

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

DIŞKININ PARAZİTOLOJİK İNCELENMESİNDE KULLANILAN ÇEŞİTLİ
YOĞUNLAŞTIRMA YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Bio. Hülya ÖZKAN BAYKIR

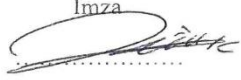
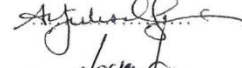

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ülgen Zeki OK

MANİSA 2014

KABUL VE ONAY

YÜKSEK LİSANS TEZ SINAVI TUTANAĞI

Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi
Hülya ÖZKAN BAYKALın Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığı
“Distal Periferik Yavaşta Kalınlaşma ve Kolesterol Çeşitliliği
Yapılaşımına Yöntemlerinin Karşılaştırılması.....”
başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri
uyarınca değerlendirilerek “KABUL” kararı verilmiştir. 28.01.2014

Jüri Üyesi:  İmza
Prof. Dr. Ülgen Zeki Ok (Tez Danışmanı)
Prof. Dr. A. Hüseyin Güler Öğretim Üyesi 
Prof. Dr. Nergiz Gökçinardeşler Öğretim Üyesi 

Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
tarih ve..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim TUĞLU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Proje Adı : Dışkının Parazitolojik İncelenmesinde Kullanılan Çeşitli Yoğunlaştırma Yöntemlerinin Karşılaştırılması.

Özet : Paraziter enfeksiyonların görülme sıklığının yüksek olduğu Türkiye’de birçok laboratuvarında dışkının rutin parazitolojik incelemesinde sadece Doğrudan Taze Bakı Yöntemi (DTBY) kullanılmaktadır. Özellikle dışkı örneklerinde seyrek bulunabilecek organizmalara tanı konulmasında ve bazı protozoon trofozoitlerini ayırt etmede yetersiz kalabilen bu yöntemin yanında, yoğunlaştırma yöntemleri ve trikrom gibi kalıcı boyaların kullanılması önerilmektedir.

Bu çalışmada Temmuz 2012 – Temmuz 2013 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı’na başvuran 404 hastanın dışkı örnekleri incelendi. Tüm dışkı örneklerine DTBY ile Trikrom Boyama Yöntemi (TBY) uygulandı.

Laboratuvar ve saha koşulları gibi farklı koşullarda uygulanabilecek en etkili yoğunlaştırma yöntemlerini saptamak amacıyla, dışkı örneklerine ayrıca Formol Etil Asetat Çöktürme Yöntemi (FEAÇY), Modifiye Formol Etil Asetat Çöktürme Yöntemi (MFEAÇY) olarak iki ayrı çöktürme yöntemi ve Modifiye Çinko Sülfat Yüzdürme Yöntemi (MÇSY), Doymuş Tuzlu Su Yüzdürme Yöntemi (DTSY), Şekerli Su Yüzdürme Yöntemi (ŞSY) ve Tuzlu Şekerli Su Yüzdürme Yöntemi (TŞSY) olarak dört ayrı yüzdürme yöntemi uygulandı.

Bu yöntemlerden en az biri ile 404 olgunun toplam 72’sinde (%17;8) bağırsak protozoonları saptandı. Bu protozoonların hastalara göre dağılımı; *Blastocystis* türleri 61 (%15), *Giardia intestinalis* 7 (%1,7), *Entamoeba coli* 2 (%0,5), *Dientamoeba fragilis* 1 (%0,3) ve *Iodamoeba butschlii* 1 (%0,3) olarak gözlemlenmiştir.

Protozoon enfeksiyonu tanısı alan 72 olgunun tümü TBY ile saptanırken, DTBY 68 olguda pozitif sonuç verdi. Çöktürme yöntemlerinden FEAÇY 72 protozoonun 66’sında, MFEAÇY ise 70’inde pozitif. FEAÇY’den daha etkili bulunan, ayrıca daha kısa zamanda ve daha kolay uygulanabilen MFEAÇY’nin dışkı laboratuvarlarında rutin yoğunlaştırma yöntemi olarak kullanılmasının tavsiye edilebileceği düşünüldü.

Yüzdürme yöntemlerinden MÇSY ile 12, DTSY ile 11, ŞSY ile 10, TŞSY ile 11 dışkı örneğinde parazit saptandı. Elde ettiğimiz veriler, MÇSY’de kullanılan çinkonun daha pahalı olması göz önüne alındığında, bu yöntem uygulanmadığında DTSY’nin kullanılabilirliğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, dışkı örneklerinin parazitolojik incelemesinde DTBY'nin yararlı olduğunu; ancak ideal bir inceleme için her dışkı örneğine bir yoğunlaştırma yöntemi ile kalıcı bir boyanın da uygulanmasının gerektiğini göstermiştir. Yoğunlaştırma yöntemi olarak eğer santrifüj varsa bir çöktürme yöntemi tercih edilmeli; yoksa MSYY veya DTSYY uygulanmalıdır. TBY ise özellikle Wheatley modifikasyonu uygulandığında bağırsak protozoonların tanısında ve ayırt edilmesinde son derece başarılı olmuştur.

Anahtar Kelimeler : Yoğunlaştırma yöntemleri, çöktürme yöntemleri, yüzdürme yöntemleri, dışkı incelenmesi.



SUMMARY

Project Title : Comparison of Various Concentration Methods Used in Parasitological Examination of the Stool Samples

Abstract : In Turkey, where the prevalence of parasitic infections is high, various laboratories use only Direct Wet Mount Preparation (DWMP) for the routine parasitological examination of the stool samples. Some concentration methods and a permanent stain such as trichrom are also recommended to be used beside this method which may be insufficient in distinguishing some of the protozoa trophozoites and in diagnosis of organisms that are rare in stool samples.

In this study, stool samples of 404 patients applied to Celal Bayar University Hafsa Sultan Hospital Medical Parasitology Laboratory in July 2012-July 2013 were examined. DWMP and Trichrome Staining Method (TSM) were applied to all of the stool samples.

Additionally, two different sedimentation methods including Formol-Ethyl Acetate Sedimentation Method (FEASM) and Modified Formol-Ethyl Acetate Sedimentation Method (MFEASM), and four flotation methods including Modified Zinc Sulphate Flotation Method (MZSFM), Saturated Salt Flotation Method (SSFM), Sugar Flotation Method (SFM) and Salt and Sugar Flotation Method (SASFM) were applied to stool samples in order to identify the most efficient concentration methods that can be applied under different conditions such as field and laboratory conditions.

Intestinal protozoa were determined in totally 72 of 404 cases (17.8%) by at least one of these methods. These protozoa and the number of the patients were as follows: *Blastocystis* species 61 (15%), *Giardia intestinalis* 7 (1.7%), *Entamoeba coli* 2 (0.5%), *Dientamoeba fragilis* 1 (0.3%) and *Iodamoeba butschlii* 1 (0.3%).

While all of the 72 cases diagnosed with protozoa infection were identified by TSM, positive results by DWMP were obtained in 68 cases. FEASM, one of the sedimentation methods, was positive in 66 of 72 protozoa, while MFEASM was positive in 70 cases. MFEASM which is found to be more easy to perform, faster and more efficient than FEASM may be recommended as a routine concentration method for the stool examination laboratories.

Parasite was determined in 12 stool samples by MZSFM, 11 by SSFM, 10 by SFM and 11 by SASFM. The data we obtained suggested that SSFM may be used when MZSFM cannot be used, considering that zinc in MZSFM is more expensive.

As a result, our data suggested that DWMP was useful in parasitological examination of stool samples; however, a concentration method and a permanent stain should also be performed for an accurate examination. A sedimentation method should be preferred preferably if a centrifuge is available. Otherwise, MZSFM or SSFM may be used as a concentration method. TSM, especially Wheatley modification, was found to be very successful in the diagnosis and differentiation of the intestinal protozoa.

Keywords: Concentration methods, sedimentation methods, flotation methods, stool examination.



TEŞEKKÜR

Bu tez alışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında Őekillendiren sayın hocam Prof. Dr. Ülgen Zeki OK' a sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımnda benden yardımlarını esirgemeyen, Uzm. Dr. Ayşegül AKSOY GÖKMEN'e ve Tekn. İlker PINAR'a , ayrıca tez çalışmam boyunca manevi desteklerini esirgemeyen sevgili eŐim Grhan BAYKIR'a, annem Sevgi ÖZKAN'a ve tüm aileme teŐekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
ÖZET	ii
SUMMARY.....	iv
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL DİZİNİ	ix
TABLO DİZİNİ.....	x
KISALTMALAR	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Parazit nedir?.....	2
2.1.1. Parazitliğe Adaptasyon	3
2.1.2. Konak-Parazit İlişkileri.....	3
2.2. Parazitolojinin Tarihi	4
2.2.1. Ülkemizde Parazitolojinin Tarihi	4
2.2.2. Dünyada Parazitolojinin Tarihi.....	4
2.3. Sindirim Sistemini Etkileyen Paraziter Enfeksiyonların Önemi.....	4
2.4. Sindirim Sistemini Etkileyen Paraziter Enfeksiyonlarda Görülen Klinik Belirtiler	5
2.5. Sindirim Sistemini Etkileyen Paraziter Enfeksiyonların Tanısı.....	5
2.5.1. Etkene Yönelik Tanı Yöntemleri	5
2.5.1.1. Dışkı İncelemeleri.....	5
2.5.1.1.1. Dışkı Örnek Sayısı ve Çeşitleri.....	6
2.5.1.1.1.4. Tek Kaplı Toplama Sistemleri.....	8
2.5.1.1.1.5. Dışkı Örneklerinin Nakli	9
2.5.1.1.2. Makroskobik İnceleme ve Taze Dışkı İncelemeleri	9
2.5.1.1.2.1. Makroskobik İnceleme	9
2.5.1.1.2.2. Taze Dışkı İncelemeleri	10
2.5.1.1.2.2.1. Serum Fizyolojik (SF)	12
2.5.1.1.2.2.2. İyot Boyaları	12

2.5.1.1.3. Yoğunlaştırma Yöntemleri	13
2.5.1.1.4. Kalıcı Boyalı Yayımlar	13
2.5.1.1.5. Selofan Bant Yöntemi (Gaham'ın Selofan Bant Yöntemi) ^(28, 29)	15
2.5.1.1.6. Diğer Yöntemler	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması.....	18
3.2. Dışkı Örneklerinin Tespiti.....	18
3.2.1. Schaudinn Fiksatif	19
3.2.1.1.Civa Klorür İçeren Schaudinn Fiksatif	19
3.2.1.2.Bakır sülfat içeren Schaudinn Fiksatif	20
3.2.2. %10 Formol Solüsyonu.....	20
3.3. Dışkı Örneklerinin İncelenmesi.....	21
3.3.1. Doğrudan Taze Bakı Yöntemi (DTBY)	21
3.3.1.1. Serum Fizyolojik (SF)	21
3.3.1.2. Lugol'un İyot Solüsyonu	21
3.3.2. Yoğunlaştırma Yöntemleri.....	22
3.3.2.1. Formol-Etil Asetat Çöktürme Yöntemi (FEAÇY).....	22
3.3.2.2. Modifiye Formol-Etil asetat Çöktürme Yöntemi (MFEAÇY).....	24
3.3.2.3. Modifiye Çinko Sülfat Yüzdürme Yöntemi (MÇSYY)	25
3.3.2.4. Doymuş Tuzlu Su Yüzdürme Yöntemi (DTSYY).....	26
3.3.2.5. Şekerli Su Yüzdürme Yöntemi (ŞSYY).....	26
3.3.2.6. Tuzlu-Şekerli Su Yüzdürme Yöntemi (TŞSYY)	27
3.3.3. Boyama Yöntemleri	28
3.3.3.1. Trikrom Boyama Yöntemi (TBY).....	28
3.4. Selofan Bant Yöntemi.....	29
3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi	30
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ	38
7. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU.....	41
HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ.....	42
8. KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	49

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Değişik tanı yöntemleri ve seri dışkı incelemeleri sonucu <i>E. histolytica</i> (<i>/dispar</i>) saptanmasında görülen artış.....	7
Şekil 2. Tek kaplı toplama sistemi.....	8
Şekil 3. Dışkı örneği kaba konur ve hafifce ezilir.....	8
Şekil 4. Şişe iyice çalkalanır.....	9
Şekil 5. Tarih atılır.....	9
Şekil 6. Dışkı örneğinin kıvamına göre kist ve trofozoit dağılımı.....	10
Şekil 7. Selofan bant yönteminin uygulanması.....	15
Şekil 8. Dışkı örneğinin fırçayla alınması.....	19
Şekil 9. Dışkı örneğinin lama yayılması.....	19
Şekil 10. Dışkı örneğinin kalınlığı.....	19
Şekil 11. Doğrudan taze bakı (DTB) preparatlarının sistematik incelenmesinde izlenen yöntem.....	22
Şekil 12. Santrifüj sonrası tabakalar.....	23
Şekil 13. Dışkı artığı tıkaçının ortadan kaldırılması.....	23
Şekil 14. Üst sıvı atıldıktan sonra tüp duvarındaki sıvının çökeltinin üzerine inmesi.....	24
Şekil 15. Çökeltinin vorteksle karıştırılması.....	24
Şekil 16. Çökeltiden bir damlanın lam üzerine aktarılması.....	24
Şekil 17. Çökeltinin lamelle kapatılarak doğrudan taze bakı (DTB) preparatının hazırlanması.....	24
Şekil 18. Tüpün üzerine lamel yerleştirilmesi.....	26
Şekil 19. Lamelin lam üzerine yerleştirilmesi.....	26

Fotoğraflar : Prof. Dr. Ülgen Zeki OK, Hülya ÖZKAN BAYKIR

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Dışkı örneklerinde parazitolojik tanı yöntemlerinin kullanımı.....	11
Tablo 2. 404 hastada saptanan parazitlerin dağılımı.....	31
Tablo 3. Yaş gruplarına göre saptanan protozoonların dağılımı.....	32



KISALTMALAR

ÇSYY	:	Çinko Sülfat Yüzdürme Yöntemi
DTBY	:	Doğrudan Taze Bakı Yöntemi
DTSYY	:	Doymuş Tuzlu Su Yüzdürme Yöntemi
FEAÇY	:	Formol Etil-Asetat Çöktürme Yöntemi
MÇSYY	:	Modifiye Çinko Sülfat Yüzdürme Yöntemi
MFEAÇY	:	Modifiye Formol Etil-Asetat Çöktürme Yöntemi
MİF	:	Mertiyolat-İyot-Formol
PVA	:	Polivinil Alkol
PZT	:	Polimeraz Zincirleme Tepkimesi
SAF	:	Sodyum Asetat - Asetik Asit - Formol
SF	:	Serum Fizyolojik
ŞSYY	:	Şekerli Su Yüzdürme Yöntemi
TBY	:	Trikrom Boyama Yöntemi
TŞSYY	:	Tuzlu-Şekerli Su Yüzdürme Yöntemi

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Enfeksiyon hastalıklarının dünya üzerindeki yaygınlığı, ülkelerin coğrafik özellikleri, iklim koşulları, toplumun kültürel, ekonomik ve sosyal gelişimi ile yakından ilgilidir. İnsanların yaşama ve beslenme düzenleri, örf ve adetleriyle de ilgili yakınlık gösteren enfeksiyon hastalıkları içinde gastrointestinal enfeksiyonlar başta gelmekte, özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde mortalitede birinci sırayı almaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise sanitasyon ile hijyen kurallarının iyi uygulanmasına ve iyi bir toplum sağlığı örgütlenmesinin sağlanmış olmasına rağmen, akut gastroenteritlerin görülme sıklığı üst solunum yolları enfeksiyonlarından sonra ikinci sırada yer almaktadır.⁽¹⁾

Ülkemizde de paraziter enfeksiyonların görülme sıklığı oldukça fazladır. Özellikle kırsal bölge insanlarımızda bu hastalıkların daha fazla görülmesi, yetersiz sağlık eğitiminden ve koruyucu hekimliğin eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, paraziter enfeksiyonlara gereken önem verilmemektedir.

Paraziter enfeksiyonların önemli bir bölümünü gastrointestinal sistemi tutan enfeksiyonlar oluşturur. Bu enfeksiyonların tedavi edilebilmesi için öncelikle doğru tanı konulması gerekir. Doğru tanı içinse başta dışkı örneği olmak üzere, materyallerin uygun şekilde toplanması, nakli ve uygun işlemlerden geçirildikten sonra incelenmesi gerekir. Türkiye’de dışkı örneklerinin parazitolojik incelemesinde sıklıkla sadece Doğrudan Taze Bakı (DTB) yöntemi uygulanarak; yani serum fizyolojik (SF) ve bazen de Lugol solüsyonu kullanılarak tek bir inceleme yapılmakta; bu nedenle parazitlerin önemli bölümüne tanı konamamaktadır. Bu yöntem ucuz, kolay ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle tercih edilmektedir, fakat özellikle dışkıdaki yumurta ve/veya kist sayısının az olduğu durumlarda yeterli olmamakta, ayrıca trofozoitlerin tanısı ve ayırıcı tanısında da sıklıkla sorunlar yaşanmaktadır.

DTB ve kalıcı boyalı preparatlar incelendiğinde gözden kaçabilen seyrek miktardaki helmint yumurta ve larvaları, protozoon kistleri ve ookistleri dışkı örneklerinin yoğunlaştırılmasıyla daha kolay saptanabilir. Ancak trofozoitler bu işlem sırasında genellikle bozulur ya da parçalanır. Yoğunlaştırma yöntemleri başlıca çöktürme ve yüzdürme olmak üzere iki bölüme ayrılır. Bu çalışmada, dışkı örneklerinin parazitolojik incelenmesinde kullanılan farklı yoğunlaştırma yöntemlerinin etkinlikleri incelenecek, laboratuvar ve saha koşulları gibi farklı koşullarda uygulanabilecek en iyi yöntemler belirlenecektir. Bu amaçla, dışkı

örneklerine formol-etil asetat çöktürme, çinko sülfat yüzdürme gibi klasik yöntemlerin yanında bu yöntemlerin modifikasyonları ve tuzlu ve/veya şekerli suyla yüzdürme gibi santrifüj kullanımını azaltan veya ortadan kaldıran yeni yöntemlerin avantaj, dezavantaj ve etkinlikleri, karşılaştırılarak uygulanacak, sonuçları istatistiksel analizler ile değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Parazit nedir?

Yeryüzündeki canlılar, benimsedikleri yaşam şekillerine göre, iki ana gruba ayrılırlar: Özgür yaşayanlar ve parazit yaşayanlar. Bu iki yaşam şekli arasındaki temel fark, birincisinin tek başına, bağımsız olarak yaşamını sürdürebilmesi, ikincisinin ise yaşamı için bir diğer canlıya gereksinme duyması, yaşamını o canlının zararına sürdürmesidir.⁽²⁾

Parazit sözcüğü Yunanca'dan gelmektedir ve "yanında" anlamındaki "para" ile "besin" anlamındaki "sitos" sözcüklerinden oluşmuştur. Buna göre parazit yaşamını bir diğer canlı vücudunun üzerinde veya içinde, o canlının zararına sürdüren organizmadır. Parazitlik ise parazit olarak yaşamaktır. Parazitik yaşam ise bir canlının yaşamını, üzerinde veya içinde yaşadığı bir diğer canlının zararına sürdürmesidir. Buna göre parazit deyince akla iki canlı gelmektedir. Birincisi parazitik yaşamı benimsemiş olan canlı, yani parazit, ikincisi ise parazitin içinde veya üzerinde yaşadığı canlı, yani konaktır.^(2, 3)

Parazitik yaşamı benimsemiş olan canlılar arasında mikroskobik boyutta olanlar olduğu kadar makroskobik olanlar hatta on metre veya daha fazla uzunluğa erişenler de bulunabilmektedir. İnsanda enfeksiyona neden olan parazitler, protozoa (tek hücreli) ve metazoa (çok hücreli) olarak iki alt aleme (subkingdom) ayrılırlar.⁽⁴⁾

Protozoa altaleminde dört önemli şube (phylum) yer alır: *Sarcomastigophora*, *Apicomplexa*, *Microspora*, *Ciliophora*.

Metazoa alt aleminde insan sağlığıyla ilgili olanlar ise helmintler (solucanlar) ve artropodlardır (eklembacaklılar).

Helminthler ise *Nematodes* (yuvarlak solucanlar) ve *Plathyhelminthes* (düz solucanlar) olarak iki şubeye ayrılırlar. *Plathyhelminthes* şubesi ise *Cestodes* (şeritler) ve *Trematodes* (yapraksı solucanlar) sınıflarına (class) ayrılır. ⁽⁵⁾

2.1.1. Parazitliğe Adaptasyon

Serbest yaşayan bazı canlıların yaşam ortamları değiştiğinde parazit yaşam şekline geçebilmeleri mümkün gibi görülse de, bu durumun çok zaman aldığı, bu uzun zaman içinde canlıda kalıcı mutasyonların oluşması gerektiği düşünülmektedir. Adaptasyon sürecinde canlıların büyük çoğunluğunun öldüğü, ancak pek azının canlı kalabildiği bilinmektedir. Parazit yaşama adaptasyon çoğunlukla geçici olabilmektedir. Bu geçici veya rastlantısal parazitlik, parazit yaşama geçişin ilk basamağı olarak da yorumlanabilir. Parazitliğe adaptasyonda, parazitin kendisinde de oluşan bazı enzimatik olayların rolü olduğu bildirilmektedir. Örnek olarak eğer canlı kendisi için hayati önemi olan enzimlerini salgılayamayacak duruma gelirse, bu enzimleri bir başka organizmadan temin etme veya konak organizmasından sağlayabilme çabasıyla parazit yaşama adapte olma durumunda kalabilmektedir. ⁽¹⁾

2.1.2. Konak-Parazit İlişkileri

Parazitler, konaklarından faydalanarak yaşamakta ve doğada kalabilmektedirler. Büyüme, gelişme ve çoğalabilme için gereken biyokimya ve biyofizik koşullar türlere göre ayrılıklar gösterdiğinden her parazit için ancak bazı canlılar konak olabilmektedir. Buna 'konak özelliği' denir. Parazitlerin bazıları ileri derecede konak özelliği gösterirler ve yalnız insanda veya başka bir tek tür canlıda gelişirler. Bazıları da birbirine yakın veya belli fizyolojik özellikleri ortak canlılarda parazit olabilirler.

Canlılar büyümeleri ve çoğalmaları sırasında morfolojik ve fizyolojik olarak değişmelere uğrayarak evrimleşirler. Her döneme ait farklı özellikleri olan evrim şekilleri oluşur. Bazı parazitlerin evrimlerini tamamlaması için bir konak yeterliyken (monoksen), bazılarında birden çok konak gerekmektedir (heteroksen).

Parazitin erişkin, yani üreme organları gelişmiş şeklinin yaşadığı konağa kesin konak denir. Bir parazitin farklı türlerden son konakları olabilir. Bir parazitin doğada tutunabilmesi ve nesillerini sürdürebilmesi için esas olan konağa öz konak veya rezervuar, ötekilere ise yedek konak denir. Parazitin, larva gibi olgunlaşmamış şekillerini barındıran konağa da ara konak ismi verilir. Ara konaklı parazitlerde evrimin tamamlanması için bir tek veya birkaç ara konak gerekir. Bazı hallerde ara konakla son konak arasına, parazitin gelişmeden bir süre

kaldığı bir konak daha girebilir ki buna paratenik konak denir. Paratenik konaklar evrimin bitirilmesi için gerekli değildir.⁽¹⁾

2.2. Parazitolojinin Tarihi

2.2.1. Ülkemizde Parazitolojinin Tarihi

Ülkemizde parazitolojinin başlangıcı ve gelişimi, Osmanlı İmparatorluğu zamanında yayınlanan 'Tıp Zoolojisi ve Parazitoloji' kitabı ile başlamıştır. Bununla beraber ülkemizde askeri ve sivil Tıp Fakülteleri birleştirildikten sonra Parazitoloji adındaki ders kitabı ile Tıp ve Veteriner Parazitoloji alanında araştırmalar yapan Ord. Prof. İsmail Hakkı Çelebi(1873-1939) modern parazitolojinin ülkemizdeki kurucusu olarak kabul edilmektedir.⁽⁶⁾

2.2.2. Dünyada Parazitolojinin Tarihi

Gözle görülebilen parazitler ve neden oldukları hastalıklar, çok eski zamanlardan beri insanların dikkatini çekmişler ve doğa bilgileriyle, parazitlere ait bilgiler birlikte gelişmeye başlamıştır. Orta çağda bilimsel çalışmalara ve tıbbı daha yatkın olan Türk İslam bilginleri ve hekimler, gözle görülebilen parazitler üzerinde durmuşlardır. Büyük Türk İslam hekimi İbni Sina (981-1037), nematodlardan *Ascaris*, *Enterobius*, *Ancylostoma*'ları tarif etmesinin yanı sıra, insanlardaki parazit yaşantılarını hatta tedavilerini anlatmıştır.⁽⁷⁾

Parazit etkenlerini tanıyan ve isim veren bilim adamları; Francesco Redi (1626-1698), Antoni Van Leeuwenhock, Carolus Linneaus (1707-1778), CA. Rudolphi (1771-1832) gibi araştırmacılar, hekim ve biyologlar, parazitolojinin, özellikle helmintolojinin gelişmesine büyük ölçüde katkıda bulunmuşlardır.⁽⁸⁾

2.3. Sindirim Sistemini Etkileyen Paraziter Enfeksiyonların Önemi

Paraziter enfeksiyonlar özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyon hastalıkları arasında önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye'de paraziter enfeksiyonların sıklığı, coğrafi iklim ve ekolojik şartlar, eğitim ve kültür düzeyi, adet ve alışkanlıklar, sağlıksız çevre koşulları gibi sebeplere bağlı olarak değişmektedir. Bölgeler arasında farklı oranlarda ve değerlerde bile olsa yüksek prevalans göstermektedir. Paraziter enfeksiyonlar, büyüme çağındaki çocuklar başta olmak üzere toplumun bütün kesimlerini etkilemektedir. Genellikle asemptomatik veya atipik, nonspesifik bulgularla seyreden paraziter enfeksiyonları, zihinsel ve bedensel gelişme geriliği yaparak, işgücü kaybına neden olarak sağlık ve ekonomik yönden etkilerini göstermektedirler. Bağırsak parazitleri, ishal, kabızlık, karın ağrısı, bulantı, kusma, gelişme geriliği, gece işemesi (Enüresis nocturna), alerjik reaksiyonlar, zayıflama, diş gıcırdatması,

ağızdan salya akması ve perianal bölge kaşıntısı gibi belirtilerle kendini gösterebilmekte, bazen de belirtisiz seyredabilmektedir.

2.4. Sindirim Sistemini Etkileyen Paraziter Enfeksiyonlarda Görülen Klinik Belirtiler

Sindirim sistemini etkileyen paraziter enfeksiyonlar, asemptomatik olarak bulunabilirse de ılımlı enfeksiyonlarda; diyare, karın ağrısı, kilo kaybı gibi semptomlar gözlenirken, ağır enfeksiyonlarda; ağır diyare, bulantı, kusma, anoreksia, yaygın karın ağrısı, karında asit ve periferik ödem gelişebilmektedir. Komplikasyon olarak bağırsaklarda tıkanma, emilim bozukluğu (malabsorbsiyon), ağır bağırsak hasarı sonucu hipoalbuminemi ve vitamin B-12 emilim bozukluğu saptanabilmektedir. Enfeksiyonlar etkili şekilde tedavi edilmezse nadiren ölümlle sonuçlanabilmektedir.⁽⁹⁾

2.5. Sindirim Sistemini Etkileyen Paraziter Enfeksiyonların Tanısı

Gastrointestinal paraziter enfeksiyonların rutin tanısında sıklıkla Doğrudan Taze Bakı Yöntemi (DTBY), yoğunlaştırma yöntemleri ve kalıcı boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Tanıya yönelik olarak bunların dışında serolojik ve moleküler yöntemler de kullanılabilir.⁽¹⁰⁾

2.5.1. Etkene Yönelik Tanı Yöntemleri

2.5.1.1. Dışkı İncelemeleri

2.5.1.1.1. Taze Dışkı Örneğinin Toplanması ve Tespit Edilmesi

Bağırsakta oluşan paraziter enfeksiyonlarda tanı, dışkı örneğinde helmint yumurta veya larvalarının ve protozoon trofozoit veya kistlerinin saptanmasıyla konmaktadır. Bu nedenle dışkı örneklerinin doğru biçimde toplanması ve saklanması ile dışkı örneğinin laboratuvara zamanında ulaşması büyük önem taşır.

Dışkı örneklerinin su, idrar, yağ, toprak veya diğer yabancı maddelerle karışması önlenmelidir.⁽¹¹⁾ Bu maddelerle kontamine olan örneklerde trofozoitler tahrip olabilirler veya içindeki serbest yaşayan organizmalar nedeniyle protozoon ve nematodlarla karıştırılarak tanıyı güçleştirebilirler⁽¹¹⁾. Bu nedenle dışkı örneği klozetin içinden veya bırakıldığı dış ortamdan alınmamalıdır.⁽¹²⁾

Baryum, antidiyareikler veya yağlı laksatifler kullanıldıktan sonra alınan dışkı örnekleri, parazitolojik inceleme için uygun değildir. Bu tür maddelerin

kullanılmasından sonra oluşan ilaç kristalleri hem organizmaların saptanmasını önlemesi, hem de protozoon trofozoitlerini doğrudan etki ile tahrip etmesi sonucu tanıyı 1-2 hafta veya daha fazla süre güçleştirebilir. Ayrıca birçok antibiyotik bağırsak flora organizmalarını tamamen ortadan kaldıracak veya sayısında belirgin bir azalmaya yol açabileceği için, dışkı örneği antibiyotik kullanımı kesildikten bir veya birkaç hafta sonra alınmalıdır .⁽¹²⁾

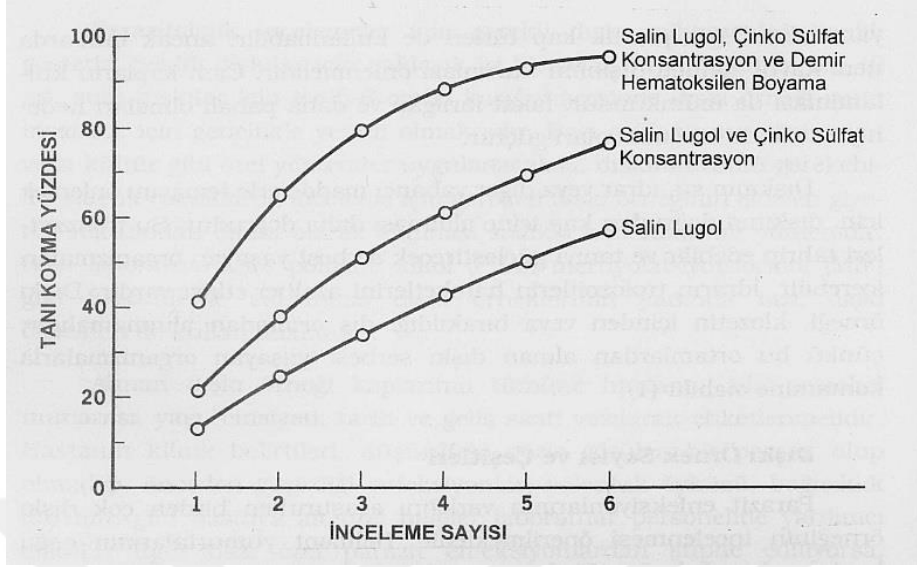
Tanı için daha sonra dışkıda antijen aramaya yönelik testler kullanılacaksa (ELISA, IFA, immünokromatografik testler) %5-%10 formol ve SAF içinde saklanan örnekler uygun olmayabilir. Birçok immünolojik yöntem, taze veya dondurularak saklanmış dışkı örneğine gereksinim duyar. Saklama yöntemi laboratuvarında kullanılacak testler göz önüne alınarak seçilmelidir .⁽¹²⁾

Dışkı örneği; bakteriler, virüsler, protozoonlar veya diğer enfeksiyöz organizmalar açısından potansiyel enfeksiyon riski taşıdığından, incelenme sonrasında enfekte atık koşullarına uygun olarak imha edilmelidir.⁽¹²⁾

2.5.1.1.1.1. Dışkı Örnek Sayısı ve Çeşitleri

İnceleme için alınan dışkı örneklerinde tek bir inceleme yeterli olmayabilir. Paraziter enfeksiyonların varlığını araştırırken birden çok dışkı örneğinin incelenmesi önerilmektedir. Özellikle protozoonlar döngüsel olarak atıldıkları için bağırsak protozoonlarının birçoğunu saptamada tek bir inceleme yeterli olmamaktadır. Bu nedenle paraziter enfeksiyonları araştırırken en iyi yöntem, 2-3 günlük aralarla, en az üç dışkı örneğinin incelenmesidir .⁽¹¹⁾

Üç dışkı örneğinden ilk ikisi normal yolla alınmalıdır, üçüncü örnek alınırken magnezyum sülfat gibi katartikler kullanılabilir.⁽¹¹⁾ Bir araştırmada ilk alınan dışkı örneği incelemesinde parazit saptama oranı %58,3 bulunurken, bu oran ikinci incelemede %20,6, üçüncü incelemede ise %21,2 artış göstermiştir.⁽¹²⁾ Değişik tanı yöntemleri ve seri dışkı örneklerinin incelemeleri sonucu *E. histolytica* (*/dispar*) saptanmasında görülen artış Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Değişik tanı yöntemleri ile seri dışkı örneklerinin incelenmesi sonucu *E. histolytica* (/dispar) saptanmasında görülen artış ⁽¹³⁾

2.5.1.1.1.2. Örneklerin İncelenmesinde Zaman Faktörü

Enfeksiyonların tanısını etkileyen en önemli etkenlerden birisi de, dışkı örneğinin alınmasından sonra geçen süredir. Protozoon trofozoitleri genellikle sıvı ve diyareli dışkılarda bulunur ve bu dışkıların laboratuvara getirilmesine kadar geçen süre büyük önem taşır. Ancak birçok laboratuvarada fiksatif içeren toplama kapları kullanılması taze dışkı incelemesinde sıkıntı yaratmaktadır.

Sulu dışkıları laboratuvara getirildikten sonraki 30 dakika içinde değil, dışkılamadan sonraki ilk 30 dakika içinde incelenmelidir. Eğer alınan dışkıları hemen incelenemeyecekse, PVA veya diğer uygun fiksatiflerin içinde tespit edilmelidir. Yumuşak kıvamlı dışkıları da aynı şekilde, dışkılamadan sonraki 30 dakika içinde incelenmeli veya bir fiksatif içinde korunmalıdır. Şekli dışkıların incelenmesinin bir saat içinde yapılması önerilmektedir. Katı dışkıları da aynı gün içinde incelenmeli; incelenemeyecekse bir sonraki güne kadar bir fiksatifin içinde veya dışkı kabının kapağı iyice kapatılarak buzdolabında 3-5⁰ C'de saklanmalıdır. Ancak buzdolabında saklanan örneklerden boyama için yayma yapılmamalıdır.

Dışkı örneği soğukta saklandığında trofozoitler ölürken, helmint yumurtaları ve protozoa kistleri birkaç gün veya daha uzun süre karakteristik morfolojilerini koruyabilir. Dışkı örnekleri hiçbir zaman dondurulmamalı veya enkübatöre konmamalı; hasta tarafından laboratuvara bir günden daha fazla gecikme ile getirilecekse, önceden hastaya dışkısının korunabilmesi için uygun fiksatifler içeren tek kullanımlık toplama kapları verilmelidir. ⁽¹¹⁾

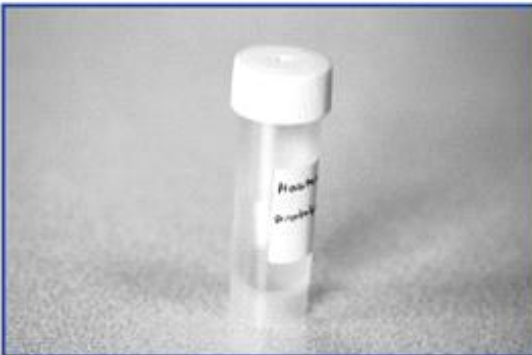
2.5.1.1.1.3. Dışkı Örneklerinin Tespit Edilmesi ve Korunması

Eğer hasta dışkı örneğini önerilen zaman içinde getiremeyecekse, organizmaların tahrip olmaması veya şekillerinin bozulmaması için dışkı örneklerini korumaya yönelik önlemler alınmalıdır. Birçok laboratuvar özellikle laboratuvara gelen hastalar için dışkı örneklerindeki protozoon kistlerinin, helmint yumurta veya larvalarının morfolojilerini koruyan bir veya birden çok fiksatif içeren toplama kiti kullanmaktadır. Örnekler laboratuvarında fikse edilmeli veya hastanın/yakınlarının örneklerini kendi toplaması ve fikse etmesi sağlanmalıdır.⁽¹¹⁾

2.5.1.1.1.4. Tek Kaplı Toplama Sistemleri

Tek şişe içinde değişik farklı koruyucuların kullanıldığı bir toplama sistemidir. Şişenin üzerine hastanın adı ve protokol numarası yazılmalıdır (Şekil 2). Hastalar ve yakınları içindeki maddelerin zehirli olduğu ve içilmemesi gerektiği konusunda uyarılmalıdır. Kit paketinde, fiksatif içeren kapaklı dışkı toplama kabı, uygulama çubuğu (kapağa monte edilmiş olabilir), plastik eldiven ve uygulamayı tarif eden ve resimli olarak gösteren yazılı talimat bulunmalıdır. Bu paket hastaya verilir ve Şekil 3'de görüldüğü biçimde fiksatifin yaklaşık üçte biri hacmindeki dışkı örneğini kabın içine koyması, özellikle katı dışkıları hafifçe ezerek ve şişeyi iyice çalkalayarak (Şekil 4) homojen bir süspansiyon elde edilmesi istenir.

Şişenin üzerine, dışkı örneği eklendiğinde fiksatifin hangi düzeye kadar yükselmesi gerektiğini bildiren bir çizgi çizmek yararlı olacaktır. Son olarak fiksasyonun hangi tarihte gerçekleştiği etikette belirtilmelidir (Şekil 5). Tarifler bölge, yöresel dil, sosyoekonomik durum ve hasta sayısı göz önüne alınarak anlaşılır bir şekilde hazırlanabilir; şişenin üzerine "Zehirli" yazmak yararlı olacaktır.⁽¹⁴⁾



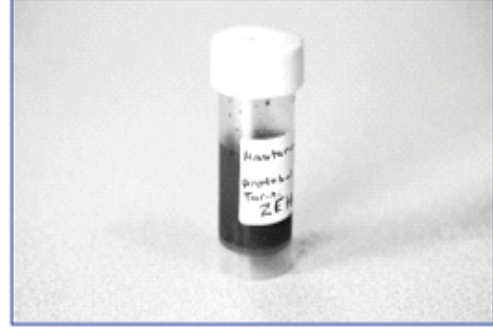
Şekil 2. Tek kaplı toplama sistemi.



Şekil 3. Dışkı örneği kaba konur ve hafifçe ezilir.



Şekil 4. Şişe iyice çalkalanır.



Şekil 5. Tarih atılır.

2.5.1.1.1.5. Dışkı Örneklerinin Nakli

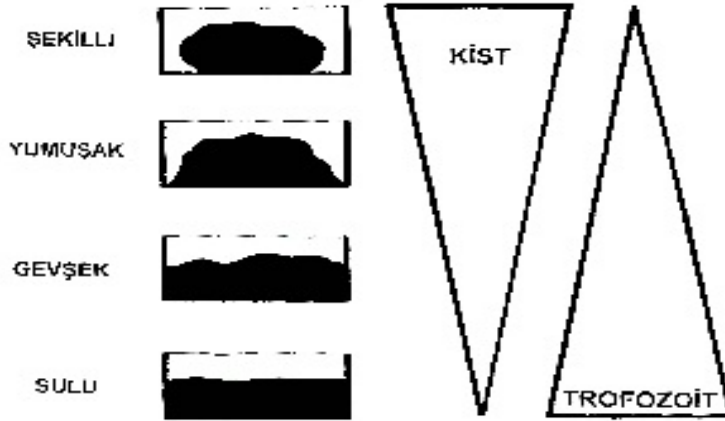
Dışkının nakledilmesi için tek şişeli, iki şişeli ve nadiren üç şişeli sistemler kullanılabilir. En çok tercih edilen iki ayrı şişenin kullanıldığı sistemdir. İlk şişe kalıcı boyalı preparat hazırlamak için PVA, ikinci şişe ise yoğunlaştırma yöntemleri uygulayabilmek için %10 formol içerir. Bazı laboratuvarlar, içine bir kısım taze dışkının bulunduğu üçüncü bir şişe kullanılan üç şişeli sistemi tercih ederler.

İki şişeli sistemde alınan örneklerin 1 saat içerisinde laboratuvarında incelemeye alınması önerilmesine rağmen, dışkı örneklerinin 10 gün korunabildiği ve aynı yöntemlerle incelenebileceği bildirilmekte; formol ve PVA'nın 20-25°C ısıda nakli ve tutulması önerilmektedir.^(15, 16)

2.5.1.1.2. Makroskopik İnceleme ve Taze Dışkı İncelemeleri

2.5.1.1.2.1. Makroskopik İnceleme

Taze ya da fiksatif içinde getirilen dışkı örneklerinin fiziksel özellikleri önemlidir. Taze olarak getirilen dışkı örnekleri büyük miktar dışkının incelenmesi ve değerlendirilmesine olanak sağlarken, korunmuş dışkı örneği ancak saklanabildiği miktar kadar bilgi verir. Makroskopik dışkı incelemesi, korunmamış dışkı örneklerinde daha değerlidir.



Şekil 6. Dışkı örneğinin kıvamına göre kist ve trofozoit dağılımı .⁽¹⁷⁾

Dışkının kıvamı genellikle şekilli, yumuşak, gevşek veya sulu olarak sınıflandırılır. Gevşek, ishali ve sıvı dışkı örneklerinde trofozoit şekillerine daha sık, kist şekillerine ise daha nadir rastlanır. Şekil 6'da farklı dışkı kıvamlarında görülmesi olası bağırsak protozoonlarının morfolojik evreleri gösterilmiştir. Helmint yumurta ve larvalarına her kıvamdaki dışkıda rastlanabilirken, az sayıda bulunduğu sulu dışkılarda saptamanın daha güç olacağı vurgulanmaktadır.

Dışkı örneklerinin parazit varlığını düşündürülen diğer özellikler renk ve dışkı elemanlarıdır. Dışkıda kanın varlığı her zaman bildirilmelidir. Koyu renkte veya katran rengi olan kan genellikle kanamanın gastrointestinal kanalın üst seviyelerinde olduğunu, açık renkli kan ise kanamanın alt seviyelerde veya rektum civarında olduğunu gösterir. Taze dışkı örneklerinde nokta tarzında kan ve/veya mukus görüldüğünde dışkı, trofozoit varlığı yönünden dikkatlice incelenmelidir. Sarı ve kötü kokulu dışkı örneklerinin sıklıkla emilim bozukluğunu gösterdiği, bunun *Giardia intestinalis* enfeksiyonunun sık rastlanan bir belirtisi olduğu hatırlanmalıdır.

Dışkı örneklerinin makroskopik olarak incelenmesi sırasında *Taenia spp.* halkaları ile özellikle *Ascaris lumbricoides* ve *Enterobius vermicularis* gibi nematodların erişkinleri dışkının yüzeyinde veya dışkı kabının içinde saptanabilir. Dışkı örnekleri tespit edilmeden, oda sıcaklığında bir günden fazla bekletildiğinde, kancalı kurt gibi bazı helmintlerin larvalarının yumurtadan çıktığı izlenmiştir. *Strongyloides stercoralis*'in enfektif olmayan rhabditiform larvası enfektif olan filariform larvaya dönüşebilir.^(11, 12, 17-19)

2.5.1.1.2.2. Taze Dışkı İncelemeleri

Makroskopik inceleme sonrası taze dışkıda mikroskopik olarak parazitleri araştırırken, normal dışkı içeriğinin, kan ve doku hücrelerinin, sindirim atıklarının

ve sindirim kanalından geçen diğer maddelerin de bilinmesi ve tanınması gerekir. Dışkıda yer alan ve parazitlere benzeyen birçok madde vardır; artefakt veya yalancı parazit (pseudoparazit) olarak adlandırılan bu yapılar yanlışlıkla parazit olarak değerlendirilebilir. ⁽¹⁴⁾

Farklı yapıdaki dışkı örnekleri için kullanılacak inceleme yöntemleri Tablo 1'de gösterilmiştir. ⁽¹⁹⁾

Tablo 1. Dışkı örneklerinde parazitolojik tanı yöntemlerinin kullanımı

Örneğin Tipi	DTBY		Yoğunlaştırma Yöntemleri		TBY
	SF	Lugol	FEAÇY	ÇSYY	
Taze	++	++	+++	+++	+++
PVA ile tespitli	-	-	+	-	+++
Schaudinn'de tespitli	-	-	-	-	+++
Formolle tespitli	+	+	+++	+	-
MİF ile tespitli	Uygz.	Uygz.	+	-	+
Uygz.=	Uygulanamaz				
SF=	Serum Fizyolojik				
DTBY=	Doğrudan taze bakı yöntemi				
FEAÇY=	Formol etil-asetat çöktürme yöntemi				
ÇSYY=	Çinko sülfat yüzdürme yöntemi				
TBY=	Trikrom boyama yöntemi				
PVA=	Polivinil Alkol				
MİF=	Mertiyolat İyot Formol				

- : kötü bir yöntem

+ : vasat bir yöntem

++ : iyi bir yöntem

+++ : mükemmel bir yöntem

2.5.1.1.2.2.1. Serum Fizyolojik (SF)

DTBY preparatlarının hazırlanması dışkı incelemesi için basit ve etkili bir yöntemdir. Sindirim sisteminin peristaltik hareketleri, parazit organizmalarının dışkıda neredeyse eşit olarak dağılmasına yol açar. Bununla birlikte, eğer organizmaların sayısı az ise, DTBY için kullanılan az miktardaki dışkı örneği, organizmaların varlığını ortaya çıkarmada yetersiz kalabilir. Bu nedenle doğrudan inceleme yöntemleri, paraziter enfeksiyonların birçoğunun kesin tanısında tek başına yetersiz olduğu görülmüştür.⁽²⁰⁾

DTBY, dışkılamadan hemen sonra alınan sıvı veya yumuşak dışkı örneklerinde hareketli trofozoitlerin araştırılmasında yararlı kabul edilir.⁽¹⁸⁾ Taze olmayan sıvı dışkı örneklerinde trofozoitlerin saptanamaması bir anlam taşımaz. Bu gibi durumlarda, eğer dışkı taze olarak tespit edilmişse, tespitli örnekten kalıcı boyalı yayma preparatı hazırlanması veya yeni taze dışkı örneği istenmesi tavsiye edilmektedir. Kanlı mukuslu dışkılarda DTBY ile trofozoitlerin varlığının araştırılması önemle vurgulanmaktadır.⁽¹⁴⁾

2.5.1.1.2.2.2. İyot Boyaları

Seyreltilmiş iyot boyaları en sık kullanılan geçici boyalardır. İyot trofozoitleri öldürdüğü ve tahrip ettiği için daha çok kist evrelerinin tanısında değer taşır. Kistlerin içindeki nükleusların daha iyi görünür hale gelmesi ile çekirdeklerin sayısı ve morfolojik özellikleri daha rahat izlenir. Gram boyası gibi zayıf iyot solüsyonlarının kullanılması, organizmaları iyi boyamadığı için tavsiye edilmemektedir.⁽¹⁴⁾ Çok kuvvetli bir iyot solüsyonunun kullanılması da, organizmaları koyu boyayarak morfolojik özelliklerin iyi görülmesini önleyebilmektedir. Bununla birlikte, seyreltilmiş iyot solüsyonları hızla boyama özelliklerini kaybeder ve her 10-14 günde bir taze olarak hazırlanması önerilmektedir. Amip kistleri iyotla boyandığında, glikojen vakuolü koyu kırmızı-kahverengi, sitoplazma ise sarımsı renk alır, çekirdekler ve çekirdekçik daha kolay görünür hale gelir. Bununla beraber, kromatid cisimciklerin boyasız preparatlara göre daha zor ayırt edilebildiği bildirilmiştir.^(11, 17, 19) Glikojen içeren organizmalar formolde birkaç hafta veya daha uzun süre saklandığında, glikojenin koyu kahverengi boyanmayıp, daha açık renkte gözlemlenebileceği veya hiç boyanmayabileceği ifade edilmektedir.⁽¹¹⁾

Bazı laboratuvarlarda *Cryptosporidium* ookistlerinin rutin tanısında iyot kullanılmaktadır. Bunun nedeni maya ve diğer dışkı artıkları sarı boyanırken, *Cryptosporidium* ookistlerinin iyot boyasını almaması ve yüksek oranda refraktif (kırılğan) görünümde kalmalarıdır. Ancak bu boya diğer aside dirençli boyalar

kadar duyarlı değildir.⁽¹¹⁾ En çok kullanılan seyreltilmiş iyot solüsyonları D'Antoni ve Lugol solüsyonlarıdır.^(11, 19)

2.5.1.1.3. Yoğunlaştırma Yöntemleri

Doğrudan yayma ve kalıcı boyalı preparatlar incelendiğinde gözden kaçabilen az sayıdaki helmint yumurta ve larvaları ile protozoon kist ve ookistleri dışkının yoğunlaştırılmasıyla daha kolay saptanabilir. Trofozoitlerin ise morfolojileri bozulabilir ya da parçalanabilirler. Yoğunlaştırma işlemi başlıca çöktürme ve yüzdürme olmak üzere iki farklı yöntemle yapılmaktadır.^(11, 19, 21)

Çöktürme, santrifüj veya basit yerçekimi etkisiyle sağlanabilir. Çökeltinin, dışkıda yer alan parazitlere ait tüm yapıları içermesi nedeniyle birçok laboratuvarında çöktürme yöntemleri yüzdürme yöntemlerine tercih edilir. Ancak, yüzdürme yöntemleriyle karşılaştırıldığında çöktürme yöntemlerinin en önemli dezavantajının daha fazla dışkı artığının parazitlere ait yapıları maskeleyebilmesi olarak bildirilmiştir.⁽¹⁹⁾ Çöktürme yöntemlerini uygulamak için dışkı örneğinin taze veya %5-10'luk formol, SAF veya tek kaplı sistemler içinde korunmuş olması önemlidir. PVA içinde korunmuş örnekler de kullanılabilir, fakat özellikle protozoonların yağ çözdürme aşamasında bozulabildiği bilinmelidir. Çok sulu örneklerde tipik yoğunlaştırma yöntemi yerine yağ çözdürme ajanı kullanmadan tek santrifüj basamağı (500 X g'de 10 dakika) uygulanabileceği bildirilmiştir.⁽¹¹⁾ Mikroskopla incelemenden önce çökeltideki partikül yoğunluğunu azaltarak parazitlerin daha kolay fark edilmelerini sağlamak amacıyla, çökeltinin 1-2 damlasını eşit miktardaki SF ile sulandırmanın yararlı olacağı vurgulanmıştır.⁽¹⁴⁾ Protozoon kistlerinin iç yapısını daha iyi görmek için preparat hazırlanırken aynı lam üzerinde ikinci bir çökelti damlası iyot solüsyonuyla seyreltilerek incelenebilir. Günümüzde en sık kullanılan çöktürme yöntemi formol - etil asetat (veya eter) yöntemidir. Etil asetat, eter ya da ksilen gibi ajanlar dışkıdaki yağı eriterek dışkı artıklarının yüzmesini ve örneğin daha temiz görünmesini sağlar.⁽¹⁴⁾ Yanıcı ve patlayıcı etkisi olan eterin saklanması ve kullanılmasındaki zorluklar, son yıllarda eter yerine etil asetat kullanımının yaygınlaşmasına yol açmış, etil asetatın organizmaların saptanmasında eter kadar etkili olduğu bildirilmiştir.^(21, 22) Formol - etil asetat (veya eter) yöntemi biraz zaman alıcı olduğundan bazı laboratuvarlarda bu yöntemin özellikle protozoon kistlerini saptamada çok yararlı bulunan modifiye edilmiş bir şekli kullanılmaktadır.^(23, 24)

2.5.1.1.4. Kalıcı Boyalı Yaymalar

Kalıcı boyalı dışkı yaymalarının uygun biçimde hazırlanması bağırsak protozoon hastalıklarının araştırılmasında ve tanısında en önemli yöntem olarak kabul edilmektedir. Kalıcı boyalı yaymaların taze veya PVA içinde korunmuş

dışkılarından hazırlanabildiği, formol veya MİF ile korunmuş dışkı örneklerinden hazırlanan kalıcı boyalı yaymaların iyi sonuç vermediği bildirilmiştir. Kalıcı boyalı yaymaların;

1. İyi boyanmış organizmaların morfolojileri immersiyon objektifi ile ayrıntılı olarak izlenebilmesi
2. Taze preparatlarda nadir rastlanmaları veya küçük olmaları nedeni ile gözden kaçabilen organizmaların daha kolay saptanabilmesi
3. Hazırlanan preparatın istendiği zaman incelenebilmesi
4. Boyanmış yaymaların kalıcı bir kayıt olarak saklanabilmesi
5. Pozitif olarak değerlendirilen preparatların referans veya araştırma materyali olarak kullanılabilmesi
6. Tanıda şüphe olduğunda preparatların konsültasyona gönderilebilmesi gibi önemli avantajları vardır.^(11, 19, 25)

Parazit araştırılması için gönderilen her dışkı örneğine kalıcı boyalı yayma preparatının hazırlanması gerekliliği, buna bir yoğunlaştırma yöntemi eklenmesiyle, tek bir rutin inceleme ile paraziter etkenlerin varlığının saptanma olasılığının artacağı bildirilmektedir.⁽¹⁸⁾ Dışkı örneklerinin tespit sonrası kalıcı boyalarla boyanması farklı protozoa türlerinin tanı ve ayırımında en etkili yöntem olarak değerlendirilmiştir.⁽²⁶⁾

Dışkı yaymalarında en yaygın kullanılan kalıcı boyalar Gomori'nin trikrom boyasının Wheatley modifikasyonu veya Heindenhein'in demir hematoksilin boyasının modifikasyonlarıdır.⁽²⁵⁾

Trikrom boyası özellikle *Blastocystis* türleri, *D. fragilis* gibi direk taze bakı ile tanınması güç organizmaların tanısında çok yararlı bulunmuştur.^(23, 27)

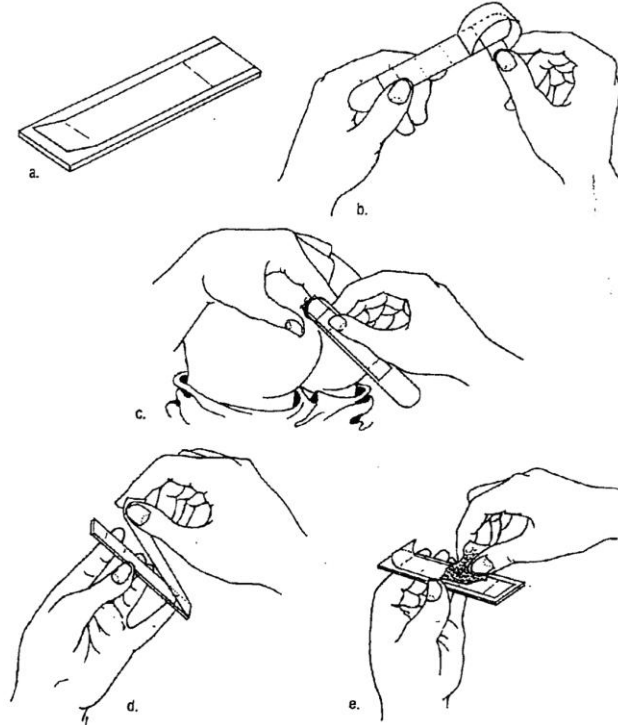
Standart kalıcı boyalı dışkı yaymalarına ek olarak son yıllarda AIDS ve diğer immün yetmezlik sendromlarıyla birlikte önem kazanan barsak koksidiyan parazitlerin tanısı ve ayırt edilmesi için kalıcı boyama yöntemleri geliştirilmiştir. *Cryptosporidium*, *Cyclospora* ve *Cystoisospora* enfeksiyonlarının tanısında çeşitli aside dirençli boyalar oldukça yararlı bulunmuştur.⁽²⁵⁾

Demir hematoksilin boyasının birçok farklı uyarlamasının da protozoonları çok iyi boyadığı gözlenmiştir. Demir hematoksilin boyalarının Schaudinn fiksatifindeki taze dışkı yaymalarına veya PVA, SAF veya MIF solüsyonlarında korunan dışkı örneklerine uygulandığında iyi sonuçlar verdiği yayınlanmıştır.⁽¹⁴⁾

2.5.1.1.5. Selofan Bant Yöntemi (Gaham'ın Selofan Bant Yöntemi)^(28, 29)

Enterobius vermicularis'in neden olduğu kıl kurdu enfeksiyonlarının tanısında günümüzde de en sık kullanılan yöntem 1941'de Gaham tarafından tanımlanan selofan bant yöntemidir.⁽³⁰⁾

E. vermicularis'in erişkin şekilleri kalın bağırsaklarda yaşar ve dişileri özellikle geceleri anüs dışına göç ederek, yumurtalarını perianal bölgeye bırakırlar. Yumurtalar anüs etrafında oldukları için genellikle dışkıda bulunmaz ve bilinen dışkı inceleme yöntemleri ile saptanamazlar. Bu nedenle bu parazitin tanısında perianal materyalin elde edilmesi gerekir. Perianal materyalin incelenmesi için en sık kullanılan tanı yöntemi selofan bant yöntemidir (Şekil 7).⁽³¹⁾



Şekil 7. Selofan bant yönteminin uygulanması⁽¹⁷⁾

Toluen ya da ksilen damlatılmamış olması koşulu ile selofan bant preparatlarının, yumurtalar bozulmadan günlerce hatta haftalarca buzdolabında kalabildiği görülmektedir.

Tanı *E. vermicularis*'in tipik yumurtalarının saptanması ile konulur. Yumurtalar, ovalimsi, kalın çeperli, bir kenarı hafif yandan basık "D" harfi şeklindedir. Yumurtalar, yumurtlandıktan birkaç saat sonra enfektif hale geldiği için, selofan lamdaki yumurtalar genellikle gelişmiş bir embriyo içerir. Bantta 1 cm

uzunluğunda, krem ya da beyaz renkte, sivri kuyruklu bir görünümde erişkin dişilere de rastlanabilir.

Enterobius vermicularis dışında selofan bantla tanı *Taenia spp.* ve *Ascaris lumbricoides* yumurtalarının görülmesi ile konulur.

2.5.1.1.6. Diğer Yöntemler

Petri kabında eğik filtre kağıdı kültür yöntemi^(28, 29) ve Agar plak yöntemi *Strongyloides* larvalarının tanısında alternatif yöntemler olarak öne çıkmaktadır.⁽¹⁴⁾

Çok sayıda dışkı incelemesi negatif sonuçlanmasına rağmen *G.intestinalis* veya *S. stercoralis* enfeksiyonları şüphesi sürüyorsa, bu enfeksiyonların saptanmasında duodenal aspirasyon materyalinin incelenmesi yararlı olabilir. Burundan girilerek, duodenumdan entübasyon ile alınan örneğin fikse edilmeden laboratuvara gönderilmesi önerilmektedir.⁽³²⁾

İnsan bağırsak protozoonlarının tanısında dışkı, duodenal sıvı veya bağırsak biyopsi örneklerinin mikroskopik incelemesi kullanılmaktadır. Paraziter etkenlerin tanısında antijen-antikör arama testleri ve polimeraz zincirleme tepkimesi (PZT) de kullanılabilir. Paraziter hastalıklarının etkenlerinin doğrudan görülemediği veya görülmesinin zor olduğu durumlarda immünolojik tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Halen bağırsak parazitlerinden *Cryptosporidium spp.*, *Entamoeba histolytica*, ve *G. intestinalis*'i saptayabilen antijen tarama testleri ticari olarak sağlanabilmektedir.^(33, 34, 35)

PZT, bakteri, virüs, mantar, parazit ve protozoon gibi hastalık etkenlerine ait hedef nükleik asit zincirlerinin, primer adı verilen spesifik komplementer oligonükleotitler ve ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri (Taq) kullanılarak *in vitro* olarak çoğaltılmasını (amplifikasyonunu) sağlayan oldukça özgün ve güvenilir moleküler biyolojik bir tekniktir.⁽³⁶⁾

3. GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

1. Vidalı Kap
2. Süzgeç
3. Deney Tüpü (konik)
4. Şale(100 ml, 16'lı, dik)
5. Metal tüp sporu
6. Kronometre
7. Karıştırma çubuğu
8. Cam Pasteur pipeti
9. Plastik Pasteur pipeti
10. Lam 26x76 mm
11. Lamel 20 x 20 mm
12. Lamel 24x 50 mm
13. Eldiven
14. Düz uçlu pens
15. Puvar
16. Ependrof tüpü
17. FalkonTüpü
18. Tel sepet (15*15*15 cm)
19. Dansitometre
20. Cam balon
21. Cam huni
22. Erlen
23. İkili Eğitim Mikroskobu
24. Santrifüj

YÖNTEM

3.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması

Laboratuvarımıza başvuran hastalara, dışkı örneklerini koyabilmeleri için sızıntı ve nem kaybını önleyen, kapakları sızıntıyı önleyecek şekilde kapanabilen tek kullanımlık geniş ağızlı, plastik kaplar verildi ve dışkıyı yaptıktan sonra en geç 30 dakika içerisinde laboratuvarımıza getirilmesi söylendi. Şekilli dışkıları için yaklaşık iri bir ceviz büyüklüğünde (20-40 g), sulu dışkıları için ise 5-6 çorba kaşığı hacminde dışkı örneği rutin inceleme için toplandı. Alınan dışkı örnekleri kaplarının tümüne hastanın adı, protokol numarası, yaşı, cinsiyeti, tarih ve geliş saati yazılarak etiketlendi.

Laboratuvar incelemelerinin hatasız olarak yapılabilmesi için dışkı örneğinin hasta veya yakınları tarafından doğru biçimde alınması gerekliliği ve bunun için gerekli yöntemler, hastalara açık bir biçimde anlatıldı.

3.2. Dışkı Örneklerinin Tespiti

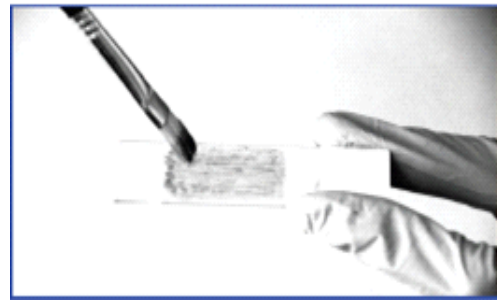
Yaymalar, dışkı örneklerinin laboratuvara ulaşmasından sonra protokole uygun olarak en kısa sürede hazırlandı ve tespit edildi. Dışkı örneklerinden alınan yaymalar dışkılama sonrası 30 dakika içinde hazırlandı.

Kullanılan Maddeler

1. Schaudinn fiksatif
2. SF (%85'lik salin solüsyonu)

Yöntem

1. Dışkının lama yayılması amacı ile suluboya fırçası kullanıldı. Temiz bir suluboya fırçası (2 veya 3 numara) yardımı ile alınan dışkı örneğinden lamın yaklaşık üçte birini kaplayacak şekilde ince ve düzgün bir yayma hazırlandı (Şekil 8, 9).

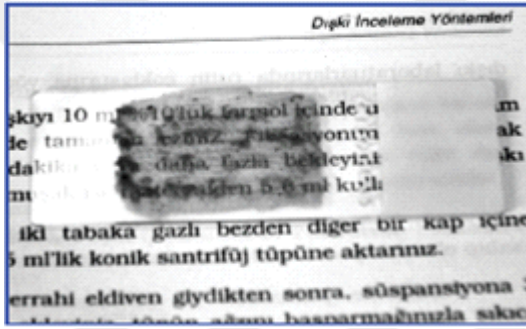


Şekil 8. Dışkı örneğinin fırçayla alınması

Şekil 9. Dışkı örneğinin lama yayılması

- Katı dışkılar yayma hazırlanmadan önce, dışkının küçük bir miktarı bir damla fizyolojik serum ile karıştırıldı. Yumuşak veya gevşek dışkı örneklerinden hazırlanan yaymaların daha iyi tespitini sağlamak için lama önceden çok ince bir tabaka at serumu sürüldü.

- Yaymaların kalınlığı, yaymanın arkasındaki gazete yazısı okunabilecek şekilde hazırlandı. (Şekil 10) Yayma kalın olduğunda organizmaların yeterince boya almaması ve dışkı içindeki artefakların üst üste gelmeleri, parazite ait yapıların ayırt edilmesini güçleştirdi. Çok ince yaymalarda ise dışkıda parazite rastlanma olasılığı olumsuz etkilendi.



Şekil 10. Dışkı örneğinin kalınlığı

- Tespit öncesinde ve diğer boyama basamaklarında yaymanın kurummasına izin verilmedi. Çok sulu dışkılarda yaymanın dış kenarı kurumaya başladığında Schaudinn fiksatifine daldırıldı.

3.2.1. Schaudinn Fiksatif

Dışkı yaymaları için civa klorür ve bakır sülfat içeren iki çeşit Schaudinn fiksatif hazırlandı. Her örnek için iki ayrı yayma preparatı hazırlanıp, ayrı ayrı fiske edildi.

3.2.1.1. Civa Klorür İçeren Schaudinn Fiksatif

Kullanılan Maddeler

1. Civa klorür (HgCl₂)
2. %95 Etil alkol
3. Gliserin
4. Glasiyal asetik asit

Hazırlanan Solüsyonlar

- Doymuş cıva klorür solüsyonu

- 110 g cıva klorürü, 1000 ml distile su içinde ısıtarak eritildi.
- Solüsyon soğumaya bırakıldı, fazla cıva klorür kristalleşti.
- Solüsyon cam kapaklı bir şişeye süzüldü ve kullanıncaya kadar saklandı.

Yöntem

1. 600 ml doymuş cıva klorür solüsyonu, 300 ml %95 etil alkol ve 15 ml gliserin ile karıştırıldı. Kullanıncaya kadar oda sıcaklığında saklandı.

2. Kullanmadan hemen önce, kullanılacak her 100 ml stok solüsyona 5 ml glasiyal asetik asit eklendi.

3.2.1.2.Bakır sülfat içeren Schaudinn Fiksatif

Kullanılan Maddeler

- 1.Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- 2.%95 Etil alkol
- 3.Gliserin

Hazırlanan Solüsyonlar

- Bakır sülfat solüsyonu

- 1000 ml distile su içinde 20 g bakır sülfat ısıtılarak eritildi.
- Solüsyon soğumaya bırakıldı.
- Cam kapaklı bir şişede kullanıncaya kadar saklandı.

Yöntem

1. 600 ml bakır sülfat solüsyonu 300 ml %95 etil alkol ve 15 ml gliserin ile karıştırıldı. Kullanıncaya kadar oda sıcaklığında saklandı.

2. Kullanmadan hemen önce, kullanılacak her 100 ml stok solüsyonuna 5 ml glasiyal asetik asit ilave edildi.

Dışkı örnekleri sulu boya fırçasıyla lama yayıldıktan hemen sonra kurumadan hemen Schaudinn fiksatifine daldırıldı. Yayımlar standart şalelerde, en az 30 dakika, hemen incelenmeyecekse en çok bir gece süreyle tespit edildi.

3.2.2. %10 Formol Solüsyonu

Kullanılan Maddeler

1. Formaldehit (USP) (Formaldehit normalde %37 HCHO solüsyonu olarak satılmaktadır, ancak bu solüsyondan dilüsyon hazırlanırken, %100 olarak kabul edilir)

Yöntem

1. 100 ml formaldehit, 900 ml distile su veya SF ile karıştırıldı ve kullanılıncaya kadar kapalı bir şişede saklandı.

2. Dışkı örnekleri %10 formol solüsyonunda 3 kısım fiksatifte 1 kısım dışkı koyarak saklandı.

3.3. Dışkı Örneklerinin İncelenmesi

Her bir taze dışkı örneğine DTBY (SF-Lugol), farklı yüzdürme ve iki ayrı çöktürme yoğunlaştırma yöntemleri ile kalıcı boya yöntemleri uygulandı.

3.3.1. Doğrudan Taze Bakı Yöntemi (DTBY)

3.3.1.1. Serum Fizyolojik (SF)

Kullanılan Maddeler

1. Sodyum Klorür (NaCl)
2. Distile su

Yöntem

1. Cam şişedeki 100 ml distile su içerisine 0,9 g NaCl ilave edilip, tamamı çözülmeye kadar karıştırıldı.

3.3.1.2. Lugol'un İyot Solüsyonu

Kullanılan Maddeler

1. Potasyum iyodür (KI)
2. Toz halindeki iyot kristalleri (I₂)

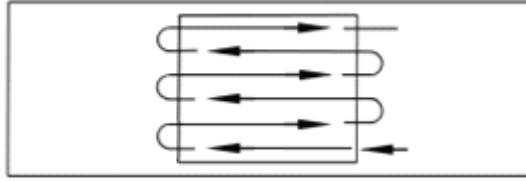
Yöntem

1. 10 g potasyum iyodür 100 ml distile suyun içinde çözüldü.
2. Solüsyon doyuncaya kadar 5 g iyot kristali eklendi (bir miktar iyot kristali çözünmemiş olarak kaldı).
3. Solüsyon kahverengi bir cam kapaklı şişenin içine süzüldü. Kırmızımsı kahverengi renk açıldığında (genellikle 3-4 haftada bir) taze solüsyon hazırlandı.

4. Bu stok Lugol solüsyonun bir birimi, kullanmadan önce 5 birim distile suyla sulandırıldı. DTBY’de kullanılan bu solüsyon her hafta yenildi.

Uygulama

Temiz bir lam üzerine birbirine yakın olmamak koşulu ile birer damla SF ve Lugol damlatıldı. Bir çubuk yardımı ile karıştırılan dışkı örneğinden alınan yaklaşık 1 mg dışkı örneği önce SF içeren damla ile karıştırıldı. Ardından yeniden dışkı örneği ile karıştırılan çubukla alınan yaklaşık 1 mg dışkı örneği Lugol damlası ile karıştırıldı. Her iki damla birer lamelle kapatılarak homojen karışımın lamellerin kenarlarına eşit olarak yayılması sağlandı. Preparatta sıvının buharlaşmasını önlemek için, hazırlandıktan hemen sonra mikroskopta x40 objektifi ile düşük ışık yoğunluğunda sistemli ve dikkatlice incelendi. (Şekil 11).



Şekil 11. Doğrudan taze baki (DTB) preparatlarının sistematik incelenmesinde izlenen yöntem.

3.3.2. Yoğunlaştırma Yöntemleri

3.3.2.1. Formol-Etil Asetat Çöktürme Yöntemi (FEAÇY)

Kullanılan Maddeler

1. % 10 Formol
2. Etil asetat

Yöntem

1. 1-1,5 g taze dışkı 10 ml %10'luk formol ile uygun bir cam veya plastik kap içinde iyice süspanse edildi. Fiksasyonun tam olarak gerçekleşmesi için en az 30 dakika beklendi. Eğer dışkı örneği sulu veya çok yumuşak ise materyalden 5-6 ml kullanıldı.

2. %10 formolde tespit edilmiş dışkı örnekleri iki tabaka gazlı bezden diğer bir kap içine süzüldü, buradan da 15 ml'lik konik santrifüj tüpüne aktarıldı.

3. Üzerine 3 ml SF solüsyonu eklendi. Santrifüj işlemi sırasında çevreye sıçramayı önlemek için tüp çok fazla doldurulmadı.

4. Süspansiyon 400-500 X g'de 1-2 dakika santrifüj edildi. Eğer üstteki sıvı hala bulanıksa, bu kısım atıldı ve çökelti SF ile sulandırılarak tekrar santrifüj edildi. Bu yıkama işlemi üst sıvı berraklaşmaya başlayana dek tekrarlandı.

5. Çökeltiye birkaç ml % 10 formol eklendi, tüp iyice çalkaladıktan sonra toplam hacim 10 ml olacak şekilde % 10 formol eklendi.

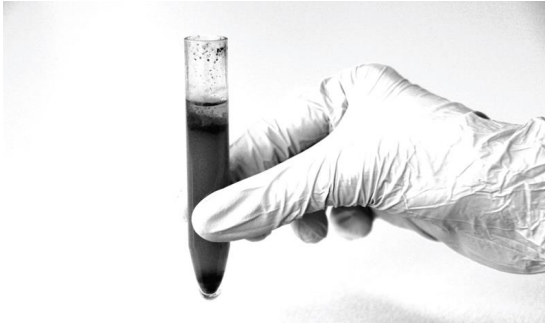
6. Süspansiyona 3 ml etil asetat eklendikten sonra, tüpün ağzı tıpa ile kapatılarak 30 saniye kuvvetlice çalkalandı. Çalkalama işlemi sonrası basıncı azaltmak için tıpa yavaşça gevşetilerek gaz çıkmasına izin verildi.

7. Süspansiyon 400-500 X g'de 2-3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpte 4 tabaka görüldü: a) en üstte etil-asetat , b) tüpün duvarlarına yapışan bir dışkı artığı tabakası, c) formol tabakası, d) çökelti (Şekil 12)

8. Dışkı artığı tıpacını ortadan kaldırmak için üst sıvı bir çubuk yardımı ile karıştırıldı (Şekil 13) ve üstteki 3 tabaka çökeltiyi kaybetmeden döküldü. Kenarlarda kalan sıvının az bir miktarının tekrar çökelti üzerine akması beklendi (Şekil 14).

9. Tek kullanımlık cam pipet kullanarak bu sıvı çökelti ile karıştırıldı. Çökeltinin hala katı olarak kaldığı durumlarda birkaç damla SF eklenerek vorteksle veya elle çalkalayarak karıştırıldı (Şekil 15).

10. İnceleme için iyotlu solüsyonlarla ve SF ile DTB preparatları hazırlandı (Şekil 16, 17).



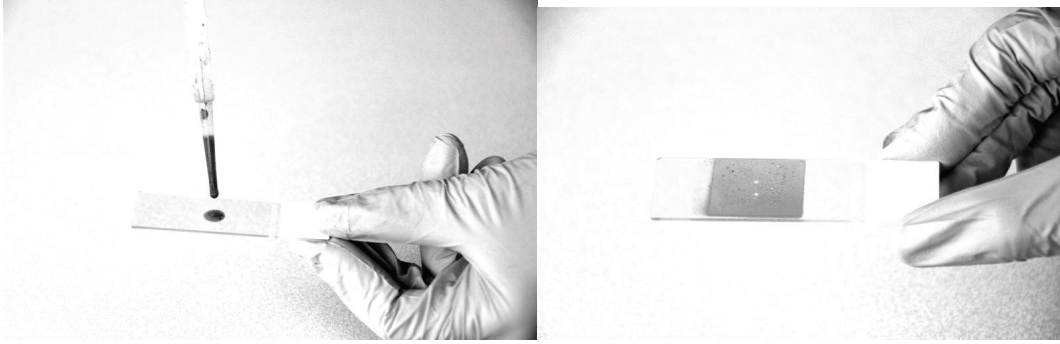
Şekil 12. Santrifüj sonrası tabakalar.



Şekil 13. Dışkı artığı tıpacının ortadan kaldırılması.



Şekil 14. Üst sıvı atıldıktan sonra tüp duvarındaki sıvının çökeltinin üzerine inmesi. **Şekil 15.** Çökeltinin vorteksle karıştırılması.



Şekil 16. Çökeltiden bir damlanın lam üzerine Aktarılması

Şekil 17. Çökeltinin lamelle kapatılarak doğrudan taze bakı (DTB) preparatının hazırlanması.

3.3.2.2. Modifiye Formol-Etil asetat Çöktürme Yöntemi (MFEAÇY)

Kullanılan Maddeler

1. % 10 Formol
2. SF
3. Etil asetat veya eter

Yöntem

1. 1-1,5 g taze dışkı 10 ml % 10'luk formol içinde uygun bir cam veya plastik kap içinde iyice süspansiyon edildi. Fiksasyonun tam olarak gerçekleşmesi için en az 30 dk beklendi. Eğer dışkı örneği sulu veya çok yumuşak ise materyalden 5-6 ml kullanıldı.

2. Süspansiyon iki tabaka gazlı bezden temiz bir kap içine süzüldükten sonra, 15 ml'lik konik santrifüj tüpüne aktarıldı.

3. Etil asetata dayanıklı cerrahi eldiven giydikten sonra, süspansiyona 3 ml eter veya etil asetat eklendi. Tüpün ağzı başparmakla sıkıca kapatılarak 30 saniye süresince kuvvetlice çalkalandı. Çalkalama sırasında oluşan gazın basıncını azaltmak için arada başparmak gevşetilerek yavaşça gazın çıkmasına izin verildi.

4. Süspansiyon 1000xg'de 3 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpte 4 tabaka görüldü: a) en üstte etil-asetat veya eter tabakası, b) tüpün duvarlarına yapışan bir dışkı artığı tabakası, c) formol tabakası, d) çökelti (Şekil 12)

5. Dışkı artığının oluşturduğu tıkaç tüp kenarından bir çubuk yardımı ile ayrıldı (Şekil 13) ve çökeltinin üstündeki 3 tabaka döküldü. Bundan sonra tüp içindeki az miktardaki sıvı çökelti üzerine aktı (Şekil 14).

6. Tek kullanımlık cam Pasteur pipeti ile bu sıvı çökelti ile karıştırıldı. Çökeltinin süspansiyon olmaması halinde birkaç damla SF eklenerek vorteksle çalkalandı (Şekil 15).

7. İnceleme için iyotlu solüsyonlarla ve SF ile DTB preparatları hazırlandı (Şekil 16, 17).

3.3.2.3. Modifiye Çinko Sülfat Yüzdürme Yöntemi (MÇSYY)

Kullanılan Maddeler

- 1.Çinko sülfat kristali
- 2.Distile su

Hazırlanan Solüsyon

- Çinko sülfat solüsyonu

1. 330 g çinko sülfat kristali 670 ml suda çözündürülerek % 33 ağırlık solüsyon elde edildi.

2. Su veya çinko sülfat kristalleri eklenerek dansitometre ile özgül ağırlığı formolde korunmuş örnekler için 1,20 g/l, taze örnekler için 1,18 g/l olacak şekilde hazırlandı.

3. Kullanılan maddeler, her kullanım öncesinde kontrol edildi. Formol, SF ve çinko sülfat temizliğinden ve görünür bir kontaminasyon olmadığından emin olundu. Çinko sülfatın özgül ağırlığı her ay düzenli olarak kontrol edildi.

Yöntem

1. Küçük bir ceviz boyutundaki (yaklaşık 5 ml) taze dışkı çinko sülfat solüsyonu içeren bir kap içinde iyice süspansiyon edildi.

2. Bu karışımla 0,5-1,0 ml çökelti elde etmek için 15 ml'lik konik tabanlı bir tüpe gazlı bez ile süzüldü. Genellikle 1. basamaktaki 8 ml dışkı/çinko sülfat solüsyonu karışımı yeterli geldi.

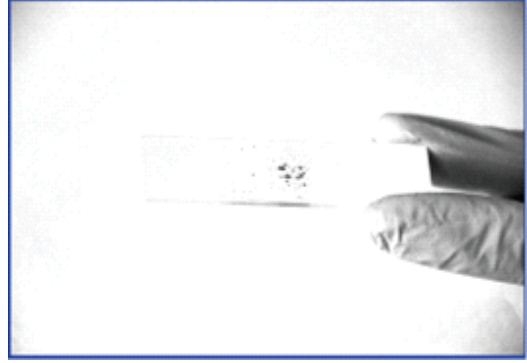
3. Tüpün ağzına kadar çinko sülfat solüsyonu eklendi. (Şekil 18)

4. Tüpün üzerine lamel kapatıldı. 25-30 dk beklendi.

5. 30 dk sonunda lamel dikkatlice tüpün üzerinden alınarak lamın üzerine yerleştirildi.(Şekil 19)

6. Lamelli tüm alan mikroskopun 10x objektifi ile tarandı.

7.Şüpheli bir yapı görüldüğünde detay için 40x objektif kullanıldı. Lamelli bölgenin en az 1/3'ü incelendi.



Şekil 18. Tüpün üzerine lamel yerleştirilmesi.

Şekil 19. Lamelin lam üzerine yerleştirilmesi.

3.3.2.4. Doymuş Tuzlu Su Yüzdürme Yöntemi (DTSYY)

Hazırlanan Solüsyon

- Doymuş tuzlu su solüsyonu

1. Kaynama noktasına ulaşan 1 litre su içerisinde çökelti oluşuncaya kadar tuz ilave edildi ve karıştırıldı. Çözünme işlemi bitince solüsyonun soğuması beklendi ve iki katlı gazlı bezden süzüldü. Özgül ağırlığı 1,13 g/l olarak ölçüldü.

2. Bu solüsyon sıkıca kapatılmış bir şişede saklandı. Kullanılan solüsyonun özgül ağırlığı sık sık kontrol edildi.

Yöntem

1. Küçük bir ceviz boyutundaki (yaklaşık 5 ml) taze dışkı 10 ml tuzlu su içeren bir kap içinde süspanse edildi.

2. Bu karışım 0,5-1,0 ml çökelti elde etmek için 15 ml'lik konik, yuvarlak tabanlı bir tüpe gazlı bez ile süzüldü. Genellikle 1. basamaktaki 8 ml dışkı/tuzlu su karışımı yeterli oldu.

3. Tüpün ağzına kadar tuzlu su eklendi.

4. Tüpün üzerine lamel kapatıldı. 25-30 dk beklendi.

5. 30 dk sonunda lamel dikkatlice altındaki sıvının damlamasına izin verilmeden tüpün üzerinden alınarak lama kondu.

Lamelli tüm alan 10x objektif ile tarandı.

7. Şüpheli bir yapı görüldüğünde detay için 40x objektif kullanıldı. Lamelli bölgenin en az 1/3'ü incelendi.

3.3.2.5. Şekerli Su Yüzdürme Yöntemi (ŞSYY)

Hazırlanan Solüsyon

- Şekerli su solüsyonu

1. Kaynama noktasına ulaşan 1 litre su içerisine çökelti oluşuncaya kadar şeker ilave edildi ve karıştırıldı. Çözünme işlemi bitince süspansiyon soğumaya bırakıldı. İki katlı gazlı bezden süzüldü. Özgül ağırlığı 1,32 g/l olarak ölçüldü.

2. Bu süspansiyon sıkıca kapatılmış bir şişede saklandı. Kullanılan süspansiyonun özgül ağırlığı sık sık kontrol edildi.

Yöntem

1. Küçük bir ceviz boyutundaki (yaklaşık 5 ml) taze dışkı 10 ml şekerli su içeren bir kap içinde iyice ezilerek, karıştırıldı.

2. Bu karışım 0,5-1,0 ml çökelti elde etmek için 15 ml'lik konik, yuvarlak tabanlı bir tüpe gazlı bez ile süzüldü. Genellikle 1. basamaktaki 8 ml dışkı/şekerli su karışımı yeterli oldu.

3. Tüpün ağzına kadar şekerli su eklendi.

4. Tüpün üzerine lamel kapatıldı. 25-30 dk beklendi.

5. 30 dk sonunda lamel dikkatlice tüpün üzerinden alınarak lama kondu.

6. Lamelli tüm alan 10x objektif ile tarandı.

7. Şüpheli bir yapı görüldüğünde detay için 40x objektif kullanıldı. Lamelli bölgenin en az 1/3'ü incelendi.

3.3.2.6. Tuzlu-Şekerli Su Yüzdürme Yöntemi (TŞSYY)

Hazırlanan Solüsyon

- Tuzlu-Şekerli su solüsyonu

1. Kaynama noktasına ulaşan 500'er ml su içeren ayrı ayrı kaplara çökelti oluşuncaya kadar şeker veya tuz ilave edildi ve karıştırıldı. Çözünme işlemi bitince ayrı ayrı süzülüp şişelere aktarıldı. Daha sonra 500 ml doymuş şekerli su, 500 ml de doymuş tuzlu su süspansiyonları karıştırıldı ve özgül ağırlığı 1,22 g/ml olarak ölçüldü.

2. Bu süspansiyon sıkıca kapatılmış bir şişede saklandı. Kullanılan süspansiyon özgül ağırlığı sık sık kontrol edildi.

Yöntem

1. Küçük bir ceviz boyutundaki (yaklaşık 5 ml) taze dışkı 10 ml tuzlu-şekerli su içeren bir kap içinde tamamen ezildi.

2. Bu karışım 0,5-1,0 ml çökelti elde etmek için 15 ml'lik konik tabanlı bir tüpe gazlı bez ile süzüldü. Genellikle 1. basamaktaki 8 ml dışkı/tuzlu-şekerli su karışımı yeterli oldu.

3. Tüpün ağzına kadar tuzlu şekerli su eklendi.

4. Preparat lamelle kapatıldı. 30 dk beklendi.

5. 30 dk sonunda lamelin altındaki sıvının damlamasına izin vermeden dikkatlice tüpün üzerinden alınarak lama kondu.

6. Lamelli tüm alan 10x objektif ile tarandı.
7. Şüpheli bir yapı görüldüğünde detay için 40x objektif kullanıldı. Lamelli bölgenin en az 1/3'ü incelendi.

3.3.3. Boyama Yöntemleri

3.3.3.1. Trikrom Boyama Yöntemi (TBY)

Çalışmamızda, her dışkı örneğine laboratuvarımızda rutinde kullanılan 500 ml SIGMA (Lot: 091k4355, Kat. No: HT10-3-16) hazır trikrom boyası ve bazı dışkı örnekleri için bizim aşağıdaki maddelerle hazırladığımız trikrom boyasının Wheatley modifikasyonu kullanıldı.

Kullanılan Maddeler

1. Chromotrope 2R
2. Light geen SF
3. Fosfotungstik asit
4. Glasiyal asetik asit
5. %90'lık etil alkol
6. D'Antoni'nin iyot solüsyonu
7. Ksilen ya da toluen
8. Karbol - ksilen

Hazırlanan Solüsyonlar

- Trikrom boyası
 - a. Temiz bir cam beher içinde 6 g chromotrope 2R, 3 g light geen SF ve 7 g fosfotungstik asite 10 ml glasiyal asetik asit eklendi.
 - b. Karıştırıldı ve karışım 30 dakika bekletildi.
 - c. 1000 ml distile su ekleyip iyice karıştırıldı.
 - d. Koyu mor renk alan boya, cam kapaklı koyu renkli bir şişede saklandı. Stabil olan boya sulandırılmadan kullanıldı.
- %90 asit alkol
 - a. 995,5 ml %90 etil alkole 4,5 ml glasiyal asetik asit eklendi.
(%90 alkol elde etmek için 93,75 ml %95'lik alkol, 6,25 ml distile su ile karıştırıldı.)

Yöntem

1. Schaudinn fiksativi veya PVA fiksativi ile tespit edilmiş lamlar %70'lik etil alkol içeren şaleye aktarıldı ve burada 2 dakika tutuldu.
2. %70'lik etil alkole demli çay renginde bir solüsyon elde edene kadar D'Antoni'nin iyot solüsyonu eklendi, lamlar bu solüsyonda 3-5 dakika tutuldu.

3. Lamlar iki ayrı %70'lik alkol solüsyonunun her birinde 2-5 dakika tutuldu.
4. Schaudinn fiksatifile tespit edilmiş lamlar 5-8 dakika, PVA fiksatifile tespit edilmiş lamlar ise 8-10 dakika sulandırılmamış trikrom boyasında tutuldu.
5. Lamları boyadan çıkarıp alt köşelerini kağıt havlu üzerine birkaç kez değdirerek fazla boyanın süzülmesi sağlandı.
6. Fazla boyası süzülmüş dik tutulan lamlar 2-3 saniye %90 asit alkole batırıldı, kağıt havluya değdirdikten sonra önce %95 alkolde sonra, %100 alkol veya karbol-ksilen solüsyonunda çalkalandı ve ikinci %100 alkol veya karbol-ksilen solüsyonuna aktararak boya fazlası ortamdan uzaklaştırıldı.
7. Lamlar ikinci ve üçüncü %100 alkol veya karbol ksilen solüsyonunda 2-5'er dakika tutuldu.
8. Lamlar iki ayrı ksilen veya toluen içeren şalede 2-5'er dakika tutuldu.
9. Lamların üzerine Entellan® veya diğer bir kaplama solüsyonu damlatarak lamelle kapatıldı ve saklandı.

TBY'nde kullandığımız %95 alkol solüsyonları her gün, Schaudinn fiksatifi, %70 alkol solüsyonları, %90 asit alkol ve %100 alkol solüsyonları her hafta değiştirildi. %70 alkol-iyot solüsyonunun rengi açıldığında, ksilen her ay veya dibinde tortu oluştuğunda, trikrom boyası ise her ay değiştirildi, bu süre içinde eksilen boya stoktan tamamlandı.⁽³⁷⁾

3.4. Selofan Bant Yöntemi

Kullanılan Maddeler

1. Saydam selofan bant
2. Abeslang (dil basacağı)
3. Lam (rodajlı kısımda hasta ismi yazılı olmalı)

Yöntem

1. Yaklaşık 7-8 cm uzunluğundaki selofan bant, lamın rodajlı kısmından 1,5 cm dışa taşacak şekilde (serbest uç), diğer tarafı ise katlanarak lamın aşağı kısmına yapışacak (sabit uç) şekilde bir mikroskop lamı üzerine yapıştırıldı.
2. Çalışma öncesi eldiven giyildi.
3. Daha sonra bantın sabit ucunun olduğu taraftan lamın alt kısmına 2cm dışa taşacak şekilde paralel olarak bir abeslang (tek kullanımlık çubuk) yerleştirildi. Bant serbest ucundan kaldırılıp soyularak abeslang üzerinden, yapışkan kısmı dışa gelecek şekilde arka kısma doğru döndürüldü.
4. Abeslanga dolanmış bantın yapışkanlığı tarafı, perianal bölgenin sağ ve sol kısımlarına ve anüsün mukozal kısmına değdirildikten sonra, yapışkanlığı kısım tekrar lam üzerine geri yapıştırıldı.
5. Selofan bantlı lam plastik Petri kabı, ya da bir kutu içine konuldu.

6. Selofan bantlı lam, ışık mikroskopunun x10'luk objektifiyle, kısık ışıkta ve kondansör aşağıda tutularak incelendi.

7. Yumurtaların temiz bir sahada, daha iyi görünmesini sağlamak için, gerektiğinde bant bir ucundan soyularak orta kısma bir damla toluen, ya da ksilen damlatıldı ve bant tekrar eski yerine yapıştırıldıktan sonra incelendi.

Bu yöntem, kişi sabahları kalkar kalkmaz, banyo yapmadan, tuvalete gitmeden ya da anal bölge temizlenmeden önce uygulandı.

3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

Tüm istatistiksel analizler SPSS bilgisayar programında, ki-kare yöntemi ile yapıldı ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmada Temmuz 2012 – Temmuz 2013 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran hastalardan rastlantısal seçilen 404'ünün dışkı örnekleri incelendi. Çalışmaya dahil edilen 404 hastanın 203'ü (% 50,3) erkek, 201'i (% 49,8) kadın hastalardı. Hastaların 163'ü 18 yaş altı, 79'u 19-34 yaş arası, 127'si 35 yaş üstü idi. Bu 404 hastanın 26'sı acil poliklinik, 146'sı çocuk sağlığı, 61'i deri ve zührevi hastalıkları, 50'si gastroenteroloji, 44'ü göğüs alerji, 41'i iç hastalıkları ve 36'sı diğer polikliniklerden parazitoloji laboratuvarına yönlendirilmişti. 123 hastanın ilçelerden, 271 hastanın ise il merkezlerinden başvurduğu belirlendi.

Hasta grubu içerisinde görülen klinik belirtiler karın ağrısı, ishal, kusma, gaz, kaşıntı, alerji ve kilo alamama idi.

Tüm dışkı örneklerine DTBY (SF-Lugol); yoğunlaştırma amacı ile iki ayrı çöktürme (FEAÇY, MFEAÇY) ve dört ayrı yüzdürme yöntemi (MÇSYY, DTSYY, ŞSYY, TŞSYY) ile TBY uygulandı.

Dışkı örneklerine uygulanan DTBY, FEAÇY, MFEAÇY, MÇSYY, DTSYY, ŞSYY, TŞSYY ve TBY'den en az biri ile 404 olgunun toplam 72'sinde *Blastocystis* türleri, *G.intestinalis*, *E.coli*, *D.fragilis* veya *I.buttschlii* belirlendi.

DTBY ile 404 olgunun 61'inde *Blastocystis* türleri, 5'inde *G. intestinalis*, 1'inde *E. coli* ve 1'inde ise *Iodamoeba buttschlii* saptandı.

Çöktürme yöntemlerinden FEAÇY ile 404 hastanın 58'inde *Blastocystis türleri*, 6'sında *G. intestinalis*, 2'sinde *E. coli* bulunurken, MFEAÇY'nde ile 61'inde *Blastocystis türleri*, 7'sinde *G. intestinalis*, 2'sinde *E. coli* saptandı.

Yüzdürme yöntemleri ile çalışma grubunda saptanan parazitlerin dağılımı Tablo 2'de özetlenmiştir.

TBY uygulandığında ise 404 hastanın 61'inde *Blastocystis türleri*, 7'sinde *G. intestinalis*, 2'sinde *E. coli*, 1'inde *D. fragilis* ve 1'inde *I. butschlii* saptandı. (Tablo 2)

Tablo 2. 404 hastada saptanan parazitlerin dağılımı.

	<i>Blastocystis</i> Türleri	<i>G. intestinalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>D. fragilis</i>	<i>I. butschlii</i>	Toplam
DTBY	61 (89,7)	5 (7,4)	1 (1,5)	-	1 (1,5)	68 (94,4)
FEAÇY	58 (87,8)	6 (9,1)	2 (3)	-	-	66 (91,7)
MFEAÇY	61 (87,1)	7 (10)	2 (2,9)	-	-	70 (97,2)
MÇSYY	6 (50)	6 (50)	-	-	-	12 (16,7)
DTSYY	6 (54,5)	5 (45,5)	-	-	-	11 (15,3)
ŞSYY	6 (60)	4 (40)	-	-	-	10 (13,9)
TŞSYY	6 (54,5)	5 (45,5)	-	-	-	11 (15,3)
TBY	61 (8,5)	7 (9,7)	2 (2,8)	1 (1,4)	1 (1,4)	72 (100)

*Yüzdeler satır yüzdesidir.

DTBY:	Doğrudan taze baki yöntemi
FEAÇY:	Formol etil-asetat çöktürme yöntemi
MFEAÇY:	Modifiye formol etil-asetat çöktürme yöntemi
MÇSYY:	Modifiye çinko sülfat yüzdürme yöntemi
DTSYY:	Doymuş tuzlu su yüzdürme yöntemi
ŞSYY:	Şekerli su yüzdürme yöntemi
TŞSYY:	Tuzlu-şekerli su yüzdürme yöntemi
TBY:	Trikrom boyama yöntemi

Saptanan protozoonların yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 3'te özetlenmiştir. Bu grupta en sık görülen parazit olarak *Blastocystis türleri* gözlenmiştir.

Tablo 3. Yaş gruplarına göre saptanan protozoonların dağılımı.

	18 yaş ve altı (n=163) (40,5)	19-34 yaş arası (n=79) (19,5)	35 yaş ve üstü (n=127) (31,4)	Toplam n(%)*

<i>Blastocystis</i> türleri	16 (9,8)	16 (20,3)	29 (22,8)	61 (52,9)
<i>G. intestinalis</i>	6 (3,7)	0	1 (0,8)	7 (4,5)
<i>E. coli</i>	1 (0,6)	1 (1,3)	0	2 (1,9)
<i>D. fragilis</i>	0	0	1 (0,8)	1 (0,8)
<i>I. butschlii</i>	0	0	1 (0,8)	1 (0,8)
Toplam	23 (14,1)	17(21,5)	32 (25,2)	72 (60,8)

*Yüzdeler sütun yüzdesidir.

Farklı yöntemlerin farklı parazitleri saptama yetenekleri karşılaştırıldığında *Blastocystis* türlerini saptamada DTBY'nin çöktürme yöntemleri ile arasında anlamlı bir fark saptanamazken ($p>0,5$), yüzdürme yöntemlerinden anlamlı düzeyde ($p<0,001$) daha başarılı bulunmuştur.

G. intestinalis'i saptamada ise çöktürme yöntemlerinden MFEAÇY, FEAÇY'ye oranla daha iyi sonuçlar vermiş, yüzdürme yöntemleri arasında ise en iyi yöntem MÇSYY olarak belirlenmiştir.

Dışkı örnekleri *E. coli* açısından ele alındığında, çöktürme yöntemlerinin DTBY'den daha başarılı olduğu gözlemlendi.

5. TARTIŞMA

Gastrointestinal parazitlerin tanısında dışkıda helmint yumurta veya larvalarının ve/veya protozoa trofozoit veya kistlerinin gösterilmesi gereklidir. Bunun için uygun koşullarda alınmış olan dışkı örnekleri yine uygun yöntemlerle incelenmelidir. DTBY, hem kısa zaman alması hem de uygulamadaki kolaylıkları nedeniyle hemen her parazitoloji laboratuvarında öncelikli olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem taze dışkı örneklerinde protozoa trofozoitlerinin hareketli olarak izlenmesine olanak verirken, eritrosit ve lökosit varlığını da gözleme olanağı sağlamaktadır. Yumurta, trofozoit ya da kistlerin dışkıda geçici olarak bulunması ya da sayının değişkenlik göstermesi halinde üç ayrı günde alınmış olan üç ayrı

örneğin değerlendirilmesi taze bakının başarısını arttırmaktadır. Ancak, protozoa kistleri ve helmint yumurtalarının az sayıda bulunmaları halinde, DTBY yetersiz kalmakta, parazite ait yapıları dansite farkından yararlanarak fekal materyalden ayırıp yoğunlaştırmak, tanı şansını arttırmaktadır.⁽⁹⁾

Ülkemizde gastrointestinal sistemi tutan paraziter enfeksiyonların görülme sıklığının İç Anadolu'da^(38,39) %8,49-30,8; Akdeniz'de^(40,41) %15,15-55,7; Marmara'da^(42,43) %1,97-21,45; Doğu Anadolu'da^(44,45) %17,2-26,09; Ege'de^(46,47) %12,83-48,57 ve Güneydoğu'da^(48,49) %49,2-90,47 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir. Ülkemizde yaş gruplarına göre parazitlerin dağılımını araştırmaya yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Çocuk yaş grubunda, Güneydoğu Anadolu'da yapılan bir çalışmada *G. intestinalis* ve *E. vermicularis*'in⁽⁵⁰⁾ Doğu Anadolu Bölgesi'nde yapılan diğer bir araştırmada ise⁽⁵¹⁾ *G. intestinalis* ve *E. coli*'nin en sık rastlanan parazitler olduğu bildirilmiştir. Edirne'de yapılan benzer bir araştırmada⁽⁵²⁾ çocuk yaş grubunda en sık rastlanan parazitler olarak *G. intestinalis* ve *E. vermicularis*'in saptandığı, İzmir'de yapılan bir çalışmada bu yaş grubunda en sık rastlanan parazitler olarak *G. intestinalis* ve *E. vermicularis*'in görüldüğü bildirilmiştir^(53,54). Yapılan bu çalışmalarda genellikle tek başına DTBY uygulanmıştır. Nadiren birkaç dışkı örneği için diğer yöntemlerden yararlanılmıştır.

Bağırsakta protozoon ve helmintlerin neden olduğu paraziter hastalıklar tüm dünyada iki milyardan fazla insanı etkilemektedir⁽⁵⁵⁾. Bu hastalıklar, az gelişmiş ülkeler başta olmak üzere, halen dünyada önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir⁽⁵⁶⁾. Bu ülkelerde alt yapı yetersizliği, hijyenik kurallara yeterince uyulmaması ve çevre şartlarının parazitlerin yaşama ve yayılması için uygun olması nedeniyle, bağırsak parazitlerine bağlı enfeksiyonlar güncelliğini korumaktadır^(57,58,59).

Parazitlerin insanda görülme sıklığına etki eden olası faktörlerden biri de cinsiyettir. Bu konuda erkeklerde daha sık parazite rastlandığını belirten çalışmalar olduğu gibi^(57,59) iki cins arasında bir fark bulunmadığını belirten çalışmalara da rastlanmaktadır^(60,61,62).

Coğrafik özellikler ve iklim koşulları göz önüne alındığında en sık görülen parazitler açısından, ülkeler arasında önemli farklılıklar bulunduğu görülmektedir. Brezilya'da bağırsak parazitlerinin insidansına yönelik bir çalışmada, 5 yaşın altında en sık görülen parazitlerin *G. intestinalis*, *Ascaris lumbricoides* ve *Trichuris trichiura* olduğu⁽⁶⁰⁾, Kuveyt'te yapılan çalışmada ise *Blastocystis* türleri ve *Endolimax nana*'nın en sık rastlanan parazitler olduğu bildirilmektedir⁽⁶¹⁾. Çocuk yaş grubunda, tek başına (en sık *E. vermicularis*) helmint enfeksiyonlarının görüldüğünü belirten çalışmalara da rastlanmaktadır⁽⁶³⁾

Blastocystis türleri, immün direnci düşmüş kişilerde uzun süren ve tekrarlayıcı diyarelere neden olabildiği gibi, turist diyaresi etkeni olarak da bilinmektedir. İnsidansın gelişmekte olan ülkelerde %13-50, gelişmiş ülkelerde ise %1,5-10 civarında olduğu; bulantı, kusma, ishal, karın ağrısı, gaz, uykusuzluk, iştahsızlık, kilo kaybı, kaşıntı, tenezm gibi semptomlara sebep olabildiği; bu nedenle potansiyel bir patojen olarak tedavi edilmesi gerektiği bildirilmektedir.⁽⁶⁴⁾

Çalışmamızda Ege Bölgesi'nde yer alan Manisa ilindeki Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi'nde 404 hastanın 72'sinde parazit saptanmıştır. En sık rastlanan parazit 61 olgu ile *Blastocystis* türleri olmuştur. DTBY ve TBY bu 61 hastanın tümünü saptamış, çöktürme yöntemleri ile 58, yüzdürme yöntemleri ile 6 hastada tanı konabilmiştir. *Blastocystis* türlerini saptanmada DTBY ve TBY en etkili yöntemler olarak belirlenmiştir.

G. intestinalis özellikle çocuklarda sık rastlanan ve yurdumuzda kronik ishalin en sık sebebinin oluşturduğu protozoondur⁽⁶⁵⁾. Enfeksiyon insanlara genellikle enfekte kistleri içeren su ve besinlerin oral yolla alınması ile bulaşır ve sıklıkla asemptomatiktir. Ancak bazen ishal, karın ağrısı, gaz gibi sindirim sistemi belirtilerine, pis kokulu ve yağlı kronik ishale neden olabilir. Kilo kaybı, özellikle IgA eksikliği olan çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği gözlenebilir. Yağ emilimi bozulabilir; folik asit, B12 ve A vitamini eksiklikleri oluşabilir.

Çalışmamızda MFEAÇY ve TBY ile *G. intestinalis* enfeksiyonu saptanan 7 olgunun tümünde enfeksiyon etkenleri saptanırken; FEAÇY ve MÇSYY ile 6 olguda, DTBY, DTSYY ile 5 olguda, ŞSYY ile 4 olguda parazitler gösterilmiştir.

E. coli saptanan 2 dışkı örneğinin 1'i DTBY ile saptanabilirken, her iki çöktürme yöntemi 2 dışkı örneğinde de başarılı olmuş, ayrıca *E. coli* kistlerinin saptanmasını kolaylaştırmıştır. TBY de her iki dışkı örneğinde pozitif sonuç vermiştir.

D. fragilis tanısı, ardışık günlerde veya gūnaşırı alınan en az üç dışkı örneğinin trikrom veya demir hematoksilin gibi kalıcı boyalarla incelenmesine dayanmaktadır. Dışkı örneklerinden hazırlanan taze preparatlarda *D. fragilis*, *E. nana* büyüklüğünde ve yuvarlaktır. Çekirdek yapısı DTBY ile görülemez. Kesin tanı için fikse edilmiş dışkı örnekleri, trikrom veya demir hematoksilin ile boyanmalıdır. Trofozoitler birkaç saatte dejenere olduğundan, hızlı fiksasyon gereklidir. Bu amaçla, PVA ve Schaudinn'in fiksatifi kullanılabilir. Bu fiksatifler civa içerdiği için toksik olması nedeniyle, çinko sülfatla hazırlanmış şekilleri de tanıda kullanılabilir⁽⁶⁶⁾. Çoğu laboratuvarında rutin olarak kullanılmamakla birlikte, tanıda kullanılan en duyarlı metotlardan birisi de kültürdür. Kültür için en sık kullanılan besiyeri, Robinson besiyeridir. Dobell ve Boeck Drobohlav besiyerinde

de kolaylıkla üretilmektedir ⁽⁶⁷⁾. Çaişmamızda *D. fragilis* sadece TBY ile 1 örnekte saptandı.

I. butschlii sadece bir dışkı örneğinde DTBY ve TBY ile saptanmıştır. Çöktürme ve yüzdürme yöntemleri bu parazit için etkili sonuçlar vermemiştir.

Bu sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, gerçek parazit sıklığını saptamada hangi yöntemlerin kullanıldığı büyük önem taşır. Farklı parazitlerin farklı evrim şekillerinin tanınmasında kullanılan yöntemlerin etkinlikleri değişiklik gösterebilir.

Dışkı örneklerinin parazitolojik incelemelerinde ucuzluğu ve kolay uygulanabilirliği nedeni ile en sık kullanılan yöntem DTBY'dir. Ancak bu yöntemin duyarlılığı düşük, hata payı ise yüksektir. Parazitolojik tanıda kalıcı boyama yöntemlerinin dışında en önemli yöntem gubu çöktürme ve yüzdürme yöntemleri olarak ikiye ayrılan yoğunlaştırma yöntemleridir. Yaptığımız çalışmamızın amaçlarından biri farklı yoğunlaştırma yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlarını birbirleri ile karşılaştırmaktı.

Yoğunlaştırma yöntemlerinde son zamanlarda eterin yanıcı bir madde olmasından dolayı; eter yerine etil asetatın da kullanılabileceği bildirilmiştir. Dışkı örnekleri *Taenia saginata*, *T. solium*, *Hymenolepis nana* yumurtaları veya *G. intestinalis* kistleri içerdiği zaman etil asetat eterden daha etkilidir; bu yumurta veya kistlerin dışkı artığı tıkaçına takılma eğilimleri daha azdır. Etil asetatın dezavantajı ise taze yağlı veya mukuslu dışkı örneklerinde bu maddelerin giderilmesinde eter kadar etkili olmamasıdır.⁽²¹⁾ Çalışmamızda her iki çöktürme yönteminde güvenlik açısından daha avantajlı olan etil asetat tercih edilmiştir.

Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı'nda uzun süredir uygulanan MFEAÇY, standart FEAÇY'ye oranla daha az aşama içermekte ve buna bağlı olarak daha kısa sürmektedir. Bununla beraber, mikroskop alanında daha fazla dışkı kalıntısı gözlenmektedir. Her iki çöktürme yönteminde lamın üzerine alınan dışkı çökeltisi lamelin kapatılmasını engelleyecek kalınlıkta ise, bir kalemin arka ucuyla lamel üzerine bir iki kez vurulması lamelin daha iyi oturmasını sağlayabilir.

Çöktürme yöntemleri uygulanan 404 dışkı örneği pozitiflik oranı açısından değerlendirildiğinde, MEAÇY FEAÇY'ye oranla daha fazla dışkı örneği için pozitif sonuç ortaya çıkarmıştır. FEAÇY 404 hastanın 66'sında, MFEAÇY ise 70'inde pozitif sonuç vermiştir. MFEAÇY'nin zaman açısından daha kısa sürmesi de bu yöntemin avantajını arttırmaktadır ve dışkı laboratuvarlarında rutin yoğunlaştırma yöntemi olarak kullanılması tavsiye edilebilir.

Yüzdürme yöntemlerinin temel ilkesi yüksek özgül ağırlıklı süspansiyonların protozoon kistlerini ve bazı helmint yumurtalarını dışkı artıklarından bağımsız olarak yüzdürmesidir. Yüzdürme sonrası elde edilen materyal dışkı artıklarından arındığından parazitler çöktürme yöntemi ile elde edilen çökeltiye oranla daha kolay fark edilir. Protozoon kistleri ve nematod yumurtalarının çoğu bu yöntemlerle yüzer.^(11,19,21)

Yüzdürme yöntemlerinin en önemli dezavantajı kullanılan kimyasal maddelerin parazitlerden daha büyük yoğunluğa sahip olmaları nedeniyle yumurta ve kist duvarlarının bir süre sonra büzüşmesi ve morfolojilerinin bozulması ile tanı koymanın güçleşmesidir. Bu nedenle yüzdürme yöntemleri kullanıldığında, yüzey tabakalarından alınan preparatlar 10-20 dakika içinde incelenmelidir. Kist ve yumurtaların kullanılan kimyasal maddelere fazla maruz kalmasından kaçınmak için bir defada yalnız birkaç dışkı örneğine yüzdürme yöntemi uygulanmalıdır. Yüzdürme yöntemlerinin diğer bir önemli dezavantajı, özellikle 1,20 g/ml'den daha düşük yoğunluktaki kimyasal maddelerin kullanıldığı yöntemlerde trematodların, bazı sestodların ve döllenenmiş *Ascaris* yumurtalarının yüzmemesidir. Bu nedenle rutin yoğunlaştırma yöntemi olarak yüzdürme yöntemlerini kullanan laboratuvarlarda hem yüzey filmi, hem de çökelti incelenmelidir.^(11, 21)

Parazitoloji laboratuvarlarında yüzdürme yöntemleri arasında en sık tercih edileni ÇSY'Y'dir. ÇSY'Y'nin protozoon kistlerini, *Hymenolepis nana* ve kancalı kurt yumurtalarını saptamada, formol - etil asetat (eter) yöntemlerinden daha etkili olduğu bildirilmiştir.⁽²²⁾ Ancak bu yöntemde kullanılan çinkonun pahalı olması ve santrifüj gerektirmesi nedeniyle yöntemin santrifüj gerektirmeyen bir modifikasyonu ve çinko yerine tuz, şeker gibi alternatifler de kullanılmaktadır.

Türkiye'de parazitoloji laboratuvarlarında uzun süre doymuş tuzlu su yüzdürme yöntemi kullanılmıştır; oysa bu yöntem daha çok veteriner parazitolojisinde tercih edilmektedir. Doymuş tuzlu su ucuz ve hazırlanması kolay bir çözeltilidir. Bu yöntemin uygulama aşamasında santrifüj kullanılmaması, yöntemin uygulanabilirliğini arttırmaktadır. Yöntemin uygulama aşamasında tüpün üzerinde bulunan lamelde tuzun hemen kristalleşmesi lamelin lam üzerine kapatılmasını zorlaştırmaktadır. Ancak lamelin kenarından pipet yardımıyla bir miktar su verildiğinde lamelin kapanması kolaylaşmaktadır.

Çalışmamızda amaçlarımızdan biri de santrifüj kullanma olanağı bulunmayan sağlık merkezlerinde özellikle helmintlere yönelik ve saha çalışmalarında kullanılabilir yöntem/yöntemlerini karşılaştırarak ideal yöntem/yöntemleri bulmaktır.

Çalışmamızda santifüj kullanımını gerektirmeyen yöntemlerden MÇSYI ile 12, DTSYI ile 11, ŞSYI ile 10, TŞSYI ile 11 dışkı örneğinde parazit saptanmış; MÇSYI ile DTSYI, ŞSYI ve TŞSYI arasında anlamlı bir fark ($p>0,5$) bulunamamıştır. Şekerli ve tuzlu-şekerli su preparatlarının zaman açısından MÇSYI'den daha kısa sürdüğü, ancak MÇSYI'nin daha iyi sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Şekerin çok kısa sürede marmelatlaşması, şeker içeren ŞSYI ve TŞSYI'de preparat hazırlanmasını zorlaştırmaktadır.

Sonuçta, elde ettiğimiz veriler, MÇSYI'de kullanılan çinkonun daha pahalı olması göz önüne alındığında, bu yöntem uygulanmadığında DTSYI'nin kullanılabilceğini düşündürmüştür.

Dışkı örneklerinin pozitifliğini arttırmada kalıcı boyalı yaymalar oldukça önemlidir. Dışkı örneğinin iyi boyanabilmesi ve organizmaların karakteristik morfolojilerinin ortaya çıkmasını sağlamak için dışkı örneğinin iyi tespit edilmesi önem taşır. Çalışmamızda, her dışkı örneği için civa klorür ve bakır sülfat içeren iki farklı Schaudinn fiksatifini kullanıldı. Ancak saptanan parazitlerin netliği açısından, bakır sülfatın kullanıldığı Schaudinn fiksatifini, civa klorür kullanılan Schaudinn fiksatifine kadar başarılı olmadı. Tespit süresi organizmanın türüne ve hangi evrede bulunduğuna göre belirlendi ve en az 30 dakika yapıldı.

Çökelti oluşumunu engellemek için, boyamadan önce, Schaudinn fiksatifini ile tespit edilen dışkı yaymalarından civa klörür ve bakır sülfatı uzaklaştırmak için lamlar iyotlu %70'lik etil alkol solüsyonuna daldırıldı. Civa klörürün veya bakır sülfatın uzaklaştırılmasını sağlayan alkol iyot solüsyonu sık sık değiştirildi, özellikle kırmızımsı kahverengi olan rengi solmaya başladığında kullanılmadı.

Çalışmamızda, her dışkı örneğine laboratuvarımızda rutinde kullanılan 500 ml SIGMA (Lot: 091k4355, Kat. No: HT10-3-16) hazır trikrom boyası ve bazı dışkı örnekleri için bizim 3.3.3.1'de belirtilen malzemelerle hazırladığımız trikrom boyası kullanıldı. Rutinde kullanılan trikrom boyasının, patoloji laboratuvarları için daha uygun olmasından dolayı; kendi hazırladığımız trikrom boyası parazitleri boyamada, saptamada ve ayırt etmede daha başarılı bulunmuştur.

TBY'nin laboratuvarlarda kullanımının yaygınlaşması, modifiye yöntemlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalara yol açmıştır. İnceleme için ancak az sayıda dışkı örneği kabul eden ve parazit tanısı için sınırlı sayıda personeli ve zamanı olan laboratuvarlar için hızlı bir TBY tanımlanmıştır.⁽⁶⁸⁾ Bu yöntemle boya, alkol ve berraklaştırma ajanları direk olarak lamların üzerine uygulanır, lamlar 10 dakika içinde boyanabilir ve sonuçlar standart yöntemlerle karşılaştırılabilecek durumdadır.

TBY'de berraklaştırma ajanı olarak kullanılan ksilen ve benzeri kimyasal maddelerin kullanımı sonucu ortaya çıkan potansiyel toksik sorunlar nedeni ile ksilenin yerine geçebilecek yanıcı ve toksik olmayan, doğada kolay yok olabilen maddeler araştırılmış, Hemo De adlı bir maddenin kullanılabilirliği bildirilmiştir.⁽⁶⁹⁾

Boyanmış lamalar yüksek derecede alkol ve berraklaştırma ajanlarıyla dehidrate edilirken, suyun sonraki solüsyonlara taşınmasını önlemek için bu solüsyonlar sık değiştirildi. Çok sayıda lam boyanırsa solüsyonlar sık değiştirildi ve kapakları sızıntıya izin vermeyecek şekilde kapalı tutuldu. Suyun bir solüsyondan diğerine taşınmasını azaltmak için %100 alkol ve ksilen basamaklarında ikişer şale kullanıldı. Bazı laboratuvarlar dehidratasyon yönteminde %100 alkolün yerine karbol-ksilen solüsyonu kullanılmaktadır.⁽²⁵⁾

Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular, dışkı örneklerinin parazitolojik incelemesinde DTYB'nin yararlı olduğunu, ancak ideal bir inceleme için her dışkı örneğine bir yoğunlaştırma yöntemi ile kalıcı bir boyanın da uygulanmasının gerektiğini düşündürdü. Yoğunlaştırma yöntemi olarak eğer santrifüj ve olanak varsa bir çöktürme yöntemini tercih edilmeli; yoksa MÇSYY veya DTSYY uygulanmalıdır. Verilerimiz ayrıca MFEAÇY'nin FEAÇY kadar etkin ve ondan daha kolay uygulanabilir olduğunu göstermiştir. TBY ise özellikle Wheatley modifikasyonu uygulandığında protozoonların tanısında ve ayırt edilmesinde son derece başarılı olmuştur.

6. SONUÇ

Bu çalışmada Temmuz 2012 – Temmuz 2013 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran hastalardan rastlantısal olarak seçilen 404 hastanın dışkı örnekleri incelendi. Tüm dışkı örneklerine DTBY; yoğunlaştırma amacı ile iki ayrı çöktürme (FEAÇY, MFEAÇY) ve dört ayrı yüzdürme yöntemi (MÇSYY, DTSYY, ŞSYY, TŞSYY) ile TBY uygulandı.

Bu yöntemlerden en az biri ile 404 olgunun 72'sinde (% 17;8) bağırsak protozoonları saptandı. Bu protozoonlar ve hasta sayıları şöyledi: *Blastocystis*

türleri 61 (%15), *G. intestinalis* 7 (%1,7), *E. coli* 2 (%0,5), *D. fragilis* 1 (%0,3), *I. butschlii* 1 (%0,3).

DTBY ile 404 olgunun 61'inde *Blastocystis* türleri, 5'inde *G. intestinalis*, 1'inde *E. coli*, 1 *Dientamoeba fragilis* ve 1'inde ise *Iodamoeba butschlii* saptandı.

Çöktürme yöntemlerinden FEAÇY ile hastaların 58'inde *Blastocystis türleri*, 6'sında *G. intestinalis*, 2'sinde *E. coli* bulunurken, MFEAÇY ile 61'inde *Blastocystis türleri*, 7'sinde *G. intestinalis*, 2'sinde *E. coli* saptandı.

Yüzdürme yöntemleri ile olgularda saptanan parazitler şöyleydi: MÇSY Y ile 6 *Blastocystis* türleri, 6 *G. intestinalis* (toplam 12); DTSY Y ile 6 *Blastocystis* türleri, 5 *G. intestinalis* (toplam 11); ŞSY Y ile 6 *Blastocystis* türleri, 4 *G. intestinalis* (toplam 10); TŞSY Y ile 6 *Blastocystis* türleri, 5 *G. intestinalis* (toplam 11).

MÇSY Y ile DTSY Y, ŞSY Y ve TŞSY Y arasında anlamlı bir fark ($p>0,5$) bulunamadı. Şekerli ve tuzlu-şekerli su preparatlarının zaman açısından MÇSY Y'den daha kısa sürdüğü, ancak MÇSY Y'nin daha iyi sonuçlar verdiği görüldü. Şekerin çok kısa sürede marmelatlaşmasının, şeker içeren ŞSY Y ve TŞSY Y'de preparat hazırlanmasını zorlaştırdığı gözlemlendi.

TBY uygulandığında ise 404 hastanın 61'inde *Blastocystis türleri*, 7'sinde *G. intestinalis*, 2'sinde *E. coli*, 1'inde *D. fragilis* ve 1'inde *I. butschlii* saptandı.

Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda; yoğunlaştırma yöntemi olarak, eğer santrifüj ve olanak varsa, bir çöktürme yönteminin tercih edilmesinin gerektiği söylenebilir. Verilerimiz ayrıca MFEAÇY'nin FEAÇY kadar etkin, ondan daha kolay ve kısa sürede uygulanabilir olduğunu göstermiştir. Bu nedenle MFEAÇY'nin dışkı laboratuvarlarında rutin yoğunlaştırma yöntemi olarak kullanılması tavsiye edilebilir.

Saha koşulları uygun olmadığında, santrifüj veya zaman bulunmaması gibi durumlarda ise yoğunlaştırma yöntemi olarak MÇSY Y, o da uygulanamıyorsa DTSY Y kullanılmasının yararlı olacağı düşünüldü.

Dışkı örneklerinin parazitolojik incelemesinde DTBY'nin yararlı olduğu, ancak ideal bir inceleme için her dışkı örneğine bir yoğunlaştırma yöntemi ile kalıcı bir boyanın da uygulanmasının gerektiğini sonucuna varıldı.

D. fragilis gibi parazitlerin tanısı için gerekli, protozoon trofozoitlerinin ayrımı için çok yararlı olan TBY'nin, özellikle Wheatley modifikasyonu çok başarılı bulunmuştur. Bu yöntem, farklı morfolojik şekil ve boyutlara sahip olabilen *Blastocystis* türlerinin ayırıcı tanısında da yararlı olmuştur.



7. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU



T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Sayı :129
Konu : Araştırma Hakkında

04.04.2012

Prof. Dr. Ülgen Zeki OK

“Dışkıının parazitolojik incelenmesinde kullanılan çeşitli yoğunlaştırma yöntemlerinin karşılaştırılması” isimli araştırmanız Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve etik açıdan uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Ercüment ÖLMEZ
Başkan

HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ

ARAŞTIRMANIN ADI :Dışkının parazitolojik incelenmesinde kullanılan çeşitli yoğunlaştırma yöntemlerinin karşılaştırılması.

ÇALIŞMANIN AÇIK ADI: Dışkı inceleme yöntemlerinin karşılaştırılması ve daha avantajlı yöntemlerin belirlenmesi. **Gönüllünün Baş Harfleri <<**

>>

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağına çalışmanın neleri içerdiğini, olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. **Eğer bir başka çalışmada da yer alıyorsanız bu çalışmada yer alamazsınız.**

BU ÇALIŞMAYA KATILMAK ZORUNDA MIYIM?

Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirseniz imzalanmanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Eğer isterseniz, bu çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI NEDİR?

Dışkı örneklerinin parazitolojik açıdan incelenmesi sırasında dışkıda seyrek bulunan bazı yapıların yoğunlaştırılarak daha iyi tanı konabilmesi amacıyla bazı yöntemler uygulanmaktadır. Çöktürme veya yüzdürme esasına dayalı farklı yoğunlaştırma yöntemlerinin her birinin bazı avantaj ve dezavantajları vardır. Çalışmamızın amacı farklı laboratuvar ve saha koşullarında kullanılacak en avantajlı yöntemleri belirlemektir.

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

Parazitoloji laboratuvarına gelen dışkı örneklerine, dışkının incelenmesi için kullanılan farklı yöntemler uygulanarak, birbirleriyle karşılaştırılacak ve değerlendirilecektir.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIM NE GİBİ OLASI YAN ETKİLERİ, RİSKLERİ VE RAHATSIZLIKLARI VARDIR?

Bu çalışma için, normal muayeneniz sonucu istenilen dışkı örneği alınacaktır. Sizin için herhangi bir risk taşımamaktadır.

ÇALIŞMAYA KATILMANIN OLASI YARARLARI NELERDİR?

Dışkının yoğunlaştırılmasında kullanılan yöntemlerin kullanılabilirlikleri; avantaj ve dezavantajları karşılaştırılacak ve çeşitli koşullara en uygun yöntemler belirlenecektir.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN MALİYETİ NEDİR?

Bu çalışmada normal muayenez sırasında istenilen dışkı örneği alınacaktır. Size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ek bir gider ödetilmeyecektir. Bu çalışmaya katılmış olmanızdan dolayı herhangi bir zarar görürseniz Çalışma destekleyicisi bunu, Türkiye Cumhuriyeti yasalarına uygun olarak karşılayacaktır.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Kişisel bilgiler kullanılmayacak; sadece dışkı inceleme yöntemleri karşılaştırılarak değerlendirme yapılacaktır.

SORU VE PROBLEMLER İÇİN BAŞVURULACAK KİŞİLER

Hülya ÖZKAN...

Profesör Dr. Ülgen Zeki OK...

Çalışmaya Katılma Onayı

Yukarıdaki bilgileri doktorumla ayrıntılı olarak tartışım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorum ve bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

Gönüllü / Hastanın adresi:

Gönüllü / Hastanın telefonu:

Gönüllü / Hastanın Adı Soyadı:

İmzası

Tarih

Veli / Vasinin Adı Soyadı: İmzası Tarih

Veli / Vasinin adresi ve telefonu:

Rıza alım işlemine başından

Sonuna kadar tanıklık eden

Adı Soyadı Görevi İmzası Tarih

Açıklamaları yapan araştırmacının

Adı Soyadı İmzası Tarih



8. KAYNAKLAR

1. Özcel MA. (2007), Tıbbi Parazit Hastalıkları (İzmir; Türkiye Parazitol Derneği: 22).
2. Saygı G. Genel Parazitoloji. 2. Sivas: Esnaf Ofset Matbaacılık; 1999. s. 1-2.
3. Saygı G. Genel Parazitoloji. İçinde: Mutlu G., İmir T., Cengiz T.A., Ustaçelebi Ş., Tümay E., editörler. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1.Ankara; Güneş Kitap evi; 1999. S. 1169-1186.
4. Saygı G. Genel Parazitoloji. 2. Sivas: Esnaf Ofset Matbaacılık; 1999. s. 6-8.
5. Ergüven S. Paraziter İnfeksiyonlara Genel Bakış ve Tanı Yöntemleri içinde: Topçu W.A., Söyletir g., Doğanay M. Editörler. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 1. İstanbul: Nobel Tıp Kitap evleri; 2002. s. 1849-1855.
6. Oytun H. Ş, (1961), Genel Parazitoloji ve Helminoloji. (Ankara Üniversitesi veteriner Fakültesi)
7. Unat E. K., Tıp Parazitolojisi, s: 18-36. İst. Univ. Tıp Fak. Yayınları 1990.
8. Foster V. D., A History of Parasitology E. S. Livingstone L.T.D. London. 1965.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) - Diagnostic Procedures for Stool Specimens: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/DiagnosticProcedures.htm>
10. Rogers WP. The Nature of Parasitism. Acad. Press. New York, P;384, 1962.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the recovery and identification of parasites from the intestinal tract; approved guideline. Second edition. CLSI document M28-A2. Clinical Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
12. Ash LR, Orihel TC. Ash Orihel's Atlas of Human Parasitology. Fifth Edition. Singapore: ASCP Press. 2007. p. 416-452.
13. Markell EK, Vogt M, John DT.. Examination of stool specimens. Ozmat S, ed. Medical Parasitology. Seventh Edition. Mexico: W.B. Saunders Company. 1992. p. 406-428.
14. Korkmaz M., Ok ÜZ. (2011), Parazitolojide Laboratuvar (İzmir; Türkiye Parazitol Derneği: 23)

15. Jones FT, et al. Use of stool collection kits delivered to patients can improve confirmation of etiology in foodborne disease outbreak. *Clin Infect Dis* 2011; 39:1454-59.
16. Nechvatala JM, et al. Fecal collection, ambient preservation, and DNA extraction for PCR amplification of bacterial and human markers from human feces. *J Microbiol Met* 2008; 72: 124-32.
17. Ash LR, Orihel TC. *Parasites: a Guide to Laboratory Procedures and Identification*. Chicago: ASCP Pres. 1987. p. 7-52.
18. Garcia LS, Bruckner DA, editors. *Macroscopic and microscopic examination of fecal specimens*. In: *Diagnostic Medical Parasitology*. Second edition. American Society for Microbiology, Washington. 1993. p. 501-540.
19. Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E. Dışkı inceleme yöntemleri. Özcel MA, Altıntaş N. eds. *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi. 1997. p. 1-61.
20. Estevez EG, Levine JA. Examination of preserved stool specimens for parasites: Lack of value of direct wet mount. *J Clin Microbiol*. 1985; 22: 666-667.
21. Ash LR, Orihel TC. *Ash Orihel's Atlas of Human Parasitology*. Fifth Edition. Singapore: ASCP Pres. 2007. p. 416-52.
22. Truant AL, Elliott SH, Kelly MT, Smith JH,. Comparison of formalin-ethyl ether sedimentation, formalin-ethyl acetate sedimentation, and zinc sulfate flotation techniques for detection of intestinal parasites. *J Clin Microbiol* 1981; 13: 882-84.
23. Ok ÜZ, Korkmaz M, Ok GE, Özkan AT, Özcel MA. Barsak protozoasının tanısında nativ-Lugol, formol-eter yoğunlaştırma ve trichrome yöntemlerinin karşılaştırılması. *T Parazitol Derg* 1996; 20: 77-84.
24. Ok ÜZ, Yereli K. Parazitoloji laboratuvarlarında sık kullanılan dışkı inceleme yöntemlerinin değerlendirilmesi. *T Parazitol Derg* 1996; 20: 285-92.
25. Ash LR, Orihel TC. *Ash & Orihel's Atlas of Human Parasitology*. Diagnostic Procedures. Fifth Edition. Singapore. ASCP Pres; 2007. p. 416-84.
26. Shetty NS, Prabhu T. Evaluation of faecal preservation and staining methods in the diagnosis of acute amoebiasis and giardiasis. *J Clin Pathol*. 1988. 41: 694-9.
27. Girginkardeşler N, Coşkun Ş, Balcıoğlu İC, Ertan P, Ok ÜZ. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. *Clin Microbiol Infect* 2003. 9: 110-3.
28. Garcia LS, *Practical Guide to Diagnostic Parasitology*, 2nd ed. ASM Press, Washington DC, 2009.

29. Garcia LS, Diagnostic Medical Parasitology, 5rd ed. Washington DC, ASM Press; 2007.
30. Graham CF. A device for the diagnosis of *Enterobius vermicularis*. Am J Trop Med 1941; 21: 159-61.
31. http://www.tropeduweb.ch/diagnostics/Methods_in_Parasitology.htm
32. Ash LR, Orihel TC. Ash Orihel's Atlas of Human Parasitology. Fifth Edition. Singapore: ASCP Pres; 2007. p. 416-52.
33. Ak M: Enzyme Linked Immunsorbent Assay (ELISA). (Ed. Özcel MA, Altıntaş N). Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1997; 241-59.
34. Balıkcı E, Özel MF, Mete Ö. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Poliklinik Laboratuvarına son beş yıl içinde başvuran hastalarda saptanan giardiasis olguları. Türkiye Parazit Derg 1993; 17(3-4): 27-30.
35. Özcel MA, Üner A, Ertuğ S: Immunfloresans Yöntemi. (Ed. Özcel MA, Altıntaş N). Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1997; 215-39.
36. Persing HD, 1991. Polymerase chain reaction: Trends to benches. J Clin Microbiol, 29: 1281-1285.
37. Rosenblatt JE. Parasitology Laboratory Manuel. Mayo Foundation. Mayo Clinic, Roshester, Minesota. 1990. P.36-40.
38. Akarsu Aral G, Güngör G, Altıntaş K. Ankara'da bağırsak parazitlerinin prevalansı. Türkiye Parazit Derg 2001; 25(2):148-150.
39. Yazar S, Hamamcı B, Birhan M, Şahin İ. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Koproloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazit Derg 2001; 25(1):53-55.
40. Ağrıdağ G, Apan E, Akbaba M, Alparslan N. Sağlık ocağı koşullarında bağırsak parazitlerinin saptanması. Türkiye Parazit Derg 1994; 18(1):43-48. 119
41. Öztürk C, Delialioğlu N, Aslan G, Aslan N. Mersin bölgesinde bağırsak parazitlerinin prevalansı ve dağılımı: Mersin Üniversitesi ve Devlet hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına ait sonuçlar. Türkiye Parazit Derg 2001; 25(4):355-358.
42. Aydemir M. İstanbul'da bir laboratuvardaki on yıllık bağırsak parazitleri inceleme sonuçları. Türkiye Parazit Derg 1996; 20(1):91-96.
43. Yücel A, Öztürk R, Çaşkurlu H, Midilli K, Okyay K, Kenani Y, Eroğlu C, Sarsan A, Ergin S, Kaya Ş. İstanbul' da sürgün olgularında etken olarak bulduğumuz parazitler ve candidalar. Türkiye Parazit Derg 1993; 17(34):96-100.

44. Rafiq M, Günal S, Durmaz B, Durmaz R, Sönmez E, Köroğlu M. The prevalence of intestinal parasites in Malatya, Turkey. *Türkiye Parazitol Derg* 1997; 21(2):159-162. 120
45. Yılmaz H, Türkdöğün K, Berktaş M, Akman N, Tuncer İ, Alğun E, Gül A, Göz Y, Yüzüncü Yıl Üniversitesi tıp Fakültesi Parazitoloji laboratuvarına başvuran 14 yaş ve üzerindeki hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg* 1997; 21(1):49-54.
46. Akar Ş, Güner A. İzmir'de çeşitli kurumlarda bağırsak parazitleri araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg* 2001; 25(4):353-354.
47. Yılmaz U, Östan İ, Kayran E, Özbilgin A. Celal Bayar Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde 2000-2001 yıllarında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg* 2002; 26(1):60-63.
48. Çıragil P, Aral M, Ekerbiçer Ç, Gül M, 2003. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 27(2): 136-138.
49. Özer S, Aksoy G. GAP Bölgesinde bağırsak parazitleri hastalıkları profili ile bazı çevresel faktörler arasındaki ilişkiler ve GAP sonrası 121 sağlık hizmetlerinin prediksyon modeli. *Türkiye Parazitol Derg* 1999; 3(4): 381-384.
50. Kaplan M, Kuk S, Gödekmerdan A, Demirdağ K, Kalkan A, 2002. 1997-2001 Yılları Arasında Fırat Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvarında Dışkıların Parazitolojik İnceleme Sonuçları. *Türkiye Parazitol Derg*, 26(2):208-211.
51. Köroğlu M, Yakupoğulları Y, Turhan R, 2007 Malatya devlet hastanesi Yedi Yıllık Kopro parazitolojik İnceleme sonuçlarının Retrospektif Analizi. *Türkiye Parazitol Derg.*, 31(3): 201-204.
52. Oktun MT, Eskiocak M, Akata F, Karabey O, Tuğrul HM, 2000. Edirne'de sosyoekonomik düzeyi farklı iki ilkokulda 14 yıl sonra tekrarlanan kopro-parazitolojik çalışmanın sonuçları. *Türkiye Parazitol Derg.* 24(3):277-282.
53. Orhan V, Aksoy Ü, Akısü Ç, İnci A, Açıkgöz M, 2000. İzmir Karşıyaka Çocuk Yetiştirme Yurdunda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg.* 24(3):283-285.
54. Usluca S, Yalçın G, Över L, Tuncay S, Şahin S, İnceboz T, Aksoy Ü, 2006. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde 2003-2004 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 30(4): 308-312.
55. Oyelese AO, Udoh SJ, Zailani SB, Ijaware CO, 2002. Pattern of intestinal parasites among hospital patients at Ile-Ife. *Afr J Med Med Sci*, 31(2):107-9.

56. Thevenet PS, Nancuñil A, Oyarzo CM, Torrecillas C, Raso S, Mellado I, 2004. An eco-epidemiological study of contamination of soil with infective forms of intestinal parasites. Euro J Epidemiol, 19:481–489.
57. İnceboz T, Aksoy Ü, Akısü Ç, İnci A, 2002. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvuranlarda bağırsak parazitlerinin araştırılması. Türkiye Parazitolojisi Derg, 26(4):423-425.
58. Unat E.K, Yücel A, Atlas K, 1995. Tıp Parazitolojisi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. İÜ. İstanbul Doyuran Matbaası, S:20-23.
59. Yazar S, Akman MAA, Hamamcı B, 2001. Kayseri'de ilköğretim okulu öğrencilerinde bağırsak parazitlerinin araştırılması. Türkiye Parazitolojisi Derg, 25(4):362-366.
60. Iqbal J, Hira PR, Al-Ali F, Philip R, 2001. Cryptosporidiosis in Kuwaiti children: seasonality and endemicity. Clin Microbiol Infect, 7(5):261-6.
61. Muniz PT , Ferreira MU, Ferreira CS, Conde W L, Monteiro CA, 2002. Intestinal parasitic infections in young children in Saõ Paulo, Brazil: prevalences, temporal trends and associations with physical growth. Ann Trop Med Parasitol, 96(5):503–512.
62. Acosta M, Cazorla D, Garvett M, 2002. Enterobiasis among schoolchildren in a rural population from Estado Falcon, Venezuela, and its relation with socioeconomic level. Invest Clin, 43(3):173-81.
63. Lindo JF, Validum L, Ager AL, Campa A, Cuadrado RR, Cummings R, Palmer CJ, 2002. Intestinal parasites among young children in the interior of Guyana. West Indian Med J, 51(1):25-7.
64. Doyle PW, Helgason MM, Mathias RG, et al, 1990. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis* türleri. J Clin Microbiol. 28: 116-121.
65. <http://www.medicinehospital.com.tr/ansiklopedi/terim/2050/giardiazis-giardiyaz-giardia-intestinalis.html>
66. Windsor JJ, Johnson EH. *Dientamoeba fragilis*: the unflagellated human flagellate. Br J Biomed Sci 1999; 56:293-306.
67. Windsor JJ, Macfarlane L, Hughes-Thapa G, et al. Detection of *Dientamoeba fragilis* by culture. Br J Biomed Sci 2003;60:79-83.
68. Flournoy DJ, McNabb SJN, Dodd ED, Shaffer MH. Rapid trichrome stain. J Clin Microbiol 1982; 6: 573-4.
69. Neimeister R, Logan AL, Egleton JH. Modified trichrome staining technique with a xylene substitute,. J Clin Microbiol 1985; 22: 306-7.

ÖZGEÇMİŞ
HÜLYA BAYKIR
GSM: 0505 323 04 23
Email: huulya_3587@hotmail.com

KİŞİSEL BİLGİLER

Uyruğu : T.C
Doğum Yeri : İZMİR
Doğum Tarihi : 24.08.1987
Medeni Durum : EVLİ (GÜRHAN BAYKIR)

EĞİTİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans : CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ PARAZİTOLOJİ AD
Lisans : CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ
BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
Lise : SIDIKA RODOP LİSESİ (Y.D.A)
Yabancı Dil : İNGİLİZCE (iyi) , ALMANCA(orta)
Bilgisayar : ÇOK İYİ

İŞ BİLGİLERİ

SİSTEM TIP LABORATUVARI: BİYOLOG 2010-2011

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ PARAZİTOLOJİ
LABORATUVARI BİYOLOG 2011 -2013

STAJ

BUCA SEYFİ DEMİRSOY DEVLET HASTANESİ BİYOKİMYA LABORATUVARI

EGE ÜNİVERSİTESİ KALP DAMAR CERRAHİSİ YOĞUN BAKIM VE AMELİYATHANE
LABORATUVARI

EGE ÜNİVERSİTESİ PARAZİTOLOJİ LABORATUVARI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ ADLİ ENTEMOLOJİ LABORATUVARI

KURSLAR

BAŞER BİLGİSAYAR KURSU
BATI DİLLERİ İNGİLİZCE KURSU

SEMİNERLER

XXXV. TÜRK MİKROBİYOLOJİ KONGESİ
TOXOPLASMA GONDII ULUSAL KATILIMLI SEMPOZYUM VE WORKSHOP
KİSTİK EKİNOKOKKOZ SEMPOZYUMU
ISOPS 7

REFERANSLAR

UZM. DR. AYŞEGÜL AKSOY GÖKMEN 05063592016 CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ PARAZİTOLOJİ AD

NEŞE YENİYURT 05334456115 SİSTEM TIP LABORATUVARI

SİBEL REYHANOĞLU 05327480978 EGE ÜNİVERSİTESİ KALP
DAMAR CERRAHİSİ YOĞUN BAKIM LABORATUVARI