26. *Pagano G, Cavallo-Perin P, Cassader M i sur*. An *in vivo* and *in vitro* study of the mechanism of prednisone-induced insulin resistance in healthy subjects. J Clin Invest 1983;72:1814–20.
27. *Holmang A, Bjorntorp P*. The effects of cortisol on insulin sensitivity in muscle. Acta Physiol Scand 1992;144:425–31.
28. *Reynolds RM, Chapman KE, Seckl JR i sur*. Skeletal muscle glucocorticoid receptor density and insulin resistance. JAMA 2002;287: 2505–6.
29. *McCann BS, Warnick GR, Knopp RH*. Changes in plasma lipids and dietary intake accompanying shifts in percieved workload of stress. Psychosom Med 1990;52:97–108.
30. *Reihsaus E, Innis M, MacIntyre N i sur*. Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects. Am J Resp Cell Mol Biol 1993;334–9
31. *Dotsch J, Zepft K, Schellmoser S i sur*. Unmasking of childhood hypothyroidism by disseminated xanthomas. Pediatrics 2001;108(5):96.
32. *Javorka Zimonja-Krišković*. Psihosomatske bolesti i psihosomatska medicina. U: Vrhovac B, Francetić I, Jakšić B, ur. Interna medicina. Zagreb: Naklada Ljevak; 2003, str. 1648.
33. *Nayak KR, Daly R*. Eruptive xanthomas associated with hypertriglyceridemia and new-onset diabetes mellitus. Images in clinical medicine. N Engl J Med 2004;1235.

RIJEDAK UZROČNIK KERATITISA – *ACANTHAMOEBA SPP.*

RARE CAUSE OF KERATITIS – *ACANTHAMOEBA SPP.*

MARIO SVIBEN, DUBRAVKA HORVAT-KREJČI, KATIA NOVAK-LAUŠ*

Deskriptori: Akantamebni keratitis – dijagnostika; Akantameba – izolacija

Sažetak. Slobodno živuće amebe iz roda *Acanthamoeba* ubikvitarni su mikroorganizami koji se u prirodi mogu naći u tlu, vodi i prašini. Predstavnici tog roda etiološki su u imunodeficijentnih pacijenata povezani s granulomatoznim amebnim encefalitisom, pneumonitisom i kožnim ulkusima. Akantamebni keratitis klinički je entitet koji se javlja u inače zdravih osoba, a povezuje se s nošenjem kontaktnih leća. To je teška bolest koja nepravodobno prepoznata može dovesti do gubitka vida odnosno oka. U radu prikazujemo pacijenticu kod koje je postavljena dijagnoza akantamebnog keratitisa.

Descriptors: Acanthamoeba keratitis – diagnosis; Acanthamoeba – isolation and purification

Summary. Free-living amoebas, members of the genus *Acanthamoeba* are ubiquitous microorganisms that can be found in the soil, waters and dust. In immunosuppressed patients they are described as etiological agents of granulomatous amoebal encephalitis, pulmonary and skin infections. Acanthamoebal keratitis is described in previously healthy people which wear contact lenses. It is a serious disease which unrecognized at the right moment could cause losing of sight and eye. In this article we describe a female patient in whom acanthamoebal keratitis was diagnosed.

Liječ Vjesn 2005;127:223–225

Infekcija rožnice slobodno živućom amebom iz roda *Acanthamoeba* rijetka je bolest koja nepravodobno prepoznata može dovesti do gubitka vida odnosno oka. Amebe iz tog roda ubikvitarni su mikroorganizmi koji se u prirodi mogu naći u tlu, vodi i prašini.[1–5] Uz keratitis koji se javlja u inače zdravih, imunokompetentnih pojedinaca, akantamebe su dokazane kao uzročnik granulomatoznog amebnog encefalitisa, pneumonitisa i kožnih ulkusa u osoba s narušenom, oslabljenom imunošću (pacijenti s AIDS-om oboljeli od kroničnih bolesti, od Hodgkinova malignoma).[3,6–8] Zanimljivo je da su u 85% slučajeva keratitisa oboljeli bili nosioci kontaktnih leća.[9–11] Do sada je opisano osam vrsta ameba povezanih s bolešću u ljudi (*A. castellanii, A. culbertsoni, A. hatchetti, A. healyi, A. polyphaga, A. rhysodes, A. astronyxis, A. divionensis*).[2,12] U literaturi prvi opis pripadnika roda *Acanthamoeba* kao očnog patogena datira iz 1975. godine.[8,13] Od tada broj prijavljenih slučajeva svake godine raste. Do kraja 2003. godine u SAD-u je prijavljeno oko 3500 slučajeva akantamebnog keratitisa.

Materijal i metode

U kolovozu 2003. godine hospitalizira se u Klinici za očne bolesti KB »Sestre milosrdnice« 51-godišnja bolesnica s kliničkom slikom unilateralnoga nespecifičnog keratitisa (jaka bol, crvenilo adneksa, epifora i fotofobija). Bolesnica je 37 godina nosila meke kontaktne leće. Mjesec dana prije primitka liječena je lokalno antibakterijskim, antiviralnim i kortikosteroidnim pripravcima bez znakova poboljšanja. Smatralo se da ordiniranu terapiju nije redovito uzimala pa je u Klinici nastavljena lokalna terapija sulfasalazinom i aciklovirom. Biomikroskopski se oko svakodnevno pregledavalo. Do kliničkog poboljšanja ne dolazi. Tjedan dana nakon primitka uočava se stvaranje prstenastog stromalnog infiltrata rožnice i posumnja se na infekciju akantamebom.[3,14] Bolesnica je upućena na Odjel za parazitologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo gdje je uzeta strugotina rožnice zahvaćenog oka. Od dijela dobivenog materijala napravljen je nativan mikroskopski preparat i pregledan svjetlosnim mikroskopom pri povećanju objektiva od 10× i 40× te oku-

* **Odjel za parazitologiju, Služba za mikrobiologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb** (Mario Sviben, dr. med.; Dubravka Horvat-Krejči, dr.med.); **Klinika za očne bolesti, Klinička bolnica »Sestre milosrdnice«, Zagreb** (dr. sc. Katia Novak-Lauš, dr. med)

Adresa za dopisivanje: Dr. M. Sviben, Odjel za parazitologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Rockefellerova 2, 10 000 Zagreb

Primljeno 18. siječnja 2005., prihvaćeno 30. lipnja 2005.

lara 10×. Ostatak uzorka zasijava se na ploču običnog agara prethodno zasijanog s *Esch. coli*. Ploče se stavljaju u vlažnu komoru i inkubiraju na sobnoj temperaturi. Svakodnevno se pregledavaju.[15,16]

Rezultati

Mikroskopijom nativnog preparata akantameba (ciste, trofozoiti) nije uočena. Viđene su epitelne stanice, što govori da je uzorak pravilno uzet. Mikroskopijom uzorka kulture trećeg dana kultivacije u preparatu su viđeni trofozoitni oblici amebe. Trofozoiti su bili prosječne veličine oko 20 μm, imali su brojne jasno vidljive trnaste pseudopodije – akantapodije, jednu jezgru i jasno vidljivu kontraktilnu vakuolu. Nakon tjedan dana kultivacije mikroskopski su viđene i cistične forme parazita. Prosječna veličina cista bila je 10 μm. Dvostruka stijenka bila je jasno izražena. Vanjska stijenka (egzocista) bila je lagano naborana, a unutarnja (endocista) poligonalna.[15,16]

Rasprava

Iako je akantameba ubikvitarni mikroorganizam, infekcije njome su rijetke.[17] Akantamebni keratitis je teška kornealna infekcija tom slobodno živućom (amfizoičnom) amebom, a najčešće se javlja u nosilaca kontaktnih leća. Neliječenje, neadekvatno liječenje, ili prekasno započeto liječenje može dovesti do gubitka vida, što se dogodilo i kod opisane pacijentice.[18,19] Sumnju na ovog uzročnika pobuđuje neučinkovitost standardne lokalne terapije, kao i nalaz nekoliko tipičnih kliničkih znakova, kao što su pojava prstenastoga stromalnog infiltrata, pseudodendriformne epiteliopatije i radijalnog keratoneuritisa.[3,8,25] U ranom stadiju se često krivo dijagnosticira kao herpessimpleksni keratitis, zbog iregularnih epitelnih lezija, stromalnog infiltrativnog keratitisa i edema često viđenih kod herpessimpleksnog keratitisa. Snažna bol je stoga, uz neuspjeh antimikrobne terapije, najvažniji znak koji upućuje na akantamebni keratitis. Zbog rijetke pojave ove infekcije kliničari rijetko pomišljaju na nju, a većina mikrobioloških laboratorija nije upoznata sa standardnim metodama dijagnostike i morfologije slobodno živućih ameba iz roda *Acanthamoeba*. Postavljanje dijagnoze akantamebnog keratitisa zahtijeva mikroskopski nalaz uzročnika u nativnom i/ili obojenom preparatu iz uzorka strugotine ili bioptičkog materijala rožnice, odnosno izolaciju parazita u kulturi.[15,16] Direktna pretraga uzorka (nativni preparat) zlatni je standard za dijagnozu akantamebne infekcije, ali nije dovoljna zbog mogućnosti zamjene akantameba sa epitelnim stanicama. *Acanthamoeba spp.* nisu zahtjevni mikroorganizmi i lako se kultiviraju iz uzoraka na običnom agaru uz prisutnost bakterije *Escherichia coli* (monoksena kultura). U literaturi, autori navode temperature inkubacije kulture u rasponu od 30 do 37°C, no mi smo postigli uspješnu izolaciju na sobnoj temperaturi, na kojoj održavamo i kontrolni laboratorijski soj *Acanthamoeba spp*. Mikroskopski preparat se gleda pod povećanjem objektiva 10 odnosno 40× te okulara 10×. Za trajno čuvanje može se načiniti preparat obojen trikrom metodom ili bojenjem željeznim hematoksilinom. Moguća je identifikacija do razine vrste s pomoću monoklonskih protutijela metodom imunofluorescencije ili imunoperoksidaze, kao i molekularne metode detekcije gena, međutim te se metode ne provode rutinski.[2,3,15,16,20] Kao i većina ostalih predstavnika ameba, akantamebni životni ciklus ima dva stadija: trofozoitni i cistični. Trofozoiti su motilni, metabolički aktivni organizmi, prosječne veličine 30 μm (15–45 μm). Karakterizirani su nježnim, hijalinim, trnastim pseudopodijima (akantapodijima). Progresivno kretanje trofozoita nije jasno izraženo. Cista je neaktivni oblik parazita. Prosječne je veličine 15 μm (10–25 μm). Ima dvostruku stijenku, vanjsku i unutarnju.

Ispitivanjem osjetljivosti na antimikrobne agense parazit (trofozoit i cista) pokazao se osjetljivim na klorheksidin, poliheksametilen bigvanid, propamidin, pentamidin, dimiazin i neomicin.[2,3,8,12,15] Unatoč osjetljivosti *in vitro* na navedene agense, terapijski uspjeh nije uvijek dobar pa transplantacija rožnice ostaje jedino moguće rješenje. Uspjeh terapije vezan je uz što raniju dijagnozu, a u većini slučajeva na nju se posumnja tek nakon izostanka rezultata liječenja višetjednom, neadekvatnom terapijom, što je za izlječenje prekasno. Transplantacija rožnice često je nužna kao terapeutski zahvat ili točnije korektivni zahvat nakon izlječenja infekcije koje je rezultiralo gubitkom vida zbog potpunog zamućenja rožnice.

Epidemiološke »case control« studije kvalificirale su kao najvažniji rizični čimbenik za infekciju nošenje kontaktnih leća (85% pacijenata).[21–25] Meke leće, čini se, osjetljivije su za kontaminaciju. Smatra se da su uzrok tomu karakteristike materijala. Naime ionski sastav, kao i velika količina vode u hidrogelu mekih leća pružaju povoljnu sredinu za atherenciju parazita.[15,16]

Prevencija i kontrola infekcije je zbog raširenosti mikroorganizma teška. *Acanthamoeba spp.* je izolirana iz tla, slobodnih voda (potoci, rijeke, jezera, morska voda), prašine, vodovodne vode (uobičajena koncentracija klora za dezinfekciju u vodovodnoj vodi nije cisticidna). Kod zdravih ljudi izolirana je iz iscjetka uha, pulmonalnog sekreta, nazofaringalnih uzoraka, uzoraka iz maksilarnih sinusa, mandibularnih autotransplantata i stolice.[1–4] Nosiocima kontaktnih leća stoga se preporučuju sljedeći jednostavni postupci s ciljem izbjegavanja infekcije: redovito čišćenje leća (laganim struganjem) radi uklanjanja biofilma; povremeno izlaganje leća vrućoj vodi (najmanje 70°C); sušenje leća na zraku nakon čišćenja; izbjegavanje sredstava za dezinfekciju leća kućne izrade; ako se koristi sredstvo za dezinfekciju na bazi vodikova peroksida, primjena dvostupanjskog sustava dezinfekcije; redovito mijenjanje kontaktnih leća, a prije kupanja u otvorenim vodama skidanje leća.[11,15]

Nadamo se da će saznanja o akantamebama kao mogućem uzročniku infekcije oka te važnosti pravodobne i pouzdane dijagnostike potaknuti kliničare oftalmologe i mikrobiologe da češće usmjeravaju svoja razmišljanja i dijagnostičke postupke u tom smjeru.

LITERATURA

1. *De Jonckeheere JF*. Epidemiology. U: Rondanelli EG, ur. Amphizoic amoebe human pathology. Padua: Piccin Nuova Libraria; 1987, str. 127–47.
2. *John DT*. Opportunistically pathogenic free-living amebe. U: Kreier JP, Baker JR, ur. Parasitic protozoa. New York: Academic Press; 1993, str. 143–246.
3. *Visvesvara GS, Martinez AJ, Theodore FH, Daggett PM, Sawyer TK*. Naegleria and Acanthamoeba infections. Rev Infect Dis 1990;12:490–513.
4. *Martinez AJ*. Free-living amebas: natural history, prevention, diagnosis, pathology and treatment of the disease. Boca Roton: CRC Press; 1985.
5. *Pfister DR, Cameron JD, Krachmer JH, Holland EJ*. Confocal microscopy findings of Acanthamoeba keratitis. Am J Ophthalmol 1996; 121:119–28.
6. *DiGregorio C, Rivasi CF, Mongiardo N, De Rienzo B, Visvesvara GS*. Acanthamoeba meningoencephalitis in an AIDS patient: first report from Europe. Arch Pathol Lab Med 1991;116:1363–65.
7. *Wiley CA, Satrin RE, Davis CE i sur*. Acanthamoeba meningoencephalitis in a patient with AIDS. J Infect Dis 1987;155:130–3.
8. *Jones DB, Visvesvara GS, Robinson NM*. Acanthamoeba polyphaga keratitis and Acanthamoeba uveitis associated with fatal meningoencephalitis. Trans Ophthalmol Soc UK 1975;95:221–31.

9. *Stehr-Green JK, Bailey TM, Visvesvara GS*. The epidemiology of Acanthamoeba keratitis in the United States. Am J Ophthalmol 1990;107: 331–6.
10. *Stehr-Green JK, Bailey TM, Brandt FH, Carr JH, Bond WW, Visvesvara GS*. Acanthamoeba keratitis in soft contact lens wearers: a case control study. JAMA 1987;258:57–60.
11. *Logar J, Kraut A*. Acanthamoeba corneal infection in a contact lens wearer. J Infect 1997;35:237–40.
12. *Martinez AJ, Visvesvara GS*. Free-living amphizoic and opportunistic amebas. Brain Pathol 1997;7:583–9.
13. *Nagington J, Watson PG, Playfair TJ, Megill J, Jones BR, Steele AD*. Amoebic infections of the eye. Lancet 1974;11:1537–40.
14. *Aversa G, Stern GA, Driebe WT*. Diagnosis and successful medical treatment of Acanthamoeba keratitis. Arch Ophthalmol 1995;113:1120–23.
15. *Garcia LS*. Diagnostic medical parasitology. 4.izd. Washington DC: ASM Press; 2001; 117–8.
16. *Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Yolken RH*. Washington DC: ASM Press; 2003;1984–8.
17. *De Jonckheere JF*. Ecology of Acanthamoeba. Rev Infect Dis 1991; 13(Suppl 5):385–7.
18. *Brasseur G, Favennec L, Perrine D, Chenu JP, Brasseur P*. Successful treatment of Acanthamoeba keratitis by hexamidine. Cornea 1994;13: 459–62.
19. *Driebe WT, Stern GA, Epstein RJ, Visvesvara GS, Adi M, Komadina T*. Acanthamoeba keratitis: potential role for topical clotrimazole in combination chemotherapy. Arch Ophthalmol 1988;106:1196–201.
20. *Moura H, Wallace S, Visvesvara GS*. Acanthamoeba healyi n. Sp. and the isoenzyme and immunoblot profiles of Acanthamoeba spp., groups 1 and 3. J Protozool 1992;39:573–83.
21. *Dart JKG, Stapleton F, Minassion D*. Contact lenses and other risk factors in microbial keratitis. Lancet 1991;338:650–3.
22. *Reuber H, Koch JM*. Acanthamöben Keratitis bei Dauertragekontaktlinse. Klin Mbl Augenheilk 1992;200:48–50.
23. *Moore MB, McCulley JP*. Acanthamoeba keratitis associated with contact lenses: six cases of successful menagement. Br J Ophthalmol 1989; 73:271–5.
24. *Bacon AS, Frazer DG, Dart JKG, Matheson M, Ficker LA, Wright PA*. A review of 72 consecutive cases of Acanthamoeba keratitis 1984–1992. Eye 1993;7:719–25.
25. *Juratovac Z, Pokupec R, Petriček I*. Acanthamoeba keratitis – prikaz slučaja. Ophthalmol Croat 2000;Suppl 1:23.

* * *

Vijesti
News

Hrvatsko društvo za gerontologiju i gerijatriju HLZ-a
Centar za gerontologiju Zavoda za javno zdravstvo Grada Zagreba
Referentni centar Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi za zaštitu zdravlja starijih ljudi

organiziraju

2. HRVATSKI GERONTOLOŠKI KONGRES
s međunarodnim sudjelovanjem

Opatija, 9.—12. ožujka 2006.

Glavne teme kongresa:

1. Gerontologija i prevencija za starije osobe u svijetu i u Hrvatskoj
2. Gerijatrija s konkretnim primjerima iz prakse i projekcija gerijatrijske zdravstvene skrbi
3. Razvoj ekonomije i gospodarstva tijekom starenja pučanstva i mirovinski fondovi
4. Znanstvene spoznaje o teorijama starenja

Zadnji rok za slanje sažetaka: 15. studenoga 2005.
Zadnji rok za prihvaćanje sažetaka: 1. prosinca 2005.

Obavijesti: dr. Goran Perko, tel.: 01/4696-176; 01/4696-164; faks: 01/4678-016,
e-mail: gerontologija@publichealth-zagreb.hr

KOTIZACIJE: 1. specijalisti: uplata do 15. 11. 2005. – 990,00 kn; članovi HDZGIG HLZ-a – 700,00 kn; uplata nakon 15. 11. 2005. – 1.100,00 kn; 2. specijalizanti i poslijediplomanti 300,00 kn; 3. studenti, umirovljeni liječnici, ostali umirovljeni stručnjaci drugih profila koji se bave ili su se bavili zaštitom zdravlja starijih osoba 10,00 kn. U kotizaciju je uključen PDV od 22%.

UPLATA KOTIZACIJA: Broj žiro računa: 2340009-110075271, PBZ d.d. Zagreb uz naznaku za 2. Hrvatski gerontološki kongres. Broj deviznog računa: 2500-9900000-313623, PBZ d.d. Zagreb uz naznaku za 2. Hrvatski gerontološki kongres.