

# Dışkıda *Entamoeba histolytica*'nın Saptanmasında Kullanılan Yöntemlerin Birlikte Değerlendirilmesi

Sema TUNCAY, Tonay INCEBOZ, Leyla ÖVER, Gülter YALÇIN, Selma USLUCA,  
Serap ŞAHİN, Songül Bayram DELİBAŞ, Ümit AKSOY, Çiler AKISÜ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

**ÖZET:** Bu çalışmada; Ocak 2004-Mayıs 2006 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Ko-proparazitoloji Laboratuvarına değişik kliniklerden çeşitli gastrointestinal şikâyetler ile başvuran toplam 9378 hastaya ait dışkı örnekleri incelendi. Tüm dışkı örneklerine nativ-Lugol yöntemi ve şüpheli durumlarda trichrome boyama, Robinson besiyerine ekim ve/veya *Entamoeba* CELISA Path kiti ile dışkıda antijen aranması yöntemleri uygulandı. Bu inceleme sonuçlarından en az bir yöntem ile *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar* kist ve/veya trofozoitleri saptanan 41 (%0,44) olgu pozitif olarak değerlendirildi. Bu olgulardan, 24 olguda dört yöntem, 14 olguda üç yöntem bir arada kullanılırken, 3 örneğe sadece nativ-Lugol ve trichrome boyama işlemleri yapılarak tanı konuldu. Pozitif olarak kabul edilen ve tümüne nativ-Lugol uygulanan 41 olgunun sadece 25'inde bu yöntemle *E. histolytica* / *E. dispar* kist ve/veya trofozoitleri saptanırken, kalan 16 dışkı örneğine diğer üç yöntemle tanı konuldu. Günümüzde *E. histolytica* ve *E. dispar* ayırımının yapılmasının gerekliliği kaçınılmazdır. Çünkü *E. dispar* tanısı konulduğunda hastanın tedavi edilmesi gerekli değilken, *E. histolytica* tanısı konulduğunda ivedilikle tedavi edilmesi zorunluluğu vardır. Bu nedenle tanı yöntemleri birlikte kullanılarak, gerektiğinde *E. histolytica* için spesifik ELISA ile güvenilirliği olan sonuçların verilmesi mümkün olacaktır.

**Anahtar Sözcükler:** *Entamoeba histolytica*, tanı yöntemleri

## The Evaluation of the Techniques Used for Diagnosis of *Entamoeba histolytica* in Stool Specimens

**SUMMARY:** In this study, stool samples of 9378 patients from different clinics, who presented at the laboratory of the department of parasitology of the Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine with several gastrointestinal complaints from January 2004 to May 2006, were examined. All stool samples were examined with the saline-Lugol method and, in suspicious cases, by trichrome staining, cultivation in Robinson's medium and/or antigen detection in stool with the *Entamoeba* CELISA Path kit. Forty-one cases (0.44%), in which *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* cysts and/or trophozoites were detected by at least one method, were found to be positive. Out of these 41 cases, four methods were used in 24 cases, three methods in 14 cases, whereas only saline-Lugol and trichrome staining methods were used in 3 cases. Even though all 41 positive cases had been examined with the saline-Lugol method, only 25 cases were found to be positive with this method for *E. histolytica*/*E. dispar* cysts and/or trophozoites. The remaining 16 cases were diagnosed by the other three methods. Today it is necessary to distinguish *E. histolytica* from *E. dispar* because the patient does not need to be treated if *E. dispar* is identified whereas if *E. histolytica* is identified the patient needs urgent treatment. That's why it is necessary to get reliable results using diagnostic methods together and, when needed, by ELISA specific for *E. histolytica*.

**Key Words:** *Entamoeba histolytica*, diagnosis methods

## GİRİŞ

Amoebiasis, *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*)'nın neden olduğu tüm dünyada yaygın olarak görülen bir parazit enfeksiyonudur. Tropikal ve subtropikal bölgeler başta olmak üzere

tüm dünyada ve ülkemizde bir halk sağlığı sorunu olarak önemini korumaktadır (6). Enfeksiyon, *E. histolytica* kistleri içeren dışkı ile kontamine olmuş su ve gıdaların alınması ile bulaşmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre her yıl 500 milyon kişi *E. histolytica* ile enfekte olmasına rağmen bunların yalnız %10'unda semptomatik hastalık görülmektedir (10, 32). Yılda 40.000-100.000 kişinin ameobiasis nedeni ile öldüğü tahmin edilmekte olup dünyada sıttmadan sonra ikinci sıklıkta ölüme neden olan parazitik hastalık olduğu bildirilmektedir (27).

Geliş tarihi/Submission date: 12 Aralık/12 December 2006

Düzeltilme tarihi/Revision date: 26 Mart/26 March 2007

Kabul tarihi/Accepted date: 27 Mart/27 March 2007

Yazışma /Corresponding Author: Tonay Inceboz

Tel: - Fax: -

E mail: tonay.inceboz@deu.edu.tr

3. Tropikal Hastalıklar Kongresi'nde (06-09 Kasım 2006, Diyarbakır) sunulmuştur.

İnsanlarda morfolojik olarak benzer olan iki *Entamoeba* türünden patojen olan *E. histolytica* amibik kolit ve karaciğer apsesi oluştururken, apatojen olan *Entamoeba dispar* (*E. dispar*) hastalık yapmamaktadır (10). Dünya nüfusunun yaklaşık %10'unun *E. histolytica/E. dispar* ile kolonize olduğu, bunların %90'ının apatojenik *E. dispar* ve yalnız %10'unun patojenik *E. histolytica* olduğu bildirilmektedir (5).

İntestinal amoebiasisin tanısı mikroskobik dışkı incelemelerinde etkenin kist ve/veya trofozoit şekillerinin görülmesi ile konabilmektedir. Ancak bir kez yapılan mikroskobik inceleme ile parazitin kist ve trofozoitlerine rastlama şansının ancak %33-50 olduğu, farklı zamanlarda yapılan üç dışkı incelemesi sonucunda ise bu oranın %75'e yükseldiği ifade edilmektedir (8). Fakat yapılan araştırmalar birçok faktörün etkensel tanıyı zorlaştırdığını göstermektedir. Bunlar;

- *E. histolytica* ile enfekte kişilerin dışkılarında her zaman kist ve trofozoitlerin bulunmaması
- Parazitin kistlerinin diğer amip türlerinin kistleriyle, trofozoitlerinin diğer amip türlerinin trofozoitleri, makrofajlar ve lökositlerle karıştırılabilmesi
- Dış ortamda bekletilen dışkıdaki trofozoitlerin ½-1 saat gibi kısa sürede parçalanarak görülemez hale gelmesi ve bu nedenle mikroskobik incelemenin zaman geçirilmeden yapılmasının zorunlu oluşu
- İncelemelerde deneyimli kişilere ihtiyaç duyulması olarak sıralanabilir (4, 16, 26).

Bu güçlükler araştırmacıları *E. histolytica*'nın tanısında direkt taniya yardımcı olabilecek daha güvenilir yöntemlerin aranmasına yönlendirmiştir. Bu amaçla trichrome boyama, kültür ve ELISA ile dışkıda antijen aranması, PCR gibi yöntemlerin direkt bakı ile birlikte uygulanmasının tanıya önemli katkılar sağlayabileceği ileri sürülmüştür (31).

Bu çalışmanın amacı; Ocak 2004- Mayıs 2006 arasında, Dokuz Eylül Üniversitesi (DEÜ) Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Koproparazitoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda nativ-lugol, trichrome boyama, kültür ve ELISA ile dışkıda antijen aranması yöntemlerinin dışkı örneklerinde *E. histolytica/E. dispar*'ın saptanmasındaki etkinliğinin araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

**Örneklerin toplanması:** Ocak 2004-Mayıs 2006 tarihleri arasında Merkez Laboratuvarı Parazitoloji Polikliniği Koproparazitoloji Laboratuvarına değişik kliniklerden çeşitli gastrointestinal şikayetler ile başvuran hastalar tarih sırasına göre kayıt defterinde belirtildikten sonra dışkı örnekleri incelenmiştir.

**Örneklerin incelenmesi:** Dışkı örnekleri, nativ-lugol, gerektiğinde trichrome boyama, Robinson besiyerine ekim ve *E. histolytica*'ya spesifik Entamoeba CELISA Path kiti ile dışkıda antijen aranması yöntemleri kullanılarak incelenmiştir.

Tüm dışkı örneklerinden nativ-Lugol preparatlar hazırlanarak ışık mikroskobunda X40 büyütmede incelenmiştir.

Şüpheli görülen örneklerden yayma preparat hazırlanıp Wheatley'in trichrome boyası ile boyanmış ve ışık mikroskobunda X100 büyütmede incelenmiştir. Trichrome boyalı preparatlarda merkezi ve ufak bir karyozom ve hemen hemen her yerinde aynı büyüklükte düzgün bir periferik kromatin içeren tipik nükleus yapılarının görülmesi ile *E. histolytica/E. dispar* tanısı konulmuştur.

Yine şüpheli görülen örneklerden Robinson besiyerine ekim yapılmış, 24 ve 48 saat sonra *E. histolytica/E. dispar* açısından üreme olup olmadığı kontrol edilmiş, gerektiğinde yayma preparat hazırlanıp Wheatley'in trichrome boyası ile boyanmış ve ışık mikroskobunda X100 büyütmede incelenmiştir.

Ayrıca şüpheli örneklerde *E. histolytica*'ya spesifik Entamoeba CELISA Path kiti ile dışkıda amip antijeni aranmıştır.

Bu inceleme sonuçlarından en az birinde *E. histolytica/E. dispar* kist ve/veya trofozoitleri saptanan olgular pozitif olarak değerlendirilip çalışma kapsamına alınmıştır.

## BULGULAR

Ocak 2004-Mayıs 2006 tarihleri arasında DEÜTF Parazitoloji Anabilim Dalı Koproparazitoloji Laboratuvarına başvuran toplam 9378 hastanın dışkı örneğinde saptanan 668 (%7,12) parazit dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Yıllara göre parazitlerin dağılımı

Parazit	2004	2005	2006 (Ocak-Mayıs)	Toplam (%)
<i>E. histolytica</i> ve/veya <i>E. dispar</i>	10	31	-	41 (0,44)
<i>E. coli</i>	43	41	13	97 (1,03)
<i>I. bütschlii</i>	18	13	3	34 (0,36)
<i>E. nana</i>	-	16	7	23 (0,25)
<i>E. hartmanni</i>	2	3	1	7 (0,07)
<i>B. hominis</i>	102	173	70	345 (3,68)
<i>G. intestinalis</i>	45	36	12	93 (1,00)
<i>T. intestinalis</i>	3	3	1	7 (0,07)
<i>C. mesnili</i>	3	3	-	6 (0,06)
<i>Taenia spp.</i>	2	5	2	9 (0,09)
<i>H. nana</i>	6	1	-	7 (0,07)
<b>Toplam</b>	<b>234</b>	<b>325</b>	<b>109</b>	<b>668 (7,12)</b>

Herhangi bir yöntem ile *E. histolytica/E. dispar* saptanan toplam 41 olgunun 29 tanesinde kültür yapılmış, 33 tanesinde dışkıda amip antijeni incelenmiştir. Sonuç olarak değerlendirildiğinde; 24 olguda dört yöntem, 14 olguda üç yöntem bir arada kullanılmış, 3 olguda sadece nativ-lugol ve trichrome boyama yapılarak inceleme yapılmış ve sonuçları Tablo 3 ve 4'te gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Koprolojik incelemelerde kullanılan yöntemlerin yıllara göre dağılımı

Yöntem	2004	2005	2006 (Ocak-Mayıs)	Toplam
Nativ-Lugol	4084	3736	1558	9378
Trichrome	266	336	52	654
Kültür	236	332	127	695
ELISA	146	389	142	677

**Tablo 3.** *E.histolytica* ve/veya *E.dispar* saptanan hastalarda kullanılan yöntemlerin pozitiflik oranları

Yöntem	Toplam	<i>E.histolytica</i> / <i>E.dispar</i> saptanan
Nativ-Lugol	9378	25 (%0,27)
Trichrome	654	24 (%3,67)
Kültür	695	20 (%2,88)
ELISA	677	18 (%2,66)

**Tablo 4.** Birlikte kullanılan yöntemler ile elde edilen sonuçlar

4 Yöntem (NL+Trich.+Kültür+ELISA)	3 Yöntem	2 Yöntem (NL+ Trich.)
Kültür (-) ELISA (-)	1	NL+Trich.+ Kültür 5
Kültür (+) ELISA (+)	2	NL+Trich.+ ELISA 9
Kültür (-) ELISA (+)	7	
Kültür (+) ELISA (-)	14	
<b>Toplam</b>	24	14

## TARTIŞMA

Ameobiasisin etkensel tanısında ucuzluğu ve kolay uygulanabilirliğinden dolayı en çok kullanılan, nativ-lugol yöntemidir. Ancak bu yöntemin sensitivitesinin düşük oluşu ve alınan sonuçlardaki hata payının fazla oluşu araştırmacıları son yıllarda nativ-lugol yönteminin yanı sıra trichrome boyama, besiyerine ekim, dışkıda *E.histolytica* antijeni aranması, PCR gibi yöntemlerden de yararlanmaya yöneltmiştir (31).

Klasik bilgilere göre mikroskopik bakıda sitoplazmasında fagosite edilmiş eritrositler bulunan trofozoitlerin görülmesi, *E.histolytica*'nın *E.dispar* ve diğer apatojen amiplerden ayırt edilmesini sağlamaktadır. Fakat özellikle kronik enfeksiyonlarda bu duruma çok sık rastlanmamaktadır (28). Ayrıca nadir de olsa *E.dispar*'ın da eritrositleri fagosite ettiği görülmüştür (12).

Mikroskopinin sensitivitesi en iyi koşullarda %10-60 arasında değişmekte ve dışkıda makrofajlar veya *E.dispar* ve *E.moshkovskii* gibi apatojen türlerin bulunması yanlış pozitif sonuçlara yol açabilmektedir (14).

Bizim laboratuvarımızda da saptanan 41 *E.histolytica/E.dispar* olgusunun ancak 25 tanesi direkt mikroskopi ile görülebilmektedir.

Ameobiasis tanısında besiyerlerine ekim, mikroskopi sırasında

gözden kaçan olguların teşhisine katkı sağlayabilmektedir.

McMillan ve McNeillage; *Entamoeba* tanısında Robinson besiyerini kullanmışlar ve bu yöntemin üstünlüğünü göstermişlerdir. Barsak amiplerini Robinson besiyerinde üretmenin kolay olduğunu ve laboratuvarlarda rutin olarak kullanılabilirliğini, ancak tür tayininde deneyimli kişilerin kararının faydalı olabileceğini bildirmişlerdir (19).

Shanta ve ark.; 82 amip olgusunu nativ-lugol, trichrome, demir hematoksilen boyama ve kültür yöntemleri ile test etmişler, nativ-lugol ile negatif bulunan olguları kültür yöntemi ile saptadıklarını açıklamışlardır (25).

Koltaş ve ark; 130 dışkı örneğinin trichrome boya ile sadece 20'sinde ve kültür ile 30 tanesinde amip saptamış ve bunlardan sadece birinin *E. histolytica* olduğunu bildirmişlerdir (18).

Uyguladığımız dört yöntemden herhangi biri ile *E.histolytica/E.dispar* saptanan 41 olgudan 29'unda Robinson besiyerine ekim yapılmış, 20 olguda üreme olmuştur. Bu olgulardan 2'sinde nativ-lugol ve trichrome boya yöntemleri ile *E.histolytica/E.dispar* saptanmadığı halde, kültürde *E. histolytica/E.dispar* üremiştir.

Buna karşın örneklerin çalışılmasındaki gecikmeler veya örnek alınmasından önce anti-amibik tedaviye başlanması gibi nedenlere bağlı olarak her pozitif olgunun kültürde üretilememesi, kültür ve izoenzim analizi çalışmalarının bir hafta gibi uzun sürede sonuç vermesi bu yöntemin dezavantajları olarak gösterilmektedir (10). Robinson tarafından yapılan çalışmada; incelenen 4236 dışkıdan 1035'inde amip saptandığı, bunlardan ancak 612'sinin (%59,13) besiyerinde üretilebildiği açıklanmıştır (23). Bir başka çalışmada mikroskopi ile pozitif bulunan olgulardan %46'sının kültürde üretilebildiği bildirilmektedir (22). Ayrıca dışkı örneklerinde çok sık rastlanan *Blastocytis hominis* gibi parazitlerin kültürde aşırı üremesi, *E.histolytica/E.dispar*'ın sıklıkla gözden kaçırılmasına neden olabilmektedir (28).

Kültürde üretilen amipler ile izoenzim çalışmaları gerçekleştirilerek tür ayrımları da yapılabilmektedir. *E.histolytica* ve *E.dispar* türlerinden toplam 24 izoenzim örneği elde edilmiştir. Ancak ksenik kültürlerde bakteri izoenzim paternleri ile benzerliklerinden dolayı bu izoenzimlerin ancak iki tanesinin tanıda güvenilir olduğu bulunmuştur. Fakat hezkokinaz enzimindeki genetik farklılıklardan dolayı *E.histolytica* ve *E.dispar*'ın ayırt edilmesinde zimodem analizi güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bütün bu nedenlerden dolayı kültür ve zimodem analizinin, rutin tanıdan çok epidemiyolojik araştırmalarda kullanılmasının daha uygun olacağı ifade edilmektedir (28).

Son yıllarda yapılan araştırmalar amebiasisin hızlı ve kesin tanısı için serolojik yöntemlerin rutin tanıda yaygın olarak kullanıldığını ve özellikle dışkıda antijen arama yöntemlerinin duyarlılığının oldukça yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.

Ungar ve ark. tarafından tavşanlardan elde edilen monoklonal antikorlar kullanılarak insan dışkılarında *E. histolytica* antijenini saptayan ELISA yöntemi geliştirilmiştir. Araştırmacılar direkt bakı ile pozitif bulunan olguların %82'sini ve negatif buldukları olguların %1,6'sını ELISA yöntemi ile saptadıklarını, bu yöntemin *E. histolytica* tanısı için duyarlı ve özgül olduğunu bildirmişlerdir (30).

Benzer bir çalışmada akut amoebiasisin erken tanısı ve tedavisinin yönlendirilmesi için monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA testinin uygun olduğu ileri sürülürken (3), Jain ve ark. yaptığı çalışmada da capture ELISA yönteminin duyarlı, özgül ve çok sayıda örneğin aynı anda incelenmesi için elverişli olduğundan söz edilmiştir (17).

Sengupta ve ark. tarafından aksenik *E. histolytica* trofozoitlerine karşı monoklonal antikor elde edildiği, bu monoklonal antikorların kullanıldığı ELISA yönteminin çok düşük seviyedeki antijeni dahi saptadığı ve *E. coli*, *I. butschlii*, *E. nana*, *E. hartmanni* ile negatif sonuç verdiği rapor edilmiştir (24).

Gonzales-Ruiz ve ark.'nın yaptığı çalışmada amipli dizanteri tanısı için dışkıda *E. histolytica* antijenlerini saptamak amacı ile spesifik monoklonal antikorlar kullanılarak Fecal Antigen Capture (FAC) ELISA yöntemi uygulanmış ve diğer parazitlerle çapraz reaksiyon vermediği gözlenmiştir. FAC ELISA'nın sensitivitesi %87 ve spesifitesi %100 olarak bulunmuş ve bu yöntemin amipli dizanteri ile ilgili saha çalışmalarında alternatif bir tanı yöntemi olarak uygulanabileceği ifade edilmiştir (9).

Bangladeş'in kırsal bölgesinde yaşayan çocuklarda *E. histolytica* yaygınlığını araştırmak için yapılan bir çalışmada direkt mikroskopi, kültür ve monoklonal ELISA yöntemleri kullanılmıştır. Araştırma sonucunda çocukların mikroskobik bakı ile %3,5'i, kültür ile %4,2'si ve ELISA ile %8'i pozitif bulunmuştur. ELISA sonuçlarının doğruluğu izoenzim çalışmaları ile denetlenmiş ve testin sensitivitesi %87,5, spesifitesi %100 olarak saptanmıştır. Araştırmacılar bu analizleri sonucunda amoebiasis tanısında dışkıda ELISA ile antijen arama yönteminin direkt bakı ve kültürden daha spesifik sonuçlar verdiğini açıklamışlardır. Monoklonal ELISA yönteminin *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* türleri ve diğer enterik patojenler ile çapraz reaksiyon vermediği de belirlenmiştir (11).

Ülkemizde Aksoy tarafından 1998 yılında yerli *E. histolytica* suşu TYSGM-9 besiyerinde aksenik olarak üretildikten sonra eriyik antijen elde edilmiştir. Bu antijenin sağlıklı tavşana verilmesi ile elde edilen poliklonal antikorlar ELISA plaklarına kaplanarak dışkı bakısında *E. histolytica* açısından pozitif bulunan örnekler çalışılmıştır. Yöntemin spesifitesi %99,3 ve sensitivitesi %93,1 olarak saptanmış olup bu verilerin yurt dışında yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu gözlenmiştir (2).

İnceboz tarafından 250 dışkı örneği ile gerçekleştirilen amoebiasis araştırmasında ProspecT Microplate Immunoassay monoklonal ELISA kiti, nativ-lugol, modifiye formol-eter

konsantrasyon, trichrome boyama, Robinson besiyerine ekim yöntemleriyle birlikte kullanılmıştır. Etkensel tanı yöntemlerinde örneklerin %13,2'sinde *E. histolytica* saptanırken monoklonal ELISA ile %16'sında *E. histolytica* antijenlerinin varlığı belirlenmiştir (15).

Amoebiasisin patojen *E. histolytica* veya apatojen *E. dispar* ile oluştuğunu ayırt etmede Gal/GalNac inhibitabl adherence protein antijeninin önemli olduğu ve bu antijenin patojenite kriteri olarak değerlendirildiği ifade edilmiştir (1). Gelişmiş antijen saptama yöntemlerinin *E. histolytica*'yı *E. dispar*'dan ayırt edebilecek kadar spesifik olduğu saptanmış ve bu testlerle hızlı sonuç alınabilmesinin büyük avantaj sağladığı bildirilmiştir (7, 12, 13, 20). Amip antijeni aranmasında kullanılan testler, Gal/GalNac spesifik lektini saptamaktadır. *E. histolytica* ve *E. dispar* lektinleri arasındaki antijenik farklılıklar bu iki türün ayırt edilmesine olanak sağlamaktadır (14).

Nesbitt ve ark.'nın 842 dışkı örneğini inceledikleri çalışmada mikroskopi ile %8,7 oranında *E. histolytica* saptanırken ELISA ile *E. histolytica* prevalansının %0,8 ve *E. dispar* prevalansının %7,4 olduğu bildirilmiştir (21).

Tanyüksel ve ark. nativ-lugol ve trichrome boyama yöntemi ile 380 dışkı örneğinin 91'inde (%24) *E. histolytica* saptarken ELISA ile mikroskopi ile pozitif olduğu saptanan örneklerin ancak 14 tanesinde ve mikroskopi ile negatif olduğu saptanan örneklerin 37 tanesinde *E. histolytica* saptamışlardır (29).

Antijen saptayan ELISA testlerinin avantajları şöyle sıralanabilir: (i). Bazı testler *E. histolytica* ve *E. dispar*'ı ayırt edebilmektedir. (ii). Sensitivite ve spesifiteleri yüksektir. (iii). Uygulamak için deneyimli personele ihtiyaç yoktur. (iv). 96 çukurlu plakların kullanılması su kaynaklı salgınlar gibi büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalarda tarama amaçlı kullanılmalarını sağlamaktadır (28).

Günümüzde halen *E. histolytica*'nın kesin tanısının konması büyük bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu güçlüklerin başında *E. histolytica*/*E. dispar* kist ve/veya trofozoitlerinin morfolojik olarak birbirinden ayrılabilmesi gelmektedir.

Laboratuvarımızda Ocak 2004-Mayıs 2006 arasında 9378 dışkı örneği incelenmiş, *E. histolytica*/*E. dispar* saptanan 41 hastadan ELISA uygulanan 33 tanesinin ancak 18 tanesinde *E. histolytica* saptanmıştır. Bu durumda direkt mikroskobik bakı ve kültür yöntemleriyle saptanmış olmasına rağmen, ELISA yöntemiyle saptanamayan 15 olgunun *E. dispar* olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca dışkı kültürü yapılan 14 hastada Robinson besiyerinde üreme olurken bu hastaların ELISA ile dışkıda amip antijeni sonuçları negatif olarak bulunmuş, bu durumda da hastalarda bulunan amip türünün *E. dispar* olduğu düşünülmüştür. Ancak *E. dispar* ile ilgili araştırma yapılamamıştır.

Bunun tam tersi olarak direkt mikroskobik bakı yöntemi ile negatif olduğu bildirilen örneklerin ise 13 tanesinde ELISA ile *E. histolytica* saptanmıştır.

Biz de bu noktada gastrointestinal şikayetleri olan hastalarımızın doğru şekilde yönlendirilebilmeleri için bugüne kadar kullandığımız tanı yöntemlerini birlikte değerlendirerek etkinliklerini araştırdık. Günümüzde *E.histolytica* ve *E.dispar* ayırımının yapılmasının gerekliliği kaçınılmazdır. Çünkü *E.dispar* tanısı konulduğunda hastanın tedavi edilmesi gerekli değilken, *E.histolytica* tanısı konulduğunda ivedilikle tedavi edilmesi zorunluluğu vardır. Bu nedenle tanı yöntemleri birlikte kullanılarak gerektiğinde *E.histolytica/ E.dispar* ayırımı yapabilen ELISA veya daha ileri bir yöntem olan PCR yöntemi rutin kullanılır duruma getirilmelidir. Bu şekilde güvenilirliği daha yüksek olan sonuçların verilmesi mümkün olacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. **Abd-Alla MD, Jackson TF, Gathiram V, el-Hawey AM, Ravdin JI**, 1993. Differentiation of Pathogenic *Entamoeba histolytica* Infections from Nonpathogenic Infections by Detection of Galactose Inhibitable Adherence Protein Antigen in Sera and Feces. *J Clin Microbiol*, 31(11): 2845-2850.
2. **Aksoy Ü**, 1998. *Entamoeba histolytica* Antijeninin Dışkıda ELISA Yöntemi ile Aranması ve Direkt Bakı Yöntemleri ile Karşılaştırılması. İhtisas tezi.
3. **Anand P, Malaviya B, Das P, Mateen MA, Habibullah CM, Das SR**, 1985. Multilayer-enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Entamoeba histolytica* Trophozoite Coproantigen. *Immunol Invest*, 14(5): 443-453.
4. **Ash LR, Orihel TC**, 1987. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. American Society of Clinical Pathologists ASCP Pres, p.7-52.
5. **Braga LL, Mendonca Y, Paiva CA, Sales A, Cavalcante ALM, Mann BJ**, 1998. Seropositivity for and Intestinal Colonization with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in Individuals in Northeastern Brazil. *J Clin Microbiol*, 36: 3044-3045
6. **Demirdağ K, Kaplan M, Özden M, Kalkan A**, 2003. İntestinal Amebiasis: Olguların Retrospektif Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 27(1): 9-11.
7. **el-Hamshary EM, el-Shewy KA, Hegazy MM, Zakaria H**, 2004. Diagnostic potentials of copro-antigen detection based ELISA, compared to microscopy in intestinal amoebiasis. *J Egypt Soc Parasitol*, 34(2): 601-610.
8. **Garcia LS, Bruckner DA**, 1993. 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 Pres, 6-48: 487-540.
9. **Gonzales-Ruiz A, Haque R, Rehman T, Aguirre A, Hall A, Guhl F, Warhust DC, Miles MA**, 1994. Diagnosis of Amebic Dysentery by Detection of *Entamoeba histolytica* by an Invasive Strain-specific, monoclonal-antibody Based Enzyme-linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol*, 32(4): 964-970.
10. **Haque R, Ali IKM, Akther S, Petri WA, Jr**, 1998. Comparison of PCR, Isoenzyme Analysis, and Antigen Detection for Diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol*, 449-452.
11. **Haque R, Faruque AS, Hahn P, Lyerly DM, Petri WA Jr**, 1997. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infection in children in Bangladesh. *J Infect Dis*, 175(3): 734-736.
12. **Haque R, Neville LM, Hahn P, Petri WA Jr**, 1995. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol*, 33(10): 2558-2561.
13. **Haque R, Neville LM, Wood S, Petri WA Jr**, 1994. Short report: detection of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* directly in stool. *Am J Trop Med Hyg*, 50(5): 595-596.
14. **Haque R, Petri WA Jr**, 2006. Diagnosis of amebiasis in Bangladesh. *Arch Med Res*, 37(2): 273-276.
15. **Inceboz T, Uner A**, 2000. The value of determining antibodies against *Entamoeba histolytica* in stool samples using ELISA test in the diagnosis of Amoebiasis. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 24(1): 25-28.
16. **Ivey MH**, 1980. Laboratory Procedures in Parasitology in: Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, Eighth Edition. Sannenwirth AC, Jarett L(eds) The CV Mosby Company USA, p.2165-2198.
17. **Jain U, Patel MT, Desai PK, Kaliraj P**, 1990. Development of simple and stable ELISA for detection of copro antigen in intestinal amoebiasis. *Indian J Exp Biol*, 28(7): 671-675.
18. **Koltaş İS, Özcan K, Aras D, Mıdıklı D**, 1999. Adana'nın Çeşitli Sağlık Kuruluşlarında Amip Görülen Dışkıların Kültür ve Trikróm Boyama Yöntemleri ile Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 23(2): 126-128.
19. **McMillan A, McNeillage GJC**, 1984. Comparison of the Sensitivity of Microscopy and Culture in the Laboratory Diagnosis of Intestinal Protozoal Infection. *J Clin Pathol*, 37: 809-811.
20. **Mirelman D, Nuchamowitz Y, Stolarsky T**, 1997. Comparison of use of enzyme-linked immunosorbent assay-based kits and PCR amplification of rRNA genes for simultaneous detection of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar*. *J Clin Microbiol*, 35(9): 2405-2407.
21. **Nesbitt RA, Mosha FW, Katki HA, Ashraf M, Assenga C, Lee CM**, 2004. Amebiasis and comparison of microscopy to ELISA technique in detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *J Natl Med Assoc*, 96(5):671-677.
22. **Proctor EM, Wong Q, Yang J, Keystone Js**, 1987. The Electrophoretic Isoenzyme Patterns of Strains of *Entamoeba histolytica* Isolated in Two Major Cities in Canada. *Am J Trop Med Hyg*, 37(2): 296-301.
23. **Robinson GL**, 1968. Laboratory Diagnosis of Human Parasitic Amoebae. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 62(2): 285-294.

24. **Sengupta K, Das P, Johnson TM, Chaudhuri PP, Das D, Nair GB**, 1993 Production and characterization of monoclonal antibodies against a highly immunogenic fraction of *Entamoeba histolytica* (NIH:200) and their application in the detection of current amoebic infection. *J Eukaryot Microbiol*, 40(6): 722-726.
25. **Shanta KS, Bhat KG, Patil CS, Joglekar HD**, 1998. Evaluation of Laboratory Techniques for Diagnosis of Amoebiasis. *J Commun Dis*, 30 (2) : 103-106.
26. **Smith JW, Bartlett MS**, Diagnostic Parasitology Introduction and Methods Ed. Balows A, in Section VI Parasites, Manual of Clinical Microbiology American Society for Microbiology Chapter 66 Washington DC Pres, p.701-717.
27. **Stanley SL**, 2003. Amoebiasis. *The Lancet*, 361: 1025-1034.
28. **Tanyuksel M, Petri WA Jr**, 2003. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev*, 16(4): 713-729.
29. **Tanyuksel M, Yilmaz H, Ulukanligil M, Araz E, Cicek M, Koru O, Tas Z, Petri WA Jr**, 2005. Comparison of two methods (microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of amebiasis. *Exp Parasitol*, 110(3): 322-326.
30. **Ungar BL, Yolken RH, Quinn TC**, 1985. Use of A Monoclonal Antibody in an Enzyme Immunoassay for the Detection of *Entamoeba histolytica* in Fecal Specimens. *Am J Trop Med Hyg*, 34(3): 465-472.
31. **Üstün Ş, Aksoy Ü, Üner A**, 1999. Gastrointestinal Yakınmalı Hastalarda Amoebiosis Sıklığının Araştırılması. *Türkiye Parazit Derg*, 23(4): 367-371.
32. **WHO**, 1997. Ameobiasis. *Weekly Epidemiol Rec*, 72: 97-100.