

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AMİBİYAZIS TANISINDA NATİV-LUGOL,
SEDİMENTASYON VE TRİKROM BOYAMA
YÖNTEMLERİNİN ÖNEMİ**

**Tezi Hazırlayan
Niğmet GÖZKENÇ**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.İzzet ŞAHİN**

**Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Mart 2007
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AMİBİYAZIS TANISINDA NATİV-LUGOL,
SEDİMENTASYON VE TRİKROM BOYAMA
YÖNTEMLERİNİN ÖNEMİ**

**Tezi Hazırlayan
Niğmet GÖZKENÇ**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.İzzet ŞAHİN**

**Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBY-05 -06 nolu
proje ile desteklenmiştir.**

**Mart 2007
KAYSERİ**

Prof.Dr.İzzet ŞAHİN danışmanlığında **Niğmet GÖZKENÇ** tarafından hazırlanan “**Amibiyazis Tanısında Nativ-Lugol, Sedimantasyon ve Trikrom Boyama Yöntemlerinin Önemi**” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Parazitoloji** Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

16/04/2007

JÜRİ :

İmza

Üye : Prof.Dr. İzzet ŞAHİN

Üye : Doç.Dr. Süleyman YAZAR

Üye : Yrd.Doç.Dr. Alparslan YILDIRIM

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Çalışmalarında bilgi, eleştiri ve yardımlarıyla beni yönlendiren, sabır ve desteğini esirgemeyen değerli Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez yöneticim hocam Sayın Prof. Dr. İzzet ŞAHİN'e,

Çalışmamın her aşamasında gerek bilimsel, gerekse manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Süleyman YAZAR'a,

Çalışmamda uyumlu bir ortam sağlayarak her konuda bana destek olan ve tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Biyolog Hanife Özcan, Serpil Ateş ve Ülfet Mercan'a,

Çalışmalarımın her aşamasında ve en zor durumlarda bana destek olan, sabır gösteren eşime, aileme ve bir tanecik kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

AMİBİYAZİS TANISINDA NATİV-LUGOL, SEDİMANTASYON VE TRİKROM BOYAMA YÖNTEMLERİNİN ÖNEMİ

ÖZET

Entamoeba histolytica bütün dünyada görülmekte fakat prevalansı, ülkeden ülkeye bölgeden bölgeye değişmektedir. Ülkemizde de amibiyyazis nispeten yaygın olarak bulunmakta ve halk sağlığı sorunu olarak önemini korumaktadır.

Bu çalışmada dışkı örnekleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalardan temin edilmiştir. Ağız kapaklı kaplara alınan dışkı örnekleri önce nativ-lugol yöntemiyle incelenmiştir. Daha sonra trikrom boyama yöntemi ile boyanarak E. histolytica/E. dispar yönünden değerlendirilmiştir. Sonraki basamakta aynı dışkı örnekleri formol-etil asetat sedimantasyon yöntemiyle incelenmiş, daha sonra trikrom boyama yöntemi ile boyanarak E. histolytica/E. dispar yönünden değerlendirilmiştir. Çalışmada 1000 dışkı örneği incelenmiştir. Direkt nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların 11'inde (%1,1), sedimantasyon sonrası nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların 13'ünde (%1,3) E. histolytica/E. dispar pozitif bulunmuştur. Direkt trikrom boyama yöntemiyle incelenen preparatların 9'unda (%0,9), sedimantasyon sonrası trikrom boyama yöntemiyle incelenen preparatların ise 12'sinde (%1,2) E. histolytica/E. dispar pozitif bulunmuştur.

Sonuçlar Mc Nemar metodu ile değerlendirilmiştir. Yöntemlerin tanı değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p>0,05$). Bununla birlikte amibiyyazis tanısında kullanılan yöntemler arasında faydalı, en az zaman alan, aynı zamanda en ucuz olan yöntemin nativ-lugol yöntemi olduğu saptanmıştır. Formol-etil asetat çoklaştırma yönteminin E. histolytica/E. dispar kistlerinin görülme sıklığını artırdığı ve trikrom boyama yönteminin E. histolytica/E. dispar'ın diğer organizmalardan kesin olarak ayrımını sağlaması nedeniyle spesifik tanı amacıyla kullanılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: E. histolytica/E. dispar, nativ-lugol yöntemi, formol-eter sedimantasyon yöntemi, trikrom boyama yöntemi.

THE IMPORTANCE OF SALINE-IODINE PREPARATION, SEDIMENTATION AND TRICHROME STAIN METHODS ON DIAGNOSIS OF AMOEBIOSIS

ABSTRACT

Entamoeba histolytica is found throughout the world but prevalence changing from every country to every area. Amoebiasis is relatively common in our country and keeps its importance as community health problem.

In this study, stool samples were provided from patients applied to Erciyes University, Medical Faculty, Parasitology Department. Stool samples taken in adequate container were examined first with saline-iodine method. Then they were finally stained with trichrome staining method to evaluate for *E. histolytica*/*E. dispar*. After that, same stool samples were examined with formal-ethyl acetate sedimentation method and then they were finally stained with trichrome staining method to evaluate for *E. histolytica*/*E. dispar*. In this study, 1000 stool samples were analysed. 11 of 1000 (%1,1) stool samples examined directly with saline-iodine preparations and 13 (%1,3) of them examined after sedimentation were found positive for *E. histolytica*/*E. dispar*. 9 of 1000 (%0,9) stool samples examined directly with trichrome staining method and 12 of them (%1,2) examined the same method after sedimentation, were found positive for *E. histolytica*/*E. dispar*.

Results were assessed with the Mc Nemar method. There was no statistical difference between diagnosis methods ($p>0,05$). However, native-lugol is the useful, less costly and the cheapest method for diagnosis of amoebiasis. Formal-ethyl acetate concentration method increases the occurrence of *E. histolytica*/*E. dispar* cysts and trichrome staining method precisely differentiates *E. histolytica*/*E. dispar* from other organisms. As a result, trichrome staining method is deduced to use in specific diagnosis.

Key words: *E. histolytica*/*E. dispar*, native-lugol method, formal-ethyl acetate sedimentation method, trichrome staining method.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TARİHÇE	3
2.2. SINIFLANDIRMA.....	4
2.3. MORFOLOJİ	6
2.3.1. Entamoeba histolytica'nın Morfolojik Özellikleri	6
2.3.2. Trofozoit.....	6
2.3.3. Prekist.....	7
2.3.4. Kist	7
2.3.5. Metakist.....	7
2.3.6. Metakistik Trofozoit.....	7
2.4. YAŞAM DÖNGÜSÜ.....	8
2.5. ELEKTRON MİKROSKOBİK YAPISI	10
2.6. EPİDEMİYOLOJİ	11
2.7. KLİNİK VE PATOGENEZ	12
2.7.1. Bağırsak Amibiyazisi (Intestinal amoebiosis).....	12
2.7.2. Bağırsak Dışı Amibiyazisi (Ekstra intestinal amoebiosis).....	13

	<u>Sayfa No</u>
2.8. İMMUNOLOJİ.....	14
2.9. TANI.....	15
2.9.1. Etkensel Tanı Yöntemleri	15
2.9.2. İndirekt Tanı Yöntemleri	16
2.9.3. Diğer Tanı Yöntemleri	17
2.10. TEDAVİ	17
2.11. KORUNMA	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. NATİV-LUGOL YÖNTEMİ.....	20
3.2. MODİFİYE FORMOL-ETİLASETAT SEDİMENTASYON YÖNTEMİ	21
3.3. TRİKROM BOYAMA YÖNTEMİ.....	22
3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
6. KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 2.1 Amöbiyoz sağaltımında kullanılan ilaçlar ve kullanım şekilleri	18
Tablo 4.1 Çalışma sonucunda elde edilen bulgular	26
Şekil 2.1 Entamoeba histolytica'nın hayat döngüsü.....	8
Şekil 4.1 Dışkıların direkt nativ-lugol yöntemiyle ve sedimentasyon sonrası nativ-lugol yöntemiyle amibiyazis açısından mikroskopik değerlendirme sonuçları	26
Şekil 4.2 E. histolytica/E. dispar kistlerinin nativ yöntemiyle hazırlanan preparatta x40 büyütmedeki görüntüsü	27
Şekil 4.3 E. histolytica/E. dispar kistlerinin lugol yöntemiyle hazırlanan preparatta x40 büyütmedeki görüntüsü	28
Şekil 4.4 Dışkıların direkt trikrom boyama ve sedimentasyon sonrası trikrom boyama ile amibiyazis açısından değerlendirilme sonuçları	29
Şekil 4.5 Entamoeba histolytica/E. dispar kistlerinin trikrom boyama yöntemiyle hazırlanan preparatta x100 büyütmedeki görüntüsü	29

KISALTMALAR

µm	: Mikrometre
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	: Enzim Linked Immunosorbent Assay
E. dispar	: Entamoeba dispar
E. histolytica	: Entamoeba histolytica
gr	: Gram
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
MIF	: Mertiolat-İyot-Formal
ml	: Mililitre
PCR	: Polymerase Chain Reaction

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Entamoeba histolytica; infekte bireylerde hiçbir belirti vermeyen portörlükten, şiddetli belirtilerle seyreden akut amipli dizanteriye kadar çeşitli derecelerde barsak belirtilerine, bazen de karaciğer, akciğer, beyin, dalak, deri gibi organ ve dokularda amip apselerine neden olan bir protozoondur. *Entamoeba histolytica*'nın patojenitesi coğrafi bölgeye, organizmanın türüne ve hastanın immun durumuna göre değişmektedir.

Entamoeba dispar; *Entamoeba histolytica* ile morfolojik olarak aynı ancak izoenzim analizi (zimodemler), monoklonal antikor ve DNA problemleri tekniği ile farklı olduğu belirlenen non-patojen bir amip türüdür.

Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar dünyada kozmopolit bir dağılım göstermektedir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde daha sık görülmekle beraber arktik ve antarktik bölgelerde de görülmektedir. Bir bölgede enfeksiyonun prevalansı üzerinde iklim koşulları, hijyen ve sanitasyon durumu, sosyo-ekonomik, sosyo-kültürel ve medikal özellikler etkili olmaktadır.

Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar enfeksiyonu; parazitin 4 çekirdekli olgun kistlerinin doğrudan ağız yolundan alınmasıyla ya da bu kistlerle kontamine olan yiyecek ve içeceklerle bulaşmaktadır.

Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar tanısı, genellikle dışkı incelemelerinde parazitin kist ve/veya trofozoit Őekillerinin görülmesiyle konulabilmektedir. Dışkının direkt mikroskopik incelenmesinin yanı sıra trikrom boyama, modifiye formol-eter oklaştırma, Robinson besiyerine ekim gibi yöntemlerden de sık olarak yararlanılmaktadır. Bu yöntemlerin yanı sıra, dışkıda parazitin antijenlerini veya serum antikorlarını aramaya yönelik serolojik yöntemler de geliştirilmiştir.

Bu çalışmada; nativ-lugol yönteminin yanı sıra, formol-etil asetat ile sedimantasyon yöntemi ve Trikrom boyama yöntemi kullanılarak, amibiyazis tanısı ve yöntemlerin tanı değerlerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Lamble 1859'da insan bağırsağında amiplerin bulunduğunu belirlemiştir. F. Loesch 1875'de St.Petersburg'da bir Rus oduncunun dışkısında trofozoitleri saptayarak tanımlamış, bu dışkıyı bir köpeğe vererek onda da diyare ve submukozal ülserasyonlar oluşmasını sağlamıştır. Koch R. 1883'de Mısır'da ortaya çıkan dizanteri olguları ile karaciğer amip apseleri arasındaki ilişkiyi bildirmiş ve kalın bağırsakta Loesch'un tanımladığı amiplerin bulunduğunu ortaya koymuştur (1-4).

1891'de Councilman ve Lafleur amipli dizanteri etkenine "Amoeba dysantheria" adını vermişlerdir. Schaudinn 1903'de dokuları eritici özelliğinden dolayı bu mikroorganizmaya Entamoeba histolytica adını vermiştir (1, 2, 4). Walker ve Sellards 1913'de insan üzerine yaptıkları deneylerde Entamoeba histolytica'nın kistlerle bulaştığını ve patojen bir protozoon olduğunu kanıtlamışlardır (1, 4). Entamoeba histolytica ilk kez 1918'de Cutler tarafından invitro ortamda üretilmiştir. W. Balamuth (1946) ve E.C. Nelson (1947) akselik olmayan sıvı besi yerinde, Diamond (1961) ise akselik kültürde amipleri üretmeyi başarmıştır (2, 4, 5).

Brumpt 1925’de insanda patojen ve apatojen iki ayrı Entamoeba türünün bulunduğunu göstermiş ve tanımlamıştır (4). Sergeant ve Williams 1978’de patojen ve nonpatojen amipleri, birçok glikolitik enzimlerin izoenzim analizlerini yaparak “zimodem” adı verilen elektroforetik bant yapıları ile tanımlamışlardır. Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler sonucunda; E. histolytica’nın patojenik veya invaziv bir tür olduğu, E. dispar’ın ise nonpatojen veya invaziv olmayan bir tür olduğu ortaya konmuştur. Spice ve Ackers (1992), Diamond ve Clark’ın (1993) da söz ettikleri gibi, tartışmaların tarihi geniş kapsamlı olarak yeniden incelendiğinde E. histolytica ve E. dispar’ın farklı türler olduğu ortaya konulmuştur. Bu şekilde belirlenen iki farklı amip türünün varlığı (E.histolytica/E.dispar) 1997’de Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ=WHO) tarafından da kabul edilmiştir (6-8).

2.2. SINIFLANDIRMA

Levine’e (1980) göre Entamoeba histolytica’nın sınıflandırılması aşağıda verildiği gibidir (7).

Regnum(Alem)	: Protista
Phylum(Şube)	: Sarcomastigophora
Subphylum(Altşube)	: Sarcodina
Superclass(Sınıf)	: Rhizopoda
Class(Sınıf)	: Lobosea
Subclass(Altsınıf)	: Gymnamoebia
Ordo(Takım)	: Amoebida
Familya(aile)	: Entamoebidae
Genus(Cins)	: Entamoeba
Species(Tür)	: Entamoeba histolytica

Amiplerin, trofozoit dönemlerinde biçimlerinin değişmezliğini sağlayan çeperleri bulunmamaktadır. Çıkardığı pseudopodlarla biçimleri değişebilmekte ve hareket edebilmektedirler. Kist dönemlerinde ise bu özelliklerini yitirmektedirler. Bazıları sularda ve nemli yerlerde özgür olarak, bazıları ise hayvanların sindirim boşluğunda sığıntı veya parazit olarak yaşamaktadırlar. İnsanların sindirim boşluğunda yaşayan amiplerden *E. histolytica*'nın patojen olduğu bilinmektedir. Diğer amip türlerinden *Entamoeba gingivalis* ağız boşluğunda, *Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii* ve *Dientamoeba fragilis* bağırsakta bulunmakta ve apatojen oldukları bildirilmektedir (2, 9).

Entamoeba Cinsi : Nukleusu küçük, karyozom ortada veya ortaya yakındır. Nukleusun iç yüzünde periferik kromatin tanecikleri vardır. Bu kromatin tanecikleri düzenli veya düzensiz şekilde bulunabilmektedir. İnsanda *E. histolytica*, *E. coli*, *E. hartmanni*, *E. polecki*, *E. gingivalis* türlerinin yaşadığı bilinmektedir (2, 5, 9, 10).

Endolimax Cinsi : Nukleus içindeki karyozom büyük ve düzensizdir. Periferik kromatin tanecikleri bulunmamaktadır. Nukleus zarı ile karyozom arasında akromatik iplikler vardır. İnsanda bulunan türün *Endolimax nana* olduğu bildirilmektedir (1, 2, 9, 11, 12).

Iodamoeba Cinsi : Nukleuslarının karyozomu büyük, yuvarlak ve merkezidir. Karyozomun etrafı akromatik ve koyu boyanmayan taneli bir tabaka ile çevrilidir. Nukleus zarı içinde periferik kromatin tabakası yoktur. İnsanda bulunan türün *Iodamoeba bütschlii* türü olduğu bildirilmektedir (1, 2, 9,11-13).

Dientamoeba Cinsi : İki adet nukleusları bulunmaktadır. Karyozomları 4-6 parçalı kromatinden oluşmuştur. Nukleus zarı içinde periferik kromatin tanecikleri bulunmamaktadır. İnsanda bulunan türün *Dientamoeba fragilis* olduğu bildirilmektedir (1, 2, 9, 11-13).

2.3. MORFOLOJİ

2.3.1. Entamoeba histolytica'nın Morfolojik Özellikleri

İnsan vücudunda E. histolytica'nın trofozoit, prekist, kist, metakist ve metakistik trofozoit formlarına rastlanmaktadır (9, 14).

2.3.2. Trofozoit

Entamoeba histolytica trofozoitleri 10-60 µm, ortalama 25 µm çapındadır. Trofozoit şeklinin 1/3'ünü teşkil eden ektoplazma şeffaf ve homojen, endoplazma ise granüllüdür. Ekoplazmadan eldiven parmağı şeklinde, dar ve uzun pseudopodlar çıkarır. Pseudopodlar aniden çıkar ve trofozoitin o yöne doğru hareket etmesini sağlar. Endoplazmasında içerdiği besin maddesine göre büyüklüğü ve şekli farklı olan ve bir çoğunda eritrosit bulunan besin vakuelleri ile bir nükleus bulunmaktadır. Nükleus 3-5 µm çapında, yuvarlak ince zarlı olarak görülür. Nükleus ortasında küçük ve koyu boyanan karyozom, nükleus zarının iç yüzeyinde inci tanesi gibi çoğunlukla düzenli olarak sıralanmış periferik kromatin tanecikleri bulunmaktadır. Karyozom ile kromatin tanecikleri arasında linin iplikçikleri yer almakta, bu iplikçikler üzerinde kromatin bulunmamaktadır. Mitokondri, golgi aygıtı, pürtlü endoplazma ağının bulunmadığı bildirilmektedir (1, 9, 11, 14-18).

Entamoeba histolytica'nın insan vücudunda doku şekli ve bağırsak boşluğu şekli olmak üzere iki farklı trofozoit formunun olduğu bilinmektedir.

a) Doku şekli: Bağırsak boşluğundaki trofozoit formların bazı koşullar altında histolitik bir etki ile dokuları eriterek bağırsağın derin tabakalarını istila etmesi ve orada çoğalması ile ortaya çıkar. Ortalama büyüklüğü 20-40 µm olmakla beraber bazen 60 µm büyüklükte olabilir (11). Hematofaj olma özelliği, bu formun patojen olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Vakuelleri içinde çok sayıda eritrosit bulunabilmektedir. Dokularda hiçbir zaman kist oluşturmazlar (19).

b) Bağırsak boşluğu şekli: Normal dönemli evrimde görülen formlardır. Entamoeba histolytica trofozoitlerinin bağırsak boşluğunda bölünmesiyle meydana gelirler. 10-20 µm büyüklüğündeki bu yapıların endoplazmasında eritrositlere rastlanmaz (1, 11, 18, 19).

2.3.3. Prekist

Trofozoitler, kalın bağırsak boşluğunda ilerlerken bağırsak içeriğindeki su miktarının gittikçe azalması nedeniyle, morfolojik ve fizyolojik değişikliklere uğrayarak kist şekline dönüşmektedirler (20). Bu dönüşüm sırasında trofozoit; içindeki sindirilmemiş besinleri dışarı atar, pseudopod hareketi yavaşlar, ortalama 10-40 µm çapında, homojen ve yuvarlak olan prekist şekline dönüşmektedir. Prekistlerde ektoplazma ve endoplazma ayrımı gözlenmemektedir. Prekist olgunlaştıkça hareketi kaybolur ve etrafında bir kist duvarı oluşur. Çekirdek trofozoit forma göre küçülmüştür, endoplazmada uçları küt çomakçıklar şeklinde kromatoid cisimler görülebilmektedir (9, 14, 19, 20).

2.3.4. Kist

Yuvarlak veya oval olup, 10-20 µm büyüklüğünde yapılardır. Bağırsakta yeterli besin bulunmadığı durumlarda prekist formlardan gelişirler. Genç kistlerin sitoplazmasında glikojen vakuelleri bulunabilir. Kistin olgunlaşmasıyla kromatoid cisimcikler ve glikojen vakuelleri kaybolur. Genç kistlerde çekirdek bir tane ve kistin 1/3'ü büyüklüğünde iken, gelişim sürecinde iki çekirdek ve dört çekirdek meydana gelir. Amibiyazisli kişilerin dışkılarında görülen dört nukleuslu kistlerin enfektif olduğu bilinmektedir. Bu formlar bağırsaktan atıldığı andan itibaren bulaştırıcıdır (1, 9, 11, 13, 14, 17-20).

2.3.5. Metakist

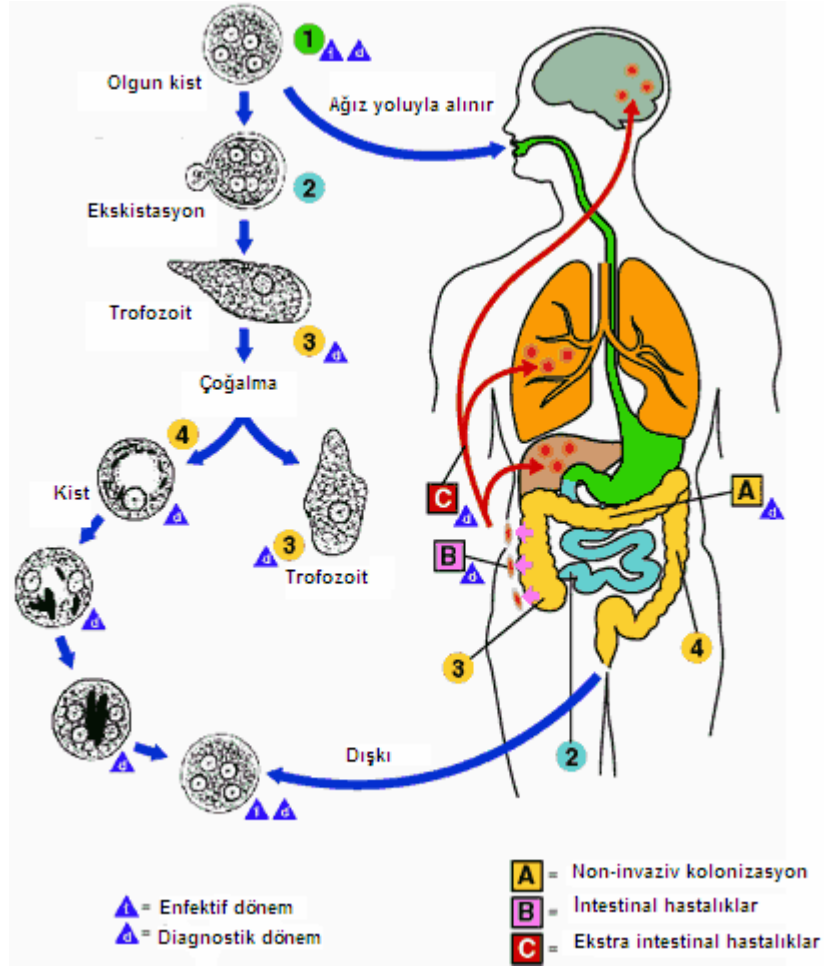
Ağızdan alınan dört çekirdekli kistin kist duvarı, ince bağırsağın son kısmında yok olur; ortaya çıkan dört çekirdekli bu trofozoite metakist denir (21).

2.3.6. Metakistik Trofozoit

Metakistin sitoplazması çekirdek sayısınca bölünür ve böylece bir kistten dört adet genç form oluşur ki bu formlara metakistik trofozoit veya Amobula denir. Bu formlar kalın bağırsağa geçerek gelişimlerini sürdürür ve trofozoitleri oluşturur (19, 21).

2.4. YAŞAM DÖNGÜSÜ

Entamoeba histolytica'nın başlıca konağı insandır. Evrimi direkt olup ara konak yoktur. Dört çekirdekli olgun kistlerin fekal-oral yolla alınmasıyla enfeksiyon bulaşır. Olgun kistlerin yiyecek ve içeceklere taşınmasında karasinekler gibi mekanik vektörler de rol oynar.



Şekil 2.1. Entamoeba histolytica'nın hayat döngüsü

Entamoeba histolytica'nın dört çekirdekli kistleri ağız yoluyla alınır (1). Kist duvarı ince bağırsağın son kısmında parçalanır, ortaya çıkan dört çekirdekli trofozoite metakist denir (2). Daha sonra metakist çekirdek sayısına bölünür ve böylece bir çekirdekli dört tane metakistik trofozoit oluşur. Bunlar kalın bağırsağa geçerek, yerleşir, beslenir, büyür ve trofozoitleri meydana getirir. Trofozoitler kalın bağırsakta bölünerek çoğalır (3). Entamoeba histolytica en sık olarak çekum ve rekto-sigmoidal bölgeye yerleşir. Entamoeba histolytica'nın bağırsak çeperine karşı konumu farklı olabilir. Bazı

durumlarda bağırsak içeriğinin en dış yüzeyine (müköz tabakası ile içerik arasındaki bölgeye) veya bağırsak içeriğinin içlerine yayılır ve bağırsağa invaze olmaz^A. Bu durumda enfeksiyon semptom vermeyebilir (21).

Son yıllarda *E. histolytica*'nın patojen olmayan bir suşu bulunmuştur. Patojen ve non-patojen amipler birçok glikolitik enzimlerin izoenzim analizleri yapılarak "zimodem" adı verilen elektroforetik bant yapıları ile tanımlanmışlardır. Bu şekilde belirlenen iki farklı amip türü; *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* 1997'de Dünya Sağlık Örgütü tarafından da kabul edilmiştir. *Entamoeba dispar* non-patojendir ve *E. histolytica* ile morfolojik olarak aynıdır. Mikroskop altında bu iki tür birbirinden ayırt edilememektedir (6, 8).

Bazı *Entamoeba histolytica* suşları proteolitik enzimlerini kullanarak kalın bağırsak mukozasının epitel tabakasından başlayarak muskularis mukozaya, submüközaya kadar ulaşmaktadır (19). Tabana yayıldıkça genişleme gösteren ülserler tipik lamba şişesi manzarası gösterir^B. Genelde kolonda lokalize olan trofozoitlerin damar yoluyla karaciğer, akciğer ve beyin gibi organlara giderek o organlarda apse yapmasıyla bağırsak dışı amibiyazis meydana gelir^C (19). Bağırsak boşluğunda bulunan veya bağırsak dokusundan bağırsak boşluğuna atılan trofozoitler, bağırsakta ilerledikçe bağırsak içeriğindeki su miktarının azalması sonucu bir takım morfolojik ve fizyolojik değişikliklere uğrarlar. İçlerindeki sindirilmemiş besinleri atar, daha homojen ve yuvarlak prekist şekline dönerler⁴. Prekist olgunlaşır, etrafında kist duvarı oluşur. Uçları küt çomak şeklinde kromatoit cisimler ve sınırları net olarak görülemeyen glikojen vakuolü meydana gelir. Prekistin nukleusunun mitoz bölünmesi sonucu olgunlaşmakta olan kistlerde kistin 1/3' ü büyüklüğünde iki, olgun kistlerde kistin 1/4'ü büyüklüğünde dört nukleus bulunur. Olgun kistler dışkı ile dışarı atılır (22-24).

2.5. ELEKTRON MİKROSKOBİK YAPISI

Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde, *E. histolytica*'nın hücre yapısı ve organellerinin detayları hakkında bilgi edinilmesi mümkün olmuştur.

Plazma Membranı (plasmalemma) : Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde plazmalemma'nın 12 nm. kalınlığında tek bir membran ile bunu çevreleyen 28 nm. kalınlığında mukopolisakkarit bir tabakadan oluştuğu görülmüştür (11).

Nukleus : Nukleusu saran zar üzerindeki porlar ile karakteristik bir görünüme sahiptir. Nukleolus ışık mikroskobunda tek bir yapı gibi görülmektedir. Elektron mikroskobik incelemelerde düzensiz elektron yoğunluğundaki kütlelerden meydana geldiği saptanmıştır. Kromatinler arasında 0.12-0.13 µm. intranukleer veziküller bulunmaktadır. Bu veziküllerin görevi ve önemi hakkında henüz yeterli bilgi edinilememiştir (11).

Sitoplazma : Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde ektoplazma ile endoplazma arasında bir fark gözlenememiştir. Sitoplazma içinde 0.2-0.3 µm. büyüklüğünde vakuoller bulunmaktadır. Bu vakuollerin membranları incelendiğinde, plazma membranı ile aynı yoğunlukta ve kalınlıkta olduğu görülmüştür. Vakuollerde nişasta tanecikleri veya bakteriler bulunabilmekle beraber, her ikisinin de birlikte bulunduğu vakuoller gözlenmemektedir. Bu da besinlerin intrasellüler sindiriminin kendilerine özgü vakuoller içinde olduğunu göstermektedir. Ayrıca her vakuolde farklı fiziksel ve kimyasal koşulların yaratıldığı düşünülmektedir (11, 15, 17).

Sitoplazmada golgi aygıtı ve mitokondri bulunmadığı bilinmektedir. *Entamoeba histolytica*'nın mikroaerofil bir organizma olduğu, oksidoredüksiyon olaylarını glutatyonsuz sürdürdüğü, enerjisini glukozun piruvata dönüşümü sırasında ATP yerine pirofosfatı kullanarak elde ettiği ileri sürülmektedir. *Entamoeba histolytica* trofozoitlerinin invitro koşullarda oksijeni sadece dinlenme sırasında kullandığı saptanmıştır (10, 15, 17). *Entamoeba histolytica*'nın elektron transfer zincirinde, demir sülfür proteinlerinin rol oynadığı gösterilmiştir (9).

İnvitro koşullarda, parazitin oksijen indirgeme ürünlerini detoksifiye edecek sınırlı yeteneğe sahip olduğu saptanmış, canlılığının ortamdaki sistein ve askorbik asit gibi indirgeyici etkenlere bağımlı bulunduğu belirlenmiştir (13). DNA'nın, *E. histolytica* nükleusu içerisinde küçük miktarlarda gelişmiş güzel dağılmış olduğu gösterilmiştir. Kesintili işaretleme yöntemi kullanılarak, RNA sentez ve olası depolama yerinin çekirdeğin periferik kromatininde bulunduğu saptanmıştır (9).

2.6. EPİDEMİYOLOJİ

Amibiyazis; kuzey kutbundan güney kutbuna kadar, bütün dünyada görülebilen kozmopolit bir paraziter hastalıktır. Dünya nüfusunun % 10 kadarının bu parazitle enfekte olduğu bilinmektedir. Özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde bulunan insanların %50-80 gibi çok büyük bir kesiminin *E. histolytica* ile enfekte olduğu bildirilmektedir (12, 13, 25, 26).

Enfekte kişilerin dışkılarıyla dışarı atılan trofozoitler kısa bir süre içinde yaşamlarını kaybederler; canlı iken ağızdan alınsalar bile mide asiditesine dayanamazlar. Amibiyazisde kaynak, bağırsaklarında *E. histolytica* bulunan ve dışkıları ile parazitin 4 çekirdekli kistlerini dış ortama atan enfeksiyonlu kişilerdir (21).

İnsan dışkısının sebze bahçelerinde gübre olarak kullanılması, bilhassa çiğ yenen yeşil sebzelerin kirletilmesi, karasinek hamam böceği gibi eklem bacaklıların çevrede bol bulunması ve yiyecek, içecek maddeleriyle ilişkileri; yiyecek sektöründe çalışan, sessiz enfeksiyonlu kişilerin kişisel hijyen kurallarına uymaması bu parazitin epidemiyolojisinde büyük önem taşır (21, 22).

Amibiyazisin prevalansı; ülkeden ülkeye hatta aynı ülkenin bölgeleri arasında bile farklı olabilir. Dünyada prevalansın %10 civarında olduğu, yer yer %50 ile %80'lere ulaştığı bildirilmiştir. Yurdumuzda yapılan tarama sonuçlarına ve olgu bildirimlerine göre, farklı gruplarda, *E. histolytica* prevalansı %0 ile %17 arasında değişmektedir. Prevalans oranlarının farklı olmasında: bölgelerin sanitasyon durumları, kişilerin hijyen kurallarına uyma alışkanlıkları, yeme ve dışkılama alışkanlıkları, laboratuarda kullanılan tanı yöntemlerinin ve tanı araçlarının uygunluğu ve incelemeyi yapan kişinin ehil olup olmaması rol oynamaktadır (21).

Bu parazitoza ait ölümler dünyada malarya ve schistosomiosisden sonra üçüncü sırayı almaktadır. Çocuklar, gebe kadınlar ve tedavi amacıyla steroid alan hastalar, bunlara ilaveten gelişmiş ülkelerde yeni göçmenler, aktif homoseksüel erkekler ve AIDS'li hastalar da amibiyazis için yüksek risk grubunu teşkil eder (19).

2.7. KLİNİK VE PATOGENEZ

Entamoeba histolytica'nın oluşturduğu parazitoza amibiyazis (amoebiosis) denir. Amibiyazis; bağırsak amibiyazisi ve bağırsak dışı amibiyazisi olmak üzere ikiye ayrılır.

2.7.1. Bağırsak Amibiyazisi (Intestinal Amoebiosis)

Entamoeba histolytica'nın kalın bağırsağa yerleşmesiyle meydana gelen bir enfeksiyondur. Etken çoğu zaman kalın bağırsak boşluğunda sığıntı bir organizma olarak zarar vermeden yaşamını sürdürür veya kalın bağırsak çeperine girerek mukuslu, kanlı bir ishale gelişen akut yada kronik bir hastalığa yol açar. Bu nedenle intestinal amibiyazis; asemptomatik ve semptomatik amibiyazis olmak üzere ikiye ayrılır (19).

a) Asemptomatik amibiyazis: Amibiyazisin en sık görülen şeklidir. Parazit bağırsak lümeninde sığıntı bir yaşam sürdürür. Asemptomatik amibiyazise parazitin non-patojen suşları sebep olmaktadır. Semptomlar gelişmeyen bu amibiyazisle ilgili 2 hipotez ortaya atılmıştır. Birincisi; morfolojik olarak ayırt edilmeyen iki farklı tür vardır. Biri patojen, diğeri non-patojen. Diğer hipotez; bir türün iki değişebilirlik arası formu vardır. Biri hastalık sebebidir, diğeri ise hastalık sebebi değildir. rRNA çalışmaları göstermiştir ki; morfolojik olarak ayırt edilmeyen iki farklı tür vardır. Birincisi patojen Entamoeba histolytica, diğeri non-patojen Entamoeba dispar (14, 19).

b) Semptomatik amibiyazis: Semptomatik amibiyazide parazitin patojenik etkisi, trofozoitin konak hücreye üzerindeki lektin maddesiyle tutunarak hücre öldürücü salgı yapması ve daha sonra bu hücreyi fagosite ederek eritmesi şeklinde olmaktadır (19). Amiplerden izole edilen enzimler arasında jelatinaz, kazeinaz, pepsin, tripsin, amilaz, fosfomonoesteraz, maltaz, esteraz, süksinik dehidrogenaz ve hiyaluronidaz sayılabilmektedir. Bu enzimlerden hiyaluronidaz ve proteinazın histolitik etki ile amibin yakınında bulunan hücrelerin lizisine neden olarak parazitin dokuda yerleşip yayılmasına neden olduğu saptanmıştır. Amipler ile temas eden makrofaj veya haberci

gibi lökositlerin birkaç dakika içinde normal görevlerini yapamaz hale geldikleri ve anormal görünüm alarak öldükleri bildirilmektedir (28-30). Konak hücreye tutunan ve salgıladığı tripsin ile bağırsak epitelini eriten amip trofozoitleri kalın bağırsak mukozasının epitel tabakasından başlayarak muskularis mukozaya ve submukozaya kadar ulaşmaktadır. Bu şekilde meydana gelen ülserler başlangıçta zımba ile delinmiş bir görüntü verir. Tabana yayıldıkça genişleme gösteren ülserler tipik lamba şişesi manzarası verir. İlk lezyonlar çekum ve apendikte oluşmaktadır. Bazen kalın bağırsakta amöboma denilen içindeki boşluklarda trofozoitleri ve nekrotik dokuyu içeren granümatöz kitleler meydana gelir (19, 22).

Klinik olarak amibiyazis; akut ve kronik bir seyir gösterir. Akut bağırsak amibiyazisi; ortalama 1 ile 2 haftalık bir kuluçka süresinden sonra başlar, nonspesifik gastrointestinal şikayetler ile kendini göstermektedir. Semptomlar zaman zaman bağırsak hareketlerinin artması ile kolik tarzında karın ağrıları ve/veya bazen sulu dışkılama ile seyretmektedir. Akut olgularda sıklık sırasına göre belirtiler; ishal, dizanteri, karın ağrısı, sırt ağrısı, ateş ve karında hassasiyet olarak sıralanmaktadır. Ağır vakalarda ateş 40-40,5°C' a çıkabilir. Kusma, şiddetli abdominal kolik ve amip istilasına bağlı olmayan nonspesifik hepatomegali ve karaciğer duyarlılığı görülebilir. Yaygın olmayan amibiyazisde 1-3 hafta süreyle hassasiyet ve kanlı dışkılama görülmektedir. Hastalığın bağırsakta kanamalar, perforasyon, tıkanma, amöboma, amip kolitleri gibi komplikasyonlarla ortaya çıkabileceği de bildirilmektedir (3, 14, 19, 30, 31).

Kronik bağırsak amibiyazisinde, hastalığın ne zaman başladığı kesin olarak tanımlanamaz. Çoğu kez de tedavi edilmemiş ve/veya tedavisi tamamlanmamış hastalarda görülür. Dışkı ara sıra ishalleri çoğunlukla şekillidir. Karın ağrısı vardır fakat belirsiz kramp şeklindedir. Kilo kaybı ve ateş sıklıkla görülmektedir (19).

2.7.2. Bağırsak Dışı Amibiyazis (Ekstra intestinal amoebiosis)

Genelde kolonda lokalize olan trofozoitlerin Vena porta ile karaciğere taşınması ile gerçekleşir. Vena portaya ulaşım, bağırsak dokusunda tahribat yapan formların muskularis mukozaya kadar derinleşen ülserlerinde mezenterik kapillerin erimesi ile etkenin damarlara geçmesi sonucu gerçekleşmektedir. Bağırsak amibiyazisinin bir metazozitidir (19). Küçük mikroapseler birleşerek amebik karaciğer apselerini oluşturmaktadır. Apsenin iç kısımda lökosit hücreleri, protein yapısındaki maddeler,

çeperinde ise amip trofozoitleri bulunmaktadır. Parazitin karaciğerde sıklıkla portal venöz sistemin proksimal kısmını tuttuğu görülmektedir, Çoğunlukla periportal inflamasyon ile intestinal amibiyazis birlikte bulunmaktadır. Karaciğer amibiyazisinde hepatomegali ve ateş meydana gelebildiği gibi, apsenin büyüklüğüne bağlı olarak gelişebilecek çeşitli semptomlar ve bu apsenin kendiliğinden açılmasına bağlı komplikasyonlar da gelişebilmektedir. Peritonit, ampiyem, perikardit gibi komplikasyonların gelişmesi halinde hastaların yaşamı ciddi olarak tehdit altına girmektedir. Parazitin karaciğerden sonra en sık yerleştiği organlar sırası ile; akciğer, beyin, dalak, ürogenital sistem, deri ve eklemlerdir (30).

2.8. İMMUNOLOJİ

Entamoeba histolytica'ya karşı insanlar oldukça dirençlidir. Yetersiz beslenme, aşırı yorgunluk, bazı ilaçların kullanımı, bağışıklık durumunu bozan hastalıklar gibi nedenlerle direncin kırıldığı durumlarda parazit vücuda kolayca yerleşebilir. Amibiyazisde, konakta hem hücresel hem de humoral bağışıklığın geliştiği bildirilmiştir. Bu tip bağışıklığın gelişebilmesi için, E. histolytica trofozoitlerinin dokuya yerleşmesi gereklidir. Kazanılmış bağışıklığın konağı yeni enfeksiyonlara karşı koruyup korumadığı henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır. Fakat hücresel bağışıklık antikorlardan daha fazla koruyucudur (21).

Ravdin ve ark., asemptomatik amibiyazisli kişilerin serumlarında, immunoblotting metodu ile anti-amip antikorlarının varlığını göstermiştir (30). Karaciğer amibiyazisinde antikorların geç oluştuğu, buna bağlı olarak pozitifliğinde gecikmiş olarak meydana geldiği görülmektedir. E. histolytica antijenlerine karşı erken tipte deri reaksiyonu oluşmasında IgE antikorlarının rolü olduğu düşünülmektedir. Amibiyazisde geç duyarlılık oluştuğu, deri altında mononükleer hücrelerin toplanarak hipersensitivite meydana getirdiği bilinmektedir (3, 9, 30, 32, 33).

2.9. TANI

Amibiyazis tanısı, hastalardan alınan dışkıların bekletilmeden nativ-lugol yöntemiyle incelenmesi ve inceleme sırasında parazitin kist ve/veya trofozoitlerinin görülmesiyle konabilmektedir. Ancak dışkıda parazitin her zaman bulunmaması, kistlerin diğer amip kistleriyle kolaylıkla karıştırılabilmesi, tecrübeli olmayan kişilerin etkeni diğer parazit, lökosit ve dışkıdaki partiküllerle karıştırabilmesi, dışarıda uzun süre bekletilen dışkılarda trofozoitlerin kolayca parçalanarak görülemez hale gelmesi nedeniyle tanı sırasında yanılgılara düşülebilmektedir. Bu güçlükler araştırmacıları amibiyazis tanısında direkt bakıya yardımcı olabilecek özgülük ve duyarlılığı yüksek olan güvenilir yöntemlerin aranmasına yönlendirmiştir.

2.9.1. Etkensel Tanı Yöntemleri

a) Nativ-lugol yöntemiyle direkt dışkı incelenmesi: Yaklaşık 2 mg dışkı, lamın üzerine damlatılan bir damla serum fizyolojik ile karıştırılarak ezilir ve mikroskop altında incelenir. Yine aynı şekilde, lamın üzerinde bir damla lugol solüsyonu ile incelenecek dışkıdan yaklaşık 2 mg konulur ve lamel kapatılarak mikroskop altında incelenir. Parazitin kist ve/veya trofozoitlerinin görülmesiyle tanı konur. Direkt tanının başarılı olabilmesi için, dışkının laboratuara zaman kaybedilmeden gönderilmesi, trofozoitlerin parçalanmadan ve hareketlerini kaybetmeden incelemesi önemlidir (34). Dışkı incelemeleri sırasında *E. histolytica* kist ve trofozoitlerini diğer amiplerle ve lökositlerle karıştırmamaya dikkat edilmelidir. *E. histolytica* kist ve trofozoitleri her zaman dışkıda bulunmadığından amibiyazis düşünülen kişilerde ilk incelemede parazite rastlanmadığında, dışkı incelemelerinin gün aşırı olarak ard arda en az 3 kez tekrarlanması önerilmektedir (14, 35).

b) Endoskopi: *E. histolytica* trofozoitlerinin bağırsaklarda meydana getirdiği ülserleri direkt olarak görme, gerekli görülen yerlerden biyopsi veya parça almaya dayanan bir yöntemdir. Amip ülserlerinin kenarında trofozoitler yoğun olarak bulduklarından endoskopi ile bu bölgelerden alınan materyalde trofozoitler kolaylıkla görülebilmektedir. Endoskopi ile elde edilen materyalden yapılan sürüntüler ile preparat hazırlanıp boyanması ve besiyerlerine ekim yapılması amiplerin görülme ihtimalini arttırmaktadır (13, 14, 17, 31, 36, 37).

c) Besiyerine ekim: *E. histolytica* düşünülen dışkı örnekleri, amip kistlerinin açılıp, trofozoitlerin ürediği Robinson, Diamond (TYI-S 33, TYSGM-9), Dobell, Boeck-Drbohlav, Cleveland-Collier, Balamuth, Laidlaw, St.John ve Jones besiyerlerinden en az birine ekilebilir (13, 14, 38-41).

d) Boyama: *E. histolytica*'nın boyanmasında, demir-hematoksilen ve trikrom boyama yöntemlerinin başarıyla kullanıldığı bildirilmektedir (14, 17, 42). Organizmalar ve zemin arasındaki renk kontrastı, organizmaların hematoksilenle boyanmış yaymalara oranla daha iyi fark edilmelerini sağlar. Trikromda, organizmanın sitoplazması genellikle mavi yeşilden mora çalan bir renge boyanırken, çekirdek kromatini, kromatoid cisimler ve diğer inklüzyonlar kırmızı yada kırmızımsı mor renk alır (34).

e) Konsantrasyon yöntemleri: Dışkı örneklerinde parazitin kist ve trofozoitleri az sayıda bulunabilir. Bu durumda inceleme sırasında bunlar kolaylıkla gözden kaçabilmektedir. Araştırmacılar bu sakıncayı ortadan kaldırmak için incelemeler sırasında, dışkıda trofozoitlerin ve özellikle kistlerin çoklaştırılmasında başarıyla yararlanılan formol-etil asetat, modifiye formol-eter, çinko-sülfat ve MIF gibi yöntemlerin kullanılmasını önermektedirler (10, 14, 36, 43).

f) Dışkıda *E. histolytica* antijenlerinin aranması: Dışkı örneklerinde parazitin kist ve trofozoitleri her zaman bulunmayabilir, bu nedenle dışkıda parazitin antijenlerini ortaya koyarak tanıya gitmek için serolojik tanı yöntemlerinden yararlanılmaya başlanmıştır. Günümüzde, dışkıdaki parazit antijenlerinin tespitinde monoklonal antikorlarla hazırlanan ELISA yönteminden başarıyla yararlanıldığı bildirilmektedir. Bu yöntemin çok pahalı olmadığı, kolay uygulanabildiği, uygulaması sırasında özel ekipman gerektirmediği, sonuçlarının güvenilir bulunduğu bildirilmekte ve gelişmekte olan ülkelerde de rahatlıkla amibiyazis tanısında kullanılabileceği ileri sürülmektedir (44-47).

2.9.2. İndirekt Tanı Yöntemleri

Akut karaciğer amibiyazisinin tanısında, serolojik tanı yöntemleri arasında en yaygın olarak kullanılan ELISA'dır. Amibiyazis tanısında da dışkıda antijen aranmasının yanı sıra, bağırsak ve bağırsak dışı amibiyazisde de kanda oluşan spesifik antikorları araştırmak için ELISA'dan yararlanılmaktadır. Yöntemin kolay uygulanması, kısa

zamanda sonuç vermesi, özgülüğünün ve duyarlılığının yüksek olması güvenilir bir tanı yöntemi olduğunu göstermektedir (17, 19, 20, 48, 49). Amibiyazis tanısında aynı zamanda; İmmundiffüzyon, immunelektroforez, SDS-Page ve Western blot (İmmunoblotting) teknikleri de kullanılmaktadır (50).

2.9.3. Diğer Tanı Yöntemleri

Akut karaciğer amibiyazisinin tanısında ultrasonografi, kompitürize tomografi, magnetik rezonans görüntüleme gibi radyolojik yöntemler özellikle apsenin yerini ve büyüklüğünü saptayarak kıymetli sonuçlar vermektedir. Ancak bu teknikler amip apsesini, pyojenik apsedan ayıramamaktadır; ayırıcı tanı için, serumda amibe karşı antikorların serolojik yöntemlerle aranması veya aspirasyon materyalinde amiplerin görülmesi gereklidir. Pulmoner amibiyazis tanısında salya, karaciğer veya plevra aspirasyon materyallerinde *Entamoeba histolytica* aranmalıdır (19, 30). Amibiyazis tanısında yukarıda sözü edilen yöntemler dışında; kompleman birleşmesi, amip immobilizasyonu, Stafilokok A proteini ile yüzey koagülasyonu, Bentonite flokulasyon, Latex aglütinasyon, Ouchterlony immunodiffüzyon, kapiller tüp presipitin, fluoresans immunoassay, selüloz asetat membran presipitin, *E. histolytica* trofozoitlerinin parçalanmasıyla elde edilen antijenlerin cilt içine uygulanmasıyla yapılan deri testi yöntemlerinin de kullanılabildiği bildirilmektedir (38, 46).

2.10. TEDAVİ

Amibiyazis tedavisinde kullanılan ilaçlar üç grupta toplanmaktadır. Dokudaki amiplere etkili ilaçlar; Emetin, Diloksanid furoat, Antibiyotikler (paromomisin, tetrasiklinler), Dehidroemetin, Klorokin. Bağırsak lümenindeki amiplere etkili ilaçlar; Halojenli hidroksikinolinler (yatren, iodokinol, kliokinol). Doku ve bağırsak lümenindeki amiplere etkili ilaçlar; Nitroimidazol gurubu (metronidazol, tinidazol, niridazol, ornidazol) (50).

Tablo 2.1. Amöbiyoz sağaltımında kullanılan ilaçlar ve kullanım şekilleri (19)

İnfeksiyon	Yetişkin Dozu	Çocuk Dozu
Asemptomatik intestinal Amöbiyoz (kist çıkaranlar)		
Diloxanidfroate(furamid)(500mg tab)	500 mgXgünde 3kez 10 gün	20mg/KgXgünde 3kez 10gün
Paramonycine (250 mg tab)	500 mgXgünde3 kez 10 gün	20mg/KgXgünde 3kez 10gün
Asemptomatik (kist ve trofozoit çıkaranlar)		
Iodoquinol (650 mg tab)	6500mgXgünde 3kez 20gün	30mg/KgXgünde 3kez10 gün
Metronidazol (fragyl. 250 veya 500mg)	750mgXgünde 3kez 10gün	40mg/KgXgünde 3kez10 gün
Amebik kolit		
Chloroquine (250mg tab)	250mgXgünde 2kez12-24 gün	-
Iodoquinol veya Metronidazol	Yukarıdaki gibi	Yukarıdaki gibi
Akut amebik dizanteri		
Emetin hydrochlorid	1 mg/Kg günlük doz. 65 mg'ı geçmemeli (akut semptomlar kontrole alınana kadar)	
Dehydroemetine hydrochloride	1,5 mg/Kg günlük doz (akut semptomlar kontrole alınana kadar)	
Amebik karaciğer absesi ve Ameboma		
Metronidazol + Dehydroemetine	Yukarıdaki gibi (total doz 1.0 gr' ı aşmamalı)	-
Metronidazol	-	40 mg/Kg. 8 saatte bir
Ornidazol	Günlük doz 2 gr 3 gün	-
Tinidazol	Günlük doz 2 gr 3 gün	-

2.11. KORUNMA

Entamoeba histolytica, insana olgun kistlerle bulaşlı yiyecek, içecekler ve kirli parmaklarla bulaşır. Parazitin rezervuarının insan olması ve dışkıyla çıkarılan kistlerle sindirim yolundan bulaşması korunmada hijyen kurallarına uymanın ve dışkının serbest dağılımının önlenmesinin önemini ortaya koyar. Bu nedenle korunmada hem kişisel hem de çevresel hijyene önem verilmelidir. Amibiyazisden korunma için; kistlerle gıda ve suların temasını önlemek, sanitasyon kurallarına dikkat etmek, kistleri taşıyan kişileri gıda sektöründe çalıştırmamak, sineklerle mücadele etmek, şüpheli yiyecek ve içecekleri tehlikesiz hale getirmek gibi tedbirlere başvurulmalıdır. Kronik vakalar ve belirti vermeden kist çıkaran kimseler tedavi edilmeli ve insan dışkısı gübre olarak kullanılmamalıdır (21, 23).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan dışkı örnekleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalardan temin edilmiştir. Çalışmanın 1. basamağında ağız kapaklı kaplara alınan dışkı örnekleri nativ-lugol yöntemiyle incelenmiş, daha sonra trikrom boyama yöntemi ile boyanmıştır. Çalışmanın 2. basamağında aynı dışkı örneklerine önce formol-eter sedimantasyon yöntemi uygulanmış, sedimentten hazırlanan preparatlar mikroskopta incelenmiş daha sonra trikrom boyama yöntemi ile boyanmıştır.

3.1. NATİV-LUGOL YÖNTEMİ

Dışkının parazitolojik açıdan değerlendirilmesinde direkt tanı yöntemlerinden biri olan nativ-lugol yöntemi, basit ve etkili bir yöntemdir.

Nativ Bakı Yöntemi

Bir lam üzerine bir damla serum fizyolojik damlatılıp, üzerine plastik baget yardımıyla alınan yaklaşık 2 mg dışkı konmuş ve iyice karıştırıldıktan sonra üzerine lamel kapatılarak preparat hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar x40 büyütmede incelenmiştir.

Lugol Bakı Yöntemi

Bu yöntemde parazitlerin boyanmasını sağlamak amacıyla lugol solüsyonu kullanılmaktadır. Lugol solüsyonu aşağıdaki şekilde hazırlanmaktadır.

Kullanılan maddeler

Potasyum iyodür	10 gr
İyot kristalleri	5 gr
Distile su	100 ml

Hazırlanışı

100 ml distile su içerisinde 10 gr potasyum iyodür çözdürülmüş ve üzerine 5 gr iyot kristalleri eklenmiştir. Bu şekilde hazırlanmış olan lugol solüsyonu, kapaklı kahverengi cam bir şişeye süzülerek stok lugol solüsyonu hazırlanmıştır. Kullanılmadan önce distile su ile bire bir oranında sulandırılmıştır.

Nativ yöntemde anlatıldığı gibi serum fizyolojik yerine lugol solüsyonu damlatılarak hazırlanan preparatlar x40 büyütmede incelenmiştir.

3.2. MODİFİYE FORMOL-ETİL ASETAT SEDİMENTASYON YÖNTEMİ

Dışkı numunelerinde parazitlerin kist, trofozoit ve yumurtaları az sayıda bulunabilir. Bu durumda bu yapılar gözden kaçabilir ve sonuç negatif olarak verilebilir. Bu sakıncayı en aza indirmek için dışkıları modifiye formol-etil asetat sedimantasyon yöntemi uygulanmıştır.

Kullanılan maddeler

%10 Formol

%0,85 Salin solüsyonu (serum fizyolojik)

Etil asetat veya eter

Yöntem

1. Bir falkon tüpüne önce 10 ml %10'luk formolden konulmuş, üzerine yaklaşık 1-1,5 gr dışkı eklenmiştir. Dışkı formolde iyice ezildikten sonra fiksasyonun tam olarak gerçekleşmesi için en az 30 dakika beklenmiştir. Sulu veya çok yumuşak dışkılarından 5-6 ml kullanılmıştır.
2. Süspansiyon iki tabakalı gazlı bezden diğer bir kaba süzölmüş, bundan da 15 ml'lik konik santrifüj tüpüne aktarılmıştır.
3. Süspansiyona 3 ml etil asetat eklenmiştir, tüpün ağzı baş parmağımızla sıkıca kapatılarak, 30 saniye çalkalanmıştır.
4. Süspansiyon 500 X g'de 2-3 dakika santrifüj edilmiştir. Tüp santrifüjden çıkarıldığında 4 tabaka gözlenmiştir. En üstte etil asetat tabakası, altına tüpün duvarlarına yapışan dışkı artığı tabakası, onun altında formol tabakası, en dipte ise çökelti görölmüştür.
5. Bir pipet yardımıyla tüpün yüzündeki artıklar üstteki süspansiyonla karıştırılıp dökölmüştür.
6. Dipteki çökeltiden pipet yardımıyla birkaç damla alınıp incelenmiştir.

3.3. TRİKROM BOYAMA YÖNTEMİ**Kullanılan maddeler**

Chromotrope 2R

Light green SF

Fosfotungstik asit

Glasial asetik asit

%90'lık etil alkol

D' Antoni' nin iyot solüsyonu

Ksilen yada Toluene

Karbol – ksilen

Solüsyonların Hazırlanması

Trikrom boyanın hazırlanması : Temiz bir cam beher içine 10 ml glasiyal asetik asit konulmuş, üzerine 6 gr chromotrope 2R, 3 gr light green SF ve 7 gr fosfotungstik asit eklenmiştir. Karıştırılıp, karışım 30 dakika bekletilmiştir. Karışımın üzerine 1000 ml distile su eklenip, karıştırılmıştır. Koyu mor renk alan boya cam kapaklı şişede saklanıp, sulandırılmadan kullanılmıştır.

Schaudinn fiksatifinin hazırlanması : 1000 ml distile su içinde 80-90 gr cıva klorür ısıtılarak eritilmiştir. Solüsyon soğuduktan sonra cam kapaklı bir şişeye süzümüştür. Bu şekilde doymuş cıva klorür solüsyonu hazırlanmıştır. Solüsyondan 600 ml alınıp, üzerine 300 ml %95 etil alkol ve 15 ml gliserin eklenmiştir.

D'antoni'nin modifiye iyot solüsyonu : 100 ml distile suda 1,0 gr potasyum iyodür eritilmiştir. Solüsyona 1,5 gr iyot kristali eklenmiş, kırmızı kahverengi renk alana kadar çalkalanmıştır. Hazırlanan solüsyon kahverengi cam kapaklı bir şişeye konulmuş ve kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Trikrom boyamada kullanılırken; %70'lik etil alkole demli çay görünümü verene kadar D' antoni'nin iyot solüsyonu dökülerek kullanılmıştır.

%90' lık asit-alkol : 995,5 ml %90 etil alkole 4,5 ml glasiyal asetik asit eklenerek hazırlanmıştır.

Yöntem

1. Dışkı lamın üzerine yayılarak kurumadan Schaudinn fiksatifine konulmuştur. Burada en az 1 saat bekletilmiştir.
2. Lamlar, %70'lik etil alkole demli çay görünümü verene kadar D' antoni'nin iyot solüsyonu dökülerek hazırlanan solüsyonda 3-5 dakika bekletilmiştir.
3. Lamlar iki ayrı %70'lik alkol içeren şalelerin her birinde 2-5 dakika tutulmuştur.
4. Schaudinn fiksatifile tespit edilen lamlar trikrom boyada 5-8 dakika bekletilmiştir.
5. Lamlar boyadan çıkarılıp kağıt havlu üzerine dik yerleştirilerek fazla boyanın süzülmesi sağlanmıştır.

6. Fazla boyası süzülen lamalar 2-3 saniyeden fazla olmamak koşuluyla %90'lık asit-alkole batırılıp çıkarılmıştır. Lamalar önce %95'lik alkolde, sonrada %100'lük alkol veya karbol-ksilen solüsyonunda çalkalanmıştır. Lamalar ikinci %100'lük alkol veya karbol-ksilen solüsyonuna aktarılmış ve dekolarizasyon işleminin durması sağlanmıştır.
7. Lamalar ikinci ve üçüncü %100'lük alkol veya karbol-ksilen solüsyonunda 2-5'er dakika tutulmuştur.
8. Lamalar iki ayrı ksilen veya toluen içeren şalede 2-5'er dakika tutulmuştur.
9. Lamalar kurumadan Entellan ile kapatılarak x100 büyütmede incelenmiştir.

3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Dağılım yüzde olarak tanımlanmıştır. İki yöntem arasındaki farklılıklara ise Mc Nemar testi kullanılarak bakılmıştır. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

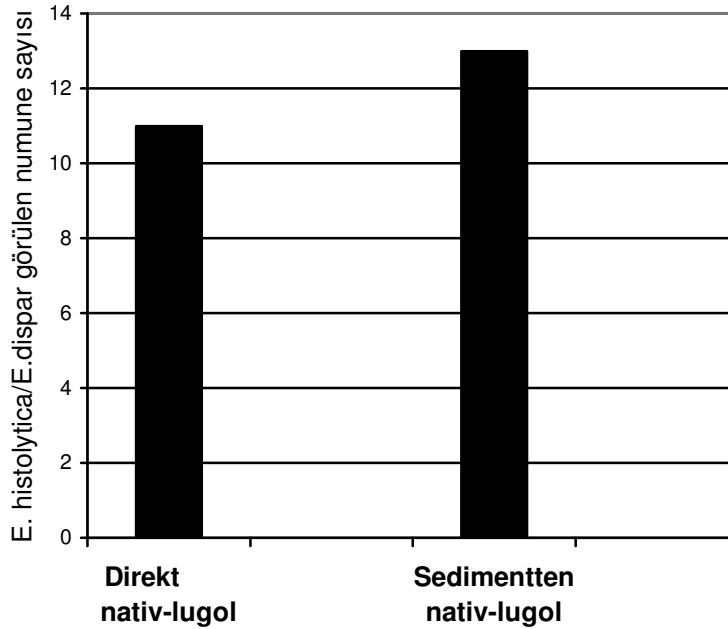
Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalına başvuran 1000 hastadan alınan dışkı numuneleri, nativ-lugol yöntemi, formol-etil asetat sedimantasyon yöntemi ve trikrom boyama yöntemi kullanılarak amibiyazis açısından değerlendirilmiştir. 1. aşamada dışkılar nativ-lugol yöntemiyle incelenip, sonuçlar kaydedilmiştir. Daha sonra aynı numuneler trikrom boyama yöntemi ile boyanmış, yine sonuçlar kaydedilmiştir. 2. aşamada aynı dışkılara formol-etil asetat sedimantasyon yöntemi uygulanmış, nativ-lugol yöntemiyle incelenmiş, trikrom boyama yöntemi ile boyanmıştır. *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* görülen preparatlar kaydedilmiştir.

Direkt nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların 11'inde, sedimantasyon sonrası nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların 13'ünde *E. histolytica*/*E. dispar* görülmüştür. Direkt trikrom boyama yöntemiyle boyanan preparatların 9'unda, sedimantasyon sonrası trikrom boyama yöntemiyle boyanan preparatların 12'sinde *E. histolytica*/*E. dispar* görülmüştür (Tablo 4.1).

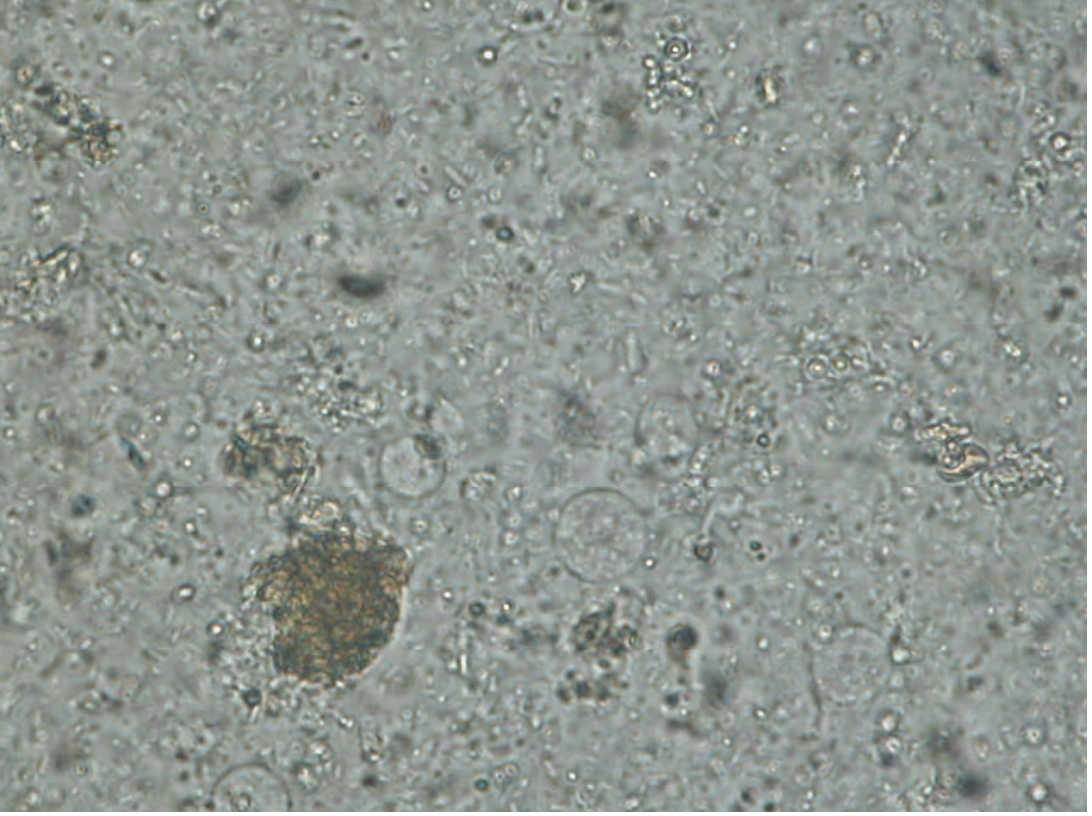
Tablo 4.1. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular

Yöntem		İncelenen dışkı sayısı	Pozitif dışkı sayısı	%	p
Nativ-lugol	Direkt nativ-lugol	1000	11	1,1	0,50
	Sedimentasyon sonrası nativ-lugol	1000	13	1,3	
Trikrom	Direkt trikrom boyama	1000	9	0,9	0,25
	Sedimentasyon sonrası trikrom boyama	1000	12	1,2	

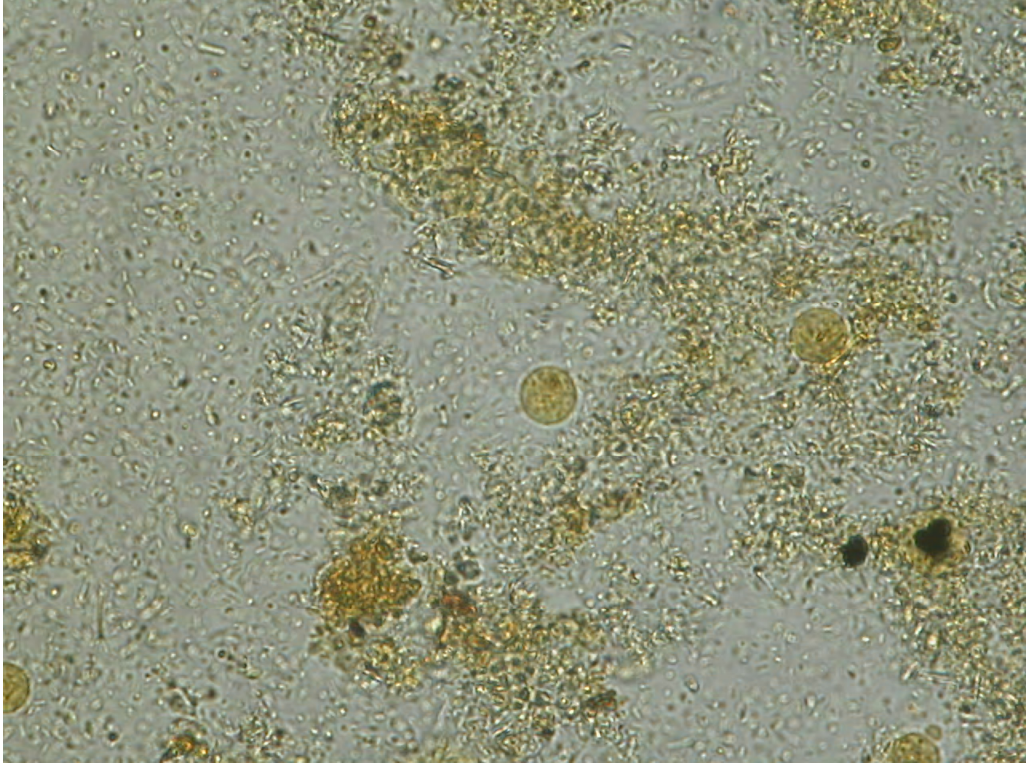
Hastalardan alınan dışkı numunelerinden direkt nativ-lugol yöntemiyle preparatlar hazırlanmış, bu preparatların mikroskopik değerlendirmesinde 11 dışkıda E.histolytica/E. dispar (%1,1) bulunmuştur. Aynı dışkıları formol-etil asetat sedimentasyon yöntemi uygulanmış, sedimentten hazırlanan preparatların mikroskopik değerlendirmesinde ise 13 dışkıda E. histolytica/E. dispar (%1,3) olduğu görülmüştür (Şekil 4.1, 4.2, 4.3).



Şekil 4.1. Dışkıların direkt nativ-lugol yöntemiyle ve sedimentasyon sonrası nativ-lugol yöntemiyle amebiyazis açısından mikroskopik değerlendirme sonuçları

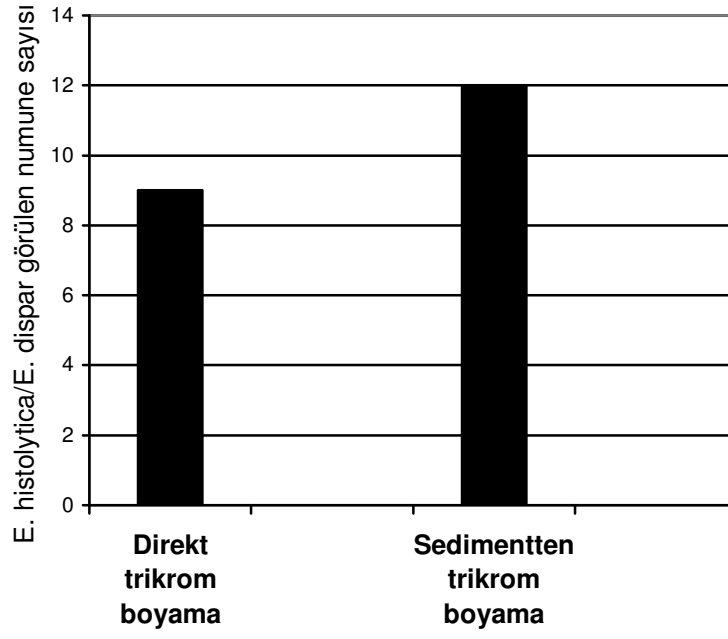


Şekil 4.2. *E. histolytica*/*E. dispar* kistlerinin nativ yöntemiyle hazırlanan preparatta x40 büyütmedeki görüntüsü

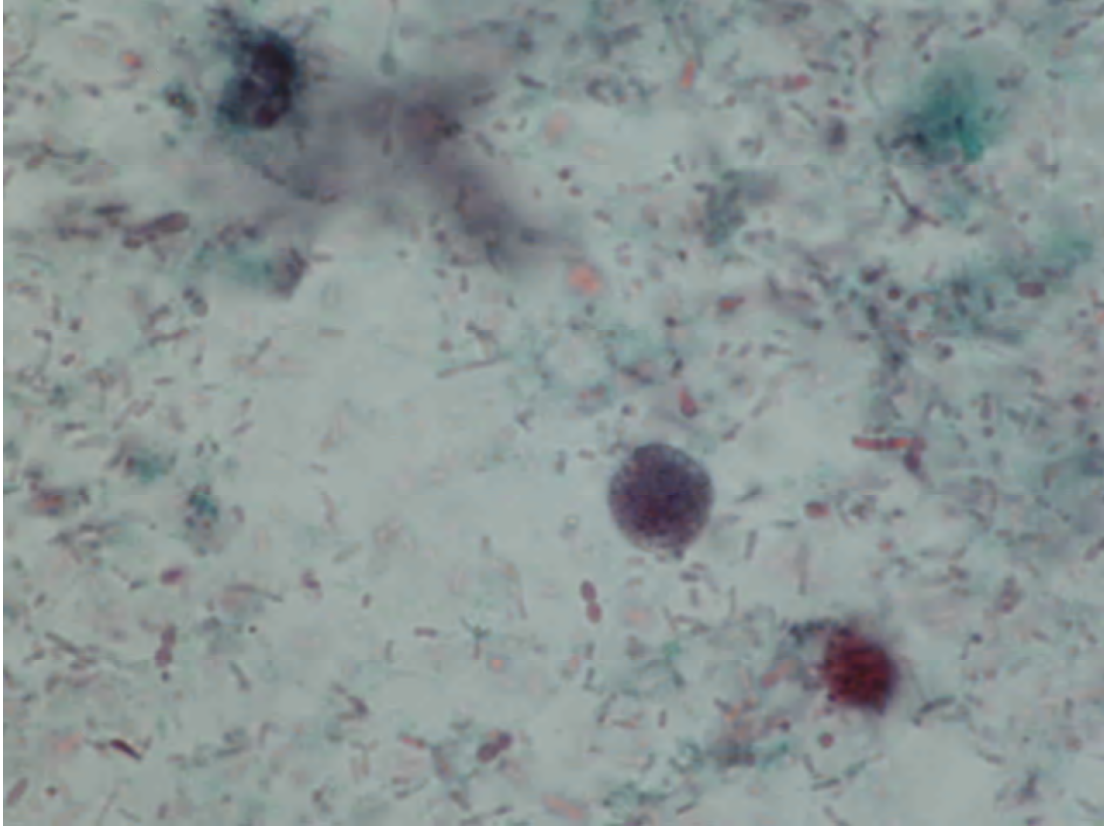


Şekil 4.3. *E. histolytica/E. dispar* kistlerinin lugol yöntemiyle hazırlanan preparatta x40 büyütmedeki görüntüsü

Direkt nativ-lugol yöntemiyle incelenen dışkı numunelerinden preparatlar yapılmış ve trikrom boyama yöntemi ile boyanmıştır. Boyama sonucunda yapılan mikroskobik değerlendirmede 9 numunede *E. histolytica/E. dispar* (%0,9) görülmüştür. Aynı numunelere formol-etil asetat sedimantasyon yöntemi uygulanmış, oluşan sedimentten preparatlar yapıp trikrom boyama yöntemiyle boyanmıştır. Yapılan mikroskobik incelemede 12 numunede *E. histolytica/E. dispar* (%1,2) görülmüştür (Şekil 4.4, 4.5).



Şekil 4.4. Dışkıların direkt trikrom boyama ve sedimentasyon sonrası trikrom boyama ile amibiyazis açısından değerlendirilme sonuçları



Şekil 4.5. Entamoeba histolytica/E. dispar kistlerinin trikrom boyama yöntemiyle hazırlanan preparatta x100 büyütmedeki görüntüsü

Çalışmanın istatistiksel analizi yapılırken; direkt nativ-lugol yöntemiyle sedimantasyon sonrası nativ-lugol yönteminin sonuçları kendi aralarında Mc Nemar testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak alınmıştır. p: 0,50 bulunmuştur. $p>0,05$ olduğu için iki yöntem arasında E. histolytica/E. dispar saptanması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Direkt trikrom boyama yöntemiyle sedimantasyon sonrası trikrom boyama yönteminin sonuçları kendi aralarında Mc Nemar testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak alınmıştır. p: 0,25 bulunmuştur. $p>0,05$ olduğu için iki yöntem arasında E. histolytica/E. dispar saptanması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Entamoeba histolytica üzerine yapılan araştırmaların büyük bir bölümü parazitin tanısına yöneliktir. Mikroskopik tanıda, parazitin kist ve trofozoitlerinin lökositler, diğer amipler ve dışkıda bulunan diğer yapılarla karıştırılması, bekletilen dışkılarda parazitin şeklinin bozulması ve çalışan kişilerin tecrübesizliği gibi nedenlerle sorunlar yaşanmaktadır.

Haque ve ark. (51), Bengaldeş kırsalında yaşayan çocuklarda E. histolytica yaygınlığını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda ELISA ile %8'i, mikroskopik bakı ile %3,5'i ve kültür yöntemiyle %4,2'si pozitif bulunmuştur. ELISA sonuçlarının doğruluğu izoenzim analizleri ile denetlenmiş, testin sensitivitesi %87,5, spesifitesi %100 olarak saptanmıştır. Araştırmacılar, bu analizler sonucunda amoebiosis tanısında dışkıda ELISA ile antijen arama yönteminin direkt bakı ve kültür yöntemlerinden daha spesifik sonuçlar verdiğini açıklanmıştır.

Mersin'de yapılan bir çalışmada, 192 ilkokul öğrencisinde E. histolytica/E. dispar kistleri ve indirekt hemaglutinasyon testi ile amip antikorları araştırılmıştır. Öğrencilerde dışkı incelenmesi sonucu E. histolytica/E. dispar kistlerine rastlanmamıştır. Serolojik incelemede 192 öğrencinin 4'ünde (%2) amip antikorları 1/16 ve üstünde pozitif bulunmuştur (52).

Braga ve ark.'nın (53), Brezilya'da yaptığı bir çalışmada, *E. histolytica*/*E. dispar* prevalansı %25,4 bulunmuş, dışkıda ELISA ile *E. histolytica* antijeni bakılmış ve sonuç %15 bulunmuştur.

Şanlıurfa'da yapılan bir çalışmada, 1600 dışkı nativ-lugol ve çoklaştırma yöntemlerinden modifiye Ritchie yöntemi ile incelenmiştir. Toplam 583 (%36,4) kişide bir veya birden fazla parazit bulunmuştur. En sık görülen parazitin *Ascaris lumbricoides* (%18,4) olduğu görülmüştür. *E. histolytica*/*E. dispar* tanısı yönünden şüpheli görülen 87 dışkıya *E. histolytica* spesifik sensu-lato antijen tespitine dayalı mikro ELISA ve trikrom boyama yöntemleri uygulanmıştır. 87 dışkının 19'unda (%21,7) ELISA metodu ile *E. histolytica*/*E. dispar* spesifik antijen pozitif, 23'ünde (%26,4) trikrom boyama yöntemiyle *E. histolytica*/*E. dispar* kompleksi pozitif saptanmıştır (54).

İzmir'de yapılan bir çalışmada, 250 adet dışkı örneği nativ-lugol, modifiye formol eter, trikrom boyama, Robinson besiyeri, monoklonal ELISA yöntemleriyle amip tanısı yönünden incelenmiştir. Nativ-lugol yöntemiyle 25'inde (%10,0), modifiye formol eter yöntemiyle 31'inde (%12,4), trikrom boyama yöntemiyle 28'inde (%11,2), Robinson besiyerine ekim ile 19'unda (%7,6) *E. histolytica* kist ve trofozoitleri saptanmıştır. Monoklonal ELISA yöntemi ile de 40'ında (%16) pozitiflik belirlenmiştir (50).

Direkel ve ark.'nın (55), Malatya'da yaptıkları çalışmada, ishal şikayeti ile başvuran çeşitli yaş guruplarında direkt mikroskopi ile %9,5, aynı hastaların serum örneklerinde ELISA testi ile %50,8 *E. histolytica* IgG antikor pozitifliği bildirmişlerdir.

Son yıllarda yapılan araştırmaların büyük bir bölümünün konusu ise morfolojik yapıları aynı olduğu için mikroskop altında birbirlerinden ayırt edilemeyen *Entamoeba histolytica* ile *Entamoeba dispar*' in ayırımına yöneliktir.

Mısır'da yapılan bir çalışmada, değişik kurumlarda *E. histolytica* tanısı konmuş 50 dışkı örneği Wheatley'in trikrom boyası ve multiplex PCR yöntemiyle yeniden incelenmiştir. 5 numunede (%10) sadece *E. histolytica* görülmüş, 8 numunede (%16) *E. histolytica* ile *E. dispar* birlikte görülmüş, 20 numunede (%40) *E. dispar* görülmüştür. Diğer taraftan 17 örnek negatif bulunmuş; bu dışkılarda *E. coli*, *E. hartmanni* ve lökositlerle *E. histolytica*'nın karıştırıldığı ve netice olarak yanlış tanı konduğu bildirilmiştir (56).

Zaki ve ark.'nın (57), Mısır'da yaptıkları çalışmada, *E. histolytica* sensu lato antijenini belirleyen monoklonal ELISA yöntemi kullanılmış ve toplumda *E. dispar*'ın daha yaygın olduğu bildirilmiştir.

İsveç'de yapılan bir çalışmada, SMI'ya (Swedish Institute for Infectious Disease Control) bildirilen *E. histolytica* enfeksiyonlu 207 hastadan alınan dışkı örnekleri PCR tekniği kullanılarak *E. histolytica*, *E. dispar* tür ayrımı yapılarak değerlendirilmiştir. 207 dışkı örneğinin 165'inde *E. dispar*, 10'unda *E. histolytica* pozitif bulunmuştur. Kalan 32 örneğin ise hem PCR ile hem de mikroskopi ile negatif olduğu görülmüştür. Bu çalışma İsveç'de *E. histolytica* ile enfekte kişilerin sayısının oldukça az olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, *E. histolytica*'yı *E. dispar*'dan ayırma yeteneğinin gereksiz yere tedavi gören hasta sayısını azalttığını bildirmişlerdir (58).

Yaptığımız çalışmada Parazitoloji anabilim dalına başvuran 1000 hastadan alınan dışkı numuneleri amibiyazis açısından değerlendirilmiştir. Direkt nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan prepartların 11'inde, sedimentasyon sonrası nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan prepartların 13'ünde *E. histolytica*/*E. dispar* görülmüştür. Direkt trikrom boyama yöntemiyle boyanan prepartların 9'unda, sedimentasyon sonrası trikrom boyama yöntemiyle boyanan prepartların 12'sinde *E. histolytica*/*E. dispar* görülmüştür. Direkt nativ-lugol yöntemiyle sedimentasyon sonrası nativ-lugol yönteminin sonuçları karşılaştırılmış, aynı zamanda direkt trikrom boyama yöntemiyle sedimentasyon sonrası trikrom boyama yönteminin sonuçları da kendi aralarında karşılaştırılmıştır. *E. histolytica*/*E. dispar* saptanması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Garcia ve ark. (59), intestinal protozoonların teşhis ve tanısında formalin eter konsantrasyon tekniği ile trikrom boyama tekniğini karşılaştırmışlardır. PVA da saklama metodu kullanılarak, ayakta tedavi olan hastalardan alınan 13194 dışkı örneği her iki metotla da incelenmiştir. 3077 örnekte (%23) bir veya birden fazla intestinal protozoon bulunmuştur. Sadece trikrom boyama yöntemi kullanılarak patojenik trofozoitlerden %44,2'sinin kistleri, %96,3'ünün de trofozoitleri teşhis edilmiştir. Araştırmacılar tarafından, dışkı örneklerinin incelenmesinde her iki yöntem de önerilmiştir.

Üstün ve ark. (60) yaptıkları çalışmada, Türkiye'de iltihabi bağırsak hastalığı (IBD) olan kişilerde amoebiosis prevalansını araştırmışlardır. IBD'li 160 vakanın 130'u

ülseratif kolitli, 30'uda Crohn hastasıdır. Bu hastalardan alınan taze dışkıları nativ-lugol yöntemiyle, modifiye formol-etil asetat yöntemiyle ve trikrom boyama yöntemiyle *E. histolytica*/*E. dispar* tanısı açısından değerlendirilmiştir. Toplam 160 dışkının 14'ünde (%8,75) *E. histolytica*/*E. dispar* görülmüştür. 130 ülseratif kolitli hastanın 13'ünde (%10), 30 Crohn hastasının 1'inde (%3,3) *E. histolytica*/*E. dispar* bulunmuştur. Hiçbir gastrointestinal şikayeti olmayan 105 kişiden oluşan kontrol grubunda ise 2 (%1,9) kişide *E. histolytica*/*E. dispar* görülmüştür. Uygulanan üç metod birbirleriyle karşılaştırıldığında en etkili metodun trikrom boyama yöntemi olduğu bildirilmiştir.

1999-2000 yılları arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarının dışkı inceleme sonuçlarının değerlendirildiği retrospektif çalışmada, direkt mikroskopik inceleme ile %2,8 oranında *E. histolytica*/*E. dispar* kisti saptandığı görülmüştür. Aynı dönemde Mersin Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında direkt mikroskopik dışkı incelemesi sonucu %16,5 oranında *E. histolytica*/*E. dispar* saptanmış ve en yaygın görülen protozoon olduğu bildirilmiştir (61).

Malatya'da yapılan bir çalışmada; Malatya belediyesindeki temizlik işçilerinde bağırsak parazitleri araştırılmıştır. Araştırmada 241 işçiden alınan dışkı örnekleri incelenmiş, 34 kişide *E. coli*, 2 kişide *E. histolytica* saptanmıştır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre en yaygın parazitin *E. coli* olduğu görülmüştür (62).

Cumhuriyet Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvarına Mayıs 2002-Kasım 2004 tarihleri arasında başvuran kişilerde saptanan parazitler ve bu parazitlerin dağılımı retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda 124 dışkıda (%2,4) *E. histolytica* görüldüğü bildirilmiştir (63).

Çulha ve ark.'nın (64) yaptığı çalışmada, Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına gastrointestinal ve anal kaşıntı şikayetleri ile başvuran yaşları 0-14 arasında değişen 602 çocuk hastada parazit sıklığı araştırılmıştır. En çok rastlanan protozoonun *Blastocystis hominis* olduğu, *E. histolytica*'nın ise 9 çocukta (%1,64) görüldüğü bildirilmiştir.

Yazar ve ark. (65) tarafından, 2000-2004 yılları arasında parazitoloji laboratuvarına başvuran 34883 kişiden alınan dışkı örnekleri nativ lugol ve flotasyon/sedimentasyon yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. İnceleme sonucunda en sık rastlanan protozoonun

B. hominis olduğunu görülmüştür. E. histolytica/E. dispar görülme oranının ise %2,3 olduğunu bildirilmiştir.

Aykan ve ark. (66) tarafından, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 2141 adet gaita örneği incelenmiştir. İncelenen örneklerin 165'inde toplam 181 adet (%7,7) parazit olduğu saptanmıştır. Gaita örneklerinin 174'ünde protozoon bulunmuş ve trikrom boyası ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, bağırsak protozoonlarının değerlendirilmesinde trikrom boyama yöntemi %87,93 oranında başarılı bulunmuştur. Araştırmacılar tarafından patojen olan ve olmayan protozoonların tür düzeyindeki tanısında direk incelemenin yanında trikrom boyama yönteminin de kullanılmasının tanıyı daha güvenilir kıldığı bildirilmiştir.

Dünyada E. histolytica sıklığının yaklaşık %10 olduğu ama %50 yada %80'lere kadar ulaştığı bölgelerin de bulunduğu bildirilmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda E. histolytica sıklığının %0-17 arasında bulunduğu bildirilmiştir (67, 21). Yaptığımız çalışmadan elde edilen sonuçlar yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında bazı yönleriyle uyumlu olmakla birlikte bazı yönleriyle farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Aynı bölgede daha önce yapılan bir çalışmada E. histolytica/E. dispar görülme sıklığının %2,3 olduğu görülmüştür. E. histolytica/E. dispar görülme sıklığının diğer bir çok bölgeye göre düşük olmasının sebepleri arasında; Kayseri' de modern şehirleşme ve alt yapının, uygun sanitasyon ve çevre koşullarının bulunması ve sosyo-ekonomik düzeyin iyi olması sayılabilir.

Sonuç olarak; Amibiyazis tanısında kullanılan yöntemler arasında en az zaman alan, aynı zamanda en ucuz olan yöntemin nativ-lugol yöntemi olduğu ortaya konmuştur. Dışkı örnekleri formol-etil asetat yöntemiyle çoklaştırılıp incelendiğinde, hem E. histolytica/E. dispar kistlerinin hem de diğer parazitlerin görülme sıklığını artırmaktadır, ancak ishallerde bulunan trofozoitlerin santrifüj etkisiyle parçalanabildiği için görülemediği belirlenmiştir. Deneyimli bir laboratuvar çalışanın E. histolytica/E. dispar'ı diğer yapılardan genellikle ayırabildiği anlaşılmış ise de bazı kuşku durumlarda trikrom boyama yönteminin spesifik tanı amacıyla kullanılmasının gerekli olduğu belirlenmiştir.

6. KAYNAKLAR

1. Merdivenci A. Medical Protozooloji. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayını No:2834/80 2. Baskı İstanbul, 1981:1-15
2. Radvin JI, Guerrant RL. A Review of Parasite Cellular Mechanisms Involved in the Pathogenesis of Amebiasis. *Rev Infect Dis* 1982; 4(6):1185-1207
3. Radvin JI. Amebiasis. *Clin infect Dis* 1995;20:1453-1466
4. Unat EK. Amöbiyazların Tarihçesi. Türkiye Parazitol. Derneği Yayını, 1985:1-16
5. Proctor EM, Wong Q, Yang J, Keystone JS. The electrophoretic isoenzyme patterns of strains of *Entamoeba histolytica* isolated in two major cities in Canada. *Am J Trop Med Hyg* 1987;77(2):296-301
6. Reed SL. *Entamoeba histolytica* and other intestinal amoebae. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR(eds), *Infectious Diseases* 2nd ed. WB Saunders CO, Philadelphia 1998;285: 2393-2397
7. Martinez-Palomo A, Espinosa-Cantellano M. Amebiasis: *Entamoeba histolytica* infectious. In: Cox FEG, Wakelin D, Gillespie SH, Despommier DD (eds), *Topley and Wilson' s Microbiology and Microbial Infections; Parasitology*. 10 nd ed. Washington, ASM pres, 2005:200-202

8. Petri WA. Recent advances in amebiasis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1996;33:1-37
9. Radvin JI. Pathogenesis of Disease Caused by *Entamoeba histolytica*: Studies of Adherence, Secreted Toxins and Contact-Dependent Cytolysis. *Rev Infect Dis* 1986;8(2):247-260
10. Lawrence RA, Thomas C, Orihel A. *A Guide to Laboratory Procedures and Identification* American Society of Clinical Pathologists. ASCP Press, 1987
11. Kuman HA, Altıntaş N. *Protozoon Hastalıkları*. EÜ Basımevi Bornova. İzmir,1996:1-51
12. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. Unat' ın Tıp Parazitolojisi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 1991:513-533
13. Budak S, Sermet İ. Amöbiyozların Laboratuar Tanısı. In: Yaşarol Ş (eds), *Amöbiyozlar*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları No:4, 1985:123-142
14. Garcia LS, Bruckner DA. *Intestinal Protozoa Amebea, Collection, preservation and shipment of fecal specimens; Macroscopic and microscopic examination of fecal specimens*, *Diagnostic Medical Parasitology*, Second Edition American Society for Microbiology Washington DC Press, 1993:6-540
15. Aley SB, Scott WA, Cohn ZA. Plasma Membrane of *Entamoeba histolytica*. *Jour Exp Med*. The Rockefeller University Press 1980;152:391-404
16. Grunwald TB, Wöstmann C. *Entamoeba histolytica* as a Model for The Primitive Eucaryotic Cell. *Parasitol Today*, 1993;9(1):27-31
17. Markell EK, Voge MMA, John DT. *Medical Parasitology* 7th Edition. WB Saunders Company, 1992:22-41
18. Yaşarol Ş. *Amipler ve Yaptıkları Hastalıklar*. *Medikal Parazitoloji* 2. Baskı. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No:33 İzmir, 1984:89-104
19. Altıntaş K. *Tıbbi Parazitoloji*. MN Medical Nobel, 2002:70-86
20. Bruckner DA. Amebiasis. *Clin Microbiol Rev*, 1992:356-369
21. Saygı G. *Temel Tıbbi Parazitoloji*. Esnaf Ofset Matbaası Sivas, 1998:25-31
22. Çetin ET, Anğ Ö, Töreci K. *Tıbbi Parazitoloji*. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Yayını, 1979:52-67

23. Unat EK. Tıp Parazitolojisi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 1982:531-554
24. Bogitsh BJ, Cheng TC. Human Parasitology. Academic Pres, 1998:60-70
25. Ak M, Kırağı D. GAP ve Parazit Hastalıkları, Özcel MA (ed). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No:11, 1993:75-95
26. Kuman HA. Amöbyaz Kliniği. In: Yaşarol Ş (ed), Amöbyazlar. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No:4, 1985:89-102
27. Garcia LS, Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology, Second edition. American Society For Microbiology Pres, Washington DC, 1993:6-8
28. Dodson JM, Petri WA. Pore Formatin and Cytolysis by Entamoeba histolytica. Parasitol Today 1994;10(1):7-8
29. Palomo AM. Ultrastructure of Experimental Intestinal Invasive Amebiasis. Am J Trop Med Hyg 1989;41(3):273-279
30. Radvin JI, Petri WA. Entamoeba histolytica (Amebiasis). In: Mandell GL. Douglas, Bennetts, Principles and Practice of Infectious Diseases, fourth ed. Churchill Livingston, New york, 1995:2395-2415
31. Reed SL. Amebiasis: An Update. Clin Infect Dis 1992;14:385-393
32. Radvin JI, Kelsall B. Role of Mucosal Secretory Immunity in the Development of an Amebiasis Vaccine. Am J Trop Med Hyg 1994:36-44
33. Trissl D. Immunology of Entamoeba histolytica in Human and Animal Hosts. Rev Inf Dis 1982;4(6):1154-1183
34. Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E. Dışkı İnceleme Yöntemleri. In: Özcel MA, Altıntaş N (eds), Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No:15, 1997:1-61
35. Hiatt RA, Markell EK, Ernest NG. How Many Stool Examinations are Necessary to Detect Pathogenic Intestinal Protozoa. Am J Trop Med Hyg 1995;53(1):36-39
36. Smith JW, Bartlett MS. Diagnostic Parasitology Introduction and Methods. In: Balows A (ed), Parasites, Manual of Clinical Microbiology American Society for Microbiology Press, Washington DC, 701-717
37. Walsh JA. Problem in recognition and Diagnosis of Amebiasis: Estimation of The Global Magnitude of Morbidity and Mortality. Rev Infect Dis 1986;8(2):228-238

38. Baydar İ. Amebiyazis Tanısında Çeşitli Serolojik Yöntemlerin İrdelenmesi ve Tanıdaki Değerleri, Doç Tezi, Ankara 1981
39. Diamond LS. Entamoeba, Giardia and Trichomonas. In: Taylor AER, Baker JR(eds), *Invitro methods for parasite Cültivasyon*. Academic Press, London, 1987:1-28
40. Diamond LS, Harlow DR, Cunnick CC. A New Medium for Axenic Cultivasyon of Entamoeba histolytica and Other Entamoeba. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978;72(4):431-432
41. Farri TA. A Simple Tecnique for Preparing Clone Cultures of Entamoeba histolytica. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978;72(2):205-206
42. Alger N. A Simple Rapid, Precise Stain for Intestinal Protozoa. *Am J Clin Pathol* 1965;45(3):361-362
43. Ivey MH. Laboratory Procedures in Parasitology. In: Sannenwirth AC, Sarett L (eds), *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. Eighth ed. The CV Mosby Company USA, 1980:2165-2198
44. Haque R, Neville LM, Hahn P, Petri WA Jr. Rapid diagnosis of Entamoeba infection by using Entamoeba and Entamoeba histolytica stool antigen detection kits International Centre for Diarrhoeal Disease Research Dhaka Bangladesh. *J Clin Microbiol* 1995;33(10):2558-2561
45. Haque R, Ali IKM, Akther S, Petri WA. Comparison of PCR, Isoenzyme Analysis and Antigen Detection for Diagnosis of Entamoeba histolytica Infection. *J Clin Microbiol* 1998;2:449-452
46. Healy G. Immunologic Tools in the Diagnosis of Amebiasis: Epidemiology in the United Staes. *Reviews of Infect* 1986;8(2):239-246
47. Tannich E, Ebert F, Horstmann RD. Primary structer of the 170-kDa surface Lectin of Pathogenic Entamoeba histolytica. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:1849-1853
48. Flores BM, Reed SL, Radvin JI, Torian BE. Serologic Reactivity to Purified Recombinant and Native 29 Kilodalton Pripheral Membrane Protein of Pathogenic Entamoeba histolytica. *J Clin Microbiol* 1993;6:1403-1407
49. Walderich B, Weber A, Knoboch J. Differentiation of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar from German Travelers and Residents of Endemic Areas. *Am J Trop Med Hyg* 1997;57(1):70-74

50. İnceboz T. Bağırsak Amoebiosisi (*Entamoeba histolytica*) Tanısı için Hazırlanmış ELISA Kitlerinin Tamı Değerlerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir 1998
51. Haque R, Faraque ASG, Hahn P, Lyster DM, Petri WA Jr. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* Infection in Children in Bangladesh. *J Infect Dis* 1997;175:734-736
52. Delialioğlu N, Aslan G, Öztürk C, Bayer M, Emekdaş G. Mersin İlinde İlkokul Çocuklarında *Entamoeba histolytica* Antikorlarının Araştırılması. *T Parazit Derg* 2004;28(4):185-188
53. Braga LL, Gomes ML, Silva MW, Paiva C, Sales Aet al. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infectious as detected by monoclonal antibody in an urban slum in Fortaleza, Northeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001;34:467-471
54. Zeyrek FY, Özbilge H, Yüksel MF, Zeyrek CD, Sırmatel F. Şanlıurfa' da Parazit Faunası ve ELISA Yöntemi ile Dışkıda *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* sıklığı. *T Parazit Derg* 2006;30(2):95-98
55. Direkel Ş, Özerol İH, Durmaz R. İshalli hastalarda *Entamoeba histolytica* IgG antikorlarının ELISA ile araştırılması, II. Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi, 254, 25-29 Eylül 2000, Şanlıurfa, Türkiye
56. Rayan HZ. Microscopic overdiagnosis of intestinal amoebiasis. *Egypt Soc Parasitol* 2005;35(3):941-51
57. Zaki NR, İbrahim SA, Atef SM, Omar HM. Evaluation of laboratory techniques for differentiation between *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *J Egypt Soc Parasitol* 2001;31:335-344
58. Lebbad M, Suard SG. PCR differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* from patients with amoeba infection initially diagnosed by microscopy. *Scand J Infect Dis* 2005;37(9):680-5
59. Garcia LS, Brewer TC, Bruckner DA. A comparison of the formalin-eter concentration and trichrome-stained smear methods for the recovery and identification of intestinal protozoa. *Am J Med Technol* 1979;45(11):932-5
60. Ustun S, Dagci H, Aksoy U, Guruz Y, Ersoz G. Prevalence of amebiasis in inflammatory bowel disease in Turkey. *World J Gastroenterol* 2003;9(8):1834-5
61. Öztürk C, Delialioğlu N, Aslan G, Aslan N. Mersin Bölgesinde Barsak Parazitlerinin Prevalansı ve Dağılımı: Mersin Üniversitesi ve Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına ait Sonuçlar. *T Parazit Derg* 2001;25(4):355-358

62. Karaca Ü, Atambay M, Aycan Ö, Yoloğlu S, Daldal N. Malatya Temizlik İşçilerinde Bağırsak Parazitlerinin Görölme Oranı. T Parazitol Derg 2006;30(3):181-183
63. Değerli S, Özçelik S, Çeliköz A. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakóltesi Parazitoloji Laboratuvarına Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. T Parazitol Derg 2005;29(2):116-119
64. Çulha G, Sangün Ö, İncecik F. Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakóltesi Parazitoloji Laboratuvarına Başvuran 0-14 Yaş Çocuklarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. T Parazitol Derg 2005;29(4):255-257
65. Yazar S, Yaman O, Gözkenç N, şahin İ. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakóltesi Parazitoloji Anabilim Dalına Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. T Parazitol Derg 2005;29(4):261-263
66. Aykan B, Çađlar K, Kuřtimur S. Gaita Örneklerindeki Protozoonların Trikróm Boyası Kullanılarak Deđerlendirilmesi. T Parazitol Derg 2005;29(1):34-38
67. Tanyüksel M, Petri JWA. Laboratory diagnosis of amebiasis. Clin Microbiol Rev 2003;16:713-729

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Kayseri’de doğdu. İlk öğrenimini Şehit Nazım ilkokulunda, orta ve lise öğrenimini Behice Yazgan Kız Lisesi’nde tamamladı. 1994 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne başlayıp 1998 yılında mezun oldu. 2000 yılında Erciyes Üniversitesi’nde Biyolog kadrosuyla göreve başladı. 2003 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. Evli ve bir çocuk annesidir.