

Çocuklarda dışkı örneklerinde *Giardia intestinalis* saptanmasında ELISA ve direkt mikroskopik incelemenin karşılaştırılması

Comparison of ELISA and direct microscopic examination for detecting Giardia intestinalis in children's stool samples

Keremettin Yanık¹, Mehmet Cihan Ekmen², Ali Serkan Hepsert³, Murat Hökelek⁴,
Murat Günaydın¹, Belma Durupınar²

ÖZET

Amaç: İnsanları fekal-oral yolla enfekte eden *Giardia intestinalis*, giardiyazis etkenidir. Özellikle sosyoekonomik durumu düşük bölgelerdeki çocuklarda Türkiye’de yaygın olarak görülen malabsorbsiyona neden olarak büyüme geriliğine yol açmaktadır. Bu çalışmada, giardiazisin belirlenmesinde Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile direkt mikroskopik dışkı incelemesinin sonuçlarının karşılaştırılmasını amaçladık.

Yöntem: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesine diyare ile başvuran 0 ile 16 yaş arası 761 çocuğun dışkı örnekleri ELISA testi ve direkt mikroskopik dışkı inceleme ile araştırıldı.

Bulgular: Çalışmada hastaların 356’sı (%46,7) erkek ve 405’i (%53,3) kız olarak bulundu. Giardiazis için direkt mikroskopi ve ELISA testinin her ikisi de 17 (%2,2) çocukta pozitif sonuç verdi. Çocukların 13 (%17)’ünde ELISA pozitif bulundu fakat dışkı örneklerinde direkt mikroskopi ile *Giardia intestinalis* görülmedi. Hastaların geri kalan 731 (%96.1)’inde ELISA ve direkt mikroskopinin her ikisi ile birlikte giardiazis için negatif olarak bulundu.

Sonuç: Direkt mikroskopik inceleme yöntemleri maliyet açısından ekonomik olması ve dışkıda bulunabilecek diğer parazitlerin de belirlenebilmesi nedeniyle sık tercih edilmektedir. Ancak çocuklarda giardiyazis semptomları bulunduğu fakat direkt mikroskopik inceleme ile parazit belirlenemediği durumlarda, ELISA testi ile *G. intestinalis* antijeni aramak alternatif bir yöntem olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: *G. intestinalis*, ELISA, direkt mikroskopik inceleme, karşılaştırma, tanı

ABSTRACT

Objective: *Giardia intestinalis* is the causes of giardiasis, which infects human fecally-orally. This leads to growth retardation in children, leading to malabsorption, which is widespread in Turkey, especially in the regions having low socio-economic status. In this study we aimed to compare results of Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and direct microscopic stool examination for detecting giardiasis.

Methods: The feces samples of 761 children aged between 0 and 16 years who applied to Ondokuz Mayıs University Hospital with diarrhea were evaluated by using ELISA test and direct microscopic examination.

Results: The study comprised 356 (46.7%) boys and 405 (53, 3%) girls. Both direct microscopy and ELISA gave positive results for giardiasis in 17 (2.2%) children. In 13 (17%) of the children ELISA was found positive but direct microscopy did not show *Giardia intestinalis* at stool samples. Both ELISA and direct microscopy of the remaining 731 (96.1%) of the patients gave negative results for giardiasis.

Conclusion: Direct microscopic examination methods are often preferred because they are more cost-effective, and some other parasites can be found by examination of feces. Yet, in cases in which children have giardiasis symptoms but parasites cannot be determined by microscopic examination to search for *G. intestinalis* antigen by means of ELISA can be used as an alternative method. *J Clin Exp Invest 2013; 4 (3): 343-346*

Key words: *G. intestinalis*, ELISA, direct microscopic examination, comparison, diagnosis

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, 55139, Kurupelit, Samsun, Türkiye.

² Balıklı Göl Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji AD, Şanlıurfa, Türkiye

³ İne Göl Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji AD, Bursa, Türkiye

⁴ Cerrahpaşa Üniversitesi Mikrobiyoloji AD, İstanbul, Türkiye

Correspondence: Keremettin Yanık,

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Samsun, Türkiye Email: keremettinyanik@yahoo.com

Received: 12.03.2013, Accepted: 22.07.2013

Copyright © JCEI / Journal of Clinical and Experimental Investigations 2013, All rights reserved

GİRİŞ

Giardia intestinalis, fekal-oral bulaşan bir protozoal barsak patojenidir. *Giardia intestinalis*'in olumsuz çevre koşullarına ve kimyasallara nispeten dirençli enfeksiyöz kist formu ile incebağırsaklarda yaşayan ve bölünerek çoğalan trofozoit olmak üzere iki morfolojik formu vardır [1,2]. Giardiyazis, az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde salgınlar şeklinde görülmektedir. Hayvan ve insanlar arasında çapraz geçiş olabilmekle birlikte insana bulaş genellikle kist ile kontamine su ve besinlerin oral yolla alımı ile oluşur. Bu sebeple sanitasyon düzeyi enfeksiyonun prevalansı ile direkt olarak ilişkilidir. Bunun dışında heteroseksüel yada homoseksüel temasla da bulaş olabilmektedir. Enfeksiyonun oluşabilmesi için 10 kadar kistin alınması yeterlidir. Giardiyazis eşit cinsiyet dağılımına sahiptir [1,2]. Özellikle çocuklarda gelişme geriliği, ishal ve karın ağrısı gibi belirtilerle ortaya çıkmakta ve tanısında karşılaşılan birtakım zorluklar nedeniyle benzer belirtiler gösteren bazı hastalıklarla karışabilmektedir [2]. En sık 0-5 yaş arası çocuklarda görülürken ikinci sıklıkta 31-40 yaş arası erişkinlerde görülür. *Giardia intestinalis*'le enfekte çocuklarda klinik ve patolojik belirtiler farklılıklar göstermektedir. Giardiyazis, ülkemizde sosyo-ekonomik durumu ve alt yapısı iyi olmayan yerlerde daha sık olmak üzere yaygın olarak görülür [3]. Giardiyazis'in laboratuvar tanısı; dışkının veya duodenum aspirasyonu ile alınan örneklerin incelenmesi sonucunda *G. intestinalis* kist ya da trofozoitlerinin görülmesi ile konur [1,4]. Tek bir gaita örneğinin direkt mikroskopi ile incelenmesiyle etkenin görülme oranı %10-50 kadardır bu sebeple farklı günlerde daha fazla sayıda örneğin incelenmesi gerekir [1,4]. Aynı zamanda bazı kronik hastalarda parazit sayısının az olması, zaman zaman kist atılımının durması gibi nedenlerden dolayı, tanıda zorluklar yaşanmaktadır. Bu zorlukları aşmak için kanda antikor, dışkıda antijen aramak gibi indirekt yöntemler uygulanmaktadır [2,4]. Son yıllarda Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile gaitada antijen tespitine dayalı yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip testlerin geliştirilmesiyle bu zorluklar büyük ölçüde giderilmiştir [1,4].

Bu çalışmada çocuklarda giardiyazis tanısı için dışkı örneklerinde *G. intestinalis* antijenini aramaya dayanan Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) testinin direkt mikroskobik inceleme ile retrospektif olarak karşılaştırılması ve rutin laboratuvar tanısındaki yerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışmamıza, Ocak 2003-Aralık 2004 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıp Laboratuvarları Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü Parazitoloji Alt Disiplin Laboratuvarı'na gelen 0-16 yaş arası 761 hastanın dışkı örnekleri alındı. Örneklerden direkt, lugolle ve etil asetatla çöktürme yöntemleri ile hazırlanan preparatlar mikroskopta incelenerek değerlendirildi. Dışkı örnekleri aynı zamanda *Giardia* Ag-ELISA (*Giardia* Celisa, Cellabs Pty Ltd, Australia) yöntemi ile üretici firma önerisi doğrultusunda çalışıldı. Daha sonra mikroskobik yöntemler ile ELISA yöntemi sonuçları karşılaştırılarak değerlendirildi. İki yöntemin test sonuçlarının değerlendirilmesinde Ki kare testi kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya 751 çocuk hasta alındı. Bu hastaların 356'sı (%46,7) erkek ve 405'i (%53,3) kızdı. Hastalardan alınan aynı dışkı örneklerin 17'sinde (%2,2) direkt mikroskobik inceleme ve *Giardia* Ag-ELISA test sonuçları pozitif olarak bulundu. Çocuklardan 13'ünde (%1,7) gaitada *Giardia* Ag-ELISA test pozitif bulunurken direkt mikroskobik inceleme negatif olarak tespit edildi. Gaitada *Giardia* Ag-ELISA testi negatif olup direkt mikroskobik inceleme pozitif hasta sonucu bulunmadı. Kalan 731 (%96,1) hastanın, *Giardia* Ag-ELISA test ve direkt mikroskobik inceleme test sonuçları ise negatif olarak saptandı (Tablo 1). Çocuk hastaların cinsiyetlerine göre değerlendirildiğinde her iki cinsiyet için bulunan test sonuçları arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Her iki yöntem arasında ise Ag-ELISA test sonuçları mikroskopi sonuçlarına göre anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 1. *Giardia* Ag-ELISA ve mikroskopi sonuçlarının cinsiyete göre dağılımı

	Erkek	Kız	Toplam
ELISA: Pozitif	8	9	17
Mikroskopi: Pozitif	(%1,05)	(%1,18)	(%2,23)
ELISA: Pozitif	7	6	13
Mikroskopi: Negatif	(%0,91)	(%0,80)	(%1,71)
ELISA: Negatif	0	0	0
Mikroskopi: Pozitif			
ELISA: Negatif	379	352	731
Mikroskopi: Negatif	(%49,81)	(%46,25)	(%96,06)

TARTIŞMA

Giardia intestinalis, dünyanın her yerinde olduğu gibi yurdumuzda da özellikle çocuklarda sık rastlanılan bir protozondur [4,5]. Gelişmekte olan ülkelerde kontamine su kaynaklı gastroenterit salgınlarına neden olmaktadır [6]. Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde yurdumuzda giardiyazis görülme sıklığının %5-33 arasında değiştiği görülmektedir [4,7]. Tanıda altın standart dışkıda parazitin görülmesidir. Giardiyazis tanısı için tek bir dışkı örneği incelemesinin yeterli olmaması, ince bağırsak biyopsisinin invaziv olması, duodenal aspirasyonunun özellikle çocuklar için pratik olmaması yeni tanı yöntemlerinin araştırılmasına yol açmıştır [4,7]. Dışkıda *G. intestinalis* antijenlerine karşı hazırlanmış monoklonal ELISA kitlerinin özgül ve duyarlılıklarının yüksek olduğu bu alanda yapılan çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir [8]. Bu yöntemin en az nativ-lugol kadar hassas olduğu bildirilmiştir [8]. Mikroskopik yöntemlerin maliyet açısından ekonomik olması ve dışkıda bulunabilecek diğer parazitlerin de tespit edilebilmesi ELISA testine göre avantaj gibi görünmektedir. Ancak Aldeen ve ark.'ları [9]. Amerika Birleşik Devletlerinde ELISA'nın mikroskopik yöntemlere göre daha ucuz olduğunu bildirmişlerdir. Türkiye koşullarında ise ELISA, yalnızca serum fizyolojik ve lügolle yapılan inceleme yöntemlerine göre yaklaşık üç kat daha pahalı bir yöntemdir ve örnek sayısının azaldığı durumlarda maliyet daha da artmaktadır.

Giardiyazisin hızlı ve doğru tanısı için kullanılan mikroskopik yöntemlerin bazı olumsuz yönleri vardır. Parazitin aktif çoğalma periyoduna bağlı olarak tek bir dışkı örneğinin mikroskopik olarak incelenmesi ile olguların yaklaşık %50 kadarında parazit saptanabilmektedir. Ayrıca yoğunlaştırma işlemlerinin duyarlılığının, personel deneyimine ve hastanın antibiyotik almasına bağlı olması diğer dezavantajlarıdır [7]. Ayrıca ticari kitlerle çöktürme yöntemi de uygulandığında maliyeti Ag-ELISA yöntemine yaklaşmaktadır. Giardiyazis semptomları bulunduğu halde, rutin yöntemlerle parazit saptanamayan durumlarda, giardiyazisli hastaların takipleri ve tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde ve hasta kliniği ile mikroskopi sonuçlarının uyumsuzluğunda Ag-ELISA testi yol göstericidir. Ag-ELISA testi, *Giardia* kist ve trofozoit antijeninin araştırıldığı bir yöntem olup, parazitin ölmesi veya parçalanması ile sonuçlar etkilenmemektedir. Çeşitli ülkelerde yapılan, *G. intestinalis* tanısı için mikroskopik yöntemlerle Ag-ELISA testinin karşılaştırıldığı çalışmaların bazılarında Ag-ELISA testi ile daha fazla pozitiflik saptanmasına rağmen bu iki yöntemle elde edilen sonuçların istatistiksel olarak Ag-ELISA lehine anlamlı bir üstünlüğünün olmadığı belirtilmektedir.

Bazı çalışmalarda ise Ag-ELISA'nın mikroskopiden daha üstün olduğu bildirilmektedir [7]. ELISA testi sadece tek bir parazit antijeni araştırmaya yöneliktir. Mikroskopik yöntemlerle ise dışkıda bulunabilecek diğer parazitlerde değerlendirilebilmektedir. Bu nedenle Ag-ELISA testi, mikroskopik yöntemlerin yerine kullanılacak bir yöntem değildir. Ancak, ülkemiz koşullarında mikroskopisi negatif olan hastalardan tekrar tekrar örnek alınması çoğunlukla zor olmaktadır. Bu da özellikle kronik giardiyazis olgularında kist atılımı hergün olmadığından tanıda güçlükler oluşturmaktadır. Bu nedenle hekimlerin tetkik isterken şüpheli olgularda Ag-ELISA seçeneğini işaretlemeleri, kist içermeyen, ancak antijen içeren dışkı örneklerinde de *G. intestinalis*'in tek incelemede saptanmasına olanak tanımaktadır.

Aldeen ve ark.'ları [9] yaptıkları çalışmada ise Ag-ELISA'nın duyarlılığını %91 ve özgüllüğünü %98 olarak bildirmişlerdir. Addiss ve ark.'ları [10] üç kreşten aldıkları toplam 633 dışkı örneğini mikroskopi ve Ag-ELISA testi ile incelemişler; Ag-ELISA'nın duyarlılığını %93,9, özgüllüğünü %100 bulmuşlardır. Garcia ve ark.'ları 5 farklı ticari *Giardia* Ag-ELISA kitlerinin karşılaştırılmasına yönelik yaptıkları bir çalışmada tüm kitlerin duyarlılığının %94 ile %99 arasında değiştiğini, özgüllüğünün ise %100 olduğunu bildirmişlerdir. Yurdumuzda bu konuda yapılmış çalışma sayısı kısıtlıdır. Yılmaz ve ark.'ları [11] dışkı örneklerinde yaptıkları çalışmada ELISA'nın duyarlılığını %92,5, özgüllüğünü ise %97,7 olarak bildirmişlerdir. Karabuda ve arkadaşları 86 çocuk hastada yaptıkları bir çalışmada ELISA testinin duyarlılığını %90, özgüllüğü %100 olarak saptanmışlar [12]. Büyükbaba ve ark. sosyoekonomik düzeyi düşük ve sanitasyon koşulları yetersiz bölgedeki bir ilkokulun yedi yaş grubundaki öğrencilerin dışkı örneklerinde mikroskop incelemesi ve ELISA ile *G. intestinalis* araştırmışlardır. Yalnızca mikroskop incelemesi ile olguların %17,5'inde *G. intestinalis* kisti saptanmışlardır. Mikroskop incelemesinde kist belirlenmeyen dışkı örneklerinin %19,6'sında ise ELISA ile *G. intestinalis* antijeni belirlemişlerdir. Mikroskop incelemesi ile karşılaştırıldığında ELISA'nın duyarlılığının %100, özgüllüğünün ise %80 olduğu belirlenmiştir [13]. Hökelek ve ark.'nın 2000 yılında Samsun'da bir köy ilköğretim okulunda yaptıkları bir çalışmada direkt mikroskopi ile çocuklarda *G. intestinalis* oranı %19,1 olarak saptanmıştır [14]. Bizim çalışmamızda hastaların 356'sı (%46,7) erkek ve 405'i (%53,3) kızdı. Hastalardan alınan dışkı örneklerinin 17'sinde (%2,23) direkt mikroskopi ve ELISA pozitif olarak bulundu. Çocuklardan 13'ünde (%1,71) ELISA pozitif bulunurken direkt mikroskopi negatif olarak belirlendi. Kalan 731 (%96,06) hastanın ELISA ve direkt mikroskopi sonuçları negatif saptandı. *G. intestinalis*

lis pozitiflik oranı yurdumuzda çocuklar için yapılan az sayıdaki çalışmalara ve aynı yörede daha önce yapılan çalışmaya göre düşük bulundu. Bunun nedeni başvuran hastaların kent merkezinden gelmeleri olabilir. Ayrıca geçen zaman içerisinde hijyen ve sanitasyon koşullarının iyileşmesi de bir etken olarak düşünülebilir.

Sonuç olarak, direkt mikroskopik inceleme yöntemleri maliyet açısından ekonomik olması ve dışkıda bulunabilecek diğer parazitlerin de belirlenebilmesi nedeniyle sık tercih edilmektedir. Ancak çocuklarda özellikle kronik giardiyazis düşünülen olgularda hastaların takipleri ve tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde Ag-ELISA testi ile *G. intestinalis* antijeni aramak etkin bir yöntem olarak kullanılabilir. Ayrıca örnek sayısı fazla olan laboratuvarlarda ve çok sayıda örneğin kısa sürede incelenmesinin gerektiği epidemiyolojik çalışmalarda Ag-ELISA'nın avantajlı olabileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, et al. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 2006: p:1263-1266.
2. Seidel JS. Giardiasis. In: Ralph D. Feigin, James D. Cherry, Gail J. eds. Textbook of Pediatric Infectious Disease, 5th ed. Philadelphia, Pa, Saunders, 2004: p:2672-2676.
3. Yula E, Deveci Ö, Tekin A. Bir devlet hastanesinde çoklu intestinal parazit dağılımı ve etiyolojik analiz raporu. Journal Clin Exp Invest 2011;2:74-79.
4. Özekinci T, Uzun A, Suay A, ve ark. Giardiasisin tanısında Enzim İmmun Assay (EIA) ve direkt inceleme yöntemlerinin karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2005;29:89-92.
5. Garcia LS, Bruckner DA. Giardia lamblia Diagnostic Medical Parasitolog. Second edition. Washington DC: American Society for Microbiology 1993: p.31-39.
6. Aksoy Ü, Akısü Ç, Orhan V. Giardiyazis tanısında direkt mikroskopik baki ile immunofluoresans tekniği sonuçlarının karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2001;25:342-345.
7. Değerli S, Özçelik S. Giardiyazisin İndirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT) ve dışkıda antijen arayan ELISA yöntemleriyle tanısı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002;26:370-373.
8. Gödekmerdan A, Özkeklikci A, Bulut V, et al. *Giardia intestinalis* Tanısında mikroskopi ve enzyme-linked immunosorbent assay yöntemlerinin karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1998;22:233-238.
9. Aldeen EW, Carroll K, Robison A, et al. Comparison of nine commercially available enzyme-linked immunosorbent assays for detection of giardia lamblia in fecal specimens. J Clin Microbiol 1998;36:1338-1340.
10. Addiss DG, Mathews HM, Stewart JM, et al. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for Giardia lamblia antigen in stool. J Clin Microbiol 1991;29:1137-1142.
11. Yılbaş N, Otağ F, Kaya B, Artunkol S. Giardiyaz tanısında ELISA ile Giardia lamblia spesifik antijenlerinin gösterilmesi. Türk Mikrobiol. Cemiyeti Dergisi 1994;24:126-128.
12. Karabuda Ö, Kayaalp N, Palanduz A, ve ark. Çocuklarda *Giardia lamblia* enfestasyonu tanısında ELISA yöntemi ve ornidazol tedavisi. Ankem Dergisi 1993;7:111-113.
13. Büyükbaba Ö, Uyar A, Babaoğlu G, ve ark. Dışkı Örneklerinde *Giardia intestinalis* Antijeninin ELISA İle Araştırılması ve Sonuçların Mikroskopi İle Karşılaştırılması. Klimik Dergisi 1997;10:63-65.
14. Hökelek M, Eroğlu C, Uyar Y, ve ark. İlköğretim çağındaki çocuklarda, barsak parazitlerinin ağırlık ve boy persentil değerleri üzerine etkisinin araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2000;24:43-46.