

SPECIFIČNA MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA INFEKCIJE AMEBOM *ENTAMOEBA HISTOLYTICA*

SPECIFIC MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS OF *ENTAMOEBA HISTOLYTICA* INFECTION

Poštovani gospodine uredniče,

Entamoeba histolytica (*E. histolytica*), uzročnik amebijaze, po procjeni Svjetske zdravstvene organizacije svake godine uzrokuje oko 50 milijuna novih slučajeva infekcije i odgovoran je za 100.000 smrtnih slučajeva svake godine u svijetu. Taj protoozon jedan je od vodećih uzroka smrti od parazitarnih bolesti odmah iza malarije i shistosomijaze.¹ Već je od prvih opisa parazita 1855. godine bilo poznato da velika većina infekcija tom amebom prolazi bez simptoma. Godine 1925. Emil Brumpt je ponudio objašnjenje pretpostavivši postojanje dviju vrsta *Entamoeba* – jedne patogene koju je nazvao *Entamoeba histolytica* i druge apatogene koja nikada ne uzrokuje bolest – *Entamoeba dispar*. Zahvaljujući novim biokemijskim, imunološkim i genetskim spoznajama, Brumptova hipoteza je potvrđena i 1993. godine objavljena je i formalna podjela unutar roda *Entamoeba*.² *Entamoeba histolytica* primarno je parazit ljudi. Ovi su ujedno za sada i jedini poznati rezervoar parazita. Mikroorganizam ima dva morfološka oblika: trofozoitni i cistični. Trofozoit (vegetativni oblik) velik je 20–40 µm, ima jednu sferičnu, vezikularnu jezgru, centralno smještenu jezgricu i pravilno poredan kromatin uz jezgrinu membranu. Citoplazma je hijalina, često vakuolizirana, katkad sadržava fagocitirane bakterije i eritrocite. Cista je veličine 10–16 µm, zrela sadržava četiri jezgre također s centralno smještenom jezgrom i pravilno raspoređenim kromatinom.³ Otporna je na nepovoljne uvjete i može preživjeti mjesecima u vanjskoj sredini. Do infekcije dolazi unosom infektivnog oblika ciste putem kontaminirane hrane, vode ili oralno-analnim spolnim odnošajem. Kliničke značajke infekcije su brojne: asimptomatska kolonizacija, intestinalna infekcija i ekstra-intestinalna amebijaza.⁴

Detekcija infekcije amebom *E. histolytica* jedna je od važnih zadaća mikrobiološkog laboratorija. Sve donedavno dijagnostika intestinalne amebijaze oslanjala se na svjetlosnomikroskopski nalaz vegetativnog oblika – trofozoita i cista u nativnom i/ili obojenom preparatu stolice. Međutim zbog niske osjetljivosti i specifičnosti mikroskopije često je dolazilo do izdavanja lažno pozitivnih ili lažno negativnih nalaza. Naime, u probavnom sustavu čovjeka mogu biti prisutne i druge, komezalne amebe (*E. dispar*, *E. hartmanni*, *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba bütschli*, *Entamoeba moshkovski*) i leukociti koje neiskusnog mikroskopičara mogu zbuniti i navesti na izdavanje lažno pozitivnog nalaza.³ Morfološko pak razlikovanje *E. histolytica*/*E. dispar* nemoguće je jer su te dvije amebe morfološki potpuno jednake.^{1,5,6} Iako se nekad smatralo da se u citoplazmi trofozoita mogu naći eritrociti, takav nalaz nije patogenomoničan za histolitiku. Dijagnostika amebijaze na osnovi pregleda jednog uzorka stolice pokazala se nisko osjetli-

vom. Zbog toga, prije nego se izda negativan nalaz treba pregledati najmanje tri uzorka stolice. Posljednjih nekoliko godina nove mikrobiološke pretrage učinile su laboratorij-sku dijagnostiku amebijaze osjetljivijom i specifičnijom. Samostalno ili u kombinaciji s mikroskopijom, enzimski imunotest (EIA), lančana reakcija polimerazom (PCR), serološke pretrage, kultivacija i izoenzimaska analiza (posljednje dvije uglavnom su ograničene na istraživačke laboratorije) pomogle su u rješavanju donedavno nerješivih problema.³

Jedna od novijih metoda jest i detekcija antigena protozoa *E. histolytica* enzimskim imunotestom (EIA) iz uzorka stolice. Tijekom životnog ciklusa od entamebe se oslobađaju brojni antigeni. Neki su od njih strukturni, neki funkcionalni, neki specifični su za rod *Entamoeba*, a neki za vrstu.⁷ Danas na tržištu postoje dvije skupine testova – *sensu lato* – razlikuju kompleks *E. histolytica*/*E. dispar* od ostalih protozoa možda prisutnih u probavnom traktu i *sensu stricto* testovi – specifično razlikuju amebu *E. histolytica* od *E. dispar* i ostalih mikroorganizama. Dosadašnja istraživanja i radovi na detekciji antigena metodom EIA iz stolice pokazali su visoku osjetljivost i specifičnost testova.^{9–11} Velika prednost detekcije antigena enzimskim imunotestom što ga može izvoditi laboratorijsko osoblje s malo iskustva u dijagnostici infekcije histolitikom. Uspoređujući EIA *sensu lato* i *sensu stricto* sa zlatnim standardom u dijagnostici amebijaze kultivacijom i imunoenzimskom analizom, za EIA *sensu lato* specifičnost iznosi 80%, a osjetljivost 99%, dok za EIA *sensu stricto* osjetljivost iznosi oko 95%, a specifičnost 93%.^{9–12}

Kao pomoć u razlikovanju vrste *E. histolytica*/*E. dispar* moguća je i primjena lančane reakcije polimerazom (PCR). Međutim izvođenje PCR-a zahtijeva skuplju opremu, iskusno osoblje, a i sama pretraga višestruko je skuplja od EIA detekcije antigena u stolici.

Na kraju bismo prenijeli zaključke sa sastanka Svjetske zdravstvene organizacije, Panameričke zdravstvene organizacije i organizacije UNESCO održane 28–29. siječnja 1997. u Meksiku a vezane uz dijagnostiku intestinalne amebijaze:

1. Biokemijski, imunološki i genski podaci upozorili su na postojanje dviju vrsta entameba (*E. histolytica* i *E. dispar*), prije smatranih patogenom i apatogenom vrstom *E. histolytica*. Jedino *E. histolytica* uzrokuje bolest.
2. Kada je dijagnostika bazirana na svjetlosnomikroskopskoj pretrazi stolice, a nađe se cista sumnjiva na histolitiku, zbog nemogućnosti razlikovanja dviju vrsta nalaz se izdaje kao *E. histolytica*/*E. dispar*.

3. *E. histolytica* trebala bi se dijagnosticirati specifičnim metodama i specifično potvrđena infekcija trebala bi se liječiti.
4. Ako se dijagnosticira kolonizacija amebom *E. dispar*, medikamentno liječenje nije potrebno. U slučaju gastrointestinalnih simptoma trebaju se tražiti drugi uzročnici i uzroci.
5. Ako se dijagnosticira *E. histolytica/E. dispar* u simptomatskog pacijenta, ne treba pretpostavljati da se radi o histolitici, već treba tražiti i druge moguće uzročnike.
6. Ove preporuke vrijede za sve osobe, uključujući muškarce koji imaju spolne odnose s muškarcima, putnike povratnike iz zemalja u kojima je amebijaza endemska bolest, trudnice i osobe inficirane HIV-om.¹

Usprkos tomu što amebijaza u Hrvatskoj nije velik problem i iako je broj oboljelih u Hrvatskoj nekoliko desetaka slučajeva na godinu, važna je pravodobna i točna mikrobiološka dijagnostika. S tim ciljem, pravilnim odabirom mikrobioloških testova, uzimajući u obzir broj uzoraka i cijenu, EIA detekcija antigena *sensu stricto* iz stolice odlična je metoda za pravodobnu, jednostavnu i specifičnu dijagnostiku intestinalne amebijaze.

Dr. Mario Sviben, dr. Dubravka Horvat-Krejči
 Odjel za parazitologiju, Služba za mikrobiologiju,
 Hrvatski zavod za javno zdravstvo – Zagreb

L I T E R A T U R A

1. World Health Organisation. Amoebiasis. WHO Weekly Epidemiologic Record 1997;72:97–100.
2. Levine ND, Corliss JO, Cox FEG. A newly revised classification of the protozoa. J Protozool 1980;27:37–58.
3. Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. 4. izd. ASM Press; 2001
4. Petri WA, Singu V. Diagnosis and management of amebiasis. Clin Infect Dis 1999;29:1117–25.
5. Clark CG. Entamoeba dispar, an organism reborn. Trans R Soc Trop Med Hyg 1991;92:361–4.
6. Diamond LS, Clark CG. A redescription of Entamoeba histolytica separating it from Entamoeba dispar. J Eukaryot Microbiol 1993;40:340–4.
7. McLaughlin J, Aley S. The biochemistry and functional morphology of the Entamoeba. J Protozool 1985;32:221–40.
8. Dodson JM, Clark CG, Lockhart LA, Leo BM, Schroder JW, Mann BJ. Comparison of adherence, cytotoxicity and Gal/GalNac lectin structure in Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar. Parasitol Int 1997;46:225–35.
9. Haque R, Neville LM, Hahn P, Petri WA. Rapid diagnosis of Entamoeba infection by using Entamoeba and Entamoeba histolytica stool antigen detection kits. J Clin Microbiol 1995;33:2558–61.
10. Haque R, Faruque ASG, Hahn D, Lyerly DM, Petri WA. Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar infection in children in Bangladesh. J Infect Dis 1997;175:734–6.
11. Jelinek T, Peyerl G, Lösher T, Nothdurft HD. Evaluation of an antigen capture enzyme immunoassay for detection of Entamoeba histolytica in stool samples. E J Clin Microbiol Infect Dis. 1996;15:752–5.
12. Gonzalez-Ruiz A, Haque R, Aguirre A i sur. Value of microscopy in the diagnosis of dysentery associated with invasive Entamoeba histolytica. J Clin Pathol 1994;47:236–9.