

Barsak Amebiyazisli Çocuklarda Serolojik Yöntemlerin Tanısal Değeri[¶]

THE DIAGNOSTICAL VALUE OF SEROLOGICAL TESTS IN CHILDREN WITH INTESTINAL AMOEBIASIS

Dr.Mustafa GÖĞEBAKAN*, Dr.Necmi AKSARAY**, Dr.Hayri Levent YILMAZ***, Dr.Emre ALHAN**, Dr.Sultan TANRIVERDİ****, Dr.Kadri ÖZCAN*****

* Uz., Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Enfeksiyon BD,
** Prof., Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Enfeksiyon BD,
*** Yrd.Doç., Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İlk Yardım ve Acil AD, Pediatrik Acil Tıp Ünitesi,
**** PhD., Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parasitoloji AD,
***** Prof., Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parasitoloji AD, ADANA

Özet

Amaç: Bölgemizdeki çocuklarda barsak amebiyazisinin seroprevalansını ve tanısında serolojik yöntemlerin kullanılabilirliği araştırmak.

Materyal-Metod: Bu çalışmada; ortalama yaşları 73±54.1 ay olan klinikte akut barsak amebiyazisi düşünüldüğü, dışkı örneklerinde Entamoeba histolytica (E. histolytica) kisti ve/veya trofozoiti saptanan 76 amebik gastroenteritli ve dışkı incelemelerinde E. histolytica ve diğer parazitlere rastlanmayan 29 non-parazitik gastroenteritli hastalardan alınan toplam 105 serum örneği ile kontrol grubu olarak seçilen 35 sağlıklı çocuğun serum örneğinde ELISA yöntemiyle E.histolytica'ya karşı oluşan IgG sınıfı antikorları araştırıldı. Ayrıca, direkt serum fizyolojik (SF) yöntemiyle yapılan dışkı mikroskopisine göre amebik gastroenterit tanısı konan 76 çocuk hastadan 42'sinde ve sağlıklı grubu oluşturan 35 çocuktan 10'unda IFA yöntemiyle anti-amebik IgM antikor varlığı incelendi.

Bulgular: Dışkısında E.histolytica kisti ve/veya trofozoiti saptanan 76 hasta çocuğun 11'inde (%14.4), ELISA yöntemiyle anti-amebik IgG antikorları pozitif bulunurken, non-parazitik gastroenteritli 29 hasta çocuğun tümü seronegatif idi. Kontrol grubunda ise 35 çocuktan birinde (%2.8) amip IgG antikorları seropozitif bulundu. Serum örneklerinin IFA ile incelenmesi sonucunda dışkı mikroskopisine göre amebik gastroenterit tanısı konan 42 hasta çocuğun 22'sinde (%52.3), 10 sağlıklı çocuğun ise üçünde (%30) 1/8 sulandırımında amip IgM antikorları seropozitif saptandı. Çalışmaya alınan ve dışkı mikrosko

Summary

Purpose: The seroprevalance of the amebic gastroenteritis in children in our region and the use of the serological tests in the diagnosis of amebic gastroenteritis were investigated.

Material and Methods: In this study the presence of IgG antibodies for E.histolytica was investigated by ELISA in a total of 105 patients with acute gastroenteritis. Out of 105 people that were screened, 76 were diagnosed as acute amebic gastroenteritis by the presence of amebic cysts or trophozoites in their stools. The stool examination of the remaining 29 patients were negative for E.histolytica as well as other parasites. The presence of IgG class of antibodies for E.histolytica were also investigated in the serum of 35 healthy children whose stool examination showed E.histolytica- cysts or trophozoites. The presence of anti-amebic IgM antibody was also investigated in 42 of 76 patients with gastroenteritis and in 10 of the 35 healthy children, concomitantly.

Results: In 11 of the 76 (14.4%) patients with amebic gastroenteritis, anti-amebic IgG antibodies were detected with ELISA, all of the 29 patients in the non-parasitic group were found to be seronegative. Meanwhile, among the 35 healthy children, only one (2.8%) child was seropositive for the IgG antibodies of E.histolytica. The mean levels of the IgG absorbance of patients with amebic gastroenteritis patients with gastroenteritis of non-amebic nature, and the controls were 0.490±0.23, 0.280±0.23, 0.270±0.41, respectively (p<0.05). At the same time, the percentages for anti-amebic IgM antibodies were found to be 52.3% and 30% in the patients with amebic gastroenteritis and controls, respectively. No significant statistical difference between these two groups were found (p>0.05). In this study, the specificities and the sensitivities of the amebic ELISA IgG and IFA IgM tests were found to be 98.4%, 14.4%, 71.4% and 52.3% respectively.

Geliş Tarihi: 01.02.2001

Yazışma Adresi: Dr.Hayri Levent YILMAZ
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Pediatrik Acil Tıp Ünitesi
01130 ADANA

[¶] 1. Ulusal Pediatrik Enfeksiyon Kongresi, 2-5 Aralık 1999, Bursa'da sunulmuştur.

bisine göre amebik gastroenterit tanısı konulan olguların ELISA yöntemiyle anti-amebik IgG ortalama absorbans değerleri non-parazitik gastroenteritli ve sağlıklı grubun ortalama amip IgG absorbans değerlerinden daha yüksek olmak üzere sırasıyla 0.49 ± 0.23 , 0.28 ± 0.23 , 0.27 ± 0.41 olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Buna karşın, IFA yöntemiyle anti-amebik IgM antikor pozitifliği bakımından dışkı mikroskopisine göre amebik gastroenterit tanısı konulan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir istatistiksel fark bulunamadı ($p > 0.05$). Çalışmada, direkt SF yöntemiyle karşılaştırıldığında amip ELISA IgG testinin duyarlılığı %14.4, özgüllüğü %98.4, amip IFA IgM testinin duyarlılığı %52.3, özgüllüğü %71.4 olarak belirlendi.

Sonuç: Klinik olarak barsak amebiyazisi düşünülen hastalardan alınan dışkı örneklerinin kolay, hızlı ve ucuz bir yöntem olan direkt SF yöntemi ile incelenmesinin yanında iyi bir şekilde standardize edilerek hazırlanan serolojik kitlerin kullanılmasının tanıyı destekleyebileceği düşünülmüştür. Ayrıca son zamanlarda geliştirilen patojenik amip suşlarına karşı hazırlanmış monoklonal antikorların kullanıldığı dışkıda direkt antijen arayan yöntemlerle oldukça duyarlı olan, patojen ve patojen olmayan türler arasında ayırım yapmayı sağlayabilen PCR gibi moleküler testlerin tanıda kullanılmasının yararlı olacağı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Amebiyazis, Entamoeba histolytica, ELISA-IgG, IFA-IgM, Seroloji, Tanı

T Klin Pediatr 2001, 10:190-196

Conclusion: It can be drawn that the sensitive tests such as amebic IFA IgM and specificity tests such as amebic ELISA IgG, may be useful in the diagnosis of amebic gastroenteritis next to the conventional direct microscopic examination of the stool. But it should also be added that the specificity and the sensitivity of these tests can be increased by the standartization of the test procedures and with the purification of the antigen used in the tests. Also, we believe that zymodem ascertaining, the use of PCR and monoclonal antibodies in the identification of E. histolytica will decrease the failure of morfological diagnosis and answer the unknowns in therapy.

Key Words: Amoebiasis, Entamoeba histolytica, ELISA-IgG, IFA-IgM, Serological Tests, Diagnosis

T Klin J Pediatr 2001, 10:190-196

Amebiyazis, Entamoeba histolytica (E. histolytica) tarafından oluşturulan, tropik ve subtropikal bölgeler başta olmak üzere dünyanın hemen her bölgesinde rastlanılan bir hastalıktır (1-3). İnsidansı popülasyona göre %2-50 arasında değişmektedir (4). Kırküç ülkede yapılan 169 araştırmanın sonucuna göre E. histolytica'nın sıklığı Avrupa'da %10, Amerika'da %12, Asya'da %16 olarak rapor edilmiştir(5). Bugün dünya nüfusunun %10'dan fazlasının E.histolytica tarafından enfekte olduğu kabul edilmektedir. Çin Halk Cumhuriyeti hariç tutulduğunda, dünyada yaklaşık olarak yılda 50 milyon kişinin amebiyazise yakalandığı ve 100.000'in üzerinde kişinin de öldüğü ve parazitik ölüm nedenleri arasında Malarya ve Schistosomiazis'den sonra üçüncü sırada yer aldığı bildirilmektedir (2,3). Yurdumuzda ise bölgeden bölgeye değişiklikler göstermekle birlikte sıklık %0,5-%8,5 arasında değişmektedir (1).

Barsak amebiyazisinde tanı daha çok etkenin mikroskopik olarak dışkıda görülmesiyle kon-

maktadır (4-7). Ancak, bu uygulama pratik olmakla beraber bazı dezavantajlara sahiptir (3,5). Bunlar; 1. Dışkının toplanması ve taşınmasındaki olumsuzlukların tanıyı zorlaştırması (3), 2. Parazit, zaman zaman atıldığından alınan her dışkı örneğinde parazitin görülmemesi (3,6,7), 3. Patojen amip formlarının non-patojen formlardan ayırt edilememesi (3,4,7), 4. Trofozoit şekillerin çabuk bozulabilmesi ve kolayca hareketsiz hale gelmeleri(3), 5. Deneyimli mikroskopist gerektirmesi(3), 6. Anti-diyareikler, antibiyotikler ve baryum, bizmut gibi partiküllerin dışkıda amibin tanınmasını zorlaştırması (5-7), 7. İyi kurulmuş laboratuvarlarda dahi dışkıdaki lökositlerin E. histolytica olarak yanlış teşhis edilebilmesidir(8). Bu nedenlerden dolayı daha spesifik tanı yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır(3).

İndirekt hemagglütinasyon (IHA), indirekt floresan antikor (IFA), enzim linked immunosorbant assay (ELISA), agar gel-diffüzyon (AGD), bentonit flokülasyon (BF), lateks aglütinasyon (LA), komp-

leman birleşmesi, counter current immunoelektroforez (CCIE) amebiyazisin tanısı için sayılan indirekt tanı yöntemleridir (5,7). Özellikle amebiyazisin tanısında IHA ve IFA yöntemlerinin daha hassas olduğu ve seroepidemiolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan yöntemin IFA yöntemi olduğu, IHA yöntemi ile olguların tedavi edildikten sonra yıllarca pozitif sonuçlar vermeye devam ettiği bilinmektedir (5-7). Son yıllarda yetişkin barsak amebiyazisinin tanısında ELISA ile özgül antikorların saptanması önem kazanmıştır (9). Bununla birlikte bu konuda çocuklarda çok az çalışma yapılmıştır (10). Oysa endemik bölgelerde bulunan çocuklar amebiyazisi için yüksek risk grubu olup, bunlarda hem enfeksiyon ağır ve invaziv şekilde seyretmekte, hem de mortalite erişkinlere göre daha yüksek oranda bulunmaktadır (4).

Bu çalışma tropikal iklim kuşağında yer alan, hijyenik koşulların iyi olmadığı bölgemizde barsak amebiyazisinin çocuklarda yaygın olması, yanlış tanı ve gereksiz ilaç kullanımı ile sık karşılaşılması nedeni ile, barsak amebiyazisinin tanısında daha spesifik tanı yöntemlerinin geliştirilmesi amacıyla planlandı. Biz, eş zamanlı dışkıda amip aranması ve serumda anti-amebik antikor varlığını incele-yerek bölgemizdeki çocuklarda barsak amebiyazisinin seroprevalansını ve tanısında serolojik yöntemlerin değerini araştırdık.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (Ç.Ü.T.F.) Genel Çocuk Polikliniği-Çocuk Acil Polikliniği ile Adana Devlet Hastanesi Acil Polikliniğine başvuran ve klinik bulguları ile barsak amebiyazisi düşündüren (kanlı-mukuslu veya yeşil mukuslu ishal, karın ağrısı, kusma, halsizlik) 42'si kız, 63'ü erkek, ortalama yaşları 67.2±54.4 ay (alt-üst sınır: 5-168 ay) olan toplam 105 hasta çocuk ve 15'i kız, 20'si erkek, ortalama yaşları 88.2±48.5 ay olan (alt-üst sınır: 9-168 ay) toplam 35 sağlıklı çocukta yapıldı.

Çalışma grubunu oluşturan her bir hasta çocuk yaş, cins, barsak amebiyazisinin klinik bulguları yanında ateş, semptom süresi, ilaç alımı ve geçirilmiş barsak amebiyazisi açısından sorgulandı. Tüm hastalardan kan ve dışkı örnekleri

alındı. Alınan dışkı örneklerinde; önce makroskobik (renk, mukus, kan) daha sonra direkt serum fizyolojik (SF) yöntemi ile mikroskopta parazitolojik inceleme yapıldı. Dışkı incelemesine göre çalışmaya alınan hasta çocuklar iki gruba ayrıldı:

1-Amebik Gastroenteritliler: Direkt SF yöntemiyle dışkı mikroskopilerinde E.histolytica kisti ve/veya trofozoiti saptanan 76 çocuk hasta.

2-Non-parazitik Gastroenteritliler; Dışkı mikroskopilerinde herhangi bir parazite rastlanmayan 29 çocuk hasta.

Kontrol grubu olarak seçilen çocukların hiçbirinde barsak amebiyazisini düşündürecek öykü ya da klinik bulgu yoktu. Dışkı incelemesinde herhangi bir parazite rastlanan çocuklar çalışma dışı bırakıldı.

Kanların Alınması: Çalışma grubuna dahil edilen hastalardan ve kontrollerden 4 ml venöz kan cam tüplere alındı. Bu kanlar 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı ve -20°C'de derin dondurucuda test tarihine kadar saklandı.

Serolojik Yöntemler: Hasta ve kontrol grubuna ait serum örneklerinde E.histolytica'ya karşı oluşan IgG sınıfı antikorlar ELISA (CLARK, E. histolytica ELISA IgG antibody test cat. No: 61100, USA), IgM sınıfı antikorlar ise IFA (BIOS LABORDIAGNOSTİK, E.histolytica IFA-IgM antibody test cat.no: 50-1660, Germany) yöntemiyle araştırıldı. İşlemler üretici firmaların önerilerine göre yapıldı. ELISA IgG için sınır değer 3 1.100 ve IFA için sınır değer 3 1/8 dilüsyon olarak belirlendi.

İstatistiksel Yöntem

Bulunan verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde "ANOVA testi", "Chi-Square testi" ve "Student t testi" kullanıldı.

Bulgular

Dışkı mikroskobisine göre amebik gastroenterit tanısı konulan hasta çocukların 31'i (%40.8) kız, 45'i (%59.2) erkekti. Yaşları 6 ile 168 ay arasında değişiyordu. Yaş ortalamaları 77.1±54.8 ay idi. Non-parazitik gastroenteritli hasta grubuna dahil 29 hastanın 11'i (%37.9) kız, 18

(%62.1)'i erkekti. Yaşları 5 ile 168 ay arasında değişiyordu. Yaş ortalaması 44.8 ± 44.2 ay idi. Kontrol grubundakiler 15 (%42.9)'i kız, 20 (%57.1)'si erkekti. Yaşları 9 ile 168 ay arasında değişiyordu. Yaş ortalamaları 88.2 ± 48.5 ay idi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

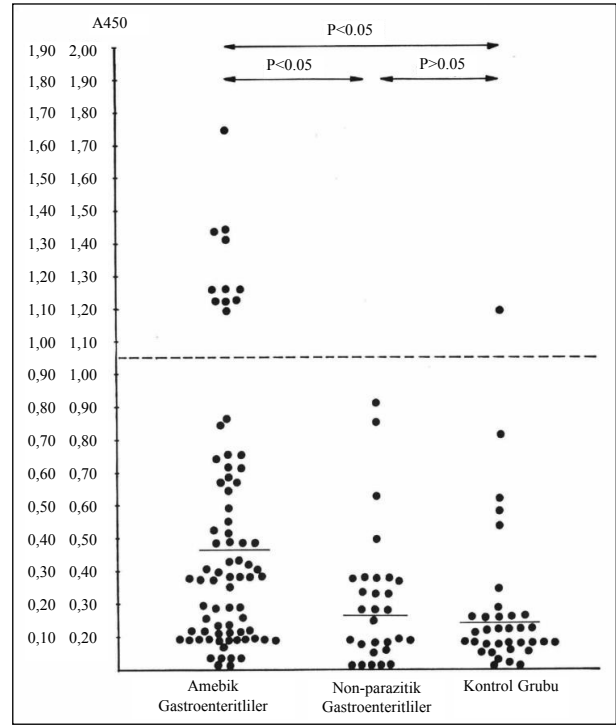
Amebik gastroenteritli hastalarda ortalama semptom süresi 5.3 gün olup, 76 olgunun 51'inde kanlı mukuslu 25'inde yeşil mukuslu ishal, 68'inde karın ağrısı 40'ında kusma, 36'sında ateş 14'ünde dehidratasyon vardı. Non-parazitik gastroenteritli toplam 29 hastada ise ortalama semptom süresi 6.3 gün olup, dokuz olguda kanlı-mukuslu ishal, 20'sinde yeşil-mukuslu ishal, 20'sinde karın ağrısı 10'unda kusma, 20'sinde ateş vardı. Direkt lam-lamel arasında inceleme yöntemiyle amebik gastroenterit tanısı konan 76 hastanın 15'inin (%19.7) dışkısında sadece *E.histolytica*/*E.dispar* trofozoiti, 37'sinde (%48.8) *E.histolytica*/*E.dispar* kisti, 24'ünde (%31.5) ise hem kist hem de trofozoit saptandı.

ELISA yöntemiyle bulunan anti-amebik IgG antikor absorbans değerlerinin ortalamaları dışkı mikroskobisine göre amebik gastroenterit tanısı konulan hastalarda 0.490 ± 0.23 , non-parazitik gastroenteritlilerde 0.280 ± 0.23 , kontrol grubunda 0.270 ± 0.41 idi. Kontrol grubu ile non-parazitik gastroenteritli hastaların ortalama anti-amebik IgG antikor değerleri arasında istatistiksel yönden farklılık saptanmazken ($p > 0.05$), amebik gastroenteritli hastaların ortalama anti-amebik IgG antikor değerleri kontrol grubu ve non-parazitik gastroenteritli hastaların ortalama anti-amebik IgG değerlerinden belirgin olarak yüksek bulundu. ($p < 0.05$) (Tablo 1). Yapılan değerlendirmede dışkı mikroskobisine göre amebik gastroenterit tanısı

Tablo 1. Gruplar arası ELISA anti-amebik IgG ortalama antikor değerlerinin karşılaştırılması*

Karşılaştırılan gruplar	p
Amebik gastroenteritliler-Kontrol grubu	0.016 (<0.05)
Amebik gastroenteritliler-Non-parazitik gastroenteritliler	0.016 (<0.05)
Non-parazitik gastroenteritliler-Kontrol grubu	$p > 0.05$

*: ANOVA testi kullanılmıştır.



Şekil 1. Hasta ve kontrol grubu ELISA IgG sonuçları

konulan 76 çocuk hastadan 11'inde (%14.4) ELISA yöntemiyle anti-amebik IgG antikor seropozitif saptandı. Non-parazitik gastroenteritli grupta tüm olgular seronegatifdi. Sağlıklı kontrol grubunda ise 35 çocuktan 34 (%97.2) tanesinin serumunda anti-amebik IgG antikor negatif olarak saptandı. Bir (%2.8) çocuğun serumunda ise anti-amebik IgG antikor pozitif kabul edildi. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında amip ELISA IgG sonuçları Şekil 1'de gösterilmiştir.

Dışkı mikroskobisine göre amebik gastroenterit tanısı konulan 76 çocuk hastadan 42'sinde ve sağlıklı grubu oluşturan 35 çocuktan 10'unda IFA yöntemiyle anti-amebik IgM antikor varlığı arandı. Dışkı mikroskobisine göre amebik gastroenterit tanısı konan 42 hasta çocuğun 22'sinde (%52.3), 10 sağlıklı çocuğun üçünde (%30) 1/8 sulandırımında anti-amebik IgM antikor seropozitif saptandı. Anti-amebik IgM pozitifliği saptanan serumların hiçbirinde romatoid faktörle çapraz reaksiyon saptanmadı.

Dışkı mikroskobisine göre amebik gastroenterit tanısı konulan hastalar ile kontrol grubundakiler IFA yöntemiyle anti-amebik IgM antikor seropozitifliği yönünden karşılaştırıldığın-

da aradaki farkın istatistiksel yönden önemli olmadığı saptandı ($p>0.005$).

Sonuçta amip ELISA IgG testinin amebik gastroenteritlilerde duyarlılığı %14.4, özgüllüğü %98.4 bulunurken, Amip IFA IgM testinin duyarlılığı %52.3 özgüllüğü ise %71.4 olarak tespit edildi.

Tartışma

Amebiyazis; dünyada yaygın olması, tanı metodlarındaki zorluklar ve tedavide başarının yüzde yüz olmayışı nedeniyle ciddi bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir (2,3,7). Bugün için barsak amebiyazisi tanısında rutin olarak kullanılan direkt dışkı incelemesi ucuz ve kolay bir tanı yöntemidir (3,5,6). Ancak, direkt dışkı incelemesi, yanlış negatif ve pozitif sonuçlar verebileceğinden tanıda yetersiz kalmaktadır (3,8).

Amebiyazisin tanısında dolayısıyla tedavisinde meydana gelen zorlukların aşılması için mikroskopik tanıya seçenек olarak zymodem tayini, monoklonal antikorların kullanıldığı serolojik yöntemler ve PCR gibi yeni tekniklere yönelik çalışmalar da sürdürülmektedir (7,11). Günümüzde bu yöntemler ancak, araştırma amacıyla bazı ileri düzeydeki laboratuvarlarda yapıldığından ve pahalı olduklarından pratik değeri yoktur, ideali pratik, ucuz ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesidir.

Hock ve ark (12), barsak amebiyazis tanısı için amip ELISA-IgG testinin duyarlılığının %97,4, amip ELISA-IgM testinin duyarlılığının ise %43,5 olduğunu saptamışlardır. Bos ve ark.(13) barsak amebiyazisli hastalarda ELISA-IgG testinin duyarlılığını %32,6 olarak tespit etmişlerdir. Çocuk ve yetişkinlerin dahil edildiği Yang ve ark. (14) ise yaptıkları bir çalışmada barsak amebiyazisi olanlarda ELISA-IgG'nin duyarlılığını %26 olarak saptamışlardır. Jyotsna ve ark.(10) ise barsak amebiyazisli çocuklarda ELISA IgG ile %71,4, nonamebik gastroenteritli çocuklarda %3,4, sağlıklı kontrol grubunda ise %2,5'luk seropozitivite saptamışlardır. Hoşoğlu ve ark.(15) da barsak amebiyazisli 40, asemptomatik kist taşıyıcısı 30 ve sağlıklı kontrol grubundan 22 kişiden aldıkları serum örneklerinde amip ELISA-IgG testinin özgüllüğünü

%90,9, duyarlılığını ise %81,4 olarak saptamışlardır.

Görüldüğü gibi sonuçlar çok değişken ve tartışmaya açıktır. Bu çalışmalarda genel olarak serolojik yöntemlerin barsak amebiyazisi tanısında tek başına yeterli olduğu söylenememektedir. Kullanılmakta olan bu tanı yöntemleri ile değişik sonuçların alınması, aynı testlerle alınan sonuçların birbirlerine uymaması şu nedenlere bağlı olabilir: 1- Hastalığın endemisitesine, 2- Test sonuçlarının farklı değerlendirilmesine, 3- Tanımlayıcı antijenin uygun ve yeterli saflıkta olmamasına, 4- Tanı koymada kullanılan gaitanın direkt mikroskopik incelenmesinin hatalı değerlendirilmelere açık bir yöntem olmasına bağlı olabilir. Hastaların uygun şekilde sınıflandırılması ve antijenlerin standart hale getirilmesi sonucunda daha uyumlu sonuçların alınabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca serolojik yöntemler için seçilen antijenlerin doğası, kaynağı, kompleks yapıları ve konakta kalma eğilimleri dikkatle incelenmeli ve parazit arası ortak komponentlerden kurtularak saflaştırılması için fizikokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerin geliştirilmesi ve standardize test kitleri kullanılarak barsak amebiyazisi tanısında ileriye dönük daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir (7,16,17). Daha önce yapılan çalışmalarda ve bizim çalışmamızda bulabileceğimiz ortak noktalardan bir tanesi ELISA-IgG testinin özgüllüğünün yüksek olmasıdır. Ancak bu testin duyarlılığı konusunda çok değişik oranlar bildirilmiştir. Bu nedenle ELISA-IgG testinin barsak amebiyazisi tanısı koymada yeterli olmadığı, ancak gastroenteritli olgularda barsak amebiyazisini ekarte etmede yararlı olabileceği görülmektedir.

Doğan ve arkadaşları (18) dışkı örneklerinde *E.histolytica* kisti saptanan veya şüphelenilen 44 çocuktan 33'ünde (%75), 10 erişkinden sekizinde (%80) EIA ile IgG sınıfı antikor saptarken, kontrol grubu olarak seçilen ve dışkısında parazit incelemesi negatif saptanan 30 çocuktan altısında (%20) ve dokuz erişkinden ikisinde (%22) seropozitiflik bulmuşlardır. Saygı ve arkadaşları (19) amebiyazis şüpheli 108 olgunun serumunda IHA ile %21.3'ünde 1/64 ve üzerindeki dilüsyonlarda, Yılmaz ve arkadaşları(20) 52 olgunun serumunda IHA ile %17.3 olguda 1/16 ve üzerindeki dilüsyonlarda seropozitiflik saptamışlardır. Bu iki çalışmada da amebiyazis şüpheli kişilerin serumlarında tek serolojik test olarak IHA kullanılarak mikroskobide pozitif olguların ancak %17-21'inde seropozitiflik tespit edilmiş olması bizi bu sonuca göre IHA testinin tek başına serolojik tanı yöntemi olarak amebiyazisin tanısında kullanılmaya-

cağını göstermiştir. Yine Budak(6), karaciğer ve barsak amebiyazisinde serolojik tanının güçlüğüne dikkat çe-kerek IFA testinin IHA'ya göre daha iyi sonuç verebileceğini bildirmiştir.

Kontrol grubunda %30 gibi yüksek bir oranda saptadığımız IFA yöntemiyle amip IgM pozitifliği ise şaşırtıcı bir bulgu idi. Çapraz reaksiyonla iliş-kili olabileceğini düşünerek yaptığımız roma-toid faktör (RF) testinde sonuçların yanlış pozitif olmadığını gördük. Yapılan çalışmalarda, anti-amebik IgM sınıfı antikorların akut invaziv enfeksiyondan sonra altı ay kadar serumda pozitif kalabileceği gösterilmiştir (21). Yine Tellez ve ark.nın(22) Nikaragua'da yaptıkları bir çalışmada, IFA ile asemptomatik kist taşıyıcısı olanlarda anti-amebik IgM sınıfı antikor seropozitifliği %33 oranında saptamışlardır. Bu bilgiler bize, kontrol grubunda saptadığımız anti-amebik IgM ve IgG sınıfı antikor seropozitifliğinin daha önceden geçirilmiş bir amebiyazise ya da bizim gösteremediğimiz asemptomatik kist taşıyıcılığına bağlı olabileceğini düşündürdü. Dolayısıyla serolojik yöntemlerin sonucuna dayanarak antikor varlığının halen devam etmekte ya da daha önceden geçirilmiş bir enfeksiyona ait olup olmadığını belirlemek zordur (4,9,16). Bu nedenle iki farklı yöntemin aynı anda yapılması ya da aynı çalışma grubundan yaklaşık olarak bir ay kadar sonra tekrar serum alınarak aynı serolojik yöntemlerle serum dilüsyonlarında en azından iki kat titre saptanması önerilmektedir (19).

Tüm bu çelişkili sonuçlar nedeniyle, dışkının mikroskopik incelenmesinin barsak amebiyazisi tanısında halen en geçerli yol olduğunu düşünüy-yoruz. Ancak patojen ve non-patojen amiplerin dışkının direkt olarak incelenmesi ile ayırt edilmesi imkansızdır (7). Bunlar ancak, serolojik yöntemler, zymodem, DNA problemleri, monoklonal antikorlar ve PCR gibi duyarlı yöntemlerle birbirlerinden ayrılabilirlerdir (11,23,24). Non-patojen formun invaziv olmadığı gibi antikor cevabına neden olmadığı da bilinmektedir (3,4,7). Patojenik zymodemlerin asemptomatik taşıyıcıları ise E.histolytica'ya karşı IgG sınıfı antikor yapmaktadır. Sathar ve arkadaşlarının (9) yaptığı çalışmada zymodemlerin patojenik olmalarının serolojik cevapta çok

önemli olduğu açıkça görülür. Bizim çalışmamızda, dışkısında amip görülüp de, ELISA IgG testi ile anti-amebik antikorların negatif bulunduğu amebik gastroenteritli hastalardaki IgG negatifliğinin nedeni diğer sayılan faktörler yanında dışkıda tespit edilen amibin non-patojen formda olmasından ve bu nedenle seropozitivite oluşturamamış olmasından kaynaklanabilir. Onun içindir ki, patojen ve non-patojen amip formlarının ayırıcı tanısında zymodem analizi faydalı olabilir. Bu durum, aynı zamanda dışkıda amip görülüp seronegatif olan kişilere ek olarak anti-amebik tedavinin verilip verilmeyeceği sorusunu akla getirmektedir. Genel kanı ise patojenik taşıyıcıların tedavi edilmesi şeklindedir. Endemik bölgelerde serolojisi negatif olan non-patojen taşıyıcıların tedavi endikasyonu yoktur. Bölgemiz endemik olduğundan bu konuya dikkat çekip, gereksiz ilaç kullanımının azaltılması düşünülerek ileride bu konuda daha detaylı çalışmalar yapılması planlanmaktadır.

Bir çok araştırmacı barsakta E.histolytica'dan morfolojik olarak ayrılmayan amip türlerinin olduğunu bildirmiştir (3,4,7). Tanrıverdi ve arkadaşlarının (25) direkt SF yöntemi ile amebik dizanteri tanısı konan hastaların dışkı örneklerini inceledikten sonra bunların yalnızca 62 (%81.58)'sinin E.histolytica olduğu, sekizinin (%10.5) E.coli olmak üzere toplam 14'ünün (%18.4) E.histolytica dışındaki protozoonlar ve negatif dışkı örnekleri olduğu belirtilmiştir. Ayrıca amebiyazisin tanısında dışkının direkt SF yöntemiyle beraber, Alger'in modifiye trichrome boya yöntemi uygulanarak incelenmesinin daha güvenilir bir yol olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuçta; klinik olarak barsak amebiyazisi düşünülen hastalardan alınan dışkı örneklerinin kolay, hızlı ve ucuz bir yöntem olan direkt SF yöntemi ile incelenmesinin yanında iyi bir şekilde standardize edilerek hazırlanan serolojik kitlerin kullanılmasının tanıyı destekleyebileceği düşünüldü. Ayrıca son zamanlarda geliştirilen patojenik amip suşlarına karşı hazırlanmış monoklonal antikorların kullanıldığı dışkıda direkt antijen arayan yöntemlerle (26) oldukça duyarlı olan ve "patojen" ve "patojen olmayan" türler arasında

KAYNAKLAR

ayrım yapmayı sağlayabilen PCR (27,28) gibi moleküler testlerin tanıda kullanılmasının yararlı olacağı kanısına varıldı.

1. Budak S. Amöbiyazların epidemiyolojisi. T Parazitol Derg 1985; 8:49-65.
2. Walsh JA. Prevalence of Entamoeba histolytica infection In: Ravdin JI ed. Amebiasis. Human infection by Entamoeba histolytica. New York : Churchill Livingstone, 1988:93-105.
3. Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis. Estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. Rev Infect Dis 1986; 8:228-38.
4. John N, Aucott MD, Ravdin JI. Amebiasis and "nonpathogenic" intestinal protozoa. Infect Dis Clin of North America 1993; 7:467-83.
5. Ak M, Kıracağı D. Amoebozis, GAP ve parazit hastalıkları (Ed Özcel MA). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No.11, İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1993:71-8.
6. Budak S, Sermet I. Amöbiyazların laboratuvar tanısı. T Parazitol Derg 1985; 8:123-42.
7. Ravdin JI. Protozoal Diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases. New York : Churchill Livingstone , 1995:2393-404.
8. Ravdin JI. Diagnosis of invasive amoebiasis time to end the morphology era. Gut; 1994; 35:1018-21.
9. Sathar MA, Bredenkamp BLF, Gathiram V. Detection of Entamoeba histolytica immunoglobulins G and M to Plasma membrane antigen by Enzyme-linked immunosorbent assay. J of Clin Microbiol 1990; 28:332-5.
10. Jyotsna PK, Misra PN, Saxena GK, Malik & SRD. Enzyme linked immunosorbent assay for serodiagnosis of amoebiasis in children. Indian J Med Res 1985; 81:129-32.
11. Abd-Alla MD, Jackson TF, Gathiram V, el-Hawey AM, Ravdin J. Differentiation of pathogenic from non-pathogenic Entamoeba histolytica infection by detection of galactose-inhibitable adherence protein antigen in sera and feces. J Clin Microbiol 1993; 31:2845-50.
12. Hock GM, Foon KL, Chuen HL, Choo NG, Singh M. Determination of anti-amoebic IgG, IgM, IgA ad IgG subclasses in sera from patients with amoebiasis by enzyme-linked immunosorbent assay. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1989; 20:407-14.
13. Bos HJ, Schouten WJ Noordpool H, Makbin M, Oostburg BF. A seroepidemiological study of amebiasis in Surinam by the Enzyme-linked immunosorbent assay. Am J Trop Med Hyg 1980; 29:358-63.
14. Yang J, Kennedy MJ. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for theserodiagnosis. J Clin Microbiol 1979; 10:778-85.
15. Hoşoğlu S, Ayaz C. Barsak amebiyazisinde anti-amebik antikorların ELISA yöntemiyle gösterilmesi. Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Diyarbakır, 1994.
16. Lotter HE, Monnweiler E, Tannich E. Crude or recombinant proteins applied to latex agglutination, complement fixation and enzyme-linked immunosorbent assays for the serodiagnosis of invasive amebiasis. Trop Med Parasitol 1993; 44:277-80.
17. Tanyüksel M, Ergüven S, Tanrıöver B, Baylan O, Gün H. Amoebozis tanısında kullanılan mikroskopinin serolojik yöntemlerle (IFA, ELISA) karşılaştırılması. T Parazitol Derg 1995; 19:476-82.
18. Doğan N, Yurdanur A, Koçoğlu T, Aksit T: IgG sınıfı Entamoeba histolytica antikorlarının EIA ile araştırılması. T Parazitol Derg 1992; 16:24-31.
19. Saygı G, Özçelik S, Temizkan N. Amebiyaz şüpheli olguların serumlarında indirekt hemagglütinasyon deneyi ile saptanan bulgular. T Parazitol Derg 1990; 14:1-6.
20. Yılmaz M, Ay S, Serhatoğlu S, Kılıç SS, Türkoğlu AB, Korak E. Elazığ EBK işçilerinde IHA yöntemiyle kist hidatik ve amebiyazis araştırması. T Parazitol Derg 1989; 13:45-9.
21. Ximenez C, Leyva O, Moran P, Ramos F, Melendro EI, Ramiro M, Martinez MC, Munoz O, Kretschmer R, Arellano J. Entamoeba histolytica antibody response to recent and post invasive events. Ann Trop Med Parasitol 1993; 87:31-9.
22. Tellez SA, Cortez RL, Aust KA, Huldt G, Jonsson J, Schoroder H. Amebiasis in Nicaragua: class specific serum antibody responses. Arch Med Res 1992; 23:261-4.
23. Gathiram X, Jackson TFHG: A longitudinal study of asymptomatic carries of pathogenic zymodemes of Entamoeba histolytica. S Afr Med J 1987; 72:669-72.
24. Hostmann RD, Leippe M, Tannich E. Recent progress in the molecular biology of Entamoeba histolytica. Trop Med Parasitol 1992; 43:213-8.
25. Tanrıverdi S, Özcan K. Amöbiyazisin tanısında doğrudan serum fizyolojik yöntemi ile klasik Trichrome, Algerin Modifiye tricrome'u, Celestine blue B ve Celestine blue B+Trichrome boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. T Parazitol Derg 1993; 17:1-9.
26. Pillai Dr, Keystone JS, Sheppard DC, MacLean JD, MacPherson DW, Kain KC. Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar: epidemiology and comparison of diagnosis methods in a setting of nonendemicity. Clin Infect Dis 1999; 29:1315-8.
27. Gomes MA, Pesquero JB, Furst C, Valle PR, Pesquero JL, Silva EF. An improved method to distinguish Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar. Parasitology 1999; 119:359-62.
28. Rivera WL, Tachibana H, Kanbara H. Application of the polymerase chain reaction (PCR) in the epidemiology of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar infection. Tokai J Exp Clin Med 1998; 23:413-5.