

# Dışkı Örneklerinde *Giardia intestinalis*'in Araştırılmasında Direkt Mikroskopi, ELISA ve Direkt Floresan Antikor Yöntemlerinin Karşılaştırılması

## Comparison of Direct Microscopy, ELISA and Direct Fluorescent Antibody Methods for Detection of *Giardia intestinalis* in Human Fecal Specimens

Şükran YAĞCI,<sup>a</sup>  
Seda TAKMAZ,<sup>a</sup>  
Fahriye EKŞİ,<sup>b</sup>  
İclal BALCI,<sup>b</sup>  
Doğukan ÖZEN<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Biyoloji Bölümü,  
Gaziantep Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi,  
<sup>b</sup>Klinik Mikrobiyoloji AD,  
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Gaziantep  
<sup>c</sup>Biyostatistik AD,  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 21.01.2013  
Kabul Tarihi/Accepted: 23.08.2013

Bu makale, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Komisyonu tarafından F.E.F. 10.10 Nolu proje ile desteklenmiştir.

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Şükran YAĞCI  
Gaziantep Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Bölümü, Gaziantep,  
TÜRKİYE/TURKEY  
sukranyagc@yahoo.com

**ÖZET Amaç:** Çalışmamızda, *Giardia intestinalis*'in rutin tanısında, dışkı örneklerinde antijen aramaya dayanan ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ve DFA (Direkt Floresan Antikor) yöntemleri ile direkt mikroskopinin karşılaştırılması, ve bu yöntemlerden ELISA ve DFA'nın rutin tanıdaki yerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Uygulama ve Araştırma Hastanesi polikliniklerine akut, kronik ve tekrarlayıcı ishal nedeniyle başvuran, toplam 150 hastanın dışkı örnekleri önce direkt mikroskopi (nativ-lugol) ile, daha sonra antijen aramaya dayanan ELISA ve DFA yöntemleri ile incelenmiştir. **Bulgular:** İncelenen 150 dışkı örneğinin 22'sinde (%14,7) direkt mikroskopi ile *G. intestinalis* kist/trofozoiti belirlenmiş, direkt mikroskopide *G. intestinalis* kist/trofozoiti belirlenmeyen 128 dışkı örneğinin 6'sı (%4,6) ELISA ile, 4'ü (%3,1) de DFA ile pozitif olarak değerlendirilmiştir. Direkt mikroskopi ile karşılaştırıldığında, ELISA ve DFA'nın duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri ve tutarlılıkları [kappa, ( $\kappa$ ) değerleri] sırası ile; %78,57, %100, %100, %95,31, 0,821 ve %84,62, %100, %100, %96,87, 0,86 ( $p<0,001$ ); ELISA ile karşılaştırıldığında, DFA'nın, duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri ve tutarlılıkları sırası ile; %100, %98,38, %92,85, %100, 0,915 ( $p<0,001$ ) bulunmuştur. **Sonuç:** *G. intestinalis*'in rutin tanısında direkt mikroskopinin ilk tercih edilmesi gereken yöntem olduğu, ELISA yönteminin semptomatik olduğu halde parazitin saptanamaması durumunda ve geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmalarda, DFA yönteminin ise giyardiyaizis tanısının doğrulanması için kullanılmasının yararlı olacağı görüşündeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** *Giardia lamblia*; immunoenzimatik yöntem

**ABSTRACT Objective:** This study aims to compare ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) and DFA (Direct Florescent Antibody) methods with direct microscopy, and to evaluate the place of ELISA and DFA in routine diagnosis of *Giardia intestinalis*. **Material and Methods:** The study population consisted of 150 patients who applied to Gaziantep University Şahinbey Research Hospital polyclinics complaining for acute, chronic or recurrent diarrhea, and their stool specimens were first analyzed with direct microscopy (native-lugol), and then with ELISA and DFA. **Results:** In 22 out of 150 stool specimens (14.7%), *G. intestinalis* cyst/trophozoites were seen on direct microscopy, and this was confirmed positive with ELISA and DFA. In 6 out of 128 specimens (4.6%) analyzed with ELISA and in 4 out of 128 (3.1%) analyzed with DFA cyst/trophozoites were diagnosed as positive. When compared to direct microscopy, ELISA and DFA's sensitivity, specificity, negative/positive predictive values and consistency can be sequenced in terms of kappa values ( $\kappa$ ) as: 78.57%, 100%, 100%, 95.31%, 0.821, and 84.62%, 100%, 100%, 96.87%, 0.86 ( $p<0.001$ ); when ELISA is compared to DFA, DFA's values can be sequenced respectively as: 100%, 98.38%, 92.85%, 100% and 0.915 ( $p<0.001$ ). **Conclusion:** It can be concluded that the use of direct microscopic method in the diagnosis of *G. intestinalis* should be preferred at the beginning. ELISA should be done when extensive epidemiological research is performed, and symptomatic parasites cannot be detected; and DFA should be applied when verification is needed for the diagnosis of giardiasis.

**Key Words:** *Giardia lamblia*; enzyme-linked immunosorbent assay

doi: 10.5336/medsci.2013-34075

Copyright © 2013 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2013;33(5):1308-15

**C**ounter-Current Immunoelectrophoresis *Giardia intestinalis*, tüm dünyada epidemik ve sporadik diyarelere neden olan, trofozoiti iki nukleuslu, kamçılı bir barsak protozoonudur. İnce barsakta; genellikle duodenum, jejunumun üst kısmı, seyrek olarak da safra kesesinde yaşar ve arakonağı yoktur. Parazitin risk grubunu 10 yaşından küçük çocuklar, endemik bölgelere seyahat edenler, göçmen kişiler ve immun direnci bozuk olanlar oluşturur. İnsanlar enfeksiyon kaynağıdır; hastalık 4 çekirdekli olgun kist formlarının kontamine su ve yiyeceklerle ağız yolu ile alınması ile bulaşır.<sup>1,2</sup> Giyardiya asemptomatik veya kısa sürede gelişen akut diyare şeklinde de olabilir. Bir çok olguda sulu diyare, abdominal kramplar, bulantı, kusma gibi sistemik bulgulara rastlanır. Dışkı yağlı ve kötü kokulu olup, kan ve mukus gözlenmemektedir.<sup>3</sup>

Giyardiya prevalansı gelişmiş ülkelerde %2-5; gelişmekte olan ülkelerde %20-30 arasındadır.<sup>4</sup> Türkiye’de yapılan araştırmalarda giyardiya insidansı %1,9-37,7 arasında değişmektedir.<sup>5</sup>

*G. intestinalis* ile enfekte kişilerin şekilli dışkıları ile parazitin daha çok kist formu, sulu dışkıları ile de daha çok trofozoit formu atılır. Hastalığın tanısı, dışkıda veya duodenal sıvıda *G. intestinalis* kist ve trofozoit formlarının mikroskopik olarak görülmesiyle, ya da ince barsak örneklerinin ve biyopsilerinin incelenmesiyle yapılır. Fakat bu tip geleneksel tanı yöntemlerinde fazla zamana, emeğe ve deneyimli elemana gereksinim duyulmaktadır. Enfeksiyonun var olduğu bilinen durumlarda, parazitin kist formunun dışkıdan aralıklı atılması nedeniyle, rutin dışkı inceleme yöntemlerinin yanı sıra, çoklaştırma yöntemleri ile bile olguların %20-50’sini saptamak mümkün olmamaktadır. Giyardiya tanısında bu zorlukları çözmek için yapılan çalışmalar yeni tanı yöntemlerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Bunlar arasında immunoassay, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve Counter-Current Immunoelectrophoresis (CIEP) gibi yöntemler sayılabilir. Günümüzde dışkıda parazitin çeşitli antijenik yapılarını araştırmaya yönelik ELISA ve Direkt Floresan Antikor (DFA) yöntemleri giderek daha sık kullanılmaya başlanmıştır.<sup>1,6-11</sup>

Bu çalışmada, *G. intestinalis*’in tanısı için dışkı örneklerinde antijen aramaya dayanan ELISA, DFA ve direkt mikroskopi yöntemlerinin karşılaştırılması; bu yöntemlerden ELISA ve DFA’nın rutin tanıdaki yerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada, 2011 yılı Nisan ve Eylül ayları arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi polikliniklerine akut, kronik veya tekrarlayıcı ishal yakınmalarıyla başvuran ve yaşları 0-70 yıl arasında değişen toplam 150 hasta çalışma kapsamına alınmıştır. Çalışma kapsamındaki hastaların dışkı örnekleri, üzerinde protokol numarası yazılı etiket bulunan kapaklı ve su geçirmez dışkı kapları içinde toplanarak, en kısa sürede laboratuarda incelenmiştir.

## ARAŞTIRMA YÖNTEMLERİ

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların dışkı örnekleri önce direkt mikroskopi (nativ-lugol) ile, daha sonra da ELISA ve DFA yöntemleri ile incelenmiştir. İncelenen dışkı örnekleri DFA yöntemi ile hemen çalışılmış, kalan dışkı örnekleri ise herhangi bir fiksatif içine konulmadan, -20 °C’de ELISA ile çalışılıncaya kadar saklanmıştır.

### Direkt Mikroskopi Yöntemi (Nativ-Lugol)

Bunun için temiz bir lam üzerine bir damla fizyolojik su (%0,9 NaCl) ve bir damla lugol eriyiği damlatıldıktan sonra, pirinç tanesi büyüklüğündeki dışkı örneği kürdan yardımı ile lam üzerine konuldu. Daha sonra dışkı örneği kürdan yardımı ile dairesel hareketlerle karıştırılarak homojen hale gelmesi sağlandı ve üzerine lamel kapatılarak mikroskop altında x10 ve x40 büyütme objektif ile *G. intestinalis* kist ve trofozoitleri arandı.

### ELISA Yöntemi

Tüm hastaların dışkı örneklerine *G. intestinalis*’in (*Giardia* CELISA, Cellabs, Avustralya) yüzey antijenlerini saptamaya yönelik ELISA kiti kullanılmış ve bu kit üretici firmanın önerdiği şekilde uygulanmıştır.

## DFA Yöntemi

Tüm hastaların dışkı örneklerine DFA yöntemi ile *G. intestinalis* ve *Cryptosporidium parvum*'ün her ikisini de tek test ile saptayabilen Giardia/Cryptosporidium DFA kiti (CRYPTO/GIARDIA Cell, Cellabs, Avustralya) kullanılmış ve bu kit üretici firmanın önerdiği şekilde uygulanmıştır.

## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin değerlendirilmesinde, direkt mikroskopi, ELISA ve DFA yöntemleri karşılaştırılarak duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler ve tutarlılık-kappa-( $\kappa$ ) katsayıları, hesaplanmıştır. Tanı testlerinin teşhise dönük performansları arasındaki farklılığa ise McNemar testi ile bakılmıştır. Kappa ( $\kappa$ ), 0,39 ve altında ise düşük; 0,40-0,75 arasında ise orta; 0,75 ve üstünde ise yüksek düzeyde tutarlılık olarak kabul edilmiştir.<sup>12</sup> Hesaplamalarda ELISA ve DFA yöntemleri referans yöntem (altın standart) olarak alınmıştır. Her bir tanı testi için elde edilen bulguların, cinsiyet ve yaş grupları bakımından farklılığının incelenmesinde ise Ki-kare testinden yararlanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile değerlendirilmiştir. SPSS® 14.1 ve Microsoft® Excel 2010 programlarından yararlanılmıştır.

Çalışmanın yapılabilmesi için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan yazılı izin temin edilmiştir (Karar No: 06-2009/212).

## BULGULAR

İncelenen 150 dışkı örneğinin 22 (%14,7)'sinde direkt mikroskopi ile *G. intestinalis* kist/ trofozoiti belirlenmiş, bu örneklerin tümünde ELISA ve DFA ile de pozitiflik saptanmıştır. Direkt mikroskopide *G.intestinalis* kist ve/veya trofozoiti belirlenmeyen 128 dışkı örneğinin 6'sı (%4,6) ELISA ile, 4'ü (%3,1) DFA ile pozitif olarak değerlendirilmiştir. Böylece, toplam 150 dışkı örneğinin 28'inde (%18,66) ELISA ile, 26'sında (%17,33) DFA yöntemi ile *G.intestinalis* antijeni tespit edilmiştir (Tablo 1). ELISA ve direkt mikroskopi arasında  $p=0,031$  düzeyinde bir farklılık görülmüşken, ELISA ve DFA testleri  $p=0,500$  ile, DFA ve direkt mikroskopi ( $p=0,125$ ) tanı testleri arasında ise *G.intestinalis* teşhisine dönük performans açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 1).

Direkt mikroskopi ile karşılaştırıldığında, ELISA ve DFA yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla; %78,57, %100, %100, %95,31 ve %84,62, %100, %100, %96,87 olarak bulunmuştur. Bulunan sonuçlara göre, direkt mikroskopi yönteminin ELISA ve DFA yöntemlerine göre tutarlılıkları (kappa- $\kappa$ -) sırasıyla; 0,856 ve 0,901 olarak saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Buna göre, direkt mikroskopi yöntemi ile ELISA ve DFA yöntemleri arasında *G. intestinalis* tanısında yüksek düzeyde ve istatistiksel açıdan anlamlı derecede uyumluluk gözlenmiştir (Tablo 2, 3).

**TABLO 1:** İncelenen dışkı örneklerinde *G.intestinalis*'in tanısında kullanılan direkt mikroskopi, ELISA ve DFA sonuçlarının karşılaştırılması (n:150).

A. Direkt mikroskopi ve ELISA*	ELISA (+)	ELISA (-)	Toplam
Direkt mikroskopi (+)	22	0	22
Direkt mikroskopi (-)	6	122	128
Toplam	28	122	150
B. Direkt mikroskopi ve DFA**	DFA (+)	DFA (-)	Toplam
Direkt mikroskopi (+)	22	0	22
Direkt mikroskopi (-)	4	124	128
Toplam	26	124	150
C. ELISA ve DFA***	DFA (+)	DFA (-)	Toplam
ELISA (+)	26	2	28
ELISA (-)	0	122	122
Toplam	26	124	150

\* p: 0,031 (McNemar); \*\*p: 0,125 (McNemar); \*\*\*p: 0,500 (McNemar).

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; DFA: Direkt Floresan Antikor.

**TABLO 2:** Direkt mikroskopinin ELISA yöntemine göre tanı testi sonuçları.

	ELISA				Tutarlılık (Kappa)
	Duyarlılık % (%95GA)	Özgüllük% (%95GA)	Pozitif Prediktif Değeri % (%95GA)	Negatif Prediktif Değeri % (%95GA)	
Direkt mikroskopi	78,57 (60,5-89,8)	100 (96,9-100)	100 (85,1-100)	95,31 (90,2-97,8)	0,856*

ELISA: Enzyme-Linked Immonosorbent Assay; GA: Güven aralığı.

\*p<0,001.

**TABLO 3:** Direkt mikroskopinin DFA yöntemine göre tanı testi sonuçları.

	DFA				Tutarlılık (Kappa)
	Duyarlılık % (%95GA)	Özgüllük% (%95GA)	Pozitif Prediktif Değeri % (%95GA)	Negatif Prediktif Değeri % (%95GA)	
Direkt mikroskopi	84,62 (65,1-95,6)	100 (97,1-100)	100 (85,1-100)	96,87 (92,2-98,8)	0,901*

DFA: Direkt Floresan Antikor; GA: Güven aralığı.

\*p<0,001.

ELISA yöntemi ile karşılaştırıldığında, DFA yönteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri; %100, %98,38, %92,85 ve %100 olarak bulunmuştur. ELISA yönteminin DFA yöntemine göre tutarlılığı (kappa- $\kappa$ -) 0,955 olarak tespit edilmiştir (p<0,001). Buna göre, ELISA yöntemi ile DFA yöntemi arasında *G.intestinalis* tanısında yüksek düzeyde ve istatistiksel açıdan anlamlı uyumluluk saptanmıştır (Tablo 4).

Pozitif olguların cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde; her üç yöntemle de en yüksek pozitiflik erkeklerde tespit edilmiş olup, bu farklılık, DFA yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre p=0,045 düzeyinde anlamlı bulunurken, ELISA (p=0,052) ve direkt mikroskopi (p=0,087) yöntemleri kullanılarak elde edilen sonuçlara göre ise istatistiksel açıdan anlamsız bulunmuştur (Tablo 5).

Pozitif olguların yaş gruplarına göre dağılımında, pozitiflik en yüksek 0-14,9 yaş grubunda; en düşük 15-29,9 yaş grubunda tespit edilmiş olup, kullanılan her üç yöntemle de yaş grupları arasında pozitiflik yönünden istatistiksel bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (DFA, p=0,785; ELISA, p=0,957; direkt mikroskopi, p=0,537) (Tablo 6).

## TARTIŞMA

*G. intestinalis*, dünyanın birçok ülkesinde, tüm yaş gruplarında ve özellikle 10 yaşın altındaki çocuklarda sık rastlanan, malabsorbsiyona bağlı uzun süreli diyare ve kilo kaybı ile seyreden, anemi ve büyüme geriliğine neden olabilen bir barsak protozoonudur.<sup>1-3</sup>

Giyardiyaz tanısında, mikroskopik inceleme başlangıçta yapılması gereken bir yöntemdir fakat bu yöntem parazitin kist formlarının aralıklı ola-

**TABLO 4:** ELISA yönteminin DFA yöntemine göre tanı testi sonuçları.

	DFA				Tutarlılık (Kappa)
	Duyarlılık % (%95GA)	Özgüllük% (%95GA)	Pozitif Prediktif Değeri % (%95GA)	Negatif Prediktif Değeri % (%95GA)	
ELISA	100 (87,1-100)	98,38 (94,3-99,6)	92,85 (77,4-98,0)	100 (96,9-100)	0,955*

ELISA: Enzyme-Linked Immonosorbent Assay; DFA: Direkt Floresan Antikor; GA: Güven aralığı.

\*p<0,001.

**TABLO 5:** Direkt mikroskopi, ELISA ve DFA ile *G.intestinalis* olgularının cinsiyete göre dağılımı.

		Cinsiyet						p
		Toplam	Erkek		Kadın			
			N	N	%N	N	%N	
ELISA	Pozitif	28	19	%67,9	9	%32,1	0.052	
	Negatif	122	58	%47,5	64	%52,5		
Direkt mikroskopi	Pozitif	22	15	%68,2	7	%31,8	0.087	
	Negatif	128	62	%48,4	66	%51,6		
DFA	Pozitif	26	18	%69,2	8	%30,8	0.045	
	Negatif	124	59	%47,6	65	%52,4		

ELISA: Enzyme-Linked Immonosorbent Assay; DFA: Direkt Floresan Antikor.

**TABLO 6:** Direkt mikroskopi, ELISA ve DFA ile *G.intestinalis* olgularının yaş gruplarına göre dağılımı.

		Yaş Grubu								p	
		Toplam	0-14,9		15-29,9		30-44,9		>45		
			N	N	%N	N	%N	N	%N		N
ELISA	Pozitif	28	9	%32,1	4	%14,3	8	%28,6	7	%25,0	0.957
	Negatif	122	34	%28,1	21	%17,4	33	%27,3	33	%27,3	
Direkt mikroskopi	Pozitif	22	9	%40,9	3	%13,6	6	%27,3	4	%18,2	0.537
	Negatif	128	34	%26,8	22	%17,3	35	%27,6	36	%28,3	
DFA	Pozitif	26	9	%34,6	3	%11,5	8	%30,8	6	%23,1	0.785
	Negatif	124	34	%27,6	22	%17,9	34	%27,6	33	%26,8	

ELISA: Enzyme-Linked Immonosorbent Assay; DFA: Direkt Floresan Antikor.

rak atılması nedeniyle yeterli olmamaktadır. Entero-test, duodenal biyopsi ve fırça örneklerinin incelenmesi invaziv yöntemler olup, çocuklarda uygulanması zor olmaktadır. Bu durumlar göz önüne alınarak tanıda hızlı ve güvenilir yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur.<sup>1,2,8</sup> Türkiye’de ELISA ve DFA yöntemleri çeşitli araştırmalarda giyardiyaz tanısı için kullanılmaktadır.<sup>1,2,6,8-11</sup>

Türkiye’de direkt mikroskopi-ELISA ya da direkt mikroskopi, ELISA ve DFA yöntemleri arasında karşılaştırmalı olarak yapılmış çalışma sayısı kısıtlıdır. *G. intestinalis*’e yönelik yapılan çalışmaların çoğunluğunu farklı illerde, çeşitli mikroskopik tanı yöntemleri ile yapılan epidemiyolojik araştırmalar oluşturmaktadır.<sup>13-17</sup> Gaziantep’e yakın çevre illerde barsak parazitlerinin dağılımı üzerine yapılan çalışmalarda, farklı yöntemlerle saptanan parazitler içinde *G. intestinalis*’in görülme yüzdesi Urfa’da %9,2, Elazığ’da %24,76, Kahramanmaraş’ta %52,87, Diyarbakır’da %32,2-16,18 olarak tespit edilmiştir.<sup>18-22</sup>

Gödekmerdan ve ark. toplam 260 hastaya ait dışkı örneğinin 52’sinde (%20) direkt mikroskopi ile *G. intestinalis* kist ve/veya trofozoiti ve 66’sında (%25,4) ELISA ile *G. intestinalis* antijeni saptamışlardır.<sup>11</sup> Aynı çalışmada, ELISA yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %93 olarak belirlenmiş, ve çalışmada iki yöntem arasında istatistik olarak önemli bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir (p>0,05).

Özekinci ve ark. tarafından, direkt mikroskopide pozitif bulunan 141 örneğin 136’sı ELISA yöntemi ile pozitif; 5’i negatif olarak saptanmıştır.<sup>6</sup> Direkt mikroskopide parazit saptanamayan 47 dışkı örneğinin 38’i ELISA ile negatif; 9’u pozitif olarak belirlenmiş, iki yöntem hasta ve kontrol grupları göz önüne alınarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05). Dışkıda *G. intestinalis* antijenini belirlemek için kullanılan ELISA yönteminin duyarlılığı %96,4, özgüllüğü %80,8 olarak belirlenmiştir.

ELISA yönteminin kullanıldığı diğer çalışmalarda, Yılbaz ve ark. ELISA'nın duyarlılığını %92,5, özgüllüğünü %97,7 olarak bulmuş, Değerli ve Özçelik tarafından, bu oranlar sırası ile %98 ve %92 olarak tespit edilmiştir.<sup>23,24</sup>

Alles ve ark. DFA ile toplam 2696 dışkı örneğinin %4,4'ünde, rutin mikroskopik inceleme ile ise %2,9'unda parazitin kist ve/veya trofozoit formlarını tespit etmişler; bu iki yöntemin duyarlılıklarını sırası ile %99,2 ve %66,4, özgüllüklerini ise %100 olarak bildirmişlerdir.<sup>25</sup> Aynı çalışmada, DFA ile rutin mikroskopi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

Aldeen ve ark. dışkı örneklerinde *G. intestinalis*'in belirlenmesine yönelik dokuz ticari ELISA kitini değerlendirdikleri çalışmada, duyarlılığı %88,6-100; özgüllüğü %99,3-100 arasında bulmuşlardır.<sup>26</sup>

Garcia ve Shimizu dışkıda *G. intestinalis*'in belirlenmesinde 9 immün tanısız kitin (ELISA ve DFA) karşılaştırıldığı çalışmalarında, DFA yöntemi referans yöntem olarak kabul ettiklerinde, ELISA yöntemlerinin duyarlılıklarını %94-99 ve özgüllüklerini %100, DFA yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüklerini %100 olarak kaydetmişlerdir.<sup>27</sup>

Schunk ve ark. toplam 276 dışkı örneğinin 22'sinde ELISA ile pozitiflik göstermiş, 21'inde mikroskopik inceleme ile parazitin kist/trofozoit formlarını tespit etmişlerdir.<sup>28</sup> Mikroskopik incelemenin referans yöntemi olarak alındığı çalışmada, ELISA yöntemi için duyarlılığı %100 ve özgüllüğü %99,6 olarak rapor etmişlerdir.

Türkiye'de Giyariyaz tanısı için, antijen aramaya dayanan DFA testi ile ilgili, Al ve ark., Kuştimur ve ark. ve Uyar ve Özkan'a göre, Özkan ve ark. dışında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.<sup>5,9,10</sup> Ankara'da yapılan bir çalışmada, DFA pozitifliği olan 29 dışkının 23'ü trikrom boyama, 22'si formol eter çöktürme, 17'si nativ lugol yöntemleri ile *G. intestinalis* pozitif olarak bulunmuştur.<sup>5</sup> Dört örnekteki *Giardia* kistleri yalnızca DFA yöntemi ile saptanabilmiştir. Bu çalışmada ise, toplam 150 dışkı örneğinin 26 (%17,33)'sında DFA pozitifliği, 22'sinde (%14,7) nativ-lugol ile *G. intestinalis* kist ve trofozoitleri saptanmıştır.

Al ve ark. tarafından, nativ lugol incelemede süpheli *G. intestinalis* kist ve/veya trofozoitleri görülen 44 dışkı örneğinin 37'si (%84) trikrom boyama, 39'u (%88,6) monoklonal ELISA ve 35'i (%79,5) monoklonal DFA yöntemleri ile pozitif olarak tespit edilmiştir.<sup>9</sup> Çalışmamızda ise, toplam 150 dışkı örneğinin 22'sinde (%14,7) direkt mikroskopi ile *G. intestinalis* kist ve/veya trofozoitleri belirlenmiş, 28'inde (%18,66) ELISA yöntemi ile, 26'sında (%17,33) DFA yöntemi ile pozitiflik tespit edilmiştir.

Kuştimur ve ark. gastrointestinal yakınmaları olan 558 hastanın dışkı örneklerinde; 5 (%0,9) hastada direkt mikroskopi ile, 8 (%1,4) hastada trikrom boyama ile, 19 (%3,4) hastada ELISA ile, ve 13 (%2,3) hastada DFA ile *G. intestinalis* pozitifliği tespit etmişlerdir.<sup>10</sup> Direkt mikroskopinin, ELISA ve DFA'ya göre duyarlılıkları ve özgüllükleri sırası ile; %26,3-30,8 ve %100-99,8 olarak saptanmış; buna göre, direkt mikroskopinin ELISA ve DFA'ya göre duyarlılıkları düşük, özgüllükleri yüksek olarak belirlenmiştir. Direkt mikroskopi ile karşılaştırıldığında, ELISA ve DFA yöntemlerinin tutarlılık değerleri orta düzeyde (0,42 ve 0,43) saptanmıştır. Bu çalışmada ise, toplam 150 dışkı örneğinin 22'sinde (%14,7) direkt mikroskopi ile *G. intestinalis* kist/trofozoiti belirlenmiş, ELISA ile 28'inde (%18,66), DFA ile 26'sında (%17,33) *G. intestinalis* antijeni tespit edilmiştir. Direkt mikroskopinin ELISA ve DFA'ya göre özgüllüğü yüksek (%100-100) olmasına rağmen, duyarlılığı daha düşük (%78,57-84,62) olarak belirlenmiştir. Yöntemler arasındaki tutarlılık değerleri (direkt mikroskopinin, ELISA ve DFA'ya göre; 0,856-0,901; ELISA'nın DFA'ya göre; 0,955) yüksek düzeyde saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Bu sonuçlardan, dışkıda *G. intestinalis*'in tanısında basit ve ucuz bir yöntem olan direkt mikroskopinin ilk yapılması gereken yöntem olduğu, buna ek olarak duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bulunan ELISA ve DFA'nın semptomatik olduğu halde parazitin saptanamaması durumunda ve geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca ELISA ve DFA'nın kolay uygulanabilen ve güvenilir sonuçlar veren tanı yöntemleri olduğu da söylenebilir.

Akyar ve Gültekin, *G. intestinalis* araştırılan 3100 dışkı örneğinin 343'ünde (%11,1) ELISA ile *Giardia* antijeni saptandığını, pozitif olguların %52'sinin kadın, %48'inin erkek olduğunu; Özekinci ve ark. toplam 181 hastanın 141'inde direkt mikroskopi ile *G. intestinalis* kist veya trofozoiti tespit edildiğini, pozitif olguların %35'inin kadın, %65'inin erkek olduğunu; Aşçı ve ark. toplam 25.077 dışkı örneğinin 2599'unda *G. intestinalis* kist veya trofozoiti saptandığını, pozitif olguların %45'inin kadın, %55'inin erkek olduğunu bildirmişlerdir.<sup>6,29,30</sup> Çalışmamızda, toplam 150 dışkı örneğinin 22'sinde (%14,7) *G. intestinalis* kist ve/veya trofozoiti, 28'inde (%18,66) ELISA ile *Giardia* antijeni tespit edilmiş, pozitif olguların direkt mikroskopi ile %68,2'sinin (15) erkek, %31,8'inin (7) kadın; ELISA ile %67,9'unun (19) erkek, %32,1'inin (9) kadın bireyler olduğu kaydedilmiştir ( $p>0,05$ ). Bu sonuçlara göre, bulgularımızın aynı konuda yapılan bazı çalışmaların verileri ile uyumlu olduğu görülmektedir.<sup>6,30</sup>

Yaş gruplarına göre dağılımda; Akyar ve Gültekin *G. intestinalis* araştırılan 3100 dışkı örneğinin 343'ünde (%11,1) ELISA ile *Giardia* antijeni saptandığını, pozitifliğin en yüksek %29,4 ile 25-34 yaş grubunda gözlemlendiğini, bunu %17,2 ile <35-44 yaş gruplarının izlediğini; Aşçı ve ark. ile Özekinci ve ark. direkt mikroskopi ile saptanan en yüksek pozitifliğin sırası ile 0-6,7-12 ve 6-11 yaş gruplarında görüldüğünü bildirmişlerdir.<sup>6,29,30</sup> Çalışmamızda ise, direkt mikroskopi ve ELISA ile saptanan pozitiflik en yüksek 0-14 yaş grubunda kaydedilmiştir ( $p>0,05$ ). Tarafımızdan, pozitifliğin

en yüksek 0-14 yaş grubunda saptanmış olması, bulgularımızın Aşçı ve ark. ile Özekinci ve ark.'nın bulguları ile uyum sağladığını göstermektedir.<sup>6,30</sup>

Sonuç olarak; dışkıda *G. intestinalis*'in araştırılmasında direkt mikroskopi, ELISA ve DFA yöntemlerinin birbirlerine bariz üstünlüklerinin olmadığı; direkt mikroskopi yönteminin duyarlılık, özgüllük ve tutarlılık değerlerinin altın standart olarak bilinen ELISA ve DFA yöntemlerine göre yeterli düzeyde olduğu söylenebilir. Bu bakımdan, basit ve ucuz bir yöntem olan direkt mikroskopinin, maliyet ve iş gücü açısından daha ekonomik olması ve *Giardia* dışında bulunabilecek diğer parazitler hakkında fikir vermesi nedeniyle, tanıda ilk aşamada tercih edilebilecek yöntem olduğunu düşünmekteyiz. Diğer taraftan, ELISA yönteminin hasta semptomatik olduğu halde parazitin saptanamaması durumunda, giyardi-yazlı hastaların tedavi sonuçlarının değerlendirilmesi ve takiplerinde, ve geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmasının yararlı olacağı kanısındayız. DFA yönteminin ise, referans yöntem olma özelliğinden dolayı etkenin saptanamadığı, klinik olarak şüpheli enfeksiyonlarda giyardi-yaz tanısının doğrulanması için uygulanmasının yararlı olacağı görüşündeyiz. Çalışmamızda, direkt mikroskopi ve ELISA sonuçları pozitif olan olguların yaş ve cinsiyete göre dağılımında, pozitifliğin en yüksek 0-14 yaş grubundaki erkek bireylerde saptandığı belirlenmiştir. Ayrıca çalışmadan elde edilen sonuçlar bölgesel olarak saptanmış veriler olduğu için, giyardi-yaz sıklığının diğer bölgelerimizin verileri ile karşılaştırılmasına olanak sağlayacağı düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

- Garcia LS. Intestinal protozoa: flagellates and ciliates. Diagnostic Medical Parasitology. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: ASM Press; 2001. p.60-97.
- Ak M, Türk M, Güneş K. [Giardiasis]. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, editörler. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. 1. Baskı. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği; 2007. p.323-44.
- al-Tukhi MH, al-Ahdal MN, Das SR, Sadiqi S, Siddiqui Y, Ackers J, et al. Pathogenicity and antigenic components of excysted *Giardia lamblia* isolated from patients in Riyadh, Saudi Arabia. Am J Trop Med Hyg 1991;45(4): 442-52.
- Hoque E, Hope V, Scragg R, Baker M, Shrestha R. A descriptive epidemiology of giardiasis in New Zealand and gaps in surveillance data. N Z Med J 2004;117(1205):U1149.
- Uyar Y, Özkan AT. [Antigen detection methods in diagnosis of amebiasis, giardiasis and cryptosporidiosis]. Türkiye Parazitol Derg 2009;33(2):140-50.
- Özekinci T, Uzun A, Suay A, Elçi S, Akpolat N, Atmaca S. [Comparison of microscopy and (EIA) in the diagnosis of *Giardia intestinalis* in stool specimens]. Türkiye Parazitol Derg 2005;29(2):89-92.
- Duque-Beltrán S, Nicholls-Orejuela RS, Arévalo-Jamaica A, Guerrero-Lozano R, Montenegro S, James MA. Detection of *Giardia duodenalis* antigen in human fecal eluates by enzyme-linked immunosorbent assay using polyclonal antibodies. Mem Inst Oswaldo Cruz 2002;97(8):1165-8.
- Hill DR. *Giardia lamblia*. In: Gillespie SH, Pearson R, eds. Principles and Practice of Clinical Parasitology. 1<sup>st</sup> ed. London: Wiley; 2001. p.219-41.
- Al FD, Kuştimur S, Özekinci T, Balaban N, İlhan MN. The use of Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Direct Fluorescent Antibody (DFA) methods for diagnosis of *Giardia intestinalis*. Türkiye Parazitol Derg 2006;30(4):275-8.

10. Kuştimur S, Dođruman AF, Tuncer C, Çamurdan A, Dalgıç B, Alagözölü H, et al. [Investigation of some protozoans with different diagnostic methods in patients with gastrointestinal discomfort]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009;29(5):1260-6.
11. Gödekmerdan A, Özkeklikçi A, Bulut V, Kalkan A, Kaplan M. [Comparison of microscopy and ELISA in diagnosis of Giardia intestinalis]. *Türkiye Parazitol Derg* 1998;22(3):233-8.
12. Aksakođlu G. [Rates derived from research: Reliability]. *Sağlıkta Araştırma ve Çözümleme. İkinci Baskı. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Yayını; 2006. p.96-9.*
13. Daldal N, Atambay M, Çelik T. [Comparison of native-lugol and trichrome staining methods in diagnosis of intestinal protozoa in cases with diarrhea]. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2002;9(3):175-8.
14. Çelik T, Atambay M, Daldal N. [Distribution of intestinal protozoa in diarrheic cases in Malatya]. *Türkiye Parazitol Derg* 2003;27(2):129-32.
15. Yazar S, Hamamcı B, Birhan M, Şahin İ. [Distribution of intestinal parasites in patients presenting at the coprology laboratory of the Parasitology Department of the Erciyes University Medical School]. *Türkiye Parazitol Derg* 2001;25(1):53-5.
16. Saygı G, Ođuztürk H, Akın Z. [Distribution of intestinal parasites in the students of two village schools]. *Türkiye Parazitol Derg* 2002;26(3):292-8.
17. Babür C, Kılıç S, Taylan Özkan A, Esen B. [Evaluation of intestinal parasites between 1995-2000 at the Refik Saydam National Hygiene Center]. *Türkiye Parazitol Derg* 2002;26(3):286-91.
18. Zeyrek FY, Özbilge H, Yüksel MF, Zeyrek CD, Sirmatel F. [Parasitic fauna and the frequency of Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar detected by ELISA in stool samples in Şanlıurfa, Turkey]. *Türkiye Parazitol Derg* 2006;30(2):95-8.
19. Kuk S, Erensoy A, Keleştimur N. [Results of parasitological examination of stools in the parasitology laboratory of the Fırat University Fırat Medical Central inside the last year]. *Fırat Medical Journal* 2006;11(2):113-5.
20. Çıragıl P, Aral M, Ekerbiçer Ç, Gül M. [The distribution of intestinal parasites in patients applying to the Microbiology laboratory of the Sutcu Imam University Medical Faculty]. *Türkiye Parazitol Derg* 2003;27(2):136-8.
21. Suay A, Yayla M, Mete Ö, Elçi S. [Investigation of intestinal parasites among children aged 0-7 and 7 -12]. *Türkiye Parazitol Derg* 1995;19(3):381-4.
22. Uzun A, Tekay F, Karasahin Ö, Yeşilmen S, Topçu M, Gül K. [Investigation of intestinal parasites five primary school in different regions in the center of the city of Diyarbakır]. *Türkiye Parazitol Derg* 2003;28(3):133-5.
23. Yılmaz N, Otađ F, Kaya Bartunkal S. [Determination of specific antigens of Giardia lamblia with EIA assay in the diagnosis of giardiasis]. *Journal of the Turkish Microbiological Society* 1994;24(1-2):126-8.
24. Değerli S, Özçelik S. [Diagnosis of giardiasis by indirect fluoresan antibody test (IFAT) and ELISA methods]. *Türkiye Parazitol Derg* 2002;26(4):370-3.
25. Alles AJ, Waldron MA, Sierra LS, Mattia AR. Prospective comparison of direct immunofluorescence and conventional staining methods for detection of Giardia and Cryptosporidium spp. in human fecal specimens. *J Clin Microbiol* 1995;33(6):1632-4.
26. Aldeen WE, Carroll K, Robison A, Morrison M, Hale D. Comparison of nine commercially available enzyme-linked immunosorbent assays for detection of Giardia lamblia in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 1998;36(5):1338-40.
27. Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of Giardia lamblia and Cryptosporidium parvum in human fecal specimens. *J Clin Microbiol* 1997;35(6):1526-9.
28. Schunk M, Jelinek T, Wetzel K, Nothdurft HD. Detection of Giardia lamblia and Entamoeba histolytica in stool samples by two enzyme immunoassays. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20(6):389-91.
29. Akyar İ, Gültekin M. [Five year surveillance of Entamoeba histolytica and Giardia antigen of stool samples by ELISA method]. *Türkiye Parazitol Derg* 2012;36(1):12-6.
30. Aşcı Z, Seyrek A, Kizirgil A, Yılmaz MA. [Retrospective study of the distribution of Giardia intestinalis in fecal samples]. *Türkiye Parazitol Derg* 1997;21(2):133-5.