

Giardiasisin Tanısında Enzym İmmun Assay (EIA) ve Direkt İnceleme Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Tuncer ÖZEKİNCİ, Aslıhan UZUN, Adnan SUAY, Saffet ELÇİ,
Nezahat AKPOLAT, Selahattin ATMACA

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

ÖZET: Bu çalışmada, çeşitli gastrointestinal şikayetlerle hastanemiz polikliniklerine başvuru yapan hastaların dışkı örneklerinin incelenmesinde, rutin mikroskopik yöntem ve EIA testi karşılaştırılmıştır. Toplanan 188 dışkı örneğinde, nativ-lugol ile direkt mikroskopik inceleme yapılmış, 141 örnekte *Giardia intestinalis* kist ve/veya trofozoiti bulunurken, 47 dışkı örneğinde herhangi bir parazit tespit edilememiştir. Tüm örnekler, RIDASCREEN EIA kit prosedürü uygulanmıştır. Direkt mikroskopisi pozitif bulunan 141 örneğin 136'sı EIA testi ile pozitif, 5'i negatif olarak saptanmıştır. Direkt mikroskopide parazit saptanmayan 47 dışkı örneğinin 38'i EIA ile negatif, 9'u pozitif olarak belirlenmiş, iki yöntem hasta ve kontrol grupları göz önüne alınarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Dışkıda *Giardia intestinalis* antijenini belirlemeye yönelik kullanılan EIA yönteminin duyarlılığı %96,4, özgüllüğü %80,8 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Giardia intestinalis*, EIA, Direkt mikroskopi

Comparison of Microscopy and EIA in the Diagnosis of *Giardia intestinalis* in Stool Specimens

SUMMARY: In this study; we compared the direct microscopic method and EIA test in the investigation of the stools of patients with gastrointestinal symptoms who presented at clinics. A total of 188 stool specimens collected from clinics were investigated by direct microscopy using native-Lugol preparations. *Giardia* cysts and/or trophozoites were observed in 141 specimens. There were no *Giardia* cysts and/or trophozoites or any other intestinal parasites detected in the other 47 stool specimens. The RIDASCREENR EIA kit procedure was applied in all specimens. Out of 141 specimens positive with direct microscopy, 136 specimens were positive with the EIA test and 5 specimens, negative. Parasites were not found in 47 stool specimens with direct microscopy. Of these, 38 specimens were negative with the EIA test and 9 specimens, positive. When the patient and control groups were compared, a significant difference was observed between the two methods ($p<0.05$). The sensitivity and specificity of the EIA method that was used to determine the antigenic properties of *G. intestinalis* in stools were 96.4% and 80.8%, respectively.

Key Words: *Giardia intestinalis*, EIA, Direct microscopy

GİRİŞ

Giardia intestinalis, dünyanın her tarafında endemik ve epidemik diyarelerin başta gelen nedenlerindedir. Gelişmekte olan ülkelerde *Giardia intestinalis* enterik patojenlerin ilki olup, 10 yaşından küçük çocuklarda %15-30 prevalansla görülebilmektedir. Ülkemizde değişik bölgelerde yapılan araştırmalarda etkenin insidansı %1,9-37,7 arasında değişmektedir (5, 10, 12, 14, 15).

İnfeksiyonun tanısında, diğer parazit hastalıklarında olduğu gibi direkt mikroskopik inceleme ilk başta yapılması gere-

ken yöntemdir. Fakat, parazitin kist formunun aralıklı atılması sebebiyle mikroskopik incelemede olumsuz sonuçlar alınabilir, ancak bu giardiasisin dışlanması için yeterli değildir. Enterotest, duodenal biyopsi ve fırça örneklerinin incelenmesi diğer tanı yöntemleri arasındadır. Fakat, bunlar invaziv işlemlerdir ve özellikle çocuklarda yapılması zordur. Günümüzde, dışkıda parazitin çeşitli antijenik yapılarını araştırmaya yönelik Enzym İmmun Assay (EIA) prosedürleri yanında, IFAT gibi yöntemlerde giderek daha sık kullanılmaya başlanmıştır (5, 14, 15).

Çalışmamızda, ishaller hastaların dışkı örneklerinde antijen aramaya dayanan EIA testi ile rutin olarak kullanılan nativ-lugol yöntemlerinin karşılaştırılması ve EIA yönteminin rutin tanıdaki yerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Geliş tarihi/Submission date: 25 Kasım/25 November 2004

Düzeltilme tarihi/Revision date: 14 Şubat/14 February 2005

Kabul tarihi/Accepted date: 28 Şubat/28 February 2005

Yazışma /Corresponding Author: Tuncer Özekinci

Tel: (+90) (412) 248 80 01 Fax: -

E-mail: tunozek@dicle.edu.tr

GEREÇ VE YÖNTEM

Dicle Üniversitesi Araştırma Hastanesinin çeşitli polikliniklerine akut, kronik veya tekrarlayıcı ishal yakınmalarıyla başvuran 188 hastadan alınan dışkı örnekleri incelendi. Nativ-lugol yöntemiyle direkt mikroskopik inceleme yapılarak *Giardia intestinalis* trofozoit ve/veya kisti tespit edilen 141 örnek hasta grubu olarak, *Giardia intestinalis* trofozoit ve/veya kisti bulunmayan 47 dışkı örneği ise kontrol grubu olarak belirlendi.

Laboratuvara gönderilen taze dışkı örneklerinin değişik kısımlarından hemen bir spatula yardımı ile bir miktar alınarak ağzı kapaklı plastik tüplerde -20°C 'de çalışılncaya kadar saklandı. Geri kalan kısım direkt inceleme için kullanıldı.

Nativ-lugol yöntemi: Her dışkı temiz bir lam üzerinde 1 damla fizyolojik tuzlu suda homojenize edilerek 1 damla lugol eriyiği damlatılıp lamel ile kapatılarak $\times 10$ ve $\times 40$ objektiflerde incelendi.

EIA prosedürü: EIA test kiti (RIDASCREEN^R Art. No: C1101, Almanya) üretici firmanın kullanım kılavuzuna uygun olarak çalışıldı.

İstatistiksel Yöntem: Çalışmadaki analizlerde Khi kare testi uygulandı.

BULGULAR

Direkt incelemede *Giardia intestinalis* trofozoit ve/veya kisti tespit edilen 141 dışkı örneğinin, EIA ile 136'sı pozitif, 5'i negatif bulunmuştur. Kontrol grubu olan 47 bireyin dışkı örneğinin ise EIA ile 38'i negatif, 9'u pozitif sonuç vermiş (Şekil 1) ve iki grup arasındaki farkın anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). EIA metodunun duyarlılığı %96,45, özgüllüğü %80,85 oranlarında belirlenmiştir (Tablo 1).

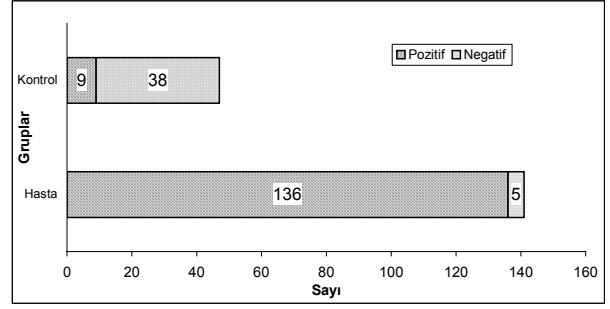
Tablo 1. EIA ile tespit edilen duyarlılık ve özgüllük.

Duyarlılık	Özgüllük	(+) Prediktif değer	(-) Prediktif değer	Doğruluk
96.45	80.85	93.79	88.37	84.57

Yaş grupları açısından değerlendirildiğinde, pozitif olguların 6-11 yaş grubunda, en yüksek, 0-5 yaş grubunda ise en düşük olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Yaş ve cinsiyet birlikte değerlendirildiğinde 12-18 yaş grubunda erkeklerde kadınlardan daha fazla rastlandığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Diğer yaş gruplarında dağılımın cinsiyet açısından farklı olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$) (Tablo 2).

TARTIŞMA

G. intestinalis, dünyanın her tarafında yaygın olarak bulunan bir barsak protozoonudur. Asemptomatik veya şiddetli seyredebilen ishal, malabsorbsiyon ve kilo kaybı gibi farklı hastalık spektrumuna neden olur. Giardiasis teşhisi, çoğunlukla dışkıda parazit kist veya trofozoit evrelerinin mikroskopik olarak incelenmesiyle yapılır (6).



Şekil 1. Pozitif olgular ve kontrol grubunda EIA'nın dağılımı

Tablo 2. Direkt mikroskopi ile saptanan pozitif olguların yaş grupları ve cinsiyete göre dağılımı.

Yaş Grubu	Erkek		Kadın		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
0-5	10	10,87	7	14,29	17	12,06
6-11	37	40,22	21	42,86	58	41,13
12-18	17	18,48	4	8,16	21	14,90
18 ve ↑	28	30,43	17	34,69	45	31,91
Toplam	92	65,25	49	34,75	141	100,00

Yurdumuzda direkt mikroskopik yöntem ve EIA arasında karşılaştırmalı olarak yapılmış çalışma sayısı kısıtlıdır. *G. intestinalis*'e yönelik olarak yapılan araştırmaların büyük çoğunluğunu da epidemiyolojik çalışmalar oluşturmaktadır (2, 18). Suay ve ark. (19) Diyarbakır'da 31453 dışkı örneğinde nativ-lugol yöntemi ile %32,2 oranında *G. intestinalis* saptamışlardır. Bölgede yapılmış bir diğer çalışmada, 933 dışkı örneğinde nativ-lugol ve yüzdürme yöntemleri ile 151'inde (%16,18) *G. intestinalis* belirlenmiştir (20).

EIA yönteminin kullanıldığı çalışmalardan; Yılmaz ve ark. (22) yaptıkları araştırmada, EIA'nın duyarlılığı %92,5, özgüllüğü %97,7 oranında belirlemişlerdir. Gödekmerdan ve ark. (8), Elazığ'da çeşitli gastrointestinal şikayetlerle başvuru yapan toplam 260 hastadan alınan dışkı örneğinde nativ-lugol ve çinko sülfat yüzdürme yöntemleri ile 52 örnekte (%20) *G. intestinalis* kist ve/veya trofozoiti tespit etmiş ve EIA ile 66 örnekte (%25,4) *G. intestinalis* antijeni saptamışlardır. Aynı çalışmada EIA testinin duyarlılığının %100, özgüllüğünün %93 olduğu belirlenmiştir.

Yurtdışında yapılan benzer çalışmalarda EIA yönteminin duyarlılığı %92 - 97 ve özgüllüğü %96 - 100 arasında bildirilmektedir (7, 16).

Aldeen ve ark. (3), dışkı örneklerinde *G. intestinalis*'in belirlenmesine yönelik dokuz ticari EIA kitini değerlendirdikleri çalışmada, duyarlılığı %88,6 - 100; özgüllüğü %99,3 - 100 arasında bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada, dört ticari EIA karşılaştırılmış ve ProSpecT *Giardia* ölçümü diğerle-

rinden daha duyarlı bulunmuş, endemik bölgelerde mikroskopik incelemenin yerini alabileceği belirtilmiştir (13). Aynı EIA yöntemi ile yapılmış bir başka çalışmada, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %96 ve 100 olarak belirtilmiştir (17).

Hanson ve ark. (9), semptomatik ve asemptomatik toplam 106 hastada yaptıkları çalışmada 7 gün ara ile aldıkları dışkı örnekleriyle direkt mikroskopik inceleme duyarlılığının, semptomatik hastalar için %75'ten %83'e; asemptomatik hastalarda ise %61'den %77'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, EIA yönteminin iki ardışık dışkı örneği için ayrı olarak hesaplanan duyarlılık değerinin %13.1 oranında arttığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda direkt mikroskopi sonuçları pozitif olan olguların yaş ve cinsiyete göre yapılan dağılımlarında pozitifliğin 6-11 yaş grubunda en yüksek, 0-5 yaş grubunda ise en düşük olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). 141 hastanın %35'i kadın; %65 erkektir. Aşçı ve ark. (4), dışkı örneklerinde *G. intestinalis* dağılımını retrospektif olarak değerlendirdikleri çalışmada, 25.077 örneğin 2599'unun *G. intestinalis* kist ve/veya trofozoiti içerdiğini belirterek, pozitif örneklerin %45'inin kadın ve %55'inin erkek olduğunu ifade etmişlerdir. Yaş gruplarına göre pozitif sonuçların incelenmiş, 0-6 ve 7-12 gruplarının parazitten daha fazla etkilendiği tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlar 6-11 yaş grubunda paralellik göstermektedir.

EIA yöntemi, *G. intestinalis*'in hem kist hem trofozoitlerini aramaya uygun bir yöntemdir. Dışkıda bu iki formdan birinin varlığı veya bu formlarda olabilecek uygunsuz değişimler testin duyarlılık ve özgüllüğünü etkilememektedir. Bu da EIA'nın üstünlüğünü açıklamaktadır (8, 9, 17). Rutin mikroskopik incelemeler az sayıda örnek için zaman ve ekipman açısından daha uygundur. Fakat örnek sayısı arttığında, erken sonuç verme açısından dezavantaj oluşturmaktadır. Konu ile ilgili araştırmalar incelendiğinde, aynı nedenlerden çalışmaların büyük çoğunluğunda da EIA'nın fazla sayıda örneğin incelendiği epidemiyolojik çalışmalarda daha sıklıkla kullanıldığı belirtilmektedir (1, 8, 11, 21).

Sonuç olarak, EIA yönteminin duyarlılığının yüksek olmasına karşın, direkt mikroskopik incelemenin maliyet ve zaman açısından daha ekonomik olması ve *G. intestinalis* yanında bulunabilecek diğer parazitler hakkında da fikir vermesi nedeniyle tanıda ilk yapılması gereken işlem olduğunu düşünüyoruz. Diğer yandan, dışkıdan direkt mikroskopik incelemesinin deneyimli personel gerektirmesi ve fazla sayıda örnek çalışılması halinde zaman alması nedeniyle EIA'nın geniş ölçekli epidemiyolojik çalışmalarda, semptomatik olduğu halde parazitin saptanamadığı durumlarda ve özellikle tedavinin takibinde daha yararlı olduğu görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. **Addis DG, Mathwes HM, Stewart JM, Wahlquist SP et al**, 1991. Evaluations of a commercially available Enzyme Linked Immunosorbent Assay for *Giardia lamblia* antigen in stool. *J Clin Microbiol*, 29 (6): 1137-42.
2. **Aksü Ç, Aksoy Ü, İnci A, Orhan V**, 2000. İzmir'in sosyoekonomik düzeyi düşük bir semtindeki ilkokul çocuklarında bağırsak parazitlerinin araştırılması. *T Parazitol Derg*, 24 (1): 52-54.
3. **Aldeen WE, Carroll K, Robinson A, Morrison M, Hale D**, 1998. Comparison of nine commercially available Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for detection of *Giardia lamblia* in fecal specimens. *J Clin Microbiol*, 36 (5): 1338-40.
4. **Aşçı Z, Seyrek A, Kizirgil A, Yılmaz M**, 1997. A retrospective study of the distribution of *Giardia intestinalis* in fecal samples. *T Parazitol Derg*, 21 (2): 133-135.
5. **Çetin E.T, Ang Ö, Töreci K**, 1995. Tıbbi parazitoloji. 5. baskı, İstanbul Üniversitesi Basımevi, İstanbul, s: 80-85.
6. **Elkadi A, Smith DH and Hommel M**, 1992. Early diagnosis of giardiasis by faecal antigens detection using capture EIA in cohort of children in the United Arab Emirates. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 186: 520-21.
7. **Goldin AJ, Hall A, Sarker RN, Warhurst DC, and Miles MA**, 1993. Diagnosis of *Giardia duodenalis* infection in Bangladeshi infants: faecal antigen capture EIA. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 87: 428-32.
8. **Gödekermerdan A, Özkeklikçi A, Bulut V, Kalkan A, Kaplan M**, 1998. *Giardia intestinalis* tanısında mikroskopi ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay yöntemlerinin karşılaştırılması. *T Parazitol Derg*, 22 (3): 233-38.
9. **Hanson LK and Cartwright CP**, 2001. Use of Enzyme Immunoassay does not eliminate the need to analyze multiple stool specimens for sensitive detection of *Giardia lamblia*. *J Clin Microbiol*, 39 (2): 474-77.
10. **Hill DR**, 1995 *Giardia lamblia*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (Eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fifth Edition. volume II. Philadelphia: Churchill Livingstone Inc, 2888-92.
11. **Janoff EN, Craft JC, Pickering LK, Novotony T et al**, 1989. Diagnosis of *Giardia lamblia* infections by detection of parasite-specific antigen. *J Clin Microbiol*, 27 (3): 331-35.
12. **Korkmaz M, Köse Ş, Sin A, Özkan AT**, 2000. Giardiasisli hastalarda IgG, IgA, IgM, Igd ve Ige düzeyleri. *T Parazitol Derg*, 24 (2) : 101-5.
13. **Maraha B, Buiting AGM**, 2000. Evaluation of four Enzyme Immunoassays for the detection of *Giardia lamblia* antigen in stool specimens. *Eur J Clin Infect Dis*, 19: 485-487.
14. **Özcel MA, Üner A**, 1997. *Giardiasis*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın no: 14, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.

15. **Özçelik S**, 1999. Kamçılı Protozoonlar ve Yaptıkları Hastalıklar. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ed. Şemsettin Ustaçelebi. Bölüm Ed. Ömer Mete. Güneş Kitabevi, Ankara, s:1193-95.
16. **Rosenblatt JE, Sloan LM, Schneider SK**, 1993. Evaluation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of *Giardia lamblia* in stool specimens. *Diagn Microbiol Infect Disease*, 16: 337-341.
17. **Rosoff DC, Sanders CA, Sonnad SS, De Lay PR, Hadley WK**, 1989. Stool Diagnosis of Giardiasis using a commercially available Enzyme Immunoassay to detect *Giardia*-spesifik antigen 65 (GSA 65). *J Clin Microbiol*, 29 (9): 1997-2002.
18. **Saygı G, Oğuztürk H, Akın Z**, 2002. İki köy ilköğretim okulu öğrencilerinde bağırsak parazitlerinin dağılımı. *T Parazitol Derg*, 26 (3): 292-98.
19. **Suay A, Mete Ö, Elçi S**, 1995. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına son 7 yılda başvuran hastalarda saptanan giardiasis olguları. *Dicle Tıp Derg*, 22 (2/A): 94-98.
20. **Uzun A, Karşahin Ö, Yeşilmen S, Topçu M, Tekay F, Gül K**, 2003. Diyarbakır'ın farklı bölgelerindeki beş ilköğretim okulunda bağırsak parazitlerinin araştırılması. XIII. Ulusal Parazitoloji Kongresi. Kongre kitabı. Konya .
21. **Vidal MFC, Gilman RH, Ungar BLP, Verestegul MR et al** 1991. Detection of *Giardia lamblia* antigen in children living in a Peruvian Periurban Shantytown (Pueblo Joven). *J Clin Microbiol*, 29 (3): 636-37.
22. **Yılmaz N, Otağ F, Kaya Bartunkal S**, 1994. Giardiyaz tanısında EIA testi ile *Giardia lamblia* spesifik antijenlerinin gösterilmesi. *T Mikrobiyol Cem Derg*, 24 (1-2): 126-128.