

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DİYALİZ HASTALARINDA BARSAK PARAZİTLERİNİN
ARAŞTIRILMASI VE TANI YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr.Gülkan KARADAĞ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

KOCAELİ 2013

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DİYALİZ HASTALARINDA BARSAK PARAZİTLERİNİN
ARAŞTIRILMASI VE TANI YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr.Gülkan KARADAĞ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gülden SÖNMEZ TAMER
Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ

KOCAELİ 2013
KAEK Tarih ve Numarası:29.05.2012-2012/37
Onay No: 5/8
Proje No: 2012/063

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

1. AMAÇ VE KAPSAM	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Diyaliz hastalarında immün yetmezlik	2
2.2. <i>Cyclospora cayatanensis</i>	5
2.2.1. Yaşam döngüsü	5
2.2.2. Epidemiyoloji	6
2.2.3. Klinik	6
2.2.4. Tanı	6
2.2.5. Tedavi	7
2.3. <i>Isospora belli</i>	7
2.3.1. Yaşam döngüsü	7
2.3.2. Epidemiyoloji	9
2.3.3. Klinik	9
2.3.4. Tanı	9
2.3.5. Tedavi	10
2.4. <i>Cryptosporidium spp</i>	10
2.4.1. Yaşam döngüsü	11
2.4.2. Epidemiyoloji	12
2.4.3. Klinik	13
2.4.4. Tanı	13
2.4.5. Tedavi	14

2.5. <i>Blastocystis hominis</i>	15
2.5.1. Yaşam döngüsü	15
2.5.2. Epidemiyoloji	16
2.5.3. Klinik	16
2.5.4. Tanı	16
2.5.5. Tedavi	17
2.6. <i>Dientamoeba fragilis</i>	17
2.6.1. Yaşam döngüsü	17
2.6.2. Epidemiyoloji	17
2.6.3. Klinik	17
2.6.4. Tanı	18
2.6.5. Tedavi	18
2.7. <i>Microsporidia spp</i>	18
2.7.1. Yaşam döngüsü	18
2.7.2. Epidemiyoloji	19
2.7.3. Klinik	19
2.7.4. Tanı	20
2.7.5. Tedavi	20
2.8. <i>Entamoeba</i> Türleri	21
2.8.1. Yaşam döngüsü	21
2.8.2. Epidemiyoloji	22
2.8.3. Klinik	22

2.8.4. Tanı	23
2.8.5. Tedavi	24
2.9. <i>Giardia intestinalis</i>	25
2.9.1. Yaşam döngüsü	25
2.9.2. Epidemiyoloji	25
2.9.3. Klinik	26
2.9.4. Tanı	27
2.9.5. Tedavi	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1. Araştırma Evreni	29
3.2. Araştırma Örneği	29
3.3. Veri Toplama	29
3.4. Verileri İnceleme Yöntemi	30
3.5. Araştırmada Kullanılan Boya ve Solüsyonlar	30
3.5.1. Nativ Preparat	30
3.5.2. Lugol Solüsyonu	30
3.5.3. Formol-Etil Asetat Çöktürme	31
3.5.3.1. Formol (%10'luk) Solüsyonu	31
3.5.3.2. Formol-Etil Asetat Çöktürme Yöntemi	31
3.5.4. Kinyoun Asit-Fast Boya	32
3.5.4.1. Kinyoun Karbol Fuksin Boyası	32
3.5.4.2. Sülfürik asit (%1)	33

3.5.4.3. Loeffler'in Alkali Metilen Mavisi	33
3.5.4.4. Kinyoun Asit-Fast Boyama Yöntemi	33
3.5.5. Trikrom Boya	34
3.5.5.1. Schaudinn Fiksatif	34
3.5.5.2. Alkol	34
3.5.5.3. D'Antoni'nin İodin Solüsyonu	34
3.5.5.4. Trikrom Boya Solüsyonu	35
3.5.5.5. Asit Alkol	35
3.5.5.6. Karbol –Ksilen Solüsyonu	35
3.5.5.7. Trikrom ile Boyama Yöntemi	35
3.5.6. Kalsiflor Boya	36
3.5.6.1. Phosphate Buffered Saline (PBS)	36
3.5.6.2. Evan's Blue	36
3.5.6.3. Kalsiflor Beyazı Boyası	37
3.5.6.4. Kalsiflor ile Boyama Yöntemi	37
3.5.7. Modifiye Trikrom Boya (Weber'in Trichrome Boyası)	37
3.5.7.1. Kromotrop Boya Solüsyonu	37
3.5.7.2. Asit Alkol	37
3.5.7.3. Modifiye Trikrom Boya ile Boyama Yöntemi	38
3.6. ELISA	38
3.7. İstatistiksel analiz	40

4. BULGULAR	41
4.1. Hasta Bilgileri	41
4.2. Parazit tespitinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması	46
4.2.1. <i>B.hominis</i> tanısında kullanılan yöntemler	46
4.2.2. <i>Giardia intestinalis</i> tanısında kullanılan yöntemler	47
4.2.3. <i>E.histolytica/E.dispar</i> tanısında kullanılan yöntemler	47
4.2.4. <i>D.fragilis</i> tanısında kullanılan yöntemler	47
4.2.5. <i>Cryptosporidium spp</i> tanısında kullanılan yöntemler	48
4.2.6. <i>Microsporidia spp</i> tanısında kullanılan yöntemler	48
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
ÖZET	65
ABSTRACT	67
KAYNAKLAR	69

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AIDS: Edinsel İmmun Yetmezlik Sendromu

DFA: Direk Floresan Antikor

ELISA: Enzim Linked Immun Sorbant Assay

EZN: Erlich Ziehl Neelsen

Gal /Galnac: Galaktoz/Nacetyl-D galaktozamin

HIV: İnsan Bağışık Yetmezliği Virusu

HD: Hemodiyaliz

Ig: Immunglobulin

KBY: Kronik Böbrek Yetmezliği

MAF: Modifiye Asit-Fast

NK: Doğal Katil Hücre

NL: Nativ Lugol

NLR: Nükleotid Bağlayan ve Oligomerizasyon Halka Reseptörleri

PBS: Phosphate Buffered Saline

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SAPD: Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi

SDBY: Son Dönem Böbrek Yetmezliği

SMX: Sulfometaksazol-trimetoprim

TLR: Toll Benzeri Reseptörler

TMP: Trimetoprim

UV: Ultraviyole

RESİM DİZİNİ

Sayfa no

Resim 1: <i>Cyclospora</i> Yaşam Döngüsü	5
Resim 2: <i>Isospora</i> Yaşam Döngüsü	8
Resim 3: <i>Cryptosporidium</i> Yaşam Döngüsü	11
Resim 4: <i>Blastocystis</i> Yaşam Döngüsü	15
Resim 5: Lugol solüsyonunda <i>G.intestinalis</i> kisti (40 X büyütme)	49
Resim 6: Lugol solüsyonunda <i>E.coli</i> kisti 40 X büyütme)	49
Resim 7: Lugol solüsyonunda <i>B.hominis</i> kisti 40 X büyütme)	49
Resim 8: Serum fizyolojik de <i>E.histolytica/E.dispar</i> kisti 40 X büyütme)	50
Resim 9: Trikróm boyamada <i>B.hominis</i> kisti 40 X büyütme)	50
Resim 10: Trikróm boyamada <i>G.intestinalis</i> kisti(40 X büyütme)	50
Resim 11: Trikróm boyamada <i>G.intestinalis</i> kist ve trofozoiti (40 X büyütme)	51
Resim 12: Trikróm boyamada <i>D.fragilis</i> kisti (100 X büyütme)	51
Resim 13: Trikróm boyamada <i>E.histolytica/E.dispar</i> kisti (100 X büyütme)	51
Resim 14: Asit fast boyamada <i>Cryptosporidium</i> ookisti (100 X büyütme)	52
Resim 15: Modifiye trikróm boyamada <i>Microsporidia</i> (100 X büyütme)	52
Resim 16: Kalsiflor boyamada <i>Microsporidia</i> (100 X büyütme)	52

TABLolar DİZİNİ	Sayfa no
Tablo 1: Diyalize giren hasta ve kontrol grubunda parazit görülme sıklığı	41
Tablo 2: El yıkama ile parazit görülme sıklığı arasındaki ilişki	42
Tablo 3: Sabun kullanımı ve parazit görülme sıklığı arasındaki ilişki	43
Tablo 4: Dışkının makroskopik görünümü ve parazit saptanması arasındaki ilişki	43
Tablo 5: Diyalize giren hasta grubu ve kontrol grubunda saptanan parazitler ve oranları	44
Tablo 6: Çalışmaya alınan dışkı örneklerinde saptanan parazitlerin kendi içinde dağılımı	45
Tablo 7: NL ve formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile saptanan parazitler	46
Tablo 8: <i>B.hominis</i> tanısında kullanılan yöntemler ve duyarlılık oranları	46
Tablo 9: <i>G.intestinalis</i> tanısında kullanılan yöntemler duyarlılık oranları	47
Tablo 10: Parazitlerin tanısında kullanılan yöntemler ve saptanan parazit türleri	48

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında desteğini ve hoşgörüsünü esirgemeyen, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamı sağlayan tez danışmanım, Doç.Dr. Gülden SÖNMEZ TAMER'e

Kısa süreli de olsa beraber çalışma fırsatı bulduğum, bilgi ve deneyimlerini büyük bir özveri ile aktaran, iş disiplini, çalışma azmini ve insani yönünü örnek aldığım değerli hocam AD Başkanı Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ'ye

Bilgi, beceri ve yardımlarını esirgemeyen Prof.Dr. Fetiye KOLAYLI'ya, Doç.Dr. Sema KEÇELİ'ye, Doç.Dr. Zeki YUMUK'a, Doç. Dr. Fatma BUDAK'a, Doç. Dr. Devrim DÜNDAR'a ve Yrd.Doç.Dr. Erdener BALIKÇI'ya

Bilime ve hayata farklı açılardan bakmamızı sağlayan, bilgisini, hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD. Başkanı Prof.Dr. İdris ŞAHİN hocama ve Prof.Dr.Elif ÖZTÜRK'e

Tezimin istatistiksel hesaplamalarında desteğini esirgemeyen Doç.Dr. Çiğdem ÇAĞLAYAN'a,

Tezimde karşılaştığım zorluklarda manevi desteklerini esirgemeyen Uzm.Dr. Emel ÇALIŞKAN'a, Uzm.Dr. Zeynep OCAK'a ve beraber çalıştığım asistan arkadaşlarıma, laboratuvarında desteğini esirgemeyen Duygu AKBAŞ'a

Bugünlere gelmemde emeği olan değerli annem ve babama, sabrı ve hoşgörüsü ile desteğini her zaman yanımda hissettiğim sevgili eşim M.Akif KARADAĞ'a, manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen kardeşlerime

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Gülkan KARADAĞ

1. AMAÇ VE KAPSAM

Paraziter hastalıklar tüm dünyada önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık 340 parazit türü üç milyardan fazla insanı enfekte etmektedir [1].

Paraziter enfeksiyonlar için risk faktörleri bağışıklık sistemi baskılanmış ve baskılanmamış kişilerde aynıdır. Bağışıklık sisteminin lokal ve sistemik yanıtı sayesinde, hastalığın şiddeti azalır ve yayılması sınırlanır. Bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde, lokalize enfeksiyon yerine daha yaygın enfeksiyon ve daha ağır klinik seyir gözlenir. Ayrıca kronik taşıyıcılık da görülebilir.

Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olan hastalar sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında bağışıklık sistemlerinde önemli değişiklikler olmaktadır. Bunlara üremik toksinler, D vitamini metabolizmasındaki aksaklıklar, kronik enflamasyon ve diyaliz tedavisinin bağışıklık sistemi üzerine etkileri yol açmaktadır [2].

Bağışıklık sistemin baskılanması, iyi çalışmaması özellikle hücresel bağışık yanıtta etkilenen parazitlerin patojenitelerinin artmasına ve ölüme kadar giden ağır klinik tablolara yol açar. Bunlar arasında insanda hastalık yapan patojen enterik protozoon parazitler arasında *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora*, *Isospora belli*, *Dientamoeba fragilis*, *Blastocystis hominis*, *Giardia intestinalis*, *E.histolytica*, vb.yer alır. Bunlardan *Cryptosporidium spp*, *Cyclospora cayatenensis*, *Isospora belli*, *Microsporidia spp* fırsatçı patojenler olup bağışıklığı baskılanan kişilerde uzun ve şiddetli ishallere neden olmaktadır [1,3].

Bu tez çalışmasında periton veya hemodiyaliz (HD) tedavisi gören SDBYi olan hastalar ve sağlıklı gönüllülerde barsak parazitlerinin araştırılması ve tanıda kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyaliz hastalarında immün yetmezlik

KBY, böbrek fonksiyonlarının ilerleyici ve geri dönüşümsüz kaybı ile vücutta üre birikimine neden olmakta bu da üremiye yol açmaktadır. Üremi bağışıklık sistemini baskılayarak enfeksiyon sıklığını artırmakta ve deri testlerine yanıtızlığa neden olmaktadır. Üremi nedeni ile hem doğal bağışıklıkta hem de kazanılmış bağışıklıkta değişiklikler ortaya çıkmaktadır [2].

İnsanlarda patojenlere karşı savunma mekanizması, doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerinin yanıtına dayanmaktadır. Antijene özgül olmamasına rağmen doğal bağışıklık sayesinde enfeksiyon etkenlerine direnç gözlenmektedir. Doğal bağışıklık anatomik ve kimyasal engeller, monosit/makrofaj, nötrofil, mast ve doğal katil hücreler (NK), kompleman proteinleri, akut faz proteinleri, sitokinler, mikrop motif tanıma reseptörü (TLR: Toll like reseptörler, NLR: Nükleotid bağlayan ve oligomerizasyon halkası, NOD benzeri reseptörü) fagositoz ve enflamatuvar yanıtta oluşmaktadır. Patojenlerin tamamen vücuttan temizlenmesinde ise kazanılmış bağışık yanıt önemli rol oynar. Kazanılmış bağışıklık humoral ve hücrel bağışıklık olmak üzere ikiye ayrılır. Humoral bağışıklık, B lenfositleri tarafından üretilen antikorlar aracılığı ile oluşur. Hücre dışı mikroorganizmalara ve toksinlere karşı olan başlıca savunma mekanizmasıdır. Hücre içi patojenlere ise hücrel bağışıklık ile yanıt verilmektedir. Bu tip bağışıklıkta enfekte hücreler T lenfositleri tarafından tanınarak yok edilmektedir. Parazit hastalıklarına karşı savunmada hücrel bağışıklığın daha fazla rol aldığı bilinmektedir [4,5].

İnsan bağışık yetmezlik virusu (HIV) başta olmak üzere, yetersiz beslenme, kemoterapi, uzun süreli steroid kullanımı gibi nedenlerle bağışıklık sistemi baskılanan kişilerin sayısı hızla artmaktadır. Bağışıklığı baskılanan kişiler, fırsatçı parazitler; özellikle sindirim sistemiyle ilgili parazitler (*Giardia*, *Microsporidia*, *Cryptosporidium vb*) enfeksiyonlar açısından risk altındadır.

Artan yaşam beklentisi ve insan ömrünün uzaması kronik böbrek yetmezliği (KBY) gibi hastalıkların sıklığını da artırmıştır [6].

KBY'li hastalarda bağışıklık sisteminde bazı bozukluklar olduğu ilk kez 1957 yılında G.J Dammin ve ark [7]'nin bu hastalarda, cilt homogreftlerinin uzun ömürlü

olduğuna dikkat çekmeleri ile anlaşılmıştır. KBY'li hastalar başta mikobakteri ve virus enfeksiyonları olmak üzere çeşitli enfeksiyonlara duyarlıdır.

KBY'nin, nötrofil kemotaksisi, fagositoz ve bakterisidal aktiviteler üzerine ve T-hücre fonksiyonuna dair olumsuz etkileri vardır. Hastaların nötrofil, lenfosit ve monosit fonksiyonlarında sorunlar ortaya çıkmaktadır [8].

Doğal yanıtta etkili dentritik hücrelerin olgunlaşmasına TLR katkıda bulunur. Üremi nedeni ile bozulan TLR fonksiyonlarının, üriner sistem enfeksiyonlarını önlemede yetersiz kaldığı bildirilmektedir. Nötrofillerin de kemotaktik aktivitelerinde, oksidatif metabolizmalarında, fagositik aktivitelerinde ve degranulasyonunda problemler görülmektedir. Malnütrisyon, artmış hücre içi kalsiyum, demir yüklenmesi, üremik toksinler nötrofillerin fonksiyonlarında aksamalara neden olmaktadır. Böbrek yetmezliği, monosit, T lenfosit ve dendritik hücre fonksiyon kaybına da yol açmaktadır [7,9].

T lenfositlerin olgunlaşmasındaki sorunlar enfeksiyonlara duyarlılığı artırmaktadır. SDBY hastalarda Hepatit B, influenza virus aşılara karşı yüksek oranda cevapsızlığın T hücre fonksiyonlarındaki değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. SDBY hastalarının cilt greftlerinin uzun ömürlü olması T lenfosit fonksiyonlarında değişiklikler olduğu yönündeki bulguları desteklemektedir. Hemodiyaliz hastalarında artan anjiojeninin T hücre fonksiyonunu baskıladığına dair yayımlar mevcuttur [10].

KBY, HD ve sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) hastalarında morbidite ve mortalitenin önde gelen nedeni enfeksiyondur [11].

KBY hastalarında enfeksiyon için bir çok risk faktörü vardır. Bunlar arasında ileri yaş, yandaş hastalıkların yükü, hipoalbuminemi, nefrotik sendrom, üremi, anemi ve malnütrisyon yer alır. Diyalize başladıktan sonra, diyaliz için kullanılan vasküler girişimler diyaliz prosedürünün kendisi ve demir yüklenmesi gibi ek işlemler enfeksiyonun ortaya çıkması için potansiyel risk faktörleridir. Tüm bunlar KBY'nin, kazanılmış bağışıklık yetmezlik olarak kabul edilebileceğini göstermektedir [9].

Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar bazı parazit enfeksiyonlarına daha kolay yakalanmaktadırlar. Parazitlerin patojen hale geçmesinde veya patojenitelerinin artmasında konak parazit ilişkileri ve konağın parazitlere karşı olan direncinin azalması veya kaybolması rol oynamaktadır. Bağışıklık sisteminin baskılanması veya

iyi çalışmaması özellikle hücrel bağışıklıktan etkilenen parazitlerin patojen etkilerinin artmasına ve ağır klinik tabloların oluşmasına neden olmaktadır.

Genellikle KBY ve SDBY olan hastaların yaş ortalaması yüksektir ve diyabet gibi başka sağlık sorunları vardır. Enfeksiyonlara açık olan bu hastaların enfeksiyon riskleri ve ilgili komplikasyonlar göz önüne alındığında enfeksiyonları önlemeye yönelik çalışmalar büyük önem taşımaktadır [9].

İnsanda hastalık yapan patojen enterik protozoon parazitler arasında *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora*, *Isospora belli*, *Microsporidia spp*, *Dientamoeba fragilis*, *Blastocystis hominis*, *Giardia intestinalis*, *E.histolytica* vb.yer alır. Bunlardan *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora*, *Isospora belli*, *Microsporidia spp* fırsatçı patojenler olup bağışıklığı baskılanan kişilerde uzun ve şiddetli ishallere neden olmaktadır [1].

2.2.2. Epidemiyoloji

Dünyada *Cyclospora* yaygın olarak rapor edilmektedir. Tropikal, subtropikal bölgelerdeki gelişmekte olan ülkelerde endemik olarak görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde ise su ve yiyecek kaynaklı salgınlar daha sık ortaya çıkmaktadır. Kirilenmiş yüzey suları ile sulama veya yıkama ile de bulaş mümkündür. Gelişmiş ülkelere dışkı örneklerinden yapılan çalışmalarda *C.cayetanensis* %0.5'den fazla bulunmamıştır. *Cyclospora* turist ishali olarak da tanımlanmıştır. *Cyclospora cayetanensis*'in HIV pozitif kişilerde ve diğer bağışıklığı baskılanan hastalarda fırsatçı enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir [14,15,16].

C.cayetanensis için bilinen tek konak insandır. Fekal-oral yolla bulaş gerçekleşir. Kişiden kişiye bulaşması için sporulasyon gereklidir. Enfeksiyöz dozu belirlenmemiştir. Yaşın artması ile enfeksiyon oluşma ihtimali azalır. Anne sütü ile beslenme infantları korumaktadır [17,19].

C.cayetanensis benzeri ookistler fare, sıçan, köpek, tavuk, ördek ve insan dışı primatlardan da izole edilmiştir. Hayvanların insan enfeksiyonlarında kaynak olup olmadığı net değildir [15,20].

2.2.3. Klinik

Enfeksiyon daha çok gelişmekte olan ülkelerde yaşayan yerli halkta özellikle yetişkinlerde görülür. Önceden etkene maruz kalma o bölgede yaşayanlarda koruyucu bağışıklığı sağlayabilir. HIV pozitif kişiler de dahil asemptomatik enfeksiyon ortaya çıkabilir [18,21].

İnkübasyon periyodu ortalama yedi gündür. Hastalık ani başlar. İshalden önce grip benzeri bulgular görülebilir. Günde ortama altı kez sulu ishal, yorgunluk, iştahsızlık, kas ağrısı, karın ağrısı, gaz ve bulantı sıklıkla ortaya çıkar. Ateş yaklaşık %25 vakada bu bulgulara eşlik eder. Uzun süren ishallerde kilo kaybı ve susuzluk görülebilir. Barsak dışı tutulum nadirdir. Ancak enfeksiyon sonrası Reiter sendromu ve Guillain-Barre sendromu rapor edilmiştir [22,23].

2.2.4. Tanı

Dışkı örneğinin mikroskopik incelenmesi ile tanı konur. Nadiren klinik semptomlardan önce ookist atılımı olabilir. Ookistler az sayıda atıldığından tanı için

birden fazla dışkı örneğinin incelenmesi ve dışkı konsantrasyon metotlarının uygulanması gerekmektedir [14].

Cyclospora ookistleri *Cryptosporidium* kistlerinden iki kat büyük olmasına rağmen karışabilir. Modifiye asit-fast (MAF) ve modifiye Erlich Ziehl Neelsen (EZN) veya Kinyoun boyaları ile boyamanın direk preparat ile incelemeye göre üstünlüğü vardır, tanı için deneyimli göz gerektirir. Ookistlerin fluoresan mikroskopunda değişik eksitasyon filtreleri ile otofloresans vermeleri (365 nm'lik filtre ile mavi) tanıda değerlidir. Auramin, safranin ve laktofenol pamuk mavisi boyama işlemlerinde kullanılabilir.

Dışkıda az miktarda ookistlerin tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılabilir. Flow sitometri de tanı için alternatif bir yöntemdir [24,25].

Biyopsi örneklerinin veya jejunal aspiratların elektron mikroskop veya histopatolojik incelenmesi ile tanı konabilir. Biyopsi materyalinin hemotoksilen ve eozin boyaları ile boyanması yeterli değildir. Sitoplazmada supranükleer yerleşimli *Cyclospora*, doku kesitlerinde barsak epitel hücresi yüzeyinde bulunan *Cryptosporidium*'dan ayırt edilmelidir.

2.2.5. Tedavi

Siklosporiyazis tedavisinde günde iki kez 5mg/kg trimetoprim (TMP) sulfometaksozal (SMX) önerilir. SMX'yi tolere edemeyen vakalarda siprofloksasin önerilir. Son yıllarda bağışıklık sistemi baskılanmamış bireylerde tedavide nitazoksanidin 500 mg ×2 yedi gün süreyle kullanımı ile başarı sağlanmıştır [26,27].

2.3. *Isospora belli*

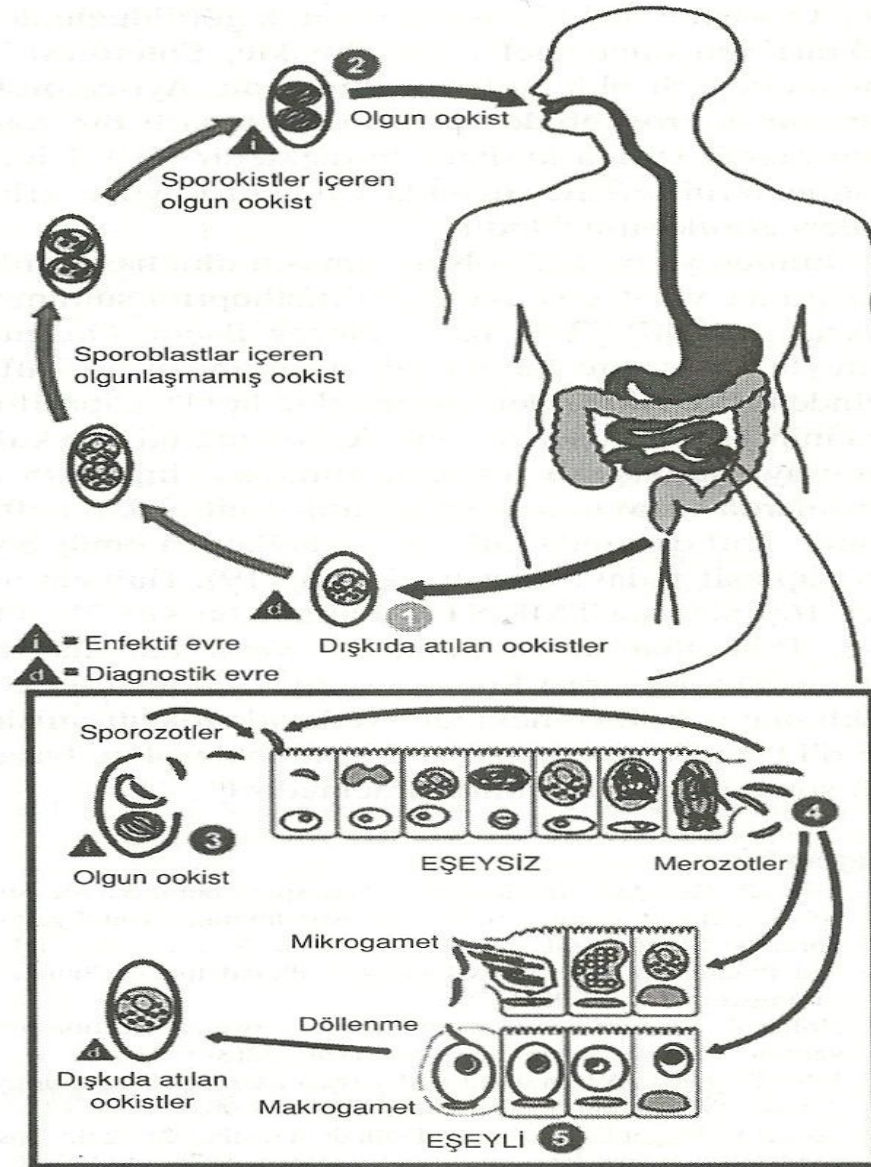
Etken 1915 yılında tanımlanmış olup, 200'den fazla *Isospora* türünün yalnızca biri insanda enfeksiyona neden olur.

2.3.1. Yaşam döngüsü

Olgunlaşmamış *Isospora belli* (*I.belli*) ookistleri tek sporoblast içerir ve enfekte konağın dışkıyla atılır. Ookistler aylarca dış ortamda canlılığını sürdürebilir. Ookistlerin enfeksiyonu gerçekleştirmesi için sporulasyonu gerekir. Sporulasyon 24-48 saat içinde ve 30-37°C saatte gerçekleşir. Tek sporoblast ikiye bölünerek

sporokistleri oluşturur. Enfektif ookist her biri dört sporozoit içeren iki sporokiste dönüşür [28].

Sporulasyona uğramış ookistler ağızdan alındıktan sonra proksimal ince barsakta sporozoitler salınır. Sporozoitlerden merozoitler gelişir ve epitel hücreler içinde aseksüel üreme bunu takip eder.(Şekil 2) Olgunlaşmamış ookistler dışkı ile atılır. Nadiren sporozoitler değişik dokulara göç ederek daha sonra barsak dışı enfeksiyonlara neden olabilir [29].



Resim 2: *Isospora* yaşam döngüsü [5]

2.3.2. Epidemiyoloji

Isospora dünyada başta Güney Amerika, Afrika ve Güneydoğu Asya olmak üzere tropikal ve subtropikal ülkelerde yaygındır. ABD’de isosporiyazis HIV pozitif hastalarda ve bağışıklığı baskılananlarda, Latin Amerika’dan göç eden kişilerde, bakım ve psikiyatri merkezlerinde daha yaygın görülmektedir. ABD’ de 1980’lerde AIDS hastalarında *I.belli* enfeksiyonu %2-3 oranında iken, 1990’ların sonlarında bu oran % 0.1’den daha az bulunmuştur. Bu durum *Pneumocystis jirovecii* pnömonisini önlemek için TMP-SMX kullanımının yaygın olarak kullanılmasına bağlanmıştır. Aksine gelişmekte olan ülkelere *I.belli* enfeksiyonu AIDS’li hastalarda kronik ishal ile ilişkilidir ve bu hastalarda enfeksiyon görülme sıklığı %5-%26’dır [30,31].

Diğer *Isospora* türleri kedi ve köpek gibi farklı hayvanlarda bulunabilir. İnsanda hastalığın gelişiminde hayvanların rolü olup olmadığı net değildir [28].

2.3.3. Klinik

Isosporiyazis patogenezi tam olarak aydınlatılmamıştır. İnkübasyon süresi yaklaşık bir haftadır. İki-üç gün süren iştahsızlık, kilo kaybı, karın ağrısı ve bol sulu ishal yakınmalarına rastlanır. Ookistlere iyileşme görüldükten sonra da dışkıda rastlanabilir. Nadiren bağışıklığı baskılanmayan hastalarda kronik ishal veya aralıklı semptomlar görülebilir [32].

HIV pozitif, sitotoksik tedavi gören kanserli hastalar gibi bağışıklığı baskılananlarda uzun süren şiddetli ishal görülebilir. Isosporiyazis CD4 sayısı 200/μl ‘den az olan HIV pozitif kişilerde daha sık rastlanır. Yaygın barsak dışı tutulum AIDS hastalarında rapor edilmiştir [33].

2.3.4. Tanı

Dışkıda nativ preparatta ookistlerin görülmesi veya MAF boyama ile tanı konur. *I.belli* ookistleri aralıklı olarak, az miktarda dışkı ile atılır. Bu yüzden birden fazla dışkı incelemesi ve dışkı konsantrasyon yöntemleri uygulanmalıdır. Direk veya konsantre edilmiş dışkı örneklerinden kalıcı boyamalar yapılır. Polivinil alkol gibi kimyasallarda saklanmış dışkı örneklerinden ookistlerin tanısı güçtür. Auramin-rodamin, laktofenol pamuk mavisi ve safranin kullanılabilir. *Isospora* ookistleri 330-380 nm UV filtre kullanıldığında mavi floresans verir. Basit, hızlı ve duyarlı bir

testtir. Dışkı incelemesinin negatif olması durumunda duodenal aspirat incelenebilir. Diğer protozoon enfeksiyonlarında sık görülmeyen kanda eozinofili ve dışkıda Charcot-Leyden kristalleri rapor edilmiştir [34,35,36].

PZR, *I.belli* için yüksek derecede duyarlı ve özgül tanı yöntemidir. Fakat rutin tanıda kullanımı güçtür.

Enfekte hastaların ince barsağının histolojik incelemesi ile; villöz atrofi, kriplerde hiperplazi ve enflamatuvar hücrelerinin özellikle eozinofillerin lamina propria invazyonu görülebilir. Barsak epitelinde parazitofor vakuol içinde parazitin seksüel ve aseksüel formları tespit edilmiştir. Trofozoit içeren kistler lenf nodlarında, karaciğer ve dalakta bulunmuştur [33].

2.3.5. Tedavi

HIV pozitif olan hastalarda TMP-SMX (160 mg trimetoprim/800 mg sulfametoksazol) on gün boyunca günde dört kez verilerek başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Alternatif tedavi olarak sulfanamid intoleransında, primetamin (75mg/gün) folinik asit (10-25mg/gün) ile birlikte verilebilir. Siprofloksasin 500 mg günde iki kez yedi gün boyunca, baskılama tedavisinde ise haftada üç kez siprofloksasin verilir. Nitazoksonid tedavide başarılı olan diğer seçenektir. Diklazuril, roksitromisin, ornidazol ve albendazol kombinasyonu, metranidazol, kuinakrin, furuzolidon etkili olduğu bulunmuştur [27,37].

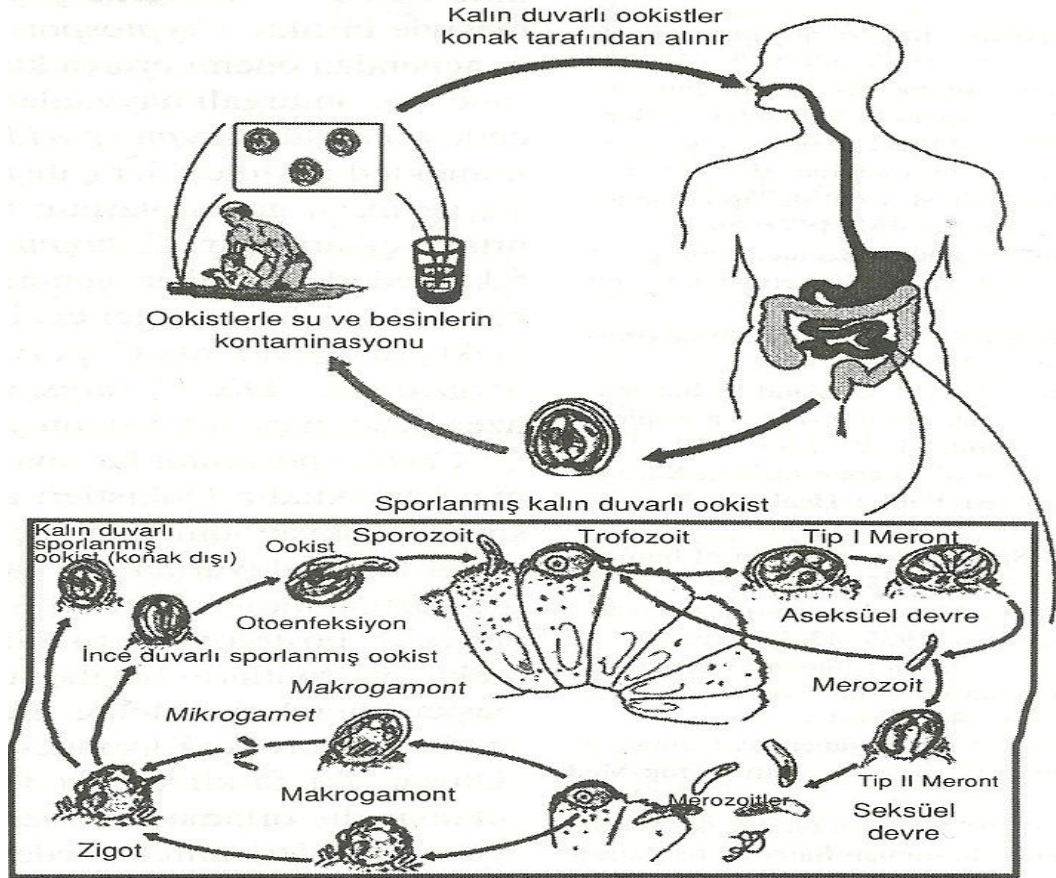
2.4. *Cryptosporidium* Türleri

Apicomplexia'nın alt türü olan *Cryptosporidium*, ilk kez 1907 yılında bir farenin midesinde tanımlanmış, ilk insan olgusu ise 1976 yılında bildirilmiştir [38,39].

Sığırlarda ve insanlarda görülen *Cryptosporidium parvum* (*C.parvum*) birçok memeli organizmayı, insana özgü olduğu düşünülen *C.hominis*, sığırları ve fareleri enfekte etmezken domuzları ve bazı türleri enfekte edebilmektedir. Çalışmalar ve genom karşılaştırmaları sonucunda *C.hominis*'in insana spesifik bir tür olduğu kabul edilmiştir. İnsanları ve köpekleri enfekte eden tür ise *C.canis* olarak adlandırılmıştır. Moleküler çalışmalar insanların *C.meleagridis*, *C.felis*, *C.andersoni*, *C.suis*, *C.baylei* ve *C.muris* tarafından enfekte olabileceğini göstermiştir [40,41,42,43].

2.4.1. Yaşam döngüsü

Cryptosporidium türleri aseksüel (merogoni) ve seksüel (sporogoni) tüm yaşam döngülerini tek bir taşıyıcı organizmada tamamlayabilir. Döngü enfektif ookistin ağızdan alınması ile başlar. Enfeksiyonun etki dozu türden türe değişmektedir. Ookistler mide ve üst barsak kısmında aktive olur ve dört adet enfektif sporozoit salınır. Hareketli sporozoitler epitel içinde aseksüel olarak (merogoni) olarak üremeye başlar. Tip I merontlar oluşur, daha sonra olgunlaşır, patlar ve hareketli merozoitleri oluşturur. Merozoitler epitel hücre yüzeyindeki reseptörler ile hücreler tarafından içeri alınır. Parazit, hücre içinde merogoniyi devam ettirir veya seksüel farklılaşmaya yönelir (Şekil 3). Makrogametler ve mikrogametler salınır. Makro ve mikrogametler birleşerek zigotu, zigotlar ise mayoz bölünme geçirerek sporozoitleri içeren ookistleri oluşturur [44,45,46].



Resim 3: *Cryptosporidium* yaşam döngüsü [5].

2.4.2. Epidemiyoloji

Ookistler atıldığında enfektifdir ve kişiden kişiye bulaşa neden olabilmektedir. *Cryptosporidium* ookistlerinin düşük dozları enfektif olduğu için özellikle su kaynakları ile bulaş sıktır. Ookistler dış ortamda uzun süre özelliklerini kaybetmeden kalabilirler [47,48].

Antartika hariç *Cryptosporidium* parazitlerine dünyanın hemen her yöresinde rastlanır. Enfeksiyon nemli aylarda daha yaygın olarak görülür. Ookistler klorlamaya dirençli, hidrojen peroksida, ozona ve UV ışığa duyarlıdır [42,47,48,49].

ABD’de 100’den fazla *Cryptosporidium* salgınının park/bahçe sulamaları için kullanılan su kaynaklarından kaynaklandığı bilinmektedir. Yüzme, kriptosporidiosis bulaşma riski açısından ilk sırada yer alan bir aktivitedir [47,48,50,51,52].

Besin kaynaklı enfeksiyonlar daha az sıklıkla görülmektedir. İyi kayıt altına alınan salgınların elma suyu, pastörize edilmemiş süt, tavuk salatası, pişmemiş ürünler ve kabuklu deniz ürünlerinden olduğu bildirilmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde ise ookistler genellikle sebzeler ile bulaşmaktadır [53,54].

İnsandan insana bulaşan enfeksiyonlar ilk kez anaokullarında görülmüştür. Hastane kaynaklı salgınlara da rastlanmıştır. *Cryptosporidium* yayılımına gelişmiş ülkelere az gelişmiş ülkelere yapılan seyahatlerde katkıda bulunmaktadır. HIV pozitif hastalar arasında kriptosporidiosisin homoseksüel yolla bulaştığı bilinmektedir [55,56,57,58,59].

Moleküler çalışmalar enfektif *C.parvum* türlerinden çoğunun tipIIc olduğunu ve bu türün sadece insanları enfekte edebildiğini göstermiştir [60].

Bağışıklık sistemi bozuk olan bireylerde enfeksiyonun daha sıklıkla gelişebileceğini gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur. Kronik ishali olan HIV pozitif hastaların dörtte üçünde *Cryptosporidium* bulunmuştur. *Cryptosporidium* diğer bağışıklık sistemi bozuk olan hastalarda da görülebilir [61,62,63,64].

Sağlıklı bireylerde organizma genellikle terminal ileum bölgesinde ve proksimal kolonda yerleşirken, bağışıklığı baskılanan bireylerde tüm barsakta, safra yolu ve solunum sisteminde bile etkene rastlanılmaktadır.

2.4.3. Klinik

İnkübasyon dönemi yaklaşık bir hafta kadardır. Nadiren bir aya kadar da uzayabilmektedir. Gelişmiş ülkelerde sağlıklı bireylerde görülen enfeksiyonların birçoğu su ile oluşan salgınlardan, yurt dışı seyahatlerden, anaokuluna giden enfekte çocuklar ile temastan kaynaklanmaktadır. Hastalar genellikle ishal şikâyeti ile hastaneye başvurur. Sulu ishal, zaman zaman mukuslu ishal şeklinde de görülmektedir. Hastalığın ortalama süresi 10 ile 15 gündür. Diğer semptomlar karın ağrısı, mide bulantısı, kusma ve ateştir. Vakaların %40'ında tekrarlayan semptomlar görülmüş, bu durum irritabl barsak sendromu ile ilişkilendirilmiştir [65,66,67,68].

Çocuklarda bu enfeksiyon kronik ishal ve malabsorbsiyona da neden olabilir. Antiretroviral tedavilerin gelişmesi ile HIV pozitif hastalarda kriptosporidiyozis insidansında önemli ölçüde bir azalma olmuştur. CD4 hücre sayısı 150 μ l'den fazla ise *Cryptosporidium* sağlıklı insanlardaki gibi sınırlı seyrederek [69,70,71].

2.4.4. Tanı

Diğer barsak parazitlerinde olduğu gibi kriptosporidiyozis tanısı da dışkıının mikroskopik incelemesi ile konur. Taze (laboratuvar çalışanları açısından enfeksiyon kaynağı olabilir) veya %10 formolde saklanmış dışkı örnekleri tanıda kullanılır. Potasyum dikromat örnekleri korumak için kullanılabilir. Formol, eter ve formol etil asetat gibi dışkı konsantrasyon yöntemleri de uygulanabilir. Ancak santrifüj hızının artırılmaması veya örneklerin yeterince çevrilmemesi durumunda ookistler sedimente edilmeyebilir. Flotasyon (yüzdürme) metotları da tanıda kullanılır [72].

Nativ preparat, öncelikle faz kontrast mikroskop altında incelemeler için hazırlanır. Ookistler oldukça küçük, boyutları maya hücreleri gibidir. İyot ve trikrom ile boyanamadıkları gibi Giemsa ile de boyanarak da maya hücrelerinden ayırt edilemezler. Rutin tanıda bu enfeksiyon gözden kaçabilir [72,73].

Asit-fast boyama ile ookistler pembe veya kırmızı boyanırken dışkı ve maya hücreleri yeşil-mavi boyanır. En sık kullanılan boya modifiye EZN boyasıdır. Asit-fast boyası kullanarak dışkıda yapılan incelemelerde duyarlılık oldukça düşüktür ve en az mililitrede 500,000 ookist gerekmektedir. Floresan boyalar (auramine O, auramine-rhodamine) daha duyarlı olup daha çabuk sonuç verebilmektedir. Ancak

yanlış negatif sonuçlar görülebilir. Tüm asit-fast boyamaları *Isospora* ve *Cyclospora* gibi farklı parazitleri de boyayabilmektedir [74,75].

İmmunfloresan yöntem, ookist spesifik monoklonal antikolar kriptosporidiyozis tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. İmmunfloresan boyamalar asit-fast boyamalara nazaran en az 10 kat daha duyarlıdır. Monoklonal antikolar kullanılarak yapılan direk immün boyamalar bugün *Cryptosporidium* enfeksiyon tanısının altın standarttır [76,77].

Günümüzde tanıda dışkıda antijen arayan yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır. *Cryptosporidium* tanısında kullanılan ticari kitler ELISA ve immünokromatografik metotlardır. ELISA'nın duyarlılık aralığı %66-100 arasındadır [78,79].

Yapılan bir çalışmada PZR ile dışkı örneklerinde beş ile on kadar ookist gösterilebilmiş ve tanısı konulabilmiştir [80].

2.4.5. Tedavi

Cryptosporidium enfeksiyonunda destekleyici tedavi oldukça önemlidir. Diğer tüm ishallerde olduğu gibi kaybedilen sıvının ve elektrolitlerin yerine konulması oldukça kritiktir. *Cryptosporidium* villus uçlarında yer alan olgun epitel hücrelerin harabiyetine yol açarak laktaz gibi bazı enzimlerin yok olmasına neden olur. Bu nedenle destekleyici tedavide laktosuz diyetle uygulanmalıdır [81,82].

Kriptosporidiyozis barsakta artmış motiliteye neden olmaktadır. Bu nedenle antimotilite ilaçları tedavide oldukça önemlidir. Leporamid ve difenoksilat/atropin kombinasyonları ve opiyatlar kullanılan diğer ilaçlardır. Paromomisinle de AIDS hastalarında başarılı sonuçlar alınmıştır. Makrolid antibiyotikleri spiramisin, azitromisin, roksitromisin ve klaritromisin de *Cryptosporidium*'a karşı etkili olduğu bildirilmiştir [83,84].

Cryptosporidium bireyden bireye geçebildiği gibi kirlenmiş su ve besin kaynaklarından da bulaşabilmektedir. Suların klorlanması *Cryptosporidium* üzerinde etkili olması için, suların arıtılmasında çöktürme (flokülasyon) ve filtreleme gibi yöntemler de kullanılmalıdır.

Kişisel tedbirler, gelişmemiş ve az gelişmiş ülkelere yapılan ziyaretlerde su kaynaklarının temizliğine dikkat edilmesi önemlidir.

2.5. *Blastocystis hominis*

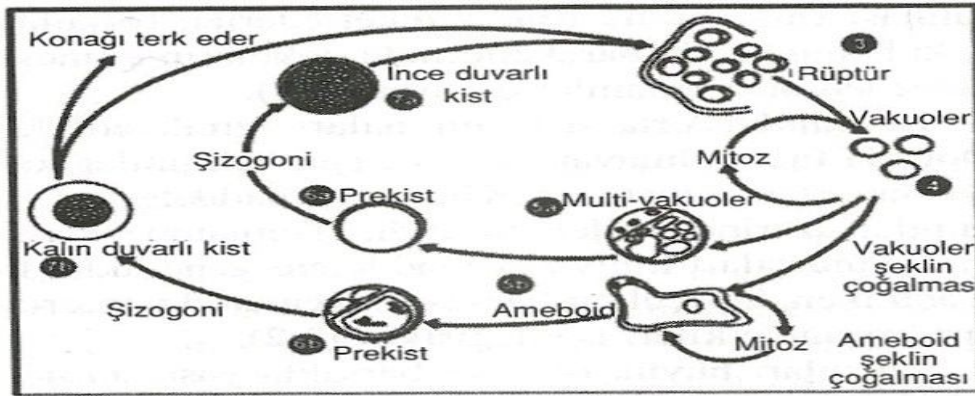
B.hominis'in dünyada görülme sıklığı yüksek olmasına rağmen sınıflandırılması ve patojenitesi ile ilgili konular hala tam açıklık kazanmamıştır.

Chromista aleminde yer alan *B.hominis* önemli morfolojik ve karyotip çeşitliliği gösterir. İnsan ve hayvanlardan 12 tür izole edilmiştir. İnsanı enfekte eden en yaygın subtip 3'tür. Fakat insanlar; kemirgen, kuş ve primatlardan izole edilen *Blastocystis spp* ile de enfekte olabilirler.

2.5.1. Yaşam döngüsü

Vakuoler, granuler, ameboid ve kistik formları yaygın olarak görülür. Tüm formlar sitoplazma ve organelere sahiptir. Vakuoler form merkezde vakuol içerir ve yaklaşık 4-15µm boyutunda olup dışkı örneklerinden en fazla tespit edilen formdur. Granuler form sitoplazma içinde granüller içerir. Ameboid form patojen olduğu düşünülen formdur. Kistler 2-5µm boyutunda olup dışkı atıkları ile karıştırılabilir. Multivakuoler ve avakuoler formlar da tanımlanmıştır.

Enfekte kistler ağızdan alındıktan sonra kalın barsakta açılmaktadır. Kistler vakuoler forma dönüşebilir ve dışkı ile atılmadan önce tekrar kist formuna dönüşebilir (Şekil 4). Vakuolar formu ile kist formu arasındaki değişimler elektron mikroskopunda gösterilmiştir [85,86].



Resim 4: *Blastocystis* yaşam döngüsü [5]

2.5.2. Epidemiyoloji

B.hominis dünyada yaygındır. Gelişmekte olan ülkelerde (%30-50), gelişmiş ülkelerden daha fazla görülmektedir (%1.5-10). Çin’de dört farklı alt türün görülme sıklığı %1.9 ile 32.6 arasında değişmektedir. Bu farklılıklar sadece sosyo-ekonomik seviyenin önemli olmadığını yaşam şartlarının ve yöresel alışkanlıklarında bulaşmada etkili olduğunu göstermiştir [86,87].

Risk faktörleri içinde bağışıklığın baskılanması, gelişmekte olan ülkeye seyahat, kirlenmiş yiyecek ve içeceklerle temas önemlidir [85].

2.5.3. Klinik

Klinik bulgular arasında akut veya kronik ishal, şişkinlik, gaz, karın ağrısı ve yorgunluk şikayetleri yer alır. Irritabl barsak sendromunun *B.hominis* ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Ancak *B.hominis*’in hastalığıdaki rolü net değildir. *B.hominis*’in virulan ve avirulan türlerinin olduğu düşünülmektedir [88].

Bazı çalışmalara asemptomatik kontrol grubu da dahil edilmiş ve dışkıda *B.hominis*’in varlığının sindirim sistemi bulguları ile ilişkili olmadığı görülmüştür. Yapılan araştırmalar semptomatik hasta grubunun sindirim sistemi bulgularının TMP-SMX, metranidazol ve nitazoksanid tedavisi ile gerilediğini göstermiştir [89,90,91,92].

2.5.4. Tanı

Dışkıda parazitin varlığı tanı için yeterlidir. Nativ preparatta *B.hominis* görülebilir. Fakat kalıcı boyalar tanı için tercih edilir. *B.hominis* tespiti için trikrom boya daha duyarlıdır. Konsantrasyon metotları *B.hominis*’in bazı formların (vakuoler, partikuler) bozulmasına neden olduğu için diğer metotlardan daha az duyarlıdır. Elektron mikroskobu ile de tanı konabilir fakat pratik, kolay uygulanabilir değildir.

Jones’s besiyerinde invitro kültür için 48-72 saat inkübasyon gerekir. Bu besiyeri, az sayıda etken olduğunda konsantrasyon ve mikroskopik inceleme yöntemlerinden daha duyarlıdır. PZR’in duyarlılığı ve özgüllüğü yüksektir, fakat standardize edilememiştir. Seroloji tanıda kullanılmaz [93,94].

2.5.5. Tedavi

Asemptomatik enfeksiyonun tedavisi gereksizdir. TMP-SMX, metranidazol, iodokinol önerilmektedir ancak bu enfeksiyonun tedavisindeki başarıları değişken dir. Nitazoksanidin sınırlı klinik çalışmalarda başarılı olduğu gösterilmiştir [90,91,92,95].

2.6. *Dientamoeba fragilis*

İlk kez 1909 yılında Wenyon tarafından tespit edilmiş, 1918 yılında Dobell ve Jepps tarafından sindirim sisteminin patojen olmayan protozoonu olarak tanımlanmıştır. Daha önceleri amipler içinde sınıflandırılırken, elektron mikroskopik çalışmalar bu protozoonun Trichomonatlarla ilişkili olduğunu göstermiş bunun üzerine kamçılılar sınıfına dahil edilmiştir [96,97].

2.6.1. Yaşam siklusu

Taze dışkı örneklerinde ve kültürde genellikle hareketli olduğu, sitoplazma ve endoplazmanın birbirinden ayrılabilirdiği bilinmektedir. Fekal-oral yolla bulaş olmaktadır. Parazit insan kalın veya ince barsak lümenine yerleşerek dientamobiyozise neden olmaktadır. Parazit dokular içine girmez ancak salgıladığı aşırı miktarda mukus ile barsak mukozasında tahribata neden olur. Trofozoit şekilleri dış ortam koşullarına dayanıksız olup, kolayca parçalanmaktadır. Parazit genellikle iki çekirdeklidir, nadiren üç ya da dört çekirdek görülebilir. Sitoplazması ince granüler yapıdadır, bakteri ve mayaları içeren çok sayıda besin vakuölü yer alır [98].

2.6.2. Epidemiyoloji

Dientamoeba hakkında çok az çalışma yapılmıştır. *D.fragilis*'e ait ilk insidans çalışmaları 1920'de Filipinler'de yapılmıştır. Dünyada hijyen ve sanitasyonun yetersiz olduğu bölgelerde dientamobiyozis sık görülmektedir Parazitin prevalansı %1,5-20 arasındadır. Enfekte bireylerin %15-25'inde semptom görülebilir [98].

2.6.3. Klinik

Hem çocukta hem de erişkinde *Dientamoeba* enfeksiyonunun neden olduğu semptomlar görülebilir. Sık görülen bulgular arasında karın ağrısı, ishal, gaz,

yorgunluk yer alırken nadiren bunlara bulantı kusma ve iştahsızlık eşlik eder. Semptomlar *D.fragilis* tedavisinden sonra kaybolmaktadır. *Dientamoeba* AIDS hastalarında da ishale neden olmaktadır [99].

2.6.4. Tanı

D.fragilis inceleyen kişi tarafından düşünülmediği takdirde atlanabilme ihtimali olan parazittir. Sadece trofozoit şekli olduğundan kalıcı boyaların yapılmaması tanı konulmasını güçleştirmektedir. Tanı için dışkı ya hemen incelenmeli ya da Schaudinn gibi uygun fiksatiflere konulmalıdır. Demir hematoksilin ve trikrom boyalı preparatlarda çoğunlukla iki nukleuslu olmaları ve nukleuslarının tipik görüntüsü (ortada dört sekiz kromatin granülü, kenarda periferik kromatin görülmesi) tanı koydurucudur.

Dobell, Robinson ve Boeck-Drobohlav gibi difazik ve ksenik besiyerlerinde trofozoitler kolayca üretilmektedir [98].

2.6.5. Tedavi

Paromomisin, diiodohidroksikin, metranidazol tedavide etkili bulunmuştur [99].

2.7. *Microsporidia* spp

Microsporidia spp. ilk 1857'de Nageli tarafından *Nosema bombycis* olarak adlandırılmış, Balbiani ise 1882 yılında *Microspora* filumunu tanımlamıştır. İnsanda hastalık etkeni olarak *Enterocytozoon*, *Encephalitozoon*, *Nosema*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora*, *Vittaforma* ve *Brachiola* olmak üzere yedi tür tanımlanmıştır. Bugün parazit olarak sınıflandırılan bu organizma artık mantar sınıfına dahil edilmiştir [100,101].

2.7.1. Yaşam döngüsü

Sporlar konak tarafından solunum ya da ağız yolu ile alındığında yapısındaki polar tüp hücreye girer. Daha sonra konak hücre içerisine sporoplazmayı boşaltır ve enfeksiyon gelişir.

Microsporidia türlerinin yaşam döngüsü üç evreden oluşmaktadır:

- 1) Merogoni evresi: Merontlar füzyonla çoğalmakta, sporontlara dönüşmektedir.
- 2) Sporogoni evresi: Sporontlar konak hücrelerinde sporoblastlara dönüşür.
- 3) Enfektif evre: Sporlar bu evrede konak hücre içinde yer alır, başka konakları enfekte edebilir [102].

2.7.2. Epidemiyoloji

İlk insan olgusu 1959'da bildirilmiştir. Literatürde bildirilen 400'den fazla olgunun çoğu bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerden oluşmaktadır. Bu da *Microsporidia spp.* türlerinin fırsatçı patojen olduğunu göstermektedir. Hayvanlarda vertikal bulaş olmasına rağmen henüz insanlarda bildirilmiş bir vertikal bulaş yoktur. Horizontal bulaşı sağlayan risk faktörleri; eşcinsel ilişki, intravenöz ilaç kullanımı, yüzme havuzlarındaki sular, saunalar ve kirlenmiş su kaynaklarıdır. *Microsporidia spp.* 'nin kaynağı ve bulaş şekli kesin olmamakla birlikte solunum sekresyonları, idrar ve dışkı yoluyla çevreye yayıldıkları varsayılmaktadır. *Microsporidia spp.* enfektif evreleri sporlardır. Nemli ve serin ortamlarda bir yıldan uzun süre canlılığını koruyabilmektedir.

2.7.3. Klinik

Mikrosporidiosisün klinik seyri, hastanın bağışıklık durumuna ve enfeksiyon bölgesine göre farklılık gösterir. En sık sindirim sistemi ve safra yolları tutulumu görülmektedir. İnsanlarda en sık enfeksiyon oluşturan türler *Enterocytozoon bienewisi* ve *Encephalitozoon intestinalis* olup, dünyada yaygın olarak bulunmaktadır. Bağışıklığı sağlam kişilerde akut ve kendini sınırlayan ishallere neden olmaktadır [103,104].

E. bienewisi ve *E. intestinalis* bağışıklık sistemi bozuk kişilerde kronik, inatçı ishal, ateş, halsizlik, iştahsızlık, bulantı ve kilo kaybına neden olmaktadır. Bazı hastalarda aralıklı olarak ishal görülebilir.

Diğer *Microsporidia spp.* türlerine bağlı hepatit, pankreatit ve peritonit göz enfeksiyonları, sinüzit, akciğer enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, miyozit ve serebral enfeksiyonlar görülebilir [105].

2.7.4. Tanı

Işık mikroskobu ile değerlendirme mikrosporidiosis için standart tanı yöntemidir. Boyama metotlarıyla hücre ve atıklarla *Microsporidia spp.* sporları arasında kontrast oluşturularak inceleme yapılabilir. Sporlar 1-3 µm boyutunda olduğu için $\times 60$ ve $\times 100$ büyütme ışık mikroskobu yeterlidir. Kromotrop 2R, kalsiflor beyazı, Uvitex 2B boyaları dışkı veya diğer klinik örneklerden *Microsporidia spp.* izolasyonu için kullanılan boyalardır. *Microsporidia spp.* sporları floresan veren kalsiflor beyazı veya Uvitex 2B boyaları ile duvarındaki kitin sayesinde boyanarak UV mikroskobunda görülebilir [106,107].

Microsporidia spp. vücut sıvılarında (idrar, beyin omurilik sıvısı, duodenal aspirat, bronkoalveolar lavaj sıvısı, balgam) ve dışkıda kromotrop 2R, Brown-Hopps, asit fast, Warthin-Starry gümüş boyaları ile de görülebilir. Genellikle vücut sıvılarından *Microsporidia spp.* tanısı dışkıdan izolasyona göre daha kolaydır. Diğer boyama metotları arasında periyodik asit-Schiff, Giemsa, Steiner gümüş boyama gelir. Taze örnekler faz kontrast mikroskobunda incelenebilir. Mümkünse biyopsi materyalleri elektron mikroskopta incelenmelidir.

Encephalitozoonidae ve *Enterocytozoon bieneusi* karşı oluşan antikolar kullanarak çevreden ve dışkıdan *Microsporidia* 'yı tespit eden kitler mevcuttur.

Klinik örneklerden, *Microsporidia spp.* izolasyonu rutin olmayıp, sadece araştırma laboratuvarında yapılabilmektedir. Serolojik testler epidemiyolojik çalışmalar için geliştirilmiştir. Ayrıca PZR teknikleri idrar, kültür, biyopsi ve son yıllarda dışkı örneklerinden *Microsporidia spp.* tespitini kolaylaştırmış ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmıştır [108].

2.7.5. Tedavi

Günümüzde Encephalitozoonidae gibi invaziv *Microsporidia spp.* için albendazol kullanılmaktadır. *E.bieneusi* enfeksiyonlarında ise fumagillin etkin bir ilaçtır. *Microsporidia spp*'nin tür düzeyinde tanımlanması hastaların tedavisi açısından büyük önem taşımaktadır [109].

2.8. Entamoeba Türleri

Entamoeba histolytica amebiyazise sebep olan invaziv enterik bir protozoon parazittir. *E.dispar* ve *E.moshkovskii* patojenik olmayan ve morfolojik olarak *Entamoeba histolytica*'ya benzeyen parazitlerdir. *E. dispar* ve *E. moshkovskii* türleri *E. histolytica* kadar yaygın türler oldukları için bu türleri birbirinden ayırt etmek için PZR gibi veya dışkıda antijen tetkiki gibi duyarlı testlere ihtiyaç vardır [110,111,112,113].

Entamoeba spp. taksonomik olarak bakıldığında Entamoebidae ailesinin Lobosea sınıfının Sarcodina üst ailesine aittir. Bu grupta en az yedi amip türünün insanı enfekte ettiği bilinmektedir. Bunlar *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, *Entamoeba polecki*, *Entamoeba chattoni*, *Dientamoeba fragilis*, *Iodamoeba butschlii* ve *Endolimax'dır*. *E.polecki*, *D. fragilis* ve *I.butschlii* ishale neden olan organizmalar olarak düşünülmektedir [114,115,116,117,118].

Birçok *Entamoeba* türü insanı enfekte etse de sadece *E. histolytica* amebiyazise neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada *E. histolytica*'nın tanısında yardımcı olan sindirilmiş eritrositlerin varlığı vakaların %68'inde görülürken, *E. dispar*'da bu oran %16 olarak bildirilmiştir [119].

E.hartmannii ise dört çekirdekli *E. histolytica*' dan daha küçük bir parazittir. *E. coli* kistleri sekiz çekirdeğe sahip, trofozoit boyutları *E.histolytica*'nın ki kadardır. *E. gingivalis* ise kist oluşturmaz ve bir barsak paraziti değildir. Tek çekirdekli kistleri olan *E.polecki*, *E.chatton* ve *E.suis'in* insanı enfekte etmediği bilinmektedir. Diğer patojenik olmayan amipler arasında *I. butschlii* bulunmaktadır. Bu amip kistlerindeki glikojen vakuelleri ile tanımlanır. *E.nana* karakteristik nükleer yapıya sahip ve periferel kromatininin olmayışı ile tanınır.

2.8.1. Yaşam döngüsü

E.histolytica'nın yaşam siklusu enfektif dört çekirdekli kist ile başlar, ardından tek çekirdekli trofozoit olarak devam eder. Kist dışkı ile kirlenmiş yiyecek, su veya oral/anal seksüel ilişki ile alınır ve daha sonra barsak da sekiz adet trofozoit oluşur.

Kalın barsaktaki musin tabakası, trofozoit lektinin karşılaştığı ilk reseptördür. Trofozoitler galaktoz/ N-asetil-D galaktozamin (Gal /GalNAc) tanıyan lektin aracılığıyla kolonik musina bağlanarak kolonize olurlar ve hızla çoğalırlar [120].

Sistein proteinazlar *E.histolytica*'nın virulans faktörüdür. Sistein proteinazlar konak bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını bozar. İnvaziv enfeksiyon oluşturmak için yapıştıkları matriks yapılarını ayırma gücüne sahiptir.

Sistein proteazın ve Gal/GalNAc lektin gibi *E.histolytica*'nın virülans faktörü olan amebopor konak hücre lizisine neden olmaktadır.

2.8.2. Epidemiyoloji

E.histolytica enfeksiyonunun sıklığı tam olarak bilinmemektedir. Bunun en temel nedeni çalışmaların çoğunda kullanılan metotların *E.histolytica*'yı *E. dispar* ve *E.moshkovskii*'den ayırt edememesidir. Daha önce *E.histolytica* ile enfekte olduğu düşünülen yaklaşık 500 milyon insanın aslında çoğunun *E.histolytica* dan 10 kat daha sık rastlanılan *E.dispar* ve *E.moshkovskii* ile enfekte olduğu görülmüştür. Ayrıca *E. histolytica* ile enfekte bireylerin çoğu asemptomatiktir. Yapılan bir tahmine göre *E. histolytica*'nın enfekte ettiği semptomatik hasta sayısı 34 ile 50 milyon arasındadır ve bu hastaların yaklaşık 100000'i her yıl ölmektedir. Çocuk ölümlerinin çoğunun ishalden olduğu bilinen Bangladeş'de okul öncesi çocuklarda enfeksiyon oranının %40 olduğu rapor edilmiştir. Vietnam'da Hue şehrinde amibik karaciğer absesinin oranı her 100000'de 21 olarak verilmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde ise amibik enfeksiyon *Giardia* ve *Crpytosporidium*'dan sonra ikinci sırada gelmektedir (1.2/100000'de). Endemik olan bölgelere seyahat edenler ve bu bölgelerde hastanelere gidip tedavi görenlerde risk oranı daha fazladır [121,122,123].

Daha önceleri Amerikalı eşcinsel bireyler arasında yüksek oranda bulunduğu düşünülen enfeksiyonun *E.histolytica* değil aslında *E.dispar* olduğu anlaşılmıştır. Asya'da ise *E.histolytica* enfeksiyonu HIV pozitif bireylerde daha sık görülmektedir. *E. histolytica* aynı zamanda biyoterör ajanları içinde yer almaktadır. Bu organizma çok küçük dozlarda (<100 organizma), bile enfektif olup, klora dirençli dış ortama dayanıklıdır. Gürcistan'da yaşanan su kaynaklı salgında karaciğer apsesi tanısı alan olgular bildirilmiştir [124].

2.8.3. Klinik

Amibik enfeksiyonun en sık karşılaşılan formu asemptomatik kist taşıyıcılığıdır. Tüm *E.dispar*, *E.moshkovskii* enfeksiyonları ve *E.histolytica* enfeksiyonlarının da

%80'e yakını asemptomatik seyreder. Asemptomatik enfeksiyon taşıyan bireyler toplum açısından birer risktir, bu bireyler yeni enfeksiyon salgınlarının başlamasını tetiklemektedir.

E. histolytica enfeksiyonunda en sık görülen semptom dizanteri olmadan gelişen amibik ishaldir. Amibik ishallerin yaklaşık %15 ile %33'ü amibik dizanteriye ilerlemektedir. Enfekte kişilerin %70'inde semptomlar etken alındıktan üç ya da dört hafta sonra ortaya çıkmaktadır [125].

Barsak dışı amibiyaz şekilleri arasında karaciğer, beyin, plevra, perikart, dalak deri ve ürogenital sistem amibiyazi yer almaktadır [126].

2.8.4. Tanı

Dışkıda direkt parazit incelenmesi yetersizdir. Kanada'da üç merkez tarafından amebiyazis belirtileri gösteren (Günde en az üç kez ishalimsi bir dışkı, karın ağrısı, kanlı dışkı ve kilo kaybı veya tropik ülkelere seyahat veya homoseksüel ilişki) 112 hastayla yapılan bir çalışmada mikroskopik incelemede duyarlılığının çok düşük olduğu görülmüştür (%10). Dışkıda direkt mikroskopik incelenme ile tanısı konulan amebiyaz şüpheli olguların sadece %5'inin *E. histolytica* olduğu bildirilmiştir [127].

Dünyada az sayıda laboratuvarında *E. histolytica* kültürü yapılmaktadır. Kültür direkt mikroskopik incelemeden daha duyarlı, ancak antijen testi ve PZR'den daha az duyarlıdır. Ayrıca kültür *E. histolytica* özgül değildir ve kültür mutlaka antijen testi veya PZR ile kontrol edilmelidir [128,129].

Barsak amebiyazisinin tanısı için kolonoskopi ve biyopsiden de yararlanılabilir [130,131].

Gerçek-zamanlı PZR dışkıda antijen tespit metoduna göre oldukça duyarlı bir metottur. Bu testler geleneksel PZR metotlarına göre daha duyarlıdır. Yapılan bir çalışmada 23 amip karaciğer apsisi örneğinden 20'sinde parazit tespit edilmiştir. Sonuçları negatif çıkan üç hastanın ise antiamebik ilaç tedavisi aldığı tespit edilmiştir [132,133].

E. histolytica'yı *E. dispar* ve *E. moshkovskii*'den ayırdedebilen tek test bir ELISA testidir. Bu test direkt incelemeden ve kültürden daha duyarlı ve hızlıdır. *E. histolytica*'nın Gal/GalNAc lektinine karşı geliştirilmiş antikoların kullanıldığı ELISA testidir. Diğer antijen tespit edebilen testler arasında RIDA SCREEN

Entamoeba ve Triage Micro Parasite Panel sayılabilir. Bu testlerin her ikisinde *E. histolytica*'yı *E. dispar*'dan ayırt edemez ve bu nedenle sadece ön tarama amaçlı kullanılmalıdır [129,134].

Serolojik testler karaciğer apsesinin tanısında kullanılan temel testlerdir. Ancak enfeksiyonun erken dönemlerinde yanlış pozitif sonuçlar verebilir. Bu nedenle serolojik testler antijen saptayan testler ve PZR ile birlikte kullanılmalıdır [135,136].

2.8.5. Tedavi

İnvaziv enfeksiyon tedavisi noninvaziv enfeksiyonun tedavisine göre farklılıklar gösterir. Noninvaziv enfeksiyonlar paromomisin ile tedavi edilirken, invaziv enfeksiyonlarda ise nitroimidazol türevleri (tinidazol, seknidazol ve ornidazol) özellikle metranidazol önerilmektedir. Luminal enfeksiyonları tedavi edebilmek için nitroimidazol tedavisini takiben paromomisin veya diloksanid tedavisi uygulanabilir. Metranidazol tedavisi sırasında paromomisin verilmemelidir. Paromomisinin yan etkisi olan ishal hastanın tedaviye vereceği cevabın değerlendirilmesinde sorun yaratabilir [137,138].

Antiparazitik tedavinin yanında karaciğer apsesinin tedavi amaçlı aspirasyonu yapılabilir.

Endüstrileşmiş ülkelerde besin ve su kaynaklarının dışkı atıkları ile kirlenmesinin engellenmesi ile amip enfeksiyonunun önüne geçilebilmiştir. Amibin yayılmasında homoseksüel ilişkiler de önem taşımaktadır. Belediyelerin su kaynaklarına devamlı bakım yapması da enfeksiyondan korunmada önem taşımaktadır.

Aşı amacıyla yapılan birkaç çalışmada parazitin antijenik ünitelerine karşı antikor geliştirilmiş ve özellikle Gal/GalNAc lektine karşı geliştirilen antikorun oldukça başarılı olduğu görülmüştür [139,140].

2.9. *Giardia intestinalis*

Van Leeuwenhoek ilk defa kendi dışkısında bu etkeni tespit etmiştir. Etken 1915 yılında *Giardia lamblia* adını almıştır. Bu protozon *Giardia intestinalis* ve *Giardia duodenalis* olarak da isimlendirilmektedir. *Giardia* protozoon bölümünde, barsak kamçılıları kategori altında sınıflandırılmıştır [141].

2.9.1. Yaşam döngüsü

Giardia'nın iki formu vardır. Trofozoit formu 9-21µm uzunluğunda ve 5-15 genişliğindedir. Arka kısmı konveks olup, disk içeren düz ventral bir yüzeyi vardır. Ön bölümü emici disk veya adeziv disk olarak adlandırılır. Dört çift kamçısı da hareket ile ilgilidir. Trofozoitlerin iki nükleusu vardır ve boyalı preparatlarda çekirdekler yüz görünümünü verir. *G.lamblia* trofozoitlerinden gelişen kistler düz, oval, kalın duvarlı 8-10 µm uzunluğunda ve 7-10 µm genişliğindedir. Ağızdan gıda ya da su ile alınan kistler omurgalının ince barsağında kist duvarının parçalanması ile trofozoit formuna dönüşür. Kistlerde dört çekirdek vardır, her biri tek çekirdekli dört trofozoite dönüşür. Trofozoitler emici diski ile barsağa tutunur. Çekirdeklerinden ikiye bölünerek çoğalır. Sonuçta çok sayıda trofozoit barsağa penetre olur. Trofozoit formunun kist formuna dönüşmesi zaman almakta, bu dönüşüm barsakta gerçekleşmektedir. Kist formuna dönüşüm; iki çekirdekli trofozoitin iki çekirdekli kiste, daha sonra bu iki çekirdeğin bölünmesi ile de dört çekirdekli kiste dönüşmesi ile olur [142,143].

2.9.2. Epidemiyoloji

Giardia dünyanın her yerinde yaygındır. ABD'de dışkı örneklerinde %4-7 oranında *G.lamblia* tespit edilmiş ve tanısı konulan barsak parazitleri arasında birinci sırada olduğu vurgulanmıştır. *Giardia* en sık bir-dokuz yaş arasındaki çocuklarda ve 35-45 yaş arası yetişkinlerde görülür. Yaz sonu ve sonbahar aylarında daha çok rapor edilmiştir [144].

Düşük gelirli bölgelerde çocukları enfekte eden patojenlerin arasında birinci sıradadır, görülme sıklığı % 15-30'dur. Bulaş *Giardia* kistlerinin kirlenmiş sular ve yiyecekler ile ağızdan alınmasıyla olur. Su kaynaklı geçişi önlemek için geliştirilen yöntemler ile bu yolla bulaş son 20 yılda azalmıştır.

Klorlanmış sularda ishale neden olan etkenler arasında *Giardia* ve *Cryptosporidium* yer alırken, klorlanmamış sularda (göl gibi) *Escherichia coli* O157:H7, norovirusler, *Shigella spp* daha yaygın ishale neden olur. Su kaynaklı salgınlar, kirlenmiş su, kuyu suyu kullanımı veya hatalı arıtma, yetersiz klorlama gibi nedenlerden dolayı sık görülür [145].

Kişiden kişiye bulaş, fekal oral hijyeni bozuk olan kreş çocuklarında ve homoseksüellerde görülür. Çocuklar asemptomatik olabilir, bu durum enfeksiyonun yayılımına katkıda bulunur. Seksüel aktif erkeklerde % 20 gibi yüksek bir oran rapor edilmiştir. İşlenmiş gıdalar ile bulaşın bilinenden daha sık olduğu bildirilmiştir. *Giardia* Hindistan gibi ülkelere sık seyahat etmekle de bulaşabilmektedir [146,147,148,149].

2.9.3. Klinik

Giardiyazis, akut kendini sınırlayan ishal, kronik ishal, malabsorbisyon ve kilo kaybı ile seyredebilir. *Giardia* kistleri ile enfekte olanların %5-15'inde asemptomatik taşıyıcılık, %25-50'sinde ise semptomatik klinik tablo görülmektedir. Geri kalan % 35-70'inde hiçbir bulgu görülmez. Birçok semptomatik hasta kendiliğinden iyileşebilir. Kistlerin ağızdan alınması ile semptomların başlaması arasında geçen süre bir-iki haftadır. Kistlerin dışkıda tespiti ise inkübasyon periyodundan daha uzun olabilir. Semptomların başlangıcında yapılan parazit incelemesi negatif olabilir [150,151].

Semptomatik giardiyazis; gaz, şişkinlik, karın ağrısı ve akut ishal ile karakterizedir. Kusma, ateş, tenesmus daha az sıklıkla görülür. İshal başlangıçta bol sulu, daha sonra yağlı ve kötü kokuludur. Genelde dışkıda kan, irin ve mukus görülmez [141].

Ürtiker, reaktif artrit, safra yolu hastalıkları ve gastrit görülebilir. Aklorhidri varlığında sadece gastrit ortaya çıkar ve *Helicobacter pylori* ile birlikte olabilir [150].

Yağlı, kötü kokulu, köpüklü, sarı renkli az ve sık dışkılama görülür. Yağlı dışkılama ve kötü barsak emilimi vitamin A, B12, protein D-ksiloz ve demir kaybı ile ilişkilidir. Disakkaridaz eksikliği vakaların %20-40'ında görülür. Giardiyaz tedavisi sonrası laktoz intoleransı tedavi sonrası birkaç hafta devam edebilir [151,152,153].

2.9.4. Tanı

Özellikle kilo kaybı ve malabsorbsiyon ile ilişkili uzamış ishali olan tüm hastalarda giyardiyoza düşünülmalıdır. Son zamanlarda endemik bölgeye seyahat öyküsü, evde kreşe giden çocuk olması giardiyoza risk faktörleri arasındadır. Ayırıcı tanı için ishale sebep olan diğer nedenler; viruslar, noninvaziv bakteriler, *Cryptosporidium*, *Cyclospora* gibi protozoonlar ve ayrıca tropikal sprue da düşünülmalıdır.

Tanı için rutin metotlar dışkının kist ve trofozoit açısından incelenmesidir. Parazit incelenmesi taze veya saklanmış dışkıda yapılabilir. Hastalığın akut döneminde taze dışkı ile hazırlanan direk preparatta hareketli trofozoitler görülebilir. Yarı şekilli dışkıda trofozoitler genellikle bulunmaz. Taze veya %10 formol, polivinil alkol içeren dışkı örnekleri NL ile incelenmeli, trikrom ve hemotoksilen eozin boya ile boyanmalıdır. Formol-eter veya çinko sülfat konsantrasyon teknikleri sahada görülen *Giardia* kist sayısını artırır. Bir dışkı örneğinin incelenmesi ile tanı %60- 80 iken, ardışık üç dışkı örneğinin incelenmesi ile tanı %90'nın üzerinde konur [154,155,156].

Antijen testleri geleneksel yöntemlerden biraz pahalıdır, bu testlerin duyarlılığı %85-98, özgüllüğü ise %90-100'dür [157,158].

Tanı konulamayan vakalarda duodenal aspirasyon, duodenal biopsi ve string test uygulanabilir. String test için safra içeren mukus, direkt veya boyandıktan sonra incelenebilir.

Anti-*Giardia* antikorları sero-epidemiyolojik çalışmalar için kullanılır. IgG2'ler genellikle uzun dönem kanda yüksek kalır. Ancak endemik bölgelerde giardiyoza tanısı için yararı sınırlıdır. Serumda saptanan anti-*Giardia* IgM ile IgG antikorlarının geçirilmiş veya yeni bir *Giardia* ile yeni enfeksiyonu ayırımında kullanımı için bilgiler net değildir [159,160].

İnvitro kültür yapılabilir fakat rutinde kullanılmaz. Tanıda PZR'ın duyarlılığının yüksek olduğunu bildiren çalışmalar vardır [161].

2.9.5. Tedavi

Tedavide kullanılan metranidazol gibi nitroimidazol türevi olan tinidazolün (tindamaz) yan etkisi azdır. Yarılanma ömrü uzundur. Yapılan çalışmalar tedavide prebiyotik *Saccharomyces boulardii* ve metranidazol kombinasyonun tek başına metranidazol kullanımına göre daha başarılı olduğunu göstermiştir [162].

ABD’de kriptosporidiosis ve pediatrik giardiyazis için 2003 yılından itibaren kullanılan nitazoksanid, son yıllarda yetişkin giardiyazis tedavisinde de kullanılmaktadır.

Albendazol, kuinakrin, furazolidon ve nitrofuran kullanılan diğer ilaçlardır. Hamilelerde tedavi önerilmez, ilaçlar fetuse toksik etkilidir. Eğer tedavi gerekliyse paromomisin ve oral aminoglikozid denenebilir [163].

Suların klorlanması *Giardia* kistlerini öldürmede etkili olmasına rağmen su sıcaklığı, pH, klorlama süresi, kirlilik derecesi gibi unsurlar klorun etkisinde değişikliklere yol açmaktadır. Klorlamaya ek olarak temiz su sağlanması için çöktürme ve filtrasyon gibi yöntemlerin uygulanması gerekebilir. Tüm protozoon kistlerini öldürmek için yüksek derecede bir dakika kaynatma işlemi yeterlidir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu tez çalışması, Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Biriminin 2012/63 nolu projesi kapsamında desteklendi. Araştırma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı Parazitoloji bölümünde yapıldı. Ayrıca 29.5.2012-2012/37 tarih ve 5/8 onay nolu Etik Kurul Onayı alındı.

3.1. Araştırma Evreni

Araştırma kapsamına; Haziran-Kasım 2012 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi ve Kocaeli Devlet Hastanesi'nde SDBY'ği olan diyaliz tedavisi gören hastalar, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'nin çeşitli polikliniklerine başvuran herhangi bir bağışık yetmezliği olmayan ve son bir ay içinde antiparaziter tedavi almayan gönüllüler alındı.

3.2. Araştırma Örneği

Örnek büyüklüğü 142 diyaliz hastası ve 150 sağlıklı gönüllü olarak hesaplandı. Diyalize giren 142 hastanın 45'i Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde, 97'si Kocaeli Devlet Hastanesi'nde takip ediliyordu. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'nin çeşitli polikliniklerine gelen, bilinen bağışıklık sorunu olmayan 150 kişi ise kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Çalışmaya, katılım-bilgilendirme formunu imzalayan, anket formunu dolduran ve dışkı örneği getiren kişiler dahil edildi.

3.3. Veri toplama

Çalışmaya alınan toplam 292 kişiye 94. sayfadaki 13 sorudan oluşan anket formu uygulandı. Anketteki sorular yaş, cinsiyet, eğitim durumu, evde yaşayan kişi sayısı, yaşadığı yer, oturduğu ev tipi, tuvalet sonrası el yıkama, sabun kullanımı, içme suyu kaynağı, dışkıda parazit varlığı ile ilişkilendirilecek şikayetler varlığı ve ayrıca diyaliz süresi ile bilgilerden oluşuyordu.

Çalışmaya dahil edilen kişilere dışkı kablaları verilerek, dışkı örneklerinin en geç üç saat içinde Merkez Laboratuvara ulaştırmaları istendi.

3.4. Verileri İnceleme Yöntemi

Laboratuvara gelen örnekler bekletilmeden işleme alındı. Örneklerin, önce makroskopik incelenmesi yapıp katı, yarı katı ve sulu olarak gruplandırıldı. Sonra nativ-lugol ile hazırlanan direkt preparatlar ışık mikroskobunda 10 X ve 40 X objektifte incelenerek sonuçlar kaydedildi. Formol-etil asetat çöktürme yöntemi uygulanarak her bir dışkı örneğinden beş ayrı preparat hazırlandı. Preparatlardan bir tanesi hatalı boyamalarda tekrar boyama yapmak için ayrıldı. Trikrom boyama yöntemi ile boyanacak preparatlar Schaudinn fiksatifinde tespit edildi. Diğer boyama metotları için hazırlanan preparatlar ise havada kurumaya bırakıldı. Preparatlardan bir tanesi boyamalarda olabilecek hatalar için ayrıldı. Formol-etil-asetat çöktürme yöntemi uygulanan örnekten nativ- lugol ile hazırlanan preparatlar mikroskopta

10 X ve 40 X objektifte incelendi. Formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile hazırlanan preparatlar modifiye trikrom, asit fast ve trikrom boyama teknikleri kullanılarak boyandı ve mikroskopta 100 X immersiyon objektifinde incelendi.

Kalsiflor boyama yapılan preparatlar floresans mikroskobunda (395-415 nm dalga boyunda) incelendi. Toplanan her bir dışkı örneğinden daha sonra indirek ELISA çalışmak üzere bir miktar ependorfa konularak -20° C' de saklandı.

3.5. Araştırmada Kullanılan Boya ve Solüsyonlar

3.5.1. Nativ Preparat

Yapılışı: Lam üzerine bir damla serum fizyolojik damlatıldı. Üzerine taze dışkıdan yaklaşık 2 mg konarak karıştırıldı. Üzeri lamelle kapatılıp mikroskopta 10 X ve 40 X objektifte incelendi.

3.5.2. Lugol Solüsyonu [164]

Potasyum iyodür	10 gr
Toz halindeki iyot kristalleri	5 gr
Distile su	100 ml

Yapılışı: Potasyum iyodür distile su içinde çözüldü, 5 gr iyot kristali eklendi. Solüsyon koyu renkli cam şişeye süzüldü. Kırmızı kahverengi renk solduğu zaman yeniden hazırlandı. Bu solüsyon stok lugol solüsyonu olduğundan kullanmadan önce bir birim lugol, beş birim distile su ile sulandırıldı.

Bir miktar dışkı hazırlanan lugol solüsyonu ile karıştırılıp mikroskopta 10 X ve 40 X objektifde incelendi.

3.5.3. Formol-Etil Asetat Çöktürme [164]

Gerekli malzemeler:

%10 Formol

Etil asetat

Plastik karıştırma kabı

Falcon tüpü (15 ml'lik)

Pastör pipeti

Rodajlı lam

Süzgeç

Santrifüj

3.5.3.1. Formol (%10'luk) Solüsyonu

Formaldehit %37'lik 100 ml

Distile su 900 ml

Yapılışı: Distile su ve formol karıştırılarak oda sıcaklığında saklandı.

3.5.3.2. Formol-Etil Asetat Çöktürme yöntemi

Bir cam veya plastik kap içine dışkı örneğinden bir findık tanesi kadar (1–1,5 gr) alındı. Dışkı sulu olduğunda 5-6 ml kullanıldı. Üzerine 10 ml %10'luk formol solüsyonu eklenerek bir cam veya plastik çubukla süzgeç içinde tamamen ezildi. Elde edilen süspansiyon, canlı organizmaların bozulmalarını önlemek amacıyla tespit edilmeleri için 30 dakika bekletildi. Bu süspansiyondan huni yardımıyla 15 mm'lik konik santrifüj tüpüne aktarıldı. Üzerine 2 ml etil asetat eklendi. Tüpün ağzı kapatılarak bir dakika alt üst edildi. Sonra 400-500 X g'de 3 dakika santrifüj edildi. Tüp santrifüjden çıkarıldığında içindeki karışımın dört tabakaya ayrıldığı görüldü.

Bunlar;

1. En üstte etil asetat tabakası
2. Tüpün duvarlarına yapışan dışkı artığı tabakası
3. Formol tabakası
4. En altta çökelti tabakası
şeklindeydi.

Dışkı artığı tabakası bir çubuk yardımıyla gevşetildikten sonra üstteki üç tabaka döküldü.

İnceleme için çökeltiden alınan materyal lugol solüsyonu kullanılarak mikroskopta 10 X ve 40 X objektifde incelendi.

Çökeltiden bir miktar daha alınarak beş adet lam üzerinde yayma yapıldı. Trikróm boya için kullanılacak lam Schaudinn fiksatif ile fikse edildi. Diğer preparatlar oda ısısında kurumaya bırakıldı.

3.5.4. Kinyoun Asit-Fast Boya [164]

Bazik fuksin

% 95 etil alkol

Fenol kristalleri

Konsantre sülfürik asit

Loeffler'in alkali metilen mavisi

Metanol

Distile su

Şaleler

Kurutma kağıdı

3.5.4.1. Kinyoun Karbol Fuksin Boya

Araç ve gereçler:

Bazik fuksin 4 gr

%95 Etil alkol 20 ml

Fenol kristali 8 ml

Distile su 100 ml

Kurutma kağıdı

Yapılışı: Bazik fuksin, 20 ml %95 etil alkol içinde eritildi. Fenol kristalleri 56°C'lik su banyosunda eritilerek, 8 ml'lik fenol etil alkole ilave edildi. Sonra erimiş fenol ile fuksin alkol karışımına 100 ml distile su ilave edildi. Solüsyon bir-iki gün bekletildi ve kurutma kağıdı ile süzülerek koyu renkli şişede saklandı.

3.5.4.2. Sülfürik Asit (%1'lik)

Sülfürik asit 1 ml

Distile su 99 ml

Yapılışı: Distile su içine dikkatli ve yavaş bir şekilde 1 ml sülfürik asit eklendi.

3.5.4.3. Loeffler 'in Alkali Metilen Mavisi

Metilen mavisi 0,3 gr

Etil alkol %95 30 ml

Potasyum hidroksit %0,01 100 ml

Yapılışı: Metilen mavisi 0,3 gr tartılıp 30 ml etil alkol içinde eritildi. Üzerine 100 ml'ye %0,01 potasyum hidroksit eklendi.

3.5.4.4. Kinyoun Asit-Fast Boyama Yöntemi

Formol-etil asetat çöktürme yöntemi sonrası hazırlanan ve kurumaya bırakılan lam boyama için kullanıldı.

1. Preparat üzerine saf metil alkol dökülüp, üç dakika bekletilerek tespit edildi.
2. Yaymalar içinde karbol fuksin içeren şalede 5 dakika bekletildi.
3. Lam üzerindeki boya döküldü, preparat %50'lik alkole batırılıp çalkalandı ve hemen ardından musluk suyunda yıkandı.
4. Daha sonra preparat dekolorizasyon işlemi için %1-2'lik sülfürik asit içeren şalede bir-iki dakika bekletildi ve musluk suyunda yıkandı.
5. Metilen mavisi içeren şalede bir dakika bekletildikten sonra tekrar musluk suyu ile yıkayıp kurumaya bırakıldı.

Preparatlar mikroskopta 100 X immersiyon objektifinde incelendi.

3.5.5. Trikrom Boya [164]

Gerekli Malzemeler:

Kromotrop 2R

Light green SF

Fosfotungustik asit

Glasiyal asetik asit

%90 etil alkol

D'Antoni solüsyonu

Ksilen

Karbol ksilen

3.5.5.1. Schaudinn Fiksatif

Doymuş civa klorür (HgCl₂) solüsyonu 600 ml

%95 etil alkol 300 ml

Gliserin 15 ml

Glasiyal asetik asit 5 ml

Yapılışı: Doymuş civa klorür (HgCl₂) solüsyonu;1000 ml distile suya 110 gr civa klorür eklendi ve ısıtılarak eritildi. Soğumaya bırakılarak fazla olan civa klorürün dipte kristalleşmesi sağlandı. Kapaklı bir şişeye süzüldü. Daha sonra 600 ml doymuş civa klorür solüsyonuna 300 ml %95 etil alkol ve 15 ml gliserin karıştırıldı. Kullanmadan önce hazırlanan stok solüsyonun 100 ml'sine 5 ml glasiyal asetik asit eklendi.

3.5.5.2. Alkol (% 70'lik) Hazırlama

Etil alkol 70 ml

Distile su 30 ml

Yapılışı: Distile su ve etil alkol karıştırıldı.

3.5.5.3. D'Antoni'nin İodin Solüsyonu[164]

Potasyum iyodür (K) 1 gr

İyot kristalleri 1,5 gr

Distile su 100 ml

Yapılışı: Potasyum iyodür distile su içinde çözüldü. Üzerine iyot kristalleri eklendi. Solüsyon iyice karıştırıldı. Koyu renkli cam şişede saklandı. Maksimum iki hafta kullanıldı.

3.5.5.4. Trikrom Boya Solüsyonu

Chromotrope 2R	6 gr
Light green SF	3 gr
Fosfotungustik asit	7 gr
Glasiyal asetik asit	10 ml
Distile su	1000 ml

Yapılışı: Temiz bir balon içine kromotrop 2R, light green, fosfotungustik asit, glasiyal asetik asit kondu. İyice karıştırıldıktan sonra 30 dakika bekletildi. Distile su eklenerek cam kapaklı şişede saklandı. Sulandırılmadan kullanıldı.

3.5.5.5. Asit Alkol (90'lık)

Etil alkol (%90'lık)	995,5 ml
Glasiyal asetik asit	4,5 ml

Yapılışı: Ölçülen 4,5 ml glasiyal asetik asit, 995,5 ml % 90'lık etil alkol üzerine eklendi.

3.5.5.6. Karbol –Ksilen Solüsyonu

Yapılışı: Bir ölçek karbolik asitle (sıvılaştırılmış fenol) üç ölçek ksilen karıştırılarak hazırlandı. Solüsyon cam kapaklı şişe içinde saklandı.

3.5.5.7. Trikrom ile Boyama Yöntemi

Formol-etil asetat çöktürme yöntemi sonrası elde edilen çökeltiden yapılan yaymalar kurumadan Schaudinn fiksativi içeren şaleye konup 30 dakika tespit edildi. Bu aşamadan sonra aşağıdaki işlemler sırası ile uygulandı.

1. Etil alkolde (%70'lik) iki dakika bekletildi.
2. Etil alkole (%70'lik) demli çay renginde bir solüsyon elde edene kadar D'Antoni solüsyonu eklendi. Lamlar bu solüsyonda 3-5 dakika bekletildi.
3. Lamlar iki ayrı %70'lik alkol solüsyonun her birinde 2-5 dakika bekletildi.

4. Preparatlar sulandırılmamış trikrom boyasında 5-8 dakika tutuldu.
5. Bu aşamadan sonra boyanın daha sonraki solüsyonlara bulaşını azaltmak için lamlar dik biçimde kağıt havlular üzerine yerleştirildi ve fazla boyanın süzülmesi sağlandı.
6. Asit alkol (%90'lık) içeren şaleye iki-üç saniye daldırılıp kağıt havluya kondu.
7. Alkol (% 95'lik) içeren şaleye daldırılıp çıkarıldı.
8. Saf alkol içeren iki ayrı şaleye daldırılıp çıkarıldı.
9. Preparatlar iki ayrı karbol-ksilen solüsyonunda iki-beş dakika bekletildi.
10. İki ayrı ksilen içeren şalede iki-beş dakika tutuldu.

Preparatlar mikroskopta 100 X immersiyon objektifinde incelendi.

3.5.6. Kalsiflor Boya [165]

3.5.6.1. Phosphate Buffered Saline (PBS)

NaCl	8 gr
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	1,15 gr
KH ₂ PO ₄	0,2 gr
KOH	0,2 gr
Distile su	1000 ml

Yapılışı: Distile su içinde tüm malzemeler karıştırıldı. Karışımın pH'sı 1M'lık NaOH ile 7,2'ye ayarlandı.

3.5.6.2. Evan's Blue

Yapılışı: PBS ile % 5'lik Evans Blue solüsyonu hazırlandı.

3.5.6.3. Kalsiflor Beyazı Boyası

Kalsiflor beyazı	0.5 g
Distile su	100 ml

Yapılışı: Kalsiflor boyası distile su içinde çözüldü. Kullanmadan önce iyice karıştırıldı.

3.5.6.4. Kalsiflor ile Boyama Yöntemi

Sedimentten hazırlanan yaymalar kurduktan sonra % 99,9'luk metanol ile 10 dakika tespit edildi. Lam daha sonra havada kurutuldu.

1. Tespit edilen lama kalsiflor damlatılıp 5 dakika bekletildi.
2. PBS ile 1-2 saniye yıkandı.
3. Evans blue içeren şalenin içinde 30 saniye bekletildi.
4. Distile su ile lamalar 1-2 saniye yıkandı.

Lamlar kurduktan sonra immersiyon yağı ile floresans mikroskopunda (395-415 nm dalga boyunda) incelendi.

3.5.7. Modifiye Trikrom Boya (Weber'in Trichrome Boyası, Chromotrope 2R boya) [165]

3.5.7.1. Kromotrop Boya Solüsyonu

Kromotrop 2R	6.0 gr
Fast green	0.15 gr
Fosfotungustik Asit	0.7 gr

Yapılışı: Kromotrop 2R, fast green, fosfotungustik asit karışımına 3 ml glasiyal asetik asit eklenip ve iyice karıştırıldıktan sonra 30 dakika bekletildi. Daha sonra üzerine 100 ml distile su eklenip ve iyice karıştırılarak homojen bir karışım elde edildi.

3.5.7.2. Asit Alkol

Etil alkol %99,8	900 ml
Distile su	100 ml
Glasiyal asetik asit	4,5 ml

Yapılışı: Önce 900 ml saf etanole 100 ml distile su eklenerek % 90'lık etil alkol elde edildi. Daha sonra % 90'lık etil alkol solüsyonundan 995.5 ml alınıp içine 4.5 ml glasiyal asetik asit eklendi.

3.5.7.3. Modifiye Trikrom Boya ile Boyama Yöntemi [165]

Formol-etil asetat çöktürme yöntemi sonrası elde edilen çökeltiden yapılan yaymalar kuruduktan sonra

1. Metanolde 5 dakika bekletildi.
2. Alkolün fazlası dökülerek preparatlar havada kurutuldu.
3. Lamlar kromotrop boya içeren şalede 90 dakika boyandı.
4. Lamlar asit alkolde 10 sn veya daha az süre ile çalkalandı.
5. Sonra %95'lik etanol içeren şalede 10 sn çalkalandı.
6. İkinci %95'lik etanol içeren şalede 5 dakika bekletildi.
7. Daha sonra %100'lük etanolde 10 dakika bekletildi.
8. İkinci %100'lük etanol de 10 dakika bekletildi.
9. Son olarak ksilende 10 dakika bekletildi.

Son şaleden çıkardıktan sonra kuruması beklendi ve ışık mikroskopunda 100 X büyütmede incelendi.

3.6. ELISA

Çalışmaya başlamadan önce ependorf içinde, -20°C'de saklanan dışkı örnekleri oda ısısına getirildi.

***Giardia* ELISA Çalışma Prosedürü (*Giardia* 2nd Generation, Diagnostic Automation, Inc,U.S.A)**

Bir ependorf tüpü içine 1gr veya bezelye büyüklüğünde dışkı örneği ve 3 ml dilüsyon solüsyonu eklendi. Vorteksenerek üstte toplanan sıvı kısım alındı ve ELISA testi için kullanıldı. Örnek sulu ise, 0.1ml alınarak, 0.3 ml dilüsyon solüsyonu eklendi.

1. ELISA plağında birinci kuyucuğa 100 µl negatif kontrol, ikinci kuyucuğa 100 µl pozitif kontrol eklendi.
2. Her test kuyucuğuna mikropipet kullanarak 50 µl seyreltme tamponu ve 50 µl örnek eklendi.
3. Oda sıcaklığında (15-25°C) 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve sonra yıkama işlemi yapıldı.

4. İki damla konjugat eklendi.
5. Oda sıcaklığında (15-25°C) 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve sonra yıkama işlemi yapıldı.
6. Her kuyucuğa iki damla kromojen substrat eklendi.
7. Daha sonra 10 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı.
8. Sonra iki damla stop solüsyonu eklendi.

Oluşan renk değişikliği ELISA okuma cihazında 450 nm dalga boyunda okundu.

***E.histolytica* ELISA Çalışma Prosedürü (WAMPOLE *E.histolytica* II ELISA, TechLab, U.S.A)**

Ependerf içine 400 µl sulandırma tamponu eklendi. İçine yaklaşık 0.15-0.20 gr dışkı konup iyice karıştırıldı. Dışkı sulu ise 400 µl alınarak vortekslendikten sonra kullanıldı.

1. ELISA plağına pozitif kontrol, negatif kontrol ve hasta için kullanılan kuyucuklara 50 µl konjugat damlatıldı.
2. Pozitif kontrol için, pozitif kontrol reaktifinden 50 µl damlatıldı. Negatif kontrol kuyusuna 100 µl sulandırma tamponu, diğer kuyucuklara ise seyreltilmiş dışkı örneğinden 200 µl ilave edildi. Üstü plastik şeritle kapatılarak iki saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi.
3. Plak karıştırıcıya (shaker) konuldu. Yıkama solüsyonu (50 ml yıkama solüsyonu, 950 ml distile su ile sulandırılarak elde edildi) ile kuyucuklar dört kez yıkandı.
4. Her kuyucuğa 100 µl substrat eklendi.
5. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
6. Her kuyucuğa reaksiyonu durdurmak için solüsyon 50 µl stop solüsyonu eklendi.

Daha sonra oluşan renk değişikliği ELISA okuma cihazında 405 nm dalga boyunda değerlendirildi.

***Cryptosporidium* ELISA Çalışma Prosedürü (*Cryptosporidium* (fecal), Diagnostic Automation, Inc,U.S.A)**

Ependorfta 0.1 gr dışkı, 0.3 ml sulandırma tamponu ile iyice karıştırıldı. Sulu örnekler için 0.3 ml sulandırma tamponuna 0.1 ml dışkı eklendi.

1. Bir mikropipet kullanarak, ELISA plağında pozitif kontrol kuyucuğuna 100µl pozitif kontrol, negatif kontrol kuyucuğuna 100 µl negatif kontrol solüsyonu eklendi. Kontrol kuyucukları hariç örneklerin bulunduğu kuyucuklara 50 µl seyreltme tamponu eklendi.
2. Oda sıcaklığına 60 dakika inkübe edildi. Daha sonra yıkama solüsyonu ile yıkandı.
3. Her kuyucuğa 100 µl konjugat eklendi.
4. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Yıkama işlemi yapıldı.
5. Her kuyucuğa 100 µl kromojen substrat eklendi.
6. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
7. Her kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklendikten beş dakika sonra ELISA okuma cihazında 405 nm dalga boyunda okundu.

ELISA Sonuçlarının Okunması Ve Değerlendirilmesi

ELISA plakları spektrofotometrede (Alisei Quality system SEAC, Radim) ölçülerek elde edilen absorbans sonuçları değerlendirildi. Negatif kontrollerin absorbans değerlerinin aritmetik ortalaması ve iki standard sapma değeri toplandıktan sonra elde edildi.

3.7. İstatistiksel analiz: Bilgisayar ortamında SPSS programının 16.0 versiyonu ile yapıldı. Analizlerde bağımlı gruplarda Ki-kare ve korelasyon testleri kullanılarak $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hasta Bilgileri

Çalışmaya SDBY tanısı alan kronik hemodiyaliz veya periton diyaliz tedavisi gören 62 erkek, 80 kadın hasta alındı. Kontrol grubu olarak 62 erkek, 88 kadın sağlıklı gönüllü dahil edildi. Çalışmaya katılan kişilerin en küçüğü 20, en büyüğü 80 yaşında idi. Diyaliz tedavisi görenlerde yaş ortalaması erkeklerde 52.2 (± 12), kadınlarda 52.2 (± 13) idi. Kontrol grubunda ise yaş ortalaması erkeklerde 47.7 ($\pm 11,9$), kadınlarda 48,3 (± 10) olarak bulundu. Toplam 292 dışkı örneği barsak parazitleri açısından incelendi. Parazit görülme oranı diyaliz hastalarında % 43.7, kontrol grubunda ise %12.6 olarak bulundu. Diyaliz hastaları ve kontrol grubunda görülen parazit oranları Tablo 1’de verildi.

Tablo 1: Diyalize giren hasta ve kontrol grubunda parazit görülme sıklığı

	Parazit saptanan		Parazit saptanmayan		p değeri
	n	%	n	%	
Diyalize giren hasta grubu	62	43.7	80	56.3	p<0,05
Kontrol grubu	19	12.6	131	87.4	
Toplam	81	27.7	211	72.3	

Diyalize giren hastalarda parazit görülme oranının kontrol grubuna göre yüksek olduğu görüldü. Bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Araştırmaya katılan kişilerin ankete vermiş olduğu cevaplar doğrultusunda yapılan incelemede parazit görülme sıklığı ile yaş, cinsiyet, eğitim seviyesi, oturulan ev tipi (müstakil-apartman), yaşanılan yer (köy-şehir), evdeki kişi sayısı, içme suyu, arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p \geq 0,05$).

Diyaliz süresi ile parazit saptanması arasındaki ilişki anlamlı bulunmamasına rağmen uzun süre (beş yıl ve üzeri) diyalize giren hastalarda parazit görülme sıklığı daha yüksekti.

Anketteki el yıkama ve sabun kullanımı ile ilgili soruları “ara sıra elimi yıkarım” diye cevaplayan 21 diyaliz hastasının 16’sında ve “ara sıra sabun kullanırım” diye cevaplayan 18 diyaliz hastasının 14’ünde parazit tespit edildi.

Diyaliz hastalarında el yıkama ve sabun kullanma alışkanlığının olmaması ile parazit görülme sıklığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulundu ($p<0,05$). El yıkama ile parazit görülme sıklığı arasındaki ilişki Tablo 2’de, sabun kullanımı ile parazit görülme sıklığı arasındaki ilişki Tablo 3’de verildi.

Tablo 2: El yıkama ile parazit görülme sıklığı arasındaki ilişki

El yıkama	Parazit saptanan		p değeri
	n	%	
Diyaliz giren hasta grubu	Ara sıra	16	76.1
	Her zaman	46	38
	Toplam	62	43.7
Kontrol grubu	Ara sıra	-	-
	Her zaman	19	12.6
Toplam	81	27.7	

Tablo 3: Sabun kullanımı ve parazit görülme sıklığı arasındaki ilişki

	Sabun kullanımı	Parazit saptanan		p değeri
		n	%	
Diyalize giren hasta grubu	Ara sıra	14	81.8	p<0,05
	Her zaman	48	38.7	
	Ara toplam	62	43.7	
Kontrol grubu	Ara sıra	-	-	
	Her zaman	19	13.4	
Toplam		81	27.7	

Laboratuvara gelen dışkılar makroskopik görünümüne göre sulu, katı ve yarı katı olarak gruplandırıldı. Laboratuvara gelen örneklerin katı veya sulu olduğu görüldü. Dışkının şekli ile parazit saptanması arasındaki ilişkiyi önemini belirlemek için istatistiksel analiz yapıldı. Sulu dışkılarda parazit saptama sıklığının katı ve yarı katı dışkılarına göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı. Dışkının makroskopik görünümü ve parazit saptanması arasındaki ilişki Tablo 4’de verildi.

Tablo 4: Dışkının makroskopik görünümü ve parazit saptanması arasındaki ilişki

	Dışkı	Parazit saptanan		p değeri
		n	%	
Diyalize giren hasta grubu	Sulu	22	78.6	p<0,05
	Katı	40	35.1	
Kontrol grubu	Sulu	3	100	
	Katı	16	10.9	
Toplam		81	27.7	

Saptanan parazitler açısından diyalize giren hastalar ve kontrol grubu karşılaştırıldı. Diyaliz hastalarında *G.intestinalis* ve *B.hominis* pozitifliği kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). *Cryptosporidium spp*, *E.histolytica*, *Microsporidia spp* ve *D.fragilis* için pozitif olgu sayısı az olmasına rağmen, sadece diyaliz hastalarında tespit edilmesinin anlamlı olduğu düşünüldü. Diyaliz tedavisi gören ve ishali olan hastalarda üçünde *B.hominis*, dördünde *G.intestinalis*, ikisinde *Cryptosporidium spp.*, üçünde *Microsporidia spp.*, üçünde *E.histolytica*, birinde *D.fragilis*, ikisinde *E.coli* (Resim 6), ikisinde *E.nana*, birinde *E.hartmanii*, birinde *I.bütschlii* tespit edildi.

Sulu dışkılarda *G.intestinalis* görülme sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ($p<0,05$).

Çalışmaya alınan diyalize giren hasta ve kontrol grubunda görülen tüm parazitler ve oranları Tablo 5’de verildi.

Tablo 5: Diyalize giren hasta grubu (n=142) ve kontrol grubunda (n=150) saptanan parazitler ve oranları

Parazit türü	Diyalize giren hasta grubu		Kontrol grubu	
	n	%	n	%
<i>B.hominis</i>	34	23.9	16	10.6
<i>G.intestinalis</i>	12	8.5	3	2
<i>E.histolytica</i>	3	2.1	-	-
<i>Microsporidia spp.</i>	3	2.1	-	-
<i>Cryptosporidium spp</i>	3	2.1	-	-
<i>D.fragilis</i>	2	1.4	1	0.7
<i>E.coli</i>	4	2.8	3	2
*Diğer	4	2.8	1	0.7
Toplam	65	45.7	24	16

*Diğer: *E.nana*, *E.hartmani*, *I.bütschlii*

Çalışma grubunda birden fazla parazit ile enfekte olan olgular incelendiğinde; diyaliz tedavisi gören bir hastada *B.hominis* ve *E.coli*, dört hastada *B.hominis* ve *G.intestinalis* tespit edilirken kontrol grubunda ise iki hastada *B.hominis* ve *E.coli*, bir hastada *B.hominis* ve *G.intestinalis* saptandı. Birden fazla parazit bulunan hastalar tek olgu olarak değerlendirildi. Çalışma sonucunda parazit tespit edilen hastalara bilgi verildi.

Diyaliz hastaları ve kontrol grubunda görülen parazitlerin kendi içindeki dağılımı Tablo 6’da verildi.

Tablo 6: Çalışmaya alınan dışkı örneklerinde saptanan parazitlerin dağılımı (n=89)

Parazit türleri	Diyaliz giren hasta grubu		Kontrol grubu	
	n	%	n	%
<i>B .hominis</i>	34	52.3	16	66,6
<i>G.intestinalis</i>	12	18.5	3	12.5
<i>E.histolytica</i>	3	4.6	-	-
<i>Microsporidia spp</i>	3	4.6	-	-
<i>Cryptosporidium spp</i>	3	4,6	-	-
<i>D.fragilis</i>	2	3	1	4.2
<i>E.coli</i>	4	6.2	3	12.5
*Diğer	4	6.2	1	4.2
Toplam	65	100	24	100

*Diğer; *E.nana*, *E.hartmani*, *I.bütschlii*

4.2. Parazit Saptanmasında Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması

NL ve formol-etil asetat çöktürme yöntemi kullanılarak tespit edilen parazitler ve yüzdeleri Tablo 7’ de verildi.

Tablo 7: NL ve formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile saptanan parazitler

Parazit	NL		Formol-etil asetat çöktürme yöntemi (NL)	
	n	%	n	%
<i>B.hominis</i>	38	66.7	50	68.5
<i>G.intestinalis</i>	7	12.2	10	13.7
<i>E.histolytica/E.dispar</i>	1	1.8	2	2.7
<i>E.coli</i>	6	10.5	7	9.6
Diğer	5	8.8	4	5.5
Toplam	57	100	73	100

Diğer: *E.nana*, *E.hartmani*, *I.bustchii*

NL ve formol-etil asetat çöktürme yöntemlerinde tespit edilen parazitler karşılaştırılarak Ki-kare analizi yapıldı. İstatistiksel analiz sonucunda formol-etil asetat çöktürme yöntemi ve NL arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0,05$)

4.2.1. *B.hominis* Tanısında Kullanılan Yöntemler

B.hominis tanısında kullanılan NL (Resim 7) yöntemi ile trikrom (Resim 9) ve formol-etil asetat çöktürme yöntemleri karşılaştırıldı. NL'nin trikrom ve formol-etil asetat çöktürme yöntemine göre duyarlılığı % 76, özgüllüğü %100 olarak bulundu (Tablo 8).

Diyaliz hastalarında *B.hominis* görülme sıklığı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Tablo 8: *B.hominis* tanısında kullanılan yöntemler ve duyarlılık oranları

Parazit	NL		Formol-etil asetat çöktürme yöntemi			
			NL		Trikrom	
	n	%	n	%	n	%
<i>B.hominis</i>	38	76	50	100	50	100

4.2.2. *Giardia intestinalis* Tanısında Kullanılan Yöntemler

G.intestinalis tanısı için kullanılan NL (Resim 5), formol-etil asetat çöktürme ve trikrom boyama (Resim 10,11) yöntemleri ELISA yöntemi ile karşılaştırıldı. Çalışmamızda NL'ün ELISA'ya göre duyarlılığı % 47, özgüllüğü %100, formol-etil asetat çöktürme ve trikrom boyama yönteminin ELISA'ya göre duyarlılığı % 67, özgüllüğü % 100 olarak bulundu (Tablo 9).

Diyaliz hastalarında *G.intestinalis* görülme sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu ($p<0,05$).

Tablo 9: *G.intestinalis* tanısında kullanılan yöntemler ve duyarlılık oranları

Parazit	NL		Formol-etil asetat çöktürme yöntemi				ELISA			
	n	%	Direk bakı n	%	Lugol n	Trikom n	%	n	%	
<i>G. intestinalis</i>	7	47	10	67	10	67	10	67	15	100

4.2.3. *E.histolytica/E.dispar* Tanısında Kullanılan Yöntemler

E.histolytica/E.dispar tanısında kullanılan NL (Resim 8), formol- etil asetat çöktürme yöntemi, trikrom boyama (Resim13) yöntemleri ELISA yöntemi ile karşılaştırıldı. Çalışmada NL'ün ELISA'ya göre duyarlılığı % 33, özgüllüğü %100, formol-etil asetat çöktürme yöntemi ve trikrom boyama yönteminin ELISA'ya göre duyarlılığı % 67, özgüllüğü %100 olarak bulundu.

4.2.4. *D.fragilis* Tanısında Kullanılan Yöntemler

Çalışmada sadece trofozoit formu olan *D.fragilis* trofozoitlerinin tamamı trikrom boyama (Resim 12) yöntemi ile saptandı. Formol-etil asetat çöktürme yöntemi ve NL yöntem ile *D.fragilis* trofozoitleri tespit edilemedi.

4.2.5. *Cryptosporidium spp* Tanısında Kullanılan Yöntemler

Cryptosporidium spp tanısı için NL, formol-etil asetat çöktürme yöntemi, ELISA ve MAF boyama (Resim 14) metodu kullanıldı. NL, formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile *Cryptosporidium* oookistleri tespit edilemezken ELISA ve MAF yöntemi ile *Cryptosporidium* saptandı. MAF yönteminin ELISA'ya göre duyarlılığı % 67, özgüllüğü % 100 olarak bulundu.

4.2.6. *Microsporidia spp* Tanısında Kullanılan Yöntemler

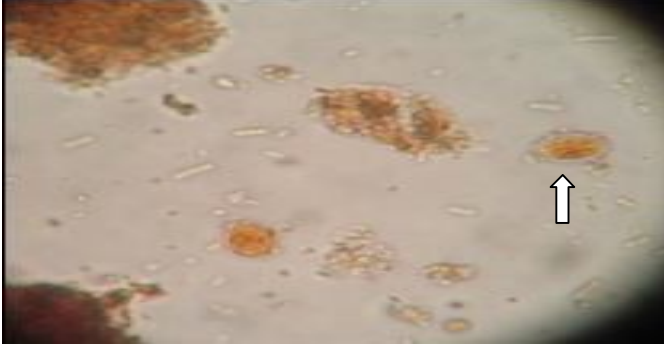
Microsporidia spp tanısı için modifiye trikrom (Resim 15) ve kalsiflor (Resim 16) boyama yöntemleri kullanıldı. Diyaliz hastalarında tespit edilen *Microsporidia spp* sporları her iki yöntemle de pozitif bulundu.

Araştırmamızda kullanılan tanı yöntemleri ve saptanan parazitlerin dağılımı Tablo 10'da verildi.

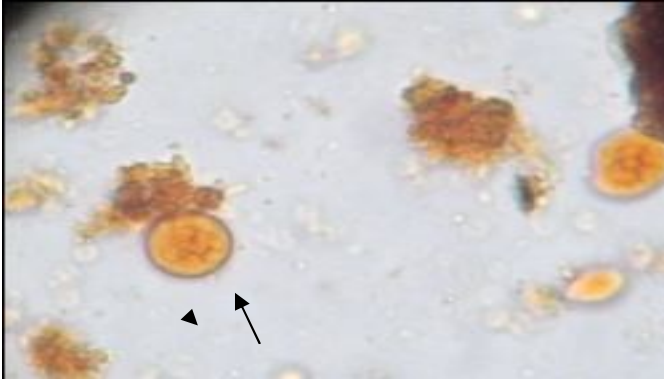
Tablo 10: Parazitlerin tanısında kullanılan yöntemler ve saptanan parazit türleri

Parazit türleri	Yöntem						
	NL	Formol-etil asetat çöktürme	Trikrom	M.trikrom	Kalsiflor	MAF	ELİSA
<i>Blastocystis spp.</i>	38	50	50	-	-	-	-
<i>Giardia intestinalis</i>	7	10	10	-	-	-	15
<i>Cryptosporidium spp.</i>	-	-	-	-	-	2	3
<i>E.histolytica spp</i>	1	2	3	-	-	-	3
<i>Microsporidia spp</i>	-	-	-	3	3	-	-
<i>D.fragilis</i>	-	-	3	-	-	-	-
Toplam	46	62	66	3	3	2	21

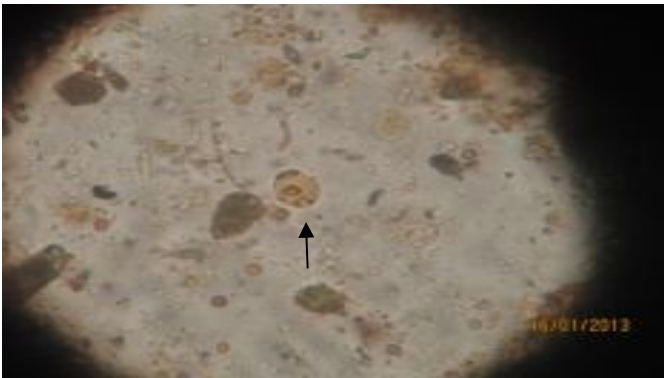
ÇALIŞMAMIZDA TESPİT EDİLEN BAZI PARAZİTLER



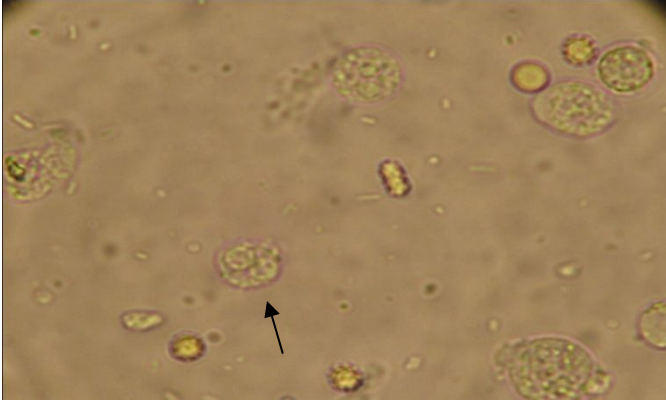
Resim 5 : Lugol solüsyonunda *G.intestinalis* kisti (40 X)



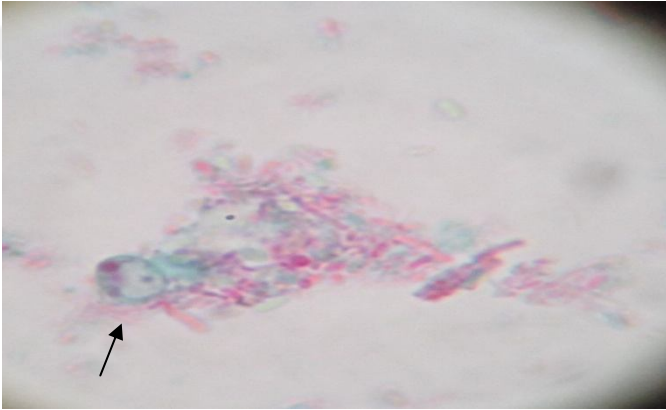
Resim 6: Lugol solüsyonunda *E.coli* kisti (40 X)



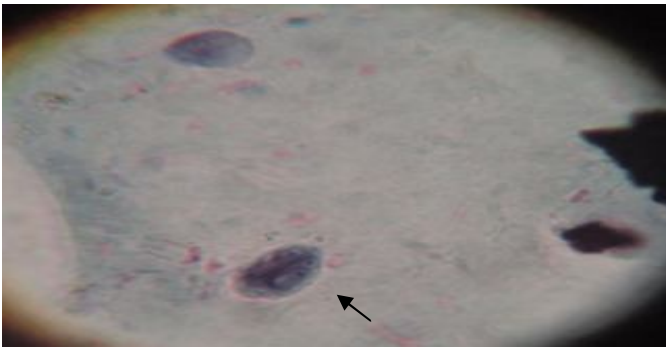
Resim 7: Lugol solüsyonunda *B.hominis* kisti (40 X)



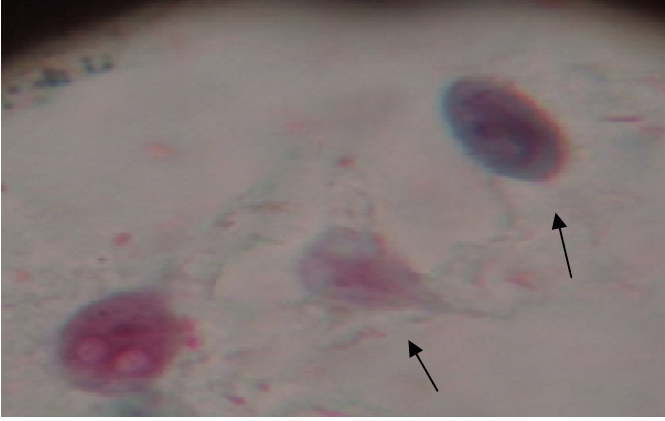
Resim 8: Serum fizyolojikde *E.histolytica/E.dispar* kisti (40 X)



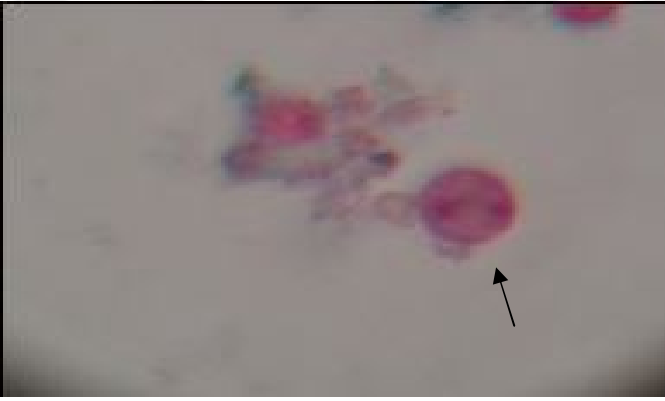
Resim 9: Trikrom boyamada *B.hominis* kisti (100 X)



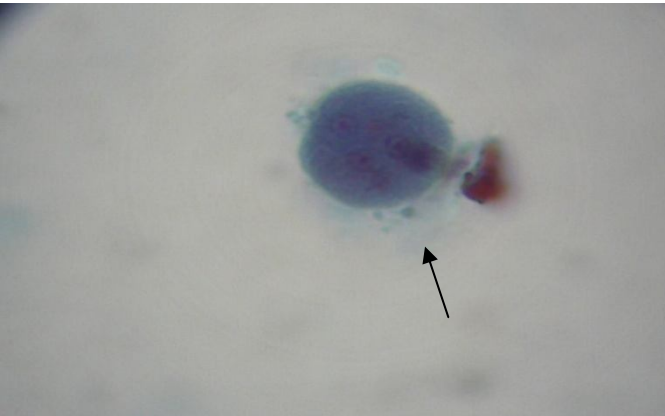
Resim 10: Trikrom boyamada *G.intestinalis* kisti (100 X)



Resim 11: Trikrom boyamada *G.intestinalis* kist ve trofozoiti (100 X)



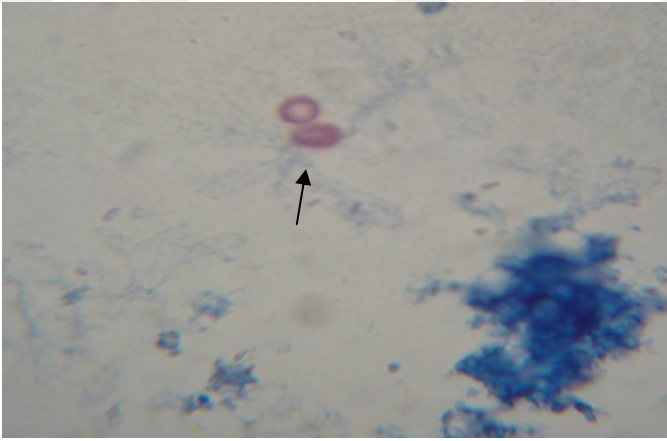
Resim 12: Trikrom boyamada *D.fragilis* trofozoiti (100 X)



Resim 13: Trikrom boyamada *E.histolytica/E.dispar* kisti (100 X)



Resim 14: Asit fast boyamada *Cryptosporidium* ookisti (100 X)



Resim 15: Modifiye trikrom boyamada *Microsporidia* (100 X)



Resim 16: Kalsiflor boyamada *Microsporidia* (100 X)

4. TARTIŞMA

Bağışıklığı baskılanan kişilerde enfeksiyona neden olan önemli patojenler arasında protozoonlar yer almaktadır [1]. Özellikle hücresel bağışıklığın bozulması ile parazit enfeksiyonlarına duyarlılık artmaktadır [1,2]. Çalışmada SDBY tanısı alan diyalize giren hastalar ile bilinen sağlık problemi olmayan gönüllülerde barsak parazitlerini araştırarak, tanı için kullanılan metotlar kıyaslandı. Diyaliz hastaları ile yapılan araştırmalar sınırlı olduğundan, diğer bağışıklığı baskılanan hasta grupları ile de sonuçlar karşılaştırıldı.

Kulik ve ark. [3] 86 diyaliz hastasının ve 146 sağlıklı gönüllünün dışkı örneklerinde parazit kist, trofozoit, larva ve yumurtalarını %10 formol-etil asetat çöktürme yöntemi ve Kinyoun boyama ile araştırmışlar, diyalize giren 18 kişide *Blastocystis spp*, 14 kişide *Endolimax nana*, dört kişide *Cryptosporidium spp*. ve *E.coli* tespit etmişlerdir. Diyalize giren hasta grubunda parazit sıklığının yüksek olduğunu (%45.1) saptamışlar, özellikle *Blastocystis* ve *Cryptosporidium spp* açısından hastaların rutin kontrollerinde araştırılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Sağlıklı kişilerde saptanan parazitler ise *Iodamoeba butschlii*, *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana*, *Trichuris trichiura* ve *Taenia spp* olmuştur.

Çalışmada NL, %10 formol-etil asetat çöktürme yöntemi, MAF, trikrom, modifiye trikrom, kalsiflor ve ELISA metotları kullanılarak 142 diyaliz hastası ve 150 sağlıklı gönüllüde barsak parazitleri araştırıldı. Diyalize giren hastaların 34'ünde (%23.9) *B.hominis*, 12'sinde (%8.5) *G.intestinalis*, üçünde (%2.1) *E.histolytica*, üçünde (%2.1) *Cryptosporidium spp*, üçünde (%2.1) *Microsporidia spp*, ikisinde (%1.4) *D.fragilis*, dördünde (%2.8) *E.coli* saptandı. Diyaliz hastalarında parazit görülme oranı % 43.7 olarak tespit edildi. Sık görülen parazitlerin *B.hominis* ve *G.intestinalis* olduğu görüldü.

Botero ve ark. [166] bağışıklığı baskılanan hastalarda (akut lenfosit lösemi, kronik myelositer lösemi, anti-HIV pozitif vb.) NL, konsantrasyon, kültür ve spesifik boyalar kullanarak 110 dışkı örneğini incelemişler, bu örneklerin 11'inde *E.histolytica* /*E.dispar*, sekizinde *G.intestinalis* kist ve trofozoitlerini, dördünde *C.parvum*, ikisinde ise *Microsporidia spp*. bulmuşlardır.

Araştırmada üç örnekte (%2.1) *E.histolytica*, üç örnekte (%2.1) *Cryptosporidium spp.* ve üç örnekte (%2.1) *Microsporidia spp.* bulundu.

Kumar ve ark. [167] HIV pozitif hastalarda barsak parazitlerinin sıklığını saptamak için 150 dışkı örneğini incelemişlerdir. Dışkı örnekleri akut ishali olan 41, kronik ishali olan 59 ve ishali olmayan 50 HIV pozitif hastadan alınmıştır. Barsak parazitleri ishal olmayan hastalarda %14, ishal tanısı alan hastalarda ise %39 oranında bulunmuştur. *Isoospora belli* kronik ishali hastalarda % 18.6 (11/59) ve akut ishali hastalarda ise % 7.3 (3/41) oranında tespit edilmiştir. *Cryptosporidium* akut ve kronik ishali yedi hastada pozitif olarak bulunmuştur. *Microsporidia spp.* ve *C.cayatanensis* kronik ishali hastaların sadece birinde %1.69 (1/59) saptanmıştır. *I.belli* ishali olan HIV pozitif hastalarda baskınken, *Microsporidia spp.* ve *Cyclospora* oranının çok düşük olduğunu görmüşlerdir. Çalışmada ishali olan 31 hastanın 28'i diyaliz hastasıydı. İshali olan diyaliz hastalarında parazit görülme oranı %78.6 tespit edilirken, *G.intestinalis* %17,9 (5/28) *Cryptosporidium spp* %10.7 (3/28), *Microsporidia spp* %10.7(3/28), *E.histolytica* %,7.1(2/28) *D.fragilis* %7.1 (2/28), *E.coli* %7.1 (2/28) olarak bulundu. İshali diyaliz hastalarında en sık görülen parazitin beş kişide tespit edilen *G.intestinalis* olduğu görüldü.

Ülçay ve ark. [168] ishal şikayeti olan bağışıklığı baskılanan hastalarda, barsak protozoonlarını saptamak için NL, trikrom, MAF, ELISA, DFA ve PZR, kullanarak *G.intestinalis*, *C.parvum*, *B.hominis* ve *E.histolytica* parazitlerini saptamışlar. Bu hastalarda uzamış ishallerin sorumlusu olarak bu etkenleri tespit etmişlerdir. NL yöntemi ile dışkıda etken saptanamamış ise, *Cryptosporidium spp*'nin tanısı için DFA veya MAF, *E. histolytica*'nın tanısı için ELISA veya trikrom boyama yöntemlerinin kullanılmasının uygun olacağını bildirmişlerdir. *G.intestinalis* tanısında basit ve ucuz olan NL yönteminin tanıda yeterli olacağını, serolojik ve moleküler yöntemlere ihtiyaç olmayacağını vurgulamışlardır.

Çalışmada ishali hastalarda *G.intestinalis*, *C.parvum*, *B.hominis*, *Microsporidia spp.* ve *E.histolytica* tespit edildi. Paraziter etkenlerinin tespitinde formol-etil asetat çöktürme yönteminin NL'e göre daha üstün olduğu görüldü. *G.intestinalis*'in aralıklı olarak dışkı ile atılmasından dolayı NL'ün pozitiflik oranı, trikrom boyama ve formol-etil asetat çöktürme yöntemi ve dışkıda *G.intestinalis*'e özgü antijen saptayan ELISA'ya göre düşük bulundu.

Ekhlis ve ark. [169] bağışıklığı baskılanan ve baskılanmayan 450 çocuktan dışkı örneklerini NL, formol-etil asetat çöktürme yöntemi, MAF ve Giemsa boyaları kullanarak barsak parazitleri yönünden incelemişler. Sonuçta 150 sağlıklı, 188 bağışıklığı baskılanan çocukta paraziter etkenleri saptamışlardır. Direk inceleme ile negatif olan 18 örnekte formol-etil asetat çöktürme yöntemi ve boyama metotları kullanarak paraziter etkenler pozitif bulunmuştur. Bağışık sistemi baskılanmış çocuklarda en sık rastlanan parazitler; *C.parvum* (%60.2), *B.hominis* (%12.1), *I.belli* (%9.7) ve *C.cayetanensis* (% 7.8) olarak tespit etmişlerdir. *E.histolytica* (%24.6) ve *G.lambliia* (%17.6) bağışıklık sistemi baskılanmayan grupta diğer protozoonlardan daha fazla bulunmuştur. Çalışmada NL ile 57 parazit saptanırken, formol-etil asetat çöktürme yöntemi, boyama yöntemleri ve ELISA ile toplam 89 parazit tespit edildi. Diyaliz hastalarında en sık saptanan paraziter etkenlerin; *B.hominis* ve *G.intestinalis* olduğu görüldü.

Idris ve ark. [170] çeşitli nedenlerle bağışıklığı baskılanan 42 çocukta barsak parazitlerini araştırmışlar. Örnek alınan 42 hastanın 24'ünde (%57) *B.hominis* en sık görülen parazit olarak tespit edilmiştir. Bir hastada *Cryptosporidium spp.* ve *B.hominis*, bir hastada *B.hominis* ve *E.histolytica/E.dispar*, bir hastada *B.hominis* ve *G.lambliia* ve bir hastada sadece *Cryptosporidium spp.* saptanmıştır. Bağışıklığı baskılanan tekrarlayan ve kronik ishelli çocuklarda dışkıda parazit incelenmesinin gerekli olduğu sonucuna varmışlardır. Araştırmada diyaliz hastalarının 34'ünde (%23.9) *B.hominis* tespit edildi, en sık paraziter etken olarak bulundu. Diyaliz hastalarının dördünde *B.hominis* ve *G.intestinalis*, bir hastada *B.hominis* ve *E.coli* tespit edildi.

Türkiyede yapılan bir çalışmada bağışıklığı baskılanan hasta gruplarında *Cryptosporidium spp.* %7.1 - %61.1 arasında saptanmış, kontrol gruplarında ise %0-14 olarak bulunmuştur. Çalışma grupları ile kontrol grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır [168]. Çalışmada diyaliz hastalarında *Cryptosporidium* görülme sıklığı % 2.1 olarak tespit edildi.

Türkçapar ve ark. [171] 74 diyaliz hastası ve 50 sağlıklı gönüllü üzerinde yaptığı araştırmada *Cryptosporidium* sıklığını MAF yöntemi ile araştırmışlar. Yetmiş dört diyaliz hastasının 15'inde (%20.3) *Cryptosporidium* ookistlerini saptamışlar. *Cryptosporidium* saptanan 15 hastanın 5'i ishelli olduğu görülmüştür. Bir olgu da ise

hem *Cryptosporidium* hem de *Giardia* kistlerine rastlanmıştır. Bu çalışmada *Cryptosporidium* ookistleri 142 hastanın 3'ünde (% 2.1) pozitif bulundu. Bu hastaların ikisinin ishali olduğu görüldü. *Cryptosporidium spp.* ELISA ve MAF yöntemleri kullanılarak saptandı.

Seyrafiyan ve ark. [172] hemodiyaliz hastalarında *Cryptosporidium* sıklığını MAF yöntemi ile araştırmışlar. Yüz dört hemodiyaliz hastasından elde edilen sonuçları iki kontrol grubu (91 diyaliz hasta yakını ve 140 sağlıklı gönüllü) ile karşılaştırmışlar, diyaliz hastalarının % 11'inde *Cryptosporidium spp.* ookistlerini saptamışlardır. Sonuç her iki kontrol grubuna göre de yüksek bulunmuş, ancak kontrol grupları arasında belirgin farklılık görülmemiştir. Hemodiyaliz hastalarının organ nakline aday olmasından dolayı *Cryptosporidium spp.* enfeksiyonu önlenmesinin önemli olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmamızda kontrol grubunda, *Cryptosporidium spp.* tespit edilemezken, diyalize giren ishali olan iki, ishali olmayan bir hastada *Cryptosporidium spp.* saptandı.

Rusnak ve ark. [173] dışkıda parazit tespiti için IFA ve MAF yöntemini karşılaştırmışlar. Yüz ondokuz örneğin 63'ü MAF yöntemi ile, 61'i ise IFA yöntemi ile negatif bulunmuştur. IFA'nın MAF boyama yöntemine karşı duyarlı ve özgül olduğunu ve dışkıda *Cryptosporidium* ookistlerinin tespiti için IFA'nın tercih edilebileceğini belirtmişlerdir.

Vohra ve ark. [174] NL yöntemi ile 44 dışkı örneğini incelemişler. *Cryptosporidium spp.* tanısında tarama testi için MAF boyama yönteminin güvenilir olmasına rağmen, DFA yönteminin *Cryptosporidium spp.* ve *G.intestinalis* tanısında daha duyarlı olduğu sonucuna varmışlardır. Çalışmada MAF ve ELISA yöntemleri kullanıldı. ELISA yönteminin pozitiflik oranı daha yüksek bulundu.

Johnston ve ark. [175] 246 dışkı örneğini, immunkromotografik yöntem, DFA testi, *Giardia* ve *Cryptosporidium spp.* için ELISA ve modifiye Kinyoun asit-fast boyama metotlarıyla incelemişler. İmmunkrotomografik yöntemlerin ve ELISA'nın DFA'ya göre duyarlılığını düşük bulmuşlardır.

Genellikle giyardiiazis vakaları sağlıklı kişilerde asemptomatik seyrederken bağışıklığı baskılanan kişilerde kronik enfeksiyonlar şeklinde görülmektedir. *Giardia* trofozoitleri, epitel hücrelerinin 72 saatte bir dökülmesi ile dışkıyla atıldıklarından

her zaman dışkıda gösterilmesi mümkün değildir. Çoklu örnek incelemesinde ise duyarlılık %85 oranında görülmektedir [176,178].

Espelage ve ark. [177] giyardiyazis kliniğinin kişinin bağışık durumu ile ilişkili olduğunu bulmuşlar. Hekimlerin bağışık yetmezlikli hastalarda seyahat öyküsü olmasa bile *Giardia* enfeksiyon ihtimalini göz ardı etmemelerini ve gıda kaynaklı salgınlara karşı özellikle bağışıklık sistemi baskılanan kişilere bilgilendirmenin yapılması gerektiğini vurgulamışlardır.

ELISA kitleri mikroskopik incelemelere (genellikle asit-fast boyaması) göre üstündür. DFA testi ile de iyi korelasyon gösterir. Spesifik olan ELISA teknikleri, asit fast boyamadan 20 kat daha fazla duyarlıdır. IFA, boyama yöntemine göre pahalı olmasına karşın, çapraz reaksiyon göstermemesi ve dışkının konsantrasyonuna gerek duyulmaması nedeniyle tercih nedenidir. ELISA yöntemi süre açısından (bu çalışmada yaklaşık 135 dakika) uzun zaman alıyor gibi görünse de IFA yöntemine (yaklaşık 45 dakika) dışkının konsantrasyon süresi de eklendiğinde sürecin hemen hemen eş zamanlı olduğu görülmüştür [178].

E.histolytica bağışıklığı baskılananlarda ciddi klinik tablolara yol açması, tanı zorluğu ve barsak dışı klinik tabloya neden olmasıyla önem kazanan bir protozoondur.

Dışkı örneklerinden *E.histolytica*'nın *E.dispar*'dan ayrımının yapılabilmesi, tedavi ve bulaş açısından önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü 1997 yılında *E.dispar*'lı olguların tedavi edilmemesi, semptomu olsun olmasın *E.histolytica* tanısı alan hastaların mutlak tedavi edilmesi gerektiğini belirtmiştir. *E.histolytica/E.dispar* ayrımı yapılmayan olguların tedavisi klinisyene bırakılmıştır [178].

Yıldız Zeyrek ve ark. [179] toplam 1600 dışkıyı, NL ve çoklaştırma yöntemlerinden modifiye Ritchie metodu ile incelemiştir. Toplam 583 (%36.4) kişide bir veya birden fazla parazite rastlanmıştır. Bunların ikisinde (%3.8) iki parazit, birinde (%0.2) ise üç parazit birlikte görülmüştür. NL ile şüpheli bulunan 87 dışkı için ELISA ve trikrom boyama yöntemlerini uygulamışlar, 87 dışkının 23'ünde (%26.4) trikrom boyama yöntemiyle *E.histolytica/E.dispar*, ELISA yöntemiyle ise bunların 19'un da (%21.7) *E.histolytica*'yı pozitif bulunmuştur. Hastaların yanlış tanı ve gereksiz tedavi almalarının önlenmesi için deneyimli personel gerektirmeyen ve

diğer spesifik testlerle karşılaştırıldığında ucuz olan ELISA yönteminin kullanılmasının doğru olacağını vurgulamışlardır.

Çalışmada toplam 292 hastanın dışkısı incelendi. *E.histolytica/E.dispar* tespiti için NL, formol-etil asetat çöktürme ve trikrom boyama yöntemleri, *E.histolytica* tespiti için ELISA testi kullanıldı. İshalli olan üç diyaliz hastasının birinde formol-etil asetat çöktürme yöntemi, trikrom ve ELISA, birinde NL, trikrom boyama ve ELISA ile *E.histolytica/E.dispar*, birinde ise sadece ELISA yöntemi ile *E.histolytica*'yı tespit edildi. ELISA yöntemi ile pozitiflik oranının yüksek olduğu saptandı.

Etkene yönelik dışkıda antijen tarama metotlarının, diğer parazit enfeksiyonlarını saptayamaması nedeniyle, direkt bakı ve kalıcı boyama yöntemlerinin yerini alması söz konusu değildir. Ayrıca, bazı yöntemlerin değerlendirilmesinde floresan mikroskop, ELISA okuma aleti gibi pahalı araçlara gereksinim duyulması gibi dezavantajları vardır. Ancak duyarlılık ve özgüllüklerinin %100'e yakın olması, eğitimli personele ihtiyaç duyulmaması, uygulama kolaylığı ve sonuçların tekrarlanabilirliği gibi de avantajları bulunmaktadır. Bu nedenle klinik enfeksiyonlarda tekrarlayan incelemelere rağmen şüpheli etkenlerin saptanamaması ve/veya klinik tanının doğrulanmasında referans yöntem olarak kullanılmasının uygun olduğu görülmüştür [168].

Ferreira-Filho ve ark. [180] 110 kronik hemodiyaliz hastasından ardışık günlerde toplam 330 örnekte *E.histolytica/E.dispar* enfeksiyonu araştırmışlar, dokuz hastada (%8.2) *E.histolytica/E.dispar*, bir hastada *Giardia*, iki hastada *Strongyloides stercoralis*, altı hastada *E.nana*, 11 hastada ise *E.coli* tespit etmişlerdir. Çalışmada toplam 142 diyaliz hastasından tek dışkı örneği alındı. *E.histolytica* üç, *G.intestinalis* 12 hastada tespit edildi. *E.nana* iki, *E.coli* dört hastada pozitif saptandı.

Tuncay ve ark. [181] 9378 hastaya ait dışkı örneğini incelemişler. Tüm dışkı örneklerine NL yöntemi, şüpheli durumlarda trikrom boyama, Robinson besiyerine ekim ve/veya *Entamoeba* CELISA Path kiti ile dışkıda antijen arama yöntemlerini uygulamışlar. Dışkı örneklerinin 25'inde NL, 24'ünde trikrom, 20'sinde kültür ile *E.histolytica/E.dispar*, ELISA testi ile 18'inde *E.histolytica* saptamışlardır. *E.histolytica* için dışkıda *E.histolytica*'ya özgül antijen saptayan ELISA yönteminin kullanılması gerektiğini vurgulamışlardır. Çalışmada toplam 242 hastanın dışkı

örneğine *E.histolytica/E.dispar* tanısı için NL, formol-etil asetat çöktürme yöntemi, trikrom boyama ve *E.histolytica* tanısında ELISA yöntemleri kullanıldı. Diyaliz hastalarında trikrom boyama ile iki *E. histolytica/dispar*, NL ve formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile bir *E.histolytic/dispar*, ELISA ile üç *E.histolytica* pozitifliği saptandı.

Mengeloğlu ve ark. [182] direkt mikroskopi ile incelenen 1720 dışkı örneğinin 44'ünde (%0.37) *E.histolytic/E.dispar* görmüşler. Bu örnekleri *E.histolytica*'ya spesifik antijen testi olan ELISA ile araştırmışlar, mikroskopi ile pozitif olan 44 örneğin sadece 26'sında (%59.1) spesifik antijen varlığını saptamışlardır.

Koltaş ve ark. [183] 130 dışkı örneğinin trikrom boyama ile 20'sinde, kültür ile 30'unda *E.histolytica/E.dispar*'ı saptamıştır. Bunlardan ELISA ile sadece birinin *E. histolytica* olduğu görülmüştür. Çalışmada trikrom boya ile pozitif olan iki *E. histolytica/E.dispar* örneğinin ikisi de ELISA testi ile *E.histolytica* olarak değerlendirildi.

Microsporidia türleri, genellikle bağışık sistemi baskılanmış hastalarda ciddi ishal etkeni olmakla birlikte, bağışık sistemi normal kişilerde de enfeksiyon oluşturabilmektedir.

Karaman ve ark. [184] kanser tanısı almış hastalarda *Microsporidia* görülme sıklığını araştırmışlar. Toplam 320 hastadan alınan dışkı örnekleri NL, çöktürme yöntemleriyle incelenmiş. Örnekler modifiye trikrom boyama ve kalsiflor boyaları ile boyanmıştır. Kanser tanısı almamış 320 hasta ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Çalışmada hasta grubunda %10.9, kontrol grubunda ise %5.6 *Microsporidia* saptanmıştır. Kanserli hastalarda barsak parazitlerinin ve *Microsporidia*'nın önemli rahatsızlıklara neden olabileceği ve tedavi sürecini olumsuz etkileyebileceği sonucuna varmışlardır. Kanser hastalarının yaşam kalitesini yükseltmek ve tedavi esnasında hastanın paraziter enfeksiyonlardan korunması için düzenli aralıklarla dışkı bakısı yapılmasını ve parazitten korunma yolları ile ilgili bilgi verilmesini önermişlerdir.

Bu çalışmada tüm örneklerle modifiye trikrom ve kalsiflor boya metotları uygulandı. İshali olan üç diyaliz hastasında her iki yöntemle de *Microsporidia spp.* tespit edildi. İshalli diyaliz hastalarında *Microsporidia spp.* pozitif olma ihtimalinin de göz ardı edilmemesi gerektiği sonucuna varıldı.

Atambay ve ark. [185] bağışıklığı sağlam, sindirim sistemi yakınmaları ile dahiliye polikliniğe başvuran hastalarda, barsak parazitleri ve *Microsporidia spp.* araştırmışlar. Alınan 781 dışkı örneğinin %16.11'inde barsak parazitine ve %6.5'inde de *Microsporidia spp.* rastlamışlardır. Çalışmada sindirim sistemi rahatsızlığı olan hastalarda barsak parazitlerinin yanı sıra *Microsporidia spp.*de aranması gerektiği ve özellikle hazımsızlık ile halsizlik şikyetlerinin dikkatlice değerlendirilmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Usluca ve ark. [186] ishali olan myotonik distrofi nedeni ile izlenen bir hastanın dışkı incelenmesinde NL ve konsantrasyon yöntemleri ile parazit rastlamamışlar. Ancak Weber'in modifiye trikrom boyama yöntemi ile bir örnekten *Microsporidia spp.* saptamışlardır. Bağışıklığı baskılanmış hastalara ait dışkı örneklerinin, rutin parazitolojik incelemelere ek olarak *Microsporidia spp.* açısından da değerlendirilmeleri gerektiğini, *Microsporidia spp.* tanısında Weber'in modifiye trikrom boyama yönteminin güvenle başvurulacak bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Patojen barsak protozoonu *D.fragilis'in* prevalansı %0.4-17 arasında değişmektedir. Parazitin yaşam döngüsü, genomu ve biyolojisi hakkında bilgiler sınırlıdır. İshalli hastalarda *D.fragilis'in Giardia'dan* daha sık görüldüğünü belirten yayınlar vardır. Tanı için gerekli olan trikrom gibi kalıcı boyalar rutin olarak tüm laboratuvarlarda tarafından kullanılmalıdır [187].

Munasinghe ve ark. [188] ishali ve ishalsiz 750 hastanın dışkısını *D.fragilis* açısından incelemişler %5.2 ile, *G.intestinalis'den* daha sık görüldüğünü tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise en sık görülen etken 92 olgu ile *B.hominis'tir.*

İshali olan ve olmayan diyaliz hastasında iki, ishali olan kontrol grubundaki bir hastada *D.fragilis* trikrom boyama ile tespit edildi. Çalışmada en sık görülen parazitlerin *B.hominis* ve *G.intestinalis* olduğu görüldü. *D.fragilis* diyaliz hastalarının %1.4'nde pozitif bulundu. Pozitif olan üç örnek trikrom boyama metodu ile saptandı.

I.belli, özellikle AIDS başta olmak üzere bağışık sistemi baskılanmış hastalarda sulu ve tekrarlayan ishale neden olmaktadır. *Isospora* enfeksiyonu için standart tanı yöntemi henüz netleşmemiştir [189].

Yazar ve ark. [190] böbrek nakli yapılan ve bağışıklığı baskılayıcı tedavi alan 25 yaşındaki hastanın dışkımasının incelemesinde, NL ve MAF boyama yöntemleri ile *I.belli* ookistlerini görmüşlerdir. Özellikle bağışık sistemi baskılanmış ve uzun süre ishali olan hastalarda *I.belli*'nin etken olabileceği, rutin incelemeler yanında söz konusu parazite yönelik spesifik incelemelerin de yapılmasının gerekli olduğunu bildirilmişlerdir.

Cyclospora bağışıklığı baskılanan ve baskılanmayan kişilerde uzun süreli ve sulu ishale neden olmaktadır. *C. cayatanensis* ookistleri direk mikroskopi ile ayırımı zor olduğundan özellikle bağışıklık sistemi baskılanan uzun süreli ve tekrarlayıcı sulu ishali olan hastaların dışkı örnekleri asit fast boya kullanılarak incelenmelidir.

Galvan –Diaz ve ark. [191] *C.cayatanensis* tanısında modifiye EZN ve modifiye safranin yöntemlerini etkinliğini araştırmışlar. İncelenen 100 dışkı örneğinin 20'si pozitif bulunmuştur. Modifiye EZN ile 20 hastanın 19'u pozitif bulunarak duyarlılık % 95, özgüllük ise 98.8 olarak tespit edilmiştir. Modifiye safranin duyarlılığı % 98, özgüllüğü ise %100 bulunmuştur. Her iki yöntemin duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olduğu için hangi yöntemin kullanılacağına laboratuvarın personel ve kaynaklara göre karar vermesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Kimura ve ark.[192] *C.cayatanensis* tanısı için formol-etil asetat çöktürme, sukroz santrifüj flotasyon ve direkt yayma gibi üç yöntem kullanmışlar. İncelenen 403 örneğin 21'inde üç yöntemle de ookistleri pozitif bulmuşlardır. Ookistler en çok sukroz santrifüj flotasyon yöntemi ile pozitif bulunmuştur.

B.hominis'in prevalansı gelişmekte olan ülkelerde (%30-50) gelişmiş ülkelere (%1,5-10) göre daha yüksek saptanmış olup seyahatle de ilişkili bulunmuştur. *B. hominis* semptomatik ve asemptomatik olguların dışkı örneklerinden sık izole edilen bir parazittir. Tanıda en çok kullanılan metod ışık mikroskobunda incelemedir. NL inceleme kolaydır ve en sık kullanılan yöntemdir. Boyalı preparat ile yapılan incelemenin (özellikle de trikrom boyama yöntemi ile) çok değerli olduğu belirtilmektedir [193,194].

Kulik ve ark. [3] 86 diyaliz hastası ve 146 sağlıklı gönüllüde yaptığı çalışmada diyaliz hastalarının 18'inde (%20.9) *B.hominis* tespit ederken, kontrol grubunda *B.hominis* kistlerini görmemiştir. Çalışmada diyaliz hastalarının 34'ünde (%23.9), kontrol grubunun ise 16'sında (%10.6) *B.hominis* kistleri tespit edildi. Bu fark

istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Hastaların şikayetleri ve ishal ile *B.hominis* pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Ekhlis ve ark. [169] bağışık sistemi baskılanmış çocuklarda en sık rastlanan protozoonu *B.hominis* (% 12.1) olarak tespit etmişlerdir. Idris ve ark. [170] çeşitli nedenlerle bağışıklığı baskılanan 42 çocuğun 24'ünde (%57) *B.hominis*'i en sık görülen parazit olarak saptamışlardır. Çalışmada *B.hominis* 142 diyaliz hastasının 34'ünde (%23.9) tespit edildi. Sonuçlar Ekhlis ve ark. [168] çalışmasından yüksek, Idris ve ark [170] çalışmasından düşük bulundu.

Çalışmada barsak parazitlerinin tespiti için NL'ün yanında mutlaka formol-etil asetat çöktürme yönteminin uygulanması, bağışıklığı baskılanan hastaların dışkı incelemelerinde rutinde kullanılan yöntemlere ek olarak modifiye trikrom, kalsiflor, asit fast ve trikrom gibi farklı boyama yöntemlerinin kullanılması gerekli olduğu görüldü.

Bağışıklığı baskılanan hastalarda özellikle *Cryptosporidium spp.*, *Microsporidia spp.* *Cyclospora cayetanensis*, *Isospora belli* gibi fırsatçı parazitler ciddi enfeksiyonlara neden olduğundan hastaların yaşam kalitesini artırmak için paraziter enfeksiyonlar açısından aralıklarla dışkı incelemesinin yukarda sayılan yöntemlerle yapılmasının, erken tanı konulmasında gerekli olduğu düşünüldü.

Amibiyazis tanısında dışkıda *E.histolytica*'ya özgü antijen saptayan ELISA testinin kullanılması ile gereksiz antibiyotik kullanımının önlenebileceği görüldü.

7. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Kronik hemodiyaliz veya periton diyalizi tedavisi alan 142 hasta ve 150 sağlıklı gönüllüden alınan toplam 292 dışkı örneği barsak parazitleri açısından incelendi. Parazit görülme oranı diyaliz hastalarında %43.7, kontrol grubunda ise %12.6 olarak bulundu. Çalışmaya dahil edilen 292 kişinin 81'inde (%27.7) bir veya birden fazla parazit tespit edildi. Birden fazla parazit tespit edilen olgular tek vaka olarak değerlendirildi.

Diyalize giren hastalarda parazit görülme oranı kontrol grubuna göre yüksek olarak saptandı. Bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Diyaliz süresi ile parazit varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamasına rağmen uzun süre (beş yıl ve üzeri) diyalize giren hastalarda parazit görülme oranının daha yüksek olduğu görüldü.

Düzenli el yıkama ve sabun kullanma alışkanlığının olmaması ile parazit saptanması arasında ilişki anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Sulu dışkılarla parazit saptanma sıklığı arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p < 0,05$). Sulu dışkılarda *G.intestinalis* görülme sıklığı daha yüksek bulundu.

Diyaliz hastalarında *G.intestinalis* ve *B.hominis* pozitifliği kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Formol-etil asetat çöktürme yöntemi ve NL yöntemi karşılaştırılmasında formol-etil asetat yönteminin parazit pozitifliğini saptamada daha değerli olduğu görüldü.

B.hominis tanısında kullanılan yöntemlerden NL'nin, trikrom ve formol-etil asetat çöktürme yöntemine göre duyarlılığı %76 saptandı.

G. intestinalis tanısında kullanılan NL'nin ELISA'ya göre duyarlılığı % 46, formol-etil asetat çöktürme ve trikrom boyama yönteminin ELISA'ya göre duyarlılığı % 66 olarak bulundu.

E.histolytica/E.dispar tanısında NL, formol-etil asetat çöktürme yöntemi, trikrom boyama ve ELISA kullanıldı. Çalışmamızda NL'ün ELISA'ya göre duyarlılığı %33, formol-etil asetat çöktürme ve trikrom boyama yönteminin ELISA'ya göre duyarlılığı % 66 bulundu.

Çalışmada görülen *D.fragilis* trofozoitlerinin tamamı trikrom boyama yöntemi ile saptandı.

Cryptosporidium spp. tanısı için ELISA ve MAF yöntemi kullanıldı. MAF yönteminin ELISA'ya göre duyarlılığı % 66 bulundu.

Microsporidia spp. tanısı için modifiye trikrom ve kalsiflor boyaları kullanıldı. Diyaliz hastalarında görülen üç *Microsporidia spp.* iki yöntemle de pozitif bulundu.

Çalışmada barsak parazitlerinin tespiti için NL'ün yanında mutlaka formol-etil asetat çöktürme yönteminin yapılması gerektiği, özellikle ishali olan bağışıklığı baskılanan hastaların dışkı incelemelerinde rutinde kullanılan yöntemlere ek olarak kalsiflor, modifiye trikrom, trikrom ve asit fast gibi boyama yöntemlerinin kullanılmasının önemli olduğu görüldü.

Bağışıklığı baskılanan hastalarda *Microsporidia spp.* ve *Cryptosporidium spp.* gibi barsak parazitleri ciddi enfeksiyonlara sebep olabileceğinden, hastaların yaşam kalitesini artırmak için paraziter enfeksiyonlar açısından aralıklarla dışkı incelemesi yapılmasının erken tanıda önemli olduğu ve parazitten korunma yolları hakkında bilgi verilmesinin gerektiği düşünöldü.

Önümüzdeki yıllarda bağışıklığı baskılanan kişi sayısının artması yönündeki araştırmalara dayanarak fırsatçı patojen parazit etkenlerin rutinde de araştırılması gerektiği sonucuna varıldı.

ÖZET

Bağışıklık sisteminin çeşitli nedenlerle baskılanması, özellikle hücresel bağışıklığın zayıflaması, parazitlerin patojen etkilerinin artmasına ve ağır klinik tablolara neden olmaktadır. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda ortaya çıkan üremi nedeni ile bağışıklık sistemi baskılanarak enfeksiyon sıklığı artmaktadır.

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesinde ve Kocaeli Devlet Hastanesinde diyaliz tedavisi gören SDBY'li olan hastalar ve Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi'nin çeşitli polikliniklerine başvuran bağışıklığı baskılayıcı herhangi bir durumu olmayan gönüllüler çalışmaya alındı. Çalışmaya katılan kişilere anket formu dağıtıldı. Diyaliz tedavisi gören 142 hasta ve 150 sağlıklı gönüllüden elde edilen dışkı örnekleri paraziter etkenler açısından incelendi.

Toplanan dışkı örneklerine NL ve formol-etil asetat çöktürme yöntemi, trikrom, modifiye trikrom, asit fast ve kalsiflor boyama yöntemleri uygulandı. Ayrıca dışkı örnekleri *Cryptosporidium spp.*, *G.intestinalis* ve *E.histolytica* tespiti için dışkıda antijen saptayan ELISA testi ile çalışıldı. Diyaliz hastalarının 62'sinde (%43.7), kontrol grubunun ise 19'unda (% 12.7) parazit tespit edildi. Diyalize giren hastalarda en sık görülen paraziter etkenler *B.hominis* (%23.9) ve *G.intestinalis* (% 8.5) idi. Diğer saptanan barsak protozoonlarının kendi arasındaki dağılımları şu şekildeydi; *E.histolytica* üç (%2.1), *Cryptosporidium spp.* üç (%2.1), *Microsporidia spp.* üç (%2.1), *D.fragilis* iki (%1.4) ve *E.coli* dört (%2.8) olguda görüldü. Çalışmaya katılan kişilerin anket sorularına verdikleri cevaplar istatistiksel olarak incelendi. Düzenli el yıkama ve sabun kullanma alışkanlığının olmaması ile parazit saptanması arasındaki ilişki anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Diyaliz süresi ile parazit saptanması arasında anlamlı bir ilişki bulunmamasına rağmen uzun süre (beş yıl ve üzeri) diyalize giren hastalarda parazit görülme oranı daha yüksek bulundu.

Dışkı inceleme yöntemlerinden NL ve formol-etil asetat çöktürme yöntemleri karşılaştırıldı. Formol-etil asetat çöktürme yönteminin parazit saptama oranının NL'e göre daha yüksek olduğu görüldü. Bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

Bağışıklığı baskılanan hastaların dışkı örneklerinin NL yöntemi dışında formol-etil asetat çöktürme metodu, trikrom, modifiye trikrom, asit fast ve kalsiflor boyama

yöntemleri ile incelenmesi paraziter enfeksiyonların erken tanısında büyük önem taşımaktadır.

Anahtar sözcükler: Diyaliz hastaları, barsak parazitleri, dışkı inceleme yöntemleri



ABSTRACT

Suppression of the immune system due to several reasons, especially the cellular immunity, increases the pathogenic effects of the parasites and causes severe clinical cases. Because of the uremia that is seen in patients having chronic kidney failure, the frequency of infection increases with the suppression of the immune system.

Patients with end stage renal disease that are getting dialysis treatment at the Kocaeli University Faculty of Medicine Research Hospital and Kocaeli State Hospital, volunteers from outpatients of various clinics at Kocaeli University Faculty of Medicine Research Hospital who do not have any known immune suppressed disease were the subjects of the study. A survey form was distributed to all subjects. Stool samples obtained from 142 patients getting dialysis treatment and 150 healthy volunteers were analyzed in terms of parasitic agents.

NL and formol-ethyl acetate sedimentation methods, trichrome, modified trichrome, acid fast, calciflor staining methods were applied to the collected stool samples. In addition, stools samples were analyzed with ELISA test, which detects agents in stool, for identifying *Cryptosporidium spp.*, *G.intestinalis* ve *E.histolytica*. Parasites were detected in 62 (43.7%) dialysis patients and in 19 volunteers (12.7%) in the control group. The most widely seen parasitic agents among the dialysis patients were *B.hominis* (23.9%) and *G.intestinalis* (8.5%). The distribution of the other detected intestinal protozoans were: three (2.1%) *E.histolytica*, three (2.1%) *Cryptosporidium spp.*, three (2.1%) *Microsporidia spp.*, two (1.4%) *D.fragilis* and four (2.8%) *E.coli*. The results of the surveys the subjects completed were statistically analyzed. A statistically significant relationship ($p<0.05$) was found between hand washing/soap usage and parasite occurrence frequency. Although, a significant relationship was not found between the dialysis period and the detection of parasites, parasite occurrence rate was found to be high in patients getting dialysis treatment for longer periods.

NL and formol-ethyl acetate sedimentation methods were compared. NL'e formalin-ethyl acetate sedimentation method based on interference detection rate was higher. A significant difference ($p<0.05$) was found between the NL and formol-ethyl acetate sedimentation methods.

The analysis of the dialysis patients' stool samples with methods other than NL, formol-ethyl acetate sedimentation, trichrome, modified trichrome, acid fast, calciflor staining methods carries a great importance for early diagnosis of parasitic agents.

Keywords: Dialysis patients, intestinal parasites, stool analysis methods



KAYNAKLAR

- [1] Stark D, Barratt JL, van Hal S, et al. Clinical significance of enteric protozoa in the immunosuppressed human population. *Clin Microbiol Rev.* 2009; **22**: 634-650.
- [2] Kato S, Chmielewski M, Honda H, et al. Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; **3**: 1526–1533
- [3] Durak F. Kanserli çocuklarda barsak parazitlerinin değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD. Uzmanlık Tezi. Malatya 2007.
- [4] Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008
- [5] Özcel MA. In: Genel parazitoloji. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, ed. Özcel'in tıbbi parazit hastalıkları. İzmir: Meta basım, 2007:30-31
- [6] Kulik RA, Falavigna DL, Nishi L, et al. *Blastocystis spp.* and other intestinal parasites in hemodialysis patients. *Braz J Infect Dis.* 2008; **12**: 338-341
- [7] Damming G.J, Couch NP, Murray JE: Prolonged survival of skin homografts in uremic patients. *Ann NY Acad. Sci.* 1957; **64**:967-976
- [8] Meijers RWJ, Litjens NHR, Wit EA, et al. Uremia causes premature ageing of the T cell compartment in end-stage renal disease patients. *Immunity & Ageing* 2012, **9**:19.
- [9] Dalrymple LS, Go AS. Epidemiology of acute infections among patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; **3**:1487-1493.

- [10] Eleftheriadis T, Kartsios C, Pissas G, et al. Increased plasma angiogenin level is associated and may contribute to decreased T-cell zeta-chain expression in hemodialysis patients. *Ther Apher Dial.* 2013;**17**:48-54.
- [11] Lim WH, Kireta S, Leedham E, et al. Uremia impairs monocyte and monocyte-derived dendritic cell function in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2007;**72**:1138-1148.
- [12] Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH, et al. *Cyclospora* species a new protozoan pathogen of humans. *N Engl J Med.*1993;**328**:1308-1312.
- [13] Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH, et al. *Cyclospora cayetanensis*. *Adv Parasitol.* 1998;**40**:399-418.
- [14] Herwaldt BL, *Cyclospora cayetanensis* a review focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. *Clin Infect Dis.*2000;**31**:1040-1057.
- [15] Sherchand JB, Cross JH, Jimba M, et al. Study of *Cyclospora cayetanensis* in health care facilities, sewage water and green leafy vegetables in Nepal. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.*1999;**30**:58-63.
- [16] Jelinek T, Lotze M, Eichenlaub S, et al. Prevalance of infection *Cryptosporidium parvum* and *Cylospora cayetanensis* among international travellers. *Gut:*1997;**41**:801-804.
- [17] Sterling CR, Ortega YR, *Cyclospora*: an enigma worth unraveling. *Emerg Infect Dis.*1999;**5**:48-53
- [18] Madico G, McDonald J, Gilman RH, et al. Epidemiology and treatment of *Cyclospora cayetanensis* infection in Peruvian children. *Clin Infect Dis.*1997;**24**:977-981.

- [19] Kimura K, Rai SK, Rai G, et al. Study: on *Cyclospora cayetanensis* associated with diarrheal disease in Nepal Loa PDR. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005;**36**:1371-1376.
- [20] Ortega YR, Roxas CR, Gilman RH, et al. Isolation of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. *Am J Trop Med Hyg*. 1997;**57**:683-686.
- [21] Schubach TM, Neves ES, Leite AC, et al. *Cyclospora cayetanensis* in an asymptomatic patient infected with HIV and HTLV-1. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1997;**91**:175.
- [22] Connor BA, Johnson E, Soave R. Reiter syndrome following protracted symptoms of *Cyclospora* Infection. *Emerg Infect Dis*. 2001; **7**: 453–454.
- [23] Richardson RF, Remler BF, Katirji B, et al. Guillain-Barre syndrome after *Cyclospora* infection. *Muscle Nerve*. 1998;**21**:669–671.
- [24] Varma M, Hester JD, Schaefer FW, et al. Detection of *Cyclospora cayetanensis* using a quantitative real-time PCR assay. *J Microbiol Methods*. 2003;**53**:27-36.
- [25] Dixon BR, Bussey MJ, Parrington LJ, et al. Detection of *Cyclospora cayetanensis* oocyst in human fecal specimens by flow cytometry. *J Clin Microbiol*. 2005;**43**:2375-2379.
- [26] Zimmer SM, Schutz AN, Franco-Prades C, Efficacy of nitazoxanide for Cyclosporiasis in patients with sulfa allergy. *Clin Infect Dis*. 2007; **44**:466-467.
- [27] Verdier RI, Fitzgerald DW, Johnson WD, et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole compared with ciprofloxacin for treatment and

- prophylaxis of *Isospora belli* and *Cyclospora cayetanensis* infection in HIV-infected patients: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2000;**44**:466-467.
- [28] Lindsay DS, Dubey JP, Blagburn BL, Biology of *Isospora* spp from humans, non human primates and domestic animals. *Clin Microbiol Rev.* 1997;**10**:19-34.
- [29] Bialek R, Overkamp D, Rettig I, et al. Case report: nitazoxanide treatment failure in chronic isosporiasis. *Am J Trop Med Hyg.*2001;**65**: 94-95.
- [30] Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for AIDS-defining opportunistic illnesses,1992-1996. *MMWR Surveill Summ.* 1999;**48**:1-22.
- [31] Vignesh R, Balakrishnan P, Shankar EM, et al. High proportion of isosporiasis among HIV-infected patients with diarrhea in Southern India. *Am J Trop med Hyg.* 2007;**77**:823-824.
- [32] Shaffer N, Moore L, Chronic travelers diarrhea in a normal host due to *Isospora belli*. *J Infect Dis.*1989;**159**:596-597.
- [33] Bernard E, Delguidice P, Carles M, et al. Disseminated isosporiasis in an AIDS patient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1997;**16**:699-701.
- [34] Berlin OGW, Contreas CN, Sowerby TM. Detection of *Isospora* in the stools of AIDS patients using a new rapid autofluorescence technique. *AIDS*:1996;**10**:442-443.
- [35] Trier JS, Moxey PC, Schimmel EM, et al. Chronic intestinal coccidiosis in man: intestinal morphology and response to treatment. *Gastroenterology.*1974;**66**:923-935.

- [36] Brandborg LL, Goldberg SB, Breidenbach WC. Human coccidiosis-a possible cause of malabsorption. *N Engl J Med.*1970;**24**:1306-1313.
- [37] Romera Cabello R, Guerrero LR, Munoz Garcia MR, et al. Nitazoxanide for the treatment of intestinal protozoan and helminthic infections in Mexico. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1997;**91**:701-703.
- [38] Teyzer EE. Asporozoon found in peptic glands of the common mouse. *Proc Soc Exp Biol Med.*1907;**5**:12-13.
- [39] Meisel J, Perera DR, Meligro C, et al. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology* 1976;**70**:1156-1160.
- [40] Patel S, Pedraza-Diaz S, McLauchlin J, et al. Molecular characterisation of *Cryptosporidium parvum* from two large suspected waterborne outbreaks. Outbreak control team South and West Devon 1995, incident management team and further epidemiological and microbiological studies subgroup North Thames 1997. *Commun Dis Public Health.*1998;**1**:231-233.
- [41] Morgan-Ryan UM, Fall A, Ward LA, et al. *Cryptosporidium hominis* n.sp. (Apicomplexa:Cryptosporidiidae) from Homo sapiens. *J Eukaryot Microbiol.* 2002;**49**:433-440.
- [42] Fayer R. General biology. In: Fayer R, Xiao L, eds. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press;2008:1-42.
- [43] Pedraza -Diaz S, Amar CF, McLauchlin J, et al. *cryptosporidium melagridis* from humans: molecular analysis and description of affected patients. *J infect.* 2001;**42**:43-250.

- [44] Okhuysen PC, Chappell CL, Crabb JH, et al. Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. *J Infect Dis.* 1999;180:1275-1281.
- [45] Forney JR, Yang S, Healey MC. Protease activity associated with excystation of *cryptosporidium parvum* oocysts. *J Parasitol.*1996;**82**: 889- 892.
- [46] Na BK, Kang JM, Cheun HI, et al. Cryptopain-1, a cysteine protease of *Cryptosporidium parvum*, does not require the prodomain for folding. *Parasitology.*2009;**136**:149-157.
- [47] Nichols G. Epidemiology. In: Fayer R, Xiao L, eds. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. 2nd ed. Boca Raton, FL:CRC Press;2008:79-118.
- [48] Nichols G, Chalmers R, Lake I, et al. Cryptosporidiosis: a report on the surveillance and epidemiology of *Cryptosporidium* infection in England and Wales: Foundation for Water Research, Marlow, Bucks,UK,2006.
- [49] Muchiri JM, Ascolillo L, Mugambi M, et al. Seasonality of *Cryptosporidium* oocyst detection in surface waters of Meru, Kenya as determined by two isolation methods followed by PCR. *J Water Health.*2009;**7**:67-75.
- [50] Beach MJ, Waterborne: recreational water. In: Fayer R, Xiao L, eds. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. 2nd ed. Boca Raton, FL:CRC Press; 2008:335-369.
- [51] Yoder JS, Beach MJ. Cryptosporidiosis surveillance-United States, 2003-2005. *MMWR Surveill Summ.* 2007;**56**:1-10.
- [52] Roy SL, DeLong SM, Stenzel SA, et al. Risk factors for sporadic cryptosporidiosis among immunocompetent persons in the United States from 1999 to 2001. *J Clin Microbiol.* 2004;**42**:2944-2951.

- [53] Ortega YR, Cama VA. Foodborne transmission. In: Fayer R, Xiao L, eds *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Pres;2008:289-304.
- [54] Ortega YR, Roxas CR, Gilman RH, et al. Isolation of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. *Am J Trop Med Hyg.*1997;**57**:683-686.
- [55] Alpert G, Bell LM, Kirkpatrick CE, et al. Outbreak of Cryptosporidiosis in a day-care center. *Pediatrics.*1986;**77**:152-157.
- [56] Goncalves EM, da Silva AJ, Eduardo MB, et al. Multilocus genotyping of *Cryptosporidium hominis* associated with diarrhea outbreak in a day care unit in Sao Paulo. *Clinics.* 2006;**61**:119-126.
- [57] Koch KL, Phillips DJ, Aber RC, et al. Cryptosporidiosis in hospital personel: evidence for person to person transmission. *Ann Intern Med.*1984;**102**:593-596.
- [58] Navarrete S, Stetler HC, Avila C, et al. An outbreak of *Cryptosporidium* diarrhea in a pediatric hospital. *Pediatr Infect Dis J.*1991;**10**:248-250.
- [59] Hunter PR, Hughes S, Woodhouse S, et al. Sporadic cryptosporidiosis case-control study with genotyping. *Emerg Infect Dis.*2004;**10**:1241-1249.
- [60] MacKenzie WR, Schell WL, Blair KA, et al. Massive outbreak of waterborne *Cryptosporidium* infection in Milwaukee, Wisconsin recurrence of illness and risk of secondary transmission. *Clin Infect Dis.*1995;**21**:57-62.

- [61] Caputo C, Forbes A, Frost F, et al. Determinants of antibodies to *Cryptosporidium* infection among gay and bisexual men with HIV infection. *Epidemiol Infect.* 1999;**122**:291-297.
- [62] Khalakdina A, Tabnak F, Sun RK, et al. Race/ethnicity and other risk of factors associated with cryptosporidiosis as an initial AIDS-defining condition in California, 1980-99. *Epidemiol Infect*,2001;**127**:535-543.
- [63] Hunter PR, Hadfield SJ, Wilkinson D, et al. Subtype of *Cryptosporidium parvum* in humans and disease risk. *Emerg Infect Dis.*2007;**13**:82-88.
- [64] Hunter PR, Nichols G. Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients, *Clin Microbiol Rev.*2002;**15**:145-154.
- [65] Phillips AD, Thomas AG, Walker-Smith JA, *Cryptosporidium*, chronic diarrhoea and proximal small intestinal mucosa. *Gut.*1992;**33**:1057-1061.
- [66] Lumadue JA, Manabe YC, Moore RD, et al. A clinicopathologic analysis of AIDS-related cryptosporidiosis. *AIDS.*1998;**12**:2459-2466.
- [67] Jokipii L, Jokikii AMM. Timing of symptoms and oocyst excretion in human cryptosporidiosis. *N Engl J Med.* 1986;**315**:1643-1647.
- [68] Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporium* infection transmitted through the public watersupply. *N Engl J Med.* 1994;**331**:161-177.
- [69] Newman RD, Sears CL, Moore SR, et al. Longitudinal study of *Cryptosporidium* infection in children in Northeastern Brasil. *J Infect Dis.*1999;**180**:167-175.

- [70] Hunter PR, Hughes S, Woodhouse S, et al. Healths sequale of human cryptosporidiosis in immunocompetent patients. *Clin Infect Dis.* 2004;**39**:504-510.
- [71] Houpt ER, Bushen OY, San NE, et al. Short report: a symptomatic *Cryptosporidium hominis* infection among human imunodeficiency virus-infected patient in Tanzania. *Am J Trop Med Hyg.*2005;**73**:520-522.
- [72] Smith HV. Diagnostic. In:Fayer R, Xiao L, eds. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis.2nd ed.Boca Raton, FL: CRC Pres;2008:173-208
- [73] Jones JL, Lopez A, Wahlquist SP, et al. Survey of clinical laboratory practices for parasitic diseases. *Clin Infect Dis.* 2004;**38**:198-202
- [74] Tortora GT, Malowitz R, Mendelson B, et al. Rhodamine auramine O versus Kinyoun-carbolfuchsin acid-fast stain for detection of *Cryptosporidium* oocyst. *Clin Lab Sci.*1992;**5**:568-569.
- [75] Weber R, Bryan R, Bishop H, et al. Threshold for detection of *Cryptosporidium* oocysts in human stool specimens evidence for low sensitivity of current diagnostic method. *J Clin Microbiol.*1991;**29**:963-965.
- [76] Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. *J Clin Microbiol.* 1997;**35**:1526-1529.
- [77] Johnston SP, Balland MM, Beach MJ, et al. Evolution of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *J Clin Microbiol.* 2003;**41**:623-626.
- [78] Garcia LS, Shimizu RY. Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens using the

- ColorPAC combination rapid solid-phase qualitative immuno chromatographic assay. *J Clin Microbiol.* 2000;**38**:1267-1268.
- [79] Garcia LS, Shimizu RY, Novak S, et al. Commercial assay for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens by rapid solid-phase qualitative immuno chromatography. *J Clin Microbiol.*2003;**41**:209-212.
- [80] Savin C, Sarfati C, Menotti J, et al. Assessment of cryptodiag for diagnosis of cryptosporidiosis and genotyping *Cryptosporidium* species. *J Clin Microbiol.* 2008;**46**:2590-2594.
- [81] Phillips PD, Thomas AG, Walker-Smith JA. *Cryptosporidium*, chronic diarrhoea and proximal small intestinal mucosa. *Gut*:1992;**33**:1057-1061.
- [82] Garcia CD, Ramos JJ, Guzman GF, et al. Octreotide therapy of large volum refractory AIDS-associated diarrhea: a randomized controlled trial. *AIDS*.1994;**8**:1563-1567.
- [83] Amadi B, Mwiya M, Musuku J, et al. Effect of nitazoxanide on morbidity and mortality in zambian children with cryptosporidiosis: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2002;**360**:1375-1380.
- [84] Stockdale HD, Spencer JA, Blagburn BL. Prophylaxis and chemotherapy. In: Fayer R, Xiao L, ed. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2008:255-287.
- [85] Tan KSW, New insights on classification, identification and clinical relevance of *Blastocystis spp.* *Clin Microbiol Rev.* 2008;**21**:639-665.
- [86] Moe KT, Singh M, Howe J, et al. Observation on the ultrastructure and viability of the cystis stage of *Blastocystis hominis* from human feces. *Parasitol Res.* 1996;**82**:439-444.

- [87] Stenzel DJ, Boreham PF. *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev.* 1996;563-584.
- [88] Yakoob J, Jafri W, Jafri N. et al. In vitro susceptibility of *Blastocystis hominis* isolated from patients with irritable bowel syndrome. *Br J Biomed Sci.* 2004; **61**:75-77
- [89] Leder K, Hellard Me, Sinclair MI, et al. No correlation between clinical symptoms and *Blastocystis hominis* in immunocompetent individuals. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005; **20**:1390-1394.
- [90] UZ O, Girginkardesler N, Balcioglu C, et al. Effect of trimethoprim-sulfamethaxazol in *Blastocystis hominis* infection. *Am J Gastroenterol.*1999;**94**: 3245-3247.
- [91] Nigro L, Larocca L, Massarelli L, et all. A placebo-controlled treatment trial of *Blastocystis hominis* infection with metranidazole. *J Trav Med.* 2003;**10**:128-130.
- [92] Rossignol JF, Kabil SM, Said M, et al. Effect of nitazoxanide in persistent diarrhea and enteritis associated with *Blastocystis hominis*. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;**3**:987-991.
- [93] Suresh K, Smith H. Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004; **23**:509-511.
- [94] Stensvold R, Brillowska-Dabrowskia A, Nielsen HIV, et al. Detection of *Blastocystis hominis* in unpreserved stool specimens by using polymerase chain reaction. *J Parasitol.* 2006; **92**:1081-1087.
- [95] Grossman I, Weiss LM, Simon D, et al. *Blastocystis hominis* in hospital employees. *Am J Gastroenterol.* 1992; **87**:729-732.

- [96] Alkan MZ, Sönmez Tamer G. In: *Dientamoeba fragilis*. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, ed. *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi* [2. Cilt]. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 2581
- [97] Stark D, Barratt J, Roberts T, et al. A Review of the clinical presentation of dientamoebiasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; **82**: 614–619.
- [98] Girginkardeşler N, Kurt Ö. Dientamobiosis In: Özcel M.A, Özbel Y, Ak M, ed. *Özcel'in tıbbi parazit hastalıkları*. İzmir. 2007:414-415.
- [99] Kulda J, Nohýnková D, In: *Dientamoeba fragilis* and other intestinal flagellates. Cox F.E.G, D.Wakelin, Gillespie SH, Despommier DD, ed. *Topley Wilson's microbiology and microbial infections parasitology*. NW. Washington USA. Edward Arnold Ltd. 2005:267-268.
- [100] Moretto MM, Khan IA, Weiss LM. Gastrointestinal Cell Mediated Immunity and the microsporidia. *PLoS Pathog.* 2012; **8**: 1-4
- [101] Weber R, Bryan RT, Schwartz DA, et al. Human microsporidial infections. *Clin Microbiol Rev.* 1994; **7**: 426–461.
- [102] Türk S, Doğruman-Al F. Microsporidya: Genel özellikleri ve güncel laboratuvar tanısı *Inf Derg.* 2009; **23**: 89-95.
- [103] Sancak B, Akyön Y. Microsporidya: Genel özellikleri, enfeksiyonları ve laboratuvar tanısı. *Mikrobiyol Bült.* 2005; **39**: 513-522.
- [104] Atambay M, Karaman Ü, Daldal N, et al. Laboratuvarına gelen erişkin hastalarda *microsporidium* görülme sıklığı. *Mikrobiyol Bült.* 2005; **39**: 513-522.
- [105] Evering T, Weiss LM. The immunology of parasite infections in immunocompromised hosts. *Parasite Immunol.* 2006; **28**: 549–565.

- [106] Weber R, Bryan RT, Owen RL, et al. improved light-microscopical detection of microsporidia spores in stool and duodenal aspirates. *N Engl J Med*.1992;**326**:161-166.
- [107] Vavra J,Dahbiova R, Hollister WS, et al. Staining of microsporidian spores by optical brighteners with remarks on the use of brighteners for the diagnosis of AIDS-associated human microsporidiosis. *Folia parasitol(Praha)*,1993;**40**:267-272.
- [108] Didier ES, Vossbrinck CR, Stovall ME, et al. Diagnosis and epidemiology of microsporidia infections in humans. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*.2004;**35**:69-70
- [109] Molina Jm, Tourneur M, Sarfati C, et al. Fumagillin treatment of intestinal microsporidiosis *Engl J Med*, 2002;**346**:1963-1969.
- [110] Sargeant PG, Williams JE, Grene JD. The differentiation of invasive and noninvasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*.1978;**72**:519-521.
- [111] Tannich E,Horstmann RD, Knobloch J,et al. Genomic DNA differences between pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*. *Proc Natl Acad Sci USA*.1989;**86**:5118-5122.
- [112] Haque R, Roy S, Sidduque A, et al. Multiplex real-time PCR assay for detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium spp*. *Am J Trop Med Hyg*.2007;**76**:713-717.
- [113] Tanyuksel M, Petri WA Jr. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev*.2003;**16**:713-729.

- [114] Silbermaman JD, Clark CG, Diamond LS, et al. Phylogeny of the genera *Entamoeba* and *Endolimax* as deduced from subunit ribosomal RNA sequences. *Mol Biol Evol.*1999;**16**:1740-1751.
- [115] John DT, Petri WA Jr. Markell and Voge's Medical parasitology.9th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999.
- [116] Chacin-Bonilla L, *Entamoeba polecki*: human infection in Venezuela. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1992;**86**:634.
- [117] Graczyk TK, Shiff CK, Tamang L, et al. The association of *Blastocystis hominis* and *Endolimax nana* with diarrheal stools of Zambian school-age children. *Parasitol Res.* 2005;**98**:38-43.
- [118] Haque R, Neville LM, Hahn P, et al. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection in children and protection from subsequent amebiasis. *Infect Immun.*2006;**74**:904-909.
- [119] Haque R, Neville LM, Hahn P, et al. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol.* 1995;**33**:2558-2561
- [120] Tanyüksel M. In: İntestinal ve ürogenital protozoonlar. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, ed. İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi [2. Cilt]. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 2560-2561.
- [121] Haque R, Mondal D, Duggal P, et al. *Entamoeba histolytica* world health organization. amebiasis. *Wkly Epidemiol Rec.*1997;**72**:97-100.
- [122] Blessmann J, Van Linh P, Nu PA, et al. Epidemiology of amebiasis in a region of high incidence of amebic liver abscess in central Vietnam. *Am J Trop Med Hyg.*2002;**66**:578-583.

- [123] Freedman DO, Weld LH, Kozarsky PE, et al. Spectrum of disease and relation to place of exposure among ill returned travelers. *NEngl J Med.*2006;**354**:119-130.
- [124] Barwick R, Uzicanin A, Lareau S, et al. Outbreak of amebiasis in Tbilisi, republic of Georgia, 1998. *Am J Trop Med Hyg.*2002;**67**:623-631.
- [125] Haque R, Mondal D, Karim A, et al. Association of common enteric protozoan parasites with severe diarrhea in Bangladesh: a prospective case –control study. *Clin Infect Dis.*2009;**48**:1191-1197.
- [126] Babacan F. In: enfeksiyon ve bağışık yanıt. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, ed. *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi* [1. Cilt]. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 59-65.
- [127] Pillai DR, Keystone JS, Shappard DC, et al. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*: epidemiology and comparison of diagnostic methods in a setting of nonendemicity. *Clin Infect Dis.*1999;**29**:1315-1318.
- [128] Clarck CG, Diamond LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev* 2002;**15**:329-341.
- [129] Haque H, Mollah NU, Ali IKM, et al. Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II antigen detection and antibody tests. *J Clin Microbiol.* 2000;**38**:3235-3239.
- [130] Sımsek H, Elsurer R, Sokmensuer C, et al. Ameboma mimicking carcinoma of the cecum: case port. *Gastrointest Endosc.*2004;**59**:453-454.
- [131] Hardin RE, Ferzli GS, Zenilman ME, et al. Invasive amebiasis and ameboma formation presenting as a rectal mass: an uncommon case of

- malignant masquerade at a western medical center. *WORLD J Gastroenterol.* 2007;**13**:5659-5661.
- [132] Roy S, Kabir M, Mondal D, et al. Realtime PCR for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in fecal samples. *J Clin Microbiol.* 2002;**40**:4413-4417.
- [133] Verweij JJ, Blange RA, Templeton K, et al. Simultaneous detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in fecal samples by using multiplex real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2004;**42**:1220-1223.
- [134] Sharp SE, Suarez CA, Duran Y, et al. Evaluation of the triage micro parasite panel for detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* and *Cryptosporidium parvum* in patient stool specimens. *J Clin Microbiol.* 2001;**39**:332-334.
- [135] Adams EB, MacLeod IN. Invasive amebiasis. I. Amebic dysentery and its complications. *Medicine.* 1977;**56**:315-323.
- [136] Stanley SL, Jackson TF, Foster L, et al. Longitudinal study of the antibody response to recombinant *Entamoeba histolytica* antigens in patients with amebic liver abscess. *Am J Trop Hgj.* 1998;**58**:414-416.
- [137] Blessmann J, Tannich E, Treatment of asymptomatic intestinal *Entamoeba histolytica* infection. *N Engl J Med.* 2002;**347**:1384.
- [138] McAuley JB, Juranek DD. Paramomycin in the treatment of mild-to-moderate intestinal amebiasis. *Clin Infect Dis.* 1992;**15**:551-552.
- [139] Houpt E, Barroso L, Lockhart L, et al. Prevention of intestinal amebiasis by vaccination with the *Entamoeba histolytica* Gal/GalNac lectin. *Vaccine.* 2004;**22**:612-617.

- [140] Lotter H, Russmann H, Heesemann J, et al. Attenuate recombinant *Yersinia* as live oral vaccine carrier to protect against amoebiasis. *Int J Med Microbiol.* 2008; **298** :79-86.
- [141] Tanyüksel M. In: *Giardia lamblia*. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, ed. *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi* [2 Cilt]. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008: 2571-2578.
- [142] Rajurkar MN, Lall N, Basak S. et al. A simple method for demonstrating the *giardia lamblia* trophozoite. *J Clin Diagn Res.* 2012; **6**(9):1492-1494.
- [143] Özcel MA. In :Genel parazitoloji. Özcel MA, Özbel Y, Ak M. Özcel'in Tıbbi parazit hastalıkları. İzmir:Meta basım,2007:326-329.
- [144] CDC. Giardiasis surveillance - United States, 2006-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010; **59**:15-25.
- [145] Yoder J, Roberts V, Craun GF, et al. Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with drinking water and water not intended for drinking--United States, 2005-2006. *MMWR Surveill Summ.* Eyl 12, 2008; **57**:39-62.
- [146] Overturf GD. Endemic giardiasis in the United States- role of the daycare center(editorial).*Clin Infect Dis.* 1994; **18**:764-765.
- [147] Katz DE, Heisey-Grove D, Beach M, et al. Prolonged outbreak of giardiasis with two modes of transmission. *Epidemiol Infect.* 2006; **134**:935-941.
- [148] Hill DR. Giardiasis. Issues in diagnosis and management. *Infect Dis Clin North Am.* 1993; **7**:503-525.

- [149] Ekdahl K, Andersson Y. Imported giardiasis: impact of international travel, immigration and adaptation. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;**72**:825-830.
- [150] Berney DM, Rampton D, van der Walt JD. Giardiasis of the stomach. *Postgrad Med J.*1994;**70**:237-238.
- [151] Solomon NW. Giardiasis: nutritional implications. *Rev Infect Dis.* 1982;**4**:859-869.
- [152] Gillon J. Clinical studies in adults presenting With giardiasis to a gastrointestinal unit. *Scot med J.*1985;**30**:89-95.
- [153] Rana SV, Bhasin DK, Vinayak VK. Lactose hydrogen breath test in *Giardia lamblia*-positive patients. *Dig Dis Sci.*2005;**50**:259-261.
- [154] Hiatt RA, Markell EK, NG E. How many stool examinations are necessary to detect pathogenic intestinal protozoa? *Am J Trop Med Hyg.*1995;**53**:36-39.
- [155] Mank TG, Zaat JO, Deelder AM, et al. Sensitivity of microscopy versus enzyme immunoassay in the laboratory diagnosis of giardiasis. *Eur J Clin microbiol Infect Dis.* 1997;**16**:615-619.
- [156] Boone JH, Wilkins TD, nash TE, et al. Techlab and Alexon *Giardia* enzyme-linked immunosorbent assay kits detect cyst wall protein 1. *J Clin Microbiol.*1999;**37**:611-614.
- [157] Youn S, Kabir M, Haque R, et al. Evaluation of a screening test for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *J Clin Microbiol.* 2009 ;**47**: 451-452.

- [158] Granot E, Spira DT, Fraser D, et al. Immunologic response to infection with *Giardia lamblia* in children: effect of different clinical settings. *J Trop Pediatr.* 1998;**44**:241-246.
- [159] Ljungström I, Castor B. Immune response to *Giardia lamblia* in a water-borne outbreak of giardiasis in Sweden. *J Med Micro.* 1992;**36**:347-352.
- [160] Soliman MM, Taghi-Kilani R, Abou-Shady AF, et al. Comparison of serum antibody response to *Giardia lamblia* in symptomatic and asymptomatic patients. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;**58**:232-239.
- [161] Coccia SM, Ryan U, Molecular epidemiology of giardiasis, *Mol biochem parasitol.* 2008;**160**:75-80.
- [162] Besirbellioglu BA, Ulcay A, Can M, et al. *Saccharomyces boulardii* and infection due to *Giardia lamblia*. *Scand J Infect Dis.* 2006;**38**:479-481.
- [163] Burtin P, Taddio A, Arıburnu O, et al. Safety of metranidazole in pregnancy: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;**172**:525-529.
- [164] Garcia LS, Bruckner DA. *Diagnostic Medical Parasitology.* Washington, DC: American Society for Microbiology, 1997.
- [165] Korkmaz M, Ok ÜZ, Parazitolojide laboratuvar. İzmir: Meta Basım. 2011.
- [166] Botero JH, Castaño A, Montoya MN, et al. A preliminary study of the prevalence of intestinal parasites in immunocompromised patients with and without gastrointestinal manifestations. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2003;**45**:197-200.
- [167] Kumar SS, Ananthan S, Lakshmi P. Intestinal parasitic infection in HIV infected patients with diarrhoea in Chennai. *Indian J Microbiol.* 2002;**20**:88-91.

- [168] Ülçay A, Görenek L, Coşkun Ç. et al. Diagnosis of intestinal protozoa in patients with immune deficiency. *Turkiye Parazitol Derg.* 2008;**32**:328-333.
- [169] Ekhlās A.H, Azza K.A, Basma A.A, et al. Opportunistic parasites among immunosuppressed children in minia district, *Egypt Korean J Parasitol.* 2012;**50**: 57-62.
- [170] Idris NS, Dwipoerwantoro PG, Kurniawan A, et al. Intestinal parasitic infection of immunocompromised children with diarrhoea: clinical profile and therapeutic response. *J Infect Dev Ctries.* 2010;**4**:309-317.
- [171] Turkcapar N, Kutlay S, Nergizoglu G, et al. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in hemodialysis patients. *Nephron.* 2002;**90**:344-346.
- [172] Seyrafian S, Pestehchian N, Kerdegari M, Yousefi HA, Bastani B Hemodial Int. Prevalence rate of *Cryptosporidium* infection in hemodialysis patients in Iran. 2006 Oct;**10**:375-379.
- [173] Rusnak J, Hadfield T.L, Rhodes M.M, et al. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens by an indirect immunofluorescence assay with monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol,* 1989,1135-1136.
- [174] Vohra P, Singla P, Sharma M, et al. Comparison of direct immunofluorescence, iodine-saline wet mount and modified acid fast staining methods for detection of *Cryptosporidium* and *Giardia spp.* In Human Fecal Specimens. *J of evolution of medical and dental sciens* 07.10.2012.

- [175] Johnston S.P, Ballard M.M, Beach M.J, et al. Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens *J Clin Microbiol.* 2003, 623–626.
- [176] Eckmann L. Mucosal defences against *Giardia*. *Parasite immunology*, 2003, **25**: 259–270.
- [177] Espelage W, an de Heiden M, Stark K, et al. Characteristics and risk factors for symptomatic *Giardia lamblia* infections in Germany. *BMC Public Health.* 2010 ;**28**:10:41.
- [178] Uyar Y, Taylan Ozkan A. Amebiyazis, giardiyazis ve kriptosporidiazis tanısında antijen tarama yöntemlerinin yeri. *Türkiye Parazitol Derg.* 2009;**33**: 140 – 150.
- [179] Yıldız Zeyrek F, Ozbilge H, Yüksel MF, et al. Parasitic fauna and the frequency of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* detected by ELISA in stool samples in Sanliurfa, Turkey. *Turkiye Parazitol Derg.* 2006;**30**:95-98.
- [180] Ferreira-Filho SR, da Costa Braga FC, de Sa DM, et al. *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* infection in chronic hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2011;**22**:237-244.
- [181] Tuncay S, Inceboz T, Över L, et al. Dışkıda *Entamoeba histolytica*'nın saptanmasında kullanılan yöntemlerin birlikte değerlendirilmesi *Türkiye Parazitol Derg.* 2007; **31**: 188-193.
- [182] Mengeloğlu FZ, Aktaş E, Külah C. et al. Dışkı örneklerinde ELISA yöntemi ile *Entamoeba histolytica*'nın saptanması *Türkiye Parazitol Derg.* 2009; **33**: 1-3.
- [183] Koltaş İS, Özcan K, Aras D, Mıdıklı D. Adana'nın çeşitli sağlık kuruluşlarında amip görülen dışkıların kültür ve trikrom boyama

- yöntemleri ile değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg*, 1999;**23**: 126-128.
- [184] Karaman U, Atambay M, Daldal N, et al. The prevalence of *Microsporidium* among patients given a diagnosis of cancer. *Türkiye Parazitol Derg*. 2008;**32**:109-112.
- [185] Atambay M, Karaman U, Daldal N, et al. The prevalence of *Microsporidium* among adult patients admitted to the parasitology laboratory at the Inonu University Turgut Ozal Medical Center. *Türkiye Parazitol Derg*. 2008;**32**:113-115.
- [186] Usluca S, Aksoy U. Mikrobiyol Bul. *Microsporidium spp.* infection in an immunocompromised child diagnosed by polymerase chain reaction. 2010;**44**:679-683.
- [187] Stark D, Beebe N, Marriott D, et al. *Dientamoeba fragilis* as a cause of travelers' diarrhea: report of seven cases. *J Travel Med*. 2007;**14**:72-3
- [188] Munasinghe VS, Stark D, Ellis JT. New advances in the in-vitro culture of *Dientamoeba fragilis*. *Parasitology*. 2012;**139**:864-869.
- [189] Certad G, Arena-Pinto A, Pocaterra L, et al. Isosporiasis in Venezuelan adults infected with human immunodeficiency virus: clinical characterization. *Am J Trop Med Hyg*. 2003;**69**:217-22.
- [190] Yazar S, Tokgöz B, Yaman O, et al. Renal transplantlı bir hastada *Isospora belli* enfeksiyonu. *Türkiye Parazitol Derg*, 2006;**30**: 22-24.
- [191] Galvan-Díaz AL, Herrera-Jaramillo V, Santos-Rodriguez ZM, et al. Modified Ziehl-Neelsen and modified Safranin staining for diagnosing *Cyclospora cayetanensis*. *Rev Salud Publica (Bogota)*. 2008;**10**:488-493.

- [192] Kimura K, Kumar Rai S, Takemasa K, et al. Comparison of three microscopic techniques for diagnosis of *Cyclospora cayentanensis*. FEMS Microbiol Lett. 2004;**238**:263-236.
- [193] Aykan B, Çağlar K, Kuştimur S. Gaita örneklerindeki protozoonların trikrom boyası kullanılarak değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg.*2005; **29**: 34-38.
- [194] Doğruman Al F, Hökelek M. *Blastocystis hominis* fırsatçı bir patojen mi? *Türkiye Parazitol Derg*, 2007; **31**: 28-36.



ANKET FORMU

Hasta no:

1) Yaş :

2) Cinsiyet: a) Erkek b)Kadın

3) Hemodiyalize tedavisi alma süreniz nedir?

4) Evde oturan kişi sayısı :

5) Eğitim durumunuz :

a)Öğrenci b) İlkokul c) Orta okul d) Lise e)Üniversite f) Hiçbiri

6) Yaşadığınız yer neresi?

a)Köy b) Şehir

7) Oturduğunuz ev

a) Müstakil b) Apartman

8) Tuvaletini yaptıktan sonra ellerinizi yıkar mısınız?

a) Ara sıra b) Her zaman c) Hiçbir zaman

9) Tuvaletini yaptıktan sonra sabun kullanır mısınız?

a) Ara sıra b) Her zaman c) Hiçbir zaman

10) Kullanılan içme suyu hangisi?

11) a) Şebeke suyu b) Damacana suyu c) Her ikisi

12) Sebze ve meyveyi yıkamadan yeme alışkanlığı var mı?

a) Var b) Yok

13) Şikayetlerden Olanı işaretleyiniz .(Birden fazla olabilir.)

a)Karın ağrısı b) İshal c) Kusma d) Diş gıcırdatma e) Halsizlik f) Ateş