Serbest Yaşayan Amipler

Prof.Dr.Hande Dağcı

DOĞADA her yerde **çok yaygın** bulunmakta





*Kaplıca ve Termal Sularda

*Yüzme Havuzlarında

*Musluk Sularında



Rutubetli ve Islak Topraklarda



*Göllerde ve Nehirlerde

Tatlı Sularda (*Az tuzlu deniz suyu)

Kanalizasyon Sularında



Hava Filtrelerinde



Son yıllarda bu amiplerin neden oldukları enfeksiyonlar önem kazanmakta

***Tanı Yöntemlerinin gelişmesi

Enfekte sularda yüzülmesi / girilmesi

Kontakt lens kullanma alışkanlığının ↑

AIDS (Fırsatçı) ↑

Bağışıklık sisteminin baskılandığı (Fırsatçı) durumların ↑

(Sitotoksik ilaç - K.steroid - Maliniteler,vs.)

↓

Olgu sayısı ↑↑↑

İnsan için patojen olan serbest amipler

- *Naegleria spp.*
- *Acanthamoeba spp.*
- *Balamuthia spp.*
- *Sappinia spp.*

Sınıflama

Amip Formu → Kamçılı Formu

dönüşme yeteneğine göre yapılmakta

Şube: SARCOMASTİGOPHORA

Altşube: Sarcodina

Sınıf:1) Lobosea 2) Acarpomyxea

Sınıf: Lobosea

I-Takım: Amoebida

Aile: Acanthamoebidae

Cins: *Acanthamoeba*

A.castellanii, A.culbertsoni, A.hatchetti, A.polyphaga, A.rhysodes, A.astronyxis, A.healyi, A.griffini

II-Takım: Schizopyrenida

Aile: Walkamfidae

Cins: *Naegleria*

N.fowleri, N.gruberi, N.lovaniensis, N.australiensis

III-Takım: Leptomyxida

Aile: Leptomyxidae

Cins: *Leptomyxid (Balamuthia)*

Şube: FLABELLİNEA

Takım: Thecamoebida

Aile: Thecamoebidae

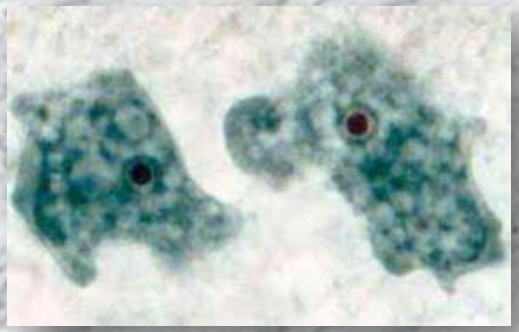
Cins: *Sappinia*

S.pedata - *S.diploidea*



Naegleria spp.

N.fowleri



Trofozoit Formu

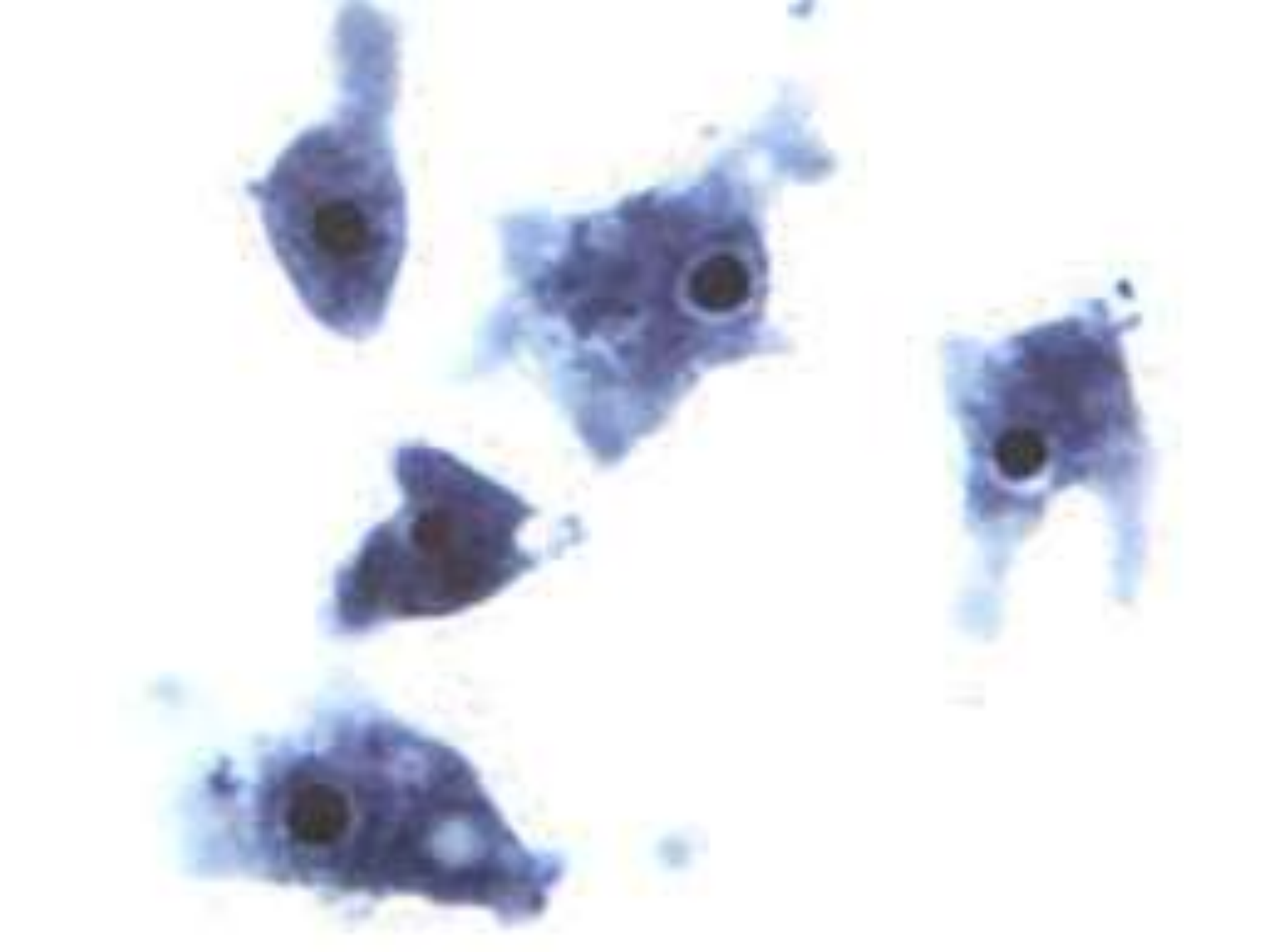
7-20 µm -Aerop - Santral nükleoslu bir nükleus (+)

Bakteriler ve nekrotik doku ile beslenme

Nükleolus mitozu (Promitoz) ile bölünme

Lobopod tipi yalancı ayakları ve Kontraktil vaküoller (+)

"Amebostoma" kalın çeperli vakuolleri
(Besin Vauolü)



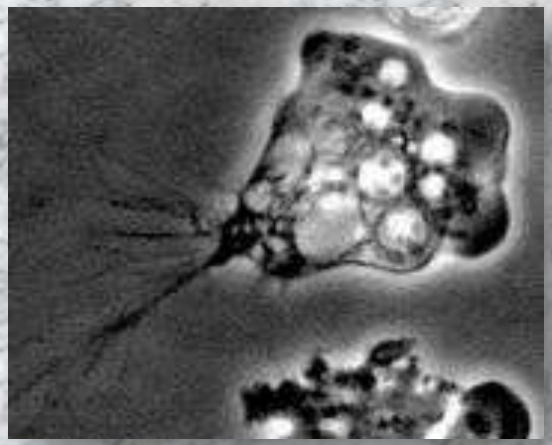
Kamçılı Formu

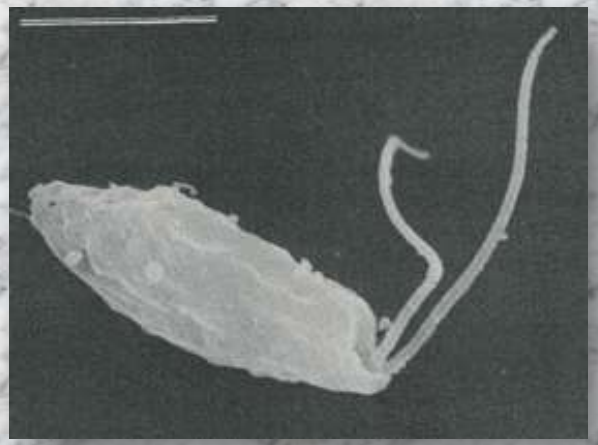
Armut şeklinde

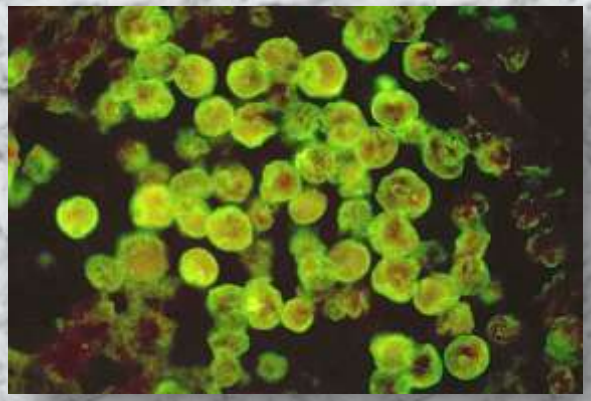
Çift kamçı (Ameboflagellat)

Bu form çoğalmaz

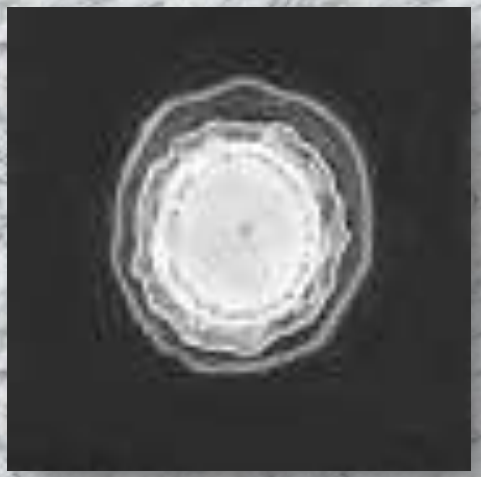
Trofozoitler distile su ve besiyerinde bu forma dönüşmekte







Kist Formu

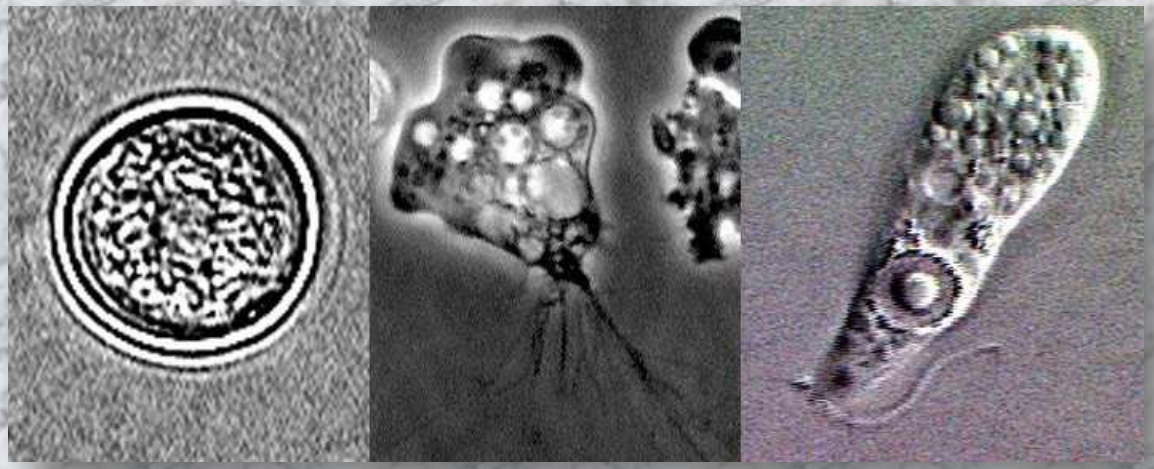


8-15 µm - Tek nükleuslu

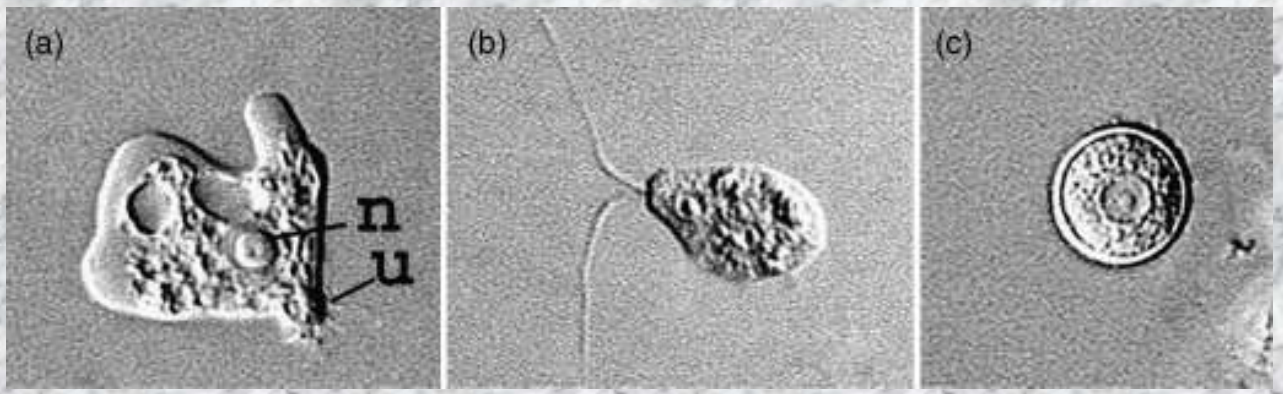
Çift katlı (ikiside düz) hücre duvarı

Enfekte dokularda ø

N.fowleri TERMOFİLİK (45°C ↑ bile)






(a)
n
u
(b)
(c)



Acanthamoebae spp.

(Eskiden Hartmenella)

A.castellani -A.polphaga -A.culbertsoni - A.palestinensis -A.astronyxis -A.hatchetti- A.rhysodes

Aerop – Genellikle termofilik ø (25-35°C)

(Patojen Türler Hariç)

*Hafif tuzlu sularda çoğalma

Trofozoit Formu

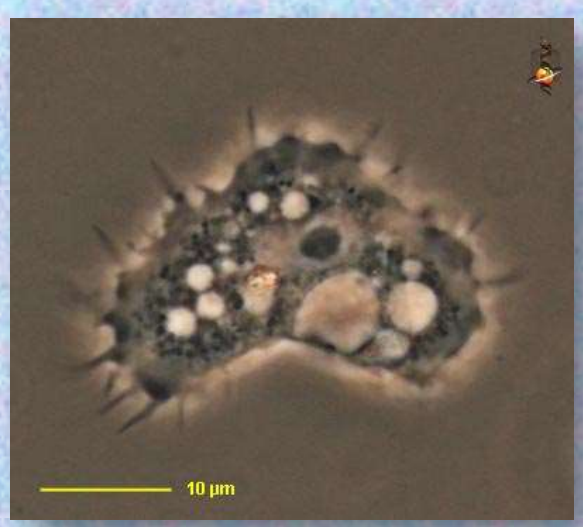
15-40 µm

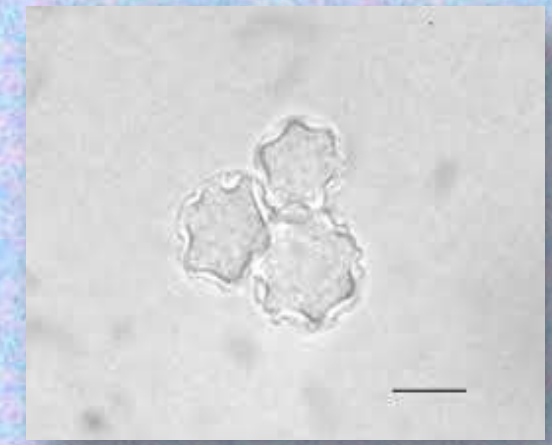
Lobopod + Akantopod (iğne) tipi yalancı ayaklar

Santral nükleoslu bir nükleus (+)

Mitozla çogalma - Kontraktil vaküoller (+)







Kist Formu



12-16 µm - Çift katlı kist duvarı

Dış kist duvarı: Düz / Buruşuk

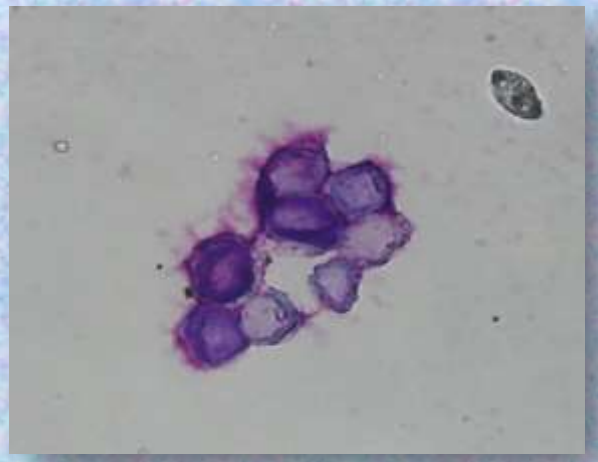
İç kist duvarı: ***Yıldız / Beşgen / Altıgen

Enfekte doku kesitlerinde (+)

Doğadaki ve dokulardaki kistler kültür (+)

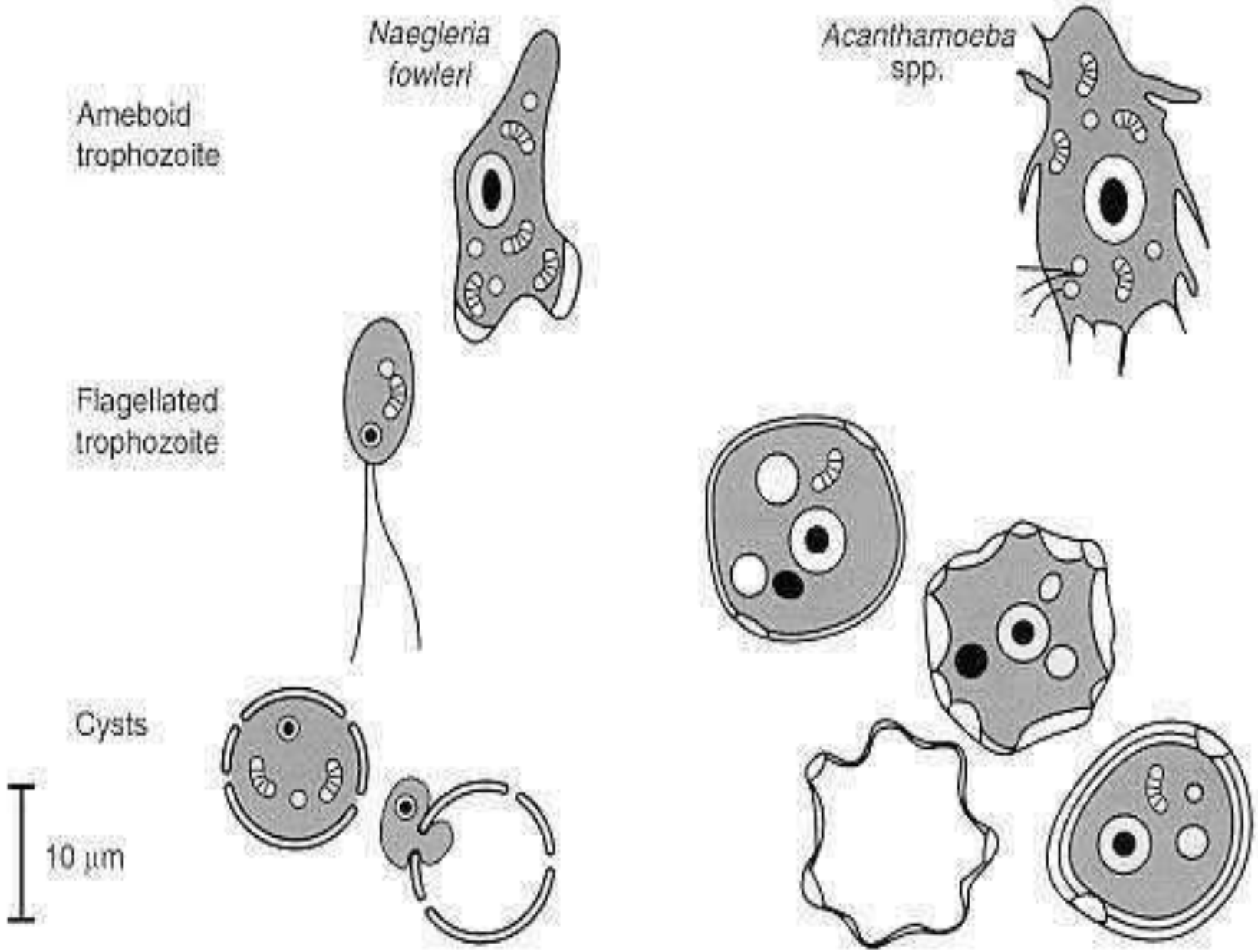


Acantamoeba spp. **trofozoit**



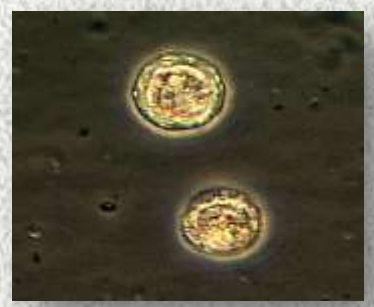
Acantamoeba spp. **kist**




Naegleria fowleri
Acanthamoeba spp.
Ameboid trophozoite
Flagellated trophozoite
Cysts
10 µm



Balamuthia mandillaris



İlk kez Sandiego hayvanat bahçesinde bir maymundan izole

İnsanlarda gelişen ansefalit vakalarında ve deri lezyonlarında saptanmış

Enfeksiyona predispoze faktörler ve hayat siklusları *Acanthamoeba*'lara benzemekte

Gelişen enfeksiyon akut ve tedavisi yok

Trofozoit Formu: 15-60 µm

Geyik boynuzu gibi dallı budaklı görünümlü

Mitozla çoğalmakta

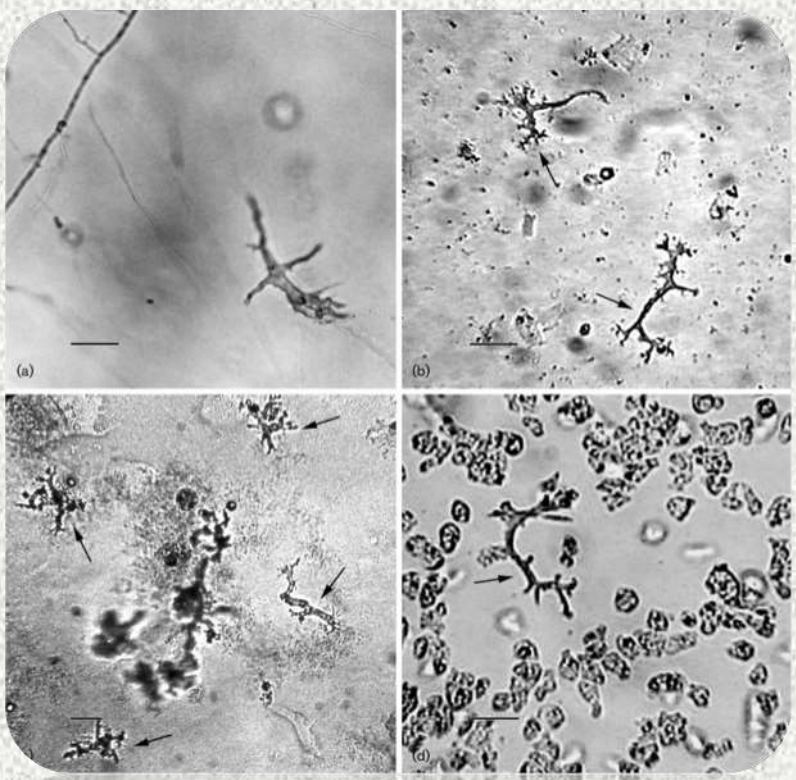
Kist Formu: Yuvarlak / yuvarlağa yakın

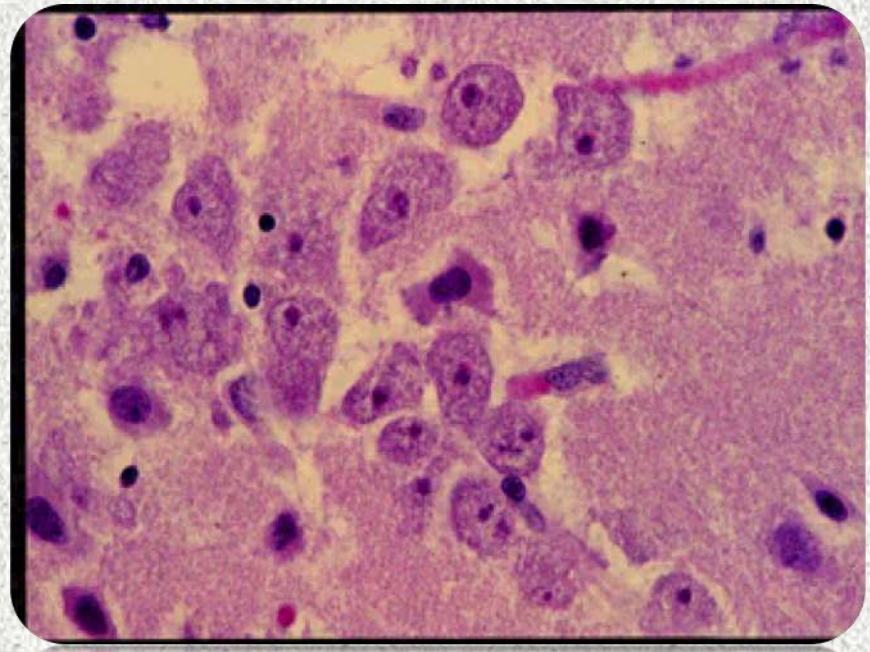
Tek nükleuslu

Çift katlı hücre duvarı

Enfekte dokularda da saptanmakta




(a)
(b)



Acanthamoeba spp. ve *B.mandillaris*

Kistleri klora çok dirençli

Yüzme havuzlarından izole edilenler

patojenite ↑

(Doğal kaynaklara göre)

Acanthamoeba spp.

Sağlam kişilerin farinkslerinden

izole edilmekte

Sappinia spp.

S.pedata

S.diploidea

Trofozoit Formu

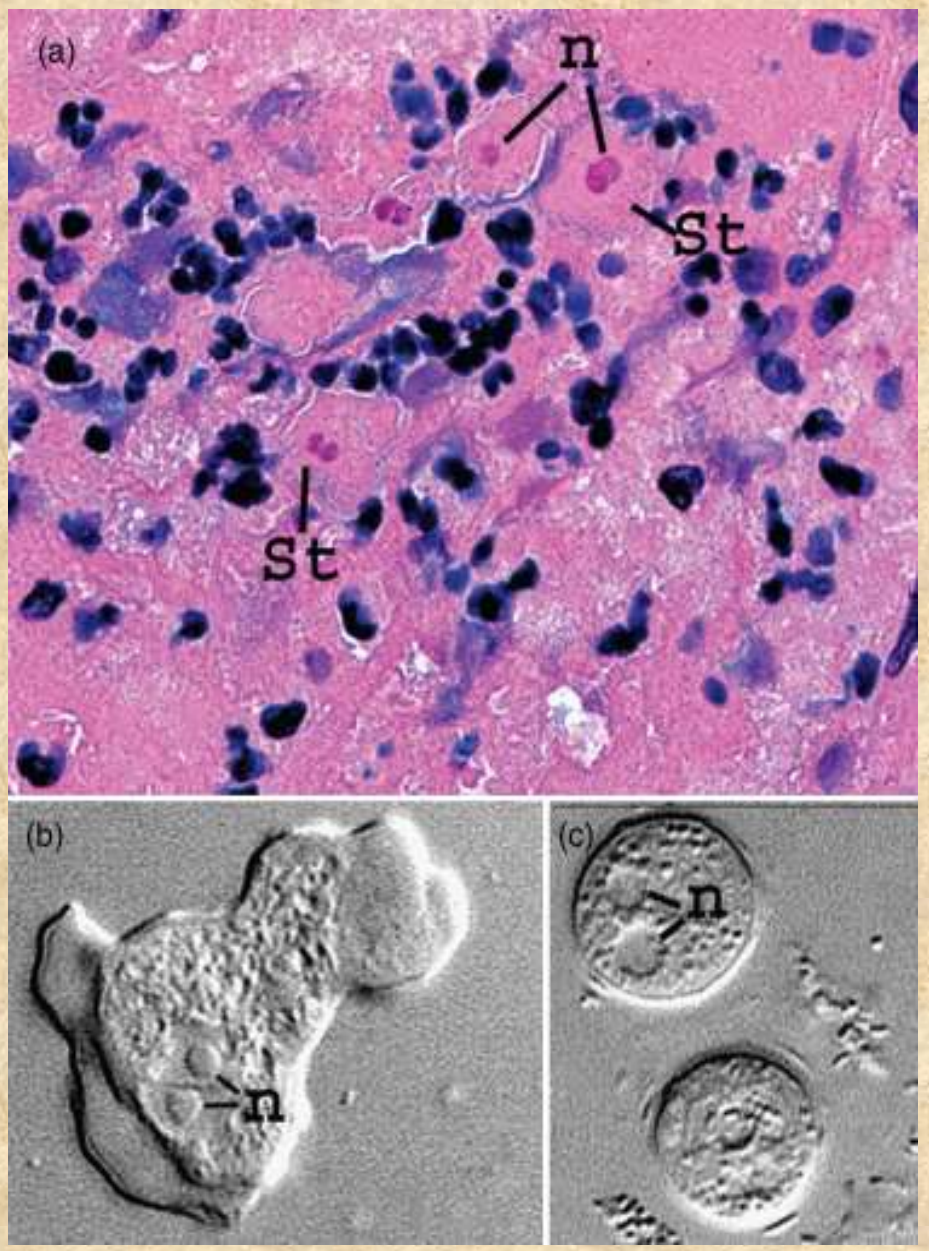
40-80 µm

2 Nükleus

Kist Formu

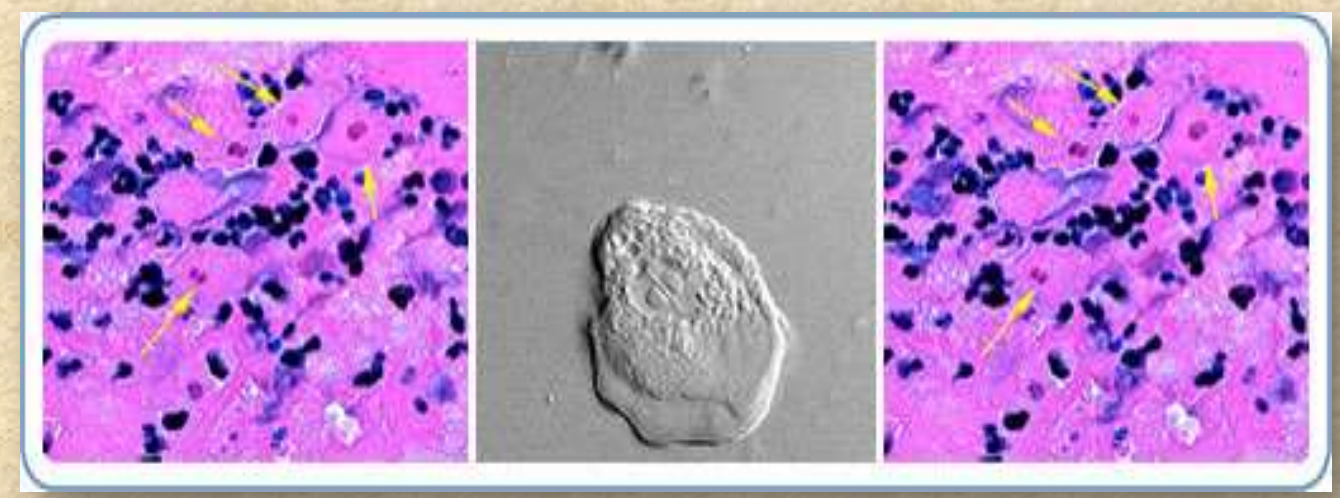
15-30µm

2 Nükleus



Sappinia spp.'ın izole edildiği kaynaklar

- Manda ve geyik dışkısı
- Büyükbaş hayvanların dışkısıyla bulaşmış toprak
- Çürümüş bitki kalıntıları
- Temiz sular



N.fowleri

PRİMER AMEBİK MENİNGOANSEFALİT (PAM)

Acantamoeba spp

GRANÜLAMATÖZ AMEBİK ANSEFALİT (GAE)

KERATİT

Deri ve diğer organlarda Granülamatöz Lezyon

Osteomiyelit

B.mandillaris

GRANÜLAMATÖZ AMEBİK ANSEFALİT (GAE)

Deri lezyonları (AIDS'lilerde)

Sappinia spp

SAPPİNİA AMEBİK ANSEFALİT

Primer Amebik Meningoansefalit (PAM)

Etken: *N.fowleri*

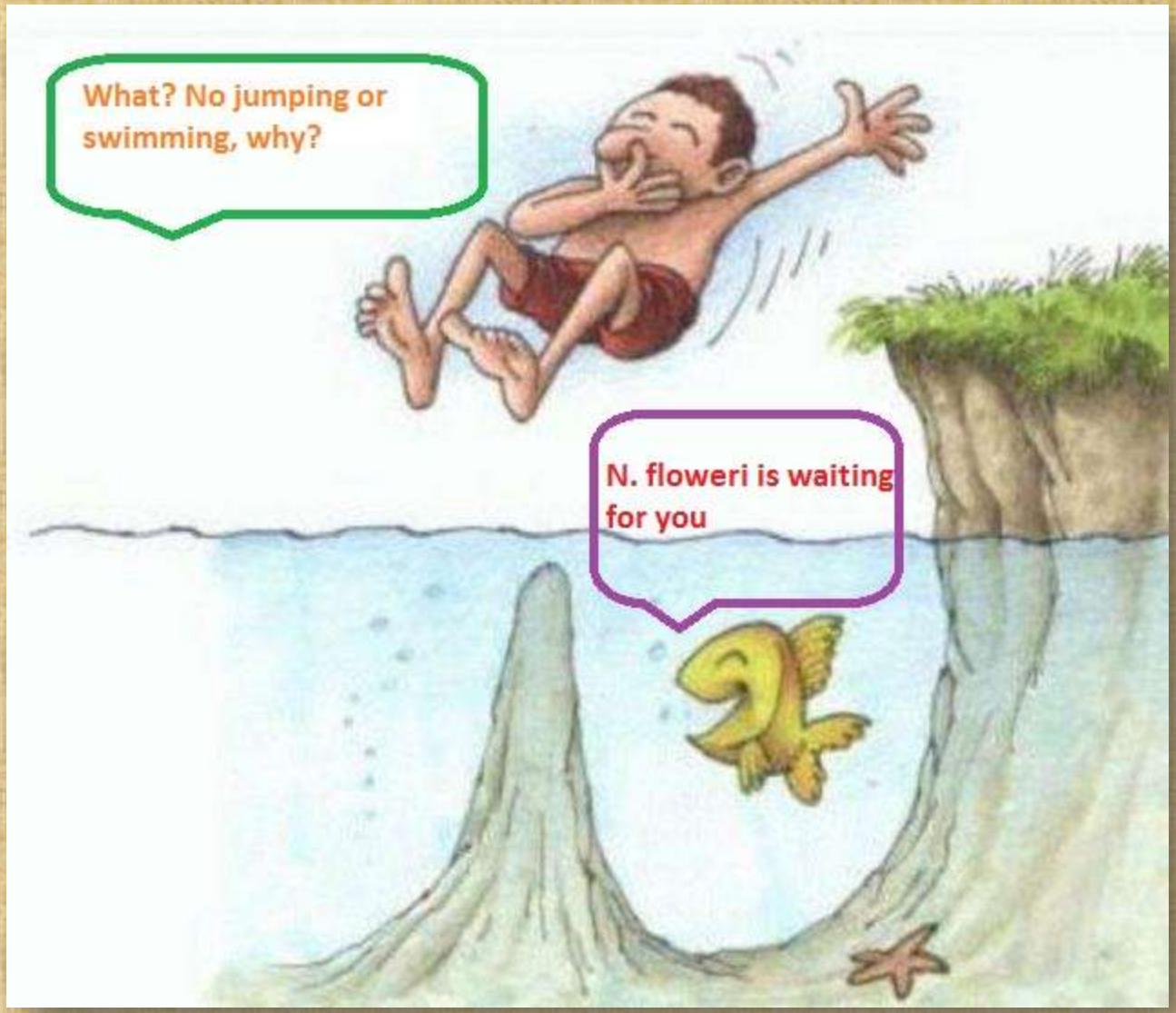
(Sıcak ve Temiz sularda ↑)

İnkübasyon dönemi: 3-7 gün

Çoğu vaka gelişmiş ülkelerden bildirilmekte

*Çoğu olguda (olgularının % 50 den ↑)

Kaplıca - Yüzme havuzu - Sulama kanalı - Doğal gölde YÜZME öyküsü (+)


What? No jumping or swimming, why?
N. floweri is waiting for you

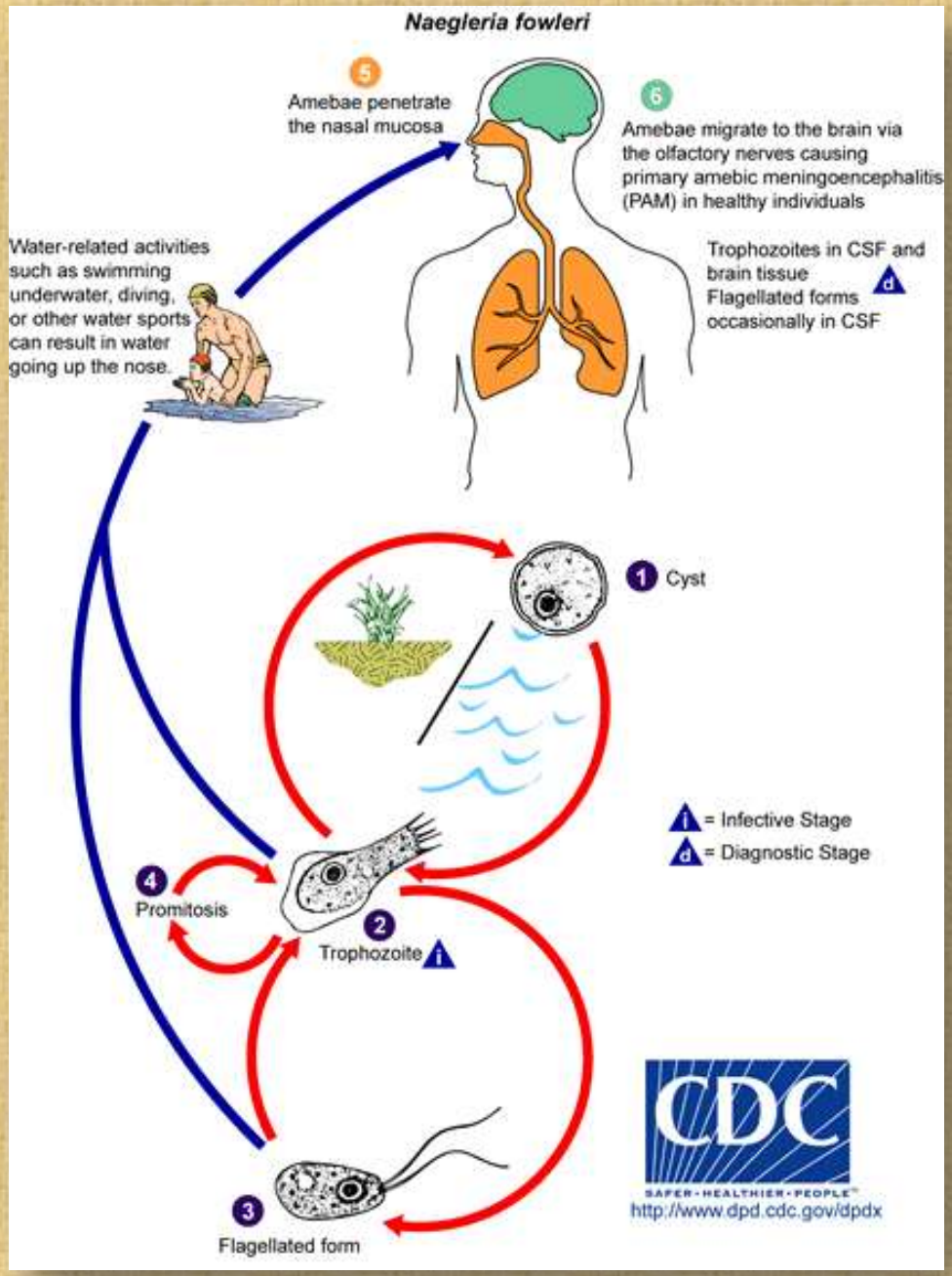
*Bazı olgularda

yüzün yıkanması esnasında buruna su çekilmesi ve atmosferdeki kistlerin solunmasıyla gerçekleştiği

(Yüzme öğküsü bulunmadan) idda edilmekte ?






Naegleria fowleri
5
Amebae penetrate the nasal mucosa
6
Amebae migrate to the brain via the olfactory nerves causing primary amebic meningoencephalitis (PAM) in healthy individuals
Water-related activities such as swimming underwater, diving, or other water sports can result in water going up the nose.
Trophozoites in CSF and brain tissue
Flagellated forms occasionally in CSF
d
1 Cyst
= Infective Stage
d = Diagnostic Stage
4 Promitosis
2 Trophozoite
3 Flagellated form
CDC
SAFER·HEALTHIER·PEOPLE™
http://www.dpd.cdc.gov/dpdx

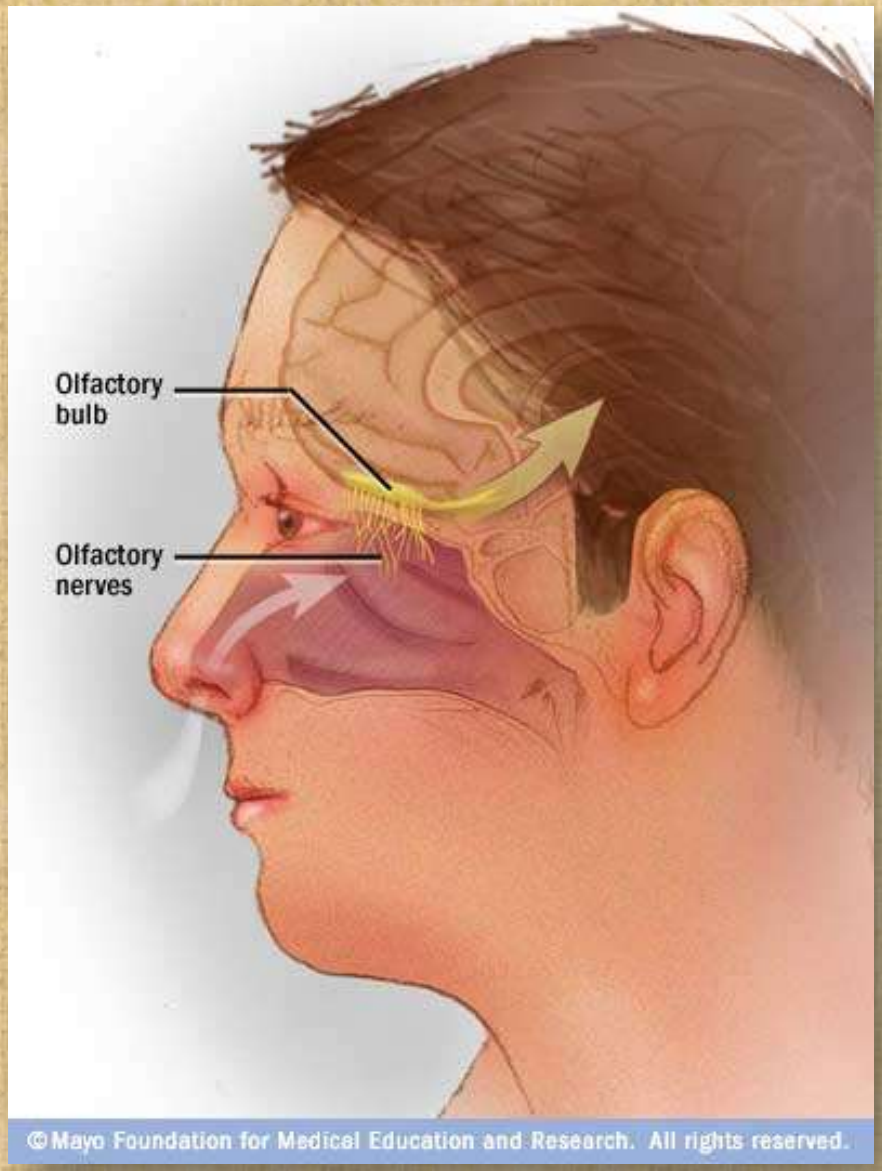
1-Kamçılı ve Trofozoit F → 2-Olfaktor epitel penetrasyonu→
(Sularda) İnhalasyon ***NASAL MUKOZA

3-Kribriform plakta → 4-Meninksler → 5-Virchow Robin A.→
Olfaktor sinir (Perivasküler A)

6- Beyin tabakalarına penetrasyon (Trofozoit)

↓

Primer Amebik Meningoansefalit (PAM)



©Mayo Foundation for Medical Education and Research. All rights reserved.

Hızlı gelişen ölümle sonuçlanan meningoansefalit

SSS'de lokalize

Olfaktor (en fazla) – Frontal - Temporal -

Serebellar bölge - Beyin kökü

1-3 gün

Genel durum iyi – Başağrısı

Hafif ateş - Boğaz ağrısı ve Rinit (bazı hastalarda)

Koku -Tat duyusu değişimi

3 günden sonra

Genel durum bozulmakta

↑Ateş - Baş ağrısı↑

Kusma - Ense sertliği

Nöbetler- Hemorajik pulmoner ödem

Myokardit - Koma

Pürülan menenjit - Erken Ölüm

N. fowleri'nin SSS'ni istila etmesi

↓

Hastalık akut seyretmekte

Kanamalı - Nekrotizan Meningoensefalit

<u>Serebrospinal Sıvı (BOS)</u>

Pürülan (Bakteri Ø) - Basınç ↑

Protein ↑ - Glikoz ↓ - Hücre (*Nötrofil)

Eritrosit (karakteristik) - Amipler

Patoloji ve Patogenez

Amiplerin yerleştikleri dokularda

Yangı reaksiyonları + Yoğun doku harabiyeti

Amibin fagositoz yeteneği

+

Salgıladığı sitolitik (fosfolitik enzimler)

maddeler önemli

- Beyin zarları yaygın olarak hiperemik
- Az miktarda pürülan bir eksüda
- Serebral hemisferler ödemli ve şiş
- Kortekste çok fazla yüzeyel hemorajik odaklar
- Koku alma loblarında hemoraji ve nekroz
- Subaraknoid ve perivasküler alanlarda çok fazla amip görülebilmekte
- *Neagleria* trofozoitlerindeki besin vokuollerinde eritrositler
- Pürülan eksuda da bol polimorf nükleer ve monolükleer lökositler

Tanı

*Akut tüberküloz - Bakteriyel - Viral menenjitten ayrım yapılmalı

Mikroskobik Tanı

BOS'dan yayma (Direkt ve Boyama)

- *Direkt Bakı*

Hareketler *E.histolytica*'ya benzer

Pseudopodları patlayacı tarzda

- *Boyama*

*Fe'li Hematoksilen - Romanoviski
Akridin Oranj - Giemsa

- *Kültür*

BOS (Non-Nütrüsyon Agar)

- Hücre Kültürü

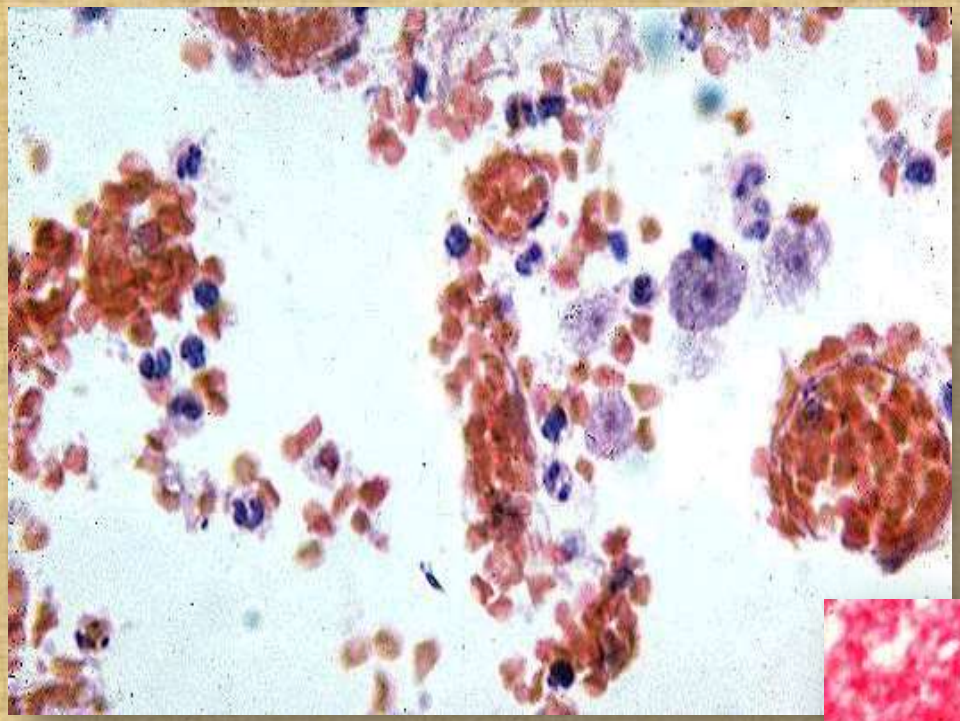
- Antijen Arama

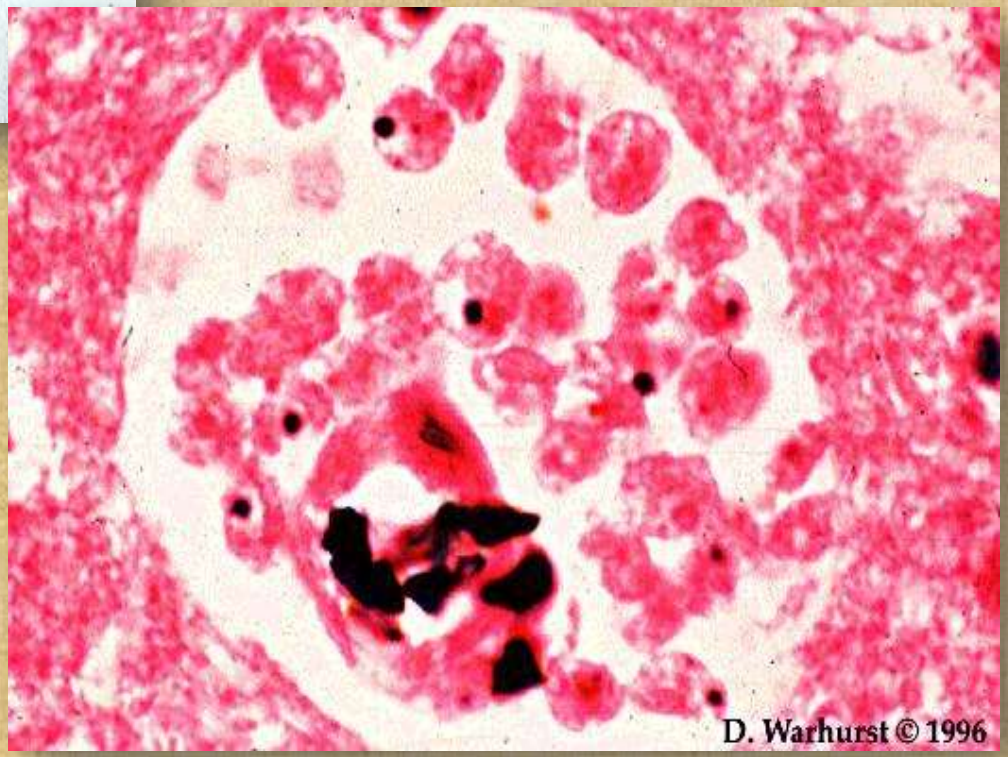
Spesifik Monoklonal Antikorlar Önemli

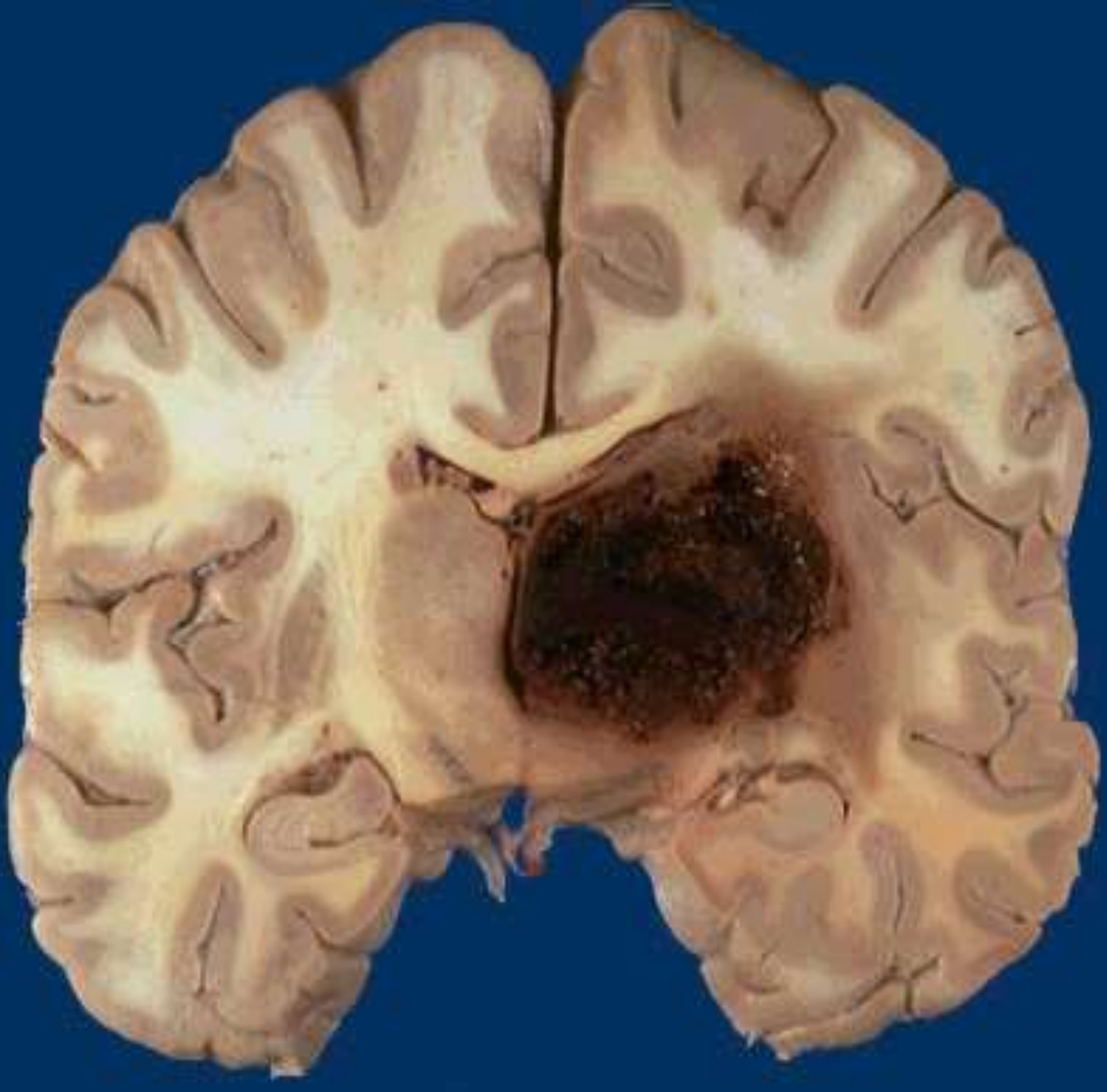
- İzoenzim analizleri

- *Moleküler Y.

RT- PCR, PCR, Restriksiyon Digest (RFLP)




D. Warhurst © 1996



Granülomatöz Amebik Ansefalit (GAE)

*A.castellellani (En sık) - A.culbertsoni (2.sıklıkta)

B.mandillaris

Bulaş: Yüzme ile ilişkili ø

İnkübasyon peryodu: Uzun (Haftalar-Aylar-Yıllar)

Sıklıkla BAĞIŞIKLIĞI BASKILANMIŞ kişilerde

(Bazen sağlıklılarda)

Predispoze Faktörler

- Kortikosteroid kullanımı (En sık)
- Uzun Antibiyotik kullanımı
- Kemoterapi
- Alkolizm
- AIDS
- Diyabet
- Hamilelik

SSS invazyonu sekonder (HEMATOJEN YOLLA):

En sık ASYE ve Deri / Mukoza enfeksiyonları

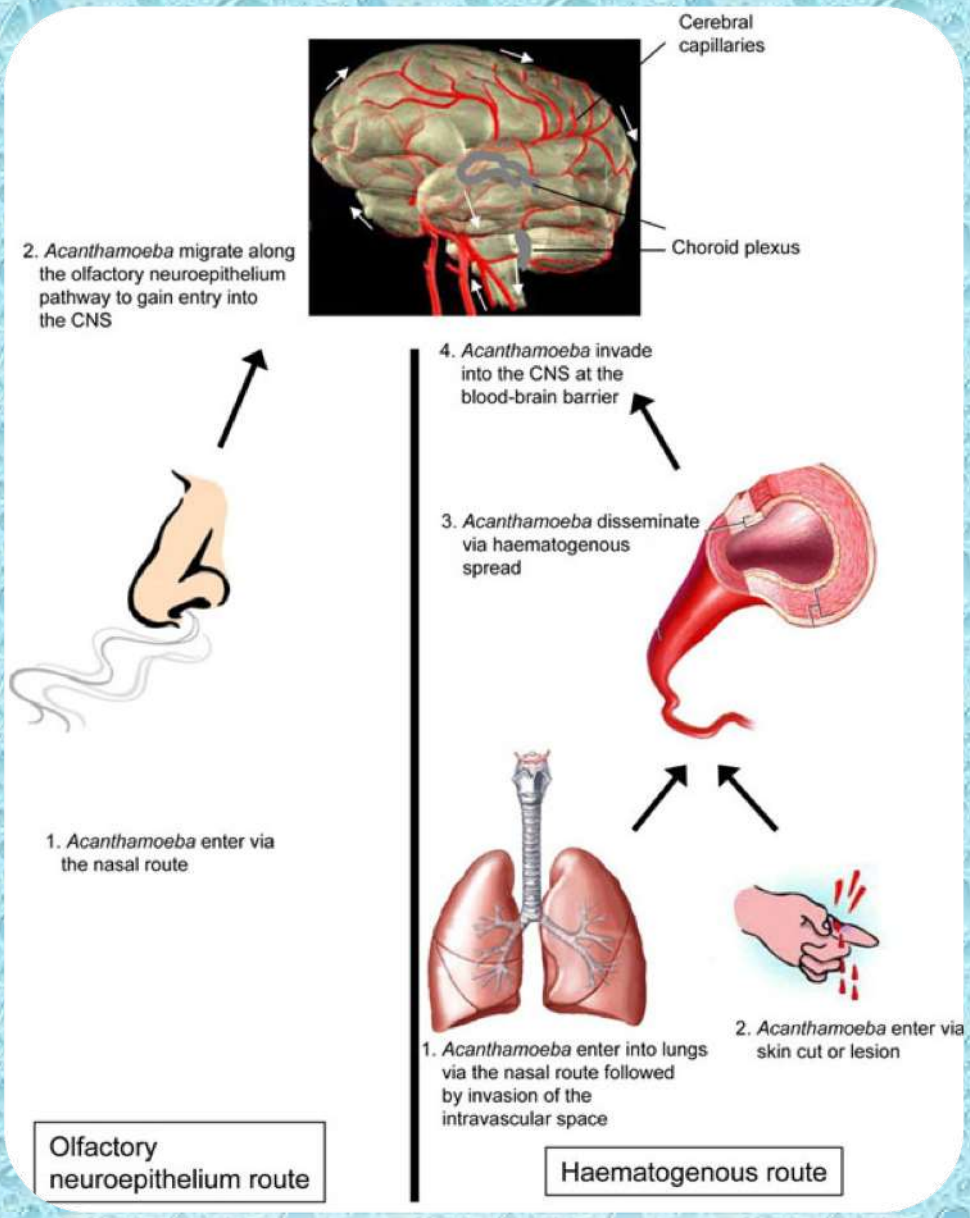
(Ülser – Nodül - Abse)

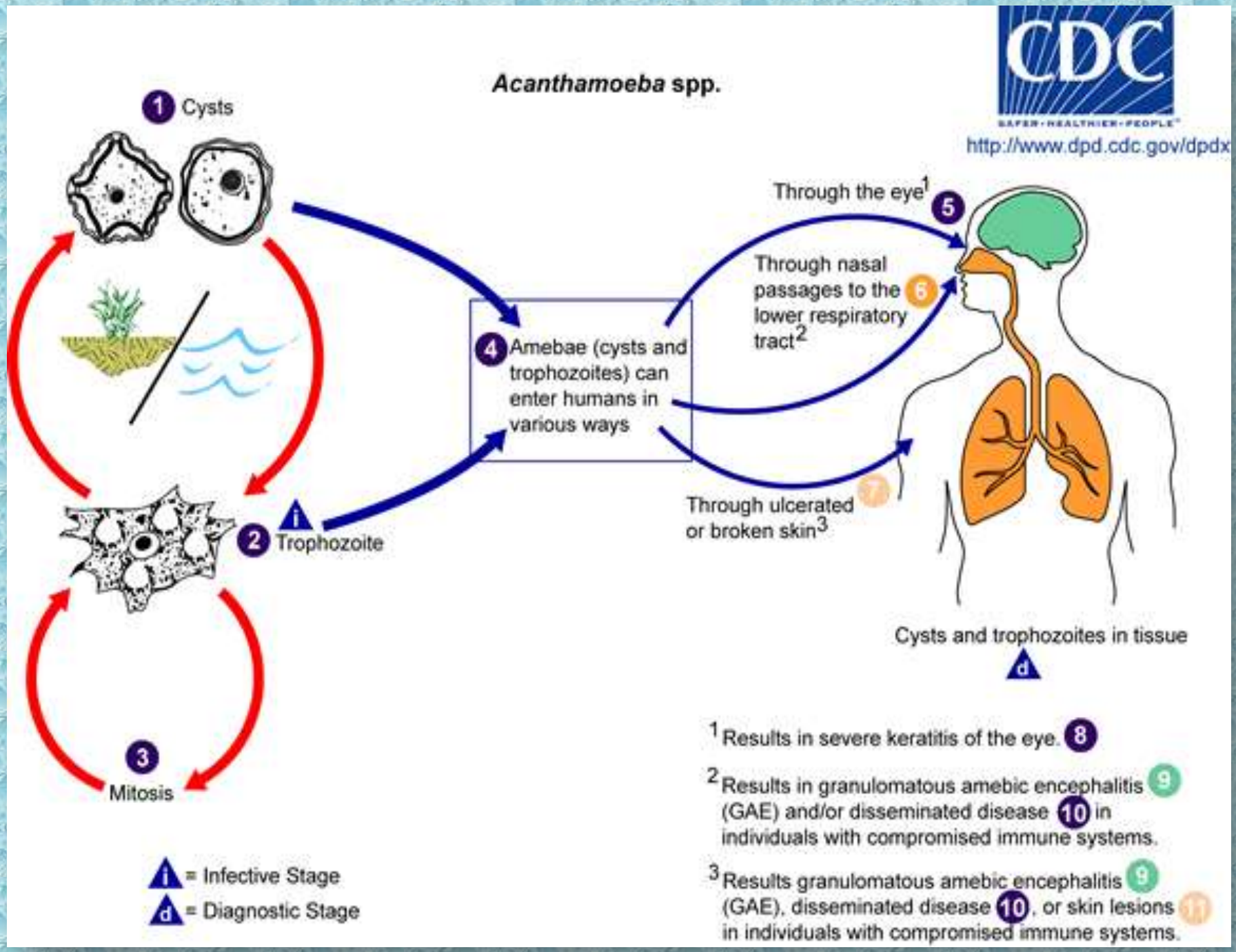
Sinüsler - Üregenital sistem - Göz

Enfeksiyon kaynağı TOZ – TOPRAK - SU

olduğu düşünülmekte

(Kistler klora dirençli ve kuruluğa dayanıklı)


Cerebral capillaries
Choroid plexus
2. *Acanthamoeba* migrate along the olfactory neuroepithelium pathway to gain entry into the CNS
4. *Acanthamoeba* invade into the CNS at the blood-brain barrier
3. *Acanthamoeba* disseminate via haematogenous spread
1. *Acanthamoeba* enter via the nasal route
1. *Acanthamoeba* enter into lungs via the nasal route followed by invasion of the intravascular space
2. *Acanthamoeba* enter via skin cut or lesion
Olfactory neuroepithelium route
Haematogenous route


Acanthamoeba spp.
CDC
SAFER·HEALTHIER·PEOPLE
http://www.dpd.cdc.gov/dpdx
1 Cysts
2 Trophozoite
i
3 Mitosis
4 Amebae (cysts and trophozoites) can enter humans in various ways
Through the eye[1] 5
Through nasal passages to the lower respiratory tract[2] 6
Through ulcerated or broken skin[3] 7
Cysts and trophozoites in tissue
d
[1] Results in severe keratitis of the eye. 8
[2] Results in granulomatous amebic encephalitis (GAE) and/or disseminated disease 10 in individuals with compromised immune systems.
[3] Results granulomatous amebic encephalitis (GAE), disseminated disease 10, or skin lesions 11 in individuals with compromised immune systems.
i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage

Klinik

Başlangıç sinsi (PAM'da akut)

Enfeksiyon subakut veya kronik olmaya eğilimli

Beyinde
FOKAL GRANÜLOMATÖZ MENİNGOANSEFALİT
(PAM'da diffuz meningoansefalit)

Hematojen yayılımla geldiklerinden

ilk lezyonlar DERİN DOKUDA

(Beyin yüzeyine doğru uzanmakta)

Beyinde YER KAPLAYAN LEZYON bulguları

- *Mental yeteneklerin değişmesi (%86)
- Baş ağrısı
- Epileptik nöbetler
- Hemiparazi
- Meninks irritasyon bulguları
- Uyku hali
- Ateş
- Dizoriyentasyon
- İrritabilite – Hırçınlık
- Ataksi

Beyinden hematojen yayılımla

Böbrek - Prostat - Uterus - Pankreas - Yaygın Dissemine (AIDS'te↑)

Ölüm sebebi → Pürülan Leptomenenjit



Acanthamoeba spp. Deri Lezyonları





B.mandrillaris Beyin ve Deri Lezyonları





Patojenite ve Patoloji

Hücreleri zedeleme mekanizması:

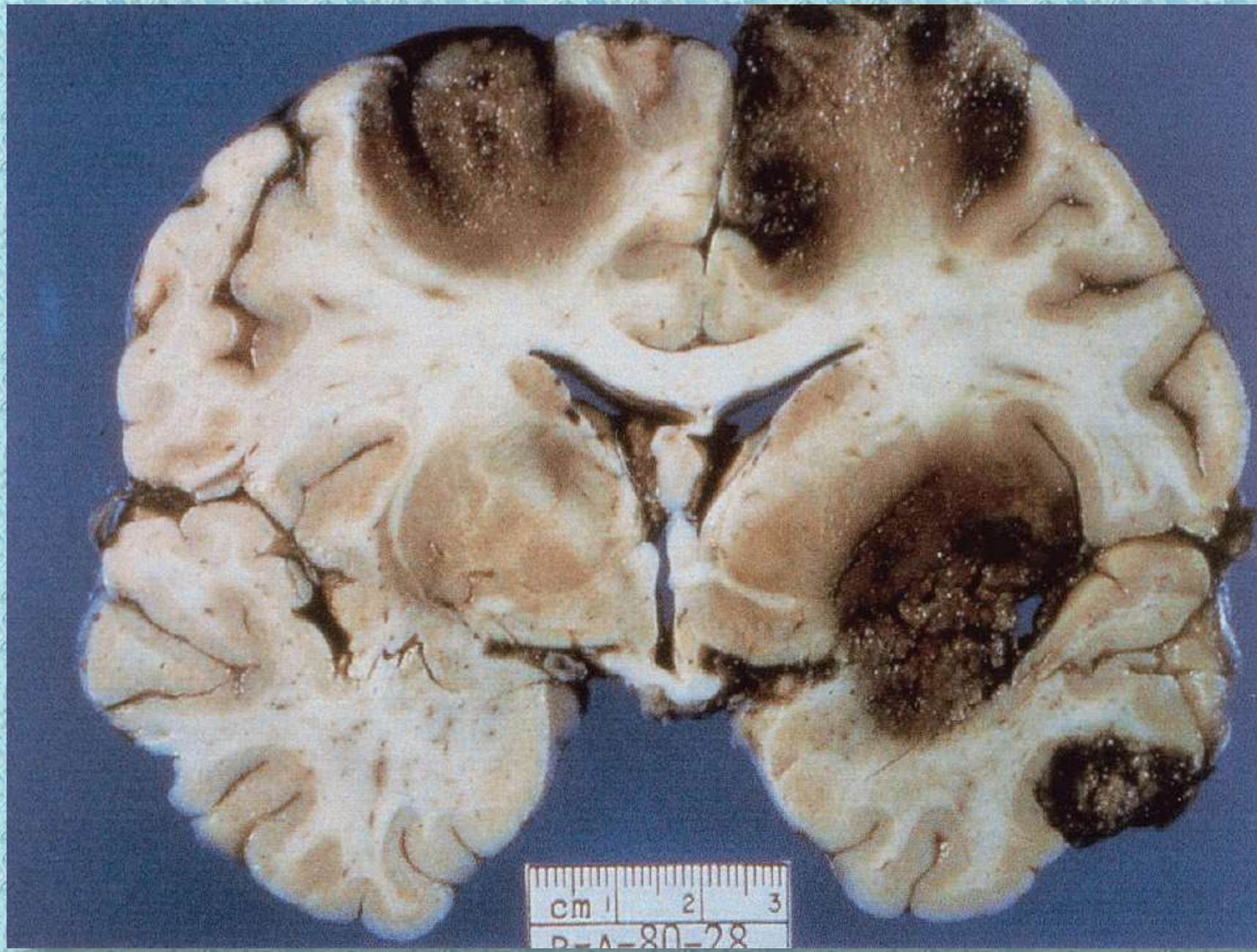
- Sitoplazmanın sindirimi (FAGOSİTOZ)
- Salınan enzimlerle hücre temasları aracılığıyla

HÜCRE LİZİSİ

Amiplerin dokular içinde
Üreme ve Yayılmaları çok yavaş
+
Bu protozoonlar bulundukları yerde
GRANÜLOM oluşturmakta

Böylece hastalık yavaş ilerlemekte ve aylarca sürecek şekilde kronik seyretmekte

- Beyinde ödem
- Nekrotik odaklar
- Nekroze granülomalar içeren kronik ansefalit bulguları
- Yer yer hemorajiler
- Dev hücreler
- Trofozoit: Akut nekrotik ve iltihaplı bölgelerde (özellikle kan damarları etrafında bol)
- Kist: Nekrotik doku içinde
- Granülomlar: Beyin-Deri-Böbrek-KC-Dalak-Uterus-Prostat


cm
2
3

Tanı

- *Radyoloji*

Lomber ponksiyondan önce mutlaka CT yapılmalı

(Kortekste multiple lezyon ve Ventriküllerde genişleme)

- *Lomber Ponksiyon (BOS)*

Hücre sayısı ↑(*Lenfosit)

Basınç ↑ - Protein ↑ - Glikoz ↓

- *Biyopsi*

İnvaziv bir yöntem (Gerekmedikçe yapılamaz)

- *Mikroskopik Tanı

Direkt: BOSta veya Beyin dokusunda

Acanthamoeba ve *Balamuthia* trofozoit / kistler

Boyama: Fe'li Hematoksilen – Romanoviski-

Akridin Oranj - Giemsa

- *Kültür

*Biyopsi materyalinde

BOS'un kültürü güç (*Acanthamoeba - Balamuthia*)

- *Antijen arama*

Biyopsi örneklerinde

IFAT ve İmmunoperoksidaz Yöntemi

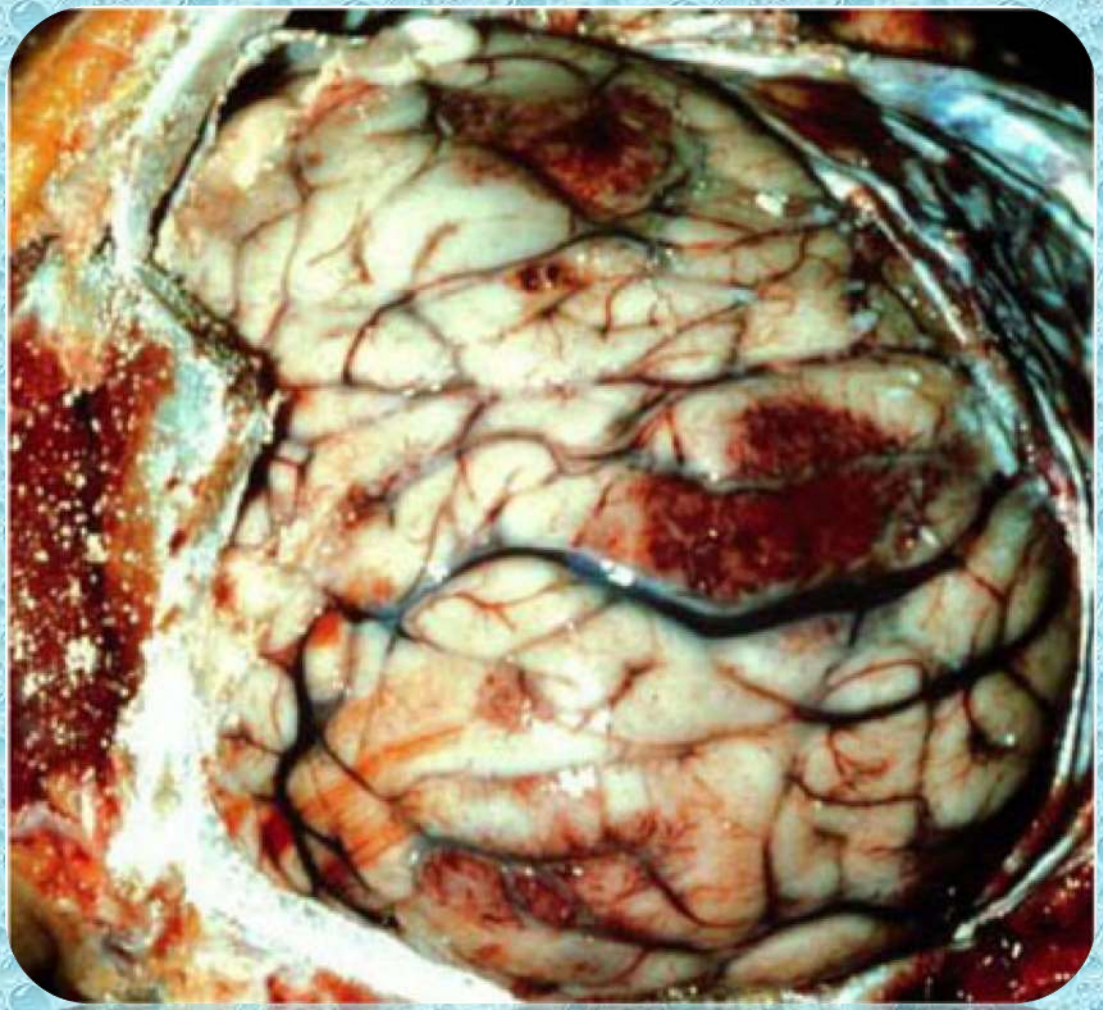
* Spesifik poliklonal ve monoklonal antikorlar

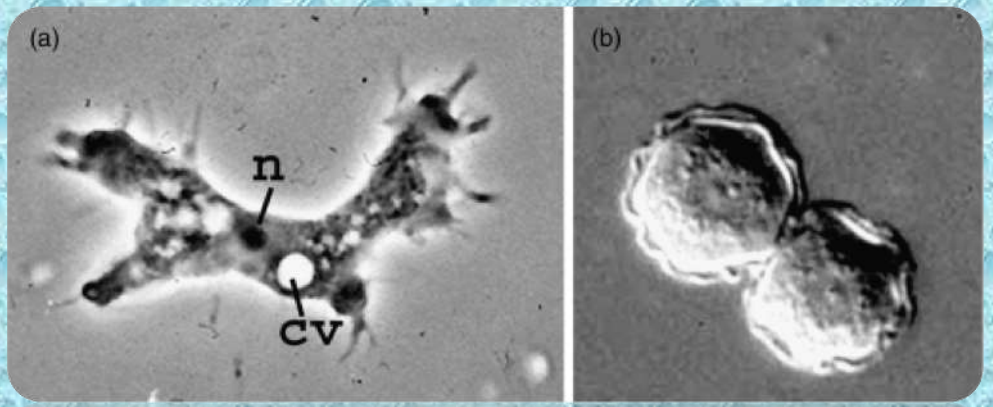
- *Moleküler Yöntemler*

Biyopsi materyali ve BOS → RT-PCR, PCR

Tür identifikasyonu;

DNA Enzim digestionu (RFLP) – Sekanslama - IFAT




(a)
n
cv
(b)





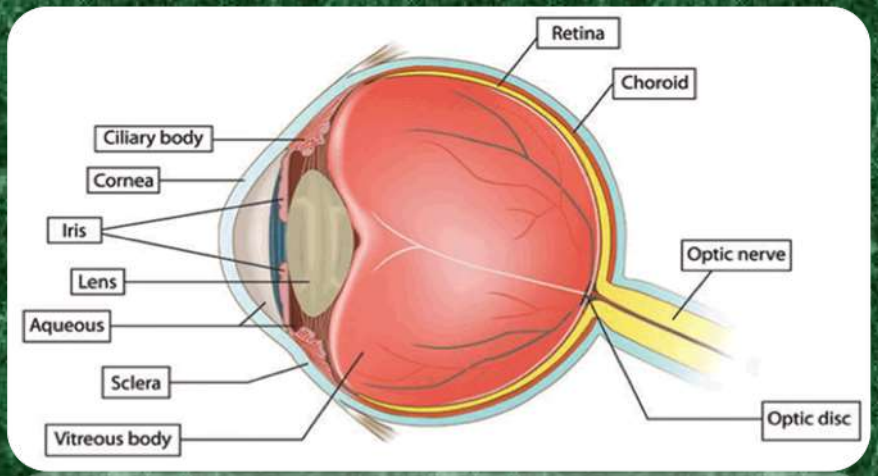
Kronik Amebik Keratit (KAK)

A.polyphaga (En sık)

Bağışıklığı sağlam kişilerde (GEA'nin aksine)

Korneanın kanlanması ø

Hematojen yolla etken gelemez



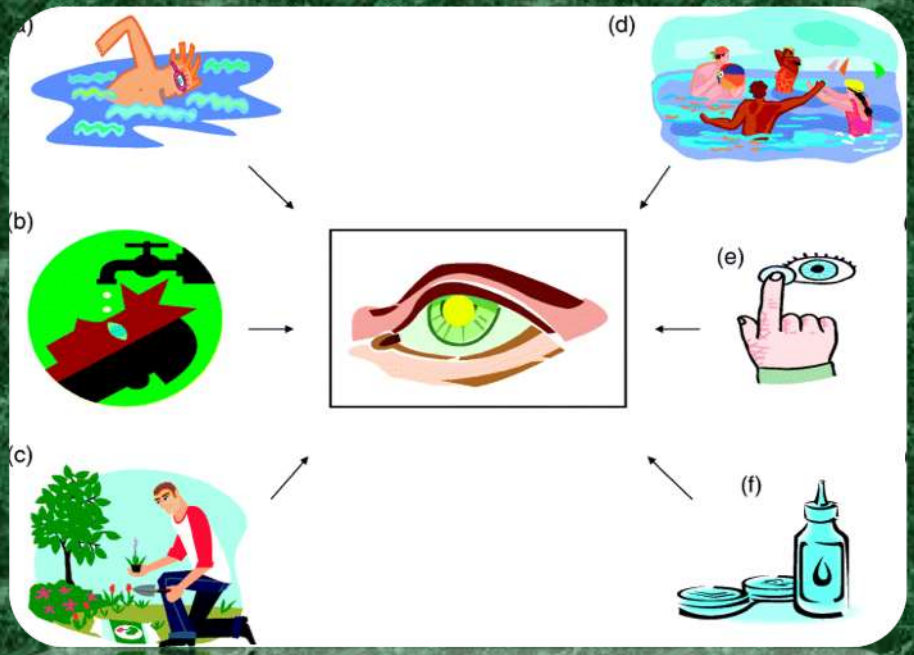
Acanthamoeba kistleri

Kuruluğa dayanıklı + Mukozya kolaylıkla inokülasyon

1985'den sonra KONTAKT LENSLERİN kullanımı ile enfeksiyon ↑

TRAVMAya maruz kalan gözlerde enfeksiyon

KAK RİSK FAKTÖRLERİ



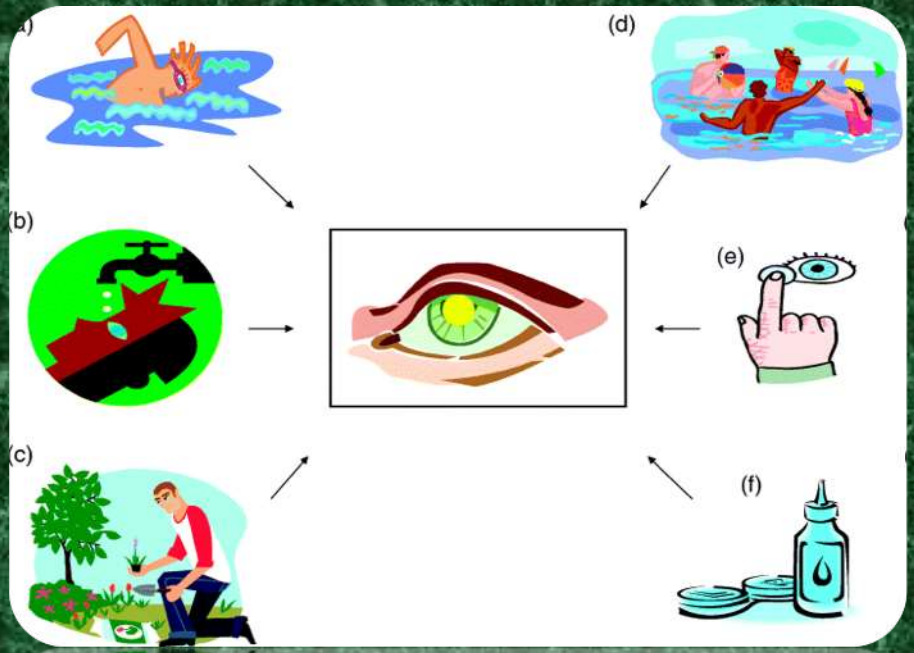
a- Göze travma

b-Toprakla çalışırken gözleri ovalama

c- Lens takarken ve taktıktan hemen sonra gözleri yıkama

d- Gözde lens ile yüzme

e- Lens ile su aktivasyonları yapma (su sıçratma vs.)



f- Elleri yıkamadan / iyice yıkamadan lenslerin takılması

g- Ev yapımı lens saklama solüsyonlarının kullanılması

h- Lenslerin son kullanma tarihinden daha uzun süre kullanılması

ı- Lenslerde biofilm tabakası oluşması

Klinik

Acanthamoeba Keratiti

Korneanın **kronik** bir enfeksiyonu

Herpes keratitini taklit etmekte

Hastaların öyküsünde

TRAVMA - KONTAMİNE SULAR - KONTAMİNE LENS

İnkübasyon dönemi: ~1 ay

***ŞİDDETLİ OKULAR AĞRI (Karakteristik)

Yabancı cisim hissi

Fotofobi

Bleforospazm

Konjoktivit

- Korneada epitel defekti
- **Stromal orantısız bir inflamasyon**

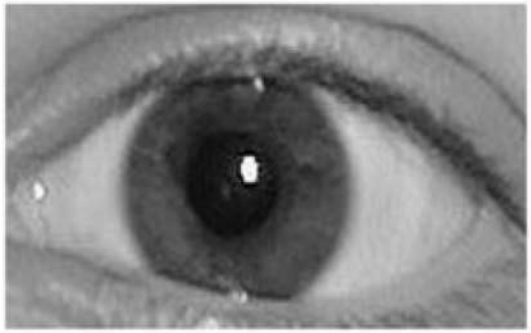
(*Nötrofil hakimiyeti ve Halka şeklinde)

- Ön kamarada püy birikimi (**Hipopion**)
- Sekonder enfeksiyon
- Konjonktivada şişme (**Kemozis**)
- Ön kamarada kan (**Hipema**)
- **Sekonder glokom**
- Katarakt

Kronik Ülseratif Keratit → Perforasyon

↓

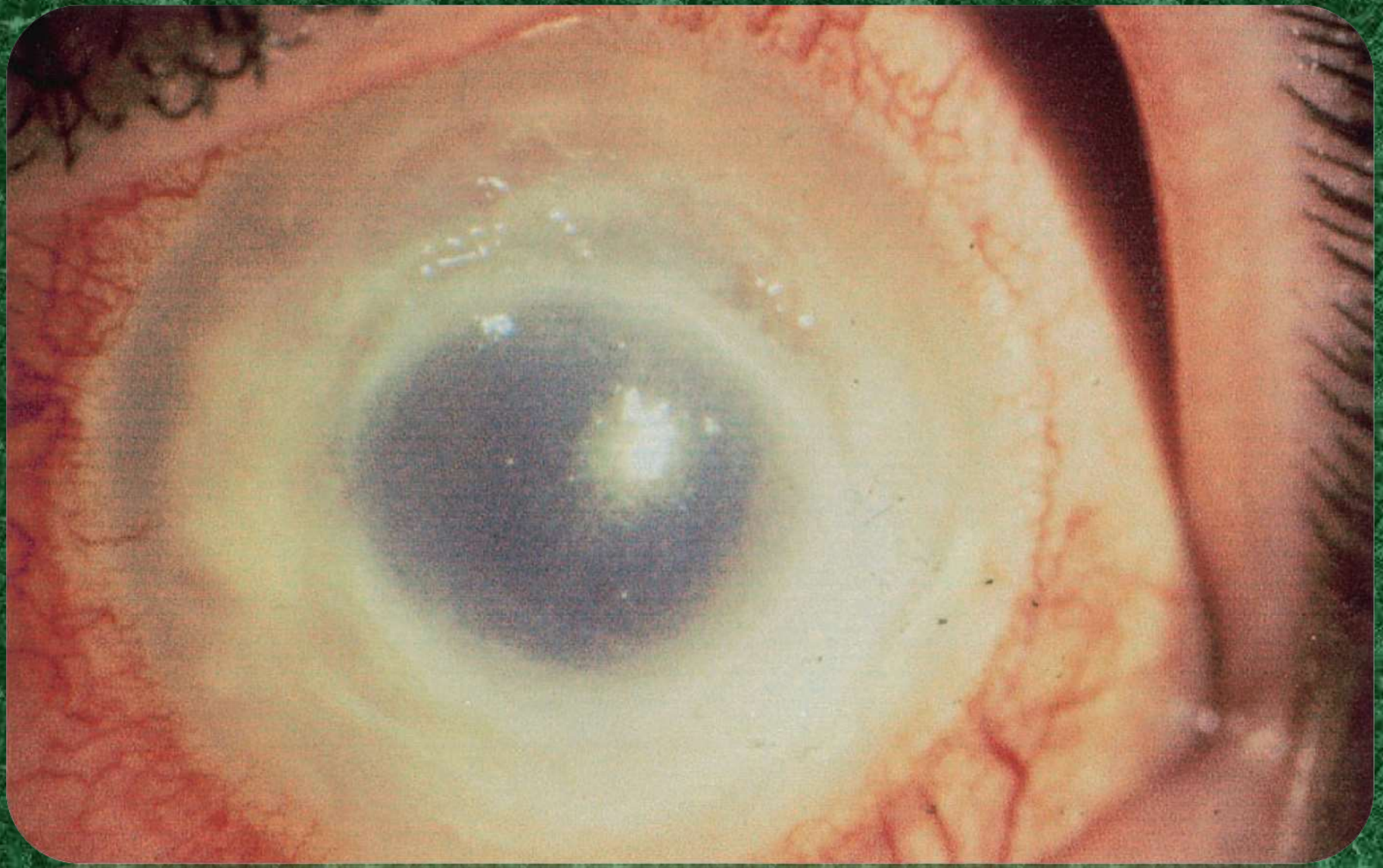
KÖRLÜK



Normal eye



Acanthamoeba-infected eyes



Patoloji ve Patognez

*Konjonktivadaki ve *Gözyaşındaki

BAKTERİLER

* **Kollegenaz** ve **Proteolitik enzimler**

↘ ↙

Nötrofil İnfiltrasyonu

Stromal Lamellarda bozulma - Ödem

Amipler korneeanın sellüler komponentinde çoğalmakta

Göz: **Pseudoherpetik Görünüm**

Tanı

KORNEAL KAZINTI ÖRNEĞİ

KORNEAL BİYOPSİ ÖRNEĞİ

LENSLER

LENS SAKLAMA SOLÜSYONLARI

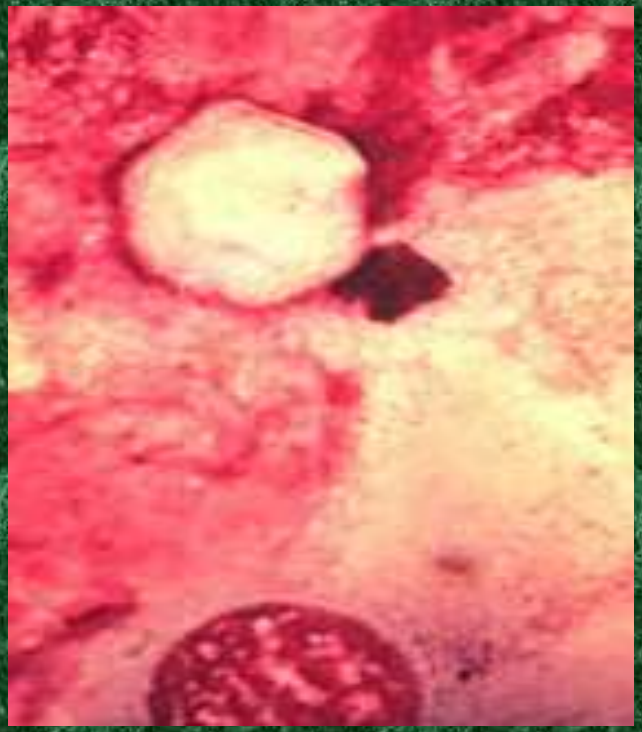
*Direkt inceleme ve *Boyama (Giemsa - Kalkoflor)

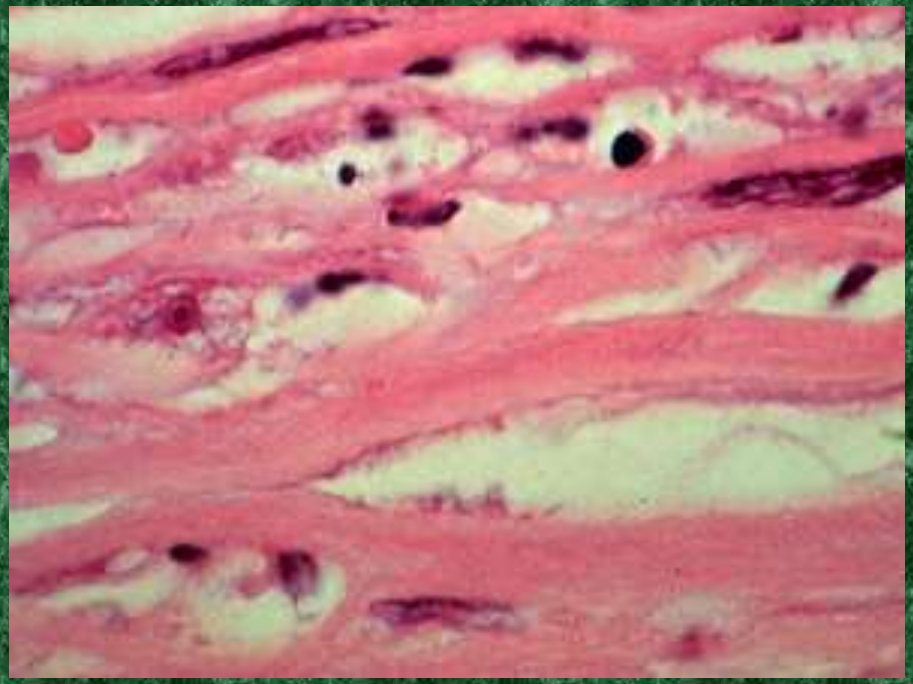
*Kültür (Nonnütrüsyon Agar)

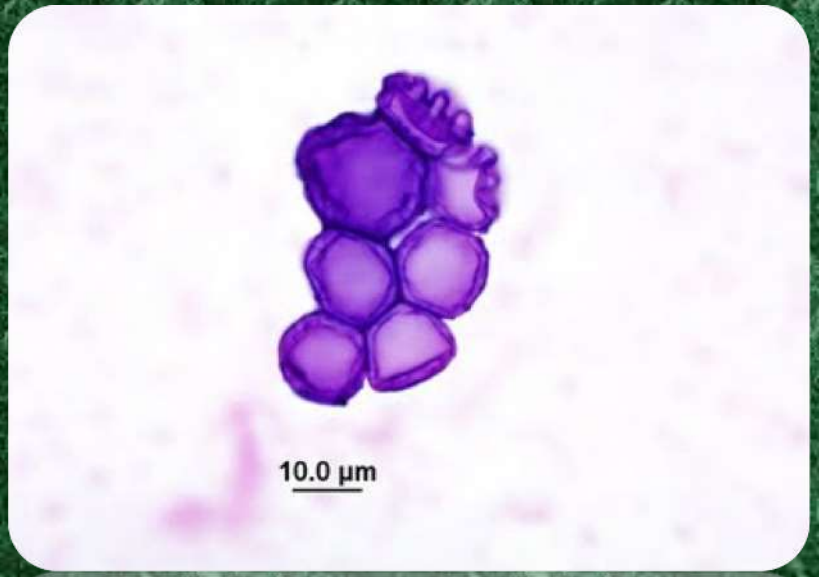
*RT-PCR - PCR

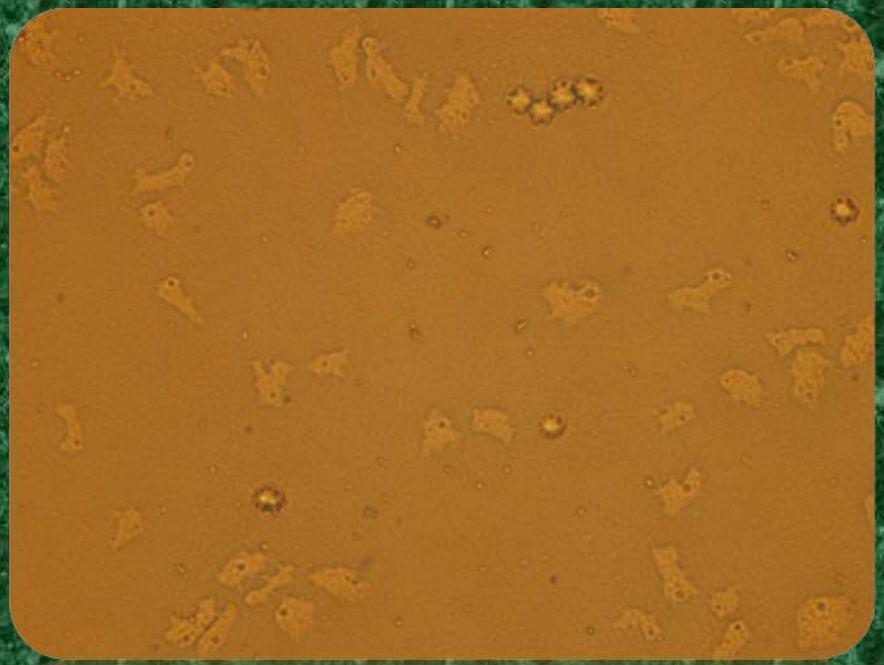
Tür identifikasyonu

RFLP - Sekanslama - IFAT






10.0 µm



Sappinia Amebik Ansefalit

İnkübasyon peryodu ve Bulaş yolu: Bilinmiyor

Nasofarinksten inhalasyonla / Hematojen yol

(Düşünülmekte)

İmmunitesi sağlam bir erkekte görülmüş

Etken:*S.pedata*

Sinus enf.(İlk bulgu) – Bulantı - Kusma - Frontal ağrı-

Fotofobi - Bulanık görme - Bilinç bulanıklığı

Tedavi olmuş

Tanı

MRI

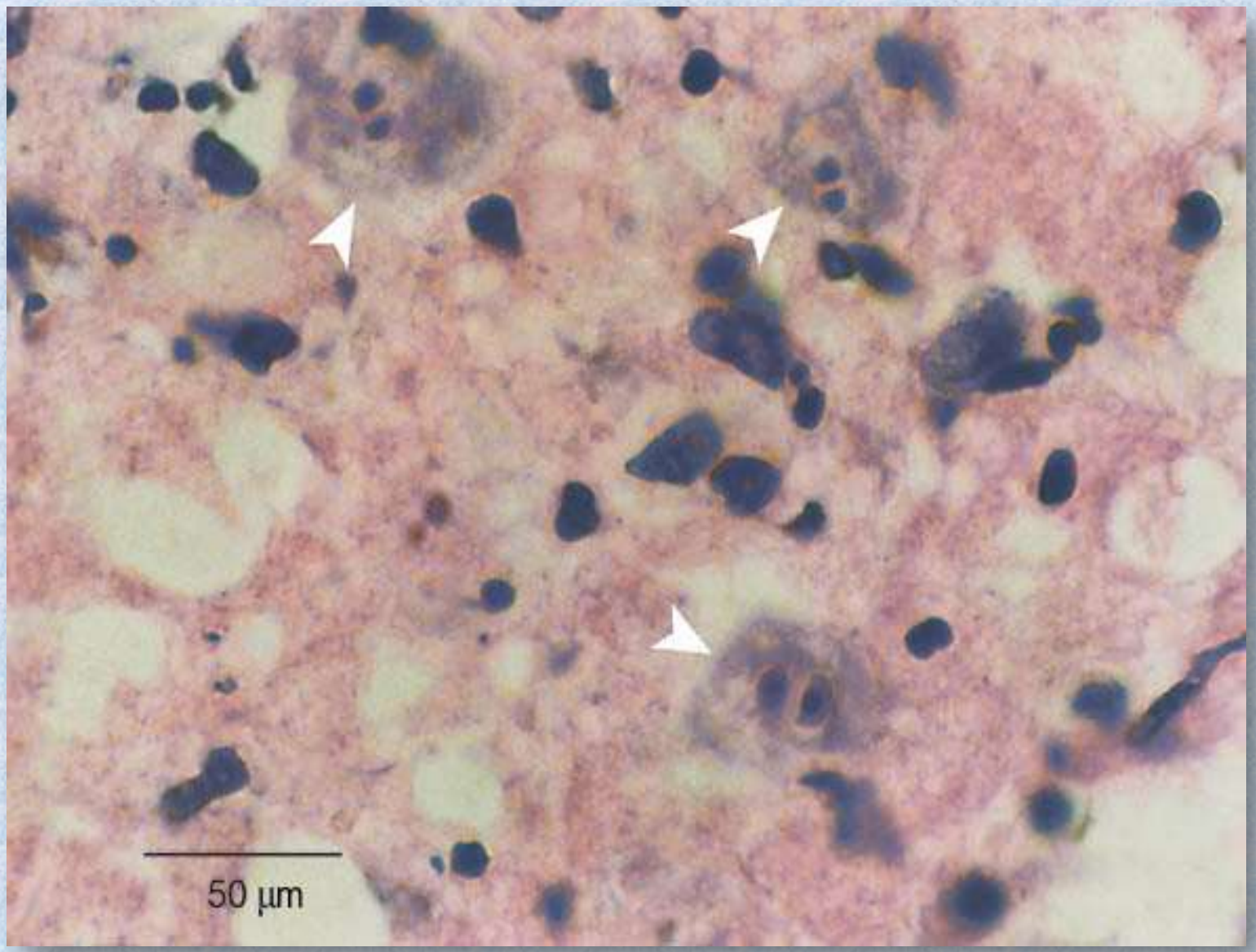
Tm benzeri soliter kitle

(Abse Ø)

Patoloji

- Nekrotizan hemorajik inflamasyon (Amipler)
- Eozinofiller Ø
- Granülom Ø

Kültür Biyopsi Materyalinde (+)


50 µm

DİKKAT EDİLMESİ GEREKENLER !!!

- HALKIN EĞİTİLMESİ

- Bağışıklığı baskılanmış kişilerin enfekte olabileceği düşünülen sulara (özellikle kaplıca, termal sular) GİRMEMELİ !

- İmmun durum ne olursa olsun musluk suyunun BURUNA ÇEKİLMEMESİ

- Riskli sulara girerken **BAŞI SUYA DALDIRMAMAK / BURUN KISKACI KULLANIMI**

- El / ayak derisinde herhangi bir lezyon bulunduğunda toprak ile uğraşılıyorsa **ELDİVEN / ÇİZME GİYİLMESİ**

- Lenslerin + lens saklama solüsyonlarının **HİJYENİK KULLANILMASI** belirtilen süreden **UZUN KULLANILMAMASI**