

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK BAKTERİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**AMEBİYAZİS TANISINDA KULLANILAN ÇEŞİTLİ  
LABORATUVAR YÖNTEMLERİNİN TANI DEĞERLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. İlkay KARAOĞLAN**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Mustafa NAMIDURU**

**Gaziantep-2001**

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK BAKTERİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**AMEBİYAZİS TANISINDA KULLANILAN ÇEŞİTLİ  
LABORATUVAR YÖNTEMLERİNİN TANI DEĞERLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. İlkay KARAOĞLAN**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Mustafa NAMIDURU**

**Gaziantep-2001**

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK BAKTERİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**AMEBİYAZİS TANISINDA KULLANILAN ÇEŞİTLİ  
LABORATUVAR YÖNTEMLERİNİN TANI DEĞERLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. İlkay KARAOĞLAN**

**Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Mustafa NAMIDURU**

\* Bu proje Gaziantep Üniversitesi Araştırma Fonu desteği ile yapılmıştır

**Gaziantep-2001**

# İÇİNDEKİLER

	<u>KONU</u>	<u>SAYFA</u>
	ÖNSÖZ.....	ii
	KISALTMALAR.....	iii
	TABLO LİSTESİ.....	iv
	ŞEKİL LİSTESİ.....	v
1.	GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.	GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.	ENTAMOEBA .....	3
2.1.1.	Amiplerin Sınıflandırılması .....	3
2.1.2.	Entamoeba Cinsi.....	6
2.1.3.	Diğer Cinsler.....	6
2.2.	ENTAMOEBA HISTOLYTİCA.....	7
2.2.1.	Tarihçe .....	7
2.2.2.	Morfolojik Yapı.....	8
2.2.3.	Yapısı ve Metabolizması.....	9
2.2.4.	Evrimi .....	10
2.2.5.	Epidemiyoloji .....	11
2.2.6.	Bulaşma .....	13
2.2.7.	İmmunopatogenez .....	13
2.2.8.	İmmünite .....	15
2.2.9.	Patoloji .....	16
2.2.10.	Klinik .....	17
2.2.11.	Tanı .....	20
2.2.11.1.	Mikroskopik Tanı.....	20
2.2.11.2.	Serolojik Tanı.....	25
2.2.12.	Tedavi .....	27
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
4.	BULGULAR.....	38
5.	TARTIŞMA.....	45
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	55
7.	ÖZET.....	57
8.	SUMMARY.....	58
9.	KAYNAKLAR.....	59

## ÖNSÖZ

Tıp ve uzmanlık eğitimim süresince hekimlik ve bilimselliğin her alanındaki bilgi ve deneyimini “ustalıkla” sunan, yetişmemde katkı ve desteklerini hep yanımda gördüğüm, tez çalışmalarının her aşamasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, önce öğrencisi daha sonra da asistanı olmakla kıvanç duyduğum değerli hocam, Prof. Dr. İbrahim Baydar’a, çalışmaya verdiği özverili çaba ve katkıları için tez hocam, Yrd. Doç. Dr. Mustafa Namıduru’ya, tez hazırlıkları sırasında amip kültürü ve boyama teknikleri ile ilgili bilgi ve görgülerini benimle paylaşarak bire-bir öğreten Gülhane Askeri Tıp Akademisi öğretim üyelerinden Prof. Dr. Tuncer Haznedaroğlu ve Doç. Dr. Mehmet Tanyüksel’e içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. İlkay Karaoğlu

**KISALTMALAR**

BMB	: Buffered Metilen Blue
DFA	: Direkt Floresan Antikor
ELISA	: Enzyme-Linked-Immunosorbend Assay
E. coli	: Entamoeba coli
GDP	: Gel Diffusion Precipitation
IFA	: İndirekt Floresan Antikor
IHA	: İndirekt Hemaglutinasyon
KF	: Kompleman Fiksasyon
PAS	: Periodic-Acid-Schiff
PVA	: Polivinil Alcohol
SAF	: Sodium Acetate-Acetic Acid-Formalin
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör

**TABLO LİSTESİ****SAYFA**

<b>Tablo 1.</b>	İnsan sindirim sisteminde yaşayan amiplerin sınıflandırmadaki yerleri.....	<b>4</b>
<b>Tablo 2.</b>	Amebiyazisin klinik sınıflandırılması ve özellikleri.....	<b>18</b>
<b>Tablo 3.</b>	Amebiyaziste kullanılan tanı yöntemleri.....	<b>21</b>
<b>Tablo 4.</b>	E. histolytica'nın E coli ve konak hücrelerinden, ayırt edici özellikleri.....	<b>24</b>
<b>Tablo 5.</b>	Amebiyaziste medikal tedavi.....	<b>28</b>
<b>Tablo 6.</b>	IHA testinde kullanılan her bir kuyucuktaki titrasyon oranları.....	<b>37</b>
<b>Tablo 7.</b>	İntestinal amebiyazisli olgularda Trikrom boyama ve kültür inceleme sonuçları.....	<b>41</b>
<b>Tablo 8.</b>	Dışkıda ELISA yöntemi ile E. histolytica antijeni inceleme sonuçları.....	<b>41</b>
<b>Tablo 9.</b>	Serumda ELISA yöntemi ile E. histolytica IgG inceleme sonuçları.....	<b>42</b>
<b>Tablo 10.</b>	Hasta ve kontrol grubunda IHA titrasyon oranlarının dağılımı.....	<b>43</b>
<b>Tablo 11.</b>	İntestinal amebiyazisli hasta serumlarında anlamlı IHA titrasyon değerlerinin gösterilmesi.....	<b>44</b>

<b><u>ŞEKİL VE FOTOĞRAF LİSTESİ</u></b>	<b><u>SAYFA</u></b>
<b>Şekil</b> 1. İnsanda yaşayan amiplerin trofozoit, kist ve nukleus yapıları.....	<b>5</b>
<b>Şekil</b> 2. Amebiyazisde saptanan semptomların görülme sıklığı.....	<b>38</b>
<b>Şekil</b> 3. Dışkının makroskobik özellikleri.....	<b>39</b>
<b>Şekil</b> 4. Dışkının mikroskobik özellikleri.....	<b>39</b>
<b>Fotoğraf</b> 1. Robinson besiyerinde üremiş amip trofozoiti.....	<b>40</b>
<b>Fotoğraf</b> 2. Trikrom boyama ile E. histolytica trofozoiti.....	<b>40</b>
<b>Fotoğraf</b> 3. Trikrom boyama ile E. histolytica kisti.....	<b>40</b>
<b>Şekil</b> 5. Serumda ELISA yöntemi ile E. histolytica IgG inceleme sonuçları.....	<b>42</b>
<b>Şekil</b> 6. Hasta ve kontrol grubunda IHA titrasyon sonuçları.....	<b>43</b>



## GİRİŞ VE AMAÇ

İntestinal parazitolar az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde halen güncelliğini koruyan bir sağlık sorunudur. Amebiyazis, parazitolarla bağlı ölüm nedenleri arasında malarya ve şistozomiyazisten sonra üçüncü sırada yer almaktadır (1,2,3).

*Entamoeba histolytica*, amipli dizanteri etkenidir. Amip kistleri aracılığıyla fekal oral yolla bulaşır. Kolon mukozasının bu etken ile enfeksiyonu sonucu kanlı mukuslu akut veya kronik ishal meydana gelir. *E. histolytica* 'nın mukozaya invazyonu ve kana karışması sonucu karaciğer, akciğer ve beyin gibi organlarda yerleşerek amip absesi ile giden önemli komplikasyonlara neden olabilmektedir (4). Dünya nüfusunun %10 kadarı *E. histolytica* ile enfekte durumdadır (1). Dünyada her yıl *E. histolytica* enfeksiyonuna bağlı yaklaşık 50 milyon invaziv hastalık oluşmaktadır ve bu vakaların yaklaşık 100.000 kadarı ölümle sonuçlanmaktadır (1). Az gelişmiş bölgelerde enfeksiyon prevalansı %50'ye kadar varmaktadır. Ülkemizde amebiyazis olgularına özellikle Güneydoğu Anadolu bölgesinde daha sık rastlanmaktadır (4). Bugüne kadar yurdumuzun değişik bölgelerinde yapılan koproparazitolojik araştırmalardan barsak parazitolarının dağılımında amebiyazis prevalansının %0.5-%7.5 arasında değiştiği saptanmıştır (4). Amebiyaziste doğru tanı ve tedavi enfeksiyonun yayılmasının önlenmesinde büyük önem taşımaktadır. *E. histolytica* enfeksiyonunun kesin tanısı her zaman kolay olmamaktadır. Amebiyazisli hastalarda tek bir dışkı muayenesi ile etkenin saptanma şansı çok azdır .

Amebiyazis için en güvenilir ve sağlam tanı yöntemi hastalardan alınan dışkı örneklerinde *E. histolytica*'nın gösterilmesi olduğu söylenmekte ise de bu her zaman mümkün olmamaktadır (5). Çünkü dışkı örneğinin alındıktan sonra en geç yarım saat içinde bakılması gerekmektedir. Eğer dışkı örnekleri doğru bir şekilde toplanıp korunmaz ise trofozoitler parçalanır ve amebiyazis tanısı gözden kaçabilir. Amebiyazis tanısında, dışkının direk mikroskopik incelemesi bu konuda deneyimli kişiler tarafından yapılmazsa dışkıdaki lökositler ve patojen olmayan amipler kolaylıkla *E. histolytica* ile karıştırılabilir (6).

Amebiyazis bu kadar sık karşılaşılan ve önemli bir parazitoz olmasına rağmen tanısı konusunda karşılaşılan sorunlar tam çözümlenememiştir. Amebiyazisin tanısının doğru konulması ile, hastaların gereksiz yere ilaç kullanımı önlenecek, hastalığın mortalitesi ve morbiditesi azaltılacaktır. *E. histolytica* enfeksiyonlarının tanısında yaşanan güçlükler yeni tanı yöntemlerini gündeme getirmektedir. Nitekim yapılan bazı serolojik incelemelerde, dışkı muayenesinden daha değerli sonuçlar alındığı bildirilmektedir (1,6).

Bu tez çalışmasında ülkemizde ve bölgemizde önemli bir sağlık problemi olan *E. histolytica* enfeksiyonlarının tanısında kullanılan çeşitli tanı yöntemlerinin duyarlılıklarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. ENTAMOEBA:

Amipler, trofozoit dönemlerinde vücutlarına belirli bir şekil veren hücre çeperi ile çevrili olmayan, çıplak lopadları ile hareketli protozoanlardır. Çoğunlukla sulara, ıslak topraklarda ve yapraklarla örtülmüş nemli yerlerde bazıları ise hayvanların ve insanların sindirim kanalında sığıntı veya parazit olarak yaşarlar (7).

#### 2.1.1. Amiplerin Sınıflandırılması:

Amipler canlılar arasında Protozoa bölümü içerisinde, Sarcomastigophora alt bölümünde, Sarcodina üst sınıfında, Rhizopodea sınıfında bulunur (Tablo 1). Rhizopodea sınıfı, Amoebida ve Schizopyrenida takımlarını içermekte olup, Endamoebidae, Acanthamoebidae ve Wahlkampfiidae ailelerine ayrılmıştır. Acanthamoebidae ve Wahlkampfiidae ailelerine ait amipler dış ortamda havuz, dere, göl gibi ılıman sulara özgür olarak yaşarlar. Endamoebidae ailesindeki amipler ise genel olarak insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde bulunan parazitlerdir. Endamoebidae ailesinde bulunan amipler arasında cins ayrımında nükleuslarındaki morfolojik farklılıklar önem taşımaktadır (Şekil 1). Buna göre Endamoebidae ailesinde Entamoeba, Endolimax, İodamoeba ve Dientamoeba olmak üzere dört cins bulunmaktadır (7-11) (Tablo 1).

**Tablo 1: İnsan sindirim sisteminde yaşayan amiplerin sınıflandırmadaki yerleri**

**Bölüm**

Protozoa

**Alt Bölüm**

Sarcomastigophora

**Üst Sınıf**

Sarcodina

**Sınıf**

Rhizopodea

**Takım**

Amoebida

**Aile**

Endamoebidae

**Cins**

Entamoeba

**Tür**

E. histolytica

E. coli

E. polecki

E. hartmanni

E. gingivalis

Endolimax

**Tür**

E. nana

Iodamoeba

**Tür**

I. butschlii

Dientamoeba

**Tür**

D. fragilis

	TROFOZOİT	KİST	NUKLEUS
ENTAMOEBE HISTOLYTICA	<p>nukleus, endoplazma, ektoplazma, karyozom, eritrosit</p>		
ENTAMOEBE COLI	<p>nukleus, endoplazma, ektoplazma, karyozom, fagozom</p>		
ENTAMOEBE GINGIVALIS	<p>nukleus, karyozom, endoplazma, ektoplazma</p>		
ENDOLIMAX NANA	<p>karyozom, nukleus, fagozom</p>		
IODAMOEBE BUTSCHLI	<p>nukleus, karyozom, fagozom, endoplazma, ektoplazma</p>		
DIENTAMOEBE FRAGILIS	<p>nukleus, karyozom, nukleus</p>		

Şekil 1: İnsanda yaşayan amiplerin trofozoit, kist ve nükleus yapıları (9).

### 2.1.2 Entamoeba Cinsi:

Nükleus küçük, karyozom ortada veya ortaya yakındır. Nükleusların iç yüzünde kromatin tanecikleri vardır. Bu kromatin tanecikleri düzenli veya düzensiz şekilde periferik bir tabaka halindedir.

İnsanda Entamoeba cinsinden:

*E. histolytica*

*E. coli*

*E. hartmani*

*E. polecki*

*E. gingivalis* türleri bulunmaktadır.

### 2.1.3. Diğer Cinsler:

#### Endolimax Cinsi:

İnsanda bulunan türü *Endolimax nana*'dır.

#### Iodamoeba Cinsi:

İnsanda bulunan türü *Iodamoeba butschlii*'dir.

#### Dientamoeba Cinsi:

İnsanda bulunan türü *Dientamoeba fragilis*'tir.

Yukarda sayılan cinslerdeki amipler arasında insanda bulunan tek patojen amip *E. histolytica*'dır. *E. gingivalis* insanda ağız boşluğunda, diğerleri ise barsakta kommensal ve apatojen olarak yaşamaktadırlar (10).

## 2.2. ENTAMOEBA HISTOLYTICA

Entamoeba histolytica insanda hastalık yaptığı kesin olarak bilinen tek amiptir. Enfekte bireylerde, hiçbir belirti vermeyen portörlükten, şiddetli belirtilerle seyreden akut amipli dizanteriye kadar değişik derecede barsak belirtilerine, bazen de karaciğer, akciğer, beyin, dalak ve deri gibi organ ve dokularda amip abselerine neden olur. Barsak dışı yerleşimler hemen daima barsak amebiyazisi sonucu oluşur (7,11).

### 2.2.1. Tarihçe:

Lösch 1875 yılında Rusyada St Petesburg'da şiddetli dizanterisi olan hastaların dışkıında E. histolytica bulunduğunu bildirmiş ve mukuslu dışkıyı bir köpeğin rektumuna enjekte ederek, dizanteri ve barsak ülserasyonu oluşturmak suretiyle parazitin patojenitesini göstermiştir. 1887 yılında Koch ve Gaffky'nin dizanterili hastaların barsak ülserasyonlarından amip varlığını tespit etmeleri bu konudaki araştırmalara önderlik etmiştir. 1891 yılında Councilman ve Lafleur amipli dizanteri ve buna bağlı karaciğer absesinin patojenitesine önemli katkıda bulunmuşlardır. 1893 yılında Quincke ve Roos amip kistlerini bulmuşlar ve Entamoeba histolytica ve Entamoeba coli'nin farklı özelliklerini saptamışlardır. 1913 yılında Walker ve Seelards Entamoeba histolytica'nın kesin patojenitesini saptamışlardır. Enfekte kistleri gönüllü insanlara yedirerek, klinik semptomlarla enfeksiyon arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir (12,13).

### 2.2.2. Morfolojik Yapı:

Entamoeba histolytica insanda beş morfolojik şekilde bulunur. Bunlar trofozoit, prekist, kist, metakist ve metakistik trofozoit 'tir.

#### 2.2.2.1. Trofozoit:

Büyüklüğü 10-60  $\mu\text{m}$  arasında olup ortalama 25  $\mu\text{m}$  civarındadır. Trofozoit saydam ektoplazmasından meydana gelen eldiven parmağı şeklindeki pseudopodlar sayesinde kayma hareketi yapar. Hareket 37  $^{\circ}\text{C}$  de ve pH 6,5 da en canlı şekilde gözlenir. Dışkı bekletilirse, E. histolytica pseudopodları oluşmaz ve hareket durur. Endoplazmada vakuoller belirir. Bekletilmiş dışkılarda anormal şekiller görülür. Çekirdek 3  $\mu\text{m}$ 'den daha büyüktür (3-7 $\mu\text{m}$ ). Trofozoitin canlı iken fark edilmesi zordur. Fakat tespit edilip boyanınca yapısı ayrıntılı olarak görülebilir. Çekirdeğin karyozomu 0.5  $\mu\text{m}$  kadardır ve ortadadır. Karyozomla çekirdek zarı arasında linin iplikler üzerinde kromatin tanecikleri bulunur.

Trofozoitin iki tipi vardır:

- 1- Doku Şekli: Hastalandırıcı veya doku eritici şekil adı da verilir. Asıl parazit ve patojen şekil budur. Çapı 20-60  $\mu\text{m}$  kadardır. Sitoplazması içinde sayıları 1-10 arasında değişen eritrosit bulunabilir. Endoplazma ince granüllüdür. Çekirdek yapısı fizyolojik tuzlu su ile hazırlanan taze preparatlarda seçilmez. Boyanmış amiplerde çekirdek kese biçimindedir ve amipin büyüklüğü ile orantılıdır. Nükleus zarı incedir ve aynı büyüklükteki periferik kromatin tanecikleri bu zarın iç yüzünde düzgün olarak sıralanmıştır. Karyozom ile linin iplikçikleri üzerinde kromatin tanecikleri bulunur.
- 2- Barsak Boşluğu Şekli: Bu sığıntı şekil doku şeklinden daha ufaktır ve 12-20  $\mu\text{m}$  çapındadır. İçinde eritrosit bulunmaz, ancak bakteriler görülebilir. Bu formdaki trofozoitlere "minuta" adı da verilir (14,15).

#### 2.2.2.2. Prekist:

Trofozoitlerin bölünmesiyle oluşan ufak amipler prekist haline geçecekleri zaman besinleri dışarı atarlar. Ektoplazma ile endoplazma ayrımı ortadan kaybolmuştur. E. histolytica'nın prekist formu tek nükleuslu olup nükleusun karyozomu hafif ekzantrik yerleşim gösterir. Sitoplazmada çomak şeklinde ve tanecikler halinde kromatoid cisimcikler bulunabilir. Özellikle hastalık belirtilerinin azaldığı, enfeksiyonun kronikleştiği dönemde dışkıda görülebilir (14).



### **2.2.2.3. Kist:**

Prekistlerden oluşurlar. Büyüklükleri 12-15 µm arasındadır. Kistler yuvarlak ve hareketsizdir. Renksiz, parlak, ince ve çift tabakalı bir kist çeperi ile çevrilidir. Boyanmamış preparatlarda içerisindeki çekirdek ve glikojen vakuolleri fark edilemez. Yalnızca şeffaf, uçları yuvarlak, çomakçık şeklinde kromatoid cisimcikler görülebilir. Kistlerin olgun şekilleri dört nükleuslu olmakla beraber, 1-2 nükleuslu olgunlaşmamış formları da görülebilir. Kistler dört çekirdekli hale gelip olgunlaşınca önce glikojen vakuolleri, daha sonra kromatoid cisimcikler kaybolur. Dört nükleuslu kistler enfeksiyonun bulaşmasından sorumlu olup, şekilli dışkı ile atılırlar (15).

### **2.2.2.4. Metakist:**

Olgunlaşmış dört nükleuslu kistler su ve yiyecekler ile alındıktan sonra bağırsaklarda dört nükleuslu metakistik amip şekline dönüşürler.

### **2.2.2.5. Metakistik Trofozoit:**

Metakistin nükleuslarının bölünmesiyle oluşan sekiz adet nükleus çevrelerine sitoplazma toplanarak küçük amipler (amoebula) haline gelirler. Bu amipler kalın barsağa yerleşirler ve burada büyüyerek normal trofozoit haline dönüşürler (14).

### **2.2.3. Yapısı ve metabolizması:**

Entamoeba histolytica, diğer ökaryotik hücrelerden farklı olarak, bazı özelliklere sahiptir. Mitokondrileri yoktur, az gelişmiş bir endoplazmik retikulum ile golgi aparatı bulunur. Mikroaerofil bir organizma olup, oksidoreduksiyon olaylarını glutatyon olmadan sürdürmekte, karbonhidrat metabolizmasında değişik basamaklarda kofaktör olarak ATP yerine pirofosfatı kullanarak, enerjisini glukozun pirüvata dönüşümünden elde etmektedir. Fonksiyonel bir trikarboksilik asit siklusuna sahip değildir. Elektron transportunda sitokromlar bulunmakta, demir sülfür protein şekilleri fonksiyon görmektedir. Entamoeba histolytica'nın oksijen tüketiminin yalnızca trofozoitin dinlenme döneminde olduğu saptanmıştır. İn vitro araştırmalarda görülmüştür ki, ancak oksijen indirgenme ürünlerini detoksifiye edecek askorbik asit ve sistein gibi indirgeyici maddelerin varlığında yaşamını sürdürebilmektedir. Bu sayede Entamoeba

histolytica hem kalın barsakta çok düşük oksijen basıncında, hem de dokularda yüksek oksijenli ortamlarda yaşayabilmektedir. Entamoeba histolytica'nın organizmaya şeklini veren eksternal bir dış çeperi olmayıp, yerine jelimsi bir ektoplazması ve 12 nm kalınlığında bir plazma zarı mevcuttur. Ektoplazma hücreye akıcı bir hareket olanağı vermekte, aynı zamanda amibin beslenmesini de sağlamaktadır. Işık mikroskopunda tek parça olarak görülen karyozom, elektron mikroskopik olarak düzensiz, elektrodens yapılardan oluşmuştur. Kromatin yapısı arasında 0.12-0.14 µm çapında intranükleer bir vezikül bulunmakta ve bunun fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Elektron mikroskopik incelemelerde sitoplazmada bulunan vakuollerin membranının, plazma membranı ile aynı yapıda, yoğunlukta ve kalınlıkta olduğu anlaşılmıştır. Prekist ve kist şekillerinde bulunan kromatoid cisimcikler, kristalleşmiş RNA' dan oluşmuş yapılardır (16 -18).

Entamoeba histolytica, taze preparatlarda saniyede 50 mikron hızla ilerleyebilir. Bu hareketin mikroçevreden gelen kemotaktik uyarılarla olduğu belirtilmektedir. Uyarılar hücrede polarizasyona neden olarak, hücre membranında bir adezyon kompleksi oluşturmakta, bu da tek bir pseudopodun çıkmasını sağlamaktadır. Pseudopod oluşurken, adezyon kompleksinden hücre içine gönderilen uyarılar ile diğer ökaryot hücrelerindeki benzer biçimde hücre iskeletinde bulunan aktin polimerize olmaktadır. Polimerize aktin, myozin ile beraber aktomyozin kompleksinin meydana gelmesine, bu kompleksin oluşumu ile yeniden düzenlenen hücre iskeleti, endoplazmadaki yapıların yer değiştirmesini sağlamaktadır. Hücre yüzeyindeki adezyon kompleksinin ortadan kalkması ile aktin polimeri dağılmakta, amip eski haline dönmektedir (19).

#### **2.2.4. Evrimi:**

Amebiyazis ancak enfekte insanlar var olduğu sürece doğada evrimini sürdürecektir. Çünkü konak yalnızca insandır ve dört nükleuslu olan enfektif kistlerin ağız yolu ile alınması ile hastalık oluşmaktadır. Trofozoit şekli konak dışında doğa koşullarına dayanıklı değildir. Bu nedenle trofozoitler hastalığın yayılışında rol almazlar. Amebiyazisli olduğu halde hiçbir belirti vermeyen, sesiz enfeksiyonlu kişiler dışkıları ile devamlı olarak dört nükleuslu kistleri çıkararak enfeksiyon kaynağı olmaktadır. Amip, insan dışkısı ile kirlenmiş sebze, meyve

ve suların yenilip içilmesi ile insanlara bulaşır. Sinek ve hamamböcekleri bu hastalık etkenini mekanik olarak taşıyabilmektedir..

*Entamoeba histolytica* insan kalın barsağında, bakteri ve gıda artıkları ile beslenmekte, mukoza kriptlerinde zaman zaman nonpatojen bir enfeksiyon etkeni olarak bir hayat sürmekle beraber, bazen patojen bir enfeksiyon etkeni olarak dokulara invazyon yapabilmektedir. İnsan barsağında bulunan bakteriler, amibin yayılış ve üremesine yardım etmektedirler (11).

**1- Normal Dönemli Evrim:** Amebiyazis, *E. histolytica*'nın dört nükleuslu olgun kisti ile enfekte besinlerle, sularla ve parmakların ağza götürülmesi ile bulaşır. Pankreas ve diğer sindirim salgıları ve ortamın pH'sının etkisiyle kistin duvarı incelerek ince barsakta 4 nükleuslu metakistik amibe dönüşür. Amip, içerisinde bulunan nükleusun 8'e bölünmesiyle 8 nükleuslu metakistik trofozoite dönüşür. Bu nükleusların her birinin etrafının sitoplazma ile çevrilmesi sonucu 8 adet küçük trofozoit (amebula) amip oluşur. Amebulalar barsak mukozasındaki besin artıkları ve bakterilerle beslenerek büyür ve minuta formuna dönüşürler (20). Konağın beslenmesi, direnci veya bilinmeyen bazı sebepler sonucunda trofozoit kist şekline dönüşür. Tek nükleuslu olan kist, nükleusun bölünmesiyle iki ve daha sonra dört nükleuslu kiste dönüşür. Dışkı ile dışarı atılan kistler dış koşullara dayanıklı olup, haftalar veya aylarca canlılığını koruyabilirler (20).

**2- Patojen Dönemli Evrim:** Henüz tam anlayışlamamış nedenlerle amibin barsak boşluğu şekilleri dokuları istila ederler. Barsak epitelini geçerek, eritrositleri fagosite eden hematofaj şekle dönüşürler, kist oluşturmaksızın ikiye bölünerek çoğalırlar ve patojen dönemli evrimini sürdürürler. Barsak ülserlerinden zaman zaman dışarı atılan bu patojen trofozoitler, minuta şekline dönüşebilirler. Oluşan bu minuta tipi amipler bölünerek yeni apatojen trofozoitleri oluşturarak kist meydana getirirler ve normal dönemli evrime dönerler (11,20).

### 2.2.5. Epidemijoloji:

Dünya nüfusunun %10 kadarını enfekte ettiği kabul edilen *Entamoeba histolytica* yılda 50 milyon kişide invaziv kolit veya karaciğer absesine neden olmaktadır (1). Ölüme neden olan parazitozlar arasında da amebiyazis, malarya ve şistozomiyazisten sonra 3. sırada yer almaktadır (1,2).

Enfeksiyon prevalansının Avrupa ve Kuzey Amerika'da %10, Asya ve Afrika'da ise bunun iki misline yakın olduğu bilinmektedir (3). Geri kalmış bölgelerde ise prevalans %50'ye kadar çıkabilmektedir . Enfeksiyonun yüksek düzeyde endemik olduğu bölgeler, Hindistan, Afrika, Meksika, Güney ve Orta Amerika ile Asya'dır (1,3). Türkiye'nin değişik iklim bölgelerinde yaşayan insanların yaklaşık %10'unda her yıl amebiyazis gelişmekte, bunlarında %80-98'i barsak amebiyazisi şeklinde ortaya çıkmaktadır (21, 22, 23 ).

Türkiye'nin her iklim bölgesinde E. histolytica enfeksiyonuna rastlanmaktadır. Ülkemizin değişik şehirlerinde, hatta aynı şehrin değişik semtlerinde prevalans ayrılıkları dikkati çekmektedir. Çeşitli bölgelerde yapılan çalışmaların sonuçlarına göre E. histolytica prevalansı %0.3-17.2 arasında değişen oranlar göstermektedir (23). İstanbul'un değişik semtlerindeki ilköğrencilerinde yapılan koproepidemiolojik çalışmalarda %2.2-7.9 gibi değişen oranlar saptanmıştır (23). Ülkemizin değişik bölgelerinden elde edilen çalışma sonuçlarına göre, E. histolytica enfeksiyonu prevalansı Ankara ve çevresinde %1,4, İzmir ve çevresinde %1,2, Bursa ve çevresinde %0,47, Diyarbakır yöresinde %7,5-18,7, Konya ilinde %2,2, Sivas ilinde %3,0, Erzurum'da %5,0, Elazığ'da %10, Kayseri'de %7,5, Hakkari'de %4,4 olarak tespit edilmiştir ( 23 ).

Amebiyazis her mevsimde görülmesine rağmen, tropikal ve subtropikal bölgelerde daha fazla görüldüğü bilinmektedir. Yağmurlu ve sıcak yaz aylarında amebiyazise daha fazla oranda rastlanması, enfeksiyon etkeninin çevreye daha fazla yayılmasına ve bu organizma ile kişilerin karşılaşma olasılıklarının daha fazla olmasına bağlıdır. Tropikal ve subtropikal bölgelerdeki kötü sanitasyon koşullarının da bu oranı yükselttiği söylenebilir. Özellikle sıcak ve nemli bölgelerde besin işlerinde çalışan sessiz enfeksiyonlu kişiler elleri ile enfeksiyon etkeninin sürekli taşıyıcısı, yayıcısı ve bulaştırıcısı olabilmektedir (23).

Amebiyazis insidansı, sosyoekonomik seviyesi düşük olan toplumlarda daha yüksektir. Direnci düşük olan fakir kişiler arasında enfeksiyon daha yaygındır. Prevalans, fazla kalabalık ve sanitasyonunun yetersiz oluşu nedeni ile akıl hastanelerinde, cezaevlerinde ve çocuk bakımevlerinde aynı bölgedeki genel popülasyona oranla daha yüksektir. Köylerde de şehirlere göre daha yüksek olduğu bilinen bir gerçektir (22-24). Son yıllarda intestinal amebiyazisin

erkek homoseksüeller arasında yüksek oranda görüldüğü bildirilmektedir. Erkekler arasında görülen birçok amebiyazis vakasının oral-anal seksüel ilişki ile bulaştığı saptanmıştır (25,26 ).

### 2.2.6. Bulaşma:

İnsanda enfeksiyon dışkı ile çıkarılan kistlerin gıdalar ve içme suları ile alınması veya direk olarak fekal–oral kontaminasyonla meydana gelir. Bu nedenle amebiyaziste en önemli kaynak, şekilli dışkıları ile dört nükleuslu olan bulaşıcı kistleri etrafa saçan sessiz enfeksiyonlu insanlardır (23).

*E. histolytica* kistleri nemli toprakta en az 8 gün, diğer nemli ortamlarda, serin koşullarda 12 günden fazla, suda 9-30 gün ve 4 °C'deki suda ortalama 3 aya kadar yaşayabilirler. Kistler 50°C'nin üzerinde ölürler. Kuruluğa da dayanıklı değildirler. Suların alışılacağı yoldan klorlanması ile kistler tahrip olmazlar, hatta hafif antiseptikler de kistlerin patojenliğini gideremez. Kistler, %1'lik formalin'de 4 saatte, %1'lik fenol, %5'lik hidroklorik asit ve %1'lik krezol'de 30 dakikada, %5'lik asetik asitte 30 °C'de 15 dakikada, %2'lik potasyum permanganatta 3 günde ölürler (23 ).

### 2.2.7. İmmunopatogenez:

Barsakta kolonize olan *E. histolytica*'nın patojen hale dönüşü ile ilgili mekanizmalar tam bilinmemektedir. Son yıllarda yapılan genetik analizlerde patojen ve non patojen formların aslında iki ayrı tür olduğu saptanmıştır. Patojen forma *E. histolytica*; nonpatojen forma *E. dispar* adı verilmiştir. *E. dispar* patojen *E. histolytica*'dan çok sayıda antijenik farklılık gösterdiği gibi genomik DNA yapısı da patojen suştan farklıdır (27 ).

*E. histolytica* kistleri sindirim yolundan alındıktan sonra, metakist ve metakistik trofozoit aşamalarını takiben kalın barsakta kolonize olurlar. Amebiyazisde görülen klinik tablolar asemptomatik enfeksiyondan yaygın ölümcül hastalığa kadar geniş bir yelpazede, konak ile amip arasındaki dengeye bağlı olarak değişmektedir (22 ).

Amebiyazis patogenezinde şu olaylar gerçekleşmektedir (28,29 ):

- 1- Kalın barsak lümeni yüzeyine aderans,
- 2- Konak dokuları üzerine sitolitik ve proteolitik etki,
- 3- Konak immünesine direnç,

Patogenezdaki bu faktörlerin gerçekleşmesi için *E. histolytica*'ya ait bir takım antijenik reseptörler, enzimler vardır. Amebiyazis patogenezinde *E. histolytica*'ya ait bu faktörler şunlardır;

- 1-Galaktoz spesifik yüzey lektini,
- 2-Por oluşturan peptit (Amoebapor),
- 3-Proteinazlar,

Konağa ait faktörler ise (21,28 );

- 1-İntestinal mukus bariyeri,
- 2-Mukus bariyerinde bulunan galaktoz ve N-asetilgalaktozamin rezidüleri,
- 3-Konak polimorf nüveli lökositleri,
- 4-Spesifik immün mekanizmalar,
  - antiamebik antikolarlar
  - kompleman
  - mukozal immün cevap
  - hücresele immün cevap

*E. histolytica* kistleri ağızdan alındıktan sonra ince barsakta açılan kistlerden meydana gelen metakist ve metakistik trofozoitler kalın barsakta trofozoit şekle dönerek barsak boşluğunda veya barsak duvarında çoğalır. Gastrointestinal sistemde özellikle kalın barsak lümeninde trofozoit şekle dönüşüp çoğalmasının nedeni, insan kolon epitel hücreleri ve mukus tabakasının çok miktarda galaktoz ve N-asetil glikozamin molekülleri içermesidir. *E. histolytica* bu moleküllere afinitesi olan yapışma reseptörleri içermektedir. Bu reseptörlerden en önemlisi, galaktoz spesifik lektindir (Gal/Gal/NAc). Bu reseptörün en önemli fonksiyonu, kolonik epiteldeki ve mukus bariyerindeki galaktoz ve N-asetil glikozamin molekülleri ile birleşerek *E. histolytica*'nın kolon mukozasına kolonize olmasıdır. Galaktoz spesifik lektin, 260 kDa ağırlığında olup 170 ve 35 kDa subüniteleri olan bir yüzey proteindir. 170 kDa subünit bağlanmadan sorumlu olan kısımdır. Monoklonal antikolar kullanılarak yapılan araştırmalarda bu subünitin beş epitoptan oluştuğu, bu epitoplardan ikisinin

hedef hücreye ve mütine bağlanmayı arttırırken, diğer ikisinin azalttığı, birinin ise hedef hücreye bağlanmayı azaltırken mütine bağlanma konusunda etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bu molekül kullanılarak hayvanlar üzerinde yapılan aşı çalışmaları sonuç vermemiştir. Ayrıca galaktoz spesifik lektinin 170 kDa olan bu subüniti, makrofajlardan tümör nekrozis faktör (TNF) yapımını uyarabilmekte, komplemanın C5-C9 membran atak kompleksini inhibe edebilmektedir. Galaktoz spesifik lektinin 35 kDa ağırlığındaki subüniti fibronektin yapısındadır. Bu subünitin adezyona etkisi olduğu bilinmektedir (30,31 ).

*E. histolytica* hedef hücreye yapıştığı sonra, yapıştığı hücreyi lizise uğratabilecek 8244 dalton ağırlığında , 77 aminoasitlik bir proteine sahiptir. Bu proteine amoebapor veya por oluşturan peptit de denilmektedir. İmmünfluoresan teknikle, bu proteinin amibin içindeki vakuollerde bulunduğu tespit edilmiştir. Patojen-nonpatojen suşların her ikisinde de bulunmaktadır. Fakat bu protein, patojen suşlarda üç kez daha aktif olarak çalışmaktadır. Amoebapor hücre membranında iyon kanalları oluşturarak hedef hücrenin lizisini sağlar (32, 33).

*E. histolytica*'nın patogeneğinde önemli rolü olan çeşitli proteolitik enzimlerde mevcuttur. Bunların başlıcaları, katepsin B proteinaz, kollejenaz, majör nötral proteinaz ve sistein proteinaz'dır. Proteinazların hücreleri bir arada tutan ve dokunun strüktürünü oluşturan ekstrasellüler matriksi parçalama özellikleri vardır. Son zamanlarda bulunmuş olan sistein proteinazın kollajen, laminin ve fibronektini eritme özellikleri vardır. Ayrıca IgA'yı parçalayabilir ve komplemanın C9 komponentini açığa çıkararak aktive edebilir. Sistein proteinaz, patojen ve nonpatojen *E. histolytica* suşlarının her ikisinde de bulunmaktadır. Fakat patojen suşlarda daha yüksek aktiviteye sahiptir (34).

### 2.2.8. İmmünite:

**Hücrenel immünite:** Entamoeba histolytica 'ya karşı gelişen konakçı savunmasının ilk safhasını fagositer sistem oluşturur. Nötrofiller, kemotaksis ile amiplere doğru yönelmekte, fakat bunların *E. histolytica* tarafından lizisi doku harabiyetini arttırmaktadır. Hücrenel immün cevapta özellikle makrofajların esas rol oynadığı bildirilmiştir. Lenfokinler arasında özellikle interferon  $\gamma$ , monositlerden köken alan makrofajlarda oksidatif nonoksidatif amebisidal olayları aktive

etmektedir. İnvitro olarak total solubl E. histolytica antijeni ile immün T hücrelerinin inkübe edilmesi trofozoitlere karşı sitotoksik T lenfosit aktivitesine yol açar (35).

**Humoral immünite:** İntestinal amebiyazisli hastalarda zayıftır fakat ekstraintestinal amebiyazisli vakalarda kuvvetlidir. Hastalığın yedinci gününde yüksek derecede antiamebik antikorlar oluşur. Ancak bu antikorlar koruyucu nitelikte olmadığından hastalığın progresyonu devam eder. Amebiyazisli olguların takiplerinde zamanla antikor titrasyonunun azaldığı fakat düşük titrasyonlarda uzun yıllar devam ettiği bulunmuştur. Endemik bölgelerdeki amebiyaz olgularında en fazla IgG sınıfı antikorların oluştuğu , IgM ve IgA sınıfı antikorların ise çok düşük düzeylerde görüldüğü bildirilmektedir. IgM sınıfı antikorlar sadece akut invaziv enfeksiyonlarda görülür. IgA sınıfı antikorlar galaktoz spesifik lektine karşı oluşan sekretuar antikorlardır. Bu antikorlar, hastalığın invaziv şekillere ilerlemesini ve kolonizasyonu engellemede yardımcı olabilir (36,37).

Spesifik olmayan konak savunma mekanizmaları arasında, mukozal mukus bariyerinden başka, pankreatik proteazlar, safra tuzları ve bakteriyel glikozidazlar vardır. Bunlar amipin galaktoz spesifik lektinini parçalamaktadır.

### 2.2.9. Patoloji:

E. histolytica'nın doku hasarlayıcı etkisi sonucu, barsak epiteli erimekte, submukozaya geçiş olmakta, kolon mukozasında ağzı dar, tabanı geniş ülserler meydana gelmektedir. Submukozada yüzeye paralel olan bu ülserler, mukoza yüzeyinden çıkıntılı, ortasında kanlı müköz akıntı bulunan zımba ile delinmiş görünümündedirler. Ülserler arasındaki doku sağlamdır. Amipler barsak çeperinde, ülserlerin genellikle kenarında ve dibinde bulunurlar ve erimiş hücrelerle , eritrositlerle beslenirler. Histopatolojik olarak, mukoza ve mukoza altındaki dokuda nekroz mevcut olup, ülser kavitesi ölü doku ile doludur. Lezyonlar PNL hücrelerinden fakir durumdadır. Ülserler, mukoza ve barsak duvarını geçip nadir de olsa periton boşluğuna açılabilir. Barsak lezyonları en sık çekum, rektum ve sigmoidde görülür. Ülser tabanında ileri derecede fibrotik doku olduğundan perforasyon sık olmayıp, nedbe ve daralmalar daha sık gözlenmektedir. Kronik amebiyazisli vakalarda enflamasyon sonucu granülamatöz doku ilerleyerek,



tümoral yapılar oluşturabilir. Bu kitleler palpasyonla ele gelen ve bazen röntgen filmlerinde görülebilen oluşumlardır ve amöboma adını alırlar. Amibin, kan ve komşuluk yolu ile yayılması sonucu ekstraintestinal amebiyazisler meydana gelebilir. En sık karaciğerde olmak üzere, akciğer, beyin ve diğer organlarda amip abseleri oluşabilir. Oluşan abseler, lökositten fakir hücreli bir debris materyali içermekte olup etrafı amip trofozoitleri ile çevrili durumdadır (38).

#### **2.2.10. Klinik Bulgular:**

Amebiyazis insanlarda çok çeşitli klinik tablolara yol açabilir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından amebiyazis şu şekilde sınıflandırılmıştır (39) (Tablo 2).

**Asemptomatik İntestinal Amebiyazis:** Entamoeba histolytica ile enfekte kişilerin %90'ı asemptomatiktir. Paraziti taşıyan bireylerde, serumda antiamebik antikor titresi düşük ya da negatiftir. E. histolytica'nın virülansının zayıf olması ve konağın duyarlılığındaki değişiklikler hastalığın şiddetinde rol oynamaktadır. Noninvaziv enfeksiyonu olan kişilerde kronik veya aralıklı abdominal ağrı, barsak hareketlerinin sıklığında artma gibi nonspesifik gastrointestinal belirtiler olabilir (11,15,22).

**Semptomatik İntestinal Amebiyazis:** Enfeksiyon özellikle endemik seyrettiği ülkelerde ateşsiz ve gürültüsüz bir seyir gösterir. Klinik tablo amibin kolondaki invazyon derecesiyle orantılıdır. Hastalık spazmodik karın ağrıları, kanlı, mukuslu dışkı ile başlar. Dışkı sayısı basilli dizanteride olduğu kadar fazla değildir. Genellikle günde 8-10 defayı geçmez. Nadiren 15-20 yi bulabilir. Diyarenin ciddiyetine bağlı olarak kilo kaybı meydana gelir. Dışkı normal şeklini kaybeder. Kolondaki lezyonların şiddetiyle orantılı olarak kan ve mukus içerir (1,4,40).

Dışkı şeffaf mukustan dolayı ağaç çileği ezmesine benzer. Ateş nadir olarak görülür. Ancak akut hastalık tablosu tedavi edilmeyenlerde kronisite kazanma eğilimindedir. 20-30 gün zarfında ishal kendiliğinden kesilir. Fakat bir süre sonra tekrarlayabilir. Hastalık bu haliyle ülseratif kolit ile karıştırılabilir (40).

**Tablo 2: Amebiyazisin klinik sınıflandırılması ve özellikleri**

<b>SINIFLANDIRMA</b>	<b>ÖZELLİKLER</b>
<b>Asemptomatik İntestinal Amebiyazis</b>	Doku invazyonu olmaksızın barsaklarda kolonizasyonu.
<b>Semptomatik İntestinal Amebiyazis</b>	Doku invazyonu vardır.
Amipli Dizanteri (akut rektokolit)	Akut ülseratif barsak hastalığıdır.
Kronik Nondizanterik Kolit	Minimal ülseratif lezyonlar.
Ameboma	Proliferatif barsak granüloması.
Komplike Semptomatik Amebiyazis	Perforasyon, hemoraji, fistül.
Fulminan Kolit	Fulminan ülseratif barsak hastalığıdır.
<b>Ekstraintestinal Amebiyazis</b>	
Nonspesifik Hepatomegali	Barsak enfeksiyonuna eşlik eden gösterilebilir bir enfeksiyon yoktur.
Akut Nonspesifik Enfeksiyon	Amebik karaciğer tutulumu vardır fakat abse henüz oluşmamıştır.
Amip Absesi	Fokal doku lezyonudur.
Komplike Olmuş Amip Absesi	Amip absesi plevra, akciğer, peritona veya perikarda kadar yayılmıştır.
Amebiyazis Kutis	Amip absesi cilde açılmıştır.
Visseral amebiyazis	Metastatik enfeksiyon akciğer, dalak , beyne kadar yayılmıştır.

**Fulminan kolit:** Amebik enfeksiyonun sık görülmeyen bir şekli olup kötü beslenenlerde, hamilelerde, kortikosteroid kullananlarda ve altta yatan immünsüpresif hastalığı olanlarda mortalitesi yüksektir. Bu hastalarda dışkı muayenesinde olumlu sonuç almak çok zor olduğundan tanı gözden kaçabilir. Endoskopik olarak kolon ve rektumdaki ülserlerin kenarından ve mukustan amip araştırılmalıdır (1,4 ).

**Ameboma:** Kronik enflamasyon sonucu meydana gelen proliferatif bir granülo madir ve çok ender rastlanır. Amebomada meydana gelen granülo mlar barsakta sucuk tarzında tümoral kitleler olarak ele gelir. En sık çekum, asendan kolon ve sigmoid kolonda oluşur. Ayırıcı tanısında, kolon tümörleri ve tüberkü lom düşünölmelidir (41).

**Kompli ke İntestinal Amebi yazis:** Entamoeba histolytica'nın virölansının ve invazyon derecesinin fazla oldu ğu durumlarda, immünitesi baskılanmış altta yatan başka hastalığı olanlarda, hamilelerde ve kortikosteroid kullananlarda, barsak kanaması, perforasyon, peritonit, apandisit, anüs civarında deri ülserasyonları, toksik megakolon gibi intestinal komplikasyonlar meydana gelebilir. Akut kolitiste perforasyon ender gözlenirken fulminan kolitte bu oran %75'in üzerine çıkabilir. Perforasyonun en sık gözlendi ği yer çekumdur. Akut amebik kolitiste %0.5 oranında toksik megakolon gelişebilmektedir. Özellikle bu vakalarda daha önceden verilmiş kortikosteroidler önemli rol oynamaktadır (1,22).

#### **Ekstraintestinal amebiyazis:**

**Karaci ğer Amebi yazisi:** İntestinal amebiyazisin seyri sırasında E. histolytica'nın kana karışarak Vena porta yoluyla karaci ğere ulaşmasıyla meydana gelir. Barsak amebiyazisinden sonra şikayetlerin kendili ğinden kayboldu ğu vakalarda, enfeksiyonun karaci ğere yayılmış olabilece ğini düşünmek gerekir. Önce karaci ğer büyümesi ve hassasiyeti ile karakterize amip hepatiti, daha sonra yerleşme odaklarında nekroz oluşumu ile amip abseleri meydana gelir. Lokal semptomlar, sağ üst kadranda lokalize, künt, pozisyon ve nefes alma ile artan ağrı ve hassasiyet olup bu belirtiler sağ lob tutulumu ile ilgilidir. Kilo kaybı önemli olup aylardır semptomu olan hastalarda vücut ağırlığının 1/3'üne varabilir ve malignensi ile karışabilir. Karaci ğer genellikle büyük olup abse, sağ lob süperior kısımda ise diyafragma yukarı itilir, sağ lobun orta veya inferior bölgesinde ise tümör görünümü verir. Bazen bu abseler anormal derecede büyüyebilir ve komşu organlara bası yapabilir. Sol lobda lokalize olan abseler sol üst kadranda veya epigastrik bölgede kitle görünümü verirler ve rüptüre olma riskleri daha fazladır. Amebik hepatik absesi olan olguların başvuru semptom üçlüsü sağ üst kadranda ağrı, hepatomegali ve ateş

olup bazen üçünün bir arada bulunmayışı tanıyı geciktirebilir. Laboratuvar tetkiklerinde, lökositoz, hiperbilirubinemi, serum alkalin fosfataz ve transaminazlarında artış ve hipoalbuminemi bulunabilir. Dışkıda E. histolytica'ya bağlı trofozoit veya kist hastaların ancak %40'ında görülebilir. Abse içeriği, aspire edildiğinde sekonder enfeksiyon yoksa kokusuz, koyu kahverengi olup bakteriyolojik olarak sterildir (7,15).

**Akciğer Amebiyazisi:** Karaciğer amebiyazisinden sonra en sık rastlanan ekstraintestinal amebiyazistir. Akciğer amebiyazisi, %10-20 oranında karaciğer amip absesinin diyafragmadan plevraya veya bronşa açılmasıyla meydana gelir. Öksürük ile çıkan balgam çikolata rengindedir ve içinde karaciğer hücreleri görülebilir. E. histolytica'nın kan yolu ile barsaktan doğrudan doğruya akciğere ulaşması ile de oluşabilir (7,15).

**Diğer Ekstraintestinal Amebiyazisler:** En sık olarak karaciğer amip absesinin diğer organlara açılması ile meydana gelir. Özellikle karaciğerin alt kısımlarında yerleşim gösteren büyük abseler %2.9 oranında peritona rüptüre olabilir. Mortalite %10 civarındadır. Bazen hepatik abse perikardiyal boşluğa penetre olur ve perikardit ya da kalp tamponadı bulguları ortaya çıkar. Hepatik abse cilde açılabilir ve hepatokutanöz fistüller oluşabilir (41). Çok nadiren beyne metastaz yaptığı da bildirilmiştir (42).

### 2.2.11. Tanı:

Amebiyaziste klinik tanı oldukça zordur. Benzer klinik tabloyu gösteren bakteriyel, viral ve diğer protozoal enfeksiyonlarla karışabilir. Tanıda, inceleme örneğinin doğru alınıp hazırlanması, incelenen örnek sayısı, kullanılan tanı metodları, tanıyı koyan kişinin deneyimi önemli rol oynamaktadır. Bunlardan en sık karşılaşılan problem dışkıda bulunan lökositlerin amip olarak değerlendirilmesidir (43,44).

#### 2.2.11.1. Mikroskopik tanı:

E. histolytica'nın dışkıda araştırılmasında dikkat edilecek hususlar:

- 1- Dışkısı incelenecek hastanın 10 gün önceden beri antibiyotik, bizmut, laksatif veya antidiyareik ilaçlar almamış olması gerekir.
- 2- En az üç gün arka arkaya alınan dışkı incelenmesi, protozoonların gösterilebilmesi için çok uygundur.

- 3- Tanı konulmasında şüpheye düşülmesinde kolonoskopi ile rektumdan veya kolondan sürüntü materyalinin alınarak incelenmesi önerilir.
- 4- Her türlü parazitolojik incelemesi için dışkının taze olması gerekir.
- 5- Sıvı dışkı örnekleri dışkılamadan sonra 30 dakika içinde, yarı sıvı ve yumuşak dışkı örnekleri bir saat içinde incelenmelidir.
- 6- Eğer dışkı örnekleri bu kadar kısa süre içerisinde incelenemeyecek ise uygun koruyucu sıvılar içinde saklanmalıdır.
- 7- Amip hareketlerinin görülebilmesi için, taze dışkıdan hazırlanan preparatın el yakmayacak sıcaklıktaki bir lamda hazırlanması, lamel ile kapatıldıktan sonra hemen incelenmesi gerekir (44).

Amebiyazis tanısında değişik örneklerden inceleme yapılabilir. İncelenen örneğin türüne göre kullanılacak tanı yöntemleri Tablo 3'de özetlenmiştir (22).

**Tablo 3: Amebiyaziste kullanılan tanı yöntemleri**

ÖRNEK	KULLANILAN FIKSATİF	YAPILAN İNCELEME	BOYAMA YÖNTEMİ
<b>DIŞKI</b>	PVA*, %10 formalin Schaudinn fiksatifi, SAF**	Konsantrasyon ve kalıcı boyama	Trikrom, Demir hematoksilin
<b>KOLONOSKOPI</b>			
<b>Aspirat</b>	PVA, Schaudin	Kalıcı boyama	Trikrom, Demir hematoksilin
<b>Direkt</b>	Fikse edilmez	Nativ (SF ile direkt bakı)	—
<b>Biyopsi</b>	Formalin	Rutin histolojik inceleme	PAS*** Hematoksilin eozin
<b>Kan</b>	—	Seroloji	—

(\*)Polivinil Alkol (\*\*)Sodyum Asetoasetik asit-Formalin (\*\*\*)Periodik Asit-Schiff

### **Dışkıdan boyasız preparatın hazırlanması ve incelenmesi:**

Dışkı taze iken incelenmelidir. Dışkıda meydana gelen nem, pH ve ısı değişiklikleri protozoan larvalarının parçalanmasına ve trofozoitlerin kist şekline dönüşmesine sebep olur. Lamın ortasına bir damla serum fizyolojik damlatılır. Dışkının mukuslu kısmından alınan bir parça dışkı (1-2 mg) serum fizyolojik ile ezilerek süspansiyon haline getirilir. Üzerine lamel kapatılarak hafifçe bastırılır. Süspansiyonun lamel çevresine taşmaması gerekir. Kurumasını önlemek için lamelin kenarı bir tırnak cilasıyla ya da eritilmiş parafin ile çevrelenir. Önce 100x büyütme ile preparatın her tarafı araştırılır. Kendine özgü psödopodları ile hareket eden protozoa trofozoitleri ve protozoa kistleri araştırılır. Gerekliğinde 400x büyütme ile ayrıntılı incelemeler yapılabilir (44,45).

### **Dışkı preparatlarının boyanarak incelenmesi:**

Gerek trofozoitlerin gerekse kistlerin incelenmesiyle protozoon'ların idantifikasyonunda boyalı preparatın önemi büyüktür. Boyasız preparatta çoğu kez yeterli bilgi alınamaz. Bu nedenle taze dışkı incelenirken bir yandan gerektiğinde boyanmak amacıyla hemen Schaudinn fiksatif ile tespit edilmiş preparatların da hazırlanması veya taze dışkıdan bir parçanın hemen polivinil alkol eriyiği içerisine alınıp protozoa ve kistlerin bozulmadan kalması ve gerektiğinde boyanarak incelenmesi yerinde bir yöntemdir (45 ).

Dışkı yaymalarında kalıcı boyama yöntemlerinin kullanılmasının birçok avantajı vardır (45). Bu avantajlar;

- a) İyi boyanan bir preparatta organizmanın morfolojisi ayrıntılı olarak gösterilebilir.
- b) Direk bakıda gözden kaçan seyrek veya küçük mikroorganizmalar daha kolayca belirlenebilir.
- c) Preparat ayrıntılı bakı için uygun zamana dek bekletilebilir.
- d) Boyanmış yaymalar kalıcı bir kayıt olarak saklanabilir.
- e) Pozitif lamlar referans olarak veya araştırma materyali olarak kullanılabilir.
- f) Tanıda şüphe olduğunda lamlar ilgili bölümlerle konsülte edilebilir .

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre *E. histolytica* 'nın tanınmasındaki kriterler şu şekilde belirlenmiştir (46 ):

**Taze dışkı preparatlarında:**

- 1- Hareketli, eritrosit içeren trofozoitlerin görülmesi.
- 2- 12  $\mu\text{m}$  çapı geçen, hareketleri ile yer değiştiren, nispeten şeffaf sitoplazmalı trofozoitlerin görülmesi.
- 3- 12  $\mu\text{m}$ 'dan büyük trofozoitler, nispeten şeffaf sitoplazma, iyotla boyamada nükleusta periferel kromatinin görülmesi ve santral karyozomun bulunması.
- 4- 10  $\mu\text{m}$ 'dan büyük kistlerin varlığı, iyotla boyamada sayıları 1'den 4'e kadar olabilen tipik nükleusların ve kromatoid cisimciklerin görülmesi.
- 5- 10  $\mu\text{m}$ 'dan büyük kistlerin varlığı, iyotla boyamada tipik özelliklere sahip 4 nükleuslu kistlerin görülmesi.

**Kalıcı boyalı preparatlarda:**

- 1- Eritrosit içeren tipik nükleuslu trofozoitlerin görülmesi.
- 2-10  $\mu\text{m}$ 'dan büyük, nispeten temiz, şeffaf sitoplazma ve tipik nükleusun görülmesi.
- 3-10  $\mu\text{m}$ 'dan büyük kistler ve bunların 1'den 4'e kadar sayıda tipik nükleusların görülmesi, çomak şeklinde kromatoid cisimciklerin görülmesi.
- 4-10  $\mu\text{m}$ 'dan büyük , 4 nükleuslu kistlerin görülmesi.

Bu kriterlerden bir tanesinin bulunması tanı koydurucudur.

*Entamoeba histolytica*, diğer intestinal amiplerden en sık *E. coli* ile karışmakta, ayrıca konak hücrelerinden, özellikle PNL ve makrofajlardan ayrılması gerekmektedir. Tablo 4'de *E. histolytica*'nın *E. coli* ve konak hücrelerinden ayırt edici özellikler özetlenmiştir (22).

Tablo 4: E. histolytica'nın E. coli ve konak hücrelerinden ayırt edici özellikleri

<u>Hücre</u>	<u>Çap</u> ( $\mu\text{m}$ )	<u>Hareket</u>	<u>Nükleus</u>		<u>Boyalı preparatta</u>	<u>İnklüzyonlar</u>
			<u>Sayı</u>	<u>Görünüm</u> Nük/sitop	<u>sitoplazmik</u> <u>görünüm</u>	
<b><u>E.histolytica</u></b>						
<b>Trofozoit</b>	12-60	İlerleyici, parmaklı pseudopod	1	Boyasız preparatta görmek zor 1/10-1/12	Ekto-endo ayırımı kolay,vakuoller genellikle küçük	Eritrosit varlığı tanı koydurucu
<b>Kist</b>	10-20	—	1-4	1/ 2- 1/3	Şeffaf	Kromatoid cisimcikler
<b><u>E. coli</u></b>						
<b>Trofozoit</b>	15-50	Yavaş künt granüler pseudopod	1	Sıklıkla boyasız preparatta görülür	Ekto-endo ayırımı zor granüllü, genellikle vakuollü	Bakteriler, maya hücreleri, diğer hücre ve kalıntıları
<b>Kist</b>	10-15	—	1-8	Sıklıkla boyasız preparatta görülür	Şeffaf	Kromatoid cisimcikler daha az görülür. Daha ince olup uçları pürtüklüdür
<b><u>PNL hücresi</u></b>	16	Hareketsiz	1	2-4 segmentli, kistlerle karışabilir	Granüler	—
<b><u>Makrofaj</u></b>	20-60	Yavaş	1	Nükleus büyük, düzensiz şekilli, E. histolytica ile karışabilir	Fazla vakuollü	Genellikle lökosit eritrosit ve diğer hücre artıkları



### 2.2.11.2. Serolojik Tanı:

Amebiyazis ülkemiz için sık karşılaşılan ve önemli bir parazitoz olmasına rağmen tanısı konusunda karşılaşılan sorunlar hala tam çözümlenememiştir. Amebiyazis için en güvenilir ve sağlam tanı yöntemi hastalardan alınan dışkı örneklerinde E. histolytica'nın görülmesi olduğu söylenmekte ise de bu her zaman mümkün olmamaktadır. Amebiyazisde doğru tanı ve tedavi, enfeksiyonun yayılmasının önlenmesi, sağlıklı epidemiyolojik verilerin elde edilmesinde ve bu sorunun üstesinden gelinmesinde büyük önem taşımaktadır. E. histolytica'nın tanısında yaşanan güçlükler yeni tanı yöntemlerini gündeme getirmektedir. Nitekim yapılan bazı çalışmalarda serolojinin dışkı muayenesinden değerli olduğu iddia edilmektedir (47). Amebiyazisde kullanılan serolojik testler şunlardır (44):

1-Dışkıda E. histolytica'ya ait antijenlerin araştırılması:

a-Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay (ELISA)

b-Direkt Flöresan Antikor testi (DFA)

2-Kanda E. histolytica'ya karşı gelişmiş antikorların araştırılması:

a-ELISA

b-İndirekt flöresan antikor testi (İFA)

c-İndirekt hemaglutinasyon testi (IHA)

d-Kompleman fiksasyon testi (KF)

**a) ELISA:** ELISA özgül antijen-antikor bağlanmasını göstermek amacıyla enzimle işaretli anti-human globulin ( konjugant ) ve enzim substratı kullanılarak oluşturulan reaksiyonun renklendirilmesi esasına dayanır. Antijen ve antikor bağlanması özgül olduğu için elimizde neye özgül olduğunu bildiğimiz antijen var ise bununla örneklerdeki antikorun varlığını, tipini ve miktarını, antikor var ise bununla da örneklerdeki antijen varlığını ve miktarını saptayabiliriz. Amaç örnek içerisinde antijen aramak ise o zaman katı faz olarak kullandığımız plak içerisindeki kuyucuklar, antijene özgül antikor ile kaplanır, antikor aramak ise kuyucuklar antikora özgül antijen ile kaplanır. Kuyucuklarda karşılaşılan antijen ve antikor birbirine özgül ise yıkama işlemi ile ortamdaki uzaklaştırılmaz. Kuyucuklarda birleşen antijen- antikor kompleksini saptamak için ortama konjugant ve konjuganttaki enzime uygun substrat eklenir. Oluşan reaksiyonun

görünür hale gelmesi için ortama kromojen eklenir. Meydana gelen renk değişimi gözle veya spektrofotometre ile ölçülür (15). Dışkıda E. histolytica 'ya spesifik antijenlerin ELISA ile tespiti son yıllarda gündeme gelmiştir. Bu yöntemin E. histolytica'nın tespitinde ve nonpatojen E. dispar'dan ayırımında kültür ve izoenzim elektroforezi kadar duyarlı olduğu iddia edilmektedir. Çeşitli çalışmalarda sensitivitesi %60-93, spesifitesi ise %95-100 arasında bulunmuştur (48,49).

ELISA ile anti-amibik antikorların saptanması tanı açısından çok anlamlıdır. 7 günlük bir semptomatik dönemden sonra amibik kolit veya karaciğer absesi olan hastaların %90'dan fazlası seropozitif olacaktır. Başlangıçta oluşan IgM cevabını, hızlı bir şekilde IgG ve IgA yapımı takip edecektir. Ekstraintestinal amebiyazis vakalarında IgG ve IgA seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ancak bu yöntemde kullanılan antijeninin çok iyi saflaştırılmış ve E. histolytica'nın antijenitesi yüksek epitoplardan yapılmış olması lazımdır. İntestinal amebiyazis vakalarında serumda E. histolytica'ya karşı oluşan antikor düzeyi ekstraintestinal amebiyazis olgularından daha düşük oranda saptanmıştır (36,47).

**b) İndirekt Hemaglutinasyon:** Memeli ya da kuş cinsi hayvanların eritrositleri değişik yöntemlerle çeşitli antijenlerle kaplanabilirler. Bu şekilde, kaplanmış oldukları antijenin taşıyıcısı durumuna gelen eritrositler elektrolitli ortamda süspansiyon halinde kalırlar. Bunlar taşıdıkları antijenlerin antikorları ile karşılaştıklarında aglütine olurlar. Aynı eritrosit birden fazla antijen ile kaplanabilir. İndirekt hemaglutinasyon veya dolaylı hemaglutinasyon adı verilen bu yöntemler çok duyarlı olup ortamda çok az antikor bulunması durumunda bile sonuç vermektedir (15,44).

Yöntem invaziv amebiyazis tanısında son derece duyarlıdır. Karaciğer absesi vakalarında %87-100, akut amipli dizanteri vakalarında %85-98, non invaziv barsak amebiyazisi vakalarında %30-40 pozitif sonuç verir. Test sonuçlarına göre hastalığın klinik evresi saptanamaz. Çünkü İHA ile saptanan antikor titresi hastalık iyileştikten sonra yıllarca pozitif ( $\geq 1/120$ ) kalabilir. Bunun için diğer yöntemlere başvurmak gerekebilir. Testin kısa sürede cevap vermesi ve çapraz reaksiyon vermemesi avantajıdır (50).

**Kültür:** E. histolytica'nın kültürle tanımının pratik değeri pek olmamakla birlikte direk mikroskopik tanı yöntemlerinin yetersiz kaldığı veya kesin tanıya gidilemediği durumlarda, incelenecek materyalde az sayıda parazit bulunmasında kullanılabilir. Tüm bunların ötesinde, immünolojik ve serolojik çalışmalarda kullanılan antijenlerin hazırlanmasında, ilaç denemelerinde E.histolytica'nın fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin araştırılmasında kullanılan bir yöntemdir (51,52).

Amip kültüründe, amiplerin üremesi için ortamda birden çok mikroorganizma bulunuyorsa poliksenik, tek bir bakteri veya protozoan yer alıyorsa monoksenik, tam olarak bilinmeyen karışık bir ortamı gerektiriyorsa ksenik; ortamda herhangi bir mikroorganizmanın bulunması gerekmiyorsa aksenik kültürden bahsedilir (53). Amiplerde izolasyon zor olduğundan izolasyon ancak kendi ortamında bulunan mikroorganizmalarla birlikte yapılabilenkte, bu yüzden tanı amacıyla ksenik kültür daha sık kullanılmaktadır (54).

**Aksenik Kültür:** Diamond 1978 yılında E.histolytica ve diğer Entamoeba türlerini aksenik olarak üretmeyi başarmıştır. Özellikle moleküler biyoloji ve immünolojik çalışmalar için kullanılmaktadır (55).

**TYI-S-33 Besiyeri:** Aksenik kültürler için kullanılmakta, özellikle moleküler biyoloji ve immünolojik çalışmalarda yararlanılmaktadır.

#### **Ksenik Kültür**

**TYSGM-9 Besiyeri:** Gastrik mukus içermekte olup, E. histolytica'nın yanında, E. coli, E. gingivalis, E. hartmani ve Balantidium coli izolasyonu için de uygundur.

**Robinson Besiyeri:** Bu besiyeri difazik olup katı fazı meyilli tuzlu agardan oluşmuştur. Bu besiyerinde E. histolytica, E. coli, E. nana, D. fragilis, I. butschlii ve P. hominis protozoanlarının kültürleri yapılabilenkte (52,56 ).

#### **Tedavi:**

Tedavinin 2 amacı vardır. Birincisi invaziv hastalığı tedavi etmek, ikincisi ise etkeni barsaktan eradike etmektir. Amebiyazisin medikal tedavisi Tablo 5'te özetlenmiştir (1).

**Tablo 5: Amebiyaziste medikal tedavi**

<b>KLİNİK FORM</b>	<b>ETKİNLİK (%)</b>
<b>Kist taşıyıcılığı</b>	
Diloksanid furoat 3x500 mg / gün / 10 gün	87-96
Paromomisin 3x500 mg / gün/ 5-10 gün	85-90
Tetrasiklin 4x250 mg / gün / 10 gün	95
Metranidazol 3x750 mg / gün / 10 gün	90
<b>İnvaziv enterokolit</b>	
Metranidazol 3x750 mg / gün / 10 gün	>90
Ornidazol 2x500 mg / gün / 5-10 gün	86
Seknidazol 2 gr tek doz	
Tinidazol 1x2 gr / gün / 3 gün	
Tetrasiklin 4x250 mg / gün / 15 gün	
Dihidroemetin 1-1.5 mg / kg / gün / 5 gün	94
( Bu ilaçlara paramomisin veya diloksanit furoat eklenebilir)	90
<b>Karaciğer absesi</b>	
Metranidazol 3x750 mg / gün / 5-10 gün	95
Dihidroemetin 1-1.5 mg / kg / gün / 5 gün	90
Klorokin 600 mg / gün / 2 gün süre ile başlayıp, 300mg/gün/2-3hafta süre ile devam edilir	60

## GEREÇ YÖNTEM

Bu çalışma, Ekim 2000 - Şubat 2001 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde ve Gaziantep Sosyal Sigortalar Kurumu Bölge hastanesinde yapıldı. Çalışma grubu her iki hastanenin çeşitli polikliniklerine ishal yakınması ile müracat edip dışkının mikroskopik muayenesinde *E. histolytica* trofozoiti ve/veya kisti görülerek amebiyazis tanısı konulmuş 62 olgudan oluştu. Bu olguların ayrıntılı öyküleri alındı. Dışkı örneklerinin makroskopik ve mikroskopik özellikleri kaydedildi. Kontrol grubu Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Polikliniğine herhangi bir yakınması olmayan, hepatit B aşısı yaptırmak için başvuran 30 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Çalışma grubu, yaşları 10-55 arasında değişen 29'u kadın, 33'ü erkek toplam 62 hastadan oluşuyordu. Kontrol grubu yaşları 24-35 arasında değişen 21 kadın 9'u erkek toplam 30 kişiden oluşuyordu.

Çalışma aşağıda belirtilen plan çerçevesinde gerçekleştirildi.

- a) Dışkının serum fizyolojik ve Lugol ile yapılan mikroskopik incelemesinde *E. histolytica* saptanan örneklerden ;
  - 1- Trikrom boyama için preparat hazırlandı.
  - 2- Robinson besiyerine ekim yapıldı.
  - 3- *E. histolytica* antijeni araştırmak için steril ağzı kapaklı plastik kutulara alındı. -20 °C'de test tarihine kadar saklandı.
- b) Çalışma ve kontrol grubundaki her olgudan 4 cc kan örneği alındı: 4 cc kan 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumu ayrılarak serolojik tetkik için -20 °C'de test tarihine kadar saklandı.

### **1-Dışkının Nativ İncelemesi:**

Lamin üzerine konan 1 damla serum fizyolojik üzerine alınan 2 mgr kadar dışkı süspansiyon haline getirilip üzerine lamel kapatıldıktan sonra 400x büyütmede incelendi (44).

### **2-Dışkının Lugol İncelemesi:**

Lugol solusyonu; 2 gr potasyum iyodür ve 1 gr iyot kristal 100 ml distile suda çözülüp süzülerek hazırlandı. Çözelti 2 haftada bir taze olarak hazırlandı. İyot, trofozoitleri öldürdüğü ve tahrip ettiği için kist evrelerinin tanısında değer taşır. Kistlerin içindeki nükleusların daha iyi görünür hale gelmesi ile hem nükleusların sayısı, hem de morfolojik özellikleri daha rahat incelenir ( 45 ).

### **3- Dışkının Kalıcı (Trikrom) boya ile incelemesi:**

E. histolytica trofozoiti ve/veya kisti görülen dışkıları Trikrom boya ile boyandı. 1000x büyütmede incelendi.

Trikrom boyamada kullanılan araçlar:

- 13 adet şale,
- Schaudin fiksatif,
- Trikrom boya,
- Asidifiye %90'lık etil alkol,
- Karboll ksilen,
- D'Antoni'nin iyot solusyonu,
- %70'lik, %90'lık ve %95'lik etil alkol,
- Ksilol,
- Preparat hazırlamak için kullanılan lamalar,
- Kurutma kağıdı,
- Işık mikroskobu,

### **Boyama solusyonun hazırlanışı:**

#### **1- Schaudin Fiksatif:**

Civa klorür	85 gr
Distile su	1000 ml

**a-** 85 gr civa klorür, 1000 ml distile su içinde ısıtılarak eritildi. Soğumaya bırakıldı, kristalleşen fazla civa klorür süzüldü.

**b-** 600 ml doymuş civa klorür solusyonu 300 ml %95 etil alkol ve 15 ml gliserin ile karıştırıldı. Stok solüsyon olarak saklandı.

**c-** Kullanmadan hemen önce, kullanılacak her 100 ml stok solüsyona 5 ml glasiyal asetik asit eklendi.

#### **2- D'Antoni'nin iyot solusyonu**

Potasyum iyodür (KI)	1gr
Distile su	100 ml

**a-** KI, distile su içinde çözüldü. 1.5 gr iyot kristali eklenerek daha fazla çözünmeyene dek karıştırıldı.

**b-** Solüsyon, kahverenkli cam kapaklı bir şişeye süzülerek saklandı. İki haftada bir yeniden hazırlandı.

#### **3- Trikrom boyası:**

4- %70'lik etil alkol:

%96'lık etil alkol	72 ml
Distile su ile	100 ml'ye tamamlandı.

#### **5- Asidli %90'lık etil alkol**

%90'lık etil alkol	995.5 ml
Glasiyal asetik asit	4.5 ml

karışımı şeklinde hazırlandı.

#### **6-Karbol ksilen:**

Fenol	1 kısım
Ksilen	3 kısım

Fenol kristallerinin ısıtılması ile elde edilen karbonik aside ksilen eklendi.

### **Boyama Yöntemi**

- 1- Dışkının lama yayılması amacı ile 2 numara sulu boya fırçası kullanıldı. Fırça yardımı ile alınan dışkı örneği lamenin yaklaşık yarısını kaplayacak şekilde ince ve düzgün şekilde yayıldı.
- 2-Schaudin fiksatifini içeren şale içinde en az 30 dk en fazla bir gece bekletildi.
- 3-%70'lik alkol içeren şalede 2 dakika bekletildi
- 4-%70'lik etil alkole demli çay renginde bir solüsyon elde edene kadar D'Antoni'nin iyot solüsyonu eklendi ve lamlar bu solüsyonda 3-5 dakika bekletildi.
- 5-Lamlar %70'lik alkol solüsyonu içeren iki ayrı şalenin her birinde 2-5 dakika bekletildi.
- 6-Trikrom boya içeren şalede 15 dakika bekletildi.
- 7-Lamlar boyadan çıkarılıp dik biçimde kağıt havlular üzerine yerleştirilerek fazla boyanın süzülmesi sağlandı.
- 8-Fazla boyası süzölmüş lamlar 3 saniye %90'lık asit alkole batırıldı.
- 9-Asit alkolden çıkarılıp kağıt havluya değdirildikten sonra %95'lik alkolde daha sonra karbol ksilende çalkalandı.
- 10-Lamlar ikinci ve üçüncü karbol ksilen solüsyonunda 2-5 dakika bekletildi.
- 11-Lamlar iki ayrı ksilen solüsyonunda 2-5 dakika bekletildi.
- 12-Lamlar kurumaya bırakıldı ve 1000x büyütmede incelendi ( 45 ).

### **Kültür:**

Amiplerin üretiminde Robinson besiyeri kullanıldı. Robinson besiyeri en yaygın olarak kullanılan ksenik besiyeridir (52-53).

Kullanılan malzemeler:

- Ağzı pamuklu steril cam tüpler
- Baktoagar . R besiyeri
- Baktopepton . BR ve BRS besiyeri
- Sodyum klorür . İnsan serumu
- Eritromisin solüsyonu
- Pirinç unu
- Fitalat solüsyonu



**1- Tuzlu Agar:**

- Agar	15 gr
- NaCl	7 gr
- Distile su	1000 ml

Karışım, sterilizasyon için otoklava bırakıldı. Daha sonra cam kültür tüplerine 2.5 ml dağıtıldı ve eğimli yüzeylerde soğutuldu ve +4°C de saklandı.

**2- Eritromisin solusyonu**

0.5 gr eritromisin bazı 20 ml %70'lik etanolde çözüldü. 2 saat sonra 30 ml steril distile su ilave edildi, +4°C de saklandı.

**3- Pepton Solüsyonu:**

20 gr pepton 100 ml distile suda çözüldü ve otoklavda sterilize edildikten sonra oda ısısında saklandı.

**4- Pirinç Unu**

Piyasada satılan pirinç unu, küçük paketler ( 5 gr ) halinde hazırlandı ve Pasteur fırınında 160 °C'de 1 saat sterilize edildikten sonra oda ısısında saklandı.

**5- Potasyum Fitalat Solüsyonu**

Stok solüsyon:204 gr potassium fitalat 1800 ml distile suda çözüldü ve pH 6.3'e ayarlandı.2000 ml olana kadar distile su ilave edildi.10 ml'lik tüplere konup otoklavda sterilize edildi. Kullanılacağı zaman stok solüsyon 1/10 oranında sulandırılarak kullanıldı.

**6- Serum:**

İnsan serumu sterilize edilmeden 56°C'de yarım saat inaktive edildi. Buzdolabında saklandı.

**7-R besiyeri :****a) Stok Solüsyonu:**

NaCl	125 gr
Citric asid monohydrate	50 gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	12.5 gr
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	25 gr
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.25 gr
Lactic asid(%90)	100 ml
Distile su	2500 ml

Bu karışım cam balona konup ağzı sıkıca tıpalandıktan sonra saklandı.

**b) Çalışma solüsyonu:**

100 ml stok solüsyona 850 ml distile su ilave edildi, pH 7.0 ayarlandı. 25 ml 'lik cam tüplere bölündü, otoklavda sterilize edildi. pH değişimi nedeni ile çalışma solüsyonu en fazla 1 ay kullanıldı.

**8- Bazal amip besiyeri (BR):**

Çalışma solüsyonuna Escherichia coli ekildi ve 37°C'de 48 saat inkübe edildi. pH değişimi nedeni le en fazla 1 ay saklandı.

**9- Amipler için tamamlanmış besiyeri (BRS):**

BR besiyerine eşit miktarda serum ilave edildi ve 24-48 saat inkübe edildi. oda ısısında saklandı.

Dışkıdan amip kültür tekniği:

Yaklaşık 1.5 ml BR besiyeri daha önce hazırlanan yatık agar tüpüne kondu. 4 damla eritromisin süspansiyonu ve 10 mg pirinç unu eklendi. Öze ile şüpheli dışkının farklı yerlerine dokunarak alınan yaklaşık pirinç tanesi büyüklüğündeki örnek besiyerine inoküle edildi

Besiyeri 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra sıvı bölümün yaklaşık yarısı olmak üzere üst kısım alınarak 0.7 ml BRS besiyeri, 0.7 ml fitalat solüsyonu, 2 damla pepton solüsyonu, 2 damla eritromisin süspansiyonu ve 5 mg daha pirinç unu eklendi. 37°C'de enkübe edildi. 24 saatten sonra kültür sedim örneği direkt mikroskobide incelendi (52 ).

**Dışkı Serolojisi:**

Dışkıda ELISA ile E. histolytica antijeni araştırmak amacıyla hazır ELISA kiti (Ridascreen Entamoeba, r-biopharm, Almanya) kullanıldı.

ELISA 'nın uygulanması:

1-Çalışmaya başlamadan yarım saat önce ELISA kitleri ve E. histolytica immünglobülinleri (IgG) ile kaplı kuyucukları içeren ELISA plakları oda sıcaklığına çıkarıldı.

2- Dondurulmuş (-20°C'de) dışkı örnekleri oda sıcaklığına getirilerek çözüldü.

3- Yıkama solüsyonunun hazırlanması: 1 kısım konsantre yıkama solüsyonu (washing buffer) 9 kısım distile su ile sulandırıldı.

- 4- Örneklerin hazırlanması : Tampon olarak NaCl solusyonu içeren dışkı dilüenti ( universal stool dilüent) ile dışkı örnekleri 1/10 dilüe edildi. 100 µl sıvı dışkı pastör pipetiyle çekildi ve 1 ml dışkı dilüenti ile süspansiyon haline getirildi. (dışkının sıvılaştırılıp homojenize edilmesinde ve dışkı dilüenti ile süspansiyon haline getirilmesinde vorteks kullanıldı )
- 5- Dilüe edilmiş dışkının 2 damlası (100 µl ), pozitif kontrolün 2 damlası, negatif kontrolün 2 damlası, ELISA kuyucuklarına sırasıyla konuldu.
- 6- Her bir kuyucuğun üzerine, enzim konjugatın (HRP-conjugated mAb(mause) against Entamoeba) 2 damlası ilave edildi.
- 7- Nazikçe karıştırıldı, güneş ışığından uzak 1 saat oda ısısında inkubasyona bırakıldı.
- 8- İnkübasyon periyodunun arkasından bütün kuyucuklar yıkama solüsyonu ile 4 defa yıkandı.
- 9- Her bir kuyucuğa 1 damla substrat (urea peroksidi) ve 1 damla kromojen (tetrametilbenzidine) eklendi.
- 10- 15 dakika güneş ışığından uzak, oda ısısında inkubasyona bırakıldı.
- 11- İkinci inkübasyonun sonunda her bir kuyucuğa 1 damla stop solüsyonu (1M sülfürik asit ) eklendi.
- 12-Absorbans 450 nm'de hava körüne karşı okundu.
- 13- Cut-off = negatif kontrolün absorbans değeri + 0.150 olarak belirlendi.
- 14- Cut-off'un %10 üstünde kalan absorbans değerleri pozitif, altında kalan değerler ise negatif olarak kabul edildi.

### **E. histolytica IgG Tayini :**

Serumda, E. histolytica' ya karşı oluşmuş IgG yapısındaki antikorlar ELISA ile araştırıldı. Hazır ELISA kiti (Ridascreen Entamoeba, r-biopharm, Almanya) kullanıldı.

Yöntemin uygulanması :

- 1- Çalışmaya başlamadan yarım saat önce ELISA kitleri ve E. histolytica antigenleri ile kaplı ELISA kuyucuklarını içeren plaklar oda ısısına çıkarıldı.
- 2- Serumlar oda ısısına çıkarılarak çözdürüldü.
- 3- 1 kısım yıkama solüsyonu 19 kısım distile su ile sulandırıldı.
- 4- 10 µl hasta serumu, 990 µl örnek sulandırıcı ile dilüe edildi.
- 5- ELISA kuyucuklarından birine 50 µl negatif kontrol, birine 50 µl pozitif kontrol, diğerlerine de 50 µl hasta serumları konuldu.
- 6- 15 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı.
- 7- İnkübasyonun sonunda her bir kuyucuk 5 kez yıkandı.
- 8- Tüm kuyucuklara 50 µl protein A konjugatı (HRP-conjugated protein A) ilave edildi.
- 9- 15 dakika oda ısısında bekletildi.
- 10-İnkübasyonun sonunda 5 kez yıkandı.
- 11-Her bir kuyucuğa 1 damla substrat (üre peroksit) , daha sonra 1 damla kromojen (tetrametil benzidin) ilave edildi.
- 12-15 dakika oda ısısında bekletildi.
- 13-İnkübasyonun sonunda 1 damla stop solüsyon (sülfürik asit) eklendi.
- 14-450nm'de hava körüne karşı adsorbans değerleri ölçüldü.
- 15-Cut off = negatif kontrolün adsorbans değeri + 0.150 olarak kabul edildi.  
Sonuç = örnek OD (örnek adsorbansı)/ cut off 'olarak hesaplandı.
- 16-Sonuç 0.9'un altında ise hasta serumu negatif, 1.1'in üzerinde ise pozitif olarak kabul edildi.

### **İndirekt hemaglutinasyon :**

Serumda indirekt hemaglutinasyon yöntemiyle *E. histolytica*'ya karşı oluşmuş antikorlar araştırıldı. Bu amaçla hazır IHA kiti (IHA Amoebiasis Fumouze, Fransa) kullanıldı.

Testin Prensi: *E. histolytica*'nın aksenik kültürlerinden elde edilmiş çözünür antijenleri ile duyarlılaştırılmış koyun eritrositleri kullanıldı. Koyun eritrositleri ile hasta serumları belirli dilüsyonlarda muamele edildi. Serumda *E. histolytica*'ya karşı antikor varlığında, kuyucuklarda kırmızımsı bir film tabakası gözlemlendi. Antikor yokluğunda ise, duyarlılaştırılmış eritrositler kuyucuğun dibinde tortu şeklinde koyu renkli bir nokta oluşturdu.

Testin uygulanması :

1-Her hasta için 5 kuyucuk sıralandı.

2-Her hasta için birinci kuyucuğa 195 µl tampon solüsyon ( fosfat buffer ) ve 5 µl hasta serumu eklendi.

3-2,3,4,5 nolu kuyucuklara 50 µl tampon solüsyondan ilave edildi.

4-Birinci kuyucuktan 50 µl alınıp 2. kuyucuğa, 2. kuyucuktan 50 µl alınıp 3. kuyucuğa, 3. kuyucuktan 50 µl alınıp 4. kuyucuğa, 4. kuyucuktan 50 µl alınıp 5. kuyucuğa, 5. kuyucuktan 50 µl alınıp dışarı atıldı. ( Her bir kuyucuktaki pipetleme işlemi sırasında, kuyucuklar çok iyi bir şekilde karıştırıldı )

5-Bütün hasta kuyucuklarına 1 damla *E. histolytica* antijenleri ile kaplı koyun eritrositleri içeren süspansiyondan ilave edildi karıştırıldı.

6-Reaksiyon 2 saat sonra okundu. Her bir kuyucuktaki titrasyon oranları tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: IHA testinde kullanılan her bir kuyucuktaki titrasyon oranları

1. kuyucuk	2.kuyucuk	3.kuyucuk	4. kuyucuk	5.kuyucuk
1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280

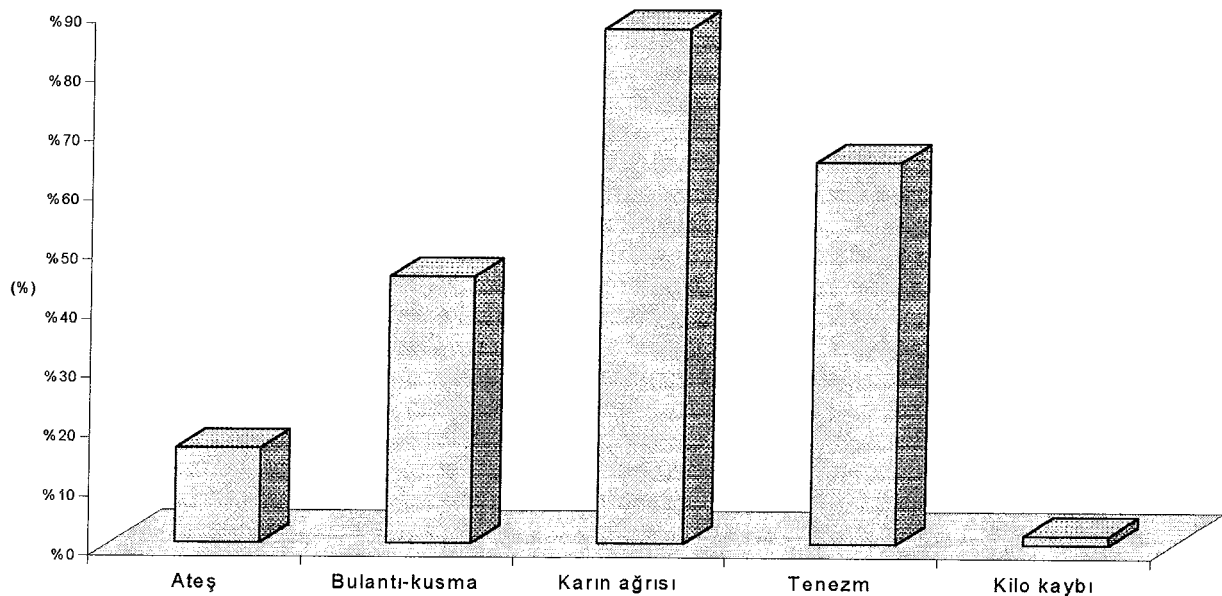
### **İstatistik yöntemleri:**

Bulguların hesaplanmasında istatistiksel olarak şu testler kullanıldı: Bağımlı gruplarda iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi. Bağımsız gruplarda iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi ve ki- kare testi kullanıldı.

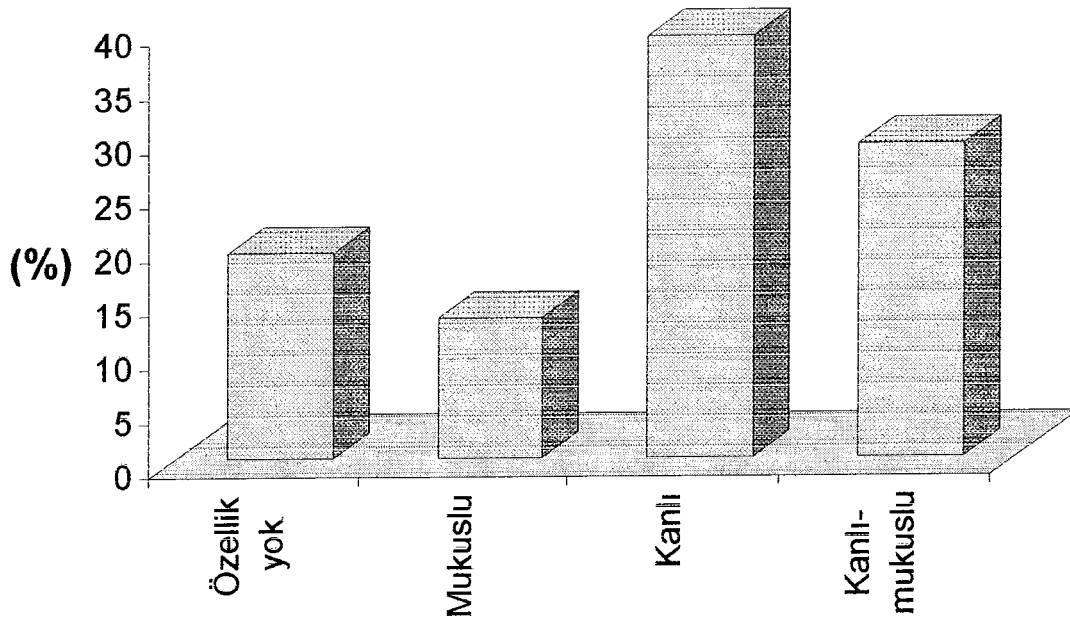
## BULGULAR

Dışkıının direk mikroskopik incelemesine göre intestinal amebiyazis tanısı konulan 62 hastanın 29'u kadın (%46,7), 33'ü erkekti (%53,3). Bu hastaların yaş ortalamaları  $29,35 \pm 15$  olarak tespit edildi. Kontrol grubundaki 30 olgunun 21'i kadın (%70), 9'u erkek (%30) idi. Yaş ortalamaları  $30 \pm 5$  idi. Olgularda en sık saptanan semptomlar karın ağrısı (%87), tenezm (%64,5), bulantı-kusma (%45), ateş (%16) ve kilo kaybı (%1,6) idi (Şekil 2).

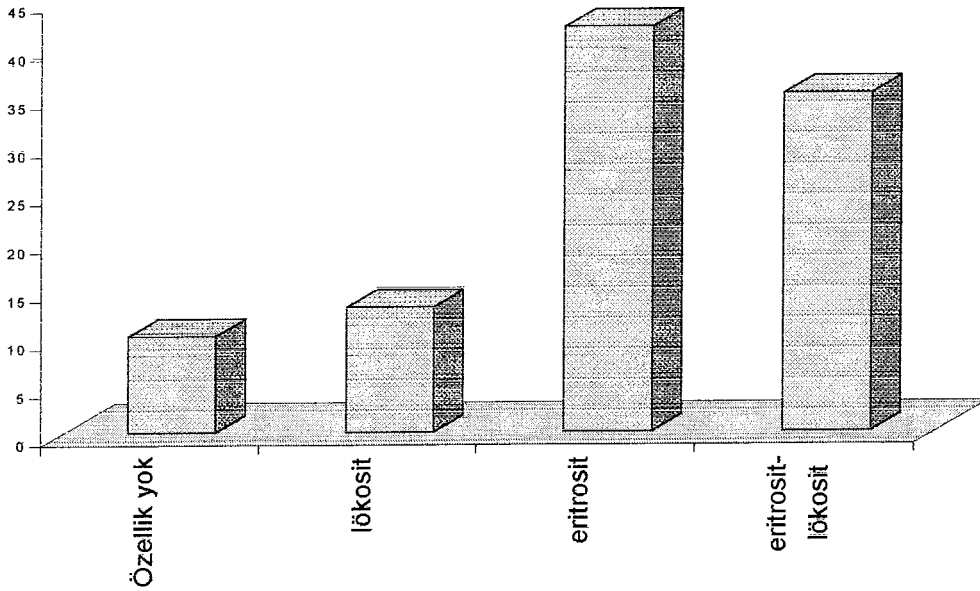
Dışkıının makroskopik incelemesinde 18 (%29) hastanın dışkı örneği kanlı-mukuslu, 24(%38,7) hastanın dışkı örneği kanlı, 8 (%12,9) hastanın dışkı örneği mukuslu iken 12(%19,4) hastanın dışkısında kan ve mukus yoktu (Şekil 3). Dışkıının lam lamel arası taze preparatının mikroskopik incelemesinde, *E. histolytica* trofozoiti ve/veya kisti ile birlikte 22'sinin (%35) dışkı örneğinde lökosit-eritrosit, 26'sının (%41,9) dışkı örneğinde sadece eritrosit, 8'inin (%12,9) dışkı örneğinde sadece lökosit vardı. 6 olgunun dışkısında (%9,6) eritrosit ve lökosit yoktu (Şekil 4). Semptomların süresi, 62 hastanın 60'ında (%96) 1-3 hafta arasında değişirken, 2 hastada 3 haftadan uzun idi.



**Şekil 2: Amebiyazisde saptanan semptomların görülme sıklığı**

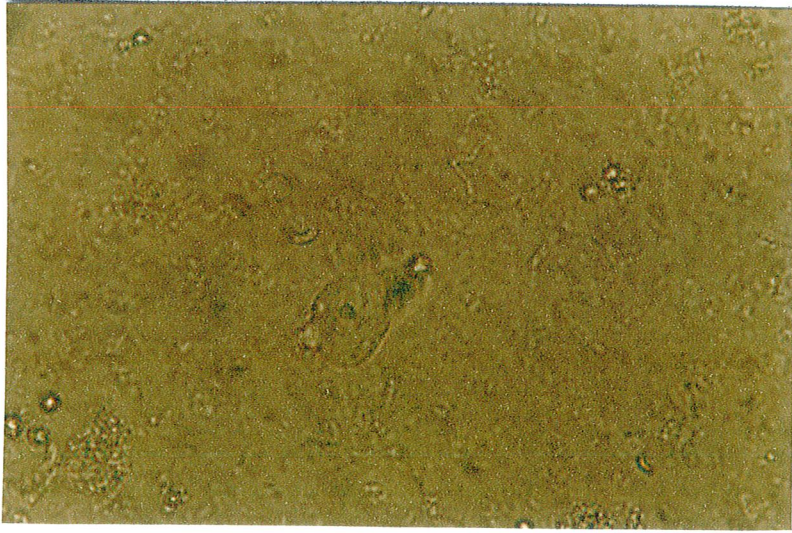


**Şekil 3 : Dışkının makroskobik özellikleri**

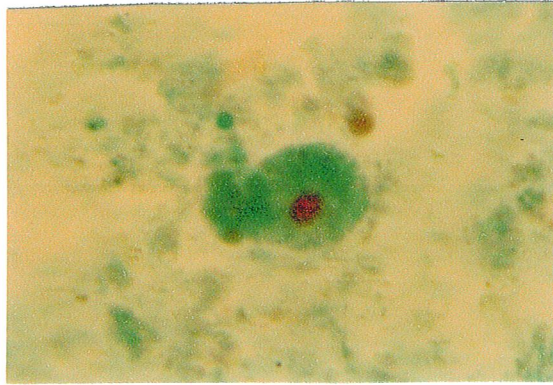


**Şekil 4 : Dışkının mikroskobik özellikleri**

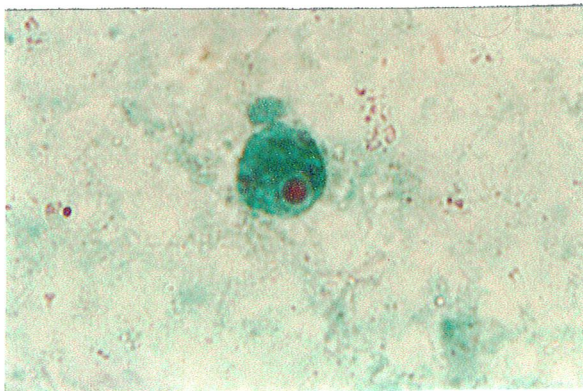
İntestinal amebiyazisli 62 hastanın, dışkı örneklerinin trikrom boyası ile yapılan preparatlarının incelenmesi ile 32 hastanın (%51,6) dışkı örneğinde *E. histolytica* trofozoiti ve/veya kisti saptandı (Fotograf 1,2,3).



Fotoğraf 1: Robinson besiyerinde üremiş amip trofozoiti (400x)



Fotoğraf 2: E histolytica trofozoiti  
Trikrom boya (1000x)



Fotoğraf 3: E histolytica kisti  
Trikrom boya (1000x)



62 olgunun dışkı örneklerinin Robinson besiyerine ekilmesi ile 19 olgunun (%30) dışkı örneğinde *E. histolytica* üredi (Tablo 7 ). İntestinal amebiyazisli olgularda *E. histolytica*'nın trikrom boyası ile saptanma sıklığı ile Robinson besiyerinde üreterek saptanma sıklığı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

**Tablo 7 : İntestinal amebiyazisli olgularda Trikrom boyama ve kültür inceleme sonuçları:**

Toplam	Trikrom boyama pozitif olgu sayısı		Kültür pozitif olgu sayısı	
62	32	%51,6	19	%30

Dışkının direk mikroskopik bakışı ile tanı konulan 62 intestinal amebiyazisli hastanın ve 30 kişiden oluşan kontrol grubunun dışkı örneklerinde ELISA ile *E. histolytica* antijenleri araştırıldı. 40 hastanın dışkı örneğinde *E. histolytica* antijeni saptanırken, kontrol grubunun dışkı örneklerinin hiçbirisinde *E. histolytica* antijeni saptanmadı. Bu testin intestinal amebiyazis tanısında duyarlılığı %64,5, özgüllüğü %100 olarak bulundu (Tablo 8 ).

**Tablo 8 : Dışkıda ELISA ile *E. histolytica* antijeni inceleme sonuçları.**

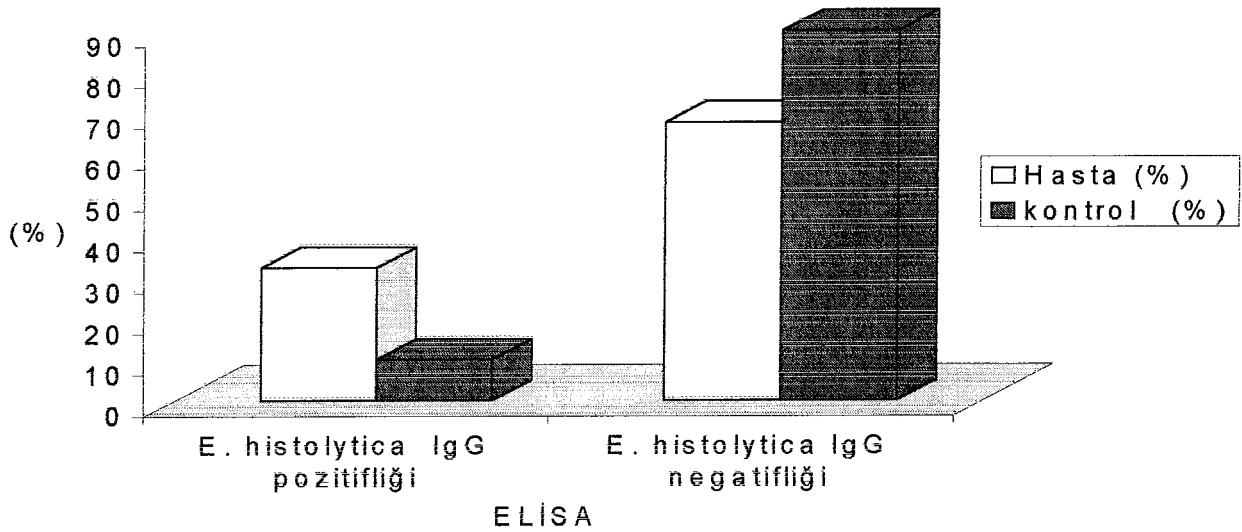
	Olgu Grubu (n=62)		Kontrol Grubu (n=30)	
<b>E. histolytica Antijeni pozitifliği</b>	40	(% 64,5)	—	—
<b>E. histolytica Antijeni negatifliği</b>	22	(%35,4)	30	(%100)

Hasta grubu ve kontrol grubundaki olguların serumlarında *E. histolytica*'ya karşı oluşan IgG sınıfı antikorlara ELISA ile bakıldı. 62 hastadan 20'inde (%32,2), kontrol grubundaki 30 olgudan 3'ünde (%10) pozitif saptandı. Hasta grubu ile

kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Bu testin intestinal amebiyazisin tanısında duyarlılığı %32.2 özgüllüğü ise %90 olarak bulundu (Tablo 9) (Şekil 5).

**Tablo 9: Serumda ELISA ile E. histolytica IgG inceleme sonuçları:**

	Olgu sayısı (n=62)	Kontrol (n=30)
E. histolytica IgG pozitifliği	20 (%32,2)	3 (%10)
E. histolytica IgG negatifliği	42 (%67,7)	27 (%90)



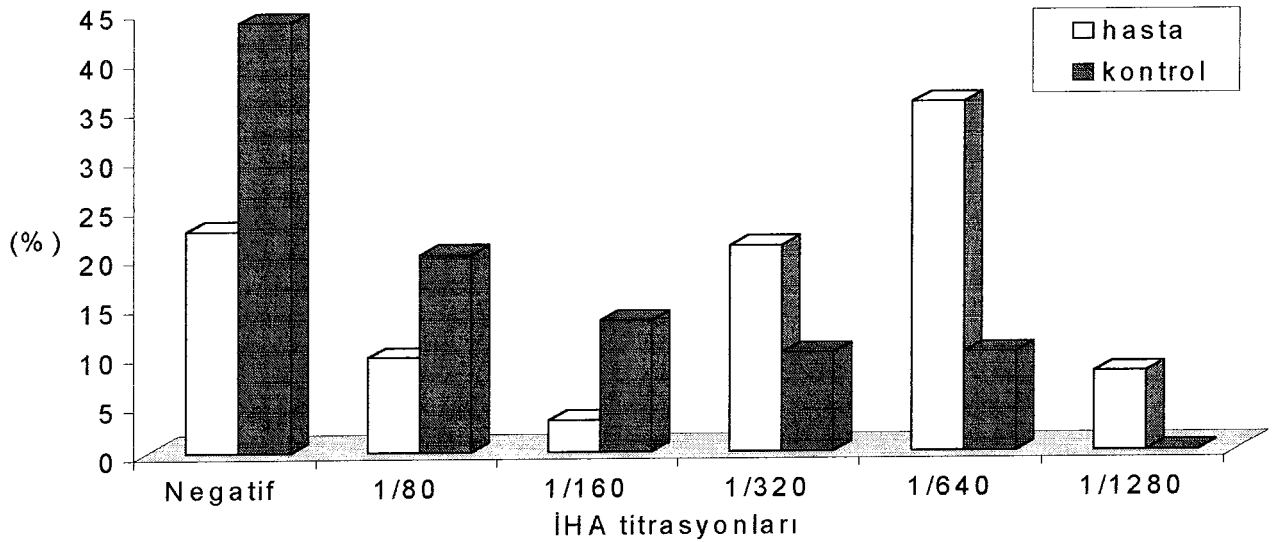
**Şekil 5: Serumda ELISA ile E. histolytica IgG inceleme sonuçları**

İntestinal amebiyazis tanısı alan 62 hastanın serumlarında E. histolytica 'ya karşı oluşan antikorlar IHA yöntemi ile de incelendi. 62 hastanın 48'inde en az 1/80 titrede amip antikor saptanırken, 14 hastada antikor saptanmadı. 30 kişilik kontrol grubunun 16'nın serumunda IHA yöntemi ile en az 1/80 titrede amip

antikoru saptandı. Eğer IHA amip antikor testinin pozitifliğini 1/80 titrasyon olarak kabul edersek , bu testin amebiyazis tanısındaki duyarlılığı %77,4, özgüllüğü %46,7'dir. Hasta grubunda ve kontrol grubundaki IHA amip antikor titrasyonları farklı dağılımlar göstermektedir. (Tablo 10 ) (Şekil 6 )

**Tablo 10: Hasta ve kontrol grubunda IHA titrasyon oranlarının dağılımı**

IHA titrasyonu	Hasta grubu (n=62)		Kontrol grubu (n=30)	
<b>Negatif</b>	14	(%22,5)	14	(%43,7)
<b>1/80</b>	6	(%9,6)	6	(%20,0)
<b>1/160</b>	2	(%3,2)	4	(%13,3)
<b>1/320</b>	13	(%20,9)	3	(%10,0)
<b>1/640</b>	22	(%35,4)	3	(%10,0)
<b>1/1280</b>	5	(%8,0)	0	(%0,0)



**Şekil 6 : Hasta ve kontrol grubunda IHA sonuçları**

İntestinal amebiyazisli olguların içerisinde IHA amip antikor titresi 1/80 ve 1/160 olanların sayısı kontrol grubundaki aynı titrede antikorlu olanlar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ( $p>0,05$ ). Hasta

grubunda 1/320 ve daha yüksek titrede IHA amip antikor olanların sayısı , kontrol grubunda aynı titrede antikor olanların sayısından istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti ( $p<0,001$ ). Eğer amip antikor pozitiflik sınırını 1/320 olarak kabul edersek IHA amip antikor testinin intestinal amebiyazis tanısındaki duyarlılığı %64,5 , özgülüğü ise %86'dır ( Tablo 11 ).

**Tablo 11: İntestinal amebiyazisli hasta serumlarında anlamlı IHA titrasyon değerlerinin gösterilmesi**

IHA titrasyonları	Hasta grubu (n=62)	Kontrol grubu (n=30)
1/160 ve altındaki titrasyonlar	8 (%44,4)	10 (%55,6)
1/320 ve üzerindeki titrasyonlar	40 (%87)	6 (%13)
IHA Ab negatif	14 (%50)	14 (%50)

## TARTIŞMA

Dünyada *E. histolytica* veya *E. dispar* ile enfekte 500 milyon civarında insan bulunmaktadır. Bu populasyonun %70'i gelişmekte olan ülkelerde bulunmaktadır. Asya, Afrika ve Güney Amerika'da bu oran %50'ye hatta Güneydoğu Meksika'da %96'ya varmaktadır. Ancak *E. dispar* ile olan enfeksiyon, *E. histolytica* enfeksiyonundan yaklaşık 10 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. *E. histolytica* ile enfekte kişilerin 40-50 milyon kadarında kolit veya barsak dışı amebiyazis gelişmekte, bunların da her yıl 40-100 bin kadarı ölümlerle sonuçlanmaktadır (1,3).

Bu çalışmada ülkemiz ve bölgemiz için önemli bir sağlık problemi olan intestinal amebiyazis tanısında kullanılan çeşitli yöntemleri karşılaştırarak bu yöntemlerin tanıdaki yerini belirlemeyi amaçladık.

### **Dışkının serum fizyolojik, lugol ve trikrom boya ile incelenmesine ilişkin yorumlar:**

Serum fizyolojik ve lugol ile *E. histolytica* trofozoiti ve/veya kisti saptanan 62 dışkı örneğinin trikrom boya ile incelenmesi sonucu 32'sinde (%51,6) *E. histolytica* kisti ve/veya trofozoiti saptandı. Eğer *E. histolytica* trofozoiti ve kisti tespit ettiğimiz dışkı örneklerinin trikrom boya ile incelemesini ayrıntılı şekilde değerlendirecek olursak; *E. histolytica* kisti tespit ettiğimiz dışkı örneklerinin %27'sinde, *E. histolytica* trofozoiti tespit ettiğimiz dışkı örneklerini ise %65'inde trikrom boya ile *E. histolytica* tespit edildi. Tanrıverdi ve arkadaşları (57), yaptıkları bir çalışmada intestinal amebiyazisli hastaların dışkı örneklerinin trikrom boyama ile yapılan incelenmesinde %93 oranında *E. histolytica* saptamışlardır. Hindistan'da Shetty ve arkadaşları (58), serum fizyolojik, lugol, BMB (buffered metilen blue) kullanarak *E. histolytica* trofozoiti ve/veya kisti

tespit ettikleri dışkıların %44,4'ünde, trikrom boya ile *E. histolytica* saptamışlardır. İntestinal amebiyazisde dışkının trikrom boyası ile *E. histolytica*'nın saptanabilmesinin bu kadar değişkenlik göstermesi trikrom boyama yönteminin birden çok aşaması olması ve birden çok kimyasal içermesinden kaynaklanabilir. Bu yöntemde sonucu en çok etkileyen evrenin hazırlanan preparatın tespit aşaması olduğu belirtilmektedir (45). Tespit solüsyonunun eskimesi ve tespitin geç yapılması boyadan alınan verimin düşmesine yol açarken, tespitite kullanılan schaudin fiksatifinde içindeki civa klorürün organizmanın morfolojisinin bozulmasına yol açabileceği de belirtilmektedir (59). Çalışmamızda, dışkıda *E. histolytica* trofozoiti görerek tanı koyduğumuz olguların %65'inde trikrom boyama sonucu pozitif iken, kist görerek tanı koyduğumuz olguların %27'sinde trikrom boya sonucu pozitifdi. Buradan trikrom boyanın *E. histolytica*'nın trofozoit formunu saptamada daha duyarlı bir yöntem olduğu söylenebilir. Ok ZÜ ve arkadaşları (59), protozoonların trofozoit formlarının tespitinde trikrom boyama yönteminin daha üstün olduğunu belirtmiştir.

Dışkının mikroskopik incelemelerinde serum fizyolojik-lugol halen en sık kullanılan yöntemdir. Bu yöntemin getirdiği en önemli avantajlar, hareketli mikroorganizmaların hareket özelliklerini görme olanağı sağlaması, helmintlerin ve protozoonların tanı koydurucu tüm evrelerinin saptanmasına olanak sağlaması, kolay ve her yerde uygulanabilir olmasıdır (59). Bunun yanında, birçok laboratuvar da iyi eğitilmiş laboratuvar personeli dahi lökositleri kistlerle, makrofajları trofozoitlerle karıştırabilmektedir. Tek bakıda olguların bir kısmı gözden kaçabilmekte, patojen *E. histolytica*'yı nonpatojen *E. dispar*'dan ayırmak mümkün olamamaktadır (20,23,24). Nitekim bu çalışma sırasında bulunduğumuz laboratuvarlarda dışkıdaki lökositlerin ve makrofajların *E. histolytica* trofozoiti olarak rapor edildiğini ve bu hastalara gereksiz yere tedavi düzenlediğini gördük.

Trikrom boyama yönteminin en önemli avantajı iyi boyanan protozoonların özellikle trofozoitlerin morfolojilerini ayrıntılı olarak göstermesi, direkt bakıda gözden kaçabilen protozoonları daha kolayca belirlenmesi, preparatın uygun bir zamana kadar bekletilmesi, boyanmış yaymaların kalıcı bir

kayıt olarak saklanabilmesi, pozitif lamların referans olarak kullanılabilmesi ve tanıda şüphe bulunması durumunda lamların gönderilerek konsültasyon istenebilmesidir (45).

Sonuç olarak, intestinal amebiyazis tanısında dışkının direkt mikroskopik incelemesi bu konuda deneyimli kişiler tarafından yapılmıyorsa dışkının trikrom boya ile boyanarak incelenmesi, özellikle *E. histolytica* trofozoitlerinin gösterilmesi açısından faydalı olabilir.

#### **E. histolytica kültür sonuçlarına ilişkin yorumlar:**

İntestinal amebiyazis tanısı alan 62 hastanın dışkı örneklerinin Robinson besiyerine yapılan ekimlerinde 19 hastanın (%30,6) dışkı örneğinde *E. histolytica* üretildi. Dışkı kültürlerinde *E. histolytica* üretilmesi, bu hastalarda *E. histolytica* enfeksiyonunun varlığını kesin olarak ortaya koymakta iken, dışkı kültürlerinde *E. histolytica*'nın üretilmemesi, enfeksiyonun varlığını dışlamak için yeterli olmamaktadır. Mikroskopik olarak pozitif olsa bile, kültürde *E. histolytica*'yı üretme oranının %50 olduğu, kültürün mikroskopiye göre daha az duyarlı olduğu bildirilmiştir (22). Ardıç N. (60) çalışmasında, mikroskobide pozitif saptadığı olguların ancak yarıya yakınına kültürde üretebilmiştir. Çünkü parazitlerin izolasyonu ve tanımlanması amacıyla uygulanan in vitro kültür yöntemleri bir çok dezavantaja sahiptir. Kültür yönteminin başarılı olması için dışkıda fazla miktarda kist veya trofozoit bulunması lazımdır. *E. histolytica*'nın kültürü deneyimle direkt ilişkilidir (52). Üremesi için en az 48 saat gibi bir süre lazımdır. Besiyerinde kullanılan sıvı ortamların pH'sının çok çabuk değişmesi *E. histolytica*'nın üremesini baskılayabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı, parazitoloji laboratuvarlarında kültürün pek pratik olmadığı ve hiçbir zaman rutin tanıda, mikroskopik bakının yerine geçmeyeceği bilinmektedir (52). Parazitoloji laboratuvarlarında kullanılan in vitro kültür ve in vivo hayvan inokulasyon yöntemleri, direkt mikroskopik tanı yöntemlerinin yetersiz kaldığı veya kesin tanıya gidilemediği durumlarda kullanılmasının yanı sıra, immünolojik ve serolojik çalışmalarda kullanılan antijenlerin hazırlanmasında, ilaç çalışmalarında, parazitlerin fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin araştırılması için yapılan çalışmalarda önemli yer tutmaktadır (51,52).

İntestinal amebiyazisli olgularda dışkı örneğinde *E. histolytica* 'nın, trikrom boyası ile tespit edilme sıklığı, Robinson besiyerinde üretilerek tespit edilme sıklığından anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Trikrom boyama yöntemi amip kültürüne oranla daha pratik olması ve *E. histolytica*'yı daha yüksek bir oranda tespit edebilmesinden dolayı rutin parazitoloji laboratuvarlarında uygulanması tavsiye edilebilir. *E. histolytica* kültürünün uygulanmasındaki güçlükler ve duyarlılığının düşük olmasından dolayı rutin laboratuvarlarda kullanımını kısıtlıdır.

**İntestinal amebiyazis tanısı almış olguların serumlarında ELISA ile tespit edilen *E. histolytica* IgG sınıfı antikorların değerlendirilmesine ilişkin yorumlar:**

Çalışmamızda, intestinal amebiyazis tanısı koyduğumuz 62 hastanın serumlarında ELISA ile *E. histolytica* IgG tipi antikorlar araştırıldı. Bu hastaların 20'sinde (%32,2) seropozitiflik saptandı. Kontrol grubunu oluşturan 30 olgudan 3'ünde (%10) seropozitiflik bulundu. Hasta grubunda ELISA ile bakılan IgG sınıfı amip antikor bulunma sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olmasına rağmen ( $p<0,05$ ), bu testin intestinal amebiyazis tanısındaki duyarlılığı %32,2, özgüllüğü ise %90 olarak bulundu.

Hindistan'da yapılan buna benzer bir çalışmada invaziv amebiyazisli hasta serumlarında ELISA ile *E. histolytica* IgG araştırılmıştır. Testin duyarlılığını ve özgüllüğünü dört farklı *E. histolytica* antijeni kullanarak değerlendirmişlerdir. Duyarlılığı %82, %87, %100 ve %90 olarak bulurken özgüllüğünü %98, %94, %98 %94 olarak bulmuşlardır (61). Yine Hindistan'da yapılan başka bir çalışmada karaciğer amip absesi tanısı almış hasta serumlarında ELISA ile %100 seropozitiflik tespit edilirken, amebik dizanterili ve asemptomatik kist taşıyıcısı olan hasta serumlarında çok daha düşük seropozitiflik elde etmişlerdir (62). Güney Afrika'da (Durban) yapılan bir çalışmada karaciğer amip absesi olan hasta serumlarında ELISA ile *E. histolytica* IgG tayininin duyarlılığını %95, IgM tayininin duyarlılığını %91 bulmuşlardır, asemptomatik patojen *E. histolytica* taşıyıcılarının hepsinde ELISA ile *E. histolytica* IgG pozitif bulunurken, IgM tespit edilememiştir (63).



Tokyo Üniversitesinde yapılan bir çalışmada, invaziv amebiyazisli hastaların serumlarında ELISA ile %80 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (64). Başka bir çalışmada ELISA ile serumda, amip absesinde %100, intestinal amebiyazisde %90, asemptomatik kist taşıyıcılarında %30, normal sağlıklı grupta %20 oranında seropozitiflik saptanmıştır ( 47).

Bu çalışmalarda ELISA ile *E. histolytica* IgG için saptanan özgüllük değerleri bizim bulduğumuz değere yakınken, testin duyarlılığı bizim çalışmamızda onlarınkinden daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmalarda IgG seropozitifliğinin daha yüksek bulunması, çalışmaya alınan karaciğer amip absesi olan vakaların, intestinal amebiyazisli vakalardan daha yüksek seropozitiflik göstermesinden kaynaklanmaktadır. Karaciğer amip abseli hastalarda amip IgG tipi antikorların hemen daima pozitif olması amiplerin dokulara yayılmasının uzun bir süre almasına ve derin doku invazyonuna bağlanmaktadır. Yine asemptomatik patojen kist taşıyıcılarında, pozitif IgG sonuçlarının amiplerin dokulara yayılmasının çok yavaş olması sebebiyle hastalığın kronik seyretmesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir ( 50,63,65). Bu görüş doğruysa uzun bir sürede invazyon sonucu gelişen immünite akut ve invaze olmayan amebiyazis olgularında oluşmayacaktır. Ayrıca bu çalışmaların hepsinin endemik bölgelerde yapılmış olması dikkat çekicidir. Bu bölgelerde sağlıklı insanların dahi %20'sinin pozitif serolojisinin olması şaşırtıcı değildir (47,66). Durum böyle olunca, amip IgG sınıfı antikorların akut bir amebiyazis mi yoksa kronik invaziv bir amebiyazis mi gösterdiği veya geçirilmiş bir amebiyazisten sonra devam eden antikorlar mı olduğunu saptamak güçleşmektedir.

*E. histolytica*'ya karşı gelişen IgM yapısındaki antikorlar akut enfeksiyondan sonra 6 ay içerisinde kaybolurken IgG tipi antikorların uzun yıllar sürdüğü bildirilmektedir (67). Jakson ve arkadaşları (68), Afrika'da yaptıkları bir çalışmada invaziv amebiyazisin tanısında spesifik IgM varlığıyla beraber spesifik IgG'nin aktif enfeksiyonu göstereceğini, bunun tersine IgM negatif IgG pozitif ise aktif enfeksiyondan uzaklaşılması gerektiğini bildirmişlerdir. Yine benzer bir çalışma bu görüşü desteklemektedir (63). Amebiyazisten sonra amip antikorlarının serumda tespit edilebilmesi için en az 1 haftalık sürenin lazım

olduğu bildirilmiştir (1,69). Eskişehir’de Doğan ve arkadaşları (65), yaptıkları bir çalışmada asemptomatik kist taşıyıcısı çocuklar ve yetişkinlerin serumlarında ELISA ile E. histolytica IgG sınıfı antikorları %75 oranında pozitif bulmuşlardır. Bu antikor yanıtının etkenle daha önceki bir karşılaşmaya mı, yoksa akut bir enfeksiyona mı ait olduğunu saptanamayacağını bildirmişlerdir. E. histolytica’ya yönelik bu tür ELISA çalışmalarının koprolojik incelemelerde faydalı olacağı görüşünü savunmuşlardır. Tanyüksel ve arkadaşları (50), Ankara’da yaptıkları bir çalışmada dışkısında amip trofozoiti ve kisti gördükleri hastaların serum örneklerinde ELISA ile E.histolytica IgG sınıfı antikorları tespit edemezken, IFA (indirekt fluoresan antikor) yöntemiyle E.histolytica IgM tipi antikorları aynı hasta grubunda %85,4 pozitif bulmuşlardır. Göğebakan M. (70) yaptığı çalışmada, dışkının direkt mikroskopik incelemesi ile amipli dizanteri tanısı koydukları çocukların serumlarında ELISA ile %10,4 oranında seropozitiflik saptarken, IFA yöntemi ile IgM tipi antikorları %52,3 oranında bulmuştur. Biz alışmamızda IgM sınıfı antikorlara bakmadığımız için akut intestinal amebiyazisli olguların gerçek serolojik profilini belirleyemedik. Bizim olgularımızın %90’nının klinik süresi 1 hafta–10 günden kısa olduğu için ve antikor oluşması için en az 1 haftalık süre gerektiğinden belki de yeterli antikor oluşmadan serolojik profile bakmış olabiliriz. ELISA ile IgG sınıfı amip antikor tespitinin duyarlılığı bu konuda yurtdışında yapılan çalışmalara göre çok düşük iken, ülkemizde yapılan çalışmalardakine benzerlik göstermektedir. Bunun sebebi, ELISA kitlerinin hazırlanmasında kullanılan E. histolytica antijenlerinin, ülkemizdeki patojen E. histolytica antijenleri ile homoloji göstermemesinden kaynaklanabilir.

Ticari ELISA kitlerinin duyarlılıklarının farklı olduğu bilinmektedir. Bunun nedenleri arasında; ELISA kitini üreten firmaların E.histolytica’nın farklı antijenik yapılarını kullanmaları, antijenin saflığı, bu antijenlerin E. histolytica’ya spesifik olması veya patojen, nonpatojen suşlarda ortak bulunan bir antijen olması sayılabilir. Tüm bunlardan dolayı bu antijenik yapıların standartize edilmesi gereği doğmaktadır. Farklı ELISA kitlerinin kullanılması farklı serolojik sonuçların alınmasına neden olmakta ve test sonuçlarının duyarlılığını etkilemektedir. Nitekim bir çalışmada E.histolytica’nın farklı antijenik yapıları

kullanılarak çalışma tekrarlandığında aynı serum örneklerinde, farklı seropozitiflik elde etmişlerdir (61).

Serumda amip antikorlarının ölçülmesine yönelik serolojik çalışma sonuçları birbiri ile çelişkilidir. Bölgenin endemik olup olmaması, enfeksiyonun süresi, invazyonun derecesi, serolojik çalışmalarda kullanılan antijenin saflığı alınan sonuçları etkilemektedir. Sonuç olarak; protozoon enfeksiyonlarının tanısında serolojik yöntemlerin kullanılması halen tartışmalıdır.

#### **Dışkıda E. histolytica'nın ELISA ile tespitine ilişkin yorumlar:**

İntestinal amebiyazisli 62 hastanın dışkı örneklerinin 40'ında (%64,5) ELISA ile E. histolytica antijeni tespit edildi. kontrol grubunda bu test negatif olarak saptandı. Testin duyarlılığı %64,5 , özgüllüğü %100 olarak bulundu.

Yapılan benzer çalışmalarda dışkıda E. histolytica'nın ELISA ile saptanmasının duyarlılığı %90, özgüllüğü ise %100'e yakın bulunmuştur (48,71,72). Haque ve arkadaşları (73), kültür ve mikroskopi ile E. histolytica tanısı almış hastaların dışkı örneklerinde ELISA ile E. histolytica antijeni araştırmışlardır. Testin duyarlılığını %93, özgüllüğünü ise %98 olarak saptamışlardır. Bu çalışmanın sonucunda bu yöntemin kültür kadar hassas, mikroskobiden çok daha duyarlı ve özgül olduğunu belirtmişlerdir. İntestinal amebiyazisin tanısında E. histolytica'nın nonpatojen E. dispar'dan ayırımında altın standart olarak kabul edilebileceğini bildirmişlerdir. Biz çalışmamızda özgüllüğü, yapılan benzer çalışma sonuçları ile uyumlu bulduk. Bu testin amebiyazis tanısındaki duyarlılığını düşük olarak saptadık. ELISA kitinde E. histolytica'nın antijenitesi düşük bir bölgesine karşı gelişmiş antikorların kullanılması da duyarlılığı düşük bulmamızda etken olabilir. Çalışmamızda dışkı örneklerini yaklaşık 1 ay sürede toplayıp -20°C'de dondurarak saklamamızdan da duyarlılığı düşük bulmuş olabiliriz. Dışkının dondurularak saklanması dışkıda bulunan E. histolytica'nın antijenitesini azalttığı bildirilmektedir (71).

Sonuç olarak; ELISA ile dışkıda E. histolytica antijeni sadece E. histolytica'nın antijen idantifikasyonu için kullanılmamaktadır. Bunun ötesinde; günümüzde dışkıda patojenik türleri nonpatojenik olandan ayırt etmek için ihtiyaç duyulan zor ve vakit alan ve bazen başarısızlıkla sonuçlanan amip

kültürü ve izoenzim analizinin de yerini alma potansiyeline sahiptir (74). Klinik laboratuvarlarda bu yöntemin kullanılması organizmanın patojenitesinin bilinmesinden hastayı tedavi etmeye hatta lüzumsuz ilaç tüketiminin ortadan kaldırılmasına kadar birçok konuda faydalı olacağı kesindir. E. histolytica'nın nonpatojenik olanının enfeksiyonunun, patojenik olandan ayırt edilmesi ve bu hastalara tedavi verilmemesi, insan barsağında kommensal bir yaşam süren bu organizma ile enfeksiyonun doğal seyri hakkında daha çok şey öğrenmemize sebep olacaktır (74).

Bu testin en büyük dezavantajı ise, dışkı örneklerinin dondurularak saklanması, belirli bir sayıya ulaşmadan çalışıldığında test maliyetinin artmasıdır.

#### **Hasta serumlarında IHA yöntemiyle tespit edilen amip antikor sonuçlarının yorumlanması:**

İntestinal amebiyazis tanısı almış 62 hastanın 48'inde (%77,4), kontrol grubundaki 30 olgunun 16'sında (%53,3) en az 1/80 titrede anti amip antikorları saptandı. Test pozitifliğini 1/80 kabul edersek , bu testin amebiyazis tanısındaki duyarlılığı %77,4, özgüllüğü ise %46,7 olarak bulundu.

Patterson M. ve arkadaşları (67), yaptıkları bir çalışmada amebik kolit veya karaciğer amip absesi tanısı almış invaziv amebiyazisli hastalarda GDP (Gel Diffusion Precipitation) ile IHA'yı karşılaştırmışlardır. Amebik kolitli hastaların %91'inde, karaciğer amip absesi olan hastaların ise %95'inde serumda amip antikorlarını IHA yöntemiyle pozitif bulmuşlardır. IHA'nın duyarlılığını %93, özgüllüğünü %94 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışma sırasında tanı koydurucu IHA titrasyonunun, 1/128 ve üzerindeki titrasyonlar olduğunu saptamışlardır. IHA'nın en sensitif yöntemlerden olduğunu bildirmişlerdir. Li ve arkadaşları (69), karaciğer amip abseli hastaların %95-100'ünde, septomatik intestinal amebiyazisli hastaların %75-90'ında, asemptomatik amebiyazis olgularının %5-50'sinde amip antikorlarının IHA yöntemi ile pozitif olabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, asemptomatik kist taşıyıcılarının serumlarında IHA yöntemiyle amip antikorları %5-50 oranında pozitif bulunmuştur (64). Bizim vakalarımızın hepsinin intestinal amebiyazisli hastalar olduğunu düşünürsek

bulduğumuz veriler yapılan diğer çalışmalarla uyumludur. Kontrol grubundaki bu yüksek seropozitiflik ise bölgemizin endemik olmasından kaynaklanıyor olabilir. Toplumda, geçirilmiş *E. histolytica* enfeksiyonuna bağlı seropozitifliğin yüksek olması, kontrol grubundaki seropozitifliği yüksek bulmamıza neden olmuş olabilir. Kontrol grubunda bizim tespit edemediğimiz asemptomatik kist taşıyıcılığının bulunması da IHA pozitifliği oranını yükseltmiş olabilir. Patterson M ve arkadaşları (67), invaziv amebiyazisten yıllar sonra IHA yöntemiyle amip antikörlerinin varlığını tespit etmişlerdir. Stamm, Ashley ve Bell (75), orduda iken amebiyazis geçiren 100 İngiliz askerinin serum örneklerinde amip antikörlerini IHA yöntemiyle yüksek titrasyonda 11 yıl gibi uzun bir süre saptayabilmişlerdir. İnvaziv amebiyazisde akut enfeksiyondan yıllarca sonra amip antikörleri serumda düşük titrasyonlarda dahi olsa devam etmektedir. IHA yönteminin bu antikörleri tespit edebilmesi belki de bu testin yüksek duyarlılığından kaynaklanmaktadır. Ancak IHA testinin yüksek duyarlılığı invaziv hastalığın geçirilmiş bir enfeksiyondan ayrılmasında bir dezavantaj oluşturmaktadır (67). Özcan K ve arkadaşları (76), sağlıklı kan donörlerinin serumlarında IHA testiyle amip antikörleri araştırmışlar ve bu donörlerin %7.8'inde 1/34 ve üzerindeki titrelerde IHA'yı pozitif bulmuşlardır. Yılmaz ve arkadaşları (77), Elazığ'da Et Balık Kurumu işçilerinde IHA ile 1/16 ve üzerindeki titrelerde %17.3 oranında amip antikörleri bulmuşlardır .

Çalışmamızda, olgu grubunda 1/320 titrede IHA antikoru olanların sayısı, kontrol grubunda 1/320 ve üzerindeki titrede IHA antikoru olanların sayısından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı idi ( $p < 0,001$ ). IHA amip antikör titresi 1/320 ve üzerindeki titrelerde pozitif kabul edilirse testin duyarlılığı %64,5 , özgüllüğü ise %86'dır. Nitekim Vinajak ve arkadaşları (78), Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada tanı koymak için IHA'nın 1/256 ve üzerindeki titrasyonlarının anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Meerovitch ve Ali Kahn (79), kendi bölgelerinde invaziv amebiyazisin tanısında IHA'nın 1/512 ve üzerindeki titrelerinin anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak; IHA testi duyarlılığı yüksek bir testtir. Ancak amip antikörlerinin enfeksiyonun eradikasyonundan yıllarca sonraya kadar devam etmesi ve duyarlılığı yüksek IHA testiyle bu antikörlerin tespit edilebilmesi,

IHA'nın aktif enfeksiyon sırasındaki tanı koydurucu değerini azaltmaktadır. Endemik bölgelerde yapılan kontrollü çalışmalarla o bölgede invaziv amebiyazis tanısı koyabilmek için anlamlı IHA titrasyonunu bulmak en doğrusu olacaktır. Bununla beraber IHA yöntemi epidemiyolojik çalışmalarda güvenle kullanılabilir bir yöntemdir .

## SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- 1- İntestinal amebiyazisli hastaların dışkı örneklerinin makroskobik incelenmesinde %29'u kanlı-mukuslu, %38.7'si kanlı, %12.9'u mukuslu iken %19.4'ünde kan veya mukus gözlenmemiştir.
- 2- Dışkı örneklerinin mikroskobik incelemesinde E. histolytica trofozoiti ve/veya kisti ile beraber %35'inde eritrosit ve lökosit, %41.9'unda eritrosit, %12.9'unda lökosit tespit edilirken, %9.6'sında lökosit veya eritrosit saptanmamıştır.
- 3- Dışkı örneklerinin trikrom boyası ile yapılan incelemesinde olguların %51.6'sında E. histolytica trofozoiti ve/veya kisti tespit edilmiştir. Dışkı örneklerinde direkt mikroskobik inceleme ile, trikrom boyama yönteminin beraber uygulanmasının doğru tanı oranını yükselttiği belirlenmiştir. Özellikle protozoa trofozoitlerini tespit etmede yüksek duyarlılığa sahiptir. Bu nedenle rutin laboratuvarlarda kullanılması önerilebilir.
- 4- Mikroskobik bakısında E. histolytica tespit edilen dışkı örneklerinin, kültürlerinde ancak %30.6 oranında amip üretilebilmiştir. E.histolytica kültürü zor ve zaman alıcı bir yöntemdir. Rutin laboratuvarlarda kullanılması pratik değildir.
- 5- Dışkı örneklerinde ELISA ile E.histolytica antijeni %64,5 oranında pozitif saptanmıştır. Testin duyarlılığı %64,5, özgüllüğü %100 olarak belirlenmiştir. Rutin parazitoloji laboratuvarlarında uygulanması zor ve zaman alıcı, maliyeti yüksek bir testir. Ancak, patojenik E. histolytica türlerini nonpatojeniklerden ayırt etmeye, parazitin patojenitesinin bilinmesinden hastayı tedavi etmeye, hatta lüzumsuz ilaç tedavisinin engellenmesine kadar bir çok konuda faydalı olacağı kesindir.
- 6- Hasta serum örneklerinde ELISA ile E. histolytica IgG tipi antikorlar %32,2 oranında pozitif bulunmuştur. Testin duyarlılığı %32,2, özgüllüğü %90 olarak belirlenmiştir. Serumda amip antikorlarının ölçülmesine yönelik serolojik

çalışma sonuçları birbirleriyle çelişkilidir. Testin duyarlılığının düşük olması, invaziv amebiyazis ile, geçirilmiş enfeksiyonu birbirinden ayıramaması testin rutinde kullanılmasının sakıncalarını oluşturmaktadır.

- 7- Hasta serum örneklerinde IHA yöntemi ile ölçülen amip antikorları 1/320 ve üzerindeki titrelerde intestinal amebiyazis tanısı için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). IHA amip antikor testinin pozitiflik titresini 1/80 olarak kabul edersek bu testin amebiyazis tanısındaki duyarlılığı %77,4, özgüllüğü ise %46,7'dir. Testin invaziv amebiyazisle, geçirilmiş enfeksiyonu birbirinden ayıramaması tanı koymada problemlere neden olmaktadır. Bu test ile invaziv amebiyazis tanısı koyabilmek için, o bölgedeki anlamlı IHA titrasyonunu bilmek gereklidir. Bu tez çalışmasında, intestinal amebiyazis tanısında IHA amip antikor titresinin 1/320 ve üzerindeki değerleri anlamlı bulunmuştur.

Bu bulgular ışığında, intestinal amebiyazis tanısında, dışkının direk mikroskopik muayenesi ve serumda IHA yöntemiyle amip antikorlarının bakılması her laboratuvarında yapılabilecek kolay, ucuz ve tanı değeri yüksek testlerdir.



## ÖZET

Dışkıının mikroskopik incelemesi sonucu Entamoeba histolytica trofozoiti ve/veya kisti görülen intestinal amebiyazisli hastalarda çeşitli laboratuvar yöntemlerinin tanı değerleri araştırıldı.

İntestinal amebiyazisli 62 hastanın ve 30 sağlıklı bireyin dışkı örnekleri trikrom boya ile boyanarak incelendi ve Robinson besiyerinde kültürleri yapıldı. Bu örneklerden aynı zamanda ELISA ile Entamoeba histolytica antijeni araştırıldı. Hasta ve kontrol grublarının serum örneklerinde ELISA ve IHA yöntemleriyle Entamoeba histolytica'ya karşı oluşan antikorların varlığı ve düzeyleri incelendi.

Dışkı örneklerinin trikrom boya ile incelemesinde 32 hastada (%51.6) Entamoeba histolytica trofozoiti ve/veya kisti saptandı. Robinson besiyerinde yapılan kültürlerde 19 hastanın (%30.6) dışkı örneklerinde Entamoeba histolytica üredi. ELISA yöntemiyle hastalardan 40 tanesinin (%64.5) dışkısında Entamoeba histolytica antijeni tespit edildi. ELISA ile antijen araştırma testinin duyarlılığı %64.5, özgüllüğü ise %100 olarak bulundu. Hasta serumlarının 20 sinde (%32.2) ELISA ile IgG sınıfı amip antikorları saptandı. Testin duyarlılığı %32.2, özgüllüğü ise %90 olarak bulundu. Serum örneklerinin 48 inde (%77.4) IHA yöntemiyle en az 1/80 titrede amip antikorları tespit edildi. Test pozitifliği 1/80 olarak kabul edildiğinde bu testin amebiyazis tanısındaki duyarlılığı %77.4, özgüllüğü ise %46,7 olarak bulundu. IHA amip antikor titresini 1/320 ve üzerindeki değerlerde pozitif kabul edilirse testin duyarlılığı %64.5, özgüllüğü ise %86 dir.

Kontrol grubunda hiçbir olgunun dışkı örneğinde Entamoeba histolytica antijeni saptanmadı. Bu olgulardan 3 ünün (%10) serumunda Entamoeba histolytica'ya karşı oluşmuş IgG sınıfı antikorlar bulundu. Aynı örneklerde IHA ile 16 olguda (%56.3) en az 1/80 titrede antikor varlığı tespit edildi.

## SUMMARY

Diagnostic values of various laboratory methods have been evaluated in the patients with intestinal amebiasis diagnosed by identifying trophozoites and/or cysts of *Entamoeba histolytica* in the stool.

Stool specimens of 62 patients with intestinal amebiasis and healthy control person were stained with trichrome staining and cultured in Robinson's medium. In addition, *Entamoeba histolytica* antigen was searched by ELISA in these specimens. Serum specimens from 62 patients and 30 healthy controls were assayed by ELISA and IHA for the presence of *Entamoeba histolytica*-specific IgG antibodies.

*Entamoeba histolytica* trophozoites and/or cysts were found in 32 stool specimens (51,6%) of patients by trichrome staining. *Entamoeba histolytica* was isolated from the cultures of stool specimens of 32 patients (30,6%) using Robinson medium. *Entamoeba histolytica* antigen was detected in 40 stool specimens (64,5%) by ELISA. Specificity and sensitivity of this test were 100% and 64,5%, respectively. 20 sera specimens (32,2%) were found having *Entamoeba histolytica*-specific IgG antibodies by ELISA. It was found that the specificity of the test was 90% and the sensitivity was 32.2%. *Entamoeba histolytica*-specific IgG antibodies were detected in 48 serum samples by IHA in the titers of 1/80 or higher. If 1/80 titer is accepted as diagnostic, sensitivity and specificity of the IHA test will be 77.4% and 46.7%, respectively. Whereas when 1/320 titer is diagnostic specificity of the test is 64.5% and sensitivity is 86%.

In the control group any of the stool specimens didn't have *Entamoeba histolytica* antigen. 3 serum specimens (10%) of the control patients had IgG antibodies against *Entamoeba histolytica* by ELISA. In the same group, we detected these antibodies in 16 cases (56.3%) in the titers of 1/80 or higher by IHA

## KAYNAKLAR

- 1- Ravdin JI. Entamoeba histolytica. Mandell G, Bennet j, Dolin R (eds). Pirinciples and Practice of Infectious Disease (5 th ed). Churchill Livingstone co,2000: 2798-2810.
- 2- Spice WM, Ackers JP. The amoeba enigma. Parasitol Today 1992; 8(12): 402-406.
- 3- Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. Rev Inf Diseases 1986; 8(2): 228-238.
- 4- Gün H. Intestinal parazitozlar. Topçu Wilke A, Söyletir G, Doganay M (eds). İstanbul Nobel Tıp Kitapevleri, 1996: 630-641.
- 5- Thomas V, Sinniah B, Leng Yap Pak. Assesment of the sensitivity, specificity and reproducibility of the indirect immunofluorescent technique for the diagnosis of amebiasis. Am J Trop Med Hyg 1981; 30(1):57-62.

- 6- Gral V, Jetter A, Walderish B, Burchard G, Acker J, Britten D. Polymerase chain reaction analizi ile *Entamoeba histolytica* ile *Entamoeba dispar* sıklığı. *Turk J Gastroenterol* 1998; 9(4): 374-376.
- 7- Tre O. Parazitoloji. Kılıçturgay K (ed). *Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji*. Güneş Nobel Tıp Kitapevleri Bursa, 1996: 251-307.
- 8- Çetin ET, Anđ Ö, Töreci K. Protozoonlar. *Tıbbi Parazitoloji*. İstanbul nv Tıp Fak Yayınları, 1983: 25-177.
- 9- Yaşarol Ş. Amipler ve yaptıkları hastalıklar. *Medikal Parazitoloji*. Ege nv Tıp Fak Yayınları İzmir, 1984; 4: 89-108.
- 10-Miller JH. The Protozoa. Braude (ed). *Microbiology*. Igaku-Shoin Saunders International Edition, 1982: 688-775.
- 11-Ak M, Kırağı D. Amoebosis. Özcel MA (ed). *GAP ve Parazit Hastalıkları*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, 1993; 11: 71-89

- 12- Markell EK, Voge MMA, John DT. Medical Parasitology (7 th ed). WB Saunders Company, 1992: 24-41
- 13- Unat EK. Amöbiyazların Tarihçesi. Yaşarol Ş (ed). Amebiyazlar . T Parazitol Dern Yayını İzmir, 1985; 4: 1-16
- 14- Unat EK, Yücel A, Altaş K, Savastı M. Amipler ve Parazitler. Unat'ın Tıp Parazitolojisi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 1995: 15: 511-43.
- 15- Mete Ö. Parazitoloji. Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi, 1999: 1169-1283
- 16- Petri WA, Clark CG, Braga L, Man BJ. International seminar on amebiasis. Parasitology Today 1993; 9(3): 73-75.
- 17- Bakker T, Grunwald T, Wöstmann C. Entamoeba histolytica as a model for the primitive eukaryotic cell. Parasitol Today 1993; 9(1): 27-31.
- 18- Demirel M: Semptomatik ve asemptomatik olgulardan izole edilen Entamoeba histolytica suşlarında patojenite kriterlerinden izoenzim

- paternlerinin incelenmesi. Uzmanlık tezi, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bursa 1997(yayınlanmamış), s11-12.
- 19- Guillen M. Cell signalling and motility in *Entamoeba histolytica*. *Parasitol Today* 1993; 9(10): 364-68.
- 20- Orhan V, Yaşarol Ş. Amiplerin morfolojisi, fizyolojisi ve evrimi . Yaşarol Ş (ed) . Amöbiyazlar. T Parazitol Dern Yayını 1985; 4: 17-48.
- 21- Ravdin JI. *Entamoeba histolytica*: from adherence to enteropathy . *J Infect Dis* 1989; 139(3): 420-29.
- 22- Bruckner DA. Amebiasis . *Clin Microbiol Rev* 1992; (4): 356-69.
- 23- Budak S. Amöbiyazların epidemiyolojisi. Yaşarol Ş(ed). Amebiyazlar. T Parazitol Dern Yayını İzmir, 1985; 4: 49-65.
- 24- Ravdin JI. Amebiasis . Ravdin JI (ed). *Clinical Infectious Diseases* 1995; 20(1): 1453-66.
- 25- Weinke T, Friedrich-Janicke B, Hopp P, Jonitschke K. Prevalence and clinical importance of *Entamoeba histolytica* in two high – risk groups: travelers returning from the tropics and male homosexuals. *J Infect Dis* 1990; 161: 1029-31.

- 26- Goldmeyer D, Sargeant P, Munday PE (et al). Is *Entamoeba histolytica* in homosexual men a pathogen? *Lancet* 1986;22:641-44.
- 27- Ravdin JI, Jackson TFHG. Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infections. *Parasitology Today* 1996;12(10):406-9.
- 28- Horstmann RD, Leippe M, Tannich E. Recent progress in the molecular biology of *Entamoeba histolytica*. *Trop Med Parasitol* 1992; 43: 213-18.
- 29- Ravdin JI. Pathogenesis of disease caused by *Entamoeba histolytica*: studies of adherence, secreted toxins, and contact-dependent cytolysis. *Reviews of Infectious Diseases* 1986;8(2): 247-59.
- 30- Sequin R, Mann BJ, Keller K, Chadee K. Identification of the galactose-adherence lectin epitopes of *Entamoeba histolytica* that stimulate tumor necrosis factor- $\alpha$  production by macrophages. *Microbiology* 1995; 92: 12175-79.
- 31- Campbell D, Chadee K. Survival strategies of *Entamoeba histolytica*: modulation of cell-mediated immune responses. *Parasitology Today* 1997; 13(5): 184-89.

- 32- Dadson JM, Petri WA. Pore formation and cytolysis by *Entamoeba histolytica*. *Parasitology Today* 1994; 10(1): 7-8.
- 33- Leippe M. Amoebapores. *Parasitology Today* 1997; 13(5) : 178-183.
- 34- Que X, Reed SL. The role of extracellular cysteine proteinases in pathogenesis of *Entamoeba histolytica* invasion. *Parasitology Today* 1997; 13(5) : 190-193.
- 35- Özcel A. Amöbiyazlarda immünite .Yaşarol Ş(ed). Amöbiyazlar. T Parazitoloji Dergi Yayını İzmir, 1985; 4: 103-22.
- 36- Shetty N, Nagpal S, Subra Rao PV, Schröder H. Detection of IgG, IgA, IgM and IgE antibodies in invasive amoebiasis in endemic areas. *Scand J Infect Dis* 1990; 22: 485-95.
- 37- Ravdin JI. Diagnosis of invasive amoebiasis- time to end the morphology era. *Gut* 1994; 35: 1018-21.



- 38- Özcel A. Amöbiyazlarda patogenezi. Yaşarol Ş(ed). Amöbiyazlar. T Parazitoloji Derneği Yayını İzmir, 1985; 4: 67-88.
- 39- Joklik P, Willet H. Medical Parasitology. Joklik P, Willet H, Amos B, Wilfert C(eds). Zinsser Microbiology(20 th ed). Prentice- Hall International Inc, 1992: 1161-1216.
- 40- Healy GR, Jones WS. Intestinal and ürogenital protozoa. Ballows A, Hausler JW, Herrmann K, Isenberg H(eds). Manual of Clinical Microbiology(5 th ed). American Society for Microbiology Washington DC,1991: 751-70.
- 41- Kuman A. Amöbiyaz kliniği. Yaşarol Ş(ed). Amöbiyazlar. T Parazitoloji Derneği Yayını İzmir, 1985; 4: 89-102.
- 42- Ohnishi K, Murata M, Kojima H (et al). Brain abscess due to infection with *Entamoeba histolytica*. Am J Trop Med Hyg 1994; 51(2): 180-82.

- 43- Doğancı L. Amebiasis. İnfeksiyon bülteni 1996; 1(2): 70-3.
- 44- Bilgehan H. Sindirim sistemi enfeksiyonlarının mikrobiyolojik incelenmesi. Bilgehan H (ed). Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi,1992: 317-40.
- 45- Ok ZÜ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E. Dışkı inceleme yöntemleri. Özcel A, Altıntaş N(eds). Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği İzmir, 1997; 15: 1-60.
- 46- Report of WHO Expert Committee. Amoebiasis. World Health Organization Technical Report Series No:421 Geneva 1969.
- 47- Khan AH, Ghosh PK, Malaviya B, Das SR. Simple reproducible strip-ELISA technique for detection of anti- amoebic antibodies.Indian J Med Res 1987; 86: 582-87.

- 48- Haque R, Neville ML, Wood S. Short report: detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* directly in stool. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50(5): 595-96.
- 49- Ak M. Enzyme linked - immunosorbent assay(ELISA). Özcel A, Altıntaş N(eds). *Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği İzmir*, 1997; 8: 241-60.
- 50- Tanyüksel M, Ergüven S, Tanrıöver B. Amoebosis tanısında kullanılan mikroskopinin serolojik yöntemlerle (IFA, ELISA) karşılaştırılması. *T Parazitol Derg* 1995; 19(4): 476-82.
- 51- Budak S, Sermet İ. Amöbiyazların laboratuvar tanısı. Yaşarol Ş(ed). *Amöbiyazlar. T Parazitol Dern Yayını İzmir*, 1985; 4: 123-142.
- 52- Daldal N, Özensoy S, Aksoy Ü, Akısü Ç. Besiyeri ve hayvan inokulasyonları. Özel A, Altıntaş N(eds). *Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği İzmir*, 1997; 4: 149-160.

- 53- Isenberg HD. Parasite culture: *Entamoeba histolytica*. Isenberg HD(ed). In: Clinical Microbiology Procedures Handbook. American Society for Microbiology Washington, 1992; 7. 9. 1:1-9.
- 54- Diamond LS. *Entamoeba*, *Giardia* and *Trichomonas*. Taylor AER, Baker JR(eds). In: *In vitro Methods for Parasite Cultivation*. Academic Press London, 1987; 1: 1-28
- 55- Proctor ME. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clinics in Laboratory Medicine* 1991; 11(4): 829-59.
- 56- Sargeant PG, Williams JE. The morphology in culture of intestinal amoeba of man. *Trans of the Roy Soc Trop Med Hyg* 1982 ;76(4): 465-71.
- 57- Tanrıverdi S, Özcan K. Amöbiyaz'ın tanısında doğrudan serum fizyolojik yöntemi ile klasik trichrome, Alger'in modifiye trichrome'u, cestone blue B ve cestone blue B + trichrome boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. *T Parazitol Derg* 1993; 17(1): 1-9.
- 58- Shetty N, Probhu T. Evaluation of faecal preservation and staining methods in the diagnosis of acute amoebiasis and giardiasis. *J Clin Pathol* 1988; 41: 694-99.

- 59- Ok ZÜ, Korkmaz M, Ok EG, Taylan Özkan A, Özcel A. Barsak protozoasının tanısında nativ - lugol, formol - eter konsantrasyon ve trichrome boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. T Parazitol Derg 1996; 20(1): 75-82.
- 60- Ardıç N: Patojen ve nonpatojen *Entamoeba histolytica* zimodemlerinin araştırılması. Uzmanlık tezi, Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik mikrobiyoloji ABD Ankara 1997(yayınlanmamış), s 51-58.
- 61- Shenai RB, Komalam LB, Arvind SA (et al). Recombinant antigen – based avidin – biotin microtiter enzyme - linked immunosorbent assay for serodiagnosis of invazive amebiasis. J of Clin Microbiology 1996; 34(4): 828-833.
- 62- Pal S, Sengupha K, Manna B (et al). Comparative evaluation of somatic & excretory – secretory antigens of *Entamoeba histolytica* in serodiagnosis of human amoebiasis by ELISA. Indian J Med Res 1996; 104: 152 –156.

- 63- Sathor MA, Bredekamp BLF, Gathiram V (et al). Detection of *Entamoeba histolytica* immunoglobulins G and M to plasma membrane antigen by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiology* 1990; 28(2): 332-35.
- 64- Takeuchi T, Matsuda H, Okuzawa E (et al). Application of micro enzyme-linked immunosorbent assay to detection of anti-amebic antibody in various forms of amebic infection. *Japan J Exp Med* 1988; 58(5): 229-32.
- 65- Doğan N, Akgün Y, Koçoğlu T, Akşit F. IgG sınıfı *Entamoeba histolytica* antikorlarının EIA ile araştırılması. *T Parazitol Derg* 1992; 3(4) 24-31.
- 66- Stanley LS, Jackson TFHG, Reed LS (et al). Serodiagnosis of invasive amebiasis using a recombinant *Entamoeba histolytica* protein. *Jama* 1991; 266(14): 1984-86.
- 67- Patterson M, Healy RG, Shabot JM. Serologic testing for amoebiasis. *Gastroenterology* 1980; 78: 136-141.
- 68- Jackson TFHG, Anderson CB, Simjee AE. Serological differentiation between past and present infection in hepatic amoebiasis. *Trans Roy Soc of Trop Med Hyg* 1984; 78: 342-45.

- 69- Li E, Stanley LS. Protozoa amebiasis. Gastroenterology Clinics of North America 1996; 25(3): 471-92.
- 70- Göğebakan M: Barsak amöbiyazlı çocuklarda serolojik yöntemlerin tanısai değeri. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları. Adana 1996 (yayınlanmamış), s 46-55.
- 71- Ungar BPL, Yolken RH, Quinn TC. Use of a monoclonal antibody in an enzyme immunoassay for the detection of *Entamoeba histolytica* in fecal specimens. Am J Trop Med Hyg 1985; 35(3): 465-472.
- 72- Grundy MS, Voller A, Warhurst D. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Entamoeba histolytica* antigens in faecal material. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1987; 81: 627-632.
- 73- Haque R, Neville ML, Hann P (et al). J Clin Microbiology 1995; 33(10): 2558-61.
- 74- Haque R, Kress K, Wood S (et al). Diagnosis of pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using a stool ELISA specific adhesin. J Inf Dis 1993; 167: 247-9.
- 75- Stamm WP, Ashley MJ, Bell K. The value of amoebic serology in an area of low endemicity. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1976; 70(1): 49-53.

- 76- Özcan K, Yiğit S, Tanrıverdi S, Kılıç B. Kan donörlerinde amip ve ekinokok antikorlarının dağılımı 1998; 22(2): 133-36.
- 77- Yılmaz M, Ay S, Serhatlıoğlu S, Türkoğlu AB. Elazığ E.B.K işçilerinde IHA yöntemiyle Kist hidatik ve amöbiyaz araştırması. T Parazitol Derg 1989; 13(1): 45-49.
- 78- Vinajak VK, Prakash O, Tolivar GP (et al).Evaluation of gel diffusion precipitin test for amoebiasis. J Med Res 1974; 62(9): 1317-1322
- 79- Meerovitch E, Kahn AZ. A preliminary report on the serological response of amoebiasis patients from an endemic area in North Western Saskatchewan.J Public Health 1967; 58: 270-74.