

**ISPARTA BÖLGESİNDEKİ ÇEŞİTLİ SU KAYNAKLARINDA
CRYPTOSPORIDIUM PARVUM, *GIARDIA INTESTINALIS*,
ENTEROHEMORRAJİK *E. COLI* VE DİĞER ENTEROPATOJENLERİN
ARAŞTIRILMASI**

Sevim AYSAL

**Yüksek Lisans Tezi
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
ISPARTA 2004**

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ISPARTA BÖLGESİNDEKİ ÇEŞİTLİ SU KAYNAKLARINDA
CRYPTOSPORIDIUM PARVUM, *GIARDIA INTESTINALIS*,
ENTEROHEMORRAJİK *E. COLI* VE DİĞER ENTEROPATOJENLERİN
ARAŞTIRILMASI

SEVİM AYSAL

Danışman
PROF. DR. YUSUF AYVAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ISPARTA 2004

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Bu çalışma jürimiz tarafından BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

ONAY

Bu tez .../.../200.. tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

.../.../200..

Prof. Dr. Remzi KARAGÜZEL
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Suyun Önemi ve Doğadaki Çevrimi.....	2
1.2. Suyun Doğal Mikrobiyal Florası ve Biyolojik Kirlenmesi.....	3
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	5
2.1. <i>Cryptosporidium parvum</i>	7
2.2. <i>Giardia intestinalis</i>	20
2.3. Enterohemorrajik <i>E.coli</i>	21
2.4. Diğer Enteropatojenler.....	22
2.4.1. <i>Shigella spp</i>	22
2.4.2. <i>Salmonella spp</i>	23
2.4.3. <i>Vibrio cholerae</i>	23
3. MATERYAL VE METOT.....	25
3.1. Materyal.....	25
3.1.1. Besiyerleri.....	29
3.1.2. Boyalar, Çözeltiler, Ayıraçlar ve Hazırlanmaları.....	29
3.1.3. Tayin Kiti ve Antiserumlar.....	31
3.1.4. Araçlar ve Diğer Malzemeler.....	31
3.2. Metot.....	32
3.2.1. Koliform Bakteri Tesbiti.....	33
3.2.2. <i>Cryptosporidium parvum</i> ve <i>Giardia intestinalis</i> Tesbiti.....	33
3.2.3. Enteropatojenlerin Tesbiti.....	35
3.2.3.1. Biyokimyasal Testlerin Yapılışı.....	35
3.2.3.2. Antiserumlarla İdentifikasyon İşlemleri.....	37

4.BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	44
6. KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	55

ÖZET

Bu çalışmada Isparta il sınırları içindeki göl, dere ve çeşme olmak üzere çeşitli su kaynaklarından toplanan örneklerde *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intestinalis*, Enterohemorrajik *E.coli* (EHEC) ve bazı enteropatojen mikroorganizmalar (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*) araştırılmıştır. Bunların yanısıra toplanan su örneklerinde Kuvvetle Muhtemel Sayımı (KMS) yöntemi ile koliform araştırması gerçekleştirilmiştir. Su örneklerinin toplanması ve mikroorganizmaların identifikasyonu standart rutin bakteriyolojik çalışmalara uygun olarak yapılmıştır.

Bu çalışma Haziran-Ekim 2004 tarihleri arasında yapılmış ve toplam 40 adet su örneği toplanmıştır. Bu 40 örneğin 7 adedi Eğirdir Gölünden, 6 adedi Gölcük Gölü'nden, 10 adedi Isparta'dan Darı Deresi olarak başlayıp, Aksu çayı ile birleştikten sonra Karacaören Barajı'na dökülen dereden, 17 adedi şehrin çeşitli bölgelerinde bulunan halka açık çeşmelerden alınmıştır.

Toplanan örnekler membran filitasyon sistemi kullanılarak filitre edilmiştir. Filtre edilen örneklerin santrifüjünden sonra direkt mikroskopi yöntemi ile *Giardia intestinalis*, Modifiye Zielh-Neelsen (MZN) boyama yöntemi ile *C. parvum* araştırılmıştır. *C. parvum* varlığının doğrulanması Immunoflouresans Assay (IFA) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca toplanan su örneklerinde rutin bakteriyolojik ve biyokimyasal testler uygulanarak Enterohemorrajik *E.coli* (EHEC), *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* ve *Vibrio cholera* araştırılmıştır. Toplanan 40 su örneğinin 13'ünde (% 32,5) direkt mikroskopi ve MZN boyama sonrası *C. parvum* olabileceği tahmin edilmiştir. Ancak IFA tekniğinin uygulanması sonucu 6'sında (% 15) *C. parvum* varlığı kesin olarak doğrulanmıştır. Direkt mikroskopi sonrası 8 örnekte (% 20) *G.intestinalis* kistlerine rastlanmıştır. Su örneklerinin 32'sinde (% 80) koliform bulunduğu bunlarında 17'sinin (% 42,5) fecal koliformlu olduğu saptanmıştır. Ayrıca 1 örnekte (% 2,5) *Shigella sonnei*, 1 örnekte (% 2,5) *Salmonella spp.* olduğu tesbit edilmiştir. Bu çalışma için toplanan su örneklerinde EHEC ve *Vibrio cholerae*'ya rastlanmamıştır.

ANAHTAR KELİMELER: *Cryptosporidium parvum*, Modifiye Ziehl-Neelsen (MZN), Immunoflouresans Assay (IFA)

ABSTRACT

In this study, *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intestinalis*, Enterohemorrhagic *E.coli* (*EHEC*) and some enteropathogenic microorganisms (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*) were investigated in the samples of various water which were collected from lakes, stream and fountains within borders of Isparta province. In addition, coliform bacteria with using the method of Most Probable Number (MPN) collected from water samples were investigated. The collection of water samples and identifications of mikroorganisms were conducted according to standart routine bakteriological tests.

This study was conducted between June and October 2004 and 40 water samples were collected. 7 water samples were collected from Eğirdir Lake, 6 water samples were collected from Gölcük Lake, 10 water samples collected from Darı Stream which starting from Isparta, after Aksu Stream joined to it, and endind in Karacaören Dam. 17 samples of the public fountainswere collected from different areas of Isparta.

The collected samples were filtered using membrane filtration system. After centrifuging, the filtered samples were investigated with direct microscopy method for *G. intestinalis* and with Modified Zielh-Neelsen (MZN) for *C. parvum*. The existence of *C. parvum* was verified with using Immunoflouresence Assay (IFA) method. Futrhermore, in the collected water samples, using the routine bacteriologic and biochemical tests, *EHEC*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* ve *Vibrio cholera* were investigated. Out of 40 total collected water samples, which were investigated using direct microscopy and MZN after dying, the existence of *C. parvum* was predicted in 13 (32.5 %) samples. However, with using IFA method, just in 6 (15 %) out of this 13 samples, *C. parvum* was confirmed. *G. intestinalis* cysts were found in 8 (20 %) after direct microscopy. Coliform bacteria were found in 32 (80 %) water samples out of 40, and 17 (42.5 %) of these 32 samples were detected as fecal coliform. Besides, in 1 (2.5 %) water sample *Shigella sonnei* and in 1 (2,5 %) water sample *Salmonella spp.* were detected. *EHEC* and *V. cholerae* were not found in the collected water samples included in this study.

KEY WORDS: *Cryptosporidium parvum*, Modified Ziehl-Neelsen (MZN), Immunoflouresans Assay (IFA)

TEŞEKKÜR

Öğrenciliğimde ve çalışmam sırasında her konuda ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışmanlığımı yürüten sayın hocam, Prof. Dr. Yusuf AYVAZ'a, bu çalışmayı bana tez olarak öneren ve tez çalışması için gerekli ortamı hazırlayan sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. Müge TANER'e, çalışmamın sonuca ulaştırılmasında ve karşılaşılan güçlüklerin aşılmasında yol gösterici olan değerli hocam, Yrd. Doç. Dr. Abbas TANER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmam sırasında her türlü yardımını gördüğüm sevgili Birkan EROĞLU'na, Arş. Gör. Hakan DARICI'ya, bu aşamaya gelmemde büyük emekleri olan anneme ve babama teşekkür ederim.

SEVİM AYSAL

Simgeler (Kısaltmalar) Dizini

ASTM	American Society for Testing and Materials
CDC	Centers for Disease Control and Infection
CMV	<i>Cytomegalovirüs</i>
DAPI	4,6-diamidino-phenylindole
DIC	Differensiel interference contrast
DNA	Deoksiribonükleik asit
EHEC	Enterahemorrajik <i>Escherichia coli</i>
ELIZA	Enzym Linked Immunosorbent Assay
EMB	Eosin Methylen Blue
HUS	Hemolitik üremik sendrom
ICR	Information collection rule
IFA	Immunofloresans Assay
IMS	Immuno Magnetic Separation
IMVIC	İndol, metil Red, voges proskauer, sitrat testleri
KIA	Kligler Iron Agar
KMS	Kuvvetle Muhtemel Sayım
SS	<i>Salmonella - Shigella</i>

Şekiller Dizini

	Sayfa
Şekil 2.1.1. <i>Cryptosporidium parvum</i> 'un yaşam siklusu.....	9
Şekil 2.1.2. <i>Cryptosporidium parvum</i> 'un bağırsaklardaki yaşam siklusu.....	11
Şekil 3.1.1. Isparta Deresi (sulama alanlarına gider).	26
Şekil 3.1.2. Isparta Deresi (alabalık tesislerine gider).	26
Şekil 3.1.3. Eğirdir Gölü (plajların başlangıcı).	27
Şekil 3.1.4. Halka açık çeşme (Ayazmana mesireliği yanı).	27
Şekil 3.1.5. Halka açık çeşme (Karbuz Çeşmesi)	28
Şekil 3.1.6. Halka açık çeşme (Antalya yolu dinlenme yeri)	28
Şekil 4.1. <i>Cryptosporidium parvum</i> 'un modifiye Ziehl-Neelsen boyama metodu ile boyanmış preparatı (40×15'lik obje)	40
Şekil 4.2. Modifiye Ziehl-Neelsen boyama metodu ile boyanmış <i>C. parvum</i> şüphesi konulan preparat (40×15'lik obje)	41
Şekil 4.3. <i>C. parvum</i> ' un IFA metodu ile boyanmış preparatı (pozitif kontrol 40×15'lik obje)	41
Şekil 4.4. <i>C. parvum</i> 'un IFA metodu ile boyanmış preparatı (40×15'lik obje).....	41
Şekil 4.5. IFA metodu ile incelenen <i>C. parvum</i> negatif preparat (40×15'lik obje).....	42

Çizelgeler Dizini

	sayfa
Çizelge 2.1.1. <i>Cryptosporidium parvum</i> 'un sınıflandırmadaki yeri.....	9
Çizelge 2.1.2. <i>C. parvum</i> tanısında kullanılan değişik boyama yöntemleri.....	17
Çizelge 3.1.1. Örnek alma istasyonları ve örnek sayıları.....	25
Çizelge 3.2.3.1. Enteropatojenlerin biyokimyasal özellikleri.....	37
Çizelge 4.1. İncelenen su örnekleri ve saptanan mikroorganizmalar.....	39
Çizelge 4.2. Koliformlu örnek sayı ve yüzdeleri.....	39
Çizelge 4.3. <i>Cryptosporidium parvum</i> saptanan örnekler.....	40
Çizelge 4.4. Toplanan örneklerde enteropatojenlerin dağılımı.....	43
Çizelge 4.5. İzole edilen enteropatojenlerin biyokimyasal özellikleri.....	43

1.GİRİŞ

Dünyamızda canlılardan önce varolan su, yaşam boyu hayatın, sürekliliğin, yerleşimlerin ve doğanın vazgeçilmez bir elemanı olmuştur. Tarihsel döngü içerisinde ilk başlarda bir gereklilik olarak hayatın içinde yer alan su hızla artan dünya nüfusuna paralel olarak önemini arttırmış fakat gelişen teknik imkanlara rağmen bilinçsizce kirlenmiş ve bu kirlilik hayatı tehdit eder hale gelmiştir. Bütün canlıların olduğu gibi insanların da temel ihtiyacı olan su içilebilir ve kullanılabilir nitelikte olmalıdır. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de temiz ve hijyenik şartlara uygun suyun sağlanması, bir sağlık problemi olarak gün geçtikçe önemini arttırmaktadır. Canlı hayatının tehlikede olduğunu gören bilim adamları ve sağlık kuruluşları temiz su eldesi yönünde çalışmakta, su standartları geliştirilmekte, içilebilir ve kullanılabilir özellikte olan sular için belirli kriterler ortaya koymaktadır.

Başta su olmak üzere besin, kirli eşyalar aracılığı ile oral yoldan bulaşan etkenler, bakteriler, virüsler ve parazitler olabilmektedir. Bu etkenler öncelikle gastroenterik enfeksiyonlara neden olmaktadır. İnsanların yaşama ve beslenme düzenleri, örf ve adetleri ile yakınlık gösteren enfeksiyonlar içerisinde gastrointestinal enfeksiyonlar başta gelmekte ve mortalite sıralamasında birinci sırayı almaktadır. Türkiye’de bağırsak parazitleri coğrafi, iklim ve ekolojik özelliklerin yanı sıra toplumun sosyo ekonomik koşul, eğitim ve kültür düzeyi, adet ve alışkanlıkları ile sanitasyon yokluğu ve sağlıksız çevre koşulları gibi nedenlerle bölgeler arasında farklı oranda ortaya çıkmakta ve yüksek prevalans göstermektedir.

Gastroenterik enfeksiyonlara neden olan *Cryptosporidium parvum*’un oluşturduğu hastalığa Cryptosporidiosis denilmektedir. Kontaminasyon kaynaklarından biri de su olan bu parazitin ookistleri tüm yaş gruplarındaki hastalarda bulunmakla birlikte, immün sistemi baskılanmış kişilerde, çocuk ve yeni doğanlarda daha fazla bulunmaktadır. Cryptosporidiosis semptomları diğer gastroenterik enfeksiyonlardan farklı değildir. Ayrıca diyare vakaları *Cryptosporidium parvum* yönünden rutin olarak test edilmediği için nedeni bilinmeyen ishallere bu patojenin neden olup olmadığı anlaşılamamaktadır. Bu ajanın hastalığa sebep olan dirençli ookistleri dışkı ile çevreye verilmekte insanları

ve diğ er hayvanları kontamine edebilmektedir. Ç evreye verilen ookistler iç me ve kullanma suları, eğence amaçlı kullanılan sular ile insanlara bulaşmaktadır. Gastrointestinal sistemde enfeksiyona neden olan bir diğ er protozoon *Giardia intestinalis*'tir. Ara konağı olmayan bu parazite dñnyanın her yerinde özellikle oyun ve okul çağındaki çocuklarda rastlanmaktadır. Bulaşma kirli ellerle, kirli besin ve suların ağız yoluyla alınması ile gerç ekleşmektedir. 2000'den fazla tü re sahip olan *Salmonella spp.*, 4 tü rü patojen olan *Shigella spp.*, özellikle lağım materyallerinin suya karışması ile bulaşan, Kolera hastalığı etkeni olan *Vibrio cholerae* ve O157:H7 kökeni tarafından oluşturulan, hemorajik kolite neden olan Enterohemorrajik *E.coli* (EHEC) de gastrointestinal sistemde enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar grubuna girmektedir. Bunlar insanlarda ve hayvanlarda yaygın olarak görñlen enterik patojenlerdendir. Bu etkenlerin en önemli bulaşma yolları arasında iç me, kullanma, tarımsal ve eğence amaçlı kullanılan sular gelmektedir. Bu nedenle yapılan bu çalışmada Isparta ilindeki çeşitli su kaynaklarından *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intestinalis*, Enterohemorrajik *E.coli* ve diğ er enteropatojen mikroorganizmaların (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*) bulunup bulunmadığı araştırılmıştır.

1.1. Suyun Önemi ve Doğadaki Çevirimi

Su, iki hidrojen bir oksijen atomundan oluşmuş ve H₂O yapısındadır. Su molekülleri birbirleri ile aralarında hidrojen köprüleri kurar ve düzenli bir yapı sağlarlar. Bir su molekülünün etrafında dört su molekülü birlikte bulunmaktadır ve bu dörtlü yapıya tetrahidrol yapı denilmektedir. Su 0°C'de donmakta ve +4°C'den 0°C'ye kadar genişlemektedir. Bu nedenle su baraj, nehir ve göllerde yüzeyde donmuş olarak bulunmaktadır. Dip kısımlardaki su +4°C olduğundan, bu bölgedeki canlıların hayatının devamına olanak sağlamaktadır. Suyun 0°C ile 100°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında sıvı olarak bulunması, böylece hayatın değişik basamaklarında çok yararlı bir yapıda olması, ayrıca kimyasal yapısı açısından da önem taşımaktadır. Çünkü benzer özelliklere sahip başka hiç bir sıvı bulunmamaktadır (Gözükara, 1989; Yenson, 1984).

Su doğada yaygın olarak bulunmakta, yetişkin bir insanda vücut ağırlığının %60-65'ini

su oluşturmaktadır. Vücut büyük miktarda suyu bağlı olarak bulundurmaktadır. Serbest su ise ancak organizmanın sıvılarında büyük miktarlarda bulunmaktadır. Farklı dokular farklı miktarlarda su içermekte, vücut suyun büyük bir kısmını dışarıdan almaktadır. Günlük su ihtiyacı yetişkin insanda kilo başına 30-40 ml iken çocuklarda 5-6 mislidir. Bu hesaplama ortalama su ihtiyacı günlük 2500 ml kadardır (Yenson, 1984). Su vücutta metabolik olaylarda çok önemli rol oynamaktadır. Tüm biyokimyasal reaksiyonlar bu ortamda oluşmakta ve oluşumları için direkt veya indirekt suya ihtiyaçları olmaktadır (Yenson, 1984; Gözükara, 1989).

Bugün kullanılan suyun milyonlarca yıldır dünyada bulunduğu ve miktarının çok fazla değişmediği doğrudur. Hidrolojik döngüde su hareket eder, formu değişir, bitkiler ve hayvanlar tarafından kullanılır, fakat gerçekte yok olmaz. Yerkürenin hayatı ve yapısında büyük rol oynayan su, dere, çay, nehir, göl ve denizlerden güneş ısı sayesinde buharlaşarak atmosfere yükselir. Sonra bulutların yoğunlaşması ile yağışlar meydana gelir. Yağıştan sonra suların bir kısmı yeryüzüne ulaşmadan atmosferde buharlaşır. Dünya üzerine erişen yağışların bir kısmı toprağa sızar ve yeraltı sularını meydana getirir. Toprağın alamadığı sular ise yüzey sularını oluşturur (çay, nehir, dere, göl, deniz suları). Yüzey sularından buharlaşma ile su tekrar atmosfere yükselir ve hidrolojik döngü (su döngüsü) tamamlanır (Black, 1985; Canik, 1998).

1.2. Suyun Doğal Mikrobiyal Florası ve Biyolojik Kirlenmesi

Su mikroflorasında fotosentetik ve fotosentetik olmayan morfolojik bakımdan çok farklı türler bulunmaktadır. Doğal olarak suda bulunan mikroorganizmalar *Spirillum spp.*, *Vibrio spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Archomobacter spp.*, *Chromobacterium spp.* türleri ile *Micrococcus* ve *Sarcinia* cinslerine ait bazı türlerdir (Black, 1985).

Sucul bakterilerin çoğu, besince fakir ortamlarda yavaş bir üreme göstermekte seçici ortamlardan izole edilmeleri ve saflaştırılmaları için uzun süren inkübasyon süreleri gerekmektedir. Bu bakterilerin optimum üreme sıcaklığı 25°C veya daha azdır. Ayrıca toprak kaynaklı bakterilerden *Bacillus spp.*, *Streptomyces spp.* ve *Enterobacteriaceae*'nin saprofit üyeleri toprağın yıkanması sonucu suya

karışmaktadır (Black, 1985; Tamer, 1989).

Hidrolojik döngü sırasında suya karışan atıklar, suyun fiziksel , kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirerek “su kirliliği” olarak adlandırılan durumu ortaya çıkartmaktadır. Kirleticilerin temel kaynakları evsel, tarımsal, endüstriyel ve nükleer atıklardır. Dünya nüfusunun giderek artmasıyla kirlenme oranı artmış ve zamanla biyolojik denge bozulmaya başlamıştır.

Kirleticilerden deterjanlar , petrol ve petrol ürünleri, doğada mikrobiyal bozulmaya karşı çok dayanıklı olduklarından ortamda birikerek kirliliğin boyutunu arttırmaktadır. Atıklar içerisindeki diğer organik maddeler sudaki mikroorganizmalar tarafından NO_3 , PO_4 , CO_2 ve H_2O 'ya kadar parçalanmaktadır. Böyle bir sistemde oksijenin hızla tükenmesiyle normal olarak oksijene gereksinim duyan aerobik parçalayıcıların yerini anaerobik parçalayıcılar almakta ve suda bulunan diğer aerobik canlılar hızla ölmektedirler (Şişli, 1980; Tamer, 1989).

İnsanlar tarafından suyun bilinçsizce kullanılması sonucu suya bazı patojen mikroorganizmalar karışmaktadır. Yine bu suların dikkatsizce kullanılması sonucunda ise bu patojen mikroorganizmalar insanda bağırsak hastalıklarına sebep olmaktadır. Bazı bulgular bağırsak hastalıklarına sebep olacak patojen mikroorganizmaların, insanı enfekte etmek için sularda uzun süre canlı kalabileceklerini göstermektedir (Arıkan, 1999).

2. KAYNAK BİLGİSİ

İnsanların sağlığı, doğrudan doğruya besinlerle alınan sulardan, kendi kişisel hijyeni için alınan sulardan, tarım-endüstri işlerinden gelen sulardan yada eğence amaçlı kullanılan sulardan etkilenmektedir. Bu etkilenme iki sebepten kaynaklanmaktadır. Bunlardan birincisi kullanılan sularda zararlı biyolojik etkenlerin bulunması ikincisi ise endüstri atıklarından doğan kimyasal yada radyoaktif kirleticilerin sulara karışmasıdır.

Suyun belli başlı zararlı biyolojik ajanları patojen bakteriler, virusler, parazit ve diğer mikroorganizmalardır. Toplum sağlığı açısından önemli hastalıklara sebep olabilen bu ajanlar çeşitli vektörlerle insanları enfekte etmektedir. İçme suyu oral-fecal enfeksiyon zincirinin en önemli halkasıdır. Suyla geçen enfeksiyonların yok edilmesi büyük ölçüde suyun kirlenmesinin önlenmesine dayanır (Bonde, 1966).

Sularla bulaşan önemli mikroorganizmalar řu şekilde sıralanmaktadır.

a) Bakteriler: *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*, *Leptospira spp.*, *Brucella spp.*, *Mycobacterium spp.* türleridir. Ayrıca *Yersinia spp.*, *Enterocolitica spp.*, *Frencsiella tularensis* de bilinmektedir.

b) Virüsler: Hepatit virüsleri, *Polio*, *Cocsaki*, *ECHO* virus, etiyojisi bilinmeyen su ile yayılan, diare ve üst solunum yolu enfeksiyonlarından sorumlu bazı virüsler.

c) Protozoonlar: *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Blantidium coli* (Jawetz vd., 1987; Howard vd., 1987).

Su ve besin maddeleri ile geçen insan sağlığını olumsuz etkileyen biyolojik ajanlar böbrekte ve bağırsaklarda lokalize olmakta ayrıca dışkı ve idrarla dışarı atılmaktadır. Tüm canlılar tarafından kullanılan suyun emin ve güvenilir olması gerekmektedir. Bu nedenle bütün dünyada olduğu gibi Türkiye'de de sanitasyon kalitesi yüksek su elde etmek ve bu suların kontrolüne ilişkin çalışma ve araştırmaların yaygınlaştırılmasında yararlar bulunmaktadır (Yousefi, 1991).

Mikrobiyolojik açıdan su kontrollerinin esas amacı patojen mikroorganizmaların mevcut olup olmadığıdır. Ancak patojen mikroorganizmaların sularda saptanması karışık, güç, çoğu zaman pahalı ve uzun zaman alan yöntemlerin kullanılmasını gerektirmektedir. Ayrıca patojen mikroorganizmaların sulardan izolasyonu için çok miktarlarda suyun

denemeye sokulması, identifikasyonları için de birçok biyokimyasal ve serolojik testlerin yapılması gerekmektedir. Suda bağırsak patojenleri ile birlikte, daha az sayıda diğer bağırsak kökenli mikroorganizmalarda bulunmaktadır. Patojen mikroorganizmalar sulara dışkı ile karışabilmekte ve pratikte rutin olarak, sulara, kirliliğin bakteriyel kanıtı olan dışkıya ait mikroorganizmalar aranmaktadır. Bu indikatör mikroorganizmaların araştırılması suların bakteriyolojik yönden temelini oluşturmaktadır (Özcengiz, 1982; Yousefi, 1991).

Pratikte bağırsak kökenli kontaminasyonların varlığını belirlemede yaygın olarak kullanılmakta olan indikatör mikroorganizma, koliform grubu (özellikle *E. coli*) bakterilerdir (Atakent, 1979). Ayrıca indikatör mikroorganizma olarak fekal *Streptococ* grubu mikroorganizmalar, *Clostridium perfringens*, toplam canlı aerobik mezofilik jerm miktarı ve bakteriyofajlar da kullanılmaktadır.

Sulardaki patojenlerin varlığını belirten indikatör organizmaların saptanması ve identifikasyonu basit ve çabuk testlerle yapılabilmektedir. Dışkıya ait mikroorganizmaların su örneklerinde saptanması dışkıya ait bir kontaminasyonu göstermektedir. İndikatör mikroorganizmalardan koliform grubu bakteriler, gram negatif, oksidaz negatif, sporsuz, 37°C'de 48 saat içinde laktozu fermente ederek asit ve gaz oluşturan organizmalar olarak tarif edilmektedir (Finegold ve Baron, 1986).

Fekal kaynaklı koliformların diğer koliform organizmalardan ayırımı laktozdan 44,5°C'de gaz oluşturulmasına dayanmaktadır (Yaşarol, 1984).

İnsan ve sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarındaki koliformlar çoğunlukla (% 95'den fazla) yüksek ısılarda üremektedirler. Bu koliformların fekal kirlenmenin dışında bulunabilmeleri son derece seyrek olup çevre sularında yaşama süreleride sınırlanmaktadır. Bu nedenle yüksek yoğunlukta fekal koliformların bulunuşu bir ölçüde yeni bir kirlenmeyi belirlemektedir. Su kirliliği konusundaki karar fekal koliform ve diğer koliform organizmaların sayılarının dikkatli değerlendirilmesinden sonra verilmektedir. Koliform organizmaların muayenesi genellikle ya belirli hacimdeki suyun laktoz buyyon besiyerlerine (Bkz. 3.2.1) karıştırıldıktan sonra inkisbasyonu ile ya da belirli hacimdeki suyun filitreden geçirildikten sonra filitredeki kalıntının uygun besi ortamına alınması ve inkisbasyonu ile yapılmaktadır. Koliform organizmaların sıvı

besiyerindeki muayenesi birkaç basamakta olmaktadır :

1) Tahmin Deneyi: Bu deney koliform organizmaların laktozu fermente etme yeteneğine dayanmaktadır. 100 ml örnekteki koliform organizmaların kuvvetle muhtemel sayısı (KMS) asit ve gaz görülen tüplerin sayısına göre hesaplanmaktadır.

2) Doğrulama Deneyi: Suda mevcut organizmaların fekal koliform olup olmadığının bilinmesi gerekmektedir. Bunun için en elverişli ve kolay test fekal koliformların laktozlu besiyerinde 44.5°C'de gaz oluşturma yeteneğine dayanmaktadır (Özcengiz, 1982).

Su, patojen bakterilerin uzun müddet üreyip çoğalmalarına pek elverişli olmadığından sudan çıkan salgınlar ancak kirlenmiş suların fazla zaman geçmeden içilmesi ile meydana gelmektedir. Su yolu ile bulaşan hastalıklara sebep olan parazitlerden *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* en önemlileridir. Bakterilerden ise başlıca Enterohemorrajik *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae* sayılabilmektedir. Bunun yanında *Leptospira spp.*, *Brucella spp.* ve *Mycobacterium spp.*'nin önemli yeri olabilmektedir. Viruslardan da hepatit, *Polio*, *Cocsi*, *ECHO* virusları saymak mümkündür (Yousefi, 1991; Bilgehan, 1990).

2.1. *Cryptosporidium parvum*

Cryptosporidium ilk kez 1885 yılında Clarke tarafından fark edilerek "fare mide epiteli üzerinde yer alan spor kümeleri" şeklinde tarif edilmiştir (Fayer ve Ungar,1986; Current ve Garcia,1991; Ok vd.,1995). 1905 yılında ise Tyzzer tarafından farelerin gastrik mukoza hücrelerinde gösterilmiş ve eski Yunancada "saklı kist" anlamında gelen *Cryptosporidium* olarak tanımlanmıştır (Casemore vd., 1985; Hashwey vd., 1997). 1912 yılında yine Tyzzer tarafından laboratuvar farelerinin ince bağırsaklarında bulunarak tanımlanmış ve *Cryptosporidium parvum* olarak ilk kez tür düzeyinde adlandırma yapılmış, oluşturduğu hastalığa ise Cryptosporidiosis denilmiştir (Fayer ve Ungar, 1986; Yücel, 1989).

Cryptosporidiosis 1976 yılına kadar çeşitli omurgalı hayvanların hastalığı olarak bilinirken, 1976 yılında immun sistemi sağlam 3 yaşındaki ishalleri bir çocukta ve immün

sistemi baskılanmış, sindirim sisteminde emilim bozukluğu bulunan 39 yaşında ishalleri bir erkekte *Cryptosporidium parvum* oookisti tesbit edilerek ilk iki Cryptosporidiosis vakası rapor edilmiştir (Casemore vd., 1985; Türkçapar, 2001). 1976-1981 yılları arasında immün direnci baskılanmış hastalarda az sayıda Cryptosporidiosis bildirilmiş olmasına rağmen, 1981-1982 yıllarında, yalnızca AIDS olgularında enfeksiyonun 47 hastada şiddetli enterite yol açtığı saptanmıştır. 1982 yılında Cryptosporidiosis'in AIDS'li hastalarda tehlike oluşturan bir enfeksiyon olduğu CDC (Center's for Disease Control and Prevention)'nin raporlarıyla ortaya konduktan sonra *Cryptosporidium spp.* hakkında yapılan çalışmalar artış olmuştur. Daha sonraki araştırmalarda hayvan bakıcılarında, turistlerde ve immün direnci sağlam kişilerde de enfeksiyona rastlanmıştır (Wolfson vd., 1985; Soave, 1990; Akbulut, 2000).

1984 yılına kadar yapılan çalışmalarda izole edildikleri konakçı göz önüne alınarak balıklar, sürüngenler, kuşlar ve memelilerde 20 *Cryptosporidium spp.* türü tanımlanmıştır. Aynı yıl bu türler Levine tarafından 4'e indirilmiştir. 1985 yılında Upton ve Current tarafından memelileri infekte eden *Cryptosporidium parvum* ve *Cryptosporidium muris* , kuşları infekte eden *Cryptosporidium baileyi* ve *Cryptosporidium meleagridis* geçerli türler olarak kabul edilmiştir. Bunlardan dünyada en yaygın bulunan ve insanlarda en çok hastalık oluşturan tür *C. parvum*'dur (Fayer ve Ungar, 1986).

Özellikle immün sistemi baskılananlarda ve AIDS'li hastalarda ağır seyirli ishalleri neden olan patojenlerden *C. parvum*'un kliniği ve epidemiyolojisine ilişkin bilgiler son yıllarda aydınlatılmıştır. Ayrıca su kaynaklı salgınların rapor edilmesiyle de *C. parvum* çalışmaları hız kazanmıştır. 1985 yılında Kuzey Amerika' da *C. parvum*'un içme su kaynaklarını kontamine etmesiyle ilk içme suyu kaynaklı salgın rapor edilmiştir. En büyük su kaynaklı salgın 1993 yılı Nisan ayında Milwaukee-Wisconsin' de gerçekleşmiş olup 403.000 semptomatik vaka saptanmıştır. Aynı yıllarda kontamine gıda tüketimi ile oluşan Cryptosporidiosis vakaları da rapor edilmiştir (MacKenzie, 1994; Över, 1996; Strausbaugh, 2000).

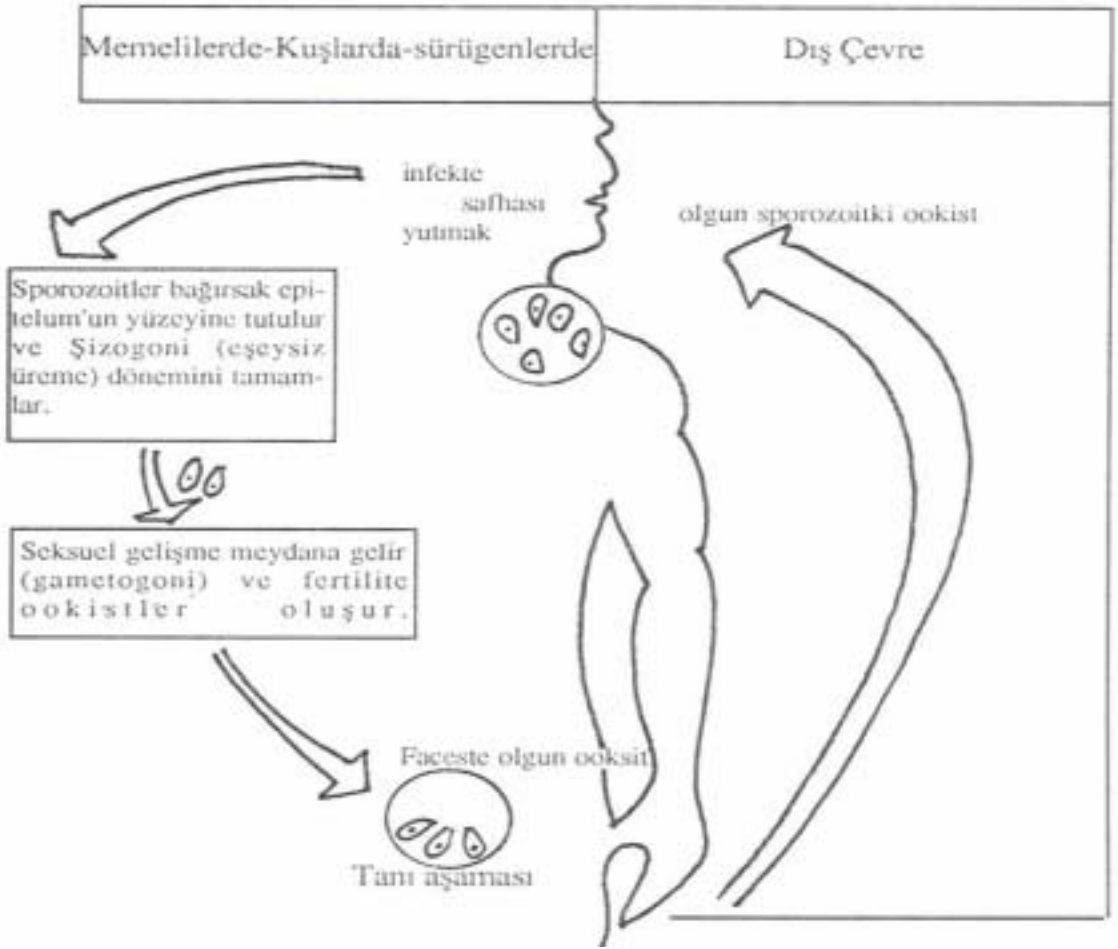
C. parvum, *Apicomplexa* bölümü, *Sporozoa* sınıfı, *Coccidia* alt sınıfı, *Eucoccidida* takımı, *Eimeriorina* alt takımı, *Cryptosporididae* ailesi, *Cryptosporidium* cinsine dahil

bir tür olarak kabul edilmiştir. *C. parvum*' un sınıflandırmadaki yeri çizelge 1.1.'de gösterilmektedir (Bermudez vd., 1984; Florence ve Sten, 1988; Murray ve Pfaller, 1994).

Çizelge 2.1.1. *Cryptosporidium parvum*' un sınıflandırmadaki yeri

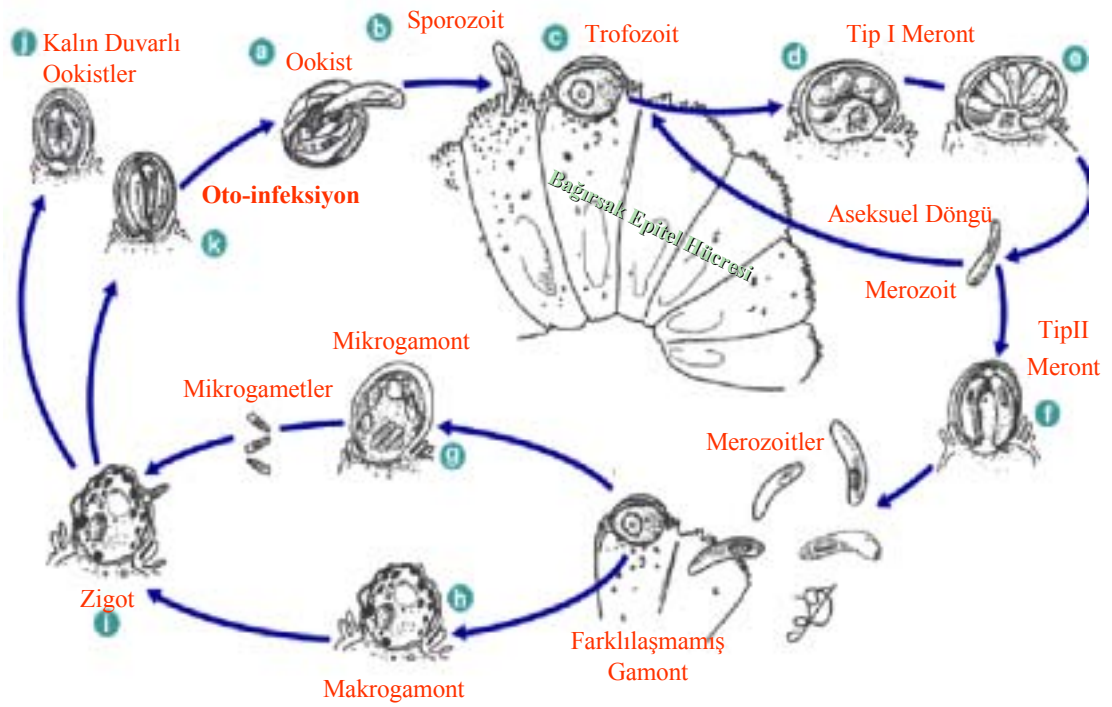
Kingdom	<i>Animalia</i>		
Subkingdom	<i>Protozoa</i>		
Phylum	<i>Apicomlexa</i>		
Class	<i>Sporozoa</i>		
Subclass	<i>Coccidia</i>		
Order	<i>Eucoccidiida</i>		
Suborder	<i>Eimeriorina</i>	<i>Haemosporina</i>	
Family	<i>Eimeriidae</i>	<i>Sarcocystidae</i>	<i>Cryptosporidiidae</i>
Genus	<i>Eimeriidae</i>	<i>Sarcocysts</i>	<i>Cryptosporidium</i>
	<i>Toxoplasma</i>	<i>Isospora</i>	

Cryptosporidial infeksiyonların ana kaynağı olan *C.parvum*' un kompleks bir yaşam siklusu olmasına rağmen yaşam siklusu ookistin oluşumuyla başlamakta ve tek bir *C. parvum* hayat siklusunu tek konakçıda tamamlanmaktadır. Ookistlerin yayılımı, genellikle infekte hayvan ve kişilerin feçesinin çevreyi kontamine etmesi ile olmaktadır. Çevreden, çeşitli su kaynaklarından, kontamine gıda maddelerinden canlı vücuduna alınan ookist safra tuzları ve sindirim enzimlerinin etkisiyle ya da kendiliğinden kist yapısını kaybetmektedir (Current ve Garcia, 1991). Oluşan hareketli sporozitler bağırsak epiteline tutunmakta ve burada gelişimini devam ettirmektedir. Daha sonra şizogoni (eşsüz üreme) dönemini tamamlamakta bunu takiben de gametogoni (seksüel gelişme) meydana gelmektedir. Oluşan olgun ookistler feçesle dış ortama verilmektedir. Tekrar oral yolla buluşma sonrası infekte safhası yeniden başlamaktadır (Hashwey vd., 1997; Saygı, 1997). *C.parvum*' un yaşam siklusu şekil 2.1.1'de gösterilmiştir (Yousefi, 1982).



Şekil 2.1.1. *Cryptosporidium parvum*'un yaşam siklusu

C. parvum doku içinde değil bağırsak epitelü yüzeyinde yayılmaktadır. Bununla birlikte bağırsak işleyişini önemli düzeyde etkisi altına alıp bozmaktadır. Bunlar bağırsak lümeninde iyon ve su geçirgenliğinin azalmasına sebep olmaktadır (Betancourt vd., 2002). *C. parvum*'un bağırsaklardaki yaşam siklusu Şekil 2.2.2'de gösterilmiştir (Finegold ve Baron, 1986).



Şekil 2.2.2. *Cryptosporidium parvum*'un bağırsaktaki yaşam siklusu

- Dışkıda ookist sporulasyonu
 - Bağırsaktaki durum,
 - Bağırsaktaki serbest sporozoit,
 - Tip I meront (6 veya 8 merozoit),
 - Merozoit tip I'in siklusu,
 - Tip II meront (4 merozoit içerir),
 - Yaklaşık 16 mikrogametli mikrogametosit,
 - Mikrogamet ve makrogamet döllenir,
 - Zigot formu,
 - Zigotların yaklaşık % 80'i kalın duvarlı ookistleri biçimlendirir,
 - Konak hücre içinde tekrar sporlanma (zigotların yaklaşık % 20'si ookist duvarı oluşturmayıp sporozoitleri yalnız tek bir membranla çevrilmiş durumdadır).
- Vücut içinde ince duvarlı ookistlerin içindeki sporozoitler bağırsak lümeninde serbest

kalırlar ve tekrar döngüye katılırlar (Ma ve Soave, 1983; Fayer, 1984).

Elektron mikroskobu ile yapılan araştırmalarda *Cryptosporidium parvum*'un trofozoitleri, şizontları, merozoitleri ve makrogametleri kapsayan bütün gelişme evreleri ortaya konmuştur. *C. parvum* epitel hücrelerine hafifçe batmış bir biçimde küçük küreler şeklinde sıra veya kümeler halinde gözükmetedir (Current ve Long, 1983).

Beslenme doğrudan doğruya konakçıda absorpsiyonla, boşaltım ve solunum difüzyonla olmaktadır. Eşeyli üreyen sporogoni dölünü eşeysiz üreyen şizogoni dölü takip etmektedir. Konakçı içinde birey sayısını arttırmak üzere çoğa bölünme ile eşeysiz olarak (şizogoni) merozoitleri meydana getirmektedir. Bunlardan meydana gelen ve eşeyli üreyen gamont konak değiştirmeden eşey hücrelerini meydana getirmektedir. Erkek eşey hücresine mikrogamet, dişi eşey hücresine makrogamet adı verilmektedir. Bu evre gametogenezis olarak adlandırılmaktadır. Mikrogamet ve makrogamet birleşik zigotu oluşturmakta ve etrafı kalın bir zarla çevrilen zigota spor ya da ookist denilmektedir (sporogoni). Bu ookistler daha sonra dışkı ile vücuttan atılmakta *Cryptosporidium parvum* tek konakçıda evrimini tamamlamaktadır (Baxby vd., 1987; Flarence ve Sten, 1988; Nina vd., 1992).

Cryptosporidium spp. infeksiyonları, gelişmiş veya az gelişmiş ülkelerde şehir veya kırsal kesimler dahil olmak üzere tüm dünyada görülen yaygın bir infeksiyondur. Prevalans, temizliğin ve sanitasyon önlemlerinin tam uygulanmadığı gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek saptanmıştır (Chen vd., 1992; Chacin vd., 1993). Kuzey Amerika ve Avrupa ülkeleri gibi gelişmiş ülkelerde dışkıyla çevreye atılan ookist oranı % 1-3 arasında değişirken Asya ve Afrika gibi az gelişmiş ülkelerde bu oran % 7-8,5 arasında değişmektedir (Chacin vd., 1993; Hoepelman, 1996).

Çocuklarda (özellikle 2 yaş altı) infeksiyon prevalansının yetişkinlere göre daha yüksek olduğu bilinmektedir. Anne sütü ile beslenen bebeklerde prevalansın anne sütü ile beslenmeyen bebeklere göre daha düşük olduğu saptanmış ve bunun da anne sütünün koruyuculuk özelliğinden kaynaklandığı düşünölmüştür. Ayrıca immün sistemi baskılanmış hastalarda özellikle AIDS hastalarında Cryptosporiosis görülme oranı yüksektir. Bu oran gelişmiş ülkelerde % 0,8-5,6 arasında değişirken, gelişmiş ülkelerde % 50'nin üzerine çıkmaktadır (Fayer ve Ungar, 1986; Current ve Garcia, 1991). 1986

yılında CDC 182 AIDS'li hastanın 19'unda (% 3,6) Cryptosporidiosis saptamış ve bunlarda fatalite oranını % 61 olarak bulmuştur. Ayrıca CDC tarafından yürütülen bir çalışmada Atlanta'daki HIV ile infekte 600 kişinin % 10'unda *Cryptosporidium* ookistlerinin ara sıra atıldığı bulunmuştur (Fahey, 2003).

Cryptosporidium enfeksiyonları insandan insana, hayvandan insana ve çevre yolu ile özellikle su kaynaklarından bulaşmaktadır. İnsan enfeksiyonunun kaynağı konusunda dikkatler ilk kez sığırlar üzerinde toplanmış, enfekte sığır dışkısı ile temasta olan immün direnci sağlam 12 kişide enfeksiyonun geliştiği bildirilmiştir (Current, 1983). Rakunlar üzerinde yapılan bir araştırmada, % 13 oranında enfeksiyona rastlanmış, rakunların potansiyel rezervuar olabilecekleri düşünülmüştür (Snyder, 1988). Ancak hayvanların enfeksiyon kaynağı olarak gösterilmeleri hayvan dışkısı ile temasın az olduğu kentsel alanlardaki enfeksiyonları açıklayamamıştır. Enfeksiyonun bulaşmasında içme suyunun kalitesinin de önemi rol oynadığı, özellikle içme suyu olarak akarsulardan yararlananlarda enfeksiyonun daha sık görüldüğü bilinmektedir (Madore vd., 1986; Gallaher vd., 1989).

İçme suyundan kaynaklanan bir Cryptosporidiosis salgını sırasında, dışkıları periyodik olarak incelenen AIDS hastalarında ve böbrek nakli yapılmış hastalarda saptanan *C. parvum* enfeksiyonu sayısında belirgin bir artış belirlenmiş, bu kişilerin suları kaynatarak içmelerinin enfeksiyondan korunmada etkili olabileceği savunulmuştur (Clifford, 1990). Bulaşma genellikle direkt oral yolla, içme sularıyla, kirli sularla kontamine olmuş tarımsal ürünlerle, yüzme havuzlarıyla ve partnerler arası sexüel yolla olabilmektedir (Keusch vd., 1995). Ookistlerle kirlenmiş suların kullanılmasının, düzgün bir şekilde yıkanmamış sebze ve meyvelerin yenmesinin veya uygun şekilde pastörize edilmemiş sütlerin içilmesinin de bulaşmada rol oynadığı bildirilmektedir. Pastörizasyon su ve sütteki *C. parvum* ookistlerinin aktivitelerini yok etmek için yeterli olmaktadır (Harp vd., 1996; Steiner vd.,1997).

C. parvum ookistleri yaygın kullanılan dezenfektanlara dirençli olup, su kaynaklarının rutin klorlanması ile yok edilmemektedir (Topçu vd., 1996). Ticari dezenfektanların etkisinin ölçüldüğü bir çalışmada amonyağın (% 50 yada daha yüksek konsantrasyonu) ve formalinin 30 dakikada *C. parvum* ookistlerini öldürebildiği gösterilmiştir.

Hastanelerde yada klinik laboratuvarlarda rutin olarak kullanılan diğerk patojenlere etkili dozlardaki dezenfektanlar *C. parvum* ookistlerine karşı etkili olamamaktadır (Current ve Garcia, 1991). % 2,5'luk sulu potasyum dikromat solüsyonunda +4°C'de 3-4 ay canlılıklarını korumaktadırlar. Kuraklık, sıcaklığın yükselip alçalması ookistlerin yaşam süresini kısaltmaktadır (Cardel vd., 1994)

Cryptosporidium enfeksiyonlarında su ile geçiş içme suları, eğlence amaçlı kullanılan sular ve tarımsal alanlarda kullanılan sulama sularıyla olmaktadır. Suyla ilgili yapılan bir çalışmada 66 içme su örneğinin % 27'sinde *C. parvum* ookistlerine rastlanmıştır. Yüzeysel su kaynaklarının ise % 65-97'sinde *C. parvum* ookistlerinin var olduğu gösterilmiştir (Türkçapar, 2000).

Cryptosporidium enfeksiyonları yaz mevsiminde, özellikle de Ağustos-Eylül ayları arasında daha sık gözlenmektedir (Hashwey vd., 1997). Bu aylarda daha sık görülmesinin nedeni, yağmur, nemli hava, sıcaklıkla beraber içme suyu, nehir, havuz, göl ve deniz sularında kontaminasyonun fazla olması sebebiyle *C. parvum* ookist konsantrasyonunun artması olabilir.

1985-1994 yılları arasında Kuzey Amerika'da *C. parvum*'un içme suyu kaynaklarını kontamine etmesiyle 12 salgın gerçekleşmiştir. Bu salgınlardan ikisinde (Milwaukee ve Las Vegas) immünkompromize popülasyondaki ölüm oranları % 52-68 arasında olmuştur (Mac Kenzie vd., 1994).

1987 yılında Amerika Carrolton'da yine *C. parvum*'un içme suyu kaynaklarını kontamine etmesiyle 13000 kişide *Cryptosporidium* enfeksiyonuna rastlanmıştır. 1992 yılında Amerika Jackson County ve Oregon'da 15000 kişinin sağlığını tehdit etmiştir (Stein, 2001). Bugüne kadar görülen en büyük salgın 1993 yılı Nisan ayında Milwaukee, Wisconsin'da (USA) gerçekleşmiş olup 403000 semptomatik vaka saptanmıştır (Mac Kenzie vd., 1994). 1994 yılında ise Las Vegasta muhtemel kontamine içme suyu ile ilişkili olarak HIV ile enfekte 20 kişinin ölümüne sebep olmuştur (Stein., 1998).

Ülkemizde sularda *C. parvum*'la ilgili çalışmalar henüz kesinlik kazanmamakla birlikte, genellikle çalışmalar insanlarda klinik olarak *C. parvum* enfeksiyonuna yönelik yapılmaktadır. Cryptosporidiosis'li vakalar rapor edilmekte, ancak bu vakalara bulaşmanın hangi yolla olduğu bildirilmemektedir.

İmmün sistemi baskılanmış kişilerde sıklıkla rastlanılan Cryptosporidiosis, karakteristik olarak mukus içerebilen bol sulu bir ishale neden olmaktadır. Dışkıda kan ve lökosit görülmemekte ve ishal genellikle kilo kaybına yol açmaktadır. Daha az rastlanılan klinik özellikler; abdominal ağrı, bulantı, kusma ve orta dereceli ateştir (<39 °C). Bu belirtiler kişiden kişiye değişiklik göstererek artabilmekte veya azalabilmektedir. Çoğunlukla ookist atılımıyla paralellik göstermektedir (Akgün, 1997). Hastalığın derecesi çoğunlukla kişinin immün durumuyla bağlantılıdır. İmmün sistemi sağlam kişilerde kendini sınırlayan birkaç günden üç haftaya kadar devam edebilen, artmış sulu ishal şeklinde olabilmektedir (Keusch, 1995; Tanyüksel vd., 1995). İmmün sistemi baskılanmış kişilerde özellikle AIDS hastalarında ise uzun süreli, hayatı tehdit eden, kolera benzeri hastalığa sebep olmaktadır (Current ve Garcia, 1991; Tanyüksel vd., 1995). İmmün sistemi bir ilaçla bastırılmış kişilerde hastalık belirtileri bağışıklığın düzelmesiyle birlikte geçmektedir (Yücel, 1989). İmmün sistemi düşük olan kemoterapili özellikle kanserli ve transplantlı hastalar, kötü beslenen kişiler, küçük çocuklar, kızamık, CMV (*Cytomegalovirüs*) gibi viral enfeksiyonlara maruz kalan kişilerde de hastalığın şiddeti ve süresi artmaktadır (Duong vd., 1995). İmmün sistemi baskılanmış hastalarda *Cryptosporidium* enfeksiyonları sadece gastrointestinal kanal boyunca görülmemektedir. Solunum sisteminin tutulması, kolesistit, hepatit ve pankreatite de yol açabilmektedir (Current ve Garcia, 1991; Hashwey, 1997).

Genel olarak hastalığın sağlıklı kişilerde şiddeti ve süresi farklı olmaktadır. Sulu diyare hastalığın birinci veya ikinci gününde başlamak üzere günde 2-10 defa olabilmektedir. Semptomlar 5-14 gün sürmektedir. Hastalarda diyarenin bitiminden iki hafta sonrasına kadar ookistlerinin atılımı devam etmektedir. Asemptomatik olgularda ise bu atılım 5 haftaya kadar uzayabilmektedir. Bu olay bulaşımında ve çevreyi kontamine etmede önemli olmaktadır (Lance vd., 1994; Goldstein vd., 1996; Cicirello vd., 1997).

C. parvum'un tanısı 3 şekilde konulmaktadır (Casemore, 1991). Bunlar; direkt mikroskopi, serolojik yöntemler ve histopatolojik yöntemlerdir. Ayrıca 1990'lı yıllardan günümüze kadar sularda *C. parvum* teşhisinde çeşitli güncel metodlar geliştirilmiştir (Betancourt, 2002).

Direkt mikroskobide boyasız ve boyalı olmak üzere iki türlü preparat hazırlanmaktadır.

Boyasız preparat lam lamel arasında mikroskopta direkt olarak incelenmektedir. Ancak *C. parvum* ookistleri mayalarla benzerlik gösterdiğinden boyasız preparatlarla tanımlamak güçtür. Ancak boyalı preparatlarla bu ayırım yapılabilen ve *C. parvum* tanısı konulabilmektedir. Su örneklerinden hazırlanan preparatlar değişik metodlar ile boyanabilmektedir. Bu boyama metodları Iodine boyama, Giemsa boyama, Tricrom boyama, Auramine-Rodamin boyama, modifiye Soğuk Kinyon boyama, modifiye Kinyon Asit Fast boyama, modifiye Ziehl-Neelsen boyama, Acridine Orange boyama ve modifiye Köster boyama metodudur (Casemore, 1991; Murray vd., 1994, Erkan, 1995). Bu boyama yöntemleri de ayırt edici olan ve ayırt edici olmayan yöntemler olarak iki grupta incelenmektedir. Boyama; ayırt edici yöntemlerle yapıldığında ookistler ve mayalar birbirinden farklı renklerde boyamaları ile ayırt edebilmektedirler (Çizelge 2.1.2).

Hacim ve morfoloji olarak ookistlere benzemekte olan maya hücrelerinden kaynaklanabilecek yalancı pozitiflikten kaçınmak amacıyla belirtilen boyama metodlarından en güvenilir olanı modifiye Ziehl-Neelsen boyama metodudur (Ungar, 1990). Ancak yine de bu metodla *C. parvum* ookistlerinin başka yapılarla karışma olasılığı vardır. Bunlar fungal sporlar, yağ oluşumları ve bakteri sporlarıdır. Bu boyamada *C. parvum* ookistlerine çok benzeyen diğer bir mikroorganizma da *Cyclospora cayetanensis*'tir. Boyama sonrası her iki organizmada parlak kırmızı olarak boyandıkları için tanıyı güçleştirmektedirler. *C. cayetanensis* önceleri *Cryptosporidium* cinsinin büyük bir varyantı yada bir tür mavi-yeşil olarak düşünülen, fakat 1993 yılında *Eimeriidae* ailesine bağlı bir cins olarak tanımlanan 8-10 µm boyutlarında coccisidian bir parazittir. *C. cayetanensis*'in bilinen tek rezervuarı insandır. Parazitin hayat siklusu tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte, dışkı ile atılan ookistlerin infeksiyöz olmadığı, dışarıda belirli koşullar altında olgunlaşma süreci geçirdiği bilinmektedir (Strausbaugh, 2000). Bu parazitin ince bağırsağın epitel hücrelerine girdiği ve invaziv olmayan sulu ishale yol açtığı bilinmektedir. *C. cayetanensis* ookistleri, *C. parvum* ookistlerine benzer bir şekilde içme sularının dezenfeksiyonunda kullanılan klorla oldukça dirençlidir. Fakat morfolojik olarak *C. parvum* ookistlerinin 2 katı büyüklükte oldukları için filtre yöntemiyle içme sularından daha kolay uzaklaştırılmaktadırlar. Ayrıca boyanmış

preparatlar dikkatli incelendiğinde bu büyüklük farkı ayrımı kolaylaştırmaktadır. Ancak bazı *C. cayetanensis* ookistleri yalancı pozitiflik verebilmektedir. Bu yüzden doğrulama amacıyla serolojik testler olan ELİZA ve IFA tekniklerine başvurulmaktadır. Aynı zamanda bir diğer farkta *C. cayetanensis* ookistlerinin duvarları *C. parvum* ookistlerinden farklı olarak ultraviyole ışık altında (260 nm dalga boyunda) kendiliğinden floresans vermektedir (Arslan, 2002).

Çizelge 2.1.2. *Cryptosporidium* tanısında kullanılan değişik boyama yöntemleri

Yöntem	Boyama Sonrası Görünüş	
	Ookist	Maya
Ayırt Edici Olan		
Iodine Boyama	Renksiz	Kahverengi
Modifiye Kinyoun Acid Fast Boyama	Kırmızı	Yeşil
Auramin-Rhodomine Boyama	Portakal Rengi	Görülmez
Modifiye Ziehl-Neelsen	Parlak Kırmızı	Mavi-Mor
Ayırt Edici Olmayan		
Giemsa	Eflatun	Eflatun
Acridine Orange Boyama	Portakal-Yeşil	Portakal
Trichrome Boyama	Kırmızı-Yeşil	Kırmızı-Yeşil

Cryptosporidiosis tanısında immünolojik yöntemlerden Enzym Linked Immunosorbent Assay (ELIZA) ve Immunofluoresans Assay (IFA) testleri geliştirilmiştir. ELIZA dışkı örneklerinde *C. parvum* ookistlerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Dışkı örneklerinde ELIZA testinin duyarlılığı % 93, özgünlüğü % 99'dur. Giardia ve diğer parazitlerle çapraz reaksiyon vermezler. % 10'luk formalin çözeltilisinde saklanan örneklerde de çalışılmaktadır (Ungar, 1990). ELIZA enzimle işaretli antikorlar aracılığı ile antikor ve antijen tesbitinde kullanılan teknik olarak tanımlanmaktadır. Antijen yada proteinlerin enzimle katalizlenmesi sonucu renk değişimi meydana gelmesine dayanan bir tekniktir. ELIZA yöntemi hem hızlı, hem de kolay uygulanabilir olması nedeni ile dışkıda *C. parvum* ookistlerinin tesbitinde kullanılabilecek uygun bir yöntemdir.

(Nevman vd., 1993; Rosenblatt ve Sloan, 1993).

İmmünolojik yöntemlerden bir tanesi olan ve monoklonal antikor kullanılarak yapılan IFA testinin özgünlüğü oldukça yüksek olup, aside dirençli boyama tekniklerinden daha duyarlı olduğu bulunmuştur (Quilez vd., 1996). *C. parvum* ookistlerinin tanımlanmasında kullanılan IFA yöntemi, ookist yüzeyinde bulunan antijenik yapılara, flouresans boya ile işaretli monoklonal antikorların bağlanması prensibine dayanmaktadır (Casemore, 1991). IFA tekniği ile yapılan direkt flouresans antikor boyama yöntemi diğer protozoonlar özellikle *C. cayetanensis*, helmintler, enterik bakteriler ve maya benzeri mantarla çapraz reaksiyon vermez (Tee vd., 1993). IFA tekniği az sayıda ookist içeren su örneklerinde bile kullanılabilir. Buda sularda erken dönemde ookistlerin saptanmasında önemlidir. Uygulanmasında flouresans mikroskoba ihtiyaç duyulmaktadır (Le Chevallier vd., 1995; Izumi vd., 2004). İnsanlarda *C. parvum* ookistleri bağırsakta lokalize olduktan sonra yayılmazlar, yerleştikleri yerde lezyonlara neden olurlar. Bu sebeple bazı durumlarda direkt biyopsi örneği alınarak histopatolojik tanıya başvurulmaktadır. Ancak günümüzde pahalı, uzun zaman alan ve invaziv olan bu yöntem kullanılmamaktadır (Goodgame vd., 1995).

Sulardaki *C. parvum* ookistlerinin teshisinde bazı güncel metotlar da geliştirilmiştir. 1990'dan önce ASTM (American Society for testing and materials) düşük yoğunluktaki sularda *G. intestinalis* kistleri ve *C. parvum* ookistlerini bulmak için test yöntemleri geliştirilmiştir. Birleşik Krallık Daimi Analiz Komisyonu (The United Kingdom Standing Committee Of Analysis) aynı sularda yaşayan organizmaların bulunması için deneysel bir metod olan "Blue Book" metodunu geliştirmişlerdir. Her iki metod aynı prosedüre dayanmaktadır. Kartuş filtrasyon sisteminde sükröz filtresi ile ookistler yada kistlerin ayırımı gerçekleştirilmekte, ayrıca sayımı ve tanımlaması için temel IFA metodu kullanılmaktadır. ASTM metodu alternatif olarak membran filtrasyon sistemi içermektedir. Bu metotlarda büyük avantaj su örneklerinde ookistlerin yüksek oranda tanımlanması, en büyük dezavantaj ise analizlerin uzun zaman alması ve maliyetin yüksek olmasıdır (Nieminski vd., 1995).

1990 yılında onaylanmış USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) metodunda "bilgi toplama kuralı" ile su örneklerindeki *C. parvum* ookistleri bulunmuş ve miktarı

belirlenmiştir. ICR (Information Collection Rule) protozoon metodu da denilen metod flouresans antikor tekniği vasıtasıyla sulardaki *C. parvum* ookistleri ve *Giardia intestinalis* kistlerini tesbit etmektedir. ICR metodu parazit protozoonların karıştığı atıksular, yüzey suları ve yüzey kaynak sularının işe yarayan içme suları haline getirilmesini sağlamaktadır (Le Chevallier vd., 1995). Daha sonraki yıllarda USEPA çalışmalarını devam ettirmiştir. USEPA 1996 yılında *C. parvum* ookistlerini bulmaya yönelik Metod:1622 tasarımı, 1998 yılında ise *C. parvum* ookistleri ve *G. intestinalis* kistlerini bulmaya yönelik kombine bir tasarım olan Metod:1623 tasarımı geliştirmiştir. En son geliştirilen metoda göre su içinden filtre edilen *C. parvum* ookistleri ve *G. intestinalis* kistleri Immunomagnetic Separation (IMS) ile ayrılmakta ve IFA tekniği ile incelenmektedir. Bu metodları doğrulamak için örnekler DAPI (4,6-diamidino-phenylindole) boyası ile boyanmakta ve DIC (Diffrenciel Interference Contrast) mikroskopuyla incelenmektedir (Clancy vd., 1999). Metod:1623'te IMS'den önce örneklerin filtrasyonu gerçekleşmektedir. USEPA Metod:1623 kapsamında örnek filtrasyonu için 3 farklı filtre sistemi kullanmaktadır. Bunlar Envirochek örnek kapsül filtre sistemi (10 L hacimde su örneği için), Cryp-test kapsül filtre sistemi (10 L hacimde su örneği için) ve Filta-Max köpük filtre sistemi (50 L hacimde su örneği için) olarak sıralanmaktadır. Bu sistemlerden herhangi biri kullanılarak su örnekleri filtre edilmekte ve daha sonra IMS ile ayırımı yapıp IFA tekniği ile incelenmektedir (USEPA, 2001).

PCR ise *C. parvum* ookistlerinin tanısında kullanılabilir hassas ve özel moleküler bir tekniktir. Parazitin cins, tür ve genotipinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. PCR yöntemi kullanılarak sulardaki yada asemptomatik taşıyıcılardaki *C. parvum* ookistlerini tesbit etmek mümkün olmaktadır. Ancak DNA ekstraksiyonu karmaşık, zaman alıcı bir işlem olduğundan, rutin tanıda kullanılmamaktadır (Guerrant, 1997; Pollok ve Farthing, 1997).

Cryptosporidiosis'te güvenilir ve etkin bir tedavi yoktur. İmmün sistemi sağlam olan kişilerde tedavi için su ve elektrolit kaybını karşılamak yeterli olmaktadır. İmmün sistemi bozulmuş kişilerde ise ilk önce immün sistemini baskılayan dış faktörlerin kaldırılması için çalışılmaktadır. Bugüne kadar en çok denenen ilaç Spiramisin

olmuştur. İlk önceleri etkin olduğunu bildirmekle beraber sonraki çalışmalar bunu desteklememiştir (Ok vd., 1995). İshali olan AIDS'li hastalarda yapılan çalışmada Azithromycin ve Paramomycin kombine tedavisinin rahatlatıcı etkisi olduğu saptanmıştır (Hicks vd., 1996). Cryptosporidiosis enfeksiyonunda çözüm yolu ookistlerin yok edilmesidir. Enterik önlemler ve iyi hijyen, el yıkama ve kontamine olmuş materyallerin uzaklaştırılması önemlidir. % 3'lük hidrojen peroksit ve % 1'lik amonyum içeren dezenfektanlar ookistleri öldürmek için yeterlidir (Loverly vd., 2001).

2.2. *Giardia intestinalis*

Protozoa aleminin *Sarcomastigophora* filumuna bağlı kamçılı bir protozoon olup insanlarda ince bağırsakta duodenum ve jejunum bölgelerini tutarak gastrointestinal enfeksiyonlara neden olmaktadır. Taşıyıcı hastaların dışkılarıyla su ve besinlere bulaşan kistlerin sindirim yoluyla alınması sonucunda insanlar enfekte olmaktadır. Duodenumda kistler açılarak trofozoit şeklini almakta ve çoğalmaktadır. Kistleri oval şekilde, kenarları düz, yumurta biçiminde, trofozoit şekli ise armut biçimindedir (Koneman, 1997). Ara konakçısı olmayıp tek konak insandır. İnce bağırsağın başlangıç kısmında her trofozoit bağırsak çeperindeki bir hücreye yapışarak yaşamaktadır. *Giardia intestinalis* insanlarda yağların ve başta A vitamini olmak üzere yağda eriyen diğer vitaminlerin emilmesine engel olmaktadır. Çoğalma trofozoit formlarının uzunluğuna ikiye bölünmesiyle gerçekleşmektedir. Ayrıca kistler içinde de çoğalma mümkündür. Daha çok çocuklarda görülen giardiasis, ishal, karın ağrısı, bulantı, kusma, baş ağrısı, baş dönmesi, halsizlik, kansızlık ve kilo kaybına neden olmaktadır (Yaşarol, 1978; Salman, 1995). *G. intestinalis* enfeksiyonları, tüm dünyada en yaygın görülen parazitler enfeksiyonları arasında yer almaktadır. 1976 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde CDC tarafından yapılan tarama çalışmasında, incelenen 414.820 dışkı örneğinin % 3,8'inde *G. intestinalis* saptanmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde Giardiasis prevalansı % 15-20 düzeyindedir (Koreman, 1997). Ülkemizde değişik yaş gruplarında yapılan insidans çalışmalarında Giardiasis sıklıkları sosyoekonomik düzeyle yakın ilişkili olarak % 7-39 arasında değişiklik göstermektedir (Gün, 1996).

Sularda *Giardia intestinalis*, direkt mikroskopi ile teşhis edilebilmektedir. USEPA tarafından geliştirilen Metod:1623'te *G. intestinalis* teşhisinde güncel bir metod olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca ELIZA ve IFA teknikleri ile teşhise gitmek mümkündür (Koreman, 1997; USEPA, 2001).

2.3. Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC)

Escherichia, *Enterobacteriaceae* familyası üyesidir. Bu familyadaki bakterilerin genel ve ortak özellikleri; 0,3-1,0 µm en ve 1,0-6,0 µm boyda, çoğu hareketli bazen hareketsiz, düz, gram negatif, basil şeklinde, fakültatif aerob, endosporsuz, karbon kaynağı olarak glikozu kullanabilen, Katalaz pozitif, Oksidaz negatif, İndol, Metil Red, Voges Proskauer ve Sitrat testlerinde türlere özgü farklılıklar göstermektedir (Bilgehan, 1990).

Escherichia cinsi içinde en önemli tür *Escherichia coli*'dir. *E.coli* basil şeklinde 2-6 µm boy ve 1-1,5 µm genişlikte düz bakterilerdir. 1-2 mm çapında S tipi koloniler yapmaktadırlar. Özellikle 44°C'de üremekte diğer laktoz, maltoz gibi şekerleri asit ve gaz oluşturarak fermente etmekte, sükroz, rafinoz fermantasyonu değişken olmakta ve adonizol ve inozitol'ü genellikle fermente edememektedir. İndol pozitif , Metil Red pozitif, Voges Proskauer negatif, sitrat kullanımı negatiftir. Üreli besiyerinde üreyi kullanmadığı için üreyememektedir. Genellikle H₂S oluşturmazlar. Laktozu fermente etme özelliğinden yararlanılarak yapılan laktoz içeren çeşitli besiyerlerinde kolaylıkla üremektedir. EMB (Eozin Metilen Blue) agar besiyerinde, mavi-siyah parlak röfleli görünümde koloni oluşturmazlar. Ayrıca SS (*Salmonella-Shigella*) agar , Mac Conkey ve Endo agarda ise kırmızı renkli koloniler oluşturmaktadırlar (Taner, 2003).

İnsanlarda oldukça şiddetli hastalıklara yol açan ve *EHEC* olarak simgelenen Enterohemorajik *E.coli* ürettiği verotoksin adlı toksiniyle hemorajik kolit tipindeki hastalıklara neden olmaktadır. Çocuklarda akut ishali takip eden ve akut böbrek yetmezliği, trombositopeni, hemolitik anemi ile seyreden hemolitik üremik sendromu (HUS) etkenlerindedir (Arslan , 2002).

E.coli'nin bulaşması oral yolla olduğu için su, yiyecek , içecek ve çevre temizlik kurallarına uyulması gerekmektedir. Tedavisi antibiyotiklerle olmaktadır. Fakat direnç

çok sık karşılaşılan problem olduğu için antibiyogram testi yapıldıktan sonra duyarlı antibiyotikler seçilerek tedavi yapılmalıdır (Taner, 2003).

2.4. Diğer Enteropatojenler

2.4.1. *Shigella spp.*

Enterobacteriaceae familyası üyesi olan *Shigella spp.*, gram negatif, sporsuz, kapsülsüz, fakültatif anaerob, insanlar için patojen özellik gösteren bir basildir. *Shigella* cinsine ait tanımlanan *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei* olmak üzere 4 türü bulunmaktadır. Bu dört türde insanlarda patojen olup, kalın bağırsak mukoza epitelinde ödem, bol mukus salınması, abseler ve ülserasyonlar meydana getirmektedir. *Shigella* cinsi bakteriler sulu, nemli, gün ışığından uzak ortamlarda uzun süre canlı kalabilirken, yüksek ısı, gün ışığı ve antiseptiklere dirençsizdir. Temiz içme sularında uzun süre yaşamalarına rağmen, kirli sularda spesifik bakteriyofajlar ve asidik ortam nedeni ile kısa zamanda ölmektedirler (Bilgehan, 1990).

Endo, EMB, MacConkey, SS agarda laktoz negatif (şeffaf) koloniler oluşturmaktadır. Kligler Iron agarda laktoz negatif, glikozdan asit oluşturup gaz oluşturmamakta, H₂S meydana getirmemektedir. IMVIC testinde Indol değişken, Metil Red pozitif, Voges Proskauer negatif, sitrat negatiftir. Tür düzeyinde identifikasyon için polivalent aglütinat serumlarla aglütinasyon işlemi yapılmaktadır (Taner, 2003).

Shigella cinsi bakterilerin insanlarda yaptığı hastalığa basilli dizanteri adı verilmektedir. Bakteri yemek ve yiyeceklerle alındıktan 2-6 günlük kuluçka döneminden sonra karın ağrısı ve sonunda kanlı ishal görüntüsü ortaya çıkmaktadır. Bunun için dışkı ve diğer atıkların uygun kanalizasyon sistemine atılması, içme ve kullanma sularının temiz ve denetimli olması, yemek ve içeceklerin sağlık koşullarına uygun hazırlanması gerekmektedir (Yousefi, 1991). Dünyada her yıl yaklaşık 200 milyon kişi *Shigella* türlerinden biriyle enfekte olmakta ve 650000 kişi ölmektedir. Ülkemizde izole edilen *Shigella* türlerinin büyük çoğunluğunu *S. sonnei* ve *S. flexneri* oluşturmaktadır (Söyletir ve Topçu, 1996). 1996-1998 yılları arasında İstanbul'da yapılan bir prevalans

çalışmasında 117 ishali olguda *S. sonnei* ve *S. flexneri* prevalansları % 4,2 iken *S. boydii* ve *S. dysenteriae* prevalansları % 0,85 olarak bulunmuştur (BÜKE vd., 1999).

2.4.2. Salmonella spp.

Enterobacteriaceae üyesi olan *Salmonella* cinsine ait olan türler hem insanda hem de hayvanlarda patojendirler. Bu türlerin meydana getirdiği hastalığa Salmonellosis adı verilmektedir. Yeni doğan ve 50 yaş üzerindeki kişilerde daha ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır. *Salmonella* türlerinin meydana getirdiği enfeksiyonlar tifo, paratifo ile sepsis ve lokalize organ hastalıkları olmak üzere 3 gruptur (Taner, 2003). Tifo ve paratifo etkenleri insanlara ağız yoluyla geçer ve bulaşta su yada çığ olarak yenen bütün gıda maddeleri önem taşımaktadır (Yousefi, 1991). 1500-2000 arası türe sahip bu bakteriler sporsuz, kapsülsüz, gram negatif, aerob veya fakültatif aerob ve 20-40°C arasında üreyebilirler (Arslan, 2002).

Salmonella türleri SS agarda, Sorbitollü MacConkey agarda ve EMB agarda laktoz negatiftirler. Kligler Iron agarda, yatıkta laktoz negatif (kırmızı), dipte glikoz pozitif (sarı) olmaktadır. Çoğu H₂S ve gaz oluşturur. IMVIC testlerinde Indol negatif, Metil Red pozitif, Voges Proskauer negatif, sitrat pozitif bulunmaktadır. Üreaz oluşmamaktadırlar (Bilgehan, 1996; Taner, 2003).

Ülkemizde diyareli olgularda *Salmonella* spp. prevalansının araştırıldığı bir çalışmada 1996-1998 yılları arasında 117 olgudan 8'inde (% 6,8) *Salmonella* spp. serotipleri izole edilmiştir (Büke, 1999).

2.4.3. Vibrio cholerae

Bir enteropatojen olan *Vibrio cholerae*'nin oluşturduğu hastalığa Kolera adı verilmektedir. *V. cholerae*'nin buluşmasında feçes, kusmuk ve lağım materyallerinin sulara karışması esas rolü oynar. Epidemiler patlayıcı biçimde ortaya çıkmakta ve halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Kolerada salgınlar birden başlar, hızla üst seviyeye ulaşır ve yine hızla söner. *Vibrio cholerae* ısı, asit ve kuruluğa çok

dayanıklıdır. Soğuğa dirençlidir. Kolera patogenezinde esas rolü koleragenik toksin oynar ve ince bağırsakta oluşan toksin bol miktarda su ve iyonun kaybedilmesine sebep olan, diyare, kusma ile birlikte seyreden bir dizi olayı başlatır (Bilgehan, 1996).

Vibrio cholerae, Sorbitollü MacConkey agar ve EMB agarda laktoz negatif (şeffaf) koloniler oluşturmaktadır. Kligler Iron agarda, yatıkta yüzeyde laktoz negatif (kırmızı), dipte ise glikozdan asit oluşumu pozitif (sarı), gaz oluşumu negatiftir. H₂S oluşturmazlar. IMVIC testlerinde Indol pozitif, Metil Red pozitif , Voges Proskauer negatif, sitrat değişkendir. Üreyi kullanamazlar. Gram negatif olup, gram boyasıyla iyi boyanmaktadırlar. En son tanıyı doğrulamak için koleraya ait antiserumlar kullanılarak tanıya gidilmektedir. *Vibrio cholerae* kanlı besiyerinde eritrositleri pseudo hemoliz yapmaktadır. Yani *Vibrio cholerae*'nin gerçek bir hemolizini olmayıp meydana gelen hemoliz, mikroorganizmanın kendi metabolitleri sonucunda meydana gelen alkali ortamdan dolayı eritrositlerin lizize uğramasından kaynaklanmaktadır ve B hemoliz meydana gelmektedir (Taner, 2003).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada Haziran 2004-Ekim 2004 tarihleri arasında Isparta çevresindeki çeşitli su kaynaklarından toplanan su örnekleri incelemeye alınmıştır. Göl, dere ve çeşme olmak üzere 3 farklı istasyon baz alınarak 40 su numunesi toplanmıştır. 2004 yılında 26/06-17/07 tarihleri arasında Isparta deresinden, 19/07-03/08 tarihleri arasında Eğirdir Gölü'nden, 05/08-16/08 tarihleri arasında Gölcük'ten, 16/08-14/09 tarihleri arasında halka açık çeşmelerden su örnekleri alınmıştır. Bu su numunelerinin toplanması sırasında her bir örnek için 10 L'lik dezenfekte edilmiş damacaneler kullanılmıştır. Bu su örneklerinden 13 tanesi Gölcük ve Eğirdir gölünden, 10 tanesi Isparta'dan Isparta Deresi olarak başlayıp Karacaören barajına dökülen dereden, 17 tanesi de Isparta merkez ve çevre yollarındaki halka açık çeşmelerden toplanmıştır. Çizelge 3.1.1'de örnek toplama istasyonları ve kaç örnek toplandığı gösterilmiştir.

Çizelge 3.1.1. Örnek alma istasyonları ve örnek sayıları

Örnek Alma İstasyonları	Alınan örnek sayısı
Isparta Deresi	10
Eğirdir Gölü	7
Gölcük Gölü	6
Halka açık çeşmeler	17
TOPLAM	40



Şekil 3.1.1. Isparta Deresi (Sulama alanlarına gider)



Şekil 3.1.2. Isparta Deresi (Alabalık tesislerine gider)



Şekil 3.1.3. Eğirdir Gölü (Plajların başlangıcı)



Şekil 3.1.4. Halka açık çeşme (Ayazmana mesireliği yanı)



Şekil 3.1.5. Halka açık çeşme (Karbuz Çeşmesi)



Şekil 3.1.6. Halka açık çeşme (Antalya yolu dinlenme yeri)

3.1.1. Besiyerler

Laktoz Buyyon'lu Besiyeri
 Brillant Green Besiyeri
 Kanlı Besiyeri
 EMB (Eosin-Methylen Blue) Agar
 Sorbitollü MacConkey Agar
 Kligler Iron Agar
 Triptofanlı Besiyeri
 Glukoz Fosfatlı Besiyeri
 Sitrat Agarlı Besiyeri
 Üre Agarlı Besiyeri (Finegold ve Baron, 1986).

3.1.2. Boyalar, Çözeltiler, Ayıraçlar ve Hazırlanmaları

Ziehl-Neelsen Boyası (GBL Convastain)

Hazır boya kullanılmıştır (Carbol-Fuchsin) içeriği;

Fuksin 4 gr/l
 Fenol 50 gr/l
 Etanol 100 ml/l

Metilen Mavisi

Methylen Blue (Fluka Chemika) 0,3 gr
 Distile su 100 ml

Acid Alcohol Çözeltisi

Konsantre Hydrochloric acid 3 ml
 Ethanol (% 95) 97 ml

Serum Fizyolojik

Sodium Chlorid (NaCl) 8,5 gr
 Distile su 1000 ml

Ağız pamukla kapatılmış bir erlende 121°C'de 15 dk. steril edildikten sonra kullanıldı.

Phosphate Buffered Saline (PBS) Solüsyonu

NaCl 0,8 gr

KCl 0,02 gr

KH₂PO₄ 0,012 grNaH₂PO₄ (susuz) 9,1 gr

Distile su 100 ml

Yukarıda verilen maddeler 100 ml distile su içinde çözüldükten sonra pH 7.3'e ayarlandı. Stok solüsyon hazırlamak için hacim distile su ile 200 ml'ye çıkartıldı.

NaH₂PO₄.H₂O 0,665 grNa₂HPO₄..... 3,5 gr

NaCl 25,5 gr

İlk hazırlanan solüsyona yukarıdaki maddeler eklenerek hacim 300 ml'ye tamamlandı.

İyice karıştırıldı ve pH 7,2-7,5 arasında ayarlandı. Çalışma solüsyonu ise elde edilen stok solüsyondan 150 ml alınıp distile su ile hacmi 500 ml'ye tamamlanarak elde edildi.

Stok solüsyon (PBS) 150 ml

Distile su 350 ml

Kovaks Ayıracı

Paradimetaliaminobenzaldehit 5 ml

Saf amil alkol veya butil alkol 75 ml

Konsantre HCl 25 ml

Paradimetilaminobenzaldehit alkol içinde çözüldü, üzerine HCl ilave +4°C'de buzdolabında saklandı.

Voges Proskauer Ayıracı

Solüsyon I

Alfa naftol 0,5 gr

Etil alkol (% 95'lik) 10 ml

Alfa naftol, etil alkol'de çözüldü ve % 5'lik olarak hazırlanan ayıraç buzdolabında +4°C'de saklandı.

Solüsyon II

Potasyum hidroksil (KOH) 40 gr

Distile su 100 ml

KOH, distile suda çözüldü ve böylece % 40'lık KOH çözeltisi hazırlandı.

Methyl Red Ayıracı

Methyl Red (Merck) 0,02 gr

Etil alkol (% 95) 50 ml

Distile su 50 ml

Yukarıdaki miktarda Methyl Red sırasıyla etil alkol ve distile su ile karıştırıldı, filtre kağıdından süzülerek ayıraç elde edildi.

3.1.3. Tayin Kiti ve Antiserumlar

CRYPTO CEL *Cryptosporidium* IFA antijen kiti (Cellabs-Australia)

Monovalant *Shigella dysenteriae* antiserumu

Monovalant *Shigella boydii* antiserumu

Monovalant *Shigella flexneri* antiserumu

Monovalant *Shigella sonnei* antiserumu

Monovalant *E. coli (EHEC)* antiserumu

Polivalant *Salmonella spp.* Antiserumu

3.1.4. Araçlar ve Diğer Malzemeler

Steril ekim kabini (biolab BH-100)

Otoklav (P-Selecta)

İnkübatör (P-Selecta)

Buzdolabı (nüve ES-250)

Santrifüj (biolab 3K30)

Çalkalayıcı inkübatör (Yellow line OS-5)

Elektronik tartı (MonoBlac)

Sıcak su banyosu (Helo SBD-50)

Işık mikroskobu (Zeiss)

Florosan mikroskobu (Zeiss)
Vakum pompası (Ulvac)
Milipor sistemi (Lab.F)
Selüloz nitrat filitre - 1,2 µm çapında (Sartorius)
Methanol (Merck)
Zefran (Kim-pa)
Otomatik pipet (0,1 ve 1 ml'lik)
Kurutma kağıdı
Lam, lamel
Petri (iki bölmeli)
Doku kültür kabı (50 ml'lik)
Damacana (10 l'lik)
Cam tüp (10×100, 13×100, 13×160, 20×180 mm ebatlarında)

3.2. Metot

Isparta çevresindeki göl, dere ve çeşme olmak üzere çeşitli su kaynaklarından toplanan örneklerde *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intestinalis*, Enterohemorrajik *Escherichia coli* (EHEC) ve diğer enteropatojenler (*Salmonella sp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae*) araştırıldı. Su örneklerinin toplanması ve mikroorganizmaların identifikasyonu standart rutin bakteriyolojik çalışmalara uygun olarak yapıldı. Su örnekleri sabah erken saatlerde 10 l'lik dezenfekte edilmiş damacanalara kullanılarak toplandı. Toplanan her bir örneğin analize aynı gün içinde zaman geçirmeden başlandı. Sularda koliformların saptanması için KMS (Kuvvetle Muhtemel Sayım) yöntemine, mikroorganizma indentifikasyonu için direkt mikroskopi, biyokimyasal ve serolojik testlere başvuruldu. *G. intestinalis* tanısında çöktürme ve direkt mikroskopi yöntemi, *C. parvum* tanısında ise USEPA'nın geliştirdiği Metod:1623 modifiye edilerek kullanıldı (USEPA 2001). % 3'lük hidrojen peroksit ile çalkalanıp steril distile sudan geçirilen damacanalara göl ve dere den iç kısma ilerleyerek, çeşmelerden ise çeşme suyu biraz akıtıldıktan sonra su örneği alındı ve ağızları sıkıca kapatıldı. Vakit kaybetmeden örnekler incelemeye alındı.

3.2.1. Koliform Bakteri Tesbiti

Koliform bakteri tesbiti için toplanan su örnekleri ilk olarak tek ve çift kuvvetli, içinde durham tüpü bulunan laktoz broth besiyerlerine (Bkz. 3.1.1) ekim yapıldı. 10 l'lik su örneğinin 100 ml'si steril bir erlene alındı. Daha sonra bu 100 ml'lik sudan steril koşullarda, 10 ml çift kuvvet laktoz buyyon içeren tüpe 10 ml, 10 ml tek kuvvet laktoz buyyon içeren iki tüpe sırasıyla 1 ml ve 0,1 ml ilave edildi ve tüplerin üzerine kaçınıcı örnek olduğu, kuvvetleri ve ekim yapılan su miktarları yazıldı. 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre içerisinde gaz oluşturan tüpler Eijkman testine tabi tutuldu.

İnkübasyon sonunda her üç tüptede gaz oluşmuş ise bunlardan ikisi, iki tüpte gaz oluşmuş ise ikisi de, sadece bir tüpte gaz oluşmuş ise, gaz oluşan tüp Eijkman testine alındı. Eijkman testi doğrulama testi olup bu testde kullanılan besiyeri brillant greenli laktoz besiyeridir (Bkz. 3.2.1). Çapı 5 mm olan öze ile, pozitif tüplerden brillant green besiyerine ekim yapıldı. Ekimi yapılmış, durham tüplü, brillant greenli laktoz besiyeri içeren tüpler sıcak su banyosunda 44,5°C'de 24 saat inkübe edildi. Durham tüplerinde, her hangi bir hacimdeki gaz oluşumu pozitif sayıldı (Yousefi 1991).

3.2.2. *Cryptosporidium parvum* ve *Giardia intestinalis* Tesbiti

10 l'lik dezenfekte edilmiş damacanelarla toplanmış su örneklerinden KMS yöntemiyle koliform tesbiti için ekim yapıldıktan sonra *C. parvum* ve *G. intestinalis* patojenlerinin tesbiti yapıldı. Bu tesbit yapılırken USEPA'nın 1998 yılında geliştirdiği Metod:1623 modifiye edilerek kullanıldı (USEPA, 2001). Bu metodta kullanılan Envirochek örnek kapsül filitre sistemi 10 l hacimdeki suları filitre etmek için idealdir. Bu sisteme benzer bir şekilde 1,2 µm çapındaki selüloz nitrat filitre, milipor sistemi arasına yerleştirildi ve vakum pompası kullanılarak su örneğimiz filitreden geçirildi. Filtrasyon işleminden sonra filitre milipor sisteminden bir pens yardımı ile çıkartılıp içerisinde serum fizyolojik (Bkz. 3.1.2) bulunan doku kültürü kaplarına alındı. Bu doku kültürü kapları vertikal pozisyonda çalkalayıcıya (Bkz. 3.1.4) yerleştirildi ve maximum 900 rpm'de 5

dk çalkalandı. Çalkalama işlemi tamamlandıktan sonra doku kültürü kapları içindeki solüsyon santrifüj tüplerine alındı. Maximum 2000 rpm'de 15 dk santrifüjlenen solüsyonun süpernatant kısmı bir pipet yardımıyla atıldı ve çöken pelet kısmından ise patojenlerin tesbiti için preparat hazırlandı. Ayrıca pelet kısmından 0,5 ml alınarak 0,5 ml formaldehit ile stoklandı. Direkt mikroskopik inceleme için temiz bir lam üzerine çöktürme yapılan solüsyondan bir damla alındı ve lamel kapatılarak ışık mikroskopunda incelemeye alındı *G. intestinalis* kistlerine rastlanan örnekler not edildi.

Modifiye Ziehl-Neelsen için yine temiz bir lam üzerine iki farklı noktaya örneğimizin pelet kısmından damlatıldı ve kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparat ateşte fikse edildikten sonra modifiye Ziehl-Neelsen boyamaya tabii tutuldu.

Boyama işleminde (Bkz. 3.1.2) ilk olarak Ziehl-Neelsen boyası (Carbol fuchsin) tüm yüzeyi kaplayacak şekilde preparatın üzerine döküldü. Alkollü pamuk ile alevlenmiş çubuk vasıtasıyla preparat altından 10 dk boyayı kaynatmadan sadece buharlaşmasını sağlayacak şekilde ısıtıldı. Preparat üzerinden ısıtma sırasında buharlaşarak eksilen boya tekrar ilave edildi. Süre sonunda boya döküldü ve preparat musluk suyu altında yıkandı. Daha sonra asit alkol çözeltisinde preparat üzerinde hiç kırmızılık kalmayacak şekilde dekolarize edilerek tekrar yıkandı. Son aşamada zıt boya olan metilen mavisi preparatın üzerini kaplayacak şekilde döküldü. 1-2 dk. sonra preparat musluk suyunda yıkandı ve kurutma kağıdı yada havada kurumaya bırakıldı. Değerlendirme için preparat 40 ve 100'lük objektifte incelendi. *C. parvum* varlığından şüphelenen örnekler not edildi ve bu preparatların fotoğrafları çekildi. *C. parvum* IFA kiti kullanılarak immunofloresans teknikle aynı örnek doğrulama amacı ile incelendi.

Son olarak *C. parvum* varlığını kesin doğrulamak amacıyla IFA için temiz bir lam üzerine çöktürme yapılan örnekten çapı 5 mm'yi geçmeyecek şekilde damlatılarak preparat hazırlandı ve havada kurutulduktan sonra metanol damlatılarak fikse edildi. Crypto cel *Cryptosporidium* IFA antijen kitinden, preparatta örnek damlatılan kısmın üzerini kapatacak şekilde 18-20 µl damlatıldı. Önceden hazırlanmış içerisinde nemli kaba filitre kağıdı bulunan petriler içerisinde ağzı kapatılarak etüvde 30 dk bekletildi. Süre sonunda etüvden çıkartılan preparatlar PBS solüsyonu (Bkz. 3.1.2) ile yıkandı. Kurutma kağıdıyla etrafı kurutulduktan sonra IFA kitine özel immersiye yağ

damlatıldı ve lamel kapatılarak 100'lük objektifte incelendi. Hazır halde bulunan *Cryptosporidium parvum* kontrol preparatıyla karşılaştırılmalı olarak incelenen preparatlarda koyu zemin üzerinde flouresans yeşil renkteki oluşumlar *C. parvum* ooksitleri olarak değerlendirildi ve pozitif kabul edilen bu örnekler fotoğraflandırıldı.

3.2.3. Enteropatojenlerin Tesbiti

Enteropatojenlerin tesbitinde koliform mikroorganizma tayini için ekim yapılan laktoz buyyonlu besiyerinde gaz oluşumu gözlenen örneklerden çapı 5 mm olan öze ile alındı ve kanlı jeloz, EMB agar, SMC agara (Bkz. 3.1.1) tek koloni ekimi yapıldı. Ekimleri yapılan besiyerleri 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonunda kanlı jelozda koloni morfolojilerine bakıldı. EMB agarda laktoz negatif (şeffaf) koloniler, laktoz pozitif (metalik röfle yeşili) koloniler , SMC agarda laktoz negatif (şeffaf) koloniler işleme alındı. Şüphelenilen koloniler KIA (Kligler Iron Agar) (Bkz. 3.1.1) besiyerine platin bir iğne öze ile tüpün dip kısmına 1-2 mm kalana kadar batırılıp, yüzeyden yatık kısmına zigzak çizilerek, çekilip ekim yapıldı. 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Kligler görünümünde laktoz negatif (yüzey kısmı kırmızı) , glikoz pozitif (dip kısmı sarı) , gaz ve H₂S pozitif olduğu durumlar *Salmonella spp.* şüphesi, laktoz negatif, glikoz pozitif, gaz ve H₂S negatif olduğu durumlar *Shigella spp.* şüphesi, laktoz pozitif, glikoz pozitif, gaz pozitif ve H₂S negatif olduğu durumlar *Escherichia spp.* şüphesi uyandırdı. Şüphe uyandıran örneklere biyokimyasal testler ve şüphelenilen mikroorganizmanın antiserumu uygulandı. Serolojik olarak mikroorganizmaların tanısı yapılmaya çalışıldı (Taner, 2003).

3.2.3.1. Biyokimyasal Testlerin Yapılışı

Spesifik etken açısından KIA'daki görünümüne göre örnekler daha ileri tetkiklere alındı. KIA'da oluşan mikroorganizmalardan İndol, Metil Red, Voges Proskauer, Sitrat testi için uygun besiyerlere ve üreli besiyerine (Bkz. 3.1.1) ekim yapıldı.

Bu testlerden Indol testi yardımıyla, mikroorganizmaların triptofandan indol

oluşturabilme özelliği incelendi. Steril koşullarda kligler besiyerinden öze ile alınan koloniler triptofanlı besiyerine (Bkz. 3.1.1) ekildi. 37°C’de 24 saat inkübasyondan sonra tüpe 0,2-0,3 ml kovaks ayıracı (Bkz. 3.1.2) ilave edilip tüpler hafifçe çalkalandı. Besiyerinin üst kısmında kırmızı bir rengin görülmesiyle test edilen mikroorganizmada indol pozitif olduğu saptandı. İndol negatif olanlarda herhangi bir renk değişikliği görülmedi (Finegol ve Baron, 1986).

Metil Red testinde indol testindeki, aynı yöntem ile glukoz fosfatlı besiyerine metil red ayıracı (Bkz. 3.1.2) 2 damla konuldu. Morumsu kırmızı bir rengi oluşumu pozitif, sarı rengin oluşumu ise negatif olarak değerlendirildi (Finegold ve Baron, 1986).

Voges Proskauer testi mikroorganizmaların glikozdan asetil metil karbinol oluşturma yeteneklerine dayanır. Diğer testlerde olduğu gibi kliglerden öze ile alınan koloniler glukoz fosfatlı besiyerine (Bkz. 3.1.1) steril koşullarda ekildi. 37°C’de 24 saat inkübasyondan sonra tüpe 0,6 ml alfa naftol çözeltisi (Bkz. 3.1.2) ve 0,2 ml % 40’lık KOH’tan (Bkz. 3.1.2) ilave edildi. Tüpte pembe rengin görülmesiyle sonuç pozitif olarak, tüpte renk değişikliği görülmemiş ise sonuç negatif olarak değerlendirildi.

Sitrat testi yardımıyla, sitratlı besiyerinde mikroorganizmaların sitratı karbon kaynağı olarak kullanıp kullanmadığı araştırıldı. Kligler agardan öze ile alınan koloniler sitratlı besiyerine (Bkz. 3.1.1) ekildi. 37°C’de 24 saat inkübasyon sonrası ortamın renginin yeşilden maviye dönüşmesi ile test sonucu pozitif, ortamın renginde değişme olmaz ise test sonucu negatif olarak değerlendirilirdi (Finegold ve Baron, 1986; Yousefi, 1991).

Üre testi ile üreaz oluşturmayan mikroorganizmaların birbirlerinden ayırımı sağlandı. KIA besiyerinden iğne öze ile alınan mikroorganizmalar üreli besiyerinin (Bkz. 3.1.1) yatık kısmına tek çizgi halinde ekildi. 37°C’de 24 saat inkübasyondan sonra ortamın rengi pembeye dönüşmüş ise testin sonucu pozitif, ortamın rengi sarı olarak kalmış ise testin sonucu negatif olarak değerlendirildi (Yousefi, 1991).

Çizelge 3.2.3.1. Enteropatojenlerin biyokimyasal özellikleri

Biyokimyasal	<i>E.Coli</i>	<i>Shigalla</i>	<i>Salmanella</i>	<i>Vibrio</i>
Testler	<i>spp.</i>	<i>spp.</i>	<i>spp.</i>	<i>cholerae</i>
İndol	+	+/-	-	+
Metil Red	+	+	-	+
Voges Proskauver	-	-	-	-
Citrat	-	-	+	-
H ₂ S (KIA)	-	-	+	-
Glikozdan asit	+	+	+	+
Glikozdan gaz	+	-	+	-
Laktoz	+	-	-	-
Üreaz	-	-	-	-

3.2.3.2. Antiserumlarla İdentifikasyon işlemleri

Spesifik etkenlerin araştırılmasında katı besiyerlerinde üreyebilen (Bkz. 3.2.3) mikroorganizmalar değişik biyokimyasal test sonuçlarına göre (Bkz. 3.2.3.1) genel hatları ile tanımlandı. Ancak, kesin sonuçlar antiserumlar ile lam aglütinasyonu sonucunda verilebileceği için, her bir bakteri lam üzerine damlatılan serum fizyolojik çözeltilisinde homojen bir şekilde steril olarak dağıtıldı. Daha sonra üzerine şüphelenilen bakterinin antiserumu (Bkz. 3.1.3) damlatıldı. Yapılan preparatta çökelme olursa aranan sonuç pozitif, çökelme olmazsa sonuç negatif olarak değerlendirilirdi (Yousefi , 1991).

4- BULGULAR

Isparta'da Haziran 2004 – Ekim 2004 tarihi arasında göl, dere ve çeşme olmak üzere çeşitli su kaynaklarında toplam 40 su örneği analiz kapsamına alınmış olup, su örnekleri alınma yerlerine göre gruplandırılmıştır. Toplam 40 su örneğinin 10'u (% 25) Isparta deresinden, 7'si (% 17,5) Eğirdir Gölü'nden, 6'sı (% 15) Gölcük'ten, 17'si (% 42,5) halka açık çeşmelerden toplanmış olup bu örneklerin 6'sında (% 15) *Cryptosporidium parvum* ookistleri, 8'inde (% 20) *Giardia intestinalis* kistleri saptanmıştır. 1 örnekte (% 2,5) *Salmonella spp.*'ye, diğer bir örnekte (% 2,5) *Shigella sonnei*'ye rastlanmış, Enterohemorrajik *E. coli* (EHEC) ve *Vibrio cholerae*'ya rastlanmamıştır.

C. parvum ookistlerine rastlanan 6 örnekten 4'ü (% 66,6) Isparta deresinden, 2'si (% 33,3) Eğirdir Gölü'nden, *G. intestinalis* kistlerinin bulunduğu 8 örneğin 5'i (% 62,5) Isparta deresinden, 1'i (% 12,5) Gölcük'ten, 2'si (% 25) Eğirdir Gölü'nden alınmıştır. *Salmonella spp.*'ye Isparta deresinden alınan bir örnekte, *S. sonnei*'ye Gölcük'ten alınan bir örnekte rastlanmıştır (Çizelge 4.1).

Toplanan 40 örneğin 32'sinde (% 80) koliform saptanmış olup, bu 32 örneğin 17'sinin (% 53,125) fecal koliformlu olduğu doğrulanmıştır. Koliform saptanan 32 örneğin 10'u (% 31,25) Isparta deresinden, 7'si (% 21,9) Eğirdir Gölü'nden, 6'sı (% 18,75) Gölcük'ten, 9'u (% 28,1) halka açık çeşmelerden alınmıştır. Fecal koliformlu olduğu doğrulanan 17 örneğin 9'u (% 52,9) Isparta deresinden, 5'i (% 29,4) Eğirdir Gölü'nden, 2'si (% 11,8) Gölcük'ten, 1'i (% 5,9) halka açık çeşme olan Karbuz çeşmesinden alınmıştır (Çizelge 4.2)

Çizelge 4.1. İncelenen su örnekleri ve saptanan mikroorganizmalar

Örnek Alma İstasyonları	İncelenen Su örnekleri		<i>Cryptosporidium parvum</i>		<i>Giardia intestinalis</i>		<i>Salmonella spp.</i>		<i>Shigella sonnei</i>	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Isparta Deresi	10	25	4	66,6	5	62,5	1	100	-	-
Eğirdir Gölü	7	17,5	2	33,3	2	25	-	-	-	-
Gölcük	6	15	-	-	1	12,5	-	-	1	100
Çeşme	17	42,5	-	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM	40	-	6	-	8	-	1	-	1	-

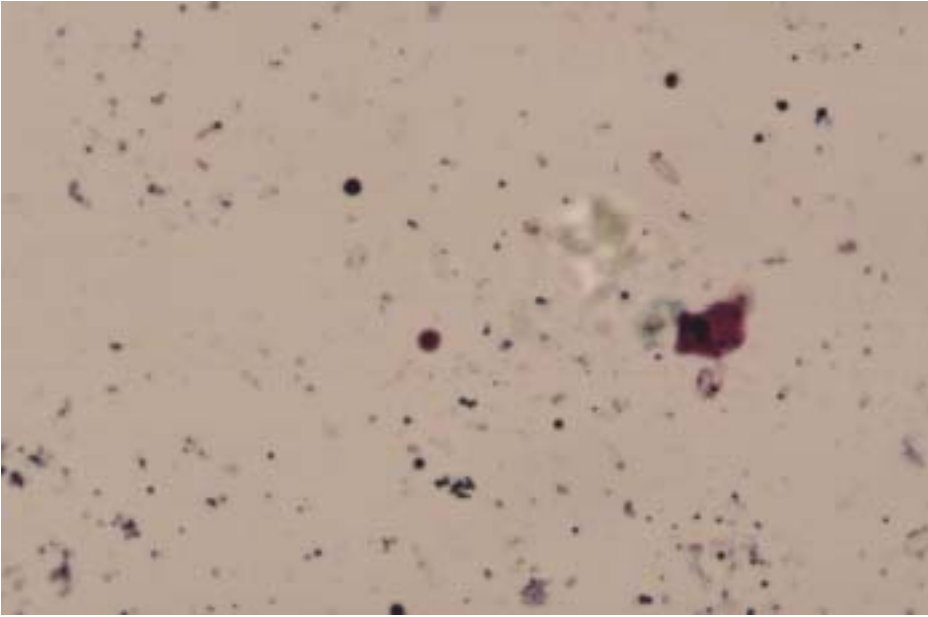
Çizelge 4.2. Koliformlu örnek sayı ve yüzdeleri

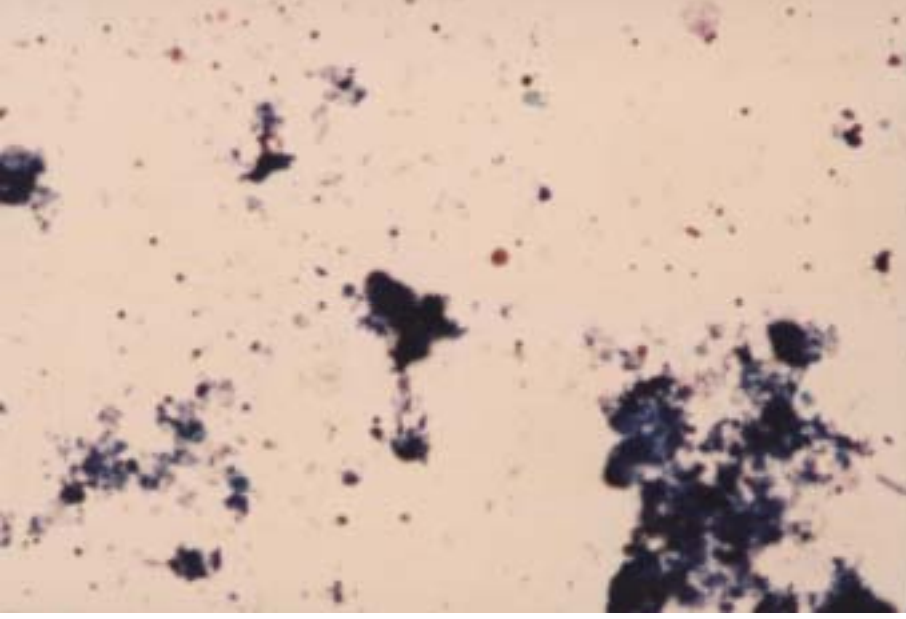
Örnek alma İstasyonları	İncelenen örnek		Toplam Koliform		Fecal Koliform	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Isparta Deresi	10	25	10	31,25	9	52,9
Eğirdir Gölü	7	17,5	7	21,9	5	29,4
Gölcük	6	15	6	18,75	2	11,8
Çeşmeler	17	42,5	9	28,1	1	5,9
TOPLAM	40		32		17	

C. parvum oositlerinin saptanmasında öncelikle modifiye Ziehl-Neelsen boyama yöntemi kullanılmış ve 40 su örneğinin 13 tanesinde bu gözlenen yapıların *Cyclospora cayatanensis* oositleriyle çok fazla benzerlik göstermesi, karışabilme riskini ortaya çıkarmıştır. Daha sonra örneklerdeki *C. parvum* varlığını kesin doğrulamak için IFA tekniği uygulanmış ve 40 su örneğinin 6'sında (% 15) kesin olarak *C. parvum* tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

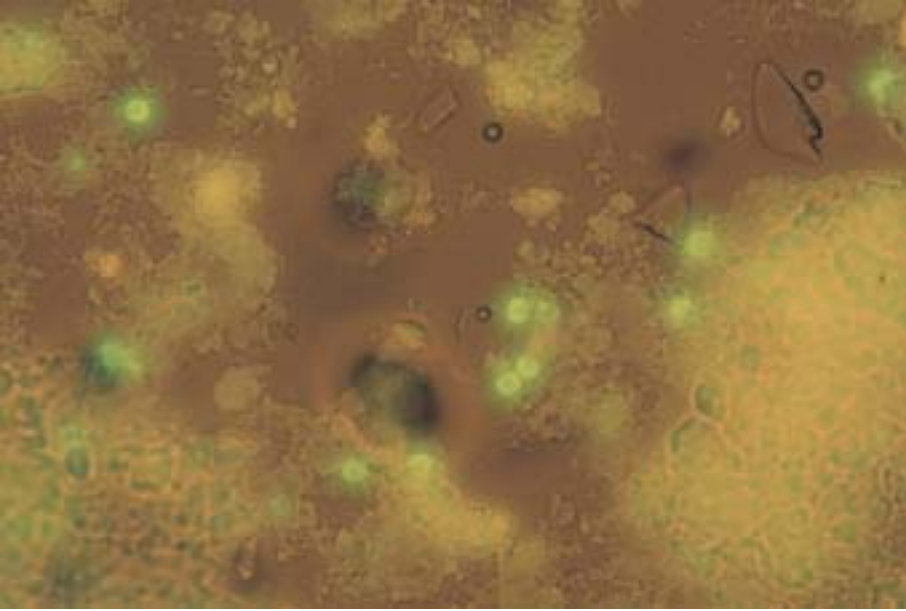
Çizelge 4.3. *Cryptosporidium parvum* saptanan örnekler

Örnek Alma İstasyonları	İncelenen örnek		Boyamada <i>C.parvum</i>		IFA'da <i>C.parvum</i>	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Isparta Deresi	10	25	7	53,8	4	66,6
Eğirdir Gölü	7	17,5	5	38,5	2	33,3
Gölcük	6	15	1	7,7	-	-
Çeşmeler	17	42,5	-	-	-	-
TOPLAM	40		13		6	

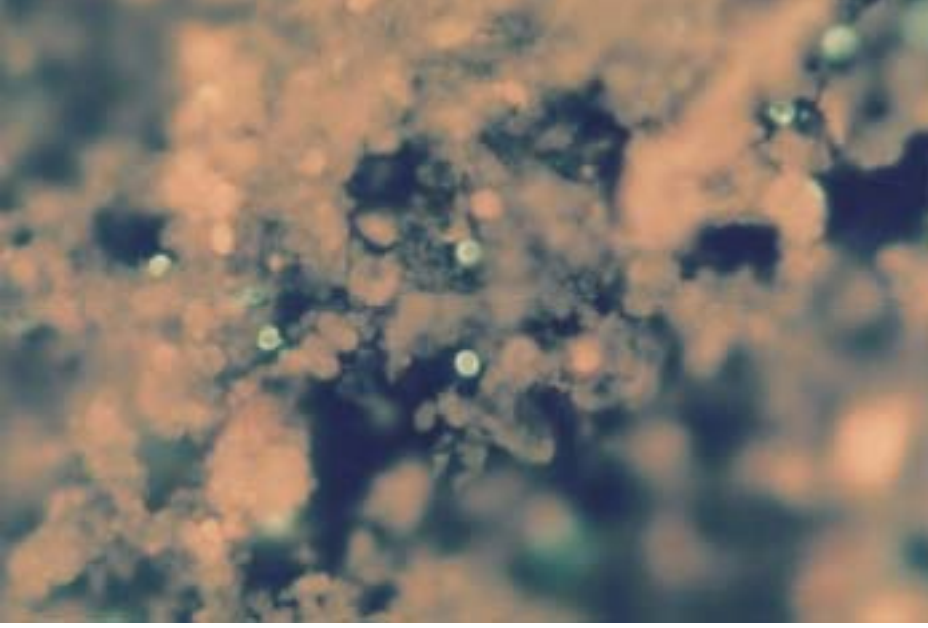
Şekil 4.1. *Cryptosporidium parvum*'un modifiye Ziehl-Neelsen boyama metodu ile boyanmış preparatı (40×15'lik obje)



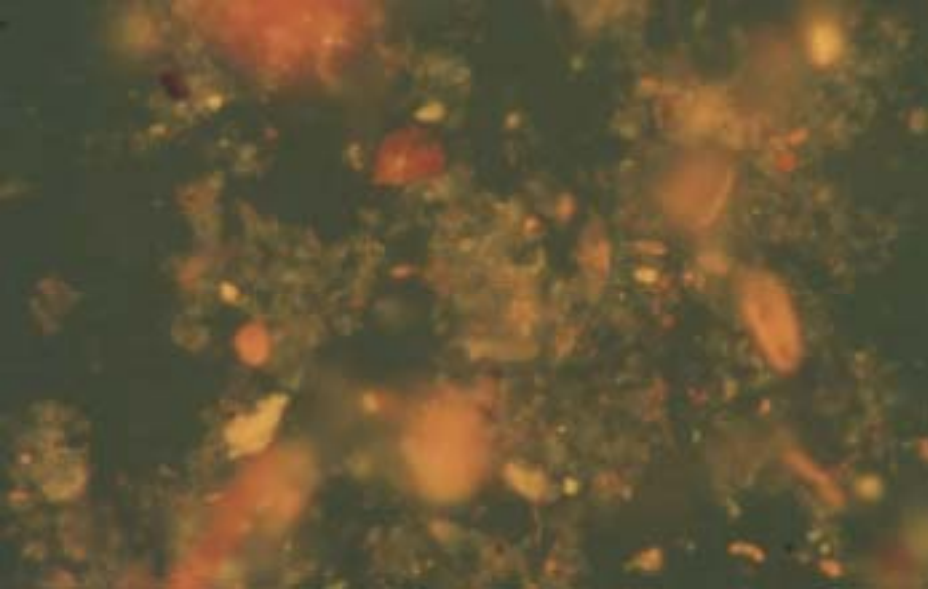
Şekil 4.2. Modifiye Ziehl-Neelsen boyama metodu ile boyanmış *C. parvum* şüphesi konulan preparat (40×15'lik obje)



Şekil 4.3. *C. parvum*'un IFA metodu ile boyanmış (Pozitif Kontrol 40×15'lik obje)



Şekil 4.4. *C. parvum*'un IFA metodu ile boyanmış preparatı (40×15'lik obje)



Şekil 4.5. IFA metodu ile incelenen *C. parvum* negatif preparat (40×15'lik obje)

Enteropatojenler ise katı besiyerlerinde izole edildikten sonra biyokimyasal testlerle tanımlandı ve antiserumlarla (Bkz. 3.2.3) kesin teşhisi yapılarak cins ve tür düzeyinde adlandırıldı. Toplanan 40 örneğin 1'inde (% 2,5) *Salmonella spp.*, 1'inde (% 2,5) *Shigella sonneii*'ye rastlanmıştır. *Salmonella spp.* Isparta deresinin 8.km'sinde alınan örnekte çıkmış olup *Shigella sonneii* ise Gölcük DSİ pompasının yakınından alınan örnekte çıkmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Toplanan örneklerde enteropatojenlerin dağılımı

Örnek Alma İstasyonları	incelenen örnek		<i>Salmonella spp.</i>		<i>Shigella Sonneii</i>	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Isparta Deresi	10	25	1	100	-	-
Eğirdir Deresi	7	17,5	-	-	-	-
Gölcük	6	15	-	-	1	100
Çeşmeler	17	42,5	-	-	-	-
TOPLAM	40		1		1	

Çizelge 4.5. İzole edilen enteropatojenlerin biyokimyasal özellikleri

Biyokimyasal Testler	<i>Salmonella spp</i>	<i>Shigella sonnei</i>
İndol	-	+
Metil Red	+	+
Voges proskauer	-	-
Sitrat	+	-
H₂S (KIA)	+	-
Glikozdan asit/gaz	+/+	+/-
Laktoz	-	-
Üreaz	-	-

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyada temiz ve hijyenik şartlara uygun suyun sağlanması toplum sağlığı açısından gün geçtikçe önemini artırmaktadır. Bilim adamları ve sağlık kuruluşları temiz su eldesi yönünde çalışmalar yapmış, su standartları geliştirmiş, içebilir ve kullanılabilir özellikte olan sular için belirli kriterler ortaya koymuşlardır. 1800'lü yılların sonunda ilk kez suların kontrolü için koliformların tesbit edilebileceği anlaşılmıştır. Koliform mikroorganizmaların indikatör olarak kabul edilmesi ve bu indikatör mikroorganizmaların sularda kirliliğin bakteriyel bir kanıtı olması sebebiyle su analizlerinde ilk olarak koliform bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. Bu nedenle araştırmacılar koliform tesbitinde standart yöntem geliştirmek üzere birçok çalışmalar yapmışlar ve sonunda bugün kullandığımız kuvvetle muhtemel sayım (KMS) yöntemini geliştirmişlerdir (Bkz. 3.2.1). Bu çalışmada toplanan su örnekleri öncelikle koliform bakteri yönünden incelenmiş 40 örneğin 32'sinde (% 80) koliform tesbit edilmiş, bunlardan da 17'sinin (% 53,125) fekal koliformlu olduğu doğrulanmıştır. Bu sonuçlar sularda insan kaynaklı bir kontaminasyonun olduğu göstermektedir. Özellikle bu kontaminasyonun açık alandaki sularda fazla olduğu dikkatlerden kaçmamaktadır.

Ayrıca insan kaynaklı bir kontaminasyonun olması sularda *Cryptosporidium parvum*, *Giardia intestinalis*, Enterohemorajik *E.coli* EHEC ve diğer enteropatojenlerin (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio Cholerae*) olabileceği şüphesini uyandırmıştır. Çalışma kapsamına alınan 40 su örneğinin 6'sında (% 15) *C. parvum*, 8'inde (% 20) *G. intestinalis*, 1'inde (% 2,5) *Salmonella spp.*, 1'inde (% 2,5) *Shigella sonnei* saptanırken EHEC ve *Vibrio cholerae*'ya rastlanmamıştır. *C. parvum* ve *G. intestinalis* oranının yüksek olması kistik yapıları sebebiyle olumsuz şartlara daha fazla direnç göstermeleri, *Salmonella* ve *Shigella* gibi mikroorganizmaların ise oranın az olması ise sularda uzun süre canlı kalamamalarından kaynaklanabilmektedir.

Cryptosporidium spp. 1980'li yıllardan itibaren çeşitli su kaynaklarından insanlara bulaşarak Cryptosporidiosis hastalığına sebep olan bir protozoon olarak bilinmeye başlamıştır. Cryptosporidial enfeksiyonlarda su ile geçiş içme suları, eğlence amaçlı kullanılan sular ve tarımsal alanda kullanılan sulama sularıyla olmaktadır. Suyla ilgili

yapılan bir çalışmada 66 içme su örneğinin % 27'sinde *C. parvum* ookistlerine rastlanmıştır. Yüzeysel su kaynaklarının ise % 65-97'sinde *C. parvum* ookistlerinin varolduğu gösterilmiştir (Türkçapar, 2000).

Cryptosporidium enfeksiyonları yaz mevsiminde, özellikle de Ağustos-Eylül ayları arasında daha sık gözlenmektedir. Bu aylarda daha sık görülmesinin nedeni yağmur, nemli hava, sıcakla beraber içme suyu, nehir, havuz, göl ve deniz sularında kontaminasyonun fazla olması sebebiyle *C. parvum* ookist konsantrasyonunun artması olabilir (Hashwey vd. , 1997). Bu sebeple çalışmamız Haziran –Ekim arasındaki aylarda yapılmıştır. Sulardaki kontaminasyonda enfekte kişinin dışkısı en önemli faktördür ve parazit protozoon kirli suların yüzeyinde, yüzme havuzlarında, göl, nehir ve deniz sularında bulunabilir. Ookistler dezenfektanlara dirençli olup, içme ve kullanma sularının klorlanması ile ortadan kaldırılmadığından, suların kontaminasyonu sonucu gelişen epidemiler de bildirilmektedir (Marshall vd., 1998). İnsan, enfeksiyonunun kaynağı konusunda dikkatler ilk kez hayvanlar üzerinde toplanmış ve enfekte hayvan dışkısıyla teması olan immün direnci sağlam 12 kişide enfeksiyonun geliştiği bildirilmiştir. Rakunlar üzerine yapılan bir çalışmada da % 13 oranında enfeksiyona rastlanmış ancak hayvanların enfeksiyon kaynağı olarak gösterilmeleri, hayvan dışkısı ile temasın az olduğu kentsel alanlardaki enfeksiyonları açıklayamamıştır. Daha sonra enfeksiyonun bulaşımında özellikle içme suyu olarak akarsulardan yararlananlarda enfeksiyonun daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Gallaher vd., 1989). Ilordi ve arkadaşları Washington şehrindeki 4 nehirden ve California'daki 2 nehirden su örnekleri toplamışlar, *C. parvum* ookistlerinin varlığını saptanmak üzere test etmişler ve bu 6 nehirden alınan örneklerin tümünde *C. parvum* ookistlerine rastlamışlardır (Ilordi ve leone, 1989).

2000 yılında yapılan bir çalışmada nehirden alınan 11 örnek test edilmiş ve 11 örneğin hepsinde *C. parvum* ookistlerine rastlanmıştır (Hu, 2002)

1985-1994 yılları arasında Kuzey Amerika'da *C. parvum*'un içme suyu kaynaklarını kontamine etmesiyle 12 salgın gerçekleşmiştir. Bu salgınlardan ikisinde (Milwaukee ve Las Vegas) immün sistemi baskılanmış popülasyondaki ölüm oranı % 52-68 arasında olmuştur (Mac Kenzie vd., 1994). 1987 yılında Amerika Carrolton'da yine *C.*

parvum'un içme suyu kaynaklarını kontamine etmesiyle 13000 kişide *Cryptosporidium* enfeksiyonuna rastlanmıştır. 1992 yılında Amerika Jankson County ve Oregon'da 15000 kişinin sağlığını tehdit etmiştir (Stein, 2001). Bugüne kadar görülen en büyük salgın ise yine Amerika'da gerçekleşmiş olup 403000 semptomatik vaka saptanmıştır (Mac Kenzie vd., 1994). 1994'te ise Las Vegas'ta muhtemel kontamine içme suyu ile ilişkili olarak HIV ile enfekte 20 kişinin ölmüne sebep olmuştur (Stein, 1998).

Ülkemizde sularda *C. parvum* varlığını saptamaya yönelik çalışmalara rastlanamamakta genellikle Cryptosporidiosis enfeksiyonuna yönelik çalışmalar karşımıza çıkmaktadır. Cryptosporidiosis'li vakalar rapor edilmekte ancak bu vakalara kontaminasyonun hangi yolla olduğu bildirilmemektedir.

İmmün sistemi baskılanmış insanlarda özellikle AIDS hastalarında Cryptosporidiosis görülme oranı yüksektir. Bu oran gelişmiş ülkelerde % 0,8-5,6 arasında değişirken, gelişmemiş ülkelerde % 50'nin üzerine çıkmaktadır (Current ve Garcia, 1991). 1986'da CDC, 182 AIDS'li hastanın 19'ünde (% 3,6) Cryptosporidiosis saptamış ve bunlardaki ölüm oranını % 61 olarak bulmuştur. Ayrıca CDC Atlanta'daki HIV ile enfekte 600 kişinin % 10'unda *C. parvum* ookistlerinin ara sıra atıldığını ortaya koymuştur (Fahey, 2003). İçme suyundan kaynaklanan bir salgın sırasında, dışkıları periyodik olarak incelenen AIDS hastalarında ve böbrek nakli yapılan kişilerde saptanan *Cryptosporidium* enfeksiyonu sayısında belirgin bir artış saptanmış, bu kişilerin suları kaynatarak içmeleri önerilmiştir (Clifford , 1990). Bu durum immün sistemi baskılanan insanlarda Cryptosporiosis görülme oranının yüksek ve ookist atılımı süresinin daha uzun olduğunu göstermektedir.

İster suda ister dışkıda olsun *C. parvum* tanısında değişik boyama yöntemleri geliştirilmiştir. Bu boyama yöntemlerinden en güvenilir olanı modifiye Ziehl-Neelsen boyama metodudur (Farthing, 1993).

Ancak bu boyama metodunda da *C. parvum* ookistlerinin başka yapılarla karışma olasılığı bulunmaktadır. Bunlar fungal sporlar, yağ oluşumları, bakteri sporları, *Cylospora cayetanensis* olabilmektedir. Analizlerimizin boyama aşamasında 40 örneğin 13'ünde (% 32,5) oluşumlar olabileceği de göz önünde tutularak daha kesin sonuç elde edebilmek için IFA tekniğine başvurulmuştur. İmmunolojik yöntemlerden biri olan,

monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan IFA testinin özgünlüğü yüksek olup aside dirençli boyama tekniklerinden daha duyarlı olduğu bulunmuştur. IFA tekniği az sayıda ookist içeren su örneklerinde bile kullanılabilir. Bu da sularda erken dönemde ookistlerin saptanmasında önemlidir (Le Chevallier vd., 1995; Izumi vd.,2004). IFA tekniğinin uygulanması sonucu 40 su örneğinin 6'sında (% 15) *C. parvum* ookistlerine rastlanmış ve kesin sonuç elde edilmiştir.

1990 yılından günümüze kadar sularda *C. parvum* tanısında çeşitli güncel metodlar geliştirilmiştir (Betancourt, 2002). Bunlardan en son geliştirileni Metod:1623'tür. Bu metod *C. parvum* ookistleri ve *G. intestinalis* kistlerini bulmaya yönelik kombine bir metodtur (Bkz. 2.1). Çalışmamızda bu metod modifiye edilerek kullanılmıştır. *C. parvum* ookistlerinin varlığı saptanmış ancak örneklerimizde kaç ookist olduğuna dair sayım yapılmamıştır.

C. parvum enfeksiyonlarının gerçekleşmemesi için öncelikle su kaynaklarının kontrol edilmesi gerekmektedir. Ookistlerin yok edilmesi enfeksiyonların önlenmesinde önemlidir. İyi hijyen, el yıkama ve kontamine olmuş materyallerin uzaklaştırılması ookist alımını engellemektedir. Özellikle immün sistemi baskılanmış kişilerin kaynatılmış ve şişelenmiş suları kullanması ve sebzeleri iyice yıkadıktan sonra pişirerek tüketmesi gerekmektedir.

Çalışmada halka açık çeşmelerden Karbuç çeşmesinde fecal koliform tesbit edilmiş olup, kanalizasyon kaynaklı bir kontaminasyonun olduğu ortaya çıkmıştır. Bu bulgu halk sağlığı açısından önemli olup enfeksiyonların gerçekleşmemesi için gerekli önlemler alınmalıdır. Ayrıca Isparta Deresi ve Eğirdir Gölü'nden alınan örneklerde *C. parvum* ookistlerine rastlanmıştır. Ookistler bu suları kullanan insanları ve hayvanları kontamine edebileceği için risk teşkil etmektedir. Bu yüzden ookistlerin yok edilmesi enfeksiyonların önlenmesinde önemlidir. İyi hijyen, el yıkama, kontamine olmuş materyallerin uzaklaştırılması ookistlerin bulaşmasını engellemektedir.

Toplum sağlığı açısından suyun hijyenik koşulları taşınmasının ne kadar önemli olduğu çalışmamızda gösterilmiştir. Bu nedenle sularda düzenli olarak mikrobiyolojik incelemeler yapılması şartı ile, hijyenik şartlara uygun suyun sağlanması esas olarak karşımıza çıkmaktadır.

6.KAYNAKLAR

- Akbulut, A., 2000. Osefagus, Mide ve Bağırsak Enfeksiyonları. Felek, S., ed. Sistematik Enfeksiyon Hastalıkları, İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri, 570 s. İstanbul.
- Akgün, Y., 1997. İnfeksiyöz ishallerde tanı zorlukları. VIII. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyöz Hastalıkları Kongre Kitabı, 212-219 s.
- Arıkan, N., 1999. İshalli Hastalarda *Cryptosporidium* Ookistlerinin ve Diğer İshal Etkenlerinin Araştırılması. Pamukkale Ün. Sağlık Bilimleri Ens. Y. Lisans Tezi, 55 s, Denizli.
- Arslan, L., 2002. İshalli Olgularda Enterik Patojen Dağılımı ve Bu Dağılımda *Cryptosporidium parvum* ve *Cyclospora cayetanensis*'in yeri. Marmara Ün. Sağlık Bilimleri Enst., Y. Lisans Tezi, 45 s, İstanbul.
- Atakent, Y., 1979. Kırsal Bölgelerde İçme ve Kullanma Sularının Dezenfeksiyonu ile İlgili Bir Çalışma. Hacettepe Ün. Tıp Fak., Toplum Hekimliği Bölümü, Uzmanlık Tezi, 83 s, Ankara.
- Baxby, D., Blundell, N. and Hart, C.A., 1987. Excretion of a typical oocysts by patients with Cryptosporidiosis. Lancet, 1, 974.
- Bermudez, A.J., Ley, D.H. and Levy, M.G., 1984. Intestinal and bursal Cryptosporidiosis in Turkey's following inoculation with *Cryptosporidium spp.* isolated from commercial poult. Avian Dis., 32(3), 445-450.
- Betancourt, W.Q., Peele, E.R. and Rose, J.B., 2002. *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetonensis*, a review of laboratory methods for detection of these waterborne parasites. J. Microbiol. Methods, 49, 209-224.
- Bilgehan, H., 1990. Özel ve Klinik Mikrobiyoloji. 800 s. Ankara.
- Bilgehan, H., 1996. Klinik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları, No:9, 832 s. İzmir.
- Black, A.J., 1985. Technologie of Polluted Water. 262 p. İran-Tarhan.
- Bonde, G.J., 1966. Bacteriological methods for estimation of water pollution health lab., Sci., 14(3), 124-131.
- Büke, A.Ç., Karakartal, G., Kamçioğlu, S., Nafiye, B., Tünger, A., 1999. 1996-1998 yılları yaz dönemindeki ishallerde *Salmonella* ve *Shigella* prevalansı ve antimikrobik duyarlılıkları. Turkish Journal of Infection, 13, 355-357.

- Canik, B., 1998. Hidrojeoloji. Ankara Üniv. Fen Fakültesi Jeoloji Müh. Bölümü, 286 s. Ankara
- Casemore, D.P., 1991. Laboratory methods for diagnosing Cryptosporidiosis. J. Clin. Pathol., 44, 1321-1326.
- Casemore, D.P., Sands, R.L. and Curry, A. ., 1985. *Cryptosporidium* species a new human pathojen. J. Clin. Pathol., 38, 1321-1326.
- Chacin-Banilla, L., DeYoung, M.M., Cano, G., Guanipa, N., Estevez, J. and Banilla, E., 1993. *Cryptosporidium* infection in suburban community in Maracaibo, Venezuela. Am. J. Trop. Med. Hyg., 49(1), 63-67.
- Cicirello, H.G., Kehl, K.S., Addiss, D.G., Chusid, M.J., Glass, R.I., Davis, J.P. and Havens, P.L., 1997. Cryptosporidiosis in children during a massive waterborne outbreak in Milwaukee-Wisconsin: clinical, laboratory and epidemiological findings. Epidemiol. Infect., 119, 53-60.
- Clifford, C.P., Crook, D.W.M., Conlon, C.P., Fraise, A.P., Day, D.G. and Peto, T.E.A., 1990. Impact of waterborne outbreak of Cryptosporidiosis on AIDS and renal transplant patients. Lancet, 335, 1455-1456.
- Chen, Y., Yao, F., Li, H., Shi, W., Dai, M. and Lu, M., 1992. *Cryptosporidium* infection and diarrhea in rural and urban areas of Jiangsu, people's republic of China. J. Clin. Microbiol., 30(2), 492-494.
- Clancy, J.L., Bukhari, Z., McCuin, R.M., Matheson, Z. and Fricker, C.R., 1999. USEPA method:1622. J. Am. Water Works Assoc., 91, 60-68.
- Cordel, R.L., David, G. and Addiss, M.D., 1994. Cryptosporidiosis in child care settings a review of the literature and recommendations for prevention and control. Pediatr. Infect. Dis. J., 13, 310-317.
- Current, W.L., 1983. Human Cryptosporidiosis. N. Engl. J. Med., 309, 1326-1327.
- Current, W.L. and Long, P.L., 1983. Development of human and calf *Cryptosporidium* in chicken embryos. J. Infect. Dis., 148, 1108.
- Current, W.L., 1996. *Cryptosporidium*. Its biology and potential for environmental transmission, CRC. Rev. Environ. Control, 21.
- Current, W.L. and Garcia, L.S., 1991. Cryptosporidiosis. Clin. Microbiol. Review, 4(3), 325-358.

- Duong, T.H., Dufillot, D., Koko, J., NzeEyo'o, R., Thuilliez, V., Richard, D. and Kombila, M., 1995. Digestive Cryptosporidiosis in young children in an urban area in Gabon. *Sante. Jun.*, 5(3), 185-188.
- Fahey, T.W.D., 2003. Cryptosporidiosis. *N. Engl. J. Med.*, 309, 1326-1327.
- Farthing, M.J.G., 1993. Intestinal parasites *Bailliere's.Clin. gastroenterology.*, 7(2), 334-364.
- Fayer, R. and Leek, R.G.1984. The effects of reducing conditions, medium, pH, temperature and time on vitro excystation of *Cryptosporidium*. *J. Parazitol.*, 31, 567-569.
- Fayer, R. and Ungar, B.L., 1986. *Cryptosporidium spp.* and Cryptosporidiosis. *Microbiol. Rev.* 50(38), 458-486.
- Finegold, S.M. and Baron, E.J., 1986. *Diagnostik Microbiology*. Mosby Company, 950 p. St. Louis.
- Florence, G.C. and Sten, H.V., 1988. Human Cryptosporidiosis. *Critical Reviews in Microbiology*, 16(2), 113-159.
- Galleher, M.M., Herndon, J.L., Nims, L.J., Sterling, C.R., Grabowski, D.J. and Hull, H.F., 1989. Cryptosporidiosis and surface waters. *J. Public Health.*, 79, 39-42.
- Goldstein, S., Juranek, D.D., Ravenholt, O., Hightower, A. et.al., 1996. Cryptosporidiosis: an outbreak associated with drinking water despite state of the art water treatment. *Ann. Intern. Med.*, 124(5), 459-468.
- Gözükara, E.M., 1989. *Biyokimya. İnönü Üniv. Tıp Fakültesi, Ofset Repromat Ltd. Şti.*,196 s. Ankara.
- Guerrant, R.L., 1997. Cryptosporidiosis: an emerging highly infectious threat. *Emergy. Infect. Dis.*, 3(1), 51-57.
- Harp, J.A., Fayer, R., Pesch, B.A. and Jacson, G.J., 1996. Effects of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk. *Appl. Environ. Mikrobiol.*, 62(2), 2866-2868.
- Hashwey, R., Smith, N.H., Cron, S., Graviss, E.A., Chappell, C.L. and White, A.C., 1997. Cryptosporidiosis in Houston, Texas a report of 95 cases. *Medicine*, 76(2), 118-139.

- Hicks, P., Zwiener, R.J., Squires, J. and Savell, V., 1996. Azithromycin therapy for *Cryptosporidium parvum* infection in four children infected with human immunodeficiency virus. *J. Pediatr.*, 129(2), 297-300.
- Hoepelman, I.M., 1996. Human Cryptosporidiosis. *Int. J. STD and AIDS*, 7(1), 28-33.
- Howard, J.B., Kloas, J., Rubin, A.S., Weissfeld, S.A. and Tilton, C.R., 1987. *Klinical and Pathogenic Microbiology*. 1012 p. The CV Mosby Company.
- Hu, T., 2002. *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts detection in the intake and rapid filter system in a water purification plant. *J. Clin. Microbiol.*, 28(5), 327-330.
- Ilordi, I., Ieone, F., 1988. Technics for identifying *Cryptosporidium spp.* in feces. synthetic review and personal experience on anti-HIV seropositive, AIDS related complex and AIDS subjects. *Quad. Sclavo. Diagn. Jan. Dec.*, 24, 1-4.
- Izumi, T., Itoh, Y., Yagita, K., Endo, T. and Ohyama, T., 2004. Brackish water benthic shellfish (*Corbicula japonica*) as a biological indicator for *Cryptosporidium parvum* oocysts in river water. *Environ. Contam. Toxicol.*, 72, 29-37.
- Jawetz E., Melnick, S.L. and Adelberg, E.A., 1987. *Review of Medical Microbiology*. Lange Newalk, Connecticut, 256 p. California.
- Keusch, G.T., Hamer, D., Joe, A., Kelley, M., Griffiths, J. and Ward, H., 1995. Cryptosporidia who is a risk. *Schweiz Med. Wocheschr.*, 125(18), 899-908.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M. and Schreckenberger, P.C., 1997. *Color atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Chapter 20, Lippincott.
- Lance, E.P., Patricia, H.M. and Clarence, E., 1994. Effects of spleen cell populations on resolution of *Cryptosporidium parvum* infection in SCID Mice. *Infect. And Immunity*, 62(4), 1474-1477.
- Le Chevallier, M.W., 1995. Evaluation of the immunofluorescence procedure for detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 690-697.
- Loverly, C.J., Moore, J.E., Millar, B.C. et.al., 2001. Occurrence and moleküler genotyping of *Cryptosporidium spp.* in surface water in Northern Ireland. *J. App. Microbiol.*, 91, 774-779.
- Ma, P. and Soave, R., 1983. Three-step stool examination for Cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. *J. Inf. Dis.*, 147, 824-828.

- Mac Kenzie, W.R., Hoxie, N.J. and Proctor, M.E., 1994. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *New Engl. J. Med.*, 331, 161-167.
- Madore , M.S., Rose, J.B., Gerba, C.B., Arrowood, M.J. and Sterling, J.R., 1988. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and selected surface waters . *J. Parazitol.*, 73, 702-705.
- Marshall, M.M., Naumovitz, D., Ortega, Y., 1998. Waterborne pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.*, 10, 67-85.
- Murray, P.R. and Pfaller, M.A., 1994. *Medical Microbiology*. 2. Ed., International student edition, 459 p.
- Nevman, R.D., Jaeger, K.L., Wuhib, T., Lima, A.A.M., Guerrant, R.L. and Sears, C.L., 1993. Evaluation of an antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* oocysts. *J. Clin. Microbiol.*, 31(8), 2080-2084.
- Nieminski, E.C., Schaffer, F.W. and Ongerth, J.E., 1995. Comparison of two methods detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 1714-1719.
- Nina, J.M.S., McDonald, V. and Dyson, D.A. 1992. Analysis of oocysts wall and sporozoit antigens from three *Cryptosporidium* species. *Infect. Immun.*, 60(4), 1509.
- Ok, Ü.Z., Üner, A. ve Korkmaz, M.,1995. İmmün Yetmezlikte Önemi Artan Parazit Hastalıkları. *Türk Parazitoloji Derneği, Ege Üniv. Basımevi No:12, 98 s. İzmir.*
- Özcengiz, E., 1982. Çeşitli İçme ve Kullanma sularında Fecal Kontaminasyonun Araştırılmasında Kolifaj Yönteminin Değeri ve Koliform Yöntemi ile Karşılaştırılması. *R.S.M., Hıfzısıhha Enst., Uzmanlık Tezi, 60 s, Ankara.*
- Över, U., 1996. İshalle Seyreden Hastalarda *Cryptosporidium*'un Rolü ve Sağlıklı Populasyonda Seroprevalansı. *M.Ü. Sağlık Bilimleri Enst., Doktora Tezi, 83 s, İstanbul.*
- Pollok, R.C.G. and Farthing, M.J.G., 1997. Intestinal parasites. *Current Opinion in Infect. Dis.*, 10, 414-418.
- Qilez, J., Snchez, A.C., clavel, A., Cacho, E. and Lopez, B.F., 1996. Comparison of an asit-fast stain and monoclonal antibody-based immunofluorescence reagent for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faecal specimens from cattle and pigs. *Vet. Parasitol.*, 67, 75-81.

- Rosenblatt, J.E. and Sloan, L.M., 1993. Evolution of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium spp.* in stool specimens. J. Clin. Mikrobiol., 31(6), 1468-1471.
- Salman, S., 1995. Omurgasız Hayvanlar Biyolojisi. Zirem Basımevi, 219 s. Antakya.
- Saygı, G., 1997. İnfeksiyöz ishallerde bağırsak parazitolojilerinin önemi ve yurdumuzdaki durumu. VIII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, 224-271 s. Sivas.
- Snyder, D.E., 1988. Indirect immunofluorescent detection of oocysts of *Cryptosporidium parvum* in the feces of naturally infected racoons. J. Parasitol., 74(6), 1050-1052.
- Soave, R. and Weikel, C.S., 1990. *Cryptosporidium* and other protozoa including *Isoospora*, *Sarcocystis*, *Balantidium coli* and *Blastocystis*. Principles and Practice of Infec. Diseases, 126, 658-662.
- Söyletir, G., Topçu, A.W., Doğanay, M., 1996. İnfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, 748 s. İstanbul.
- Stein, P.L., 2001. The great Sydney water crisis of 1998. Water, Air and Soil Pollution, 123, 419-436.
- Steiner, T.S., Thielman, N.M. and Guerrant, R.L., 1997. Protozoal agents: what are the dangers for the public water supply. Annu. Rev. Med., 48, 329-340.
- Strausbaugh, L.J., 2000. *Cyclospora cayetenensis*. A review, focusing on the outbreaks of Cyclosporiasis in the 1990's. Clin. Infect. Dis., 31, 1040-1057.
- Şişli, M.N., 1980. Ekoloji. Hacettepe Üniv. Yayınları, 101 s. Ankara.
- Tamer, A.Ü., 1989. Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu. Anadolu Üniv. Fen Edebiyat Fakültesi, 78 s. Eskişehir.
- Taner, A., 2003. Klinik Mikrobiyoloji Ders Notları. S.D.Ü. Fen-Edb. Fak., Biyoloji Böl., 96 s. Isparta.
- Tanyüksel, M., Gün, H.T. and Doğançlı, L., 1995. Prevalance *Cryptosporidium spp.* in patients with neoplasia and diarrhea. Scand. J. Infect. Dis., 27(1), 69-70.
- Tee, G.H., Moody, A.H. and Cooke, A.H., 1993. Comparison of techniques for detecting antigens of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in faeces. J. Clin. Pathol., 46(6), 555-558.

- Tekinşen, O.C., 1976. Suyun Bakteriyolojik Muayenesi. Ankara Üniv. Basım evi, 103 s. Ankara.
- Topçu, A.W., Söyletir, G. ve Doğanay, M., 1996. İnfeksiyon Hastalıkları. Nobel Kitabevleri, 634 s. İstanbul.
- Türkçapar, N., 2001. Cryptosporidiosis. Ankara Üniv. Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları A.B.D., Uzmanlık Tezi, 25 s, Ankara.
- Ungar, B.L., 1990. Enzyme-linked immunoassay for detection of Cryptosporidial oocysts. Vet. Record, 115, 442-443.
- USEPA., 2001. Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration/ IMS/ FA. Office of Water EPA., 52 p.
- Wolfson, J.S., Richter, J.M., Waldron, M.A., Weber, D.J., Mc Carthy, D.M. and Hopkins, C.C., 1985. Cryptosporidiosis in immunocompetent patients. New England Journal. Med., 312, 1278-1282.
- Yaşarol, Ş., 1978. Medikal Parazitoloji. Ege Üniv.Tıp Fak., No:93, 102 s. İzmir.
- Yaşarol, Ş., 1984. Medikal Parazitoloji. Ankara Basımevi, 2.Baskı, 98 s. Ankara.
- Yenson, M., 1984. İnsan Biyokimyası. İstanbul Üniv. Tıp Fakültesi, Beta Basım Dağıtım, 128 s. İstanbul.
- Yousefi, R.A., 1982. Gastroenterik Olgularda *Cryptosporidium spp.* ve Diğer Enteropatojenlerin Araştırılması. Refik Saydam Hıfzı Sıhha Est., İhtisas Tezi, 62 s, Ankara.
- Yousefi, R.A., 1991. Ankara'nın Bazı Bölgelerindeki Yeraltı Sularında Enterik Bakterilerin Aranması. Hacettepe Üniv. Fen Bilimleri Ens., Biyoloji Anabilim Dalı, Bilim Uzmanlığı Tezi, 54 s, Ankara.
- Yücel, A., 1989. *Cryptosporidium spp.* ve Parazitliği. Töreci, K., ed. Ülkemizde Yeterince İncelenmeyen Enterik Patojenler. Anadolu Üniv. Basım evi, 102 s. Eskişehir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sevim Aysal
Doğum Yeri : Konya/ Seydişehir
Doğum Yılı : 1979
Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1993-1996 Seydişehir Lisesi Konya

Lisans 1997-2001 S.D.Ü. Fen-Edb. Fak. Biyoloji Bölümü Isparta

Yabancı Dil: İngilizce

İş Deneyimi:

2002-2004 S.D.Ü. Merk. Araş. Lab. Mikrobiyoloji Part Time