až v době, kdy je již schvácen vysokými teplotami a silnými bolestmi hlavy. Jako u každého závažného onemocnění, představuje i v případě onemocnění PAM včasná diagnóza základní kámen úspěšné léčby. Pokud je onemocnění detekováno v pokročilém nebo finálním stádiu, již povětšinou není ve schopnostech současné medicíny, pacientovi efektivně pomoci.

Primární amébová meningoencefalitida (PAM) je v současné době léčena kombinací léků, jako je konkrétně amfotericin B, azithromycin, flukonazol, rifampin, miltefosin a dexametazon. Tyto léky jsou po diagnostice tohoto onemocnění používány, protože se obecně předpokládá, že jsou vůči amébě *N. Fowleri* efektivní. To je předpokládáno, jelikož právě kombinace těchto léčiv byla použita při léčbě pacientů, kteří tuto závažnou infekci v minulosti přežili.

Počtem nakažených osob je možné za zvláště rizikovou oblast považovány Spojené státy americké, severní oblasti Jižní Ameriky, jižní část střední Ameriky, Indie, Pákistán, Indonésie nebo JV Asie. Na všech kontinentech jsou v současné době zaznamenány výskyty nákazy touto chorobou. Případ v Ústí nad Labem, ke kterému došlo mezi léty 1962-1965 je počtem obětí považován za největší případ nákazy onemocněním PAM v České republice, ale i na celém světě. Tento incident je o to horší, že při něm umírali především mladí lidé a děti. Věk obětí se totiž pohyboval mezi 8 a 25 lety. Stejně tak je tento incident zajímavý i tím, že se nákaza šířila z vnitřního bazénu v rámci veřejně přístupného koupaliště v budově zvané Vrbenského lázně.

Epidemie probíhala ve 4 etapách. K jedné etapě epidemie došlo jeden rok, a to nejčastěji v letních měsících. Celou situaci ohledně zjištění příčiny nákazy ztěžovalo zejména to, že v 60. letech 20. století nebyla existence améby *N. Fowleri* ještě známa. Všech 16 obětí zemřelo stejným způsobem, a to na silný zánět mozku a mozkových blan, který vypadal, že jej má

na svědomí bakterie meningokokového původu. Avšak bakterie nebyly nikdy v těle obětí zjištěny. Celá situace byla osvětlena až roku 1967, kdy začaly jednat vycházet zahraniční články týkající se amébové nákazy u lidí, ale za druhé se o případ epidemie začal zajímat mladý český parazitolog, L. Červa.

Použitá literatura

1. Aichelburg, AC, Walochnik, J, Assadian, O, Prosch, H, Steuer, A, Perneczky, G. Successful treatment of disseminated Acanthamoeba infection with miltefosine. [PDF – 4 pages] Emerg Infect Dis. 2008, 14: 1743-6.
2. Butt, CG. Primary amebic meningoencephalitis. N Engl J Med. 1966;274 (26): 1473-6.
3. Červa, L, Novák, K. Amoebic meningoencephalitis: sixteen fatalities. Science. 1968, 160 (3823): 92.
4. Červa, L, Novák, K. Epidemický výskyt amébových meningoencefalitid. Čas Lék Čes. 1968, 107 (29): 873-6.
5. Červa, L, Novák, K. Amébová meningoencefalitida v ČSSR: předběžná zpráva o prvních 16 detekovaných případech. Česk Epidemiol Mikrobiol Imunol. 1968, 17 (2): 65-6.
6. Červa, L. Studies of limax amoebae in a swimming pool. Hydrobiologia. 1971;38 (1): 141-61.
7. Červa, L, Kasprzak, W, Mazur, T. Naegleria fowleri in cooling waters of power plants. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol. 2012, 26:152-161.
8. Cope, JR, Conrad, DA, Cohen, N, Cotilla, M, DaSilva, A, Jackson, J, Visvesvara, GS. Use of the novel therapeutic agent miltefosine for the treatment of primary amebic meningoencephalitis: report of 1 fatal and 1 surviving case. Clin Infect Dis. 2016, 62: 774-6.
9. ČTK. Parazit požírající mozek zabil deset Pákistánců. Kdysi řádl i v Čechách [online], 2021. Dostupné z: https://www.idnes.cz/zpravy/zahranicni/parazit-pozirajici-mozek-zabil-deset-pakistancu-kdysi-radil-i-v-cechach.A121009_161352_zahranicni_ipl
10. De Jonckheere, JF. Origin and evolution of the worldwide distributed pathogenic amoeboflagellate Naegleria fowleri. Infect Genet Evol. 2011, 11: 1520-1528.

11. Dorlo, TP, Balasegaram, M, Beijnen, JH, de Vries, PJ. Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother.* 2016, 67: 2576–2597.
12. Forrester, JA, Gingell, D, Korohoda, W. Electrophoretic polarity exhibited by amoeboid cells of *Naegleria gruberi*. *Nature.* 1967, 215: 1409-1410.
13. Fowler, M, Carter, RF. Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp.: a preliminary report. *Br Med J.* 1965, 2: 740-742.
14. Fulton, C, Dingle, AD. Appearance of the flagellate phenotype in populations of *Naegleria amebae*. *Dev Biol.* 1967, 15: 165-191.
15. Gharpure, R, Bliton, J, Goodman, A, Ali, IKM, Yoder, J, Cope, JR. Epidemiology and Clinical Characteristics of Primary Amebic Meningoencephalitis Caused by *Naegleria fowleri*: A Global Review. *Clin Inf Dis.* 2021; 73(1): 19-27.
16. Hebbar, S, Bairy, I, Bhaskaranand, N, Upadhyaya, S, Sarma, MS, Shetty, AK. Fatal case of *Naegleria fowleri* meningo-encephalitis in an infant: case report. *Ann Trop Paediatr.* 2005, 25: 223–226.
17. Hrouda, J. 2019. Cyklus videodokumentů o zanikajících ústeckých stavbách. Lázně Dr. Vrbenského [online]. Dostupné z: https://www.easymap.cz/files/MIZEJICI-USTI_LazneVrbenskeho.pdf
18. Jadin, JB, Hermanne, J, Robyn, G, Willaert, E, Stevens, W, Van Maercke, Y. 3 cases of primary amebic meningoencephalitis in Western Europe, in Antwerp. *Ann Soc Belges Med Trop Parasitol Mycol.* 1971; 51 (2): 255-66.
19. John, DT. Primary amebic meningoencephalitis and the biology of *Naegleria fowleri*. *Ann Rev Microbiol.* 1982, 36: 101-123.
20. Kadlec, V, Cerva, L, Skvářová, J. Virulent *Naegleria fowleri* in an indoor swimming pool. *Science.* 1978, 201: 1025.
21. Kadlec, V, Škvářová, J, Červa, L, Nebáznivá, D. Virulent *Naegleria fowleri* in indoor swimming pool. *Folia Parasitol (Praha).* 1980; 27 (1): 11-7.
22. Kaminsky, R. Miltefosine Zentaris. *Curr Opin Investig Drugs.* 2002; 3: 550-4.
23. Kožíšek, F, Rychlíková, E, Pumann, P. 16 obětí a 16 let do objasnění případu. *Hygiena.* 2019, 64 (2): 52-59.

24. Kyle, DE, Noblet, GP. Seasonal distribution of thermotolerant free-living amoebae. I. Willard's Pond. *J Protozool.* 2006, 33: 422-434.
25. Linam, WM, Ahmed, M, Cope, JR, Chu, C, Visvesvara, GS, da Silva, AJ, Qvarnstrom, Y, Green, J. Successful treatment of an adolescent with *Naegleria fowleri* primary amebic meningoencephalitis. *Pediatrics.* 2015; 135: 744–8.
26. Maier, R. Die technischen Anlagen des Johann Schicht-Bades. In: Johann Schicht-Bad in Schreckenstein. Aussig: Georg Schicht A.G., 1931, p. 23-9.
27. Martínez, AJ. Free-living amebas: natural history, prevention, diagnosis, pathology, and treatment of disease. CRC Press, Boca Raton, FL. 1985.
28. Martínez, AJ. Free-living amebic meningoencephalitis: comparative study. *Neurol Neurocir Psiquiatr.* 1977, 18: 391-401.
29. Moussa, M, Tissot, O, Guerlotté, J, De Jonckheere, JF, Talarmin, A. Soil is the origin for the presence of *Naegleria fowleri* in the thermal recreational waters. *Parasitol Res.* 2014, 114: 311-315.
30. Naqvi, AA, Yazdani, N, Ahmad, R, Zehra, F, Ahmad, N. 2016. Epidemiology of primary amoebic meningoencephalitis-related deaths due to *Naegleria fowleri* infections from freshwater in Pakistan: An analysis of 8-year dataset. *Archives of Pharmacy Practice*, 7(4).
31. Novák, K. Šestnáct obětí, překvapivý pachatel Vzpomínka českého epidemiologa. *Vesmír.* 2014, 93: 489-491.
32. Pugh, JJ, Levy, RA. *Naegleria fowleri*: Diagnosis, Pathophysiology of Brain Inflammation, and Antimicrobial Treatments. *ACS Chem. Neurosci.* 2016, 7(9): 1178–1179.
33. Rivera, F, Ramírez, P, Vilaclara, G, Robles, E, Medina, F. A survey of pathogenic and free-living amoebae inhabiting swimming pool water in Mexico City. *Environ Res.* 2003, 32: 205-211.
34. Robinson, BS, Monis, PT, Dobson, PJ. Rapid, sensitive, and discriminating identification of *Naegleria* by real-time PCR and melting-curve analysis. *Appl Environ Microbiol.* 2006, 72 (9): 5857-63.
35. Rocha-Azevedo, B, Tanowitz, HB, Marciano-Cabral, F. Diagnosis of infections caused by pathogenic free-living amoebae. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2009, 25: 1406.

36. Sheehan, KB, Fagg, JA, Ferris, MJ, Henson, JM. PCR detection and analysis of the free-living amoeba *Naegleria* in hot springs in Yellowstone and Grand Teton National Parks. *Appl Environ Microbiol.* 2003, 69: 5914-5918.
37. Schuster, F. An electron microscope study of the amoeba-flagellate, *Naegleria gruberi* (Schardinger). I. The amoeboid and flagellate stages. *J Protozool.* 1963, 10: 297-313.
38. Siddiqui, R, Khan, NA. Primary amoebic meningoencephalitis caused by *Naegleria fowleri*: an old enemy presenting new challenges. *PLoS NTD.* 2014, 8: 3017.
39. Simpson, AG, Farmer, MA, Andersen, RA, Anderson, OR, Barta, JR. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J Eukaryot Microbiol.* 2005, 52: 399-451.
40. Sykora, JL, Keleti, G, Martinez, AJ. Occurrence and pathogenicity of *Naegleria fowleri* in artificially heated waters. *Appl Environ Microbiol.* 2003, 45: 974-979.
41. Treisman, R. 2023. A man dies of a brain-eating amoeba, possibly from rinsing his sinuses with tap water [online]. Dostupné z: <https://www.npr.org/2023/03/03/1160980794/neti-pot-safety-brain-eating-amoeba>
42. Vargas-Zepeda J, Gomez-Alcala AV, Vasquez-Morales JA, Licea-Amaya L, De Jonckheere JF, Lores-Villa F. Successful treatment of *Naegleria* PAM using IV amphotericin B, fluconazole, and rifampin. *Arch Med Res.* 2005; 36: 83-6.
43. Visvesvara. GS, Moura, H, Schuster, FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007, 50: 1–26.
44. Visvesvara, GS. Amebic meningoencephalitis and keratitis: challenges in diagnosis and treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2010, 23 (6) :590-4.
45. Visvesvara, GS. Infections with free-living amebae. *Handb Clin Neurol.* 2013, 114: 153- 168.
46. Wang, Q, Li, J, Ji, J, Yang, L, Chen, L, Zhou, R, Yang, Y, Zheng, H, Yuan, J, Li, L, Bi, Y. A case of *Naegleria fowleri* related primary amoebic meningoencephalitis in China diagnosed by next-generation sequencing. *BMC Infect Dis.* 2018, 18(1): 349.
47. Watson S. 2011. Neti Pot, Nasal Irrigation Pros and Cons. Available from: <http://www.webmd.com/allergies/guide/neti-pot-nasalirrigation-pros-and-cons>.
48. Wellings, FM, Amuso, PT, Chang, SL, Lewis, AL. Isolation and identification of pathogenic *Naegleria* from Florida lakes. *Appl Environ Microbiol.* 1977, 34:661-667.

49. Yoder, JS, Eddy, BA, Visvesvara, GS, Capewell, L, Beach, MJ. The epidemiology of primary amoebic meningoencephalitis in the USA, 1962-2008. *Epidemiol Infect.* 2010, 138: 968-75.
50. Ženíšková, K, Mach, J, Arbon, D, Štursa, J, Werner, L, Zoltner, M, Sutak, R. 2023. The 4-Aminomethylphenoxy-Benzoxaborole AN3057 as a Potential Treatment Option for Primary Amoebic Meningoencephalitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, e01506-22.