

Acil Servise Başvuran İshalli Olgularda Protozoal Antijen Pozitifliği: Bir Nokta Prevalans Çalışması

Protozoal Antigen Positivity in Diarrheal Patients Admitted to Emergency Service: A Point Prevalence Study

Zeliha KOÇAK TUFAN, Şerife ALTUN, Cemal BULUT, Sami KINIKLI,
Ali Pekcan DEMİRÖZ

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.
Ankara Training and Research Hospital, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinic, Ankara, Turkey

Geliş Tarihi (Received): 22.02.2011 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 05.08.2011

ABSTRACT

Intestinal parasites are the important etiological agents of water and food related diarrhea cases which are frequently seen during summer/early autumn seasons in developing countries. This point prevalence study was aimed to determine the protozoal antigen positivity rate in diarrhea cases admitted to the emergency service in one single day. A total of 198 diarrheal patients (90 male, 108 female; age range: 1-82 years, mean age: 29 years) who were admitted to the emergency service of Ankara Training and Research Hospital were included in the study. Macroscopic and direct microscopic examinations were performed for the stool samples of patients, and the samples which yielded pathological microscopic findings (e.g. presence of leukocytes, erythrocytes, and trophozoites) were investigated in terms of *Entamoeba histolytica* adhesin antigen, *Giardia intestinalis* cyst antigen and *Cryptosporidium* oocyst antigen by commercial ELISA kits (Techlab, USA). Macroscopic examination of the stool samples revealed that 60 (30%) of them had blood and mucous, 137 (69%) were watery and one sample had normal appearance. Pathologic results were obtained for 96 (48.5%) of the samples by microscopic examination: 36 (37.5%) revealed erythrocytes, 90 (93.7%) had leukocytes and 3 (1.5%) had *G.intestinalis* trophozoites. Since *Shigella* spp. were cultured in two of these 96 samples, these two cases were omitted from the study and 94 samples were investigated by ELISA assays. *G.intestinalis* was detected in 13 (13.8%) and *E.histolytica* in 2 (2.1%) samples while *Cryptosporidium* antigen was not detected in any of the samples by the ELISA assays. It was concluded that ELISA antigen assays were rapid and cost-effective methods for the determination of the causative agent in cases of diarrhea.

Key words: Diarrhea; *Entamoeba histolytica*; *Giardia intestinalis*; *Cryptosporidium*; antigen test; ELISA; prevalence; Turkey.

İletişim (Correspondence): Dr. Zeliha Koçak Tufan, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ulucanlar, 06340, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 505 483 6074, **E-posta (E-mail):** drztufan@yahoo.com

Sayın Editör,

Bilindiği gibi yaz ve erken sonbahar aylarında acil servise başvuran su ve besin kaynaklı ishal olgularında artış olmakta; bu olgularda etiyolojik etken olarak viruslar başta olmak üzere bakteri ve parazitler sıklıkla karışımıza çıkmaktadır¹. Tüm yaş grupları dikkate alındığında, patojen intestinal protozoonlardan en sık rastlanan etkenler; *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* ve *Cryptosporidium parvum*'dur^{2,3}. Bu etkenlerin ülkemizdeki sıklığı ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte, prevalans oranları bölgeler ve hastaneler arasında farklılık göstermektedir²⁻⁶. Bir nokta prevalans çalışması olarak planlanan bu çalışmada, hastanemiz acil servisi-ne bir gün içerisinde başvuran ishallerli hastalarda protozoal antijen pozitifliğinin saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmaya, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Servisine 13.09.2010 tarihinde ishal yakınmasıyla başvuran 198 hasta (90 erkek, 108 kadın; yaş aralığı: 1-82 yıl, ortalama yaş: 29 yıl) dahil edilmiştir. Hastalardan alınan dışkı örnekleri makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiş ve direkt mikroskobik incelemede patolojik özellik saptanan (lökosit, eritrosit, trofozoit varlığı) dışkı örnekleri çalışmaya alınmıştır. Örneklerde *E.histolytica* adezin antijeni (*E.histolytica* II, Techlab, ABD), *Cryptosporidium* ookist antijeni (*Cryptosporidium* II, Techlab, ABD) ve *G.intestinalis* kist antijeni (*Giardia* II, Techlab, ABD) ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. Makroskobik incelemede dışkı örneklerinin 60 (%30)'ünün kanlı ve mukuslu, 137 (%69)'ünün şekilsiz ve sulu, bir örneğin ise normal görünümüne olduğu belirlenmiştir. Mikroskobik değerlendirmede ise 96 (%48.5) örnekte patolojik bulgulara rastlanmıştır; bunların %37.5'inde eritrosit (24'ünde yoğun, 12'sinde nadir), %93.7'sinde lökosit (53'ünde yoğun, 37'sinde nadir) ve 3 (%3)'ünde *G.intestinalis* trofozoiti görülmüştür. Bu 96 örneğin ikisinin kültüründe *Shigella* spp. üremesi olduğundan çalışma dışı bırakılmış, kalan kültür-negatif 94 örnek ELISA testine alınmıştır. Çalışmamızda, 13 (%14) örnekte *G.intestinalis* ve 2 (%2) örnekte *E.histolytica* antijen pozitifliği saptanırken, örneklerin hiçbirisinde *Cryptosporidium* antijenine rastlanmamıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda hasta gruplarına ve bölgelere göre değişmekle birlikte *G.intestinalis*, *E.histolytica* ve *C.parvum* pozitiflik oranları sırasıyla; %0.8-54.8, %0.3-17.4 ve %0.13-38.8 arasında bildirilmektedir²⁻⁶. Çalışmamızda en sık rastlanılan protozoon *G.intestinalis* olmuş (%14), *E.histolytica* pozitifliğinin (%2) ise, direkt mikroskopi yöntemi kullanılarak yapılan diğer bazı çalışmalardan düşük olduğu izlenmiştir. *E.histolytica* tanısında direkt mikroskopinin değeri, uzman personel tarafından yapılmaması halinde kist ve trofozoitlerin, çok daha sık görülen ve invazif enfeksiyon yapmayan *E.dispar* ile, hatta dışkıda bulunan lökositler ile karıştırılabiliyor olması nedeniyle sınırlıdır^{3,7}. Tanı için altın standart olarak bildirilen polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'nın kullanımı ise, pahalı olması, donanımlı laboratuvar ve deneyimli personel gerektirmesi nedeniyle rutin olarak uygun görünmemektedir². Buna karşın ELISA ile *E.histolytica* adezin antijen tayini yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %97 olarak bildirilmektedir^{2,8}. Bizim çalışmamızda da direkt mikroskopi ile saptanamayan olgular (n= 2) ELISA yöntemiyle saptanmıştır.

G.intestinalis'in tanısında direkt mikroskopi, günümüzde hala değer taşıyan klasik bir yöntemdir. *Giardia* trofozoitleri tipik morfolojileri nedeniyle daha kolay tanımlanabilmekle birlikte, parazitoloji laboratuvarları haricinde (acil servis ya da poliklinik koşulları vb.) yöntemin uygulanması ve değerlendirilmesi halinde atlanabilmektedir. ELISA yönteminde hedeflenen *G.intestinalis*'e özgül glikoprotein 65 antijeni (GSA 65) ise, enfekte hastaların dışkılarında bulunan majör antijen olup, hafif olgularda dahi dışkıda saptanabilmektedir⁹. Bu yöntemin *G.intestinalis* tanısındaki duyarlılığı %99 ve özgüllüğü %100 olarak bildirilmektedir^{9,10}. Nitekim bizim çalışmamızda da direkt mikroskopi ile örneklerin sadece üçünde *G.intestinalis* saptanırken, ELISA antijen testi ile 13'ünde pozitiflik saptanmıştır.

Çalışmamızda ishallerli hastaların hiçbirisinde *Cryptosporidium* antijen pozitifliği tespit edilmemiştir. Bu durumun, bölgesel farklılıklar ya da mevsimsel dağılım ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak, ishallerli hastalarda etiyolojik etkenin belirlenmesi amacıyla viral ve bakteriyel ajanlara yönelik hızlı testlerin yanı sıra, intestinal protozoa tanısında da ELISA antijen testlerinin hızlı ve maliyet-etkin olarak kullanılabilecek yöntemler olduğu düşünülmüş, ancak tanının doğrulanması için olanaklar dahilinde özgül parazitolojik incelemelerin yapılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Leder K. Intestinal Protozoa: *Giardia*, Amebiasis, *Cyclospora*, *Blastocystis hominis*, *Dientamoeba fragilis*, and *Cryptosporidium parvum*, pp: 294-302. In: Shwartz E (ed), Tropical Diseases in Travelers. 2009. Wiley-Blackwell Publishing, Singapore.
2. Uyar Y, Taylan Ozkan A. Antigen detection methods in diagnosis of amebiasis, giardiasis and cryptosporidiosis. *Türkiye Parazitol Derg* 2009; 33(2): 140-50.
3. Ak M, Tanyüksel M, Dağcı H. Amoebiosis, s: 279-307. Özcel MA (ed), Tıbbi Parazit Hastalıkları. 2007. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, İzmir.
4. Ok ÜZ, Balcıoğlu İC. Cryptosporidiosis, s: 363-82. Özcel MA (ed), Tıbbi Parazit Hastalıkları. 2007. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, İzmir.
5. Ak M, Türk M, Güneş K. Giardiasis, s: 322-344. Özcel MA (ed), Tıbbi Parazit Hastalıkları. 2007. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, İzmir.
6. Yıldız Zeyrek F, Ozbilge H, Yüksel MF, Zeyrek CD, Sirmatel F. Parasitic fauna and the frequency of *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* detected by ELISA in stool samples in Sanliurfa, Turkey. *Türkiye Parazitol Derg* 2006; 30(2): 95-8.
7. Tanyuksel M, Yilmaz H, Ulukanligil M, et al. Comparison of two methods (microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of amebiasis. *Exp Parasitol* 2005; 110(3): 322-6.
8. Haque R, Neville LM, Hahn P, Petri WA Jr. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol* 1995; 33(10): 2558-61.
9. Guimarães S, Sogayar MI, de Franco MF. *Giardia duodenalis*: inter-strain variability of proteins, antigens, proteases, iso-enzymes and nucleic acids. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1999; 41(1): 45-58.
10. Vidal AM, Catapani WR. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) immunoassaying versus microscopy: advantages and drawbacks for diagnosing giardiasis. *Sao Paulo Med J* 2005; 123(6): 282-5.