

Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastalarında *Entamoeba histolytica* Prevalansı

Cihangir AKDEMİR *  Abdülalim AYDIN **

* Dumlupınar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, TR-43100 Kütahya - TÜRKİYE

** Hakkari Üniversitesi, Hakkari Meslek Yüksekokulu, TR-30100 Hakkari - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2011-5974

Özet

Bu çalışmada Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin çeşitli kliniklerine müracaat eden ve dışkı bakılarında amip aranması istenilen hastalarda *E. histolytica/dispar* ve *E. histolytica*'nın prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çeşitli kliniklerden 2007-2010 yılları arasında Parazitoloji Laboratuvarına yönlendirilen ishallerli hastaların dışkıları önce nativ lugol ve gerekli durumda trikrom boyama ile mikroskopik olarak incelenmiş, *E. histolytica/dispar* olarak teşhisi yapılanlar test edileceği zamana kadar usulüne uygun olarak muhafaza edilmiş ve bu şekilde bekletilen dışkı örnekleri ELISA yöntemiyle (Wampole® *E. histolytica* II Techlab®, Inc., Blacksburg, VA) test edilerek *E. histolytica* yayılımı belirlenmiştir. Parazitoloji Laboratuvarına yönlendirilen 617 ishallerli hastaya ait dışkı örneğinden hazırlanan boyalı preparatlar mikroskopik olarak incelenmiştir. *E. histolytica/dispar* olarak teşhisi yapılan 37 dışkı örneği test edileceği zamana kadar usulüne uygun olarak saklanmıştır. Muhafaza edilen numuneler ELISA yöntemiyle test edilmiş ve *E. histolytica* sadece iki hastada (%0.32) saptanmıştır. *E. histolytica/dispar* mikroskopik incelemeyle %5.99 oranında belirlenmiş olup bu grupta ELISA yöntemiyle spesifik antijen aranmasıyla *E. histolytica* prevalansı %0.32 olarak bulunmuştur. Çalışmada *E. histolytica* prevalansının düşünülenden çok daha az bulunduğu ve hastaların büyük kısmına (%94.6) gereksiz tedavi verildiği sonucuna varılmıştır ($P<0.01$). Mikroskopik bakıda *E. histolytica/dispar* olarak tespit edilen örneklerin en kısa zamanda ayırıcı tanı yöntemiyle tekrar değerlendirilmesi ve bu incelemede laboratuvar imkanlarının elvermesi durumunda bütün dışkıların spesifik antijen yönünden araştırılmasının uygun yaklaşım olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *E. histolytica/dispar*, *Entamoeba dispar*, Yayılım

The Prevalance of *Entamoeba histolytica* Detected in Patients Presenting at the Dumlupınar University Medical Faculty Hospital

Summary

This study evaluates prevalence of *E. histolytica/dispar* and *E. histolytica* at stool tests of patients who were admitted to various clinics of Dumlupınar University Medical School and subsequently were required to be examined for amoebae presence in their fecal matters. Stool samples of 617 patients with diarrhea, sent to Parasitology Laboratory between the years 2007 and 2010, were first examined microscopically using native lugol, and trichrome staining when necessary; and 37 samples (5.99%) found containing *E. histolytica/dispar* preserved under technically-required conditions for following ELISA testing (Wampole® *E. histolytica* II Techlab®, Inc., Blacksburg, VA) to detect *E. histolytica* by looking for specific antigens. Only two samples (0.32%) were found to contain *E. histolytica*. It may be concluded that prevalence of *E. histolytica* is much lower than expected and a great majority of patients (94.6%) were treated needlessly ($P<0.01$). Therefore, a more prudent approach would be that the stool samples found to contain *E. histolytica/dispar* to be re-evaluated immediately by differential diagnosis method, and all stool samples to be examined for specific antigens when laboratory capacity allows.

Keywords: *E. histolytica/dispar*, *Entamoeba dispar*, Prevalence

GİRİŞ

Gelişmekte olan ülkelerde halen önemini koruyan bir sağlık problemi olarak kabul edilen amoebiosis, *E. histolytica*

nın neden olduğu bağırsak ve bağırsak dışı yerleşimle seyreden bir hastalıktır. Dünya genelinde nüfusun %10'unu



İletişim (Correspondence)



+90 274 2652031



cihangirakdemir@yahoo.com

etkilediği ve yılda yaklaşık 100 bin insanın ölümünden sorumlu olduğu kabul edilmekte ^{1,2} ve patojen olan *E. histolytica*'nın *E. histolytica/dispar* kompleksinde yaklaşık %10'luk bir oranda olduğu ifade edilmektedir ³. Bulaşı, kistleri içeren dışkı ile kontamine olmuş gıda ve suların alınmasıyla gerçekleşmekte ve bu yolla alınan etkenler daha sonra trofozoit forma dönüşerek kolon epiteline invaze olabilmektedir. Olguların yaklaşık %90'ı asemptomatik seyretmekle birlikte ishal ve dizanteriye kadar ulaşan geniş bir kalınbağırsak hastalığı tablosu oluşturabilmekte ve bağırsak haricinde karaciğer, akciğer, beyin, plevra, dalak gibi organlarda da abse oluşumuna yol açabilmektedir ^{4,5}. Çoğu olgunun asemptomatik seyirli olması nedeniyle hastalığın klinik tablosu tanı koymaya yeterli olmamakta, klasik mikroskopik yöntemlerle patojen *E. histolytica* ile apatojen *E. dispar*'ın ayırımı gerçekleştirilememektedir ^{6,7}.

Rutin laboratuvar hizmetlerinde ayırıcı tanı bu protozoona spesifik antijenlerin dışkıda tespitiyle mümkün olmakla beraber izoenzim analizi, spesifik DNA probu ile hibridizasyon ve PCR gibi ileri tetkik yöntemleri de kullanılabilir ⁷⁻⁹.

Bu çalışmada hastanemize müracaat eden ayaktan ve yatan ishallerli hastalarda mikroskopik olarak *E. histolytica/dispar* tanısı konulmuş vakalara ait dışkılarda spesifik antijen aranmasıyla *E. histolytica* prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Poliklinik ve servislerinden 2007-2010 yılları arasında Parazitoloji Laboratuvarına yönlendirilen ve amip yönünden incelenmesi istenilen 617 ishallerli hastaya ait dışkı numunesi ilk önce nativ-lugol yöntemi ile (40x) incelenmiştir. Trofozoit veya kist yönünden şüpheli görülenler trikrom boya (Parapak EcoStain Set®) ile boyanarak mikroskopun (Nikon 80i) 100'lük objektifinde tekrar değerlendirilmiştir. Yapılan incelemede *E. histolytica/dispar* pozitif belirlenenler ependorf tüplere porsiyonlanarak içlerine herhangi bir koruyucu madde ilave edilmeksizin -80°C'de derin dondurucuya (Revco®) derhal konularak muhafaza edilmiştir. Yetersiz

numune veren 13 hasta çalışmaya dahil edilmemiştir. Örnekler test edilmeden önce dondurucudan çıkarılarak bir defada çözümleri sağlanmış, *E. histolytica*'nın Gal/Gal-NAc lektinine karşı monoklonal antikor kullanan ticari ELISA kiti ile (Wampole® *E. histolytica* II Techlab®, Inc., Blacksburg, VA) test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistik programı aracılığıyla (SPSS.13) ki-kare yöntemiyle değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Laboratuvarımıza yönlendirilen ve amip yönünden incelenmesi istenilen 617 adet ishallerli dışkı örneğinin mikroskopik bakısında 37'si (%5.99) *E. histolytica/dispar* olarak değerlendirilmiştir. Mikroskopik değerlendirme sonucunda muhafaza edilmiş olan 37 adet dışkı örneğinde ELISA yöntemiyle *E. histolytica*'ya spesifik antijen aranmış ve sadece iki hastada *E. histolytica*'nın (%0.32) pozitif olduğu anlaşılmıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Tuncay ve ark.^{10,11} İzmir'de *E. histolytica/dispar*'ı mikroskopik olarak %0.15-0.44 oranında teşhis etmiş ve yöntemin doğruluğunun %60.9 olduğunu bildirmiştir ¹⁰. Ankara'da ise akut ülseratif kolitli hastalarda *E. histolytica* %31.5 oranında saptanmıştır ¹².

Delialioğlu ve ark.¹³ Mersin'de mikroskopik yöntemle *E. histolytica/dispar*'ı tespit edemediklerini ancak serolojik olarak *E. histolytica*'nın %2 oranında yaygın olduğunu ifade etmişler, Koltaş ve ark.¹⁴ *E. histolytica*'yı spesifik antijen incelemeyle %16.8, mikroskopik olarak ise %12.2 oranında bulunduğunu ifade etmişlerdir. Mengeloğlu ve ark.¹⁵ Zonguldak'ta rutin dışkı incelemesiyle %0.37 oranında *E. histolytica/dispar*'ı tespit etmişler, mikroskopik bakıyla pozitif bulunan örneklerin ELISA ile tekrar incelenmesiyle bunların %59'unun *E. histolytica* olduğunu bildirmişlerdir. Özkalp ve ark.¹⁶ Niğde'de paraziti var olan türler içinde %29 oranında tespit etmişlerdir.

Şanlıurfa'da Zeyrek ve ark.¹⁷ direkt baki ile *E. histolytica*

Tablo 1. *E. histolytica* saptanan hastalara ait yaş, makroskopi ve boyama sonuçları
Table 1. The age, macroscopy and staining results in the patients who were diagnosed with *E. histolytica*

Yaş	Trikrom Boyama Pozitif n=37 (%)	ELISA Pozitif n=2 (%)
0-12	11 (29.8)	--
13-25	14 (37.8)	1 (50)
26 ve üstü	12 (32.4)	1 (50)
İshal	35 (94.6)	2 (100)
Kanlı ishal	2 (5.4)	--
Yatan hasta	--	--
Ayaktan hasta	2	2 (100)

dispar'ı %1.43 oranında bulmuşlar, amip şüphesi görülen örneklerin ELISA ile incelenmesiyle %23'ünün *E. histolytica/dispar* olduğunu ifade etmişlerdir. Sivas'ta *E. histolytica/dispar* mikroskopik olarak %1.5-2.4 oranında bulunmuş spesifik antijen taranmasıyla *E. histolytica* tespit edilememiştir^{18,19}. *E. histolytica/dispar*'ı mikroskopik olarak Malatya'da Köroğlu ve ark.²⁰ %5.3, Kars'ta Arslan ve ark.²¹ %10.1, Van'da Yetik ve ark.²² ise %13.6 oranında tespit etmişlerdir.

Mısır'da Abd-Alla ve Ravdin²³ *E. histolytica*'yı akut diyaliz hastalarda %57, kontrol grubunda ise %21.4 oranında, Gaafar²⁴ ise %2 oranında bulunduğunu ifade etmiştir. Brezilya'da %10.6-24.7 oranında seropozitiflik tespit edilmiş ve prevalansın yüksek olduğu bölgenin alt yapı imkanlarından yoksun olduğuna dikkat çekilmiştir^{25,26}. Aynı ülkede mikroskopik incelemede *E. histolytica/dispar* %21.5 oranında bulunmuş antijenik incelemede ise bu oran %6.5 olarak bildirilmiştir²⁷. Venezuela'da *E. histolytica/dispar* %1 oranında bulunmuş²⁸, Meksika'da ise seroepidemiolojik yöntemle *E. histolytica* %8.41 oranında bulunmasının iklimatik şartlarla ilgili olmadığı ifade edilmiştir²⁹. Küba'da *E. histolytica/dispar* %3.5 oranında bildirilmiş³⁰, Guatemala'da ise %16.1 olarak tespit edilen *E. histolytica*'nın genç nüfusta, yağışlı mevsimlerde ve yetersiz beslenen çocuklarda anlamlı şekilde artış gösterdiği ifade edilmiştir³¹. Araştırmacıların kullandıkları yöntem mikroskopik olması nedeniyle bu kayıtların *E. histolytica/dispar* olarak kabul edilmesi gerektiği düşünülmektedir³¹.

Direkt mikroskopi yönteminin *E. histolytica/dispar* teşhisinde kısa zaman alması ve uygulama kolaylığı sağlanması açısından bütün mikrobiyoloji/parazitoloji laboratuvarlarında kullanıldığı ve deneyimli kişilerin ellerinde bile yanlısalmalara neden olabileceği bildirilmiştir³². Çalışmamızda *E. histolytica/dispar* mikroskopik olarak %5.99 oranında belirlenmiş olup spesifik antijen incelemesiyle ishali hastalarda *E. histolytica*'nın prevalansı'nın %0.32 olduğu anlaşılmıştır. Elde edilen sonuçlar genel olarak araştırmacılarla paralel olarak değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak dışkı örneklerinin mikroskopik incelemesiyle *E. histolytica/dispar* teşhisi konulan hastaların %94.6'sının (P<0.01) yanlış tanı nedeniyle gereksiz tedavi aldığı anlaşılmıştır. Bu durumu önlemek için pozitif değerlendiren örneklerin derhal ayırıcı tanı yöntemiyle tekrar incelenmesi ve laboratuvar imkanların elvermesi durumunda ise amip yönünden araştırılması istenilen bütün dışkı örneklerinin spesifik antijenle araştırılmasının daha uygun bir yaklaşım olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Walsh JA: Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: Estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. *Rev Infect Dis*, 8 (2): 228-238, 1986.
2. WHO: Amebiasis. *Weekly Epidemiol Rec*, 72, 97-100, 1997.
3. Abd-Alla M, Jackson TFHG, Gathiram V, El-Hawey A, Radvin

J: Differentiation of pathogenic *Entamoeba histolytica* infections from nonpathogenic infections by detection of galactose inhibitable adherence protein antigen in sera and feces. *J Clin Microbiol*, 31 (11): 2845-2580, 1993.

4. Ak M, Tanyüksel M, Dağcı H: Amoebiasis. In, Özcel MA (Ed): Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. s. 279-308, Meteksan, İzmir, 2007.
5. Ralstan KS, Petri JW: Tissue destruction and invasion by *Entamoeba histolytica*. *Trends In Parasitology*, 27 (6): 253-262, 2011.
6. Kebede A, Verweij JJ, Petros B, Polderman AM: Short communication: Misleading microscopy in amoebiasis. *Trop Med Int Health*, 9 (5): 651-652, 2004.
7. Tanyüksel M, Petri JWA: Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev*, 16 (4): 713-729, 2003.
8. Haque R, Ali IKM, Akther S, Petri WA Jr: Comparison of PCR, isoenzym analysis, and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol*, 36 (2): 449-452, 1998.
9. Ackers JP: The diagnostic implications of the separation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *J Biosci*, 27 (6): 573-578, 2002.
10. Tuncay S, İnceboz T, Över L, Yalçın G, Usluca S, Şahin S, Delibaş SB, Aksoy Ü, Akısü Ç: Dışkıda *Entamoeba histolytica*'nın saptanmasında kullanılan yöntemlerin birlikte değerlendirilmesi. *T Parasitol Derg*, 31 (3): 188-193, 2007.
11. Tuncay S, Delibaş S, İnceboz T, Över L, Oral AM, Akısü Ç, Aksoy Ü: An outbreak of gastroenteritis associated with intestinal parasites. *T Parasitol Derg*, 32 (3): 249-252, 2008.
12. Ozin Y, Kılıç MZY, Nadir I, Tayfur Ö, Ertaş A: Presence and diagnosis of amebic infestation in Turkish patients with active ulcerative colitis. *Eur J Intern Med*, 20, 545-547, 2009.
13. Delialioğlu N, Aslan G, Öztürk C, Bayer M, Emekdaş G: Mersin ilinde ilkököl çocuklarında *Entamoeba histolytica* antikorlarının araştırılması. *T Parasitol Derg*, 28 (4): 185-188, 2004.
14. Koltas IS, Demirhindi H, Hazar S, Ozcan K: Importance of the detection of amebic antigens in stool samples for the diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection, among children in southern Turkey. *Ann Trop Med Parasitol*, 101 (1): 1-8, 2007.
15. Mengeloğlu FZ, Aktaş E, Külah C, Beğendik Cömert F: Dışkı örneklerinde ELISA yöntemi ile *Entamoeba histolytica*'nın saptanması. *T Parasitol Derg*, 33 (1): 1-3, 2009.
16. Özkalp B, Çelik B, Kurtoğlu MG, Keşli R: Distribution of intestinal parasites for age gender in the 13 to 18 years age group at the Niğde Orphanage. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (Suppl-A): S135-S139 2010.
17. Zeyrek Yıldız F, Özbilge H, Yüksel MF, Zeyrek CD, Sirmatel F: Şanlıurfa'da parazit faunası ve ELISA yöntemi ile dışkıda *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* sıklığı. *T Parasitol Derg*, 30 (2): 95-98, 2006.
18. Malatyalı E, Özçelik S, Çeliksöz A: The investigation of *Entamoeba histolytica* prevalence in some villiages of Sivas by ELISA method. *T Parasitol Derg*, 35 (1): 6-9, 2011.
19. Değerli S, Özçelik S, Çeliksöz A: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *T Parasitol Derg*, 29 (2): 116-119, 2005.
20. Köroğlu M, Yakupoğulları Y, Turhan R: Malatya Devlet Hastanesi yedi yıllık korpo-parazitolojik inceleme sonuçlarının retrospektif analizi. *T Parasitol Derg*, 31 (3): 201-204, 2007.
21. Arslan MÖ, Sarı B, Kulu B, Mor N: Kars Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesine gastrointestinal yakınmalarla başvuran çocuklarda bağırsak parazitlerinin yaygınlığı. *T Parasitol Derg*, 32 (3): 253-256, 2008.
22. Yetkin A, Değer S, Özdal N: Intestinal parasites in the students of Van Health High School and Faculty of Veterinary Medicine. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (1): 81-84, 2010.
23. Abd-Alla MD, Ravdin JI: Diagnosis of amoebic colitis by antigen capture ELISA in patients presenting with acute diarrhoea in Cairo, Egypt. *Trop Med Int Health*, 7 (4): 365-370, 2002.
24. Gaafar MR: Evaluation of enzyme immunoassay techniques for diagnosis of the most common intestinal protozoa in fecal samples. *Int J Infect Dis*, 15, 541-544, 2011.

- 25. Braga LL, Mendoca Y, Paiva CK, Sales A, Cavaicante ALM, Mann BJ:** Seropositivity for and intestinal colonization with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in individuals in Northeastern Brazil. *J Clin Microbiol*, 36 (10): 3044-3045, 1998.
- 26. Braga LL, Lima AA, Sears CL, Newman RD, Wuhib T, Paiva CA, Guerrant RL, Mann BJ:** Seroepidemiology of *Entamoeba histolytica* in a slum in Northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg*, 55 (6): 693-697, 1996.
- 27. Benetton ML, Gonçalves AV, Meneghini ME, Silva EF, Carneiro M:** Risk factors for infection by the *Entamoeba histolytica*/*E. dispar* complex: An epidemiological study conducted in outpatient clinics in the city of Manaus, Amazon Region, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 99 (7): 532-540, 2005.
- 28. Miller SA, Rosario CL, Rojas E, Scorza JV:** Intestinal parasitic infection and associated symptoms in children attending day care centres in Trujillo, Venezuela. *Trop Med Int Health*, 8 (4): 342-347, 2003.
- 29. Caballero-Salcedo A, Viveros-Rogel M, Salvatierra B, Tapia-Conyer R, Sepulveda-Amor J, Gutierrez G, Ortiz-Ortiz L:** Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. *Am J Trop Med Hyg*, 50 (4): 412-419, 1994.
- 30. Wördemann M, Polman K, Menocal Heredia LT, Diaz RJ, Madurga AM, Núñez Fernández FA, Cordovi Prado RA, Espinosa AR, Duran LP, Gorbea MB, Rivero LR, Gryseels B:** Prevalence and risk factors of intestinal parasites in Cuban children. *Trop Med Int Health*, 11 (12): 1813-1820, 2006.
- 31. Cook DM, Swanson RC, Eggett DL, Booth GM:** A retrospective analysis of prevalence of gastrointestinal parasites among school children in the Palajunoy Valley of Guatemala. *J Health Popul Nutr*, 27 (1): 31-40, 2009.
- 32. Uyar Y, Taylan Ozkan A:** Amebiyazis, Giardiyazis ve Kriptosporidiazis tanısında antijen tarama yöntemlerinin yeri, *T Parasitol Derg*, 33 (2): 140-150, 2009.