

Mersin İlinde İlkokul Çocuklarında *Entamoeba histolytica* Antikorlarının Araştırılması

Nuran DELİALIOĞLU, Gönül ASLAN, Candan ÖZTÜRK,
Müjgan BAYER, Gürol EMEKDAŞ

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

ÖZET: *Entamoeba histolytica* tropikal ve subtropikal bölgelerde daha sık olmak üzere tüm dünyada bulunmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde invaziv intestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Amöbiyoz dünyada ikinci sıklıkta ölüme neden olan parazitik hastalık olarak bildirilmektedir. Amöbiyoz tanısında serolojik testler genellikle seroepidemiolojik taramalarda ve ekstraintestinal amöbiyoz tanısında önerilmektedir. Bu çalışmada; Mersin ili Çay Mahallesi İlkokulu'nda 192 öğrencinin dışkıında *E. histolytica*/*E. dispar* kistleri ve serumunda indirekt hemagglütinasyon testi ile amip antikorları araştırılmıştır. Bu öğrencilerin dışkı incelemesinde *E. histolytica*/*E. dispar* kistlerine rastlanmamıştır. 192 öğrencinin 4'ünde (%2) amip antikorları 1/16 ve üstünde pozitif olarak bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: *Entamoeba histolytica*, İndirekt hemagglütinasyon,

Investigation of Anti-*Entamoeba histolytica* Antibodies in Primary School Children in Mersin

SUMMARY: *Entamoeba histolytica* can be found worldwide but it is more prevalent in tropical and subtropical regions. This parasite can cause invasive intestinal and extraintestinal infections especially in developing countries. Amoebiasis is the second leading cause of death from parasitic disease worldwide. Serological tests for the determination of amoebiasis are generally suggested for diagnosis of extraintestinal amoebiasis and seroepidemiologic investigations. In this study; the presence of serum antibodies to *E. histolytica* were investigated using indirect hemagglutination and *E. histolytica* cysts by microscopical examination of stool specimens of 192 students of the Çay Mahallesi Primary School in Mersin. *E. histolytica*/*E. dispar* cysts were not found in any of the students upon microscopical examination of the stool specimens. The level of anti-amoebiasis antibodies were found to be 1/16 and over in 4 of the students (2%).

Key words: *Entamoeba histolytica*, indirect hemagglutination

GİRİŞ

Amöbiyoz, *Entamoeba histolytica*'nın oluşturduğu tüm dünyada yaygın olarak görülen parazitik bir enfeksiyondur ve genellikle sosyo-ekonomik durumu kötü, hijyen alışkanlıkları yetersiz ve kötü beslenen gelişmekte olan ülkelere görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünyada yaklaşık 500 milyon kişinin amöbiyoz olduğu ve gelişmiş ülkelerdeki olgu sayısının gelişmekte olan ülkelere göre daha az olduğu bildirilmektedir (3). *E. histolytica* enfeksiyonları dünyada özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde daha sıklıkla görülmektedir. İnsanlar primer rezervuardır ve enfeksiyon *E. histolytica* kistleri içeren dışkı ile kontamine olmuş su ve gıdaların alınmasıyla oluşmaktadır (10, 17).

E. histolytica invaziv intestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Her yıl 500 milyon kişi amöbiyoz olmasına rağmen bunların yalnız %10 kadarında

semptomatik hastalık görülmektedir (6). Amöbiyozdan yılda 40.000-100.000 arasında kişinin öldüğü tahmin edilmekte olup dünyada ikinci sıklıkta ölüme neden olan parazitik hastalık olduğu bildirilmektedir (17). İnsanları enfekte eden morfolojik olarak benzer iki *Entamoeba* türünden *E. histolytica* amibik kolit ve karaciğer absesi oluştururken, *E. dispar* ise noninvaziv olarak bulunmaktadır (6). Dünya nüfusunun yaklaşık %10'unun *E. histolytica*/*E. dispar* ile kolonize olduğu ve bunların %90'ının nonpatojenik *E. dispar* ve yalnız %10'unun patojenik *E. histolytica* olduğu bildirilmektedir (2).

İntestinal amöbiyoz'un teşhisi, dışkıda *E. histolytica*/*E. dispar*'ın kist veya trofozoit şekillerinin gösterilmesi ile desteklenmektedir. İnvaziv intestinal ve ekstraintestinal amöbiyoz teşhisinde serumda anti-amibik antikorları araştıran testlerin yararlı olduğu bildirilmektedir (14). Amibik karaciğer abseli hastaların çoğunun serumunda anti-amibik antikorlar serolojik testlerle pozitif olarak gösterilmektedir (6).

Bu çalışma; sosyo-ekonomik durumu kötü olan Çay Mahallesi İlkokulu öğrencileri arasında dışkıda *E. histolytica*/*E. dispar* kisti ve serumda Amoebiasis indirekt hemagglütinasyon (İHA)

yöntemi ile amip antikorlarının araştırılması ve öğrencilere parazitlerden korunma hakkında bilgiler verilmesi amacıyla planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çay mahallesi ilimizin; sosyo-ekonomik düzeyi düşük, sanitasyon koşulları yetersiz, kalabalık ailelerin yaşadığı, gecekondu tipi evlerin bulunduğu bölgesidir. Çay mahallesi ilkokulunda 7-11 yaş grubunda bulunan asemptomatik 120 erkek ve 72 kız toplam 192 öğrenciden dışkı ve selofon bant örneği toplanmıştır. Öğrencilerin dışkısında direkt serum fizyolojik ve lugol ile preparatlar hazırlanarak protozoon kistleri ve helmint yumurtası araştırılmıştır. Bu öğrencilerin serumunda Cellognost Amoebiasis IHA kiti (*E. histolytica* HK 9 suşundan pürifiye antijenle hazırlanmış OTMO17 Dade Behring lot no: 32350) ile amip antikorları araştırılmıştır. Serumlar kitin prosedürüne göre çalışılmış ve 1/16 ve üzerindeki titrelerdeki sonuçlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Bu öğrencilerin dışkı incelemesinde 3'ünde *Hymenolopis nana*, selofon bant incelemesinde 14'ünde *Enterobius vermicularis* yumurtası tesbit edilmiş ve *E. histolytica*/*E. dispar* kistlerine rastlanmamıştır. Bir öğrencide *E. vermicularis* ve *H.nana* yumurtası aynı anda pozitif olarak tespit edilmiştir. Toplam 192 öğrencinin 4'ünde (%2) (iki kız, iki erkek öğrenci) amip antikorları 1/16 ve üstünde pozitif olarak bulunmuş olup pozitif olarak tesbit edilenlerin titreleri 1/16, 1/32, 1/64 ve 1/ 256 olarak saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Amip antikor ve dışkı inceleme sonuçları

	Negatif		Pozitif		Toplam
	Sayı	%	Sayı	%	
Amip antikorları (IHA)	188	97,9	4	2	192
<i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> (Dışkı mikroskobu)	192	100	-	-	192

TARTIŞMA

E. histolytica invaziv intestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonlar oluşturmaktadır (6). İntestinal amöbiyoz'un teşhisi hastanın anemnezi, klinik bulgular ve dışkıda *E. histolytica*'nın kist veya trofozoit şekillerinin gösterilmesi ile desteklenmektedir. Mikroskobik inceleme; taze dışkıdan serum fizyolojik ile hazırlanan ve trikom veya demir hematoksilen ile boyalı preparatlardan yapılmaktadır (14). Dışkıda *E. histolytica* ve *E. dispar* ayırımı izoenzim analizi, *E. histolytica* antijeni aranması ve *E. histolytica* spesifik DNA'sının PCR ile amplifikasyonu temeline dayalı duyarlı ve özgül testlerle yapılabilmektedir. Antijen belirlenmesine yönelik olan testlerin mikroskobiden daha özgül ve duyarlı olduğu

bildirilmektedir (6). İnvaziv intestinal amöbiyoz ve ekstraintestinal amöbiyoz teşhisinde serumda antiamibik antikorları araştırılan testler önerilmektedir. Semptomları olan hastalarda bir hafta sonra serumda antiamibik antikorların olduğu ve İHA testi ile antiamibik antikor titrelerinin hastalaktan yıllar sonra yüksek olarak kaldığı bildirilmektedir (14). İHA testi seroepidemiolojik çalışmalarda kullanımının kolay ve hızlı olması, özgülük ve duyarlılığının yüksek olması ve ucuz olması nedeniyle geniş ölçüde kullanılmaktadır. Bu yöntemle antiamibik antikorların bulunması kişinin yeni veya geçmişte parazit ile doku invazyonu olduğunu göstermektedir (3). Ekstraintestinal amöbiyozlu hastalarda İHA testinin özgülüğünün yüksek olduğu bildirilmektedir (8). Amibe karşı antikorların saptandığı testlerin duyarlılığı; amibik karaciğer absesinde %90 ve amibik kolitte %70 olarak bildirilmektedir (13). Antiamibik antikorları saptayan testlerin en önemli dezavantajları, total amibik antijenlere karşı antikorları tesbit etmeleri ve amöbiyozun endemik olduğu bölgelerdeki bireylerde enfeksiyondan sonraki yıllarda pozitif olarak kalabilmeleri olarak gösterilmiştir (6, 13, 16). İnvaziv amöbiyoz tedavisi sonrasında serumda anti-amibik antikorların 10 yılın üstünde bulunabildiği bildirilmektedir (14).

Serum ve dışkıda *E. histolytica* antijenleri ile serumda galaktoz adhezin, 29 Kd yüzey antijeni ve rekombinant LC3 subünit antijen gibi yeni tanımlanan parazit antijenlerine karşı antikorların aranması *E. histolytica* enfeksiyonunun teşhisinde özgülüğü artıran yeni gelişmeler olarak sunulmaktadır. Serum antiamibik antikor prevalansının yüksek olduğu endemik bölgelerde antijen aranması avantaj sağlamaktadır. Ayrıca antijen aranması antikor oluşmadan önce erken teşhis ve patojenik ve nonpatojenik türün ayrılmasını sağlamaktadır (14). Haque ve arkadaşları karaciğer amip absesi ve intestinal enfeksiyonlu hastalarda *E. histolytica* Gal/GalNAc lektin antijen ve antilektin antikorları araştırdıkları çalışmalarında antijen aranmasının antilektin antikor aranmasından daha duyarlı olduğunu saptamışlardır. Gal/GalNAc lektine antikor cevabı daha kısa sürelidir ve az sayıda çalışmada akut amöbiyoz teşhisinde özgül serolojik test olarak bildirilmektedir (7).

Meksika'da 1-98 yaş grubu popülasyonda yapılan bir çalışmada ulusal *E. histolytica* antikor seroprevalansı İHA testi ile araştırılmış ve %8.41 olarak bildirilmiştir. *E. histolytica* ile enfeksiyona maruz kalmanın tüm yaşlarda olabildiği ancak okul yaşında sıklığın daha yüksek olduğu, sanitasyon koşullarının yetersiz olması, eğitim ve hijyen eksikliğinin amöbiyozun yayılmasını desteklediği tesbit edilmiştir (3).

Özcan ve arkadaşları Adana'da kan donörlerinde amip antikor pozitifliğini 1/32 ve üzerindeki titrelerde %7.8 olarak bildirmişlerdir (12). Çukurova Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı tarafından yapılan çalışmada, dışkının direkt mikroskobik incelemesinde amip kisti veya trofozoiti görülen hastalarda %5.1 (1/160'nın üzeri titrede) oranında amip

antikör pozitifliği bildirilmiştir (9). Bizim çalışma grubumuzdaki çocuklarda dışkıda *E. histolytica*/*E. dispar* kistine rastlanmamış ancak %2 oranında amip antikörleri pozitif olarak bulunmuştur. Malatya'da Direkel ve arkadaşları ishal şikayeti ile başvuran çeşitli yaş gruplarında direkt mikroskopi ile %9.5, aynı hastaların serum örneklerinde ELISA testi ile %50.8 *E. histolytica* IgG antikör pozitifliği bildirmişlerdir (4). Hemen hemen aynı coğrafi bölgede yer alan bu çalışmalarda farklı sonuçlar dikkati çekmektedir. Doğan ve arkadaşları ELISA ile *E. histolytica*'ya karşı IgG sınıfı antikörleri; dışkısında kist saptanan çocuklarda %75, yetişkinlerde %80 ve kontrol grubunda çocuklarda %20, erişkinlerde %22 oranında seropozitiflik bildirmişlerdir (5). Saygı ve arkadaşları amöbiyoz şüpheli olgularda İHA ile %21.3 oranında 1/64 ve daha yüksek sulandırımında pozitiflik saptamışlardır (15). Standardize yöntemlerin ve testlerin kullanılmaması hatalı sonuçlara neden olabilmekte, gelecek yıllarda yapılacak değerlendirmelerde sağlıklı epidemik verilere ulaşmamızı zorlaştırmaktadır.

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nın 1999-2000 yılları arasında çeşitli kliniklerden gönderilen parazitöz şüpheli dışkıların inceleme sonuçlarının değerlendirildiği retrospektif çalışmada direkt mikroskopik incelemede %2.8 oranında *E. histolytica*/*E. dispar* kisti, aynı dönemde Mersin Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda direkt mikroskopik dışkı incelemesi sonucu %16.5 oranında *E. histolytica*/*E. dispar* kisti görüldüğü tesbit edilmiştir. Parazitlerin kendi içinde dağılımı incelendiğinde ilimizde *E. histolytica*/*E. dispar*'ın en yaygın görülen protozoon parazit olduğu görülmektedir (11).

İnvaziv amöbiyozda kazanılmış bağışıklık gösterilmesine rağmen kolonizasyonda bağışıklık gelişip gelişmediği tartışmalıdır. Bu konuda yapılan birkaç çalışmada farklı sonuçlar bildirilmektedir. Kişiler yaşamları süresince reenfeksiyon olabilmekte ve bazı çalışmalarda seropozitif bireylerde kolonizasyon oranının düşük olduğu bildirilmektedir. Braga ve arkadaşları Kuzeydoğu Brezilya'da %19.4 oranında *E. histolytica*/*E. dispar* ve %10.2 oranında *E. histolytica* ile dışkı kolonizasyonu ve %19.7 oranında anti-GalNAc lektin antikör seropozitivitesi saptadıkları çalışmalarında anti-GalNAc lektin antikör seropozitivitesi ve kolonizasyonun arasında korelasyon bulamamışlardır. Kişilerin yaşamları süresince reenfekte olabileceği, *E. histolytica* ile kolonize olanlarda bağışıklığın tam olmadığı ve kolonizasyonun reenfeksiyon ile koruyucu bağışıklık oluşumunda her zaman olmadığını bildirmişlerdir (2).

Haque ve arkadaşları Bangladeş'te okul öncesi çocuklarda serumda %14.7 oranında antilektin antikörleri bulmuşlardır. Seropozitif olan çocuklarda %15.2 oranında ve seronegatif olanlarında %2.4'ünde dışkıda *E. histolytica* antijen pozitifliği saptamışlardır. *E. histolytica* ile kolonize olan çocuklarda %52 ve dışkıda *E. histolytica* negatif olan çocuklarda %13 oranında

seropozitiflik bulmuşlar ve *E. histolytica* ile dışkı kolonizasyonu ve seropozitivite arasında birliktelik olduğunu ve sonuçlarının Brezilya'dan bildirilen sonuçlar ile uyumlu olmadığını saptamışlardır(7).

Aksoy ve arkadaşları özellikle amöbiyoz açısından endemik bölgelerde dışkıda *E. histolytica* antijeni saptamanın daha sağlıklı sonuçlar vereceğini ve erken tanı konması ile tedaviye zamanında başlamanın salgınları önleme ve epidemiyolojik araştırmalarda yararlı olabileceğini bildirmişlerdir (1).

Sonuçlarımızı incelediğimizde antikör seroprevalansı %2 olarak bulunduğu ve dışkıda *E. histolytica*/*E. dispar* kistine rastlanmadığı görülecektir. Laboratuvarımız parazitoloji sonuçlarına göre de % 2.8 oranında *E. histolytica*/*E. dispar* kisti pozitif olarak bulunmuştur. Bu çalışmalarımızda elde ettiğimiz sonuçların, dışkıda spesifik antijen arayan testler kullanılarak ilimizde *E. histolytica* enfeksiyonlarının gerçek prevalansını belirlemek üzere planladığımız araştırmalara katkı sağladığı inancındayız. Bunun yanında özellikle ekstraintestinal amöbiyöz şüpheli hastaların tanısında İHA testinin efektif olarak kullanılabilmesi konusunda cerrahi bölümler bilgilendirilmiştir.

E. histolytica, kistlerle kontamine yiyecek ve içeceklerle bulaşmaktadır. Korunmada alt yapının iyileştirilmesi, temiz su sağlanması ve kişisel hijyene dikkat edilmesi, özellikle okul çağındaki çocuklara parazitözlerden korunma ile ilgili eğitim verilmesi gereklidir. Alt yapı sorunlarının çözümünün fekal-oral yolla bulaşan tüm hastalıkların önlenmesindeki yararları, yerel yönetimlerin gündemine taşınarak bu konuda yapılan çalışmalarını hızlandıracaktır.

Ülkemizde tanıda ve seroepidemiolojik taramalarda kullanılacak testlerin ve kitlerin kullanımının en kısa zamanda standardize edilmesi gerekmektedir. Böylece yanlış pozitif sonuçlar ve gereksiz tedavi uygulanması önlenecek, tedavi maliyetindeki düşüş ülke ekonomisine önemli katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Aksoy Ü, Ertuğ S, Ak M, 1999. Amöbiyozun tanısında serolojik ve moleküler biyolojik yöntemler. *T Parazitol Derg*, 23(3):301-308.
2. Braga LLY, Mendonca CA, Paiva A, Sales A, Cavalcante A I M, Mann B J, 1998. Seropositivity for and intestinal colonization with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in individuals in northeastern Brazil. *J Clin Microbiol.*,36:3044-3045.
3. Caballero-Salcedo A, Viveros-Rogel M, Salvatierra B, Tapia-Conyer R, Sepulveda-Amor J, Gutierrez G, Ortiz-Ortiz L, 1994. Seroepidemiology of Amebiasis in Mexico. *Am J Trop Med Hyg*, 50(4): 412-419.

4. **Direkel Ő, Őzerol İH, Durmaz R**, 2000. İshalli hastalarda *Entamoeba histolytica* IgG antikorlarının ELISA ile araştırılması. II.Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi, 25-29 Eylül, 254, Őanlıurfa, Türkiye.
5. **Doğan N, Akgün Y, Koçođlu T, AkŐit F**,1992. IgG sınıfı *Entamoeba histolytica* antikorlarının EİA ile araştırılması. *T Parazitol Derg*, 16(3-4): 24-31.
6. **Haque R, Ali IKM, Akter S,WA Petri JR**, 1998. Comparison of PCR, isoenzyme analysis and antigen detection of diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol*, 36(2): 449-452.
7. **Haque R, Mollah NU, Ali IKM, Alam K, Eubanks A, Lyerly D, WA Petri JR**, 2000. Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the Techlab *Entamoeba histolytica* antigen detection and antibody tests. *J Clin Microbiol*, 38(9): 3235-3239.
8. **Hossain A, Bolbol AS, Chowdhury MNH, Bakır TMF**, 1989. Indirect haemagglutination (IHA) test in the serodiagnosis of amoebiasis. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*, 1(33) : 91-97.
9. **Karaömerođlu Ö, Tanır F, ŐaŐmaz T, Demirhindi H, Aytaç N, Akbaba M**, 2000. Gaitada direkt mikroskopi ile Amip tanısı konan hastalarda amip seropozitifliğinin araştırılması.II.Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi, 25-29 Eylül, 242, Őanlıurfa-Türkiye.
10. **Leber A L, Novak S M**, 1999. Intestinal and ürogenital amebae, flagellates, and ciliates. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. Eds. *Manual of Clinical Microbiology*.; Washington D.C. 7th ed. ASM press. 1391-1405.
11. **Öztürk C, Delialiođlu N, Aslan G, Aslan N**, 2001. Mersin Bölgesinde Barsak Parazitlerinin Prevalansı ve Dağılımlı: Mersin Üniversitesi ve Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına ait Sonuçlar. *T Parazitol Derg*, 25(4):355-358.
12. **Özcan K, Yiđit S, Tanrıverdi S, Kılıç B, KotlaŐ S**, 1998. Kan Donörlerinde Amip ve Ekinokok Antikorlarının Dağılımlı. *T Parazitol Derg*, 22(2): 133-136.
13. **Petri W A, Singh U**, 1999. Diagnosis and management of amebiasis. *Clin Infect Dis*, 29:1117-1125.
14. **Ravdin J I**, 2000. *Entamoeba histolytica* (Amebiasis). Mandel GL, Bennett JE, Dolin R.eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia, Pennsylvania: Fifth ed. Churchill Livingstone. p.2798-2810.
15. **Saygı G, Özçelik S, Temizkan N**, 1990. Amöbiyaz Şüpheli olguların serumlarında indirekt hemaglutinasyon deneyi ile saptanan bulgular. *T Parazitol Derg*, 14(1): 13-16.
16. **Shetty N, Das P, Pal SC, Prabhu T**, 1988. Observations on the interpretation of amoebic serology in endemic areas. *J Trop Med Hyg*, 91:222-227.
17. **Stanley SL**. Amoebiasis, 2003. *The Lancet.*, 361: 1025-1034.