

**\*İSHALLİ HASTALARDA İNTESTİNAL COCCIDIAN PARAZİTLERİN  
KOPRO-PARAZİTOLOJİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI  
INVESTIGATION OF İNTESTİNAL COCCIDIAN PARASİTES İN DIARRHOEIC PATİENTS BY COPRO-  
PARASİTOLOGICAL METHODS**

**Hanife ÖZCAN TEMEL<sup>1</sup>, İzzet ŞAHİN<sup>1</sup>, Süleyman YAZAR<sup>1</sup>, Salih KUK<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji AD, Kayseri

**ÖZET:** Genellikle intestinal yerleşim gösteren coccidia türleri birçok omurgalı ve omurgasız hayvanı enfekte eder. İntestina coccidian parazitler; normal bireylerde çoğunlukla kendiliğinden iyileşen ishale neden olurken, immunokompromise hastalarda uzun süren ve ölüme sebep olabilen ishale neden olmaktadır.

Bu çalışma; nativ-lugol yöntemi ile incelenen dışkı numunelerinde gözden kaçabilen veya başka yapılarla karıştırılabilen intestinal coccidian parazitlerin doğru tanısının konulmasında etkin yöntemlerin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır.

Bu amaçla; koproloji laboratuvarına başvuran 350 ishalli hastanın dışkı numuneleri formol etil-asetat sedimantasyon-konsantrasyon yönteminin uygulanmasından önce ve uygulandıktan sonra nativ-lugol ve Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemleriyle boyanarak incelenmiştir.

Sedimantasyon yöntemi öncesi ve sonrasında iki hastada (% 0.57) nativ-lugol ve Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemleriyle *Cyclospora* spp. oocisti tespit edilirken, Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemiyle *Cryptosporidium* spp. belirlenen iki hastadan birinde sedimantasyon öncesi oocist görülmemiştir. Hiçbir tanı yöntemiyle *Isoospora* spp.'ye rastlanmamıştır.

Sedimantasyon-konsantrasyon öncesi ve sonrası uygulanan nativ-lugol ve Kinyoun'un asit-fast yöntemleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05).

Formol etil-asetat zenginleştirme yönteminin oocistlerin tanıma ihtimalini arttırdığı, Kinyoun'un asit-fast boyama yönteminin de spesifik tanı amacıyla kullanılmasının yararlı olmasına sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** İntestinal coccidian parazitler, kopro-parazitolojik yöntemler, ishal

**GİRİŞ** Genellikle intestinal parazit olan coccidia türleri bütün omurgalı ve omurgasızları enfekte edebilmekte ve oluşturduğu hastalığa coccidiosis adı verilmektedir (1). İnsanlarda enfeksiyon oluşturan cinsleri *Isoospora*, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Toxoplasma* ve *Sarcocystis*'tir (2).

Bulaşma, enfekte hayvan ve insan dışkısı, bu dışkılar ile kontamine içme ve kullanma suları, sebze ve meyveler ve çiğ süt aracılığıyla olabilir. Hastalık genellikle ağız yoluyla bulaşmaktadır (3).

İntestinal coccidiosis; bağışıklık mekanizması norm

Makale Geliş Tarihi : 12.10.2011

Makale Kabul Tarihi: 26.06.2014

**ABSTRACT:** Coccidia species are generally localised intestinally and infects many vertebrate and invertebrate animals. Intestinal coccidian parasites cause self-limiting diarrhea in immunocompetent patients, prolonged diarrhea in immunocompromised patients which may end up with mortality.

The aim of this study was to determine the correct methods for the investigation of intestinal coccidian parasites which are mistaken for other structures or can not be seen during the investigation of native-lugol method in stool samples.

For this purpose, stool samples from 350 patients with diarrhea, who had applied to coprology laboratory, were investigated with native lugol and Kinyoun's acid-fast staining methods before and after formalin ethyl-acetate sedimentation.

*Cyclospora* spp. oocysts were detected in two patients (0.57%) with native-lugol and Kinyoun's acid-fast staining methods before and after applying sedimentation. Oocyst was not observed before sedimentation in one of the two patients who were infected with *Cryptosporidium* spp. which was detected by Kinyoun's acid-fast staining method. *Isoospora* spp. was not detected with any of the diagnostic method.

The difference between native-lugol and Kinyoun's acid-fast methods before and after sedimentation was not found to be statistically significant (p>0.05).

We concluded that formalin ethyl-acetate method increased the possibility of oocysts being recognized and Kinyoun's acid-fast staining method could also be used for specific diagnostic purposes.

**Key words:** Intestinal coccidian parasites, copro-parasitological methods, diarrhea

olanlarda kısa süreli, koleraya benzer bir seyir izlemektedir. Bol ve çok sulu bir ishal, karında kramplar, bulantı, kusma, iştahsızlık, baş ağrısı ve hafif ateş vardır. Bağışıklığı baskılanmış olanlarda özellikle AIDS'lilerde; uzun süren, ağır ve zaman zaman ölümcül ishallerine neden olmaktadır.

Coccidiosis tanı, klinik ve histopatolojik bulgular ile dışkı örneğinin parazitolojik incelemesinde etkenin görülmesi esasına dayanmaktadır (4). Dışkının fiksati boyama yöntemleri kullanılmadan sadece nativ-lugol preparatlarının mikroskopik incelenmesinde intestinal

Corresponding Author: Hanife Özcan Temel

İş: Erciyes Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Parazitoloji AD, Kayseri

Ev: Fevzi Çakmak M. Yeşilirmak C.

Sazakkardeşler Apt. No:13/5 Kocasinan/Kayseri

e-mail: hnf\_ozcan@hotmail.com

coccidian parazitler kolayca gözden kaçabilmekte ve bazı maya türleri ve başka yapılarla karıştırılabilmektedir.

Bu çalışmada; parazitin saptanma oranını artıracak ve saptanan parazitlerin doğru ayrımını sağlayacak zenginleştirme ve boyama yöntemleri kullanılarak bu yöntemlerin, intestinal coccidian parazitlerin doğru tanımlanması bakımından önemleri ortaya konmaya çalışılmıştır.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan dışkı örnekleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran ishalleri hastalardan temin edilmiştir. Çalışmanın birinci basamağında; ağız kapaklı plastik kaplara alınan dışkı örnekleri nativ-lugol yöntemiyle incelendikten sonra Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemiyle boyanmıştır. İkinci basamağında ise aynı dışkı örnekle önce modifiye formül -etil asetat çöktürme yöntemi uygulanmış, sedimentten hazırlanan preparatlar nativ-lugol yöntemiyle ve daha sonra Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemiyle boyanarak mikroskopta incelenmiştir (5). *Cyclospora* spp. olduğu düşünülen örneklerden hazırlanan nativ preparatlar floresan mikroskopta 380 - 420 nm dalga boyunda incelenerek otofloresan veri özelliğine göre doğrulanmıştır.

Yöntemler arasındaki istatistiksel farklılıklara, McNemar testi kullanılarak bakılmış ve anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alınmıştır. Yöntemlerin birbiri ile uyumuna ise Cohen's Kappa uyum analizi kullanılarak bakılmıştır.

### BULGULAR

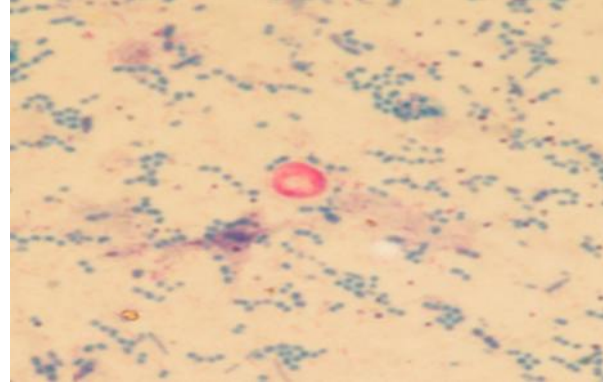
Toplam 350 ishalleri hastadan alınan dışkı numuneleri intestinal coccidialar açısından değerlendirilmiştir. Direkt nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların ikisinde (%0.57) *Cyclospora* spp.'ye ait ookistler saptanırken, sedimentasyon sonrası nativ lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların yine ikisinde (%0.57) *Cyclospora* spp.'ye ait ookistler görülmüştür (Şekil 1).

Direkt Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemiyle boyanan Şekil 1. *Cyclospora* spp. ookisti: otofloresan görüntü (X1000



büyütme)

preparatların ikisinde *Cyclospora* spp., birinde *Cryptosporidium* spp. olmak üzere üç dışkıda (%0.86) ookist görülürken, sedimentasyon sonrası Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemiyle boyanan preparatların ikisinde *Cyclospora* spp., ikisinde *Cryptosporidium* spp. (Şekil 2), olmak üzere toplam dört dışkıda (%1,14) ookistler görülmüştür. Hiçbir hastada *Isospora* spp.' ookistlerine



Şekil 2. *Cryptosporidium* spp. ookisti: Kinyoun'un asit-fast boyama, (X1000 büyütme)

Sedimentasyon öncesi ve sonrası nativ-lugol ve Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemleri ile ookist görülme oranları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Farklı yöntemlerle ookist görülme oranları

Yöntem		İncelenen dışkı sayısı	Pozitif dışkı sayısı
Nativ-lugol	Direkt nativ-lugol	350	2 (0.57)
	Sedimentasyon sonrası nativ-lugol	350	2 (0.57)
Asit - fast	Direkt asit-fast boyama	350	3 (0.86)
	Sedimentasyon sonrası asit-fast boyama	350	4 (1.14)

Çalışmanın istatistiksel analizi yapılırken; direkt nativ-lugol yöntemiyle sedimentasyon sonrası nativ-lugol yönteminin sonuçları kendi aralarında değerlendirilmiştir. İki yöntem arasında intestinal coccidiaların saptanması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Direkt Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemiyle sedimentasyon sonrası Kinyoun'un asit-fast boyama yönteminin sonuçları kendi aralarında değerlendirilmiştir. İki yöntem arasında intestinal coccidiaların saptanması açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Uyum analizi yapıldığında, sedimentasyon öncesi nativ-lugol ve Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemleri kendi aralarında iyi derecede uyumlu bulunurken (Kappa: 0.799), sedimentasyon sonrası da yöntem-

ler birbirleri ile iyi derecede uyumlu bulunmuştur (Kappa: 0.664).

#### TARTIŞMA

Bulaşma yolları, kliniği, enfeksiyon için risk grupları açısından benzer özellikler gösteren *Cryptosporidium*, *Cyclospora* ve *Isospora* türleri tüm dünyada giderek daha fazla ilgi çeken etkenler olarak görülmektedir. Hem immün sağlıklı hem de immün yetmezlikli kişilerde gastrointestinal sistemde veya değişik organlarda çeşitli klinik belirtilere neden olabilen bu parazitler dışkıının zenginleştirme yöntemleriyle yoğunlaştırılması, özel boyama yöntemleriyle boyanması ve moleküler tekniklerin kullanılması sonucunda tanınabilmektedir. Söz konusu yöntemler için değişik materyaller kullanılabilir olsada, yapılan çalışmalar hastalığın teşhisinde yararlanılabilecek en ideal yöntemin dışkı taraması olduğunu göstermiştir (6).

*Cryptosporidium* spp. insanlar ve hayvanlarda ishale neden olan önemli bir patojendir. Değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda, immün sistemi baskılanmış olan ishallerde *Cryptosporidium* pozitiflik oranının % 11-21.2 arasında dağılım gösterdiği belirtilmiştir (7). Ülkemizde *Cryptosporidium*'un tanısına yönelik çalışmalar gözden geçirildiğinde; Fındık ve ark. (8); Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemi ile 250 dışkı örneğinin dördünde (%1.6), Otağ ve ark. (9); Kinyoun'un asit-fast ve Auramin-O boyama yöntemleri ile 72 hastanın dördünde (%5.5), Atambay ve ark. (10); Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemi ile 500 dışkı örneğinin sekizinde (%1.6), oranlarında *Cryptosporidium* oocistleri saptandığını bildirmişlerdir.

*Cyclospora* spp., kontamine suların ve gıdaların sindirim yolundan alınması ile insanlara bulaşan patojen protozoonlardan biridir (11). Son yıllarda önemi artan *Cyclospora* enfeksiyonları dışkıının zenginleştirme yöntemleriyle yoğunlaştırılması ve özel boyama yöntemleri ile boyanması sonucunda tanınabilmektedir. Ayrıca tanıda oocistlerin otofloresan verici özelliğinden de yararlanılabilmektedir. Ülkemizde; 2001 yılında Büge ve ark (12); İstanbul'da akut miyeloblastik lösemi tanısı konmuş olan yedi yaşındaki erkek hastada modifiye asit-fast boyama, modifiye safranin ve modifiye trikrom boyama yöntemleri ile, 2009'da Yazar ve ark (13); üç farklı olguda nativ-lügol ve modifiye asit-fast boyama yöntemleri ile, Oğuztürk ve ark (14); Malatya'da gerçekleştirdikleri bir çalışmada nativ-lügol, Kinyoun'un asit-fast ve trikrom boyama yöntemleri ile 54 hastanın sadece birinde (%1.8) *Cyclospora* oocistleri tespit etmişlerdir.

Naito ve ark. (15), bildirdikleri bir olguda; Vietnam'ı ziyaret etmiş, ateş ve iki haftadan daha uzun süren sulu ishali bulunan 42 yaşındaki Fransız erkek hastanın dışkı örnekleri UV floresan mikroskopu kullanılarak incelenmiş ve *Cyclospora* spp. tanısı konmuştur. Bu çalışmalar sonrasında özellikle immün sistemi baskılanmış hastalar başta olmak üzere nedeni açıklanamayan kronik ishallerde bu organizmanın düşünülerek spesifik tanı yöntemlerinin uygulanması gerektiği bildirilmiştir.

*Isospora belli* enfeksiyonunun kozmopolit bir dağılımı olmasına rağmen tropikal ve subtropikal iklim kuşağında daha yaygın olduğu bildirilmiştir (16). Verdier ve ark. (17); Haiti'deki yapmış oldukları bir çalışmada, 252 AIDS'li ve kronik ishallerin 22'sinde (%8.7) *I. belli*

saptamışlardır. Ülkemizde ilk vaka 1958 yılında Kun ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Daha sonra Töreci ve Büge (18); 1976 yılında yedi ve 12 yaşlarındaki iki çocukta, Yazar ve ark. (19); Kayseri'de 2006 yılında böbrek nakli olan bir erkek hastada, nativ-lügol ve modifiye asit-fast boyama yöntemleri ile bu parazitin oocistlerini görmüşlerdir.

Sonuç olarak; her yaş grubundan ishalleri olgular ile immün sistemi baskılanmış hastalara ait dışkı örneklerinin *Cryptosporidium*, *Cyclospora* ve *Isospora* açısından da spesifik tanı yöntemleri ile değerlendirilmeleri gerektiği düşünülmüştür. Söz konusu parazitlerin saptanmasında Kinyoun'un asit-fast boyama yöntemi referans bir tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir.

**\*Yüksek Lisans tezinden özetlenmiş olan bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından TSY-08-558 no'lu proje ile desteklenmiştir.**

**\*Bu çalışma, 4-10 Eylül 2011 tarihleri arasında Kars'ta düzenlenen 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.**

#### KAYNAKLAR

1. Dinçer Ş. Coccidiosis: Tanım, Tarihçe, Taksonomi. Dinçer Ş (ed), Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını 2001; No 17, ss 1-8.
2. Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology. 5th ed. Washington, D.C. ASM Press; 2007; pp 57.
3. Döşkaya M, Dayangaç N, Kuman HA. *Cryptosporidium parvum*. T Parazitol Derg 2003; 27: 64-70.
4. Çakmak A, Vatansever Z. Coccidiosis'de Tanı. Dinçer Ş (ed), Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını 2001; No 17, ss 127-132.
5. Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, ve ark. Dışkı İnceleme Yöntemleri. Özcel MA, Altıntaş N(ed), Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını 1997; No 15, ss 1-61.
6. Emre Z, Alabay M, Düzgün A, et al. Comparison of staining and concentration techniques for detection of *Cryptosporidium* oocysts in cattle fecal specimens. T J Vet Animal Sci 1997; 21: 293-296.
7. Över U, Söyletir G. İshalle seyreden hastalıklarda *Cryptosporidium*'un rolü. Flora 1997; 2: 98-104.
8. Fındık D, Karabayraktar A. Gaita örneklerinde *Cryptosporidium* oocistlerinin araştırılması. Türkiye Parazitol Derg 1994; 18: 415-419.
9. Otağ F, Aslan G, Emekdaş G, ve ark. Mersin ilinde ilkököl öğrencilerinde *Cryptosporidium* spp. oocistlerinin araştırılması. Türkiye Parazitol Derg 2007; 31: 17-19.
10. Atambay M, Daldal N, Çelik T. Malatya'da ishallerde dışkıda *Cryptosporidium* spp. araştırılması. Türkiye Parazitol Derg 2003; 27: 12-14.
11. Fleming CA, Caron D, Gunn JE, et al. A foodborne outbreak of *Cyclospora cayentanensis* at a wedding: Clinical features and risk factors of illness Arch Intern Med 1998; 158: 1121-1125
12. Büge E, Boral ÖB, Uysal HK, ve ark. Türkiye'de kez belirlenen *Cyclospora cayentanensis* etkenli diyare olgusu. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2001; 30: 162-

- 165.
13. Yazar S, Mıstık S, Yaman O, ve ark. Kayseri'de *Cyclospora cayetanensis* kaynaklı üç ishal olgusu. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2009; 33: 085-088.
  14. Oğuztürk H, Turtay MG, Ertan C, ve ark. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı'na başvuran ishallerde bağırsak parazitlerinin değerlendirilmesi. Konuralp Tıp Dergisi 2010; 2: 8-11.
  15. Naito T, Mizue S, Misawa S, et al. *Cyclospora* infection in an immunocompetent patient in Japan. Jpn J Infect Dis 2009; 62: 57-58.
  16. Sorvillo FJ, Lieb LE, Seidel J, et al. Epidemiology of isosporiosis among persons with acquired immunodeficiency syndrome in Los Angeles county. J Trop Med Hyg 1995; 53: 656-659.
  17. Verdier RI, Fitzgerald DW, Pape JW, et al. Trimethoprim-sulfamethaxazole compared with ciprofloxacin for treatment and prophylaxis of *Isoospora belli* and *Cyclospora cayetanensis* infection in HIV-infected patients. A randomised, controlled trial Annals of Internal Medicine 2000; 132: 885-888.
  18. Töreci K, Büget E. Yurdumuzda ilk defa rastladığımız iki *Isoospora belli* vakası. İstanbul Tıp Fak Mecm 1976; 39: 568-580.
  19. Yazar S, Tokgöz B, Yaman O, ve ark. Renal transplantlı bir hastada *Isoospora belli* enfeksiyonu. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 22-24.