



T.C  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İSHALLİ OLGULARDA ENTERİK PATOJEN DAĞILIMI VE BU  
DAĞILIMDA *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* VE  
*CYCLOSPORA CAYETANENSIS*'İN YERİ**

**118587**

LEVENT ARSLAN  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI

~~118584~~

DANIŞMAN  
Yard. Doç. Dr. Ufuk Över

118581

**TC. YÜSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

İSTANBUL-2002

## **ÖNSÖZ**

Yapmış olduğum bu çalışmada yakın ilgisi, büyük katkıları ve eleştirileriyle beni yönlendiren değerli danışman hocam Yard. Doç. Dr. Ufuk Över'e, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Güner Söyletir'e, Prof. Dr. Candan Bozok Johansson başta olmak üzere yüksek lisans eğitimim boyunca benimle yakından ilgilenen tüm hocalarıma, Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde görevli teknisyen ve asistan arkadaşlarıma, aileme ve dayıma teşekkürlerimi bir borç bilirim.



# İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
I. ÖNSÖZ	I
II. İÇİNDEKİLER	II
III. ŞEKİL VE TABLOLAR	IV
IV. KISALTMALAR	IV
1.ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. İnflamasyonsuz Seyreden İshallerden Sorumlu Enteropatojenler	6
4.2. İnflamasyonla Seyreden İshallerden Sorumlu Enteropatojenler	15
5. GEREÇ VE YÖNTEM	22
5.1. Çalışma Grubu	22
5.2. Anket Formu	22
5.3. Araştırılan Enteropatojenler	22
5.4. Kullanılan Çözeltiler, Boyalar, Besiyerleri, Antijen/Toksin Tayin Kitleri ve Diğer Malzemeler	23
5.4.1. Çözeltiler	23
5.4.2. Boyalar	24
5.4.3. Besiyerleri	24
5.4.4. Direkt Antijen/Toksin Tayin Kitleri	25
5.4.5. Diğer Malzemeler	25
5.4.6. Araçlar	25
5.5. Yöntem	26
5.5.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması ve Gruplandırılması	26
5.5.2. Dışkı Örneklerini Parazit Yönünden İncelemek Üzere Uygulanan Yöntemler	27
5.5.2.1. Direkt İnceleme	27
5.5.2.2. Koproparazitolojik İnceleme	27
	II

5.5.2.3. Modifiye Kinyoun Boyama Yöntemiyle <i>C.parvum</i> ve <i>C.cayetanensis</i> Ookislerinin Saptanması	28
5.5.2.4. Auramin-Rodamin Boyama Yöntemiyle <i>C.parvum</i> Ookistlerinin Saptanması	28
5.5.2.5. Dışkıda Parazit Antijenlerinin Tayini	29
5.5.3. Dışkı Örneklerinde Patojen Bakterileri Saptamak İçin Uygulanan Yöntemler	29
5.5.3.1. Kültür Yöntemleri	29
5.5.3.2. <i>C.difficile</i> Toksin Tayini	30
5.5.4. Dışkı Örneklerinde Virüsleri Saptamak İçin Uygulanan Yöntemler	30
5.5.5. Mikro ELISA Yöntemi İle Dışkı Örneklerinde Antijen Arama Tekniğinin Uygulanışı	30
5.6. İstatistiksel Analiz	31
6. BULGULAR	32
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
8. EK-1 (Anket Formu)	41
9. KAYNAKLAR	42
10. ÖZGEÇMİŞ	46

## TABLolar

Sayfa no

Tablo-1 : Hastaların Yaş Dağılımı ve Her Grupta Enteropatojen Saptama Oranı	32
Tablo-2 : (4-12) Yaş Grubu Hastalarda Bölgelere Göre Enteropatojen Saptanma Oranları	34
Tablo-2 : Enteropatojenlerin Yaş Gruplarındaki Dağılımı	34
Tablo-3 : İnflamasyonlu İshali Olan Olgularda Rastlanan Enteropatojenlerin Dağılımı	35

## ŞEKİLLER

Şekil-1 : İshal etkeni olan bazı mikroorganizmaların karşılaştırmalı büyüklükleri	10
---	----

## KISALTMALAR

SAF	Sodyum asetik asit formalin
AR	Auramin-Rhodamine
ETEC	Enterotoksijenik <i>E.coli</i>
EPEC	Enteropatojenik <i>E.coli</i>
EIEC	Enteroinvaziv <i>E.coli</i>
EHEC	Enterohemorajik <i>E.coli</i>

## 1. ÖZET

Çalışmamızda, Marmara Üniversitesi Hastanesi ve Sultançiftliği Sağlık Ocağı'na ishal şikayeti ile başvuran 190 hastanın dışkı örnekleri, sıklıkla rastlanan enteropatojenler (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, Enterohemorajik *E.coli*, Rotavirüs, Adenovirüs, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, diğer protozoa ve helmintler) yönünden incelenmiş olup, hastaların %50,5'inde, araştırılan enteropatojenlerden en az birisi saptanmıştır. En sıklıkla saptanan enteropatojenler arasında ilk üç sırayı *C.parvum* (%15.3), *E.histolytica* (%13.2) ve *G.lamblia* (%10.5) almakta olup, bunları Rotavirüs (%10,5), Adenovirüs (%7), *S.sonnei* (%6,3) ve *T.saginata* (%0.5) izlemektedir.

Enteropatojenlerin dağılımı, yaş grubu bazında belirgin değişiklik göstermekte olup, 0-3 yaş grubunda Rotavirüs (%33.3) ve *C.parvum* (%28.6); 4-12 yaş grubunda *G.lamblia* (%20.3); 13-55 yaş grubunda *E.histolytica* (%30.3); 56-81 yaş grubunda ise *C.parvum* (%29.2) en sıklıkla saptanan enteropatojenler olmuştur. Antibiyotik kullanım öyküsü olan 28 hastada araştırılan *C.difficile* toksini ise hastaların %7.1'inde saptanmıştır.

Bu çalışma bölgemizde ishalle seyreden hastalıklarda, bulaşında özellikle suyun önemli rol oynadığı enteropatojenlerin (*G.lamblia*, *E.histolytica*), genç erişkin ve/veya erişkin yaş grubunda yüksek oranda etken olduğuna işaret etmektedir. Çalışmamızın bir diğer sonucu ise bu klasik enteropatojenlere ek olarak *C.parvum*'un da özellikle küçük (0-3) ve ileri (56-81) yaş grubunda azımsanmayacak oranlarda saptanmış olmasıdır.

## 2. ABSTRACT

In our study, the stool samples of 190 diarrheal patients admitted to Marmara University Hospital and Sultançiftliği Health Care Center were investigated for commonly encountered enteropathogens (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, Enterohemorrhagic *E.coli*, Rotavirus, Adenovirus, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, helminths and other protozoa). At least one of the investigated enteropathogens was found in 50,5% of the patients. Among the most commonly encountered pathogens *Cryptosporidium parvum* was the first (15.3%) in order followed by *E.histolytica* (13.2%), *G.lamblia* (10.5%), Rotavirus (10,5%), Adenovirus (7%), *S.sonnei* (6,3%) and *T.saginata* (0.5%).

The prevalence of these enteropathogens showed significant alterations on the basis of each age group. Rotavirus (33.3%) and *C.parvum* (28.6%) were the most commonly found enteropathogens in the children between 0 and 3 years of age. *Giardia lamblia* (20,3 %) and *E.histolytica* (30,3 %) were the first in order in the following age groups (4-12 and 13-55) respectively, whereas *C.parvum* was the first (29,2%) after 56 years of age. Among 28 patients who had antibiotic usage history, *C. difficile* toxin A/B was determined in 7.1 percentage.

One of the most significant result of this study is the high prevalence of the water-borne enteropathogens (*G.lamblia*, *E.histolytica*) particularly in young adults and/or adults. In addition to these traditional enteropathogens, our study also showed that *C. parvum* was also in significant rates particularly in both small and oldest age groups.

T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI  
DOKÜMANİZASYON BAKANLIĞI

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

İshalle seyreden hastalıklar, başta az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak insan sağlığını tehdit etmekte olup; ölüm nedenleri arasında, kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Beş yaşın altındaki çocuklarda ise başta gelen ölüm nedenidir (15).

İshal, çoğunlukla gastrointestinal sistemin özellikle incebarsak ve kalınbarsak bölümlerinin çeşitli etkenler tarafından infeksiyonu sonucu ortaya çıkan bir tablodur. Bu infeksiyonlar, ishale kusmanın da eşlik edebildiği, duodenumdaki inflamasyonsuz infeksiyonları veya kalın bağırsaktaki inflamasyonlu infeksiyonları kapsamaktadır (15).

Gastrointestinal infeksiyonların etkenleri arasında çeşitli bakteri, virüs, protozoa ve helmintler yer almaktadır. Bunlar arasında yer alan *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, Rotavirüs ve Adenovirüs'ün yanısıra, son yıllarda özellikle AIDS epidemisinin ortaya çıkışıyla birlikte Coccidia grubunda yer alan iki protozoonun da (*Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*), gastrointestinal infeksiyon etkeni olarak artan sıklıkla saptandığı görülmektedir (21). *C. parvum* 'un tüm dünyada özellikle 3 yaşın altındaki çocuklarda prevalansı yüksek iken; *Cyclospora cayetanensis* esas olarak tropik ve subtropik bölgelerde görülmektedir ve özellikle seyahate bağlı ishallerden sorumlu tutulmaktadır.

İshallerden sorumlu tutulan etkenlerin kaynakları çeşitlilik göstermekte olup, bazıları doğada (su, toprak) yaygın olarak bulunmakta, bazıları da insan ve çeşitli hayvanların gastrointestinal sistem florasında yer almaktadır. Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, yaşam kalitesinin düşüklüğü, temiz su kaynaklarının eksikliği, hijyen kurallarına uyulmaması gibi nedenlerle, bu etkenler kolaylıkla insanlara bulaşarak, kendini sınırlayan

infeksiyonlardan, ciddi, hayatı tehdit eden ishallere kadar spektrumu değişebilen gastrointestinal infeksiyonlara neden olabilmektedir (15).

Bu alışma, ishalle seyreden hastalıkların ülkemizdeki yaygınlığı ve özellikle küçük yaş grubunda başta gelen ölüm nedeni olması dikkate alınarak, sıklıkla rastlanan etkenlerin bölgemizde ishalle seyreden hastalıklardaki rolünü ve iki yeni protozoonun (*Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*) bu etkenler arasındaki yerini belirlemek amacıyla planlanmıştır.



#### 4. GENEL BİLGİLER

Ishal infeksiyöz ve infeksiyöz olmayan çok çeşitli nedenlerle meydana gelebilen bir semptomdur. İnfeksiyöz olmayan ishaller genellikle stres, vazointestinal peptid, diyet gibi çeşitli faktörlerin etkisine bağlı olarak ortaya çıkarken; infeksiyöz ishaller bakteri, parazit, virüs gibi çeşitli faktörler tarafından oluşturulur (15). İnfeksiyöz ishallerde etken mikroorganizmanın esas bulaşı su ve besinler aracılığı ile olur.

Akut infeksiyöz ishaller tüm dünyada sıklıkla görülen, özellikle az gelişmiş ülkelerde malnütrisyon vb. faktörlerin de etkisiyle özellikle çocuklarda ciddi sonuçları olabilecek ishallerdir. Klinik olarak çok hafif seyirden ileri derecede sıvı kaybına kadar değişebilen geniş bir spektruma sahiptir. Ishalle seyreden hastalıkların morbidite ve mortalitesinin tayininde infekte kişinin yaşı, immünitesi, sosyo-ekonomik durumu, yaşadığı bölge gibi birçok faktör, önemli rol oynamaktadır (15).

İnfeksiyöz ishaller, sorumlu mikroorganizmanın etki mekanizması ile ilişkili olarak iki ana gruba ayrılır: inflamasyonsuz (enterotoksine bağlı) ishaller ve inflamasyonlu ishaller. İnfamasyonsuz ishallerde etkenler; *Vibrio cholerae*, Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* gibi bakteriler, Rotavirüs, Adenovirüs, Norwalk virüs gibi virüsler ya da *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* gibi parazitler olup, ince barsağın proksimal bölgesinde etkilerini gösterirler. Bu tip ishallerde lökosit içermeyen sulu dışkılama karakteristiktir. İnfamasyonlu ishallerde ise, esas patolojik etki kolon mukozasının invazyonuna bağlı olarak gelişir ve genellikle dışkıda bol lökosit vardır. Dizanterik form olarak adlandırılır. İnfamasyonlu ishallerden sorumlu etkenler arasında, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni* gibi bakteriler ile *Entamoeba histolytica* gibi parazitler bulunmaktadır (15).

#### 4.1. İnflamasyonsuz Seyreden İshallerden Sorumlu Enteropatojenler

Son 20 yılda tanı yöntemlerinin gelişmesiyle akut gastrointestinal enteritlere neden olan ajanların etiyolojileri, patogenezi ve epidemiyolojileri hakkında daha fazla bilgi edinilmiştir. Bu tip infeksiyonlara neden olan ajanlar arasında enterotoksin üreten bakteriler (*Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, Enterotoksijenik *E.coli*, *Yersinia enterocolitica*), invaziv olmayan protozoonlar (*Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayentanensis*) ve özellikle çocuk yaş grubunda sıkça görülen virüsler (Rotavirüs, Adenovirüs, Norwalk virüs) bulunur.

İnflamasyonsuz ishallere neden olan parazitler arasında önemli yer tutan *Giardia lamblia*; Protozoa aleminin Sarcostigophora filumuna bağlı kamçılı bir protozoon olup insanlarda ince bağırsakta duodenum ve jejunum bölgelerini tutarak gastrointestinal infeksiyonlara neden olur. *Giardia lamblia*'nın trofozoit formları 10-20 µm büyüklüğünde, ve bilateral simetridir. Karın tarafı içbükeydir ve ön kısmında emici disk bulunur. Dört çift kamçı bulunan trofozoitlerde nükleus büyük, ince zarlı ve merkezi karyozomludur. Trofozoit formları duodenum dışında kist formuna dönüşürler. Kist formu 8-14 µm büyüklüğünde ve oval şekillidir. Yeni oluşan kiste 2, olgun kiste 4 nükleus bulunur. *Giardia lamblia*'nın çoğalması trofozoit formlarının ikiye bölünmesiyle olur (3).

*Giardia lamblia* infeksiyonları, tüm dünyada en yaygın görülen paraziter infeksiyonlar arasında yer alır. 1976 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde "Centers for Disease Control and Infection" tarafından yapılan tarama çalışmasında, incelenen 414,820 dışkı örneğinin %3,8'inde *Giardia lamblia* saptanmıştır (21). Gelişmekte olan ülkelerde 10 yaş altı çocuklarda Giardiyaz prevalansı %15-20 düzeyindedir (21). Ülkemizde değişik yaş gruplarında yapılan insidans çalışmalarında giardiyaz sıklıkları,

sosyoekonomik düzeyle yakın ilişkili olarak %7-39 arasında değişiklik göstermektedir (16).

Bulaşı, infeksiif kistlerle kontamine olmuş yiyecek ve sular aracılığı ile fekal-oral yolla olmaktadır. Sindirim yoluyla alınan kistler duodenumda açılırlar. Oluşan trofozoitler burada çoğalırlar ve emici diskleriyle konak hücrelere yapışırlar. Hücrelerde tahribat yapmazlar, fakat tahriş ederek fazla mukus salgılanmasına ve yağ absorpsiyonun bozulmasına neden olurlar (3).

Tanı, dışkı veya duodenal aspirasyon sıvısından hazırlanan preparatların koproparazitolojik yöntemle incelenmesiyle yapılır. Ancak dışkıyla atılan kist miktarı değişiklik gösterdiğinden, bazen dışkı örneğinde mikroskopik olarak Giardiyaz tanısı koymak güç olabilir. Üç gün üst üste dışkı örneği alınması ve/veya ELISA yöntemiyle *G.lambliya*'ya özgü antijenin dışkı örneğinde saptanması tanıda yardımcı olabilir. Yapılan çalışmalar ELISA yönteminin duyarlılığının ve özgüllüğünün yüksek olduğunu göstermektedir (21).

Özellikle immün sistemi baskılananlarda ve AIDS'li hastalarda ağır seyirli ishallere neden olan patojenlerden birisi olan *Cryptosporidium parvum*'un kliniği ve epidemiyolojisine ilişkin bilgiler son yıllarda aydınlatılmıştır.

*Cryptosporidium parvum*, Protozoa aleminin Apicomplexa filumunda Eucoccidiida takımına bağlı 2-5 µm boyutlarında koksidiyan bir parazittir. *Cryptosporidium* cinsine bağlı 8 tür tanımlanmıştır. Bunlar içinde; çoğu memelide etken olan *C.parvum*, kemirgen ve geniş getiren hayvanlarda bulunan *C.muris*, kedilerde bulunan *C.felis*, kobay farelerde bulunan *C.wrari*, kuşlarda bulunan *C.meleagridis* ve *C.baileyi*, sürüngenlerde bulunan *C.serpentis* ve balıklarda bulunan *C.nasorum* yer alır (27).

*Cryptosporidium parvum*, sindirim ve solunum yolu epitel hücrelerinin mikrovillüs bölgelerini infekte ederek, immünitesi yeterli kişilerde kısa süreli (3-20 gün) kendiliğinden iyileşen ishal oluştururken, immün sistemi baskılanmış konakta (özellikle AIDS hastalarında) kronik ve hayatı tehdit

eden ishaller oluşturur. Ayrıca AIDS hastalarında, gastrointestinal sistem dışında, özellikle solunum sistemi hastalıklarına yol açtığına dair raporlar da vardır (32). Kriptosporidiyoza karşı kesin etkili terapötik ve profilaktik bir ajan henüz geliştirilmemiştir (36).

*Cryptosporidium parvum* tüm hayat siklusunu tek bir konakta geçirir. Ookistler konağa girdikten sonra ince barsakta açılır. Her ookistten 4 sporozoit açığa çıkar ve barsak hücrelerinin mikrovillüslerine invaze olarak eşeysiz çoğalma fazını başlatırlar. Sporozoitler mikrovillüsler içerisinde merontlara dönüşür. Her meronttan 8 merozoit oluşur. Merozoitler ince barsak hücrelerine invaze olarak gametogoni sonucunda mikrogamet ve makrogametleri oluştururlar. Fertilizasyon sonucunda oluşan infektif ookistler dışkı yoluyla dışarı atılırlar (31). İki tip ookist mevcut olup; ince duvarlı ookistler kolaylıkla parçalanabildiklerinden otoinfeksiyonlardan sorumludurlar, kalın duvarlı ookistler ise çevresel şartlara daha dirençlidir. *Cryptosporidium parvum* ookistleri yaygın kullanılan dezenfektanlara dirençli olup, su kaynaklarının rutin klorlanması ile öldürülemezler (16). Doğada olumsuz şartlarda bile 3 aydan uzun süreyle canlılığını koruyabildiği bilinmektedir (9). Ayrıca konakta infeksiyon oluşturabilmesi için gereken sayı çok düşük olup, yapılan bir çalışmada insanlar için ID<sub>50</sub> dozunun 132 ookist olduğu saptanmıştır (10). Infekte bir kişinin dışkısında *C.parvum* ookistleri infeksiyon başlangıcından ortalama 7 gün sonra saptanabilmektedir (21).

Kriptosporidiyoz vakalarının en sık görüldüğü dönemler kış mevsiminin sonu ile ilkbahar aylarındadır (18). Parazitin insana bulaşması fekal-oral yolla, infekte bir kişinin dışkısından diğer bir kişiye direkt bulaşma şeklinde veya evcil hayvanlar aracılığıyla dirençli infektif ookistlerin besin veya su kaynaklarını kontamine etmesiyle gerçekleşmektedir (26,27,29).

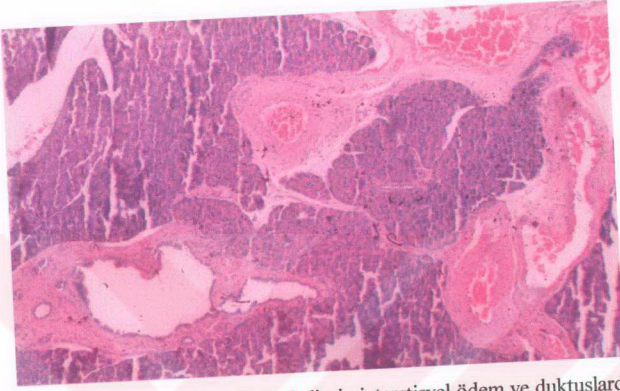
İnsanlarda görülen ilk kriptosporidiyoz vakası 1976 yılında bildirilmiştir (31). Tanı yöntemlerinin gelişmesiyle birlikte elde edilen bilgiler, *C. parvum* 'un tüm dünyada ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde, ishal etkeni olarak en sık rastlanan enteropatojenlerden biri olduğunu düşündürmektedir.

Tarama raporları prevalansın Avrupa'da % 1-2, Kuzey Amerika'da %0,6-4,3, Asya, Afrika, Avusturalya, Orta ve Güney Amerika gibi yerlerde %3-20 arasında değiştiğini göstermektedir (32). 1980'li yıllardan itibaren *C.parvum*'un az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelere seyahat eden kişilerde de infeksiyon oluşturduğuna dair raporlar yayınlanmıştır (14,20). Gelişmiş ülkelerde asemptomatik kişilerin yaklaşık %0,1'i *Cryptosporidium* taşıyıcısıdır (19). İnfekte kişiden diğerine bulaşma çoğunlukla kreşlerde olmaktadır. *Cryptosporidium*'un nozokomiyal bulaşı hastane personeli ve hastalar arasında gerçekleşmekte olup, çevrenin kontaminasyonu ve yetersiz dezenfeksiyonun etkisi büyüktür. Ayrıca çalışmalar prevalansın, özellikle iki yaşın altındaki çocuklarda ve immünkompromize kişilerde belirgin derecede fazla olduğunu ortaya koymaktadır (36). A.B.D'de AIDS hastalarının %10-15'inde kriptosporidiyoz görülmekte olup, Avrupa'da yapılan bir çalışmada kronik ishali olan 275 AIDS'li hastadan 43'ünde (%15,6), ishal etkeni olarak *C. parvum* saptanmıştır. Kriptosporidiyozlu bu hastaların 8'inde *C.parvum* safrada, 7 hastada da balgam örneklerinde saptanmıştır (22). Afrika ülkelerinde, kronik ishallerli AIDS hastalarında *C.parvum* prevalansı yaklaşık olarak %12 ile %48 arasında değişmektedir (36).

Ülkemizde kriptosporidiyozun prevalansına yönelik çalışmalar sınırlı sayıda olup; Marmara Üniversitesi Hastanesinde 1996'da yapılan bir çalışmada *C.parvum*, 3 yaş altındaki çocuklarda %9,5 oranında saptanmıştır (32). Bir başka çalışmada 12 yaş altındaki çocuklarda bu oran %3.5 olarak belirlenmiştir (2).

1985 yılından bugüne dek Kuzey Amerika'da *C.parvum*'un içme suyu kaynaklarını kontamine etmesiyle gerçekleşen 12 salgın gerçekleşmiştir. Bu salgınlardan ikisinde (Milwaukee ve Las Vegas) immünkompromize popülasyondaki ölüm oranları %52-68 arasında olmuştur (23). Bugüne dek görülen en büyük salgın 1993 yılında Nisan ayında Milwaukee Wisconsin'de gerçekleşmiş olup 403,000 semptomatik vaka saptanmıştır (23). Kontamine

OF verilen grup ile OF sonrası 96 saat tedavi uygulanan grup karşılaştırıldığında atuar hücre infiltrasyonu OF sonrası 96 saat tedavi uygulanan grupta belirgin olarak bulundu ( $p=0.003$ ).



Şil 9. Pankreas dokusundaki damarlarda belirgin interstisyel ödem ve duktuslarda dilatasyon bulunmaktadır.

*Cyclospora cayetanensis*, önceleri *Cryptosporidium* cinsinin büyük bir varyantı ya da bir tür mavi-yeşil alg olarak düşünölen, fakat 1993 yılında Eimeriidae ailesine bağlı bir cins olarak tanımlanan, 8-10 µm boyutlarında koksidiyan bir parazittir. İlk *C.cayetanensis* infeksiyonu 1977'de bildirilmiş olup, 1980'li yıllarda bildirilen raporlarda artış olmuş ve 1990'lı yıllarda da parazit özellikle besin kaynaklı salgınlarda etken olarak rapor edilmiştir (35).

*Cyclospora cayetanensis*'in bilinen tek rezervuarı insandır. Parazitin hayat siklusu tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, dışkı ile dışarı atılan ookistlerin infektif olmadığı, dışarıda belirli koşullar altında olgunlaşma süreci geçirdiği bilinmektedir (35). *Cyclospora cayetanensis*'in oluşturduğu ishalin patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte, parazitin ince barsağın epitel hücrelerine girdiği ve invaziv olmayan sulu ishale yol açtığı bilinmektedir (35). *Cryptosporidium parvum*'dan farklı olarak, *C.cayetanensis* infeksiyonlarının tedavisinde trimetoprim sülfametaksazol etkilidir (35).

*Cyclospora* infeksiyonları esas olarak tropik ve subtropik bölgelerde görölmekte olup, Kuzey Amerika ve İngiltere'de yapılan insidans araştırmalarında genel popülasyonda prevalansı %0,5'den düşük olarak saptanmıştır (35). Seyahatle ilişkilendirilen *Cyclospora* infeksiyonları da sıklıkla rapor edilmektedir (20). *Cyclospora cayetanensis* epidemiyolojisinde, bu parazit ile kontamine olmuş yiyeceklerin ithali önemli rol oynamaktadır. 1996 yılında Kanada'da, Guatelama'dan ithal edilen kontamine böğürtlenlerin tüketimi sonucunda 1465 kişiyi etkileyen siklosporidiaz salgını bildirilmiştir (17). Ayrıca *C. cayetanensis*'e bağlı su kaynaklı salgınlarda bildirilmiştir (17).

*Cyclospora cayetanensis* infeksiyonları çoğunlukla bahar ve yaz aylarında görölmektedir. Guatelama'da diyareli 160 çocuğun %19'unda *C.cayetanensis*'in etken olarak saptandığı olguların hepsi Mayıs-Haziran aylarında görölmüştür (35).

*Cyclospora cayetanensis* ookistleri, *C.parvum* ookistlerine benzer şekilde içme sularının dezenfeksiyonunda kullanılan klorla oldukça

dirençlidir. Fakat morfolojik olarak *C.parvum* ookistlerinin 2 katı büyüklükte oldukları için filtre yöntemiyle içme sularından daha kolay uzaklaştırılırlar.

*Cyclospora cayetanensis* infeksiyonlarının tanısı, dışkı örneklerinden hazırlanan preparatların Modifiye Kinyoun boyama yöntemi, trikrom boyama yöntemi, Giemsa gibi yöntemlerle boyanarak, ookistlerin saptanmasıyla olur (12). *Cyclospora cayetanensis* ookistlerinin duvarları, *C.parvum* ookistlerinden farklı olarak ultraviyole ışık altında (260 nm. dalga boyunda) kendiliğinden floresans verir. Tanı yöntemleri arasında PCR yöntemi de bulunmaktadır (35).

Yukarıda adı geçen protozoonlar dışında, helmint infeksiyonları da gastrointestinal semptomlarla (abdominal kramp, diyare) ilişkili olup, eozinofili ile karakterize klinik tablo oluştururlar. Bunlar arasında özellikle az gelişmiş ülkelerde prevalansı en yaygın olanlar arasında; *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Hymenolepis nana*, *Taenia saginata* ve *Strongyloides stercoralis* sayılabilir. Ülkemizde *Taenia saginata* infeksiyonları bütün bölgelerde görülmekte olup, yapılan çalışmalar *Trichuris trichiura* infeksiyonu prevalansının %4-40, *Ascaris lumbricoides* infeksiyonlarının prevalansının ise %2,2-34 arasında değiştiğini göstermektedir (16). Helmint infeksiyonlarının tanısı, dışkıdan çeşitli konsantrasyon teknikleri (formalin-etil asetat çöktürme, çinko-sülfat yüzdürme) ile hazırlanan lam-lamel arası preparatların lugolle boyanıp mikroskopik incelenmesi ile olur (12).

Paraziter infeksiyonlara ilaveten bulaşıcı ishallerin önemli bir kısmından viral etkenler sorumludur. Özellikle çocuk yaş grubunda inflamasyonsuz seyreden ishallerin önemli bir kısmı virüslere bağlı olarak gelişir. Rotavirüs ve enterik Adenovirüsler (31, 40, 41 no'lu serotipler) bu yaş grubunda en sıklıkla saptanan etkenlerdir. Virüsler çoğunlukla kendini sınırlayan infeksiyonlara neden olmakla beraber, ağır dehidratasyon sonucu ölüme de yol açabilirler (4).

Rotavirüs, Reoviridae familyasına ait 70 nm'lik bir RNA virüsüdür. Yenidoğanlarda ve küçük çocuklarda infeksiyöz gastroenteritin başlıca sebeplerindendir (6). Rotavirüs patogenezi, virüsün ince barsaktaki hücreleri villüslerden infekte edip, sitoplazmada çoğalarak konak hücrenin transport mekanizmalarını bozmasıyla gerçekleşmektedir. Rotavirüslerin kodladığı proteinlerden biri olan NSP4, viral enterotoksin olup bir sinyal transdüksiyon yolu başlatarak sekresyonu indükler. Hasarlı hücreler barsak lümenine dökülürler ve yüksek oranda virüsle birlikte dışarı atılırlar. Virüs atılımı 2-12 gün arasında son bulur. Bu süre yeterli beslenemeyen kişilerde uzamaktadır (6).

Rotavirüs infeksiyonları özellikle Afrika ve Asya'daki az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkeler ile Latin Amerika ülkeleri gibi ülkelerde 5 yaş altı çocuklarda yüksek morbidite ve mortalite nedenlerinden birisidir. Brezilya'da yapılan bir çalışmada, 0-5 yaş grubunda yer alan çocukların %19,2'sinde Rotavirüs en yaygın enteropatojen olarak saptanmıştır (30). Avustralya'da yapılan bir başka çalışmada, ishal şikayeti olan 6 yaşından küçük 412 çocuktan 137'sinde (%33) etkeni belirlemişler ve etkeni belirlenen ishallerde, Rotavirüs oranını %40 olarak saptamışlardır (24). Rotavirüs infeksiyonlarının morbiditesi gelişmiş ülkelerde de yüksektir, fakat mortalite az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerle kıyaslandığında daha düşüktür.

Rotavirüs infeksiyonları genellikle kış aylarında görülmektedir. Brezilya'da yapılan bir çalışmada, Rotavirüs pozitif vakalar, Ekim-Şubat periyodunda Mayıs-Eylül periyoduna göre %70 daha fazla görülmüştür (30). Rotavirüse bağlı semptomatik infeksiyonlar, 6 ay ile 2 yaş arasındaki çocuklarda yaygındır. Rotavirüs infeksiyonlarının bulaşı fekal-oral yolla olup, su epidemileri yaygındır. Ayrıca Rotavirüse bağlı nozokomiyal infeksiyonlar da yaygındır (4).

Rotavirüs infeksiyonlarının tanısı, elektron mikroskopi veya virüsün kapsid proteinlerini saptamaya yönelik olarak ELISA veya lateks aglütinasyon yöntemleriyle yapılabilir. ELISA yöntemi, kolay uygulanabilirliği,

hızlı sonuç vermesi, düşük maliyetli olması gibi sebeplerden dolayı rutin laboratuvarlarda çoğunlukla tercih edilmektedir. Rotavirüsler hem insan hem de hayvan patojenlerini içermekte olup, insan Rotavirüsleri kapsid proteinlerine göre 3 ana serolojik gruba ayrılır. İnsan infeksiyonlarının çoğundan grup A sorumlu olup, aynı antijenik grup içinde farklı serotipler bulunmaktadır (6).

Bebek ve çocuklarda viral kaynaklı ishallerde Rotavirüs infeksiyonlarından sonra gelen en önemli ikinci etken enterik Adenovirüslerdir. Adenovirüsler, DNA virüsleri olup en az 47 serotipi bilinmektedir ve 31, 40 ve 41 no'lu serotipleri gastroenterit yapar (6). Avustralya'da yapılan bir çalışmada altı yaşından küçük ishallerde Rotavirüsten sonra Adenovirüs %26, Astrovirüs de %12 oranlarında saptanmıştır (24). Enterik Adenovirüsleri hücre kültürlerinde üretmek çok güç olduğu için tanı elektron mikroskopisi veya antijen testleriyle konulmaktadır (6).

İnsanlarda akut inflamasyonsuz gastroenterit oluşturan diğer virüsler arasında Astrovirüsler, Calicivirüsler ile Norwalk virüsleri sayılabilir (6).

İnflamasyonsuz akut bakteriyel gastroenterite neden olan çeşitli bakteri cinsleri mevcut olup, ürettikleri enterotoksinleri aracılığı ile etkili olurlar. Bu cinslere örnek olarak Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* ve *Bacillus cereus* verilebilir (15). Enterotoksinlerin genel etki mekanizması birbirine benzer olup, barsak epitel hücrelerinde adenil siklazın aktivasyonu ile siklik adenzin monofosfat konsantrasyonunda olan yükselme sonucunda barsak boşluğuna hücrelerden bol su, klorür ve bikarbonat iyonları salınır. Salınan sıvının geri emilimi yeterli olmadığından sürgün ile dışarı atılır (5).

ETEC'e bağlı ishaller Dünya genelinde akut bakteriyel ishalin en sık saptanan nedenidir. ETEC'e bağlı ishaller, ani gelişen sulu dışkılama şeklindedir. Çocuk yaş grubunda ciddi seyrederek, ayrıca turist ishallerinin

%11–72'sinden sorumludur. ETEC infeksiyonlarının rutin laboratuvarında kesin tanısını koyacak yöntem bulunmamaktadır (34). EPEC'e bağlı ishaller bebeklerde ve 2 yaş altı çocuklar arasında özellikle hastane kreşlerinde salgınlar şeklinde görülmektedir. EPEC infeksiyonlarının kesin tanısı için serotiplendirme yapılabilir, ancak uygulama zorluğu nedeniyle rutinde kullanılmamaktadır (34).

## 4.2. İnflamasyonla Seyreden İshallerden Sorumlu Enteropatojenler

İnsanlarda başlıca akut dizanteri ve inflamasyonlu enterokolit etkenleri arasında Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile* gibi bakteriler ve *Entamoeba histolytica* gibi invaziv parazitler bulunmaktadır (15).

*Shigella* cinsi bakteriler; Enterobacteriaceae familyasına bağlı olup, gram negatif basil şeklinde, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz ve fakültatif anaeropturlar. Bu cinsteki bakteriler 4 alt gruba ayrılmaktadır (A-D serovarları: *S.dysenteriae*, *S.flexneri*, *S.sonnei* ve *S.boydii*).

*Shigella* cinsi bakteriler, bazı yüksek maymunlar dışında yalnızca insan için patojendirler. İnsanlarda kalın barsağa yerleşerek hastalık yaparlar. Yiyecek ve içeceklerle basilin alınmasından sonra 6 saat ile 9 gün arasında değişen inkübasyon periyodu geçer, bu periyod genellikle 72 saatten az sürer. İnfektif doz oldukça düşük olup,  $10^2$ - $10^3$  adet bakterinin alınması yeterlidir. Bütün *Shigella* bakterileri parçalandıklarında lipopolisakkarit yapısında ve bir endotoksin niteliği gösteren somatik antijenleri ortaya çıkar. Buna ek olarak *S.dysenteriae* çoğaldığı zaman ortama bir ekzotoksin salan tek *Shigella* türüdür. Bu toksin protein yapısında olup ısı, asit ve proteolitik enzimlere karşı dirençsizdir. Barsaklarda Adenil siklazı stimüle edici etkisinin yanısıra, merkezi sinir sistemini de bir nörotoksin gibi etkiler. *Shigella* bakterileri kalın barsakta mukoza epiteli içine girip çoğalarak mukozada yayılırlar. Kalın barsak ve

ileumun son kısmı mukozasında önce ödem, konjesyon, bol mukus salgılanmasına yol açar ve mikroapselerin oluşumuna yol açar. Daha sonra nekroz ve yüzeysel ülserasyonlar gelişir. Bu ülserasyonlar iltihaplı görünümde olup kanarlar ve üzerleri fibrin, lökosit, hücre artıkları, bakteri ve nekrotik mukoza parçalarının karışımından oluşmuş yalancı zarlarla örtülür (3).

Dünyada her yıl yaklaşık 200 milyon kişi *Shigella* türlerinden biriyle infekte olmakta ve 650,000 kişi ölmektedir(15). Gelişmiş ülkelerde basilli dizanteri olgularından en sık *S.sonnei* izole edilirken, gelişmekte olan ülkelerde *S.flexneri* en fazla etkindir. Orta ve Güney Amerika, Afrika ve Güney Asya ülkelerinde ise *S.dysenteriae* sıklık sırasında başta gelmektedir. Ülkemizde izole edilen *Shigella* türlerinin büyük çoğunluğunu *S.sonnei* ve *S.flexneri* oluşturmaktadır (34). 1996–1998 yılları arasında İstanbul'da yapılan bir prevalans çalışmasında 117 ishallerde *S.sonnei* ve *S.flexneri* prevalansları %4,2 iken *S.boydii* ve *S.dysenteriae* prevalansları %0,85 olarak bulunmuştur (8).

Şigellozda tanı dışkının makroskopik, mikroskopik ve bakteriyolojik incelemeleriyle konur. Şigellozlu bir hastanın dışkısı kanlı ve mukusludur, dışkının serum fizyolojik ile hazırlanan preparatların incelenmesinde bol miktarda lökosit ve eritrosit görülür. Rutin laboratuvarlarda kültür için kullanılan besiyerleri şunlardır: Hektoen enterik agar, Sorbitollü Mac Conkey agar, Salmonella-Shigella (SS) agar ve Selenit F sıvı besiyeri. Laktoza etkisiz *Shigella*'lar Hektoen enterik agarda yeşil, mavi-yeşil koloniler, SS agarda renksiz bazen ortası siyah noktalı koloniler, Sorbitollü Mac Conkey agarda da renksiz koloniler yaparlar. Üç şekerli demirli besiyerinde (TSI) dipte asit (sarı), yatık kısımda alkali (kırmızı) reaksiyon yaparlar, H<sub>2</sub>S ve gaz oluşturmazlar. IMViC testlerinde indol durumları değişken, metil kırmızısı olumlu, Voges Proskauer olumsuz olup sitratda üremezler ve üreaz oluşturmazlar. Anti O serumlarıyla serogrup ve serovarlara ayrılırlar. *Shigella*'ların kirpikleri bulunmadığından sadece lipopolisakkarit yapısındaki

“O” antijenleri vardır. Bu antijenlerin özelliği hemen her tipinin bir *Escherichia* basilinin “O” antijenine benzemesidir (5) .

Dizanteri şeklinde ishallere neden olan bir diğer önemli bakteri cinsi olan *Salmonella*'lar Enterobacteriaceae ailesinden gram negatif, sporsuz, kapsülsüz basillerdir. Fakültatif anaerop olup üreme ısıları sınırı oldukça geniştir (20°C - 42°C). *Salmonella* cinsine bağlı türlerden enterik ateş yapan 4 tür serolojik ve biyokimyasal testlerle laboratuvarında tanımlanmaktadır. Bunlar; *S.paratyphi* A (A serovarı), *S.paratyphi* B (B serovarı), *S.choleraesuis* (C1 serovarı) ve *S.typhi*'dir (D serovarı).

*Salmonella* türleri insanlarda genel olarak üç tip hastalık yaparlar. Tifo ve Paratifo etkenleri arasında en önemli tür *S.typhi*'dir. Enterokolitlere 1500-2000 *Salmonella* serotipinden herhangi biri neden olabilir. İnkübasyon süresi 8-48 saat arasında değişmektedir. *Salmonella*'lar bundan başka sepsis ve lokal organ hastalıklarına neden olurlar (34). Ülkemizde diyareli olgularda *Salmonella spp.* prevalansının araştırıldığı bir çalışma da 1996-1998 yılları arasında 117 olgudan 8'inde (%6,8) *Salmonella spp.* serotipleri izole edilmiştir (8).

*Salmonella* esas olarak hayvanların patojenidir. Hayvanlardaki infeksiyonlar insanlara bulaşta en önemli kaynaktır. *Salmonella*'ların bir kısmı insana oldukça adapte olmuştur. *Salmonella typhi* daima insanda hastalık yapar, *S.paratyphi* A, *S.paratyphi* B, *S.choleraesuis* daha çok insanda hastalık yapmakla birlikte hayvanlarda da nadiren hastalık yapabilirler. Bunların dışındaki *Salmonella* serotipleri hayvanlar arasında yaygın olarak infeksiyonlara neden olurlar. Özellikle besin kaynağı olarak yetiştirilen hayvanlar arasında yaygındırlar (34).

Gram negatif diğer bakterilerdeki gibi *Salmonella*'larda da endotoksinler bulunmaktadır. Endotoksin etkisinin *Salmonella*'ların hücre çeperindeki lipopolisakkaritlerde bulunduğu, bunların polisakkarit kısmının “O” antijenleri niteliğinde oldukları, lipid kısımlarının ise toksik olduğu bilinmektedir. *Salmonella*'larda bulunan yüzey antijenlerinden “O” antijenleri

ve *S.typhi*'deki "Vi" antijenleri anti fagositik etkileri ile virülansa etkili olurlar. Bazı *Salmonella*'lar *E.coli*'dekilere benzer ısıya duyarlı ve ısıya dirençli nitelikte enterotoksinler yaparlar. Ayrıca çeşitli serovarlarda farklı miktarlarda sitotoksinler oluşturulur.

*Salmonella spp.* Hektoen enterik agarda yeşil veya mavi çoğu kez ortası siyah koloniler, SS agarda ve Sorbitollü Mac Conkey agarda renksiz koloniler yaparlar. Üç şekerli demirli besiyerinde (TSl) dipte asit (sarı), yatıkta alkali (kırmızı) reaksiyon verirler. Çoğu H<sub>2</sub>S ve gaz oluşturur. İMVIC testlerinde indol negatif, metil kırmızısı olumlu, Voges Proskauer olumsuz olup sitratlı besiyerinde ürerler. Üreaz oluşturmazlar. *Salmonella*'ların üç esas antijeni vardır: "O" somatik antijenleri, "H" kirpik antijenleri ve "Vi" yüzeyel antijeni. Bu cins içerisinde çeşitli serovarlara ayrımı bu antijenlerin incelenmesiyle olur (5).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) daha çok çocuklarda aynı zamanda yetişkinlerde özellikle de gelişmekte olan ülkelere seyahat eden gezginlerde dizanteriform sürgünler oluşturur. Bu gruptaki bakteriler enterotoksin yapmaz. *Shigella* türleri gibi bağırsak mukozasının içerisine yayılarak aynı nitelikteki ülserli ve pürülan salgılı lezyonlara ve kolit biçimindeki klinik tablolara yol açarlar. İnkübasyon süresi 2-3 gündür. Bu grupta yer alan bakteriler laktozu ya fermente etmezler ya da geç fermente ederler ve hareketsiz olma özellikleriyle de *Shigella* türlerine benzerler. Enteroinvaziv *E. coli* serotipleri; O28a, O28c, O29, O112a, O112c, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167 ve O173'dür (15).

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) ürettiği Verotoksin adlı toksiniyle hemorajik kolit tipindeki hastalıklara neden olur. O157 : H7 serotipi klinik örneklerden en çok izole edilen serotiptir. Çocuklarda akut ishali takip eden ve akut böbrek yetmezliği, trombositopeni, hemolitik anemi ile seyreden hemolitik üremik sendromun (HUS) etkenlerindedir. Kuzey Amerika'daki hemolitik üremik sendromların %75-90'ı bir komplikasyon olarak EHEC infeksiyonlarının %8'inde gelişmektedir(15).

Antibiyotiğe bağılı ishallerin %15-25'inden sorumlu olan *C.difficile* gram pozitif, hareketli subterminal-terminal sporlu anaerobik bir basildir. İnsanların normal barsak florasında; yetişkinlerde %3, iki yaşından küçük çocuklarda %50 oranında bulunur. *Clostridium difficile* fırsatçı bir patojen olup antibiyotik kullanımına bağılı olarak normal barsak florası elemanlarının baskılanması sonucu; kendini sınırlayan ishallerden psödomembranöz kolite değışen infeksiyonlara yol açar. Protein yapısında olan iki tip toksini vardır. Toksin A barsakta sıvı toplanmasına neden olan bir enterotoksin, Toksin B ise hücre nekrozuna yol açan bir sitotoksindir. İki toksin sinerjistik hareket ederek kolon epitelinde nekrozlar oluşturarak hastalığa neden olurlar. Hospitalizasyon *C.difficile* kolonizasyonu için bir risk faktörüdür, mikroorganizmanın hastanede kazanılma oranı %7-30 arasında değışmektedir, bu hastaların %70'inde ishal gelişmektedir (34).

*Clostridium difficile* ishallerinin laboratuvar tanısında hücre kültürleri, PCR ve dışkı örneklerinde toksin A veya B'yi ya da her ikisini saptayan enzim immün testler (EIA) kullanılabilir (34). Kolay uygulanabilir olmasından dolayı enzim immün testler rutin araştırmalarda tercih edilmektedir.

İnvazyon yaparak inflamasyonlu paraziter ishallerine neden olan *Entamoeba histolytica*, Protozoa aleminin Sarcocystidophora filumuna bağılı bir amiptir. İnsanlarda çoğunlukla kalın barsağı tutarak amipli dizanteri oluşturur. Barsaklar dışında başta karaciğer olmak üzere akciğer, beyin, dalak gibi çeşitli organlarda abselere neden olur.

*E.histolytica*'nın trofozoit, kist ve prekist olmak üzere üç formu bulunmaktadır. Trofozoitler sadece dokuda bulunmaktadır. Boyutları 10-60 µm olup psödopodlarıyla tek yönde hareket ederler. Kistler barsak lümeninde ve dışkıda bulunurlar 10-20 µm çapındadırlar. Olgun kistlerde 4 nukleus bulunmaktadır. *Entamoeba histolytica* infeksiyonlarında bulaşı infektif kistlerin fekal-oral yolla alınmasıyla olur. Sindirim yoluyla alınan kistler ince barsakta açılırlar. Bu sırada endoplazma ve ektoplazma birbirinden farklılaşır. Psödopodlar kist duvarını delerek dışarı çıkarlar ve

metakist denilen 2-4 nukleuslu ve ince duvarlı bir ara form oluşur. Metakist hemen içindeki nukleus sayısı kadar bölünerek nukleuslu metakistik trofozoitleri oluşturur. Metakistik trofozoitler kalın barsağa geçer ve burada değişerek trofozoit şekle dönerler (3). *Entamoeba histolytica* trofozoitleri in vitro olarak insan nötrofil, lenfosit ve monositlerini eritme yeteneğindedir. Nötrofil yıkımıyla toksik nötrofil içeriklerinin salınması, doku hasarı yaparak kolon invazyonuna ve amip abse oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Parazit antijenlerinden biri olan lektin aynı zamanda kuvvetli bir T hücre mitojenidir (16).

*Entamoeba histolytica* invaze olduğu doku hücrelerinin sitoplazmasından absorpsiyonla veya besin vakuelleri içine aldığı doku parçaları, eritrositler ve bakterilerle beslenir. Çoğalma trofozoitlerin ikiye bölünmesiyle olur. Bir trofozoitten oluşan kistten 4 trofozoit meydana geldiği için, kist oluşumu aynı zamanda bir çoğalma yolunu oluşturur.

Dünyada her yıl yaklaşık 500 milyon kişi *E.histolytica* ile infekte olmaktadır. *Entamoeba histolytica* infeksiyonlarına bağlı olarak her yıl 80,000 kişi ölmektedir (15). Ülkemizde amebyaza daha çok Güneydoğu Anadolu bölgesinde rastlanmaktadır. Bulaşmada en önemli kaynak sessiz infeksiyonlu insanlardır. Bugüne kadar yurdumuzun değişik bölgelerinde yapılan koproparazitolojik araştırmalardan barsak parazitlerinin dağılımında *E.histolytica* insidansının %0,5 ile %7,5 arasında değiştiği saptanmıştır (16).

*Entamoeba histolytica* ile olan infeksiyonun sonucu suşun patojenliğine ve infekte kişinin immünitesi, barsak normal bakteri florası, sindirimle alınan kist sayısı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Buna göre infekte kişide belirtisiz kronik amebyaz veya akut amipli dizanteri meydana gelir. Amipli dizanterinin meydana gelmesinde ilk kademe *E.histolytica*'nın trofozoit şeklinin kalın barsak mukozası epitel hücreleri arasına psödopodlarıyla girerek veya sitolitik enzimleriyle bu hücrelere zarar vererek nekroz ve yüzeysel ülserlere neden olmasıdır. Ülser derinleşerek submukozaya varır. Submukozadaki ülser enlemesine daha hızlı gelişir.

Böylece submukozadaki kısmı geniş, mukozadaki ağzı dar “şişeye benzer” olarak tarif edilen tipik ülserler meydana gelir. Ülserlerin birbirleriyle birleşmeleriyle daha büyük ülserler oluşur.

Direkt mikroskopik inceleme her zaman amebiyaz tanısı için yeterli olmayabilir. Trofozoitlerin makrofajlara benzemesinin yanısıra patojen olmayan diğer bir amip türü olan *E.dispar*'ın kistlerinin morfolojik olarak *E.histolytica* kistlerinden ayırtedilememesi sebebiyle *E.histolytica* infeksiyonunun tanısında günümüzde halen problemler mevcuttur. Bu yüzden ELISA yöntemi kullanılarak dışkıda *E.histolytica*'ya özgül antijen aranması yoluyla tanı konması rutin laboratuvarlar için önemli bir ihtiyaç haline gelmiştir (33).



## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1. ÇALIŞMA GRUBU

**a- Hasta Grubu:** Marmara Üniversitesi Hastanesi ve Sultançiftliği Sağlık Ocağına ishal şikayeti (günde en az üç kez dışkılaması olan, buna ilaveten karın ağrısı, bulantı, dışkısında kan ve/veya mukus bulunan hastalar) ile başvuran hastalar çalışma kapsamına alınmıştır.

**b- Kontrol grubu:** Herhangi bir gastrointestinal yakınması olmayan 50 kişiden oluşmuştur.

### 5.2. ANKET FORMU

Her hasta için çeşitli parametrelerin sorgulandığı bir anket formu doldurulmuştur (Ek-1). Bu formlar; hastaların antibiyotik kullanım öyküleri olup olmadığını, varsa altta yatan hastalıklarını, bulaşın kaynağını ve muhtemel risk faktörlerini (seyahat, besin ve su tüketimi vb.) saptayabilmek amacı ile hazırlanmıştır.

### 5.3. ARAŞTIRILAN ENTEROPATOJENLER

Hastalardan Mart-Eylül 2001 tarihleri arasında alınan dışkı örnekleri, sıklıkla rastlanan enteropatojenler yönünden incelenmeye alınmıştır: *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, diğer protozoa ve helmintler, bakteriyel etkenler (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, EHEC, *Clostridium difficile*), viral etkenler (Rotavirüs, Adenovirüs).

## 5.4. KULLANILAN ÇÖZELTİLER, BOYALAR, BESİYERLERİ, ANTİJEN/TOKSİN TAYİNİ KİTLERİ VE DİĞER MALZEMELER

### 5.4.1. Çözeltiler (12)

#### Serum Fizyolojik

NaCl 8,5 gr

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

#### Formalin

Formalin 100 ml

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

#### Potasyum Permanganat Çözeltisi

Potasyum Permanganat 0,5 gr

Distile suyla 1000 ml'ye tamamlanır ve filtre kağıdından süzülür.

#### Etil Alkol (%50'lik)

Etil alkol 500 ml

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

#### Sülfürik Asit Çözeltisi (%3'lük)

Konsantre H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30 ml

Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

#### Lugol

Potasyum iyodür 10 gr

İyot kristal tozu 5 gr

Distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

### 5.4.2. Boyalar (12)

#### Kinyoun'un Karbol Fuksin Boyası

Bazik Fuksin	40 gr
Etil alkol (%95)	200 ml
Fenol (%9)	1000 ml

Bazik fuksin tartılıp, üzerine karıştırılarak etil alkol ilave edilir. Fenol eritilerek distile suya katılır, etil alkollü bazik fuksin de ilave edilerek distile suyla 1000 ml'ye tamamlanır.

#### Metilen Mavisi

Metilen mavisi	3 gr
Distile su	1000 ml

Metilen mavisi tartılarak, 1000 ml'ye tamamlanır.

#### Auramin-Rhodamine

Auramin O	15gr
Rhodamine B	7,5 gr
Gliserol	750 ml
Fenol	100ml
Distile su	500ml

Magnetik karıştırıcıda 24 saat süreyle karıştırılır veya ılınıncaya kadar ısıtılıp, 5 dakika süreyle karıştırılır. Filtre kağıdından süzülür.

### 5.4.3. Besiyerleri

- Hektoen enterik agar (Biomerieux - France)
- Selenit F sıvı besiyeri (Biomerieux - France)
- Sorbitollü Mac Conkey agar (Oxoid - England)

#### **5.4.4. Direkt Antijen/Toksin Tayin Kitleri**

- RIDASCREEN *Cryptosporidium* Mikro ELISA antijen kiti (R-Biopharm - Germany)
- RIDASCREEN *E.histolytica* Mikro ELISA antijen kiti (R-Biopharm - Germany)
- RIDASCREEN *C.difficile* Toksin A/B Mikro ELISA antijen kiti (R- Biopharm - Germany)
- RIDASCREEN Rotavirüs Mikro ELISA antijen kiti (R-Biopharm - Germany)
- RIDASCREEN Adenovirüs Mikro ELISA antijen kiti (R-Biopharm - Germany)

#### **5.4.5. Diğer Malzemeler**

- Mini Para-sep Parazit konsantrasyon tüpü (3 ml SAF içerir, INTERSEP - England)
- Metanol
- Etil Asetat
- Lam
- Lamel
- Cam tüp

#### **5.4.6. Araçlar**

- Işık Mikroskopu (Olympus)
- Floresan Mikroskop (Olympus)
- Santrifüj (Hettich)
- Magnetik karıştırıcı (Elektromag)
- Vorteks (IKA)

- Terazi (Sartorius)
- Soğutucu +4°C (Arçelik)
- Derin Dondurucu -20°C (Arçelik)
- Etüv (Wtb Binder)
- Su Banyosu (Elektromag)
- Otoklav (Hirayama)
- BIO-TEK ELX-50 Yıkayıcı
- BIO-TEK ELX-800 Optik Okuyucu

## 5.5. YÖNTEM

### 5.5.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması ve Gruplandırılması

Dışkı örnekleri makroskopik ve mikroskopik özelliklerine göre, araştırılacak etkenler (Bkz. 5.3.) açısından gruplandırılmıştır. Hastalardan bir kez, taze olarak steril kap içerisine alınan dışkı örnekleri;

- Parazitolojik inceleme için, içerisinde sodyum asetik asit formalin (SAF) bulunan parazit konsantrasyon tüplerine aktarılmıştır. Rutin koproparazitolojik inceleme tüm dışkı örneklerine uygulanmıştır (n=190).
- Makroskopik olarak kan ve/veya mukus, mikroskopik olarak eritrosit ve/veya lökosit içeren dışkı örneklerinin, bakteriyolojik inceleme yapmak üzere hemen ilgili besiyerlerine ekimi yapılmıştır (n=48).
- Viral ve paraziter antijenlerin tayini için dışkı örnekleri 24 saat içerisinde çalışılacaksa buzdolabında +4 °C'de, daha uzun süreler için -20 °C'de saklanmıştır. Rotavirüs antijeni, 0-3, 4-12 ve 56-81 yaş grubunda bulunan hastaların dışkı örneklerinde (n=124), Adenovirüs antijeni ise sadece 0-3 ve 4-12 yaş grubu hastalarda (n=100) çalışılmıştır. *Entamoeba histolytica* antijeni, makroskopik olarak kan ve/veya mukus, mikroskopik olarak eritrosit ve/veya lökosit içeren dışkı örneklerinde test

edilmiştir (n=48). *Cryptosporidium parvum* antijeni ise tüm dışkı örneklerinde araştırılmıştır (n=190).

- *Clostridium difficile* toksini, antibiyotik kullanım öyküsü olan hastaların dışkı örneklerinde test edilmiştir (n=28). Bu hastalardan 15'inin hastanede yatış öyküsü vardır.

## 5.5.2. Dışkı Örneklerini Parazit Yönünden İncelemek Üzere Uygulanan Yöntemler

### 5.5.2.1. Direkt İnceleme

Dışkı örneklerinden serum fizyolojik ile hazırlanan lam-lamel arası preparatların mikroskopta 40x büyütmede incelenmesiyle lökosit ve eritrosit varlığı araştırıldı.

### 5.5.2.2. Koproparazitolojik İnceleme

Dışkı örneklerinde helmint yumurtaları ve protozoa kistlerinin araştırılmasında sodyum asetat-asetik asit formalin-etil asetat çöktürme yöntemi kullanıldı. Dışkı örneğinin konsantrasyonunda üretici firmanın prosedürü uygulandı;

a) İçerisinde 3 ml sodyum asetat-asetik asit formalin bulunan mini para-sep parazit konsantrasyon tüpü içerisine incelenecek dışkı örneğinden 2-3 gr kondu ve 10-15 sn süreyle vortekslendi.

b) Tüpün içerisine 1 ml etil asetat eklenerek tekrar vortekslendi.

c) 1000 x g'de 1 dakika süreyle santrifüjlendi.

d) Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı dökülerek sedimentten lam-lamel arası lugollü preparatlar hazırlandı, helmint yumurtaları ve protozoa kistleri mikroskopta 40x büyütmede araştırıldı. *Cryptosporidium parvum* ve *Cyclospora cayatanensis* tanısı için, dışkı örnekleri benzer yöntemle 500 x

g'de 10 dakika süreyle santrifüjlenip sediment kısmından Modifiye Kinyoun ve Auramin-Rhodamine boyama yöntemleriyle boyanmak üzere 3 ayrı preparat hazırlandı.

### **5.5.2.3. Modifiye Kinyoun'un Boyama Yöntemiyle *C.parvum* ve *C.cayetanensis* Ookistlerinin Saptanması (12)**

Konsantrasyon tekniği ile elde edilen sedimentten hazırlanan preparatlar havada kurutulduktan sonra aşağıdaki işlemler uygulandı;

- a) Preparatlar metanolde 1 dakika fikse edildi ve fiksasyon sonrasında havada kurutuldu.
- b) Kinyoun'un karbol fuksin boyasıyla 5 dk. boyandı.
- c) %50'lik etanolle 3-5 sn muamele edildikten sonra musluk suyu ile yıkandı.
- d) %3'lük sülfürik asit ile 2 dakika süreyle dekolorize edildi.
- e) Tekrar musluk suyuyla yıkanıp metilen mavisiyle 1 dakika boyandı.
- f) Suyla yıkanan preparatlar havada kurutuldu.

Hazır preparatlar, mikroskopta 100x büyütmede immersiyon yağı kullanılarak incelendi. Bu yöntemle, *C.parvum* ookistleri yaklaşık 4-6 µm, *C.cayetanensis* kistleri ise yaklaşık olarak 10 µm büyüklüğünde, mavi zemin üzerinde kırmızı sferik yapılar şeklinde görülür.

### **5.5.2.4. Auramin-Rhodamine Boyama Yöntemiyle *C.parvum* Ookistlerinin Saptanması**

Konsantre edilen dışkı örneklerinin sedimentinden hazırlanan preparatlar, havada kurutulduktan sonra,

- a) Bir gece 65 °C'de tespit edildi.
- b) Preparat üzerine lamın tamamını örtecek şekilde AR konularak oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi.
- c) Preparat distile suyla yıkanarak, 30 saniye süreyle %3'lük sülfürik asitle dekolorize edildi.

d) Preparat distile suyla yıkanıp, üzerine %0.5'lik potasyum permanganat konarak 4 dakika bekletildi.

e) Distile suyla yıkanarak, havada kurutuldu.

Hazır preparatlar, floresan mikroskopta 100x de immersiyon yağı ile incelenerek, *C.parvum* ookistlerinin varlığı araştırıldı. Floresan ışığında yapılan mikroskopik incelemede *C.parvum* ookistleri turuncu renkli, sferik yapılar şeklinde görülür.

#### **5.5.2.5. Dışkıda Parazit Antijenlerinin Tayini**

- Dışkı örneklerinde *Cryptosporidium parvum* antijeni RIDASCREEN *Cryptosporidium* Mikro ELISA antijen kitiyle test protokolüne uygun olarak araştırıldı.
- Dışkı örneklerinde *E.histolytica* antijeni RIDASCREEN *E.histolytica* Mikro ELISA antijen kitiyle test protokolüne uygun olarak araştırıldı.

#### **5.5.3. Dışkı Örneklerinde Patojen Bakterileri Saptamak İçin Uygulanan Yöntemler**

##### **5.5.3.1.Kültür Yöntemleri**

Dışkı örnekleri Hektoen enterik agar, Sorbitollü Mac Conkey agar ve Selenit F sıvı besiyerine ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Selenit F besiyerinden 6 saatlik inkübasyon sonrası, Hektoen enterik agara pasaj yapıldı.

Hektoen enterik agarda H<sub>2</sub>S üreten ve laktoz negatif kolonilerden, sorbitollü Mac Conkey agarda renksiz kolonilerden karbonhidrat fermentasyonlarını ve diğer biyokimyasal özelliklerini görmek amacıyla üç şekerli demirli besiyeri (TSI), Simmons'un sitratlı besiyeri, ürelî yatık jeloz, Clark-Lubs glukozlu sıvı besiyerlerine, triptofanlı Motilite-indol-lizin dekarboksilaz (MIL) besiyerine, ornitinli besiyerine ve hareketi gözlemek için motilite besiyerine ekim yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Üç şekerli

demirli besiyerinde (TSI) dipte sarı ve yatıkta kırmızı renk oluşumu, ayrıca H<sub>2</sub>S üretimi ve diğer biyokimyasal test sonuçları dikkate alınarak *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* ve/veya Enterohemorajik *E.coli* olduğundan şüphelenilen bakteriler, özgül antiserumlarla test edilerek tanımlandı (21).

#### **5.5.3.2. *Clostridium difficile* Toksin Tayini**

Dışkı örneklerinde *C.difficile* toksini, antibiyotik kullanım öyküsü olan 28 hastada RIDASCREEN *C.difficile* Toksin A/B Mikro ELISA antijen kiti kullanılarak test protokolüne uygun olarak araştırıldı.

#### **5.5.4. Dışkı Örneklerinde Virüsleri Saptamak İçin Uygulanan Yöntemler**

- Rotavirüs antijeni 0-3, 4-12 ve 56-81 yaş grubu hastaların (n=124) dışkı örneklerinde RIDASCREEN Rotavirüs Mikro ELISA antijen kiti kullanılarak araştırıldı.
- Adenovirüs antijeni, RIDASCREEN Adenovirüs Mikro ELISA antijen kiti kullanılarak 0-3 ve 4-12 yaş grubu hastaların (n=100) dışkı örneklerinde araştırıldı.

#### **5.5.5. Mikro ELISA Yöntemi İle Dışkı Örneklerinde Antijen Arama Tekniğinin Uygulanışı**

Dışkı örneklerinde viral, paraziter antijenlerin ve *C.difficile* toksininin tayininde kullanılan testler aynı çalışma protokolüne sahiptir :

1. Yaklaşık 1 gr. dışkı örneği kitin içerisinde mevcut olan özel dilüsyon sıvısının 1 ml.'sinde dilüe edildi.
2. Bu süspansiyondan 100 µl monoklonal antikor bağlı plastik kuyucuklara kondu. Pozitif ve negatif kontrollerde 100'er µl konularak hazırlandı. Tüm kuyucuklara horseradish peroksidaz enzimi bağlı anti human globulin'den 200 µl eklenerek oda ısısında 1 saat inkübe edildi.

3. İnkübasyon sonrasında BIO-TEK ELX-50 adlı cihazda kuyucuklar özel yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.

4. Yıkama sonrasında kuyucuklara 1'er damla enzime özgü bir substrat olan üre peroksit ve kromojen madde tetrametilbenzidin (TMB) konularak 15 dakikalık ikinci inkübasyona kondu.

5. İnkübasyon sonrasında kuyucuklara reaksiyonu durduran solüsyondan 1'er damla konuldu. 600 nm dalgaboyunda BIO-TEK ELX-800 Optik okuyucuda spektrofotometrik olarak okutma yapılarak sonuçlar değerlendirildi.

**Sonuçların değerlendirilmesi:** Pozitif örnek içeren kuyucuklarda peroksidaz aktivitesine bağlı olarak bir renk değişimi olur. Testin güvenilirliği, pozitif ve negatif kontrollerin 600 nm'de prosedürde belirtilen absorbans limitleri dahilinde olup olmadığı ile anlaşılır. Bu değerler negatif kontrol için 0,2'den küçük, pozitif kontrol için 0,8'den büyük olmalıdır. Negatif kontrol absorbansına 0,15 eklenmesiyle hesaplanan "cut off" değerinden yüksek absorbans veren kuyucuklardaki örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

## 5.6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde "İki Yüzde Arasındaki Farkın Önemlilik Testi" kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılığı karşılaştırırken Student'in t-testi ve Fisher Kesin Ki-kare testi kullanıldı. P değerinin 0,05'ten küçük olması halinde ( $p < 0,05$ ) veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 6. BULGULAR

Marmara Üniversitesi Hastanesi ve Sultancıftlığı Sağlık Ocağı'na ishal şikayeti ile 2001 yılının Mart-Eylül ayları arasında başvuran 190 hasta çalışma kapsamına alınmış olup, hastalar yaşlarına göre gruplandırılmıştır (Tablo 1). Toplam 190 hastanın 48'inin (%25,3) inflamasyonlu ishali olup, 13-55 yaş grubunda (n=66) bu oran %48,5'tur (Tablo 3,4). Diğer yaş gruplarında inflamasyonlu ishal oranı %3,9 ile %31,2 arasında değişmektedir. Ishalli 190 hastanın 96'sında (%50,5), araştırılan enteropatojenlerden en az biri etken olarak saptanmıştır. Etken saptama oranı en yüksek 0-3 yaş grubunda olup (%76,2), diğer yaş gruplarında bu oran %32,9 ile %56 arasında değişmektedir (Tablo 1). *Cryptosporidium parvum* (%15,3) en sıklıkla saptanan enteropatojen olup, onu *Entamoeba histolytica* (%13,2), *Giardia lamblia* (%10,5), Rotavirüs (%10,5), Adenovirüs (%7), *Shigella sonnei* (%6,3), ve *Taenia saginata* (%0,5) izlemektedir (Tablo 3). Hastaların hiçbirinde *Cyclospora cayetanensis* ookistlerine rastlanmamıştır. Kontrol grubunda bulunan 50 kişide araştırılan enteropatojenlerden hiçbiri saptanmamıştır.

Hasta dışkılarında *C.parvum* varlığı, antijen testi ile saptanmış olup, bu hastaların hiçbirinde mikroskopik olarak *C.parvum* ookistleri görülmemiştir. *Cryptosporidium* antijeni saptanan 29 hastanın 23(%79,3)'ünde inflamasyonlu ishal bulgusu yoktur.

Tablo 1: Hastaların yaş dağılımı ve her grupta enteropatojen saptanma oranı.

YAŞ GRUPLARI	Hasta sayısı (%)	Enteropatojen saptanma yüzdesi	Kontrol grubu (%)	Enteropatojen saptanma yüzdesi
0-3	21 (11)	76,2	12 (24)	0
4-12	79 (41,6)	32,9	16 (32)	0
13-55	66 (34,7)	56	15 (30)	0
56-81	24 (12,6)	54,2	7 (14)	0
Toplam	190 (100)	50,5	50 (100)	0

Enteropatojenlerin dağılımı yaş grubu bazında irdelendiğinde, 0-3 yaş grubunda en sıklıkla rastlanan etken Rotavirüs (%33.3) ve *C.parvum* (%28.6)'dur (Tablo 3). *Cryptosporidium parvum* antijen pozitif olan hastalardan birinde Rotavirüs antijeni, bir diğerinde de Adenovirüs antijeni pozitif olarak bulunmuştur. Rotavirüs en sıklıkla (%35,7) Mayıs ayında başvuran hastalarda (n=14) saptanmıştır.

Rotavirüs ve *Cryptosporidium parvum* 'u takiben bu yaş grubunda üçüncü sıklıkla rastlanan enteropatojen *Shigella sonnei* 'dir. *Shigella sonnei* 'nin toplam inflamasyonlu hastalardaki oranı %6,3 iken; bu yaş grubundaki inflamasyonlu olgulardaki oranı %40 olarak belirlenmiştir (Tablo 4). Bir başka invaziv enteropatojen olan *Entamoeba histolytica*'nın, tüm ishali olgulardaki oranı %4,8 iken; bu oran inflamasyonlu olgularda %20'ye çıkmıştır (Tablo 3,4). Bu yaş grubunda saptanan diğer enteropatojenler *Giardia lamblia* (%4,8) ve Adenovirüs'tür (%4,8). Antibiyotik kullanım öyküsü olan 3 hastada araştırılan *Clostridium difficile* toksini, sadece hastaların birinde saptanmıştır.

4-12 yaş grubunda en sıklıkla rastlanan enteropatojen *G.lamblia* (%20.3)'dir. Bunu Adenovirüs (%7.6), ve *C.parvum* (%5) izlemektedir (Tablo 2,3). Rotavirüs, bu yaş grubunda düşük oranda (%3,7) bulunmuştur (Tablo 3). *Entamoeba histolytica* ve *Shigella sonnei* bu yaş grubundaki inflamasyonlu ishali olan 1'er hastada saptanmıştır. Diğer bakteriyel enteropatojenlere ve helmintlere bu yaş grubunda rastlanmamıştır (Tablo 3). Bu yaş grubundaki hastaların büyük kısmı Sultançiftliği Sağlık Ocağı'na başvuran hastalar olup, Adenovirüs antijeni pozitif saptanan hastaların tümü bu gruptadır (Tablo 2).

Tablo 2: (4-12) Yaş grubu hastalarda bölgelere göre enteropatojen saptanma oranları

Etkenler	Sultançiftliği Sağlık Ocağı n=63 (%)	M.Ü. Hastanesi n=13 (%)	TOPLAM n=79 (%)
<i>Giardia lamblia</i>	10 (15,9)	6 (46,1)	16 (20,3)
Adenovirüs antijen	6 (9,5)	0	6 (7,6)

Tablo 3: Enteropatojenlerin yaş gruplarındaki dağılımı

Etkenler	Yaş grupları					Kontrol Grubu n=50
	0-3 n=21 (%)	4-12 n=79 (%)	13-55 n=66 (%)	56-81 n=24 (%)	Toplam n=190 (%)	
<i>C.parvum</i> kisti	0	0	0	0	0	0
<i>C.parvum</i> antijeni	**6 (28,6)	4 (5)	12 (18,2)	7 (29,1)	29 (15,3)	0
<i>C.cayetanensis</i> kisti	0	0	0	0	0	0
<i>E.histolytica</i> antijeni	*1 (4,8)	1 (1,3)	20 (30,3)	3 (12,5)	25 (52)	0
<i>E.histolytica</i> kist / trofozoit	1 (4,8)	0	18 (27,3)	3 (12,5)	22 (45,8)	0
<i>G.lambliia</i> kisti	*1 (4,8)	***16 (20,3)	3 (4,5)	0	20 (10,5)	0
<i>T.saginata</i>	0	0	1 (1,5)	0	1 (0,5)	0
Rotavirüs antijeni	**7 (33,3)	3 (3,7)	Çalışılmadı	3 (12,5)	13 (10,5)	0
Adenovirüs antijeni	**1 (4,8)	***6 (7,6)	Çalışılmadı	Çalışılmadı	7 (7)	0
<i>S.sonnei</i>	2 (9,5)	1 (1,3)	0	0	3 (6,3)	0
<i>Salmonella sp.</i>	0	0	0	0	0	0
EHEC	0	0	0	0	0	0
<i>C.difficile</i> Toksin A/B (****)	1 (50)	0	1 (9)	0	2 (7,1)	0
<b>Toplam</b>	<b>16 (76,2)</b>	<b>30 (32,9)</b>	<b>37 (56)</b>	<b>13 (54,1)</b>		<b>0</b>

(\*) : Aynı hastada hem *G.lambliia* hem de *E.histolytica* saptanmıştır.

(\*\*) : *Cryptosporidium parvum* antijeni pozitif olan hastalardan birinde Rotavirüs, bir başkasında da Adenovirüs antijeni pozitif olarak saptanmıştır.

(\*\*\*) : *Giardia lamblia* saptanan hastaların birinde ek olarak Adenovirüs antijeni pozitif saptanmıştır.

(\*\*\*\*) : *C.difficile* Toksin A/B (0-3) yaş grubunda 2, (4-12) yaş grubunda 2, (13-55) yaş grubunda 11 ve (56-81) yaş grubunda 13 kişi olmak üzere antibiyotik kullanım öyküsü olan toplam 28 kişide çalışılmıştır.

Tablo 4: İnflamasyonlu ishali olan olgularda (n=48) rastlanan enteropatojenlerin dağılımı

<b>Etkenler</b>	<b>0-3Yaş Grubu (n=5) (%)</b>	<b>4-12Yaş Grubu (n=3) (%)</b>	<b>13-55Yaş Grubu (n=32) (%)</b>	<b>56-81 Yaş Grubu (n=8) (%)</b>	<b>TOPLAM (n=48) (%)</b>
<i>E.histolytica</i> antijen	*1	1	20	3	<b>25 (52)</b>
<i>S.sonnei</i>	2	1	0	0	<b>3 (6,3)</b>
<i>C.parvum</i> antijen	0	1	3	2	<b>6 (12,5)</b>

(\*) : Aynı hastada hem *G.lambli*a hem de *E.histolytica* saptanmıştır.

13-55 yaş grubunda 66 hasta bulunmaktadır ve bunların yaklaşık yarısında, inflamasyonlu ishal tespit edilmiştir (Tablo 4). *Entamoeba histolytica* tüm ishali olgularda %30,3, inflamasyonlu ishal olgularında (n=32) %62,5 oranında bulunmuştur (Tablo 3,4). *Entamoeba histolytica* antijeni saptanan 25 hastanın 22'sinde, mikroskopik olarak kist görülmesine karşın; sadece birinde amip trofozoitleri görülmüştür. Bu yaş grubunda en sıklıkla rastlanan ikinci enteropatojen *C.parvum* (%18.2)'dur. Diğer enteropatojenler daha az oranlarda bulunup, helmint infeksiyonu (*T.saginata*) tüm hasta popülasyonu içinde yalnız bu grupta 1 hastada gösterilmiştir (Tablo 3). Antibiyotik kullanım öyküsü olan 11 kişide araştırılan *C.difficile* toksini, bu hastaların 1'inde (%9) saptanmıştır.

*Cryptosporidium parvum*, 56-81 yaş grubunda en sıklıkla (%29.2) saptanan enteropatojen olmuştur. Bu grupta *C. parvum*'a ilaveten *E. histolytica* ve Rotavirüs de %12.5 oranda saptanmış olup; araştırılan diğer enteropatojenlere rastlanmamıştır (Tablo 2). *Entamoeba histolytica*'nın inflamasyonlu ishali olan 3 hastada saptanmıştır (Tablo 4).

## 7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda, M.Ü. Hastanesi ve Sultançiftliği Sağlık Ocağı'na ishal şikayeti ile başvuran 190 hastanın dışkı örnekleri, viral, bakteriyel ve paraziter ishal etkenleri yönünden incelenmeye alınmış olup bu hastaların 48'inin (%25,3) inflamasyonlu ishali olduğu belirlenmiş ve inflamasyonlu ishal olgusu oranı en yüksek (%48,5) olarak 13-55 yaş grubunda bulunmuştur. Toplam 190 hastanın 96'sında (%50,5), araştırılan enteropatojenlerden en az birisi saptanmıştır. Bu oran kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede yüksektir ( $p < 0,05$ ).

En sıklıkla saptanan enteropatojenler arasında ilk 3 sırayı parazitler almakta olup; *C.parvum* %15,3, *E.histolytica* %13,2, *G.lambliia* %10,5, Rotavirüs %10,5, Adenovirüs %7, *S.sonnei* %6,3, *C.difficile* %1,0 ve *T.saginata* %0,5 oranlarında saptanmıştır (Tablo-3). Olguların hiçbirinde *C. cayetanensis* ookistlerine rastlanmazken, Enterohemorajik *E.coli* ve *Salmonella* türü bakteriler de kültürü yapılan dışkı örneklerinde (n=48) saptanmamıştır.

Enteropatojenlerin dağılımı yaş grupları bazında irdelendiğinde belirgin farklılıklar göstermektedir. Çalışmamızda prevalansı en yüksek (%15,3) enteropatojen olarak saptanan *C.parvum*, özellikle 0-3 ve 56-81 yaş grubundaki hastalarda sırasıyla %28,6 ve %29,1 oranlarında bulunmuştur (Tablo 3). 0-3 yaş grubunda saptanan yüksek oran, dünyanın çeşitli yerlerinden bildirilen ve bu yaş grubundaki yüksek orana işaret eden yayınlarla uyum göstermektedir. Hastanemizde 1996 yılında yapılan bir çalışmada bu yaş grubunda *C.parvum* prevalansı %9,5 olarak bulunmuştur (32). İleri yaş grubundaki yüksek prevalans (%29,1) da, bu gruptaki hastaların bağışık durumu ile ilişkili olabilir.

*Cryptosporidium parvum* antijeninin saptandığı hastaların %79,3'ünün inflamasyonlu ishal bulgusu olmaması, bu parazitin inflamasyonsuz ishale yol açan bir enteropatojen olduğuna işaret eden yayınlarla uyumludur. Sadece 6 hastada inflamasyon bulgusu olması, çalışmamızda araştırılmayan başka bir enteropatojenin (*Campylobacter jejuni*, EIEC vb.) varlığı ile ilişkilendirilebilir.

Kriptosporidiyoz prevalansına yönelik olarak dünyanın çeşitli bölgelerinden bildirilen raporlar, gelişmiş ülkelerde prevalansın %4'ün altında olduğunu, gelişmekte olan ülkelerde ise %3-20 arasında değiştiğini göstermektedir (32). Bu çalışmalarda kullanılan dışkı konsantrasyon yöntemlerinin, boyama yöntemlerinin farklılığı, kriptosporidiyozun gerçek prevalansını belirlemede sorun yaratıyor olabilir. Çalışmamızın şaşırtıcı bir sonucu, *C.parvum* antijeni saptanan hastaların hiçbirinin dışkısında, Modifiye Kinyoun ve/veya Auramin–Rhodamine yöntemiyle ookist görülmemesidir. Yapılan çalışmalar, mikroskopik tanının, kist sayısı ile doğrudan ilişkili olduğuna ve kriptosporidiyoz tanısında yetersiz kalabileceğine işaret etse de; hastanemizde daha önce yapılan bir çalışmada sadece mikroskopik yöntemle bile özellikle 0-3 yaş grubunda %9,5 oranında *C.parvum* saptanması, bu çalışmada mikroskopinin yetersizliğini tam olarak açıklamamaktadır (31,37).

*Cryptosporidium parvum* antijen pozitifliği olan ishalleri hastaların çoğunluğunda (%89,7) başka bir etkenin saptanmaması, diğer yandan kontrol grubundaki hastaların tümünde *C.parvum* antijeninin negatif olması, antijen testinin kriptosporidiyoz tanısında kullanılması gerekliliğine işaret etmektedir (Tablo 3). İmmüno floresans boyama yönteminin referans olarak alındığı bir çalışmada iki antijen kiti karşılaştırılmış ve bu kitlerin 41 pozitif örnekten sırasıyla 1 ve 3 yanlış negatif sonuç verdikleri tespit edilmiştir (13). Ancak bu konuda daha çok örneği kapsayan ve moleküler tanı yöntemlerinin de dahil edildiği karşılaştırmalı ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmada kullanılan anket formları, hastaların çoğunun içme suyu olarak kapalı şişelerde satılan suları tükettiğini ve hiçbirisinin seyahat öyküsünün olmadığı ortaya koymaktadır. Çoğunlukla kontamine içme sularından bulaşarak ishalleri neden olan parazitlerin (*C.parvum*, *G.lambli*a, *E.histolytica*) bu çalışmada saptanan yüksek insidansları, kullanılan suların da su kaynaklı enteropatojenler yönünden incelenmesi gerekliliğine işaret etmektedir.

*Entamoeba histolytica* prevalansı yetişkin yaş grubunda (13-55), diğer yaş gruplarına göre anlamlı derecede (%30,3) yüksek bulunmuştur (Tablo-3). Bu yaş grubu inflamasyonlu ishal olgularının en fazla (%48,5) görüldüğü yaş grubudur ve

bu inflamasyonlu olgularda *E.histolytica* saptanma oranı %62,5'a yükselmektedir (Tablo 4). Bu oranlar *E.histolytica*'nın bölgemizde ishale seyreden olgularda önemli bir rolü olduğuna işaret etmektedir. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada amebiyaz insidansının % 0,5-8,3 arasında değişirken, bu çalışmalarda kullanılan yöntemler farklılık göstermektedir ve çoğu mikroskopik tanıya dayanmaktadır.

Çalışmamızda tüm dışkı örnekleri *E.histolytica* kist ve trofozoitleri yönünden incelenmiş ancak sadece lökosit ve/veya eritrosit içeren ve kanlı ishal şikayeti olan hastalarda antijen testi çalışılmıştır. Antijen testinde negatif bulunan hastaların hiçbirinde mikroskopik olarak amip kist ve/veya trofozoitlerine rastlanmazken *E.histolytica* antijeni pozitif saptanan dışkı örneklerinin çoğunluğunda (%88) kist görülmüş ancak sadece birinde trofozoit görülebilmıştır. Kanlı ishal şikayeti olan bu hastaların sadece biri haricinde başka bir enteropatojenin olmaması etkenin *E.histolytica* olduğunu düşündürmektedir. Dolayısıyla dışkıda parazite ait antijenin saptanması tanıda, direkt mikroskopi yöntemine göre büyük avantaj sağlar görülmektedir. ELISA yöntemi ile dışkıda antijen arama yöntemi kolay uygulanabilirliği ve kısa sürede sonuç vermesi bakımından tanıda önemlidir.

Hasta grubumuzda *G. lamblia* infeksiyonu da oldukça yüksek oranda (%10,5) saptanmış olup özellikle 4-12 yaş grubu çocukların %20,3'ünde *G. lamblia* kistleri görülmüştür (Tablo 2,3). Bu yaş grubunda inflamasyonlu ishal olgusu oranı oldukça düşük (%3,9) olup, bu oran, inflamasyonsuz ishal etkeni olan *G.lambli*'nın yüksek oranı ile uyum göstermektedir. Dünyanın çeşitli bölgelerinde değişik yaş gruplarında Giardiyaz oranı %2-25 arasında değişmektedir. Türkiye'de yapılan çeşitli insidans çalışmalarında da, bu oranlar %40'lara kadar çıkmaktadır. Sonuçlarımız bölgemizdeki ishal olgularında özellikle çocuk yaş grubunda bu protozoonun önemli bir etken olduğuna işaret etmektedir.

*Cryptosporidium parvum* ile birlikte son yıllarda önemi artan, *Cyclospora cayetanensis*'e hiçbir olguda rastlanmamıştır. Bu protozoonun ülkemizdeki prevalansına ilişkin rapor sayısı oldukça sınırlıdır (7). Hastaların hiçbirinde seyahat öyküsü olmaması, epidemiyolojisi genellikle seyahatle ilişkilendirilen, özellikle tropik ve subtropik bölgelerde endemik olan bu protozoonun çalışmamızda

saptanmama nedeni olabilir. Bu sonuç, *C.cayetanensis*'in bölgemizdeki ishali olgularda önemli bir rolü olmadığına işaret etmekteyse de, ülkemizdeki prevalansını belirlemek üzere seçilmiş populasyonlarda daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Protozoal infeksiyonların yüksek prevalansına karşın, helmint infeksiyonlarının yok denecek kadar (%0,5) az olması çalışmamızın bir diğer ilginç sonucudur. Kullanılan konsantrasyon yönteminin, helmint infeksiyonlarını saptamadaki yüksek duyarlılığı dikkate alındığında, infeksiyon oranındaki bu düşüklük hastaların sosyoekonomik düzeyleri ve yerleşim bölgeleriyle ilişkilendirilebilir. Anket formlarından elde edilen veriler; hastaların çoğunluğunun Kadıköy ve Üsküdar ilçelerinde oturduklarını ortaya koymaktadır. Bu bölgelerde önemli bir alt yapı eksikliği olmaması, düşük prevalansın nedeni olabilir.

İshal etkeni olarak en sıklıkla saptanan iki virüs olan Rotavirüs ve Adenovirüs'e ait antijenler, belirli yaş grubundaki hastaların dışkı örneklerinde araştırılmıştır (Tablo 3). 0-3 yaş grubunda yer alan 21 çocukta Rotavirüs %33,3 gibi yüksek bir oranda saptanırken; Adenovirüs 40-41 %4,8 oranında bulunmuştur. Bu sonuçlar, özellikle küçük yaş grubundaki ishallerde Rotavirüsün önemli rol oynadığına işaret eden yayınlarla uyumludur. Ülkemizde 1996'da 0-2 yaş arası çocuklarda yapılan bir çalışmada, Rotavirüs oranı %31 olarak bulunmuş olup, bizim sonucumuzla oldukça benzerdir (1). Rotavirüs büyük yaş grubu çocuklarda (4-12), küçük yaş grubu ile kıyaslandığında oldukça düşük oranda (%3,7) saptanmıştır. İlginç olarak ileri yaş grubundaki hastalarda (n=24), Rotavirüs antijeni azımsanmayacak oranda (%12,5) tesbit edilmiştir. Rotavirüsün ileri yaş grubunda özellikle genel durumu kötü hastalar arasında hayatı tehdit eden ciddi ishallerde yol açtığını ileri süren yayınlar vardır (28,38). Örneğin Çin'de yetişkinler arasında ölümle sonuçlanan Rotavirüs salgınları rapor edilmiştir (38).

Rotavirüs infeksiyonları özellikle kış aylarında görülmekle beraber, çalışma periyodumuz (Mart-Eylül) içinde en sıklıkla Mayıs ayında (%35,7) saptanmıştır. Rotavirüs infeksiyonunun bölgemizdeki gerçek prevalansı, bir yıllık döneme yayılan bir çalışma periyodunda daha sağlıklı belirlenebilir.

Adenovirüs çocuk yaş grubunda 7 kişide tanımlanmıştır. Bu bize çocuklarda görülen inflamasyonsuz ishallerde Rotavirüsün saptanamadığı vakalarda ilk akla gelmesi gereken patojenlerden birinde Adenovirüs olması gerektiğini göstermektedir.

Çalışmamız, yüksek prevalansa sahip protozoon ve virüs infeksiyonlarına karşın; bakteri infeksiyonlarının (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.* ve EHEC) düşük prevalansına işaret etmektedir. Bu durum hastaların sosyoekonomik düzeyleriyle ilişkili olabilir. Ülkemizde 1996-1998 yılları arasında yapılan bir çalışmada yaz dönemi ishallerinde *Salmonella spp.* %10 ve *Shigella spp.* %8 olarak saptanmıştır (8). Çalışmamızda sadece 0-3 yaş grubunda, *S.sonnei* yüksek oranda (%9,5) saptanmış olup, özellikle bu yaş grubundaki inflamasyonlu olgularda (n=5), bu oran daha da yükselmektedir (Tablo 3,4).

Antibiyotik kullanım öyküsü olan 28 hastadan sadece hastanede yatan 2 (%7,1)'sinde *Clostridium difficile* toksini saptanmıştır. 1993 yılında yapılan bir çalışmada Marmara Üniversitesi Hastanesi ile Haydarpaşa Numune Hastanesinde yatan ishallerli 452 hastanın %12,7'sinde *C.difficile* saptanmıştır (11).

Sonuç olarak yaptığımız çalışma, bölgemizde ishallerle seyreden hastalıklarda özellikle su ile bulaşan parazitlerin ve Rotavirüsün önemli rolü olduğunu ve bunlar arasında *Cryptosporidium parvum*'un rutin parazitolojik incelemede mutlaka dikkate alınması gerekliliğine işaret etmektedir.

ANKET FORMU

TARİH:

ADI/SOYADI:

PROTOKOL NO:

YAŞ:

İSHAL SÜRESİ:

GÜNDE DIŞKILAMA SAYISI:

AİLE ÜYELERİNDE İSHAL VAR MI ? :

İSHAL BAŞLANGICINDAN ÖNCEKİ 1 AYDA SEYAHAT ÖYKÜSÜ:

İÇME SUYU OLARAK NE KULLANILIYOR ? :

DIŞARIDA YEMEK ÖYKÜSÜ ( ÇIĞ SEBZE VE MEYVA ) :

ALTTA YATAN HASTALIK:

SON 1 AYDA KULLANDIĞI İLAÇ (ANTİBİYOTİK):

EĞİTİM DÜZEYİ:

TELEFON:

ADRES (SEMT- İLÇE ADI) :

## KAYNAKLAR

1. Aşçı Z., Seyrek A., Kizirgil A., Özen A., Yılmaz M. 0-6 Yaş Grubu Çocuk İshallerinde Rotavirüs Sıklığının ELİSA ve Lateks Aglütinasyon Yöntemleriyle Araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 1996;10:263-265.
2. Akyon Y., Ergüven S., Arıkan S., Yurdakok K., Günalp A. *Crptosporidium parvum* prevalance in a group of Turkish children. *Türk Pediatri Dergisi*,1999;41:189-196.
3. Beyarслан A. Parazitoloji Ders Notları. Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Yayın No:6, s. 8-12, 22-24, Edirne;1996.
4. Beyazova U. : Viral Gastroenteritler. Ed: Topçu A. W., Söyletir G., Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları*, s 602-603, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1996
5. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. 9'uncu Basım, Barış Yayınları, İzmir,1996.
6. Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. *Medical Microbiology*. Connecticut,1998.
7. Büget E., Büyükbaba-Boral Ö., Kırkkoyun-Uysal H., Ağırbaşı H., Yalman N., Anak S., Can E., Gediklioğlu G. Türkiye'de İlk Kez Belirlenen *Cyclospora cayetanensis* Etkenli Diyare Olgusu. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 2000;30:162-165.
8. Büke A. Ç., Karakartal G., Kamçioğlu S., Nafle B., Tünger A. 1996-1998 Yılları Yaz Dönemindeki İshalli Olgularda *Salmonella* ve *Shigella* Prevalansı ve Antimikrobik Duyarlılıkları. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*,1999;13:355-357.
9. Current W.L. *Cryptosporidium*: Its biology and potential for environmental transmission. *CRC Rev Environ Control* 1996;21.
10. Dupont H.L., Chappell C.L., Sterling C., et al. The Infectivity of *Crptosporidium parvum* in Healty volunteers. *N Engl J Med*,1995;332:855-859.

11. Eskitürk A., Söyletir G., Isolation rate of Unusual Bacterial Pathogens from Stool Cultures. *Marmara Medical Journal*,1994 ;7: 27-32.
12. Garcia L.S. *Practical Guide To Diagnostic Parasitology*. Washington, 1999.
13. Garcia L.S., Shimizu R. Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* Antigens in Human Fecal Specimens Using the ColorPAC Combination Rapid Solid-Phase Qualitative Immunochromatographic Assay. *J Clin Microbiol* , 2000;38:1267-1268.
14. Gatti S., Cevini C., Bruno A., et al. Cryptosporidiosis in tourists returning from Egypt and the Island of Mauritius. *Clin Infect Dis* 1993;16:344-345.
15. Guerrant R. L. : Principles and Syndromes of Enteric Infection, Nausea-Vomiting and Noninflammatory Diarrhea, Inflammatory Enterides. Ed: Mandell G. L., Bennett J.E., Dolin R. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Vol. 1, Chapter 75,77,79. Churchill Livingstone.1995.
16. Gün H. : İntestinal Protozoonlar. Ed: Topçu A. W., Söyletir G., Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları*, s 632-634, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1996
17. Herwaldt B.L., Ackers M.L. An Outbreak in 1996 of Cyclosporiasis Associated with Imported Raspberries. *N Engl J Med*, 1997;336:1548-1556.
18. Holley H.P., Dover C. *Cryptosporidium*: A Common Cause of Parasitic Diarrhea in Otherwise Healthy Individuals. *J Infct Dis*, 1986;153:365-367.
19. Janoff E.N., Reller L.B. *Crptosporidium* species, a protean protozoan. *J Clin Microbiol* ,1987;25:967-975.
20. Jelinek T., Lotze M., Eichenlaub S., Löscher T., Nothdurft H. D. Prevalance of infection with *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* among international travellers. *Gut*,1997;41:801-804.
21. Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Chapter 20, Lippincott,1997.
22. Lopez-Velez R., Tarazona R., Garcia C.A., et al. Intestinal and extraintestinal cryptosporidiosis in AIDS patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*,1995;14:677-681.

23. MacKenzie W. R., Hoxie N.J., Proctor M.E., et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. N Engl J Med 1994;331:161-167.
24. Mc Iver C.J., Hansman G., White P., Doultree J.C., Catton M., Rawlinson W.D. Diagnosis of enteric pathogens in children with gastroenteritis. Pathology, 2001;33:353-358.
25. Mc Lauchlin J., Pedraza-Diaz S., Amar-Hoetzeneder C., Nichols G.L. Genetic Characterization of *Cryptosporidium* Strains from 218 Patients with Diarrhea Diagnosed as having Sporadic Cryptosporidiosis. J Clin Microbiol, 1997;37:3153-3158.
26. Morgan U.M., Pallant L., Dwyer B.W., Forbes D.A., Rich G., Thompson R.C.A. Comparison of PCR and Microscopy for Detection of *Crptosporidium parvum* in Human Fecal Specimens: Clinical, Trial. J Clin Microbiol 1998;36:995-998.
27. Morgan U., Weber R., Xiao L., Sulaiman I., Thompson R.C.A., Ndiritu W., Lal A., Moore A., Deplazes P. Molecular Characterization of *Cryptosporidium* Isolates Obtained from Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals Living in Switzerland, Kenya and the United States. J Clin Microbiol. 2000;38:1180-1183.
28. Nakajima H., Nakagomi T., Kamisawa T., Sakaki N., Muramoto K., Mikami T., Nara H., Nakagomi O. Winter Seasonality and Rotavirus Diarrheae in Adults. Lancet, 2001;357(9272):1950.
29. Orlandi P.A., Lampel K.A. Extraction-Free, Filter-Based Template Preparation for Rapid and Sensitive PCR Detection of Parasitic Protozoa. J Clin Microbiol, 2000;38:2271-2277.
30. Orlandi P.P., Silva T., Magalhaes G.F., Alves F., Cunha R., Durlacher R., Silva L. Enteropathogens Associated with Diarrheal Disease in Infants of Poor Urban Areas of Porto Velho, Rondonia : A Preliminary Study. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001;96:621-625.

31. Över U. : İshalle Seyreden Hastalıklarda Kriptosporidyumun Rolü ve Sağlıklı Populasyonda Seroprevalansı. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 1996 (Danışman: Prof. Dr. Güner Söyletir).
32. Över U., Söyletir G. İshalle Seyreden Hastalıklarda Kriptosporidyumun Rolü. Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi,1997;2:98-104.
33. Pillai D.R., Keystone J.S., Sheppard D.C., Mac Lean J.D., Mac Pherson D.W., Kain K.C. *Entamoeba histolytica* and *E.dispar* : Epidemiology and Comparision of Diagnostic Methods in a Setting of Nonendemicity. Clin Infect Dis, 1999;29:1315-1318.
34. Söyletir G., Topçu A. W. : Akut Bakteriyel İshaller. Ed : Topçu A. W., Söyletir G., Doğanay M. İnfeksiyon Hastalıkları, s 605-618, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1996
35. Strausbaugh L.J. *Cyclospora cayetanensis* : A Review , Focusing on the Outbreaks of Cyclosporiasis in the 1990's. Clin Infect Dis, 2000;31:1040-1057.
36. Ungar B.L.P. Cryptosporidium. Ed: Mandell G. L., Bennett J.E., Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Vol. 2, Chapter 262, s. 2500-2507. Churchill Livingstone.1995.
37. Weber R., Bryan R.T., Bishop H.S, Wahlquist S.P., Sullivan J.J., Juranek D.D. Threshold of Detection of *Crptosporidium* Oocysts in Human Stool Specimens: Evidence for Low Sensitivity of Current Diagnostic Methods. J Clin Microbiol, 1999;29:1323-1327.
38. Yang H., Chen S., Ji S. A novel Rotavirus causing large scale of adult diarrheae in Shi Jiazhuang. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, Abst. :19 (6):336,1998.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı ve Soyadı:** Levent ARSLAN

**Doğum Yeri ve Tarihi:** GÖLCÜK, 24 Aralık 1973

**Adres:** İş: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 81326,  
Haydarpaşa-İstanbul  
Tel.: (0216) 414 47 32

**Yabancı Dili:** İngilizce, Almanca

**Eğitim Durumu:** 1989-1992: İzmit Özel Seymen Lisesi  
1994-1998: Trakya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi  
Biyoloji Bölümü  
1998- : Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans  
Programı

**Çalıştığı Kurumlar:** 2000- : Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma  
Görevlisi

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans öğrencisi Levent ARSLAN'ın, çalışması jürimiz tarafından Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr.Ufuk ÖVER  
Üniversitesi : Marmara

.....  
.....

Üye : Prof.Dr.Güner SÖYLETİR  
Üniversitesi : Marmara

.....  
.....

Üye : Prof.Dr.Çiğdem BAL  
Üniversitesi : İstanbul

.....  
.....

ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 201... / 2002 tarih ve ...3..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....  
Prof.Dr.Sevim ROLLAS  
Müdür