

Göz Kapaklarından ve Konjunktivadan Alınan Sürüntü Örneklerinde *Acanthamoeba* ve Diğer Serbest Yaşayan Amiplerin Araştırılması

The Investigation of *Acanthamoeba* and Other Free Living Amoeba in Swab Samples Obtained from Conjunctiva and Eye Lid

Önder Yünlü¹, Semra Özçelik¹, Mustafa Kemal Arıcı²

¹Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

²Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

ÖZ

Amaç: Çalışmada, çeşitli yakınmaları nedeniyle Göz Hastalıkları polikliniğine başvuran hastaların alt göz kapakları ve konjunktivadan alınan sürüntü örneklerinde *Acanthamoeba* ve diğer serbest yaşayan amip türlerinin prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu amaçla, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğine çeşitli nedenlerle başvuran 500 hastadan elde edilen alt göz kapağı ve konjunktiva sürüntü örnekleri incelenmiştir. Steril eküvyonlar kullanılarak elde edilen hasta örnekleri, içinde serum fizyolojik bulunan ve steril, ağız kapaklı tüplerde laboratuvara taşınmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında bir gün bekletilen örnekler, üzerine *Escherichia coli* ekilmiş Besleyici Değeri Olmayan Agar içeren plaklara inoküle edilerek 30°C'de inkübe edilmiştir. Üreme saptanan iki plaktaki amipler morfolojik kriterlerine göre tanımlanmıştır.

Bulgular: Çalışmada, 500 kişiden alınan sürüntü örneğinin birinde *Acanthamoeba* spp. (%0,2), birinde ise *Hartmannella* spp. (%0,2) üremiştir. Ancak bu hastalarda belirgin bir yakınma saptanmamıştır.

Sonuç: Serbest yaşayan amipler hem kendileri hem de içlerinde taşıdıkları bakteri ve virüsler nedeniyle potansiyel patojendirler. Son yıllarda *Acanthamoeba* keratitinin hızla yayılması bu canlıların gözle temasta olduğunu ortaya çıkarmaktadır. (*Türkiye Parazitol Derg* 2015; 39: 194-9)

Anahtar Kelimeler: *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, Konjunktiva

Geliş Tarihi: 14.01.2015

Kabul Tarihi: 23.06.2015

ABSTRACT

Objective: In the study, it is aimed to determine the prevalence of *Acanthamoeba* and other free-living amoeba (FLA) species in the swab samples obtained from conjunctiva and lower eye lid.

Methods: For this purpose, swab samples from the 500 patients' eye lid and conjunctiva were obtained who admitted to Cumhuriyet University, Research and Application Hospital, Department of Ophthalmology with variety of reasons. Swab samples were carried out using sterile cotton swab in steril tubes. The swab samples were inoculated onto non-nutrient agar (NNA). Live *Escherichia coli* was used as food source for the growth of the FLA. The NNA plates were incubated at 30°C and examined daily using light microscope for two weeks. For morphotyping of the trophozoites and cysts of the FLA were used taxonomic keys.

Results: Two of the 500 swab samples (0.4%) were positive for FLA. One of them (0.2%) were identified as *Acanthamoeba* spp. and other was identified as *Hartmannella* spp. However, these patients did not reveal any complaints yet.

Conclusion: FLA both themselves and bacteria carrying in their body as reservoirs are potential pathogen. The rapid spread of *Acanthamoeba* keratitis in recent years reveal that these microorganisms are in contact with the eyes. (*Türkiye Parazitol Derg* 2015; 39: 194-9)

Keywords: *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, conjunctiva

Received: 14.01.2015

Accepted: 23.06.2015

Bu çalışma 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde sunulmuştur, 29 Eylül - 5 Ekim 2013, Denizli, Türkiye.

This study was presented in the 18th National Parasitology Congress, 29 September - 5 October 2013, Denizli, Turkey.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr. Semra Özçelik. E.posta: ozceliksemra@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2015.4119

©Telif hakkı 2015 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2015 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

Serbest yaşayan amipler doğada, rutubetli ya da ıslak topraklarda, göllerde, yüzme havuzlarında, baraj göllerinde ve tatlı su birikintilerinde (1, 2), çeşme sularında (3), kontakt lens solüsyonlarında (4, 5), havada yaygın olarak bulunmaktadır (6). Ancak serbest yaşayan amipler içinde *Acanthamoeba* türü diğer türlere göre çevresel ortamlarda daha fazla bulunmaktadır (5). Toprak, su ve havayla sıkı temasta olan insanlara serbest yaşayan amiplerin yerleşmesi ve hastalık oluşturabilmesi olasılığı yüksektir. Ayrıca immün sistemleri baskılanmış kişilerde, AIDS hastalarında, kanserlilerde, organ transplantasyonu yapılanlarda, immün sistemi baskılayan ilaçların kullanılması durumunda, yetersiz beslenme ve devamlı stres altında kalma durumlarında, serbest yaşayan amiplerin insan vücuduna girerek patojen etki oluşturabilme ve hastalıklara neden olma riski artmaktadır (5). Ayrıca serbest yaşayan amip türleri, bazı patojen olan *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., ve *Proteus* sp., gibi mikroorganizmaları içlerinde taşıyarak insanlara bulaşmasında rol oynarlar (7). Serbest yaşayan amipler doğal yada yapay olarak oluşturulan su ortamlarında *Legionella* türleri ile birlikte bulunmakta ve *Legionella*'larla kontamine olmuş ortamlardan sıkça *Hartmannella*, *Acanthamoeba* ve *Naegleria* izole edilmektedir (8). Serbest yaşayan bu amip türlerinin hepsi bakteri, mantar ve diğer küçük partiküllerle beslenmektedirler. Serbest yaşayan amiplerle oluşan enfeksiyonlar Avrupa, Amerika, Avustralya, Afrika ve Asya'dan rapor edilmiştir (5). Serbest yaşayan amiplerden *Acanthamoeba* spp. nin çoğunlukla immün baskın bireylerde ve kronik hastalığı olanlarda granüloamatöz amibik ensefalite (GAE) neden olduğu bilinmektedir (7). Ayrıca bu amip cinsi insanlarda *Acanthamoeba* keratiti (AK) olarak bilinen ağrılı ve görmeyi engelleyen kornea hastalığına neden olabilmektedir. Eğer enfeksiyon hemen tedavi edilmezse kornea tahribatına, görme kaybına ve sonuçta körlüğe ve gözün çıkarılmasına yol açmaktadır (5). *Acanthamoeba* keratiti, suyla bulaşan hastalıklarda *Acanthamoeba* spp.'nin neden olduğu, göl ya da havuzlarda kontakt lens kullanarak yüzme sonrası oluşan ya da steril olmayan, evde hazırlanmış kontakt lens solüsyonları vasıtasıyla bulaşan bir göz hastalığıdır (7). AK'nin tanısı ve tedavisi zordur. Çoğunlukla fungal veya atipik Herpes simplex keratiti olarak yanlış tanı almaktadır. AK ilk kez İngiltere ve ABD'den bildirilmiş olup olgularda ağrılı ve giderek görmeyi engelleyen korneal bir hastalık olarak gözlenmiştir (9-11). *Acanthamoeba*'nın çok sayıda türü *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. hatchetti*, *A. culbertsoni*, *A. rhysodes*, *A. griffini*, *A. quina* ve *A. lugdunensis* etken olarak AK hastalarından rapor edilmiştir (5). AK olgu sayısındaki artışı kontakt lens kullanımı ve kötü lens hijyeni ile ilişkilendirilmektedir. Ancak insanların hava, toz ve toprakla temasına bağlı olarak gözlerinde (konjunktiva ve göz kapaklarının iç kısmında) serbest yaşayan amiplerin bulunma ve yerleşme olasılığı ile ilgili olarak yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Son yıllarda, *Hartmannella* cinsinden *H. vermiformis*'in de kontakt lens kullanan kişilerde keratit oluşturabildiği bildirilmiştir (12, 13). Lens kullanımı olmadan da bu amipler gözde saptanabilir mi? Bu nedenle, insanda hastalık oluşturabilen ya da potansiyel patojen olan serbest yaşayan amiplerin, Göz polikliniğine çeşitli nedenlerle başvuran kişilerin gözlerinde varlığının araştırılması bu çalışmada amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi Göz Anabilim Dalı polikliniğine çeşitli yakınmalarla gelen hastalardan 2012 Eylül-Kasım aylarında toplanan 500 konjunktiva ve/veya alt göz kapağı sürüntü örneğinden serbest yaşayan amip türleri araştırıldı. Çalışmaya başlamadan önce Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna başvurularak onay alınmıştır.

Göz Kapağı Sürüntü Örneklerinin Alınışı

Göz hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğinde, çeşitli nedenlerle muayene için gelen hastaların onamları alındıktan sonra, adı, soyadı, yaşı ve yakınmalarını içeren kısa bir anket uygulandı. Her bir hastaya numara verilerek kaydedildi. Alt göz kapağının iç kısmından ve konjunktivadan steril pamuk uçlu eküvyonlar ile alınan sürüntü örnekleri, içinde 1 mL serum fizyolojik (SF) bulunan steril tüplere alındı.

Örneklerin Muhafaza Edilmesi ve Ekilmesi

Elde edilen örnekler, eküvyona bulaşan parazitin serum fizyolojik sıvısı içine düşmesi için laboratuara getirilerek oda ortamında bir gece bekletildi. Örnekler, ertesi gün daha önceden üzerine canlı *Escherichia coli* ekimi yapılmış olan NNA (non nutrition agar) plaklarına inoküle edildi. Plakların ağızları parafilmle kapatılarak üç gün süresince 30°C de inkübe edildi.

Örneklerin Işık Mikroskopunda İncelenmesi

Etüvde üç gün bekletilen plaklar ilk kontrol için etüvden dışarı çıkartılarak ışık mikroskopunda 10'luk objektif altında kontrol edildi. İlk kontrolde negatif sonuç veren plaklar iki hafta sonra tekrar incelenmek üzere muhafaza edildi. Pozitif çıkan örneklerin ise mikroskopta detaylı incelemesi yapılarak hem kist hem de trofozoit formları yönünden ilgili anahtarlar kullanılarak tanımlamaları yapıldı (14, 15). Kist ve trofozoit formlarının ayrı ayrı fotoğrafları çekildi ve pozitif çıkan bu plaklardan tekrar pasaj yapılarak örnekler yeniden elde edildi. Serbest yaşayan amip açısından pozitif bulunan petri plaklarının mikroskop altında kist ve trofozoit fotoğrafları çekildi. Ayrıca bu plaklardan alınan sürüntü örneklerinin SF içinde hazırlanan lam lamel arası incelemelerle de özellikle 40'luk objektif altında fotoğrafları alınmıştır.

Isı Tolerans Testi

Pozitif örneklerden ikinci pasajlar yapıldıktan sonra, üç yeni NNA bulunan petri plağına pasaj yapıldı. Bunlar 37°C, 42°C ve 52°C'de inkübe edildi.

BULGULAR

Çalışmaya, üç ay süresince çeşitli nedenlere bağlı olarak göz polikliniğine başvuran kişiler alınmış, kişilerin demografik özelliklerini içeren kısa bir anket uygulanmıştır. İncelenen 500 hastanın; yaş, cinsiyet ve göz yakınmaları açısından elde edilen bulguları Tablo 1'de özetlenmiştir. Serbest yaşayan amipler yönünden pozitif bulunan iki hastanın önemli bir yakınması olmadığı ve görme bozukluğu nedeniyle hastaneye başvurduğu ve kontakt lens kullanmadığı saptanmıştır.

500 kişiden alınan göz kapağı sürüntü örneğinin birinde *Acanthamoeba* spp. (%0,2), birinde ise *Hartmannella* spp. (%0,2) üremiştir. Pozitif saptanan hastalardan birinde, hem plaklar üzerinde

Tablo 1. Göz polikliniğine gelen hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı, yaş aralıkları ve polikliniğe gelme nedenleri

Yaş aralığı	Erkek hasta sayısı	Kadın hasta sayısı	Hastanın göz polikliniğine geliş nedeni
18 – 30	79	54	Kontakt lens kullanımına bağlı enfeksiyon
			Bakteriyal enfeksiyon
			Kontakt lens kullanımına bağlı göz kuruluğu
31 – 40	45	40	Kızarıklık yanma ve şişlik
			Yabancı cisim batması
			Bakteriyal enfeksiyon
41 – 50	18	31	Batma ve yanma
			Blefarit
			Glokom
51 – 60	40	42	Katarakt
			Ağrı ve yanma
			Görme bozukluğu
61 – 70	47	28	Katarakt amaliyatı sonrası enfeksiyon
			Batma ve yanma
			Görme kaybı
71 – +	27	22	Katarakt
			Üveyit
			Blefarit
			Görme kaybı

yapılan kist ve trofozoit formların incelenmesinde hem de lam lamel arası serum fizyolojikte yapılan incelemelerde morfotiplendirme kaynaklarından da faydalanılarak tanımlamalar yapılmıştır (14, 15). Bu örneğin *Acanthamoeba* spp. olduğu kist formlarının endokist ve ekzokistindeki girinti ve çıkıntılardan anlaşılmıştır (Resim 1a).

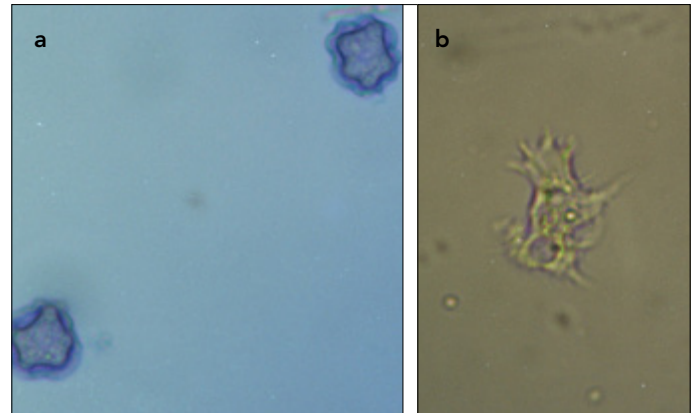
Aynı örneğin trofozoit formlarının serum fizyolojik içinde hazırlanan preparattaki görüntüsü, acanthapod yapıları Resim 1b'de sunulmuştur.

Göz polikliniği hastalarından alınan sürüntü örneklerinden birinde de *Hartmannella* spp. üretilmiştir. Bu hastanın sürüntü örneklerinden üretilen amibin SF içinde hazırlanan preparatlarda ince uzun çubuk şeklinde görülen tipik trofozoitleri Resim 2 a-c'de gösterilmiştir.

Ayrıca ısı tolerans testlerinde de pozitif saptanan iki suşun plaklarının 37°C, 42°C ve 52°C'de inkübasyonunda herhangi bir üreme saptanamamıştır. Bu bulgu, izole edilen suşların patojen suş olmama ihtimalini arttırmaktadır.

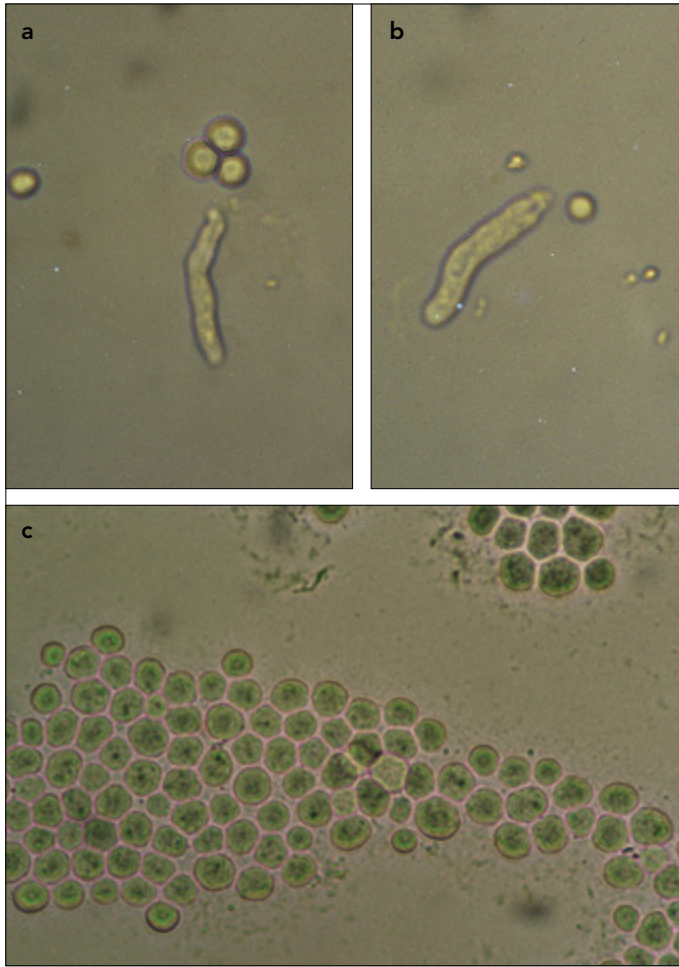
TARTIŞMA

Serbest yaşayan amipler; primer amebik meningoensefalit (PAM), granulomatöz amebik ensefalit (GAE), *Acanthamoeba* keratiti (AK) ve kutanöz lezyonlar oluşturan etkenlerdir. AK, bağıışıklığı yeterli veya yetersiz olan bireylerde meydana gelebilirken, GAE ve kutanöz *Acanthamoebiasis* olgularına AIDS'li hastalar da dahil olmak üzere bağıışıklık sistemi zayıflamış bireylerde daha



Resim 1. a, b. Alt göz kapağı sürüntüsünden üretilen *Acanthamoeba* spp. kistlerinin SF içinde hazırlanan preparatta 40x büyütmede görünümü (Endokistin daha belirginleşmesi için lam-lamel arasına metilen mavisi damlatılmıştır (a), üretilen *Acanthamoeba* spp. trofozoitlerinin SF içinde hazırlanan preparatta 40x büyütmede görünümü (b))

fazla rastlanmıştır (5). *Acanthamoeba*'nın hızlı tanısı başarılı bir tedavi için oldukça önemlidir. *Acanthamoeba* enfeksiyonlarının tanısı ve tedavisi; enfeksiyonun nadir görülmesi, çoğu doktorun hastalık belirtilerine aşına olmaması nedeniyle gecikebilmektedir. Dokularda *Acanthamoeba*'yı tanımlamak için yeni moleküler yöntemlerin kullanımı enfeksiyonu tanımlamak için daha hızlı yollar sağlamaktadır. Hücre temasına bağlı olmasına rağmen *Acanthamoeba*'nın hastalığa neden olduğu mekanizmalar hala



Resim 2. a-c. Göz sürüntü örneğinden üretilmiş olan *Hartmannella* spp. nin trofozoit formunun SF içinde hazırlanan preparatta 40x büyütmedeki görünümü (a, b), kist formunun NNA yüzeyinden 40x büyütmedeki görünümü (c)

çözülemezdir. Son zamanlardaki çalışmalar slgA'nın, tamamlayıcı unsurların, nötrofillerin ve makrofajların enfeksiyona dirençte önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (16). İnsanda hastalığa neden olan bir potansiyele sahip olduğu bilinen çeşitli bakterilerle, *Acanthamoeba*'nın zincir oluşturduğunun fark edilmesi, bu amiplerin bakteriyel patojenler için bir rezerv hizmeti gördüğünü ortaya çıkarmıştır (8). Son zamanlarda bildirilen *Acanthamoeba* enfeksiyonu olgularındaki artış, bu organizmaların hastalık için sahip oldukları potansiyelin daha fazla farkına varılmasının bir sonucu olabilir. *Acanthamoeba* enfeksiyonunun artmasında; HIV virüsü taşıyan, kanser tedavisi gören hastaların sayısının artması ve organ nakilleri sırasında, bağışıklığı bastırıcı tedavilerin uygulanması gibi çok sayıda faktör hesaba katılabilir (7). Serbest yaşayan amiplerin klinik örneklerden izole edilmesinde daha çok keratitli hastalardan elde edilen kornea kazıntıları ya da kontakt lens solüsyonlarından elde edilen materyaller kullanılmıştır (17, 18). Bunun yanında keratitli olmayan sağlıklı bireylerden göz florasından toplanan sürüntü örnekleri de *Acanthamoeba* açısından araştırılmıştır. 2005 yılında Malezya'da Anisah ve ark. (19) yapmış olduğu bir çalışmada, kontakt lens kullanmayan, sağlıklı okul öğrencilerinden oluşan deneklerden toplamda 286 göz sürüntü örneği toplanmıştır. Steril pamuk uçlu eküvyonlar kullanarak gözün normal florasın-

dan elde ettikleri sürüntü örneklerini, *E. coli* ekilmiş NNA içeren plaklara ekmiş ve 30°C'de 2 hafta inkübe ettikten sonra ışık mikroskopunda incelemişlerdir. Fakat yapılan bu çalışmada *Acanthamoeba* açısından pozitif bir sonuç elde edilememiştir. Ancak, göz hastalıklarıyla ilgilenen araştırmacılar tarafından çok sayıda yayında, kontakt lens kullanımına bağlı ya da değil AK olguları sürekli bildirmeye devam etmektedir (20, 21). Page ve Mathers tarafından yapılan bir çalışmada, 1999 ve 2011 yılları arasında göz polikliniğine gelen hastalardan yapılan mikroskopik incelemelerde, 372 hastanın *Acanthamoeba keratiti* olduğu konfokal mikroskopi ile kanıtlanmış ve hastaların % 64'ünde yumuşak kontakt lens kullanımı hikayesi olduğu bildirilmiştir (22).

Son yıllarda keratitli olgulardan saptanan tür ve suşlarla ilgili bildirimler de bulunmaktadır. Çoğunlukla *A. castellani* T4 tipi olmakla birlikte, T10 saptanan olgular da bildirilmiştir (23).

Ülkemizde yapılan çalışmalardan, Akisü ve ark. (24) 1999 yılında bir AK'li olguyu bildirmişlerdir. Sağ gözünde ağrı, fotofobi yakınmaları olan bu hastada keratit tanısı konmuş ve korneadan alınan örnekte *Acanthamoeba* trofozoitleri saptandığı bildirilmiştir.

Yine ülkemizde, Demirci ve ark. (25), beş yaşında, kontakt lens kullanmayan bir çocukta *Acanthamoeba* spp. saptadıklarını bildirmişler, fakat etkenin genotiplendirilmesi yapılmamıştır.

Özkoç ve ark. (26), kontakt lens kullanmayan ancak travmalı iki olguda T4 genotipinde *Acanthamoeba* sp. ve *Paravahlkampfia* sp saptadıklarını bildirmişlerdir.

Ertabaklar ve ark. (27), her iki gözde kızarıklık, batma, yanma ve görmede bulanıklık şikayetleri ile başvuran 23 yaşındaki kontakt lens kullanan bir olguda, klinik ve laboratuvar incelemeleri sonrasında AK tanısı koymuşlar ve etkeni T4 genotipinde '*Acanthamoeba castellanii*' olarak tanımlamışlardır.

Niyyati ve ark. (13); kontakt lens kullanan 90 gönüllü üzerinde yapmış oldukları çalışmada, altı kişide T3,T4 ve T5 genotipinde *Acanthamoeba* spp., üç kişide de *Hartmannella vermiformis* saptadıklarını bildirmişlerdir. *Acanthamoeba* ve *Hartmannella* gibi serbest yaşayan amiplerin kontakt lens kullanan hastalarda bulunuşunun, bu kişiler için önemli bir risk oluşturduğunu vurgulamışlardır.

Ülkemizde insanlardan, göz yakınmaları sonucu *Acanthamoeba* spp. saptandığı bildirilmiş olmasına karşın *Hartmannella* spp. ile ilgili yayın bulunmamaktadır. Ancak son yıllarda *H. vermiformis*'in insanlardan izole edildiğine dair yabancı yayınların bulunması, bu amibe de dikkati çekmektedir (12, 13). *H.vermiformis*'in, Sivas ve çevresinden içme suyu örneklerinde, PCR yöntemiyle saptandığı bildirilmiştir (2). Daha önce çevresel örneklerde saptanan *Hartmannella* spp.'nin ülkemizde ilk kez bu çalışmada insandan izole edildiği bildirilmektedir.

Yapılan incelemeler sonucunda; belirgin bir yakınması olmayan ve kontakt lens kullanmayan iki hastada, *Acanthamoeba* ve *Hartmanella* cinsine ait serbest yaşayan amip saptanmıştır. Moleküler düzeyde bir araştırma yapılmadığı için, pozitif bulunan örnekler sadece cins düzeyinde tanımlanabilmiştir. Pozitif örneklerin ısı tolerans testleri yapıldığında ise, amiplerin daha yüksek ısılarda inkübe edildiklerinde, üremediği gözlenmiştir. Bu durum, suşların apatojen olduklarına dair bir delil oluşturmaktadır. Ancak

her iki türün de bakteri ve virus gibi patojenleri taşıyabilme riski bulunmaktadır.

SONUÇ

Ülkemizde gerek hekimlerin, gerekse laboratuvar sorumlularının serbest yaşayan amipler konusunda daha bilinçli hareket etmeleri yararlı olacaktır. Çalışmalardan da görüldüğü üzere keratiti olmayan ya da kontakt lens kullanmayan bireylerin de *Acanthamoeba* enfeksiyonu açısından risk altında olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle insanların *Acanthamoeba* enfeksiyonları açısından uyarılmaları ve bilgilendirilmeleri gerekir. Ayrıca, serbest yaşayan amiplerin gözde yerleşiminin kliniklerde daha detaylı bir şekilde incelenmesi ve irdelenmesi gerekmektedir. Bu amiplerin tıpkı bir Truva atı gibi içlerinde bazı bakteriyel ve viral patojenleri taşıyabildikleri unutulmamalı, hastalık oluşturma potansiyelleri göz önünde bulundurulmalıdır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (29.03.2011-73).

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - S.Ö., M.K.A.; Tasarım - S.Ö.; Denetleme - S.Ö.; Kaynaklar - S.Ö., Ö.Y.; Malzemeler - S.Ö., Ö.Y., M.K.A.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - S.Ö., Ö.Y.; Analiz ve/veya Yorum - S.Ö.; Literatür taraması - S.Ö., Ö.Y.; Yazıyı Yazan - S.Ö.; Eleştirel İnceleme - S.Ö.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı (CÜBAP) tarafından T-479 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the Cumhuriyet University Clinical Studies (29.03.2011-73).

Informed Consent: Written informed consent was obtained from patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - S.Ö., M.K.A.; Design - S.Ö.; Supervision - S.Ö.; Funding - S.Ö., Ö.Y.; Materials - S.Ö., Ö.Y., M.K.A.; Data Collection and/or Processing - S.Ö., Ö.Y.; Analysis and/or Interpretation - S.Ö., Literature Review - S.Ö., Ö.Y.; Writer - S.Ö.; Critical Review - S.Ö.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: This study was supported by Cumhuriyet University Research Projects Department (CUBAP) (Project No: T-479).

KAYNAKLAR

- Özçelik S, Coşkun KA, Yünlü Ö, Alim A, Malatyalı E. The prevalence, isolation and morfotyping of potentially pathogenic free-living amoebae from tap water and environmental water sources in Sivas. *Türk Parazit Derg* 2012; 36: 198-203. [CrossRef]
- Coşkun KA, Özçelik S, Tutar L, Elaldi N, Tutar Y. Isolation and identification of Free-Living Amoebae from tap water in Sivas, Turkey. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 675145. [CrossRef]
- Akın Polat Z. Toprak ve su örneklerinden özgür yaşayan amiplerin soyutulması tanımlanması özelliklerinin belirlenmesi ve patojenlikle-

- rinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Cumhuriyet Üniversitesi: 2001.
- Thomas JM, Ashbolt NJ. Do Free-Living Amoebae in treated drinking water systems present an emerging health risk? *Environ Sci Technol* 2011; 45: 860-69. [CrossRef]
- Cabral FM, Cabral G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 273-307. [CrossRef]
- Li-Li Chan, Joon-Wah Mak, Yoon-Tong Low, Thuan-Tzen Koh, Init Ithoi, Shar Mariam Mohamed. Isolation and characterization of *Acanthamoeba* spp. from air-conditioners in Kuala Lumpur, Malaysia. *Acta Tropica* 2011; 117: 23-30. [CrossRef]
- Armstrong, M. The pathogenesis of human *Acanthamoeba* infection. *Infect Dis Rev* 2000; 2: 65-73.
- Magnet A, Peratta RHS, Gomes TS, Izquierdo F, Fernandez-Vadillo C, Galvan AL, et al. Vectorial role of *Acanthamoeba* in *Legionella* propagation in water for human use. *Sci Total Environ* 2015; 505: 889-95. [CrossRef]
- Dart JKG, Saw VPJ, Kilvington S. *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis and treatment update 2009. *Ame. J Ophthalmol* 2009; 148: 487-99. [CrossRef]
- Radford CF, Minassian DC, Dart JK G. *Acanthamoeba* keratitis in England and Wales: incidence, outcome, and risk factors. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 536-42. [CrossRef]
- Stehr-Green, JK, Bailey TM, Visvesvara GS. The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *Am J Ophthalmol* 1990; 107: 331-6. [CrossRef]
- Lorenzo-Morales J, Martínez-Carretero E, Batista N, et al. Early diagnosis of amoebic keratitis due to a mixed infection with *Acanthamoeba* and *Hartmannella*. *Parasitol Res* 2007; 10-2: 167-9. [CrossRef]
- Niyiyati M, Rahimi F, Lasejerd Z, Rezaeian M. Potentially pathogenic free-living amoebae in contact lenses of the asymptomatic contact lens wearers. *Iranian J Parasitol* 2014; 9: 14-9.
- Smirnov AV, Goodkov AV. An illustrated list of basic morphotypes of *Gymnamoebia* (Rhizopoda, Lobosea), *Protistology* 1999; 1: 20-9.
- Page F.C. An illustrated key to Freshwater and soil Amoebae. *Freshwater Biological Association* 1976; Sci Pub No: 34.
- Alsam S, Ryoul JS, Dudley R, Khan NA. Role of human tear fluid in *Acanthamoeba* interactions with the human corneal epithelial cells. *Int J Med Microbiol* 2008; 298: 329-36. [CrossRef]
- Chin J, Young AL, Hui M, Jhanji V. *Acanthamoeba* keratitis: 10 year study at a tertiary eye care center in Hong Kong. *Cont Lens Anterior Eye* 2015 Apr; 38: 99-103. [CrossRef]
- Booton GC, Kelyy DJ, Chu YW, Seal DV, Houang E, Lam DS, Byers TJ, Fuerst PA. 18S ribosomal DNA typing and tracking of *Acanthamoeba* species isolates from corneal scrape specimens, contact lenses, lens cases, and home water supplies of *Acanthamoeba* keratitis patients in Hong Kong. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1621-25. [CrossRef]
- Anisah N, Amal H, Kamel A.G, Yusof S, Noraina A.R, Norhayati M. Isolation of *Acanthamoeba* sp. from conjunctival sac of healthy individuals using swab. *Tropical Biomedicine* 2005; 22: 11-4.
- Sharma S, Garg P, Gullapalli R. Patient characteristics, diagnosis, and treatment of non-contact lens related *Acanthamoeba* keratitis. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 1103-08. [CrossRef]
- Lam DSC, Houang E, Fan DSP, Lyon D, Seal D, Wong E, Hong Kong Microbial Keratitis Study Group. Incidence and risk factors for microbial keratitis in Hong Kong: Comparison with Europe and North America. *Eye (Lond)* 2002; 16: 608-18.
- Page MA, Mathers WD. *Acanthamoeba* keratitis: A 12-year experience covering a wide spectrum of presentations, diagnosis, and outcomes. *J Ophthalmol* 2013; 2013: 670242.

23. Nuprasert W, Putaporntip C, Pariyakanok L, and Jongwutiwes S. Identification of a novel T17 genotype of *Acanthamoeba* from environmental isolates and T10 genotype causing keratitis in Thailand. *J Clin Microbiol* 2010; 4636-40. [\[CrossRef\]](#)
24. Akisü Ç, Baka M, Durak I, Orhan V. A case of *Acanthamoeba* keratitis; light and electron microscope findings. *Acta Parasitol Turc* 1999; 23: 340-42.
25. Demirci G, Ay GM, Karabas LV, Altintas O, Tamer GS, Çağlar Y. *Acanthamoeba* keratitis in a 5-years- old boy with out a history of contact lens wearer in Turkey. *Parasitol Res* 2006; 100: 241-46.
26. Özkoç S, Tuncay S, Delibaş SB, Akisu Ç, Özbek Z, Durak I, Walochnik J. Identification of *Acanthamoeba* genotype T4 and *Paravahlkampfia* sp. from two clinical samples. *J Med Microbiol* 2008; 57: 392-6. [\[CrossRef\]](#)
27. Ertabaklar H, Dayanır V, Apaydın P, Ertuğ S, Walochnik J. *Acanthamoeba* keratiti. *Türk Parazitoloji Dergisi* 2009; 33: 283-85.