

Dışkı Örneklerinde ELISA Yöntemi ile *Entamoeba histolytica*'nın Saptanması

Fırat Zafer MENGELOĞLU, Elif AKTAŞ, Canan KÜLAH, Füsün BEĞENDİK CÖMERT

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

ÖZET: Bu çalışmada Kasım 2006 ile Eylül 2007 tarihleri arasında direkt mikroskopi ile incelenen 1720 dışkı örneğinin 44'ünde (%0,37) amip kistleri görülmüş olup, kist görülen örneklerde ELISA ile *Entamoeba histolytica* spesifik antijen araştırılmıştır. Örneklerin 26'sında (%59,1) spesifik antijen varlığı saptanmıştır. ELISA test sonucu pozitif çıkan hastaların amebiyaz tanısı kesinleşmiş ve ivedilikle uygun tedavi almaları sağlanmış olup, testi negatif sonuçlanan hastaların ise bu öntanılarını ekarte edilmiştir. Amebiyaz şüphesi olan hastalarda tanıyı doğrulamak için, direkt mikroskopi duyarlılığının düşük olmasından dolayı, ELISA metodunun uygulanması hastaya verilecek tedavinin belirlenmesi veya hastanın gereksiz tedavi almasının önlenmesi açısından uygundur.

Anahtar Sözcükler: Amip kisti, *Entamoeba*, ELISA

Detection of *Entamoeba histolytica* in Stool Specimens with the ELISA Method

SUMMARY: In this study, carried out between November 2006 and September 2007, amebic cysts were observed in 44 (0.37%) out of a total of 1720 stool specimens which were examined by direct microscopy. *Entamoeba histolytica* specific antigen was investigated with ELISA in the specimens in which cysts were observed. Specific antigen was detected in 26 (59.1%) of these specimens. The diagnosis of amoebiasis for the patients whose ELISA tests were positive was confirmed and the appropriate therapy was immediately begun. This prediagnosis was abandoned for patients whose test results were "negative". Because of the low sensitivity of direct microscopy in confirming the prediagnosis of amoebiasis, it is necessary to perform ELISA on the specimens in order to determine whether the patient should be treated or to prevent patients from being given an unnecessary treatment.

Key words: Amebic cyst, *Entamoeba*, ELISA

GİRİŞ

Amebiyaz, gelişmekte olan ülkeler için halen önemli bir halk sağlığı sorunu olup kısa zamanda ayırıcı tanısı yapılması gereken bir parazit hastalığıdır.

Direkt mikroskopik inceleme yöntemi, hem kısa zaman alması, hem de uygulamadaki kolaylıkları nedeniyle hemen her mikrobiyoloji/parazitoloji laboratuvarında kullanılmaktadır. Bu yöntem protozoa kist ve trofozoitlerinin tanımlanmasına olanak verirken, eritrosit ve lökosit varlığını da saptama olanağı sağlamaktadır.

Entamoeba'nın amebik kolite neden olan *E. histolytica* ve patojen olmayan *E. dispar* türleri dışkıının mikroskopik incelenmesi ile ayırt edilememektedir (6, 12). İnsanda tespit edilen

olgulardan yaklaşık %90'ının *E. dispar* ve %10'unun *E. histolytica* olduğu bildirilmiştir (1, 11). *E. histolytica* ve *E. dispar* için en güvenli ayırt edici tanı, spesifik antijenlerin değişik yöntemlerle gösterilmesidir (12).

Bu çalışmada ELISA metodu kullanılarak patojen *E. histolytica* ile patojen olmayan *E. dispar* ayırımının yapılması ve hastaya uygun tedavinin verilmesine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kasım 2006 ile Eylül 2007 tarihleri arasında Zonguldak Karaelmas Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına, çeşitli poliklinik ve servis hastalarından gönderilen dışkı örnekleri incelenmiştir. İncelemeye alınan hastalar için laboratuvar tarafından herhangi bir sorgulama, anket veya araştırma yapılmamış olup bu hastaların antibiyotik kullanımı hakkında da bir sınıflamaya gidilmemiştir.

Bu 10 aylık süre içinde toplam 1720 dışkı örneği incelenmiş, ilk inceleme direkt mikroskopi (nativ-lugol) ile yapılmıştır. Laboratuvarımıza, bazı hastalardan tek, bazılarından da birden

Makale türü/Article type: **Araştırma / Original Research**

Geliş tarihi/Submission date: 04 Aralık/04 December 2007

Düzeltilme tarihi/Revision date: 29 Ekim/29 October 2008

Kabul tarihi/Accepted date: 03 Kasım/03 November 2008

Yazışma /Corresponding Author: Fırat Zafer Mengeloğlu

Tel: - Fax: -

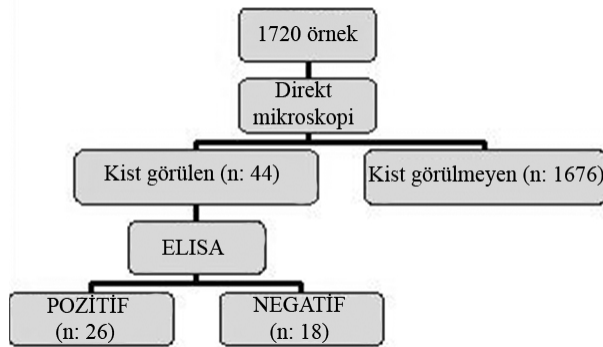
E-mail: mengelolu@gmail.com

15.Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde (18-23 Kasım 2007, Kayseri ve Ürgüp) sunulmuştur.

fazla dışkı örneği gönderilmiştir. Hastalardan yalnızca amip kistleri saptananlara ait; cinsiyet, yaş, geldiği poliklinik veya servis ve geliş tarihi gibi bilgiler kaydedilmiştir. Direkt incelemede amip kistleri görülen örneklerde ELISA (Seramun Diagnostica GmbH, Wolzig, Almanya) ile *E. histolytica*'ya spesifik antijen araştırılmıştır. ELISA testi firmanın önerileri doğrultusunda ve bu iş için deneyimi olan personelimiz tarafından uygulanmıştır.

BULGULAR

Direkt mikroskopik inceleme ile 1720 dışkı örneğinin 44'ünde (%0,37) amip kistleri görüldü. Amip kisti görülen dışkı örneklerinin 26'sında (%59,1) *E. histolytica*'ya spesifik antijen varlığı saptandı.



Şekil 1. Çalışmaya alınan örneklerde elde edilen sonuçların şematik gösterimi

TARTIŞMA

Dışkıdan direkt incelemesinde lökositler, makrofajlar, polenler, özellikle *E. dispar* gibi patojen olmayan diğer bağırsak parazitleri patojen *E. histolytica* kistlerinden ayırt edilememektedir (3, 8, 11, 12). Direkt mikroskopik inceleme yönteminin, yüksek özgüllüğe, düşük duyarlılığa, yüksek pozitif prediktif değere ve düşük negatif prediktif değere sahip olduğu belirtilmiş olup, duyarlılığının %10-60 arasında değişebildiği görülmüştür (3, 7, 11).

Yapılan çalışmalar amebiyazın hızlı ve kesin tanısı için serolojik metotların rutinde kullanılabilirliğini ve özellikle dışkıda antijen arama yöntemlerinin duyarlılığının yüksek olduğunu bildirmiştir (5, 10, 11). Antijen saptayan ELISA testlerinin; *E. histolytica* ve *E. dispar*'ı ayırt edilebilmesi, duyarlılık ile özgüllüklerinin yüksek olması ve sonuçların objektif olarak değerlendirilebilmesi gibi avantajları vardır (9, 11).

Bizim çalışmamızda amip kisti görülen dışkı örneklerinde pozitiflik oranı %59,1 olarak bulunmuştur. Negatif sonuçlanan örneklerdeki olası parazitlerin *E. dispar* veya diğer patojen olmayan parazitler olabileceği düşünülmüştür. ELISA metodunun yüksek duyarlılığı ve %100'e varan özgüllüğü (5, 10) nedeniyle çalışmamızda ELISA testi pozitif sonuçlanan hastaların amebiyaz tanısı "kesinlik" kazanırken, kist yapısı görülüp de negatif sonuçlanan hastalar için bu tanı büyük oranda ekarte edilmiş ve bu hastaların "gereksiz" amebiyaz tedavisi almaları önlenmiştir.

Dünyada *E. histolytica* sıklığının ortalama %10 civarında olduğu fakat %50 veya %80'lere kadar ulaştığı bölgelerin de

Tablo 1. Yüksek pozitif ELISA oranı olan bazı çalışmalar

Çalışma	Yıl	Toplam örnek sayısı	Amip saptanan örnek sayısı	ELISA (+) (<i>E. histolytica</i> 'ya özgün antijen saptanan) örnek sayısı	Amip saptanan örnekler içinde <i>E. histolytica</i> saptananların yüzdesi
Taylan Özkan ve ark. (10)	2005	231	81	35	43,2
Doğruman Al ve ark. (4)	2005	?	29	15	51,7
Tuncay ve ark. (11)	2007	9378	33	18	54,5
Delialioğlu ve ark. (2)	2008	272	29	21	72,4
Delialioğlu ve ark. (3)	2004	88	18	14	77,7

Tablo 2. ELISA sonuçlarının aylara göre dağılımı

	Aylar											Toplam
	Kasım 2006	Aralık 2006	Ocak 2007	Şubat 2007	Mart 2007	Nisan 2007	Mayıs 2007	Haziran 2007	Temmuz 2007	Ağustos 2007	Eylül 2007	
ELISA (+)	0	0	0	1	0	1	7	5	4	5	3	26
ELISA (-)	2	0	0	2	0	0	6	0	1	4	3	18
Toplam	2	0	0	3	0	1	13	5	5	9	6	44

bulunduğu bildirilmiştir. Türkiye’de yapılan çalışmalarda *E. histolytica* sıklığının %0-17 arasında bulunduğu rapor edilmiştir (8, 9). Ancak %43,2-77,7 arasında saptanan yüksek oranlar bildiren çalışmalar da mevcuttur (2-4, 10, 11). Tablo 1’de yüksek pozitiflik saptanan bu çalışmalara dair veriler gösterilmiştir. İlgili yayınlarda genellikle, bildirilen yüksek oranların olası nedenleri üzerinde durulmamıştır.

Çalışmamız boyunca saptanan 44 amip kistin 38 tanesi çalışma periyodunun son 5 ayında tespit edilmiştir. ELISA sonucuna göre pozitif 26 örneğin 24’ü de bu dönemde saptanmıştır. Pozitif sonuçlarımızın bilinen oranlara göre yüksek çıkması, bahsedilen periyod içindeki bir *E. histolytica* salgınına düşündürülebilir. Özellikle Haziran ve Temmuz aylarında amip kisti görülen 10 örneğin 9 tanesinde (%90) ELISA (+) sonuç elde edilmiş olması bu düşüncüyü desteklemektedir (Tablo 2).

Sonuç olarak; amip kisti görülen dışkı örneklerinde patojen *E. histolytica* varlığının özgül serolojik yöntemlerle belirlenmesi daha sağlıklı tanı olanağı sağlamakta olup, bu şekilde hastaların gereksiz tedavi almalarının önlenilebileceği düşünülmektedir. Yine de diğer parazitleri saptayamaması ve direkt bakıya göre daha pahalı bir test olması dolayısıyla uygulamada maliyet-etkinlik göz önünde bulundurulmalıdır. Bizim düşüncemiz; klinisyen tarafından özel istem yapılmadığı takdirde, yalnızca mikroskopi ile amip saptanan örneklerde ELISA testinin uygulanmasının bu açıdan faydalı olabileceği yönündedir.

Kaynaklar

1. **Braga LL, Mendonca Y, Paiva CA, Sales A, Cavalcante AL, Mann BJ**, 1998. Seropositivity for and intestinal colonization with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in individuals in northeastern Brazil. *J Clin Microbiol*, 36: 3044-3045.
2. **Delialioğlu N, Aslan G, Ozturk C, Ozturhan H, Sen S, Emekdas G**, 2008. Detection of *Entamoeba histolytica* antigen in stool samples in Mersin, Turkey. *J Parasitol*, 94: 530-532.
3. **Delialioğlu N, Aslan G, Sozen M, Babur C, Kanik A, Emekdas G**, 2004. Detection of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* in stool specimens by using enzyme-linked immunosorbent assay. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 99: 769-772.
4. **Doğruman Al F, Kuştimur S, Balaban N, Özekinci T, İlhan M**, 2005. *Entamoeba histolytica / dispar* tanısında adezin antijeninin ELISA yöntemiyle araştırılması. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Poster Sunumu).
5. **Haque R, Kress K, Wood S, Jackson TF, Lyerly D, Wilkins T, Petri WA Jr.**, 1993. Diagnosis of pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using a stool ELISA based on monoclonal antibodies to the galactose-specific adhesin. *J Infect Dis*, 167: 247-249.
6. **Haque R, Neville LM, Hah P, Petri, WA Jr.**, 1995. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol*, 33: 2558-2561.
7. **Haque R, Petri WA Jr.**, 2006. Diagnosis of amebiasis in Bangladesh. *Arch Med Res*, 37: 273-276.
8. **Tanyuksel M, Yılmaz H, Ulukanlıgil M, Araz E, Cicek M, Koru O, Tas Z, Petri WA Jr.**, 2005. Comparison of two methods (microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of amebiasis. *Exp Parasitol*, 110: 322-326.
9. **Tanyuksel, M. and W. A. Petri, Jr.** 2003. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev*, 16: 713-729.
10. **Taylan Özkan, A**, 2005. Rutin Dışkı Bakısına Alternatif: Antijen Tarama Yöntemleri. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi.
11. **Tuncay S, İnceboz T, Över L, Yalçın G, Usluca S, Şahin S, Bayram Delibaş S, Aksoy Ü**, 2007. Dışkıda *Entamoeba histolytica*'nın Saptanmasında Kullanılan Yöntemlerin Birlikte Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazit Derg*, 31: 188-193.
12. **Yıldız Zeyrek, F, Özbilge H, Yüksel FM, Zeyrek CD, Sırmatel F**, 2006. Şanlıurfa’da Parazit Faunası ve ELISA Yöntemi ile Dışkıda *Entamoeba histolytica / Entamoeba dispar* Sıklığı. *Türkiye Parazit Derg*, 30: 95-98.