

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

***ENTAMOEBİA HISTOLYTICA/ENTAMOEBİA DISPAR, GIARDİA
LAMBLİA VE CRYPTOSPORIDIUM SP. TANISINDA MİKROSKOBİ,
TRIAGE ve ELİSA YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI***

Burcu KÖRENG

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. İsmail Soner KOLTAŞ

ADANA-2011

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

*ENTAMOEB*A HISTOLYTICA/*ENTAMOEB*A DISPAR, *GIARDIA LAMBLIA* VE
CRYPTOSPORIDIUM SP. TANISINDA MİKROSKOBİ, TRIAGE ve ELISA
YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Burcu KÖRENG

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. İsmail Soner KOLTAŞ

Bu tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF2010YL7
nolu proje ile desteklenmiştir.

ADANA-2011

KABUL VE ONAY

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Parazitoloji Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan
“*Entamoeba Histolytica/Entamoeba Dispar, Giardia Lamblia Ve Cryptosporidium Sp.*
Tanısında Mikroskopi, Triage Ve Elisa Yöntemlerinin Karşılaştırılması”
adlı çalışma, aşağıdaki juri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 25/05/2011

Prof.Dr.İsmail Soner KOLTAŞ
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof.Dr.Macit İLKİT
Çukurova Üniversitesi
Üye

Prof.Dr.Davur ALPTEKİN
Mersin Üniversitesi
Üye

Yukardaki tez, Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı
kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Halil KASAP
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında bana her açıdan destek olan ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. İsmail Soner KOLTAŞ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında her konuda yardımlarını gördüğüm, Biyolog Berrin ŞİMŞEK'e, Dokt.Öğr. Mehtap Demirkazık'a, Dokt. Öğr. Fadime Eroğlu'na, Dokt.Öğr. Güllü ELGÜN'e, YL.Öğr. Gülşah EVYAPAN'a ve tüm Parazitoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında desteklerini benden esirgemeyen annem Hülya ÖREN, babam Kemal ÖREN'e ve her koşulda yanımda olan eşim Tuna KÖRENG'e teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, bu yüksek lisans çalışmasını TF2010YL7 no'lu proje ile maddi yönden destekleyen Ç.Ü. Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine de teşekkür ederim.

Biyolog Burcu KÖRENG

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.1.1. <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> Tarihçesi	3
2.1.2. <i>Giardia lamblia</i> Tarihçesi	3
2.1.3. <i>Cryptosporidium</i> sp. Tarihçesi	4
2.2. Sınıflandırma	4
2.2.1. <i>Entamoeba</i> cinsinin Sınıflandırılması	4
2.2.2. <i>Giardia lamblia</i> 'nin Sınıflandırılması	4
2.2.3. <i>Cryptosporidium</i> sp.'nin Sınıflandırılması	5
2.3. Morfolojik Yapı	5
2.3.1. <i>Entamoeba histolytica</i> 'nin Morfolojik Yapısı	5
2.3.1.1. Trofozoit	6
2.3.1.1.1. Bağırsak boşluğu şekli	6
2.3.1.1.2. Doku şekli	7
2.3.1.2. Prekist	7
2.3.1.3. Kist	7
2.3.1.4. Metakist	7
2.3.1.5. Metakistik trofozoit	8
2.3.2. <i>Giardia lamblia</i> 'nin Morfolojik Yapısı	8
2.3.2.1. Trofozoit	8
2.3.2.2. Kist	9
2.3.3. <i>Cryptosporidium</i> sp.'nin Morfolojik Yapısı	9
2.4. Evrim	9
2.4.1. <i>Entamoeba histolytica</i> 'nin Evrimi	9
2.4.1.1. Normal Dönemli (Patojen Olmayan) Evrim	10
2.4.1.2. Patojen Dönemli Evrim	10
2.4.2. <i>Giardia lamblia</i> 'nin Evrimi	10
2.4.3. <i>Cryptosporidium</i> sp.'nin Evrimi	11
2.4.3.1. Ekskistasyon evresi	11
2.4.3.2. Merogoni evresi	11
2.4.3.3. Gametogoni evresi	11

2.4.3.4. Döllenme evresi	12
2.4.3.5. Ookist evresi	12
2.4.3.6. Sporogoni evresi	12
2.5. Epidemiyoloji	12
2.5.1. <i>Entamoeba histolytica</i> 'nın Epidemiyolojisi	12
2.5.2. <i>Giardia lamblia</i> 'nın Epidemiyolojisi	13
2.5.3. <i>Cryptosporidium</i> sp.'nin Epidemiyolojisi	14
2.6. Patojenite	15
2.6.1. <i>Entamoeba histolytica</i> Patojenitesi	15
2.6.2. <i>Giardia lamblia</i> Patojenitesi	16
2.6.3. <i>Cryptosporidium</i> sp. Patojenitesi	16
2.7. Klinik Belirtiler	17
2.7.1. <i>Entamoeba histolytica</i> ' da Klinik Belirtiler	17
2.7.2. <i>Giardia lamblia</i> 'da Klinik Belirtiler	19
2.7.3. <i>Cryptosporidium</i> sp'.de Klinik Belirtiler	19
2.8. İmmünoloji	19
2.8.1. <i>Entamoeba histolytica</i> ' da İmmünoloji	19
2.8.2. <i>Giardia lamblia</i> 'da İmmünoloji	19
2.8.3. <i>Cryptosporidium</i> sp. İmmunolojisi	21
2.9. Tanı	21
2.9.1. <i>Entamoeba histolytica</i> ' da Tanı	21
2.9.1.1. Direkt (Etkensel) Tanı	22
2.9.1.2. İndirekt Tanı	23
2.9.1.2.1. Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yöntemi	23
2.9.1.2.2. İndirekt Fluoresan Antikor (IFA) Yöntemi	23
2.9.1.2.3. İndirekt Hemaglütinasyon (IHA) Yöntemi	23
2.9.2. <i>Giardia lamblia</i> 'da Tanı	24
2.9.2.1. Direkt Tanı	24
2.9.2.2. İndirekt Tanı	24
2.9.3. <i>Cryptosporidium</i> sp.'da Tanı	24
2.9.3.1. Direkt Tanı	25
2.9.3.2. İndirekt Tanı	25
2.10. Tedavi	25
2.10.1. <i>Entamoeba histolytica</i> Tedavisi	25
2.10.1.1. Dokudaki amiplere etkili ilaçlar	25
2.10.1.2. Bağırsak lümenindeki amiplere etkili ilaçlar	26
2.10.1.3. Hem doku hem de bağırsak lümenindeki amiplere etkili ilaçlar	26
2.10.2. <i>Giardia lamblia</i> Tedavisi	26
2.10.3. <i>Cryptosporidium</i> sp. Tedavisi	26
2.10.3.1. İmmun sistemi sağlam kişilerde tedavi	27
2.10.3.2. İmmun sistemi baskılanmış kişilerde tedavi	27
2.11. Korunma	27

3.GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Gereçler	29
3.2.Örneklerin Toplanması	30
3.3.Yöntemler	30
3.3.1. Parazitolojik İnceleme Yöntemi	31
3.3.2. Modifiye Asit-Fast Boyama Yöntemi	31
3.3.2.1. Gerekli Eriyikler	31
3.3.2.2.Boyama yöntemi	32
3.3.3. Trikrom Boyama Yöntemi	33
3.3.3.1. Gerekli Eriyikler	33
3.3.3.2. Boyama yöntemi	34
3.3.4. ELISA Testleri	36
3.3.4.1. <i>Entamoeba histolytica</i> ELISA Yöntemi	36
3.3.4.1.1. Örneklerin hazırlanması	36
3.3.4.1.2. Yıkama solüsyonunun Hazırlanması	37
3.3.4.1.3. Yöntemi	37
3.3.4.2. <i>Giardia lamblia</i> ELISA Yöntemi	37
3.3.4.2.1. Örneklerin Hazırlanması	37
3.3.4.2.2. Yıkama solüsyonunun Hazırlanması	38
3.3.4.2.3. Yöntemi	38
3.3.4.3 <i>Cryptosporidium</i> sp. ELISA Yöntemi	39
3.3.4.3.1. Örneklerin Hazırlanması	39
3.3.4.3.2. Yıkama solüsyonunun Hazırlanması	40
3.3.4.3.3. Yöntemi	40
3.3.5. Triage Parazit Panel Testi	41
3.3.5.1. Örneklerin Hazırlanması	42
3.3.5.2. Yöntemi	42
4.BULGULAR	44
5.TARTIŞMA	51
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	55
7. KAYNAKLAR	56
8. ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Cryptosporidium</i> sp. ookistlerinin modifiye asit-fast boyamada ki görünümü	32
Şekil 2. <i>Entamoeba histolytica</i> trofozoitinin Trikróm boya ile görünümü	35
Şekil 3. <i>Giardia lamblia</i> trofozoitinin Trikróm boya ile görünümü	35
Şekil 4. <i>Entamoeba histolytica</i> ELISA Kiti	36
Şekil 5. <i>Giardia lamblia</i> ELISA Kiti	38
Şekil 6. <i>Cryptosporidium</i> sp. ELISA kiti	40
Şekil 7. Triage Micro Parazit Panel Kiti	42
Şekil 8. <i>Entamoeba histolytica</i> için ELISA plağında pozitif ve negatif kuyuların görünümü	45
Şekil 9. <i>Giardia lamblia</i> için ELISA plağında pozitif ve negatif kuyuların görünümü	46
Şekil 10. <i>Cryptosporidium</i> sp. için ELISA plağında pozitif ve negatif kuyuların görünümü	46
Şekil 11. Triage Parazit Panel sonuçları. (46 nolu kart) Negatif sonucu (TEST ZONES), (50 nolu kart) <i>Giardia lamblia</i> için pozitif sonuç (TEST ZONES GIARD) ve Kitin pozitif kontrol serum bantları (TEST ZONES GIARD, E.HIST, CRYPT)	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Direkt mikroskobi (nativ-lugol) ve/veya trikrom boyama ve Modifiye Asit-fast Yöntemleri ile Protozoonların Dağılımı	44
Çizelge 2. Direkt mikroskobi ve/veya Trikrom, Modifiye Asit-fast boyama ve ELISA Yöntemlerinin Dağılımı	45
Çizelge 3. Triage Parazit Panel Dağılımı	47
Çizelge 4. <i>Entamoeba histolytica</i> için Mikroskobi ve ELISA sonuçlarının karşılaştırılması	48
Çizelge 5. <i>Giardia lamblia</i> için Mikroskobi ve ELISA sonuçlarının karşılaştırılması	48
Çizelge 6. <i>Giardia lamblia</i> için Mikroskobi ve Triage sonuçlarının karşılaştırılması	49
Çizelge 7. <i>Giardia lamblia</i> için ELISA ve Triage sonuçlarının karşılaştırılması	49
Çizelge 8. <i>Cryptosporidium</i> sp. için Mikroskobi ve ELISA sonuçlarının Karşılaştırılması	50

ÖZET

Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar, *Giardia lamblia* ve *Cryptosporidium* sp. Tanısında Mikroskopi, Triage ve ELISA Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Amobiyoz, gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunudur. İnsanlar *Entamoeba*'nın morfolojik olarak benzer iki türü ile enfekte olmaktadır. *Entamoeba histolytica* (*E.histolytica*), amibik kolit ve karaciğer absesine neden olurken, *Entamoeba dispar* (*E.dispar*) hastalık oluşturmamaktadır. *Giardia lamblia* (*G.lamblia*) dünyada her yaş grubunda yaygın bir şekilde görülür. Giyardiyoza özellikle sanitasyon şartlarının bozuk olduğu ve temiz su kaynaklarının bulunmadığı ülkelerde ortaya çıkan çocukluk çağı ishal olgularından sorumludur. Hücre içi bir parazit olan *Cryptosporidium* sp. bağışıklık sistemi bozuk olan bireylerde ölümcül ishale neden olmaktadır.

Bağırsak protozoonları tanısı genellikle mikroskopiye dayanmaktadır. Mikroskobik tanı ucuz olmasına karşın yoğun iş gücü ve uzmanlık gerektirmektedir. Serolojik testlerden antijen tanı yöntemleri hızlıdır. Ayrıca deneyimli ve usta mikroskopistlere ihtiyaç duyulmaz. Bu çalışmada *E. histolytica/ E. dispar*, *G. lamblia* ve *Cryptosporidium* sp. tanısında mikroskopi ve antijen tanı kitleri karşılaştırıldı.

Çalışmada, Mayıs 2010 ve Nisan 2011 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gelen ve ishal öyküsü bulunan toplam 94 şüpheli dışkı örneklerinde *E. histolytica/ E. dispar*, *G. lamblia* ve *Cryptosporidium* sp. direkt mikroskopi, ELISA ve Triage yöntemleri ile araştırıldı.

Mikroskobide *E. histolytica/ E. dispar* için 4 (%4.3), *G. lamblia* için 12 (%12.8), *Cryptosporidium* sp. için 5 pozitiflik (%5.3) saptanırken, ELISA ile *E. histolytica* için 5 (%5.3), *G. lamblia* için 13 (%13.8), *Cryptosporidium* sp. için 10 (%10.6) pozitiflik saptanmıştır. Ayrıca, Triage parazit panel testi ile *G. lamblia* için 10 (%10.6)pozitiflik saptanmıştır.

Sonuç olarak, dışkıda özgül antijen arayan ELISA'nın maliyeti yüksek olmasına rağmen etkensel tanı yöntemlerindeki zorluklara yardımcı olduğu görülmektedir.

Anahtar sözcükler: *Cryptosporidium* sp. direkt mikroskopi, ELISA, *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia*.

ABSTRACT

Comparison of Microscopy, Triage and ELISA methods in Diagnosis of *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium* sp.

Amebiasis is a significant health problem in developing countries. Human beings are infected by two morphologically identical species of *Entamoeba*. *Entamoeba histolytica* causes amebic colitis and liver abscess, and *Entamoeba dispar* is nonpathogen. *Giardia lamblia* infection is seen worldwide and in all age groups. But giardiasis is especially prevalent in countries with poor sanitation and unsafe water, where it's responsible for most cases of childhood diarrhea. *Cryptosporidium* sp. , a protozoon, is an obligate intracellular parasite which can cause fatal diarrheal disease in immunocompromised individuals.

Generally, the diagnosis of human intestinal protozoa depends on microscopic detection. Microscopic detection is inexpensive, but it is very labor-intensive and requires a skilled microscopist. Antigen detection methods can be performed quickly and do not require an experienced and skilled microscopist. In this study, we aimed to comparison of microscopy and antigen detection methods in the diagnosis of *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium* sp.

In this study, 94 suspected stool specimens taken from patients to Department of Parasitology, Balcali Hospital of Cukurova University in Adana were investigated for *E.histolytica/ E. dispar*, *G.lamblia* and *Cryptosporodium* sp. by direct microscopy, ELISA and Triage, between May 2010 and April 2011.

In conclusion, the number of positive specimens by direct microscopy and by ELISA results were as follows: for *E.histolytica/ E.dispar* 4 (4.3%) and 5 (5.3%), for *G. lamblia* 12 (12.8%) and 13 (13.8%), for *Cryptosporodium* sp. 5 (5.3%) and 10 (10.6%). Also, ten specimens (10.6%) were found to be positive by Triage parasite panel for *Giardia lamblia*.

In conclusion, although ELISA which investigates specific antigen in stool samples is a costly method, it has been seen that it helps to methods for diagnosis of agents.

Key words: *Cryptosporodium* sp., direct microscopy, ELISA, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia*.

1. GİRİŞ

Amobiyoz; *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*)'nın neden olduğu dünya nüfusunun yaklaşık olarak %10'unu infekte eden paraziter hastalıktır. Özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde görülmekle birlikte, tropik ve subtropik bölgelerde bu oran daha da yükselmektedir^{1,2}.

Bağırsak ve bağırsak dışı amobiyoz olarak görülen bu enfeksiyon görüldüğü ülkelerde yüksek morbidite ve mortaliteye sahiptir. Bu ülkelerde amobiyoz, sıtma ve şistomiyozdan sonra parazitozlara bağlı ölüm nedeni olarak üçüncü sırada yer almaktadır^{1,2,51}. Ülkemizde yapılan araştırmalarda da bu enfeksiyonun insidansının %0.3-17.4 arasında değiştiği saptanmıştır. İnsanlara *Entamoeba* cinsinin amibik kolit ve karaciğer absesine neden olan *E. histolytica* ve patojen olmayan *Entamoeba dispar* (*E. dispar*) ile bulaşı olmaktadır. Bulaş, *E. histolytica/dispar* kistleri içeren dışkı ile kontamine olmuş su ve gıdaların ağızdan alınması ile olmaktadır^{50,51,52}.

Giardia lamblia (*G. lamblia*)'nın sebep olduğu giyardiyo, dünyanın her bölgesinde endemik ve epidemik ishallerin başta gelen nedenlerindedir. Gelişmekte olan ülkelerde enterik patojenlerin ilki olup, 10 yaşından küçük çocuklarda %15-30 prevalansla görülebilmektedir. Ülkemizde yapılan araştırmalarda giyardiyo insidansı %0,8 ile %54,8 arasında değişmektedir^{1,50,53,54}.

İnsanın ince bağırsağında en sık olarak duodenum, seyrek olarak safra kesesi ve safra yollarında yaşayan *G. lamblia*, akut ve kronik formda seyredabilen asemptomatik olacağı gibi, hayatı tehdit eden ishallerde de neden olmaktadır. Bu nedenle; kötü kokulu ishal ve yağlı dışkılama da her zaman bu parazit akla gelmelidir^{50,53,54}.

Cryptosporidium cinsi protozoonların dünya nüfusunu %0,6-4,3 oranında infekte ettiği tahmin edilmektedir. *Cryptosporidium* türleri insan ve hayvanların sindirim ve solunum yollarını kaplayan epitel hücrelerinin mikrovillus bölgelerine yerleşerek enfeksiyona neden olurlar. Daha çok bağışıklık sistemi bozulmuş kişilerde, çocuklarda ve beslenme yetersizliği olanlarda hayatı tehdit edebilen fırsatçı bir enfeksiyon etkenidir. İmmün sistemi sağlam olan bireylerde ise hastalık kendini sınırlar ve kısa sürede sonlanır^{1,50}.

Bu güne kadar memeli omurgalılarından, kuşlardan, sürüngenlerden ve balıkların değişik türlerinden *Cryptosporidium* cinsine ait 20 ayrı tür izole edilmiş olup, insanlarda ki enfeksiyondan sorumlu olan tür genellikle *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*)'dur. Monoksen bir parazit olan *C. parvum*, infektif şekli olan ookistlerle insandan insana fekal-oral yolla, hayvandan insana, dışkı ile kirlenmiş yiyecek ve içeceklerle bulaşmaktadır⁵⁵.

Bağırsak parazitlerinin tanısı temel olarak dışkı mikroskopisi ile konulmaktadır. Dışkıda parazit bakışı özellikle örnekler uygun bir şekilde hazırlandığı ve yeterli sayıda örnek incelendiğinde duyarlı ve ucuz bir yöntemdir. Ancak ucuz ve hızlı olan klasik dışkı bakışının bir takım dezavantajları bulunmaktadır.

Yetişmiş insan gücüne duyulan gereksinim, bağırsak parazitlerinin aralıklı atılımı nedeniyle tek bir dışkı örneği ile tanı koymanın zorluğu ve mikroskopik incelemenin zaman geçirilmeden yapılmasının zorunlu olması gibi dezavantajlarından dolayı direkt tanıya yardımcı olabilecek daha güvenilir yöntemlere önem verilmiştir. Bunlar boyama yöntemlerinin yanında, serolojik yöntemlerden İndirekt Floresan Antikor (IFA), Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), İndirekt Hemaglutinasyon (IHA) kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden dışkıda spesifik antijen arama yöntemi özgüllük ve duyarlılık yönünden oldukça kabul görmektedir. Bağırsak parazitlerinin zamanında tanısının yapılması ve hastaya doğru tedavinin verilmesine katkı sağlanması açısından dışkıda antijen arama yöntemleri avantajlıdır^{2,50-52}.

Bu çalışmada, üniversitemizin Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na çeşitli kliniklerden gönderilen dışkı örneklerinde mikroskopik bakı, Triage ve ELISA yöntemlerinin *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia* ve *Cryptosporidium* sp.'nin saptanmasındaki etkinliği ve bu sonuçların karşılaştırılması amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

2.1.1. *E. histolytica/dispar* Tarihçesi

Parazit ilk kez 1875 yılında Losch tarafından Rusya’ da tanımlanmıştır. Lösch amibi, kanlı ishalden yakınan ve 6 ay sonra yaşamını yitiren bir hastanın dışkıında görmüştür. Amibik dizanteri ile amibik karaciğer apsesi terimleri ilk kez Councilman ve Lafleur (1891) tarafından kullanılmıştır. Amip kistleri ilk olarak Quinke ve Roos tarafından 1893 yılında bulunmuştur. Böylece *E.histolytica* ve *Entamoeba coli* (*E.coli*)’ nin patojeniteleriyle ilgili karışıklığın bir kısmı giderilmiştir. 1903 yılında Schaudinn amiplerin değişik biçimlerini tanımlamış, Walker 1911 yılında amip kistlerinin çekirdek sayılarında ki önemli ayrıcalıkları bildirmiştir. 1913 yılında Walker ve Sellards amibin kist döneminin ağızdan alınmasıyla kesin patojenitesini saptamışlar, yaşam döngüsünü ise 1925 yılında Dobell açıklığa kavuşturmuştur^{2-5,12}.

Türkiye’ de ise bu amibi mikroskopla görerek 1904’ te ilk yayını yapanlar Dycke ve Reşit Rıza’ dır³.

E. dispar ise ilk kez 1925 yılında Brumpt tarafından ortaya atılmış, kedilerde virulansı olmayan formlarına *E. dispar* adını vermiş fakat bu durum o yıllarda değil, son yıllarda kabul görmüştür. Aynı kompleks içinde yer alan *E.histolytica* ve *E.dispar*’ ın sadece zimodemleri bazında ayırt edilebildikleri 1978 yılında Sargeaunt ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir^{2,13}.

2.1.2. *G. lamblia* Tarihçesi

Bu tek hücreli canlıyı ilk kez Hollandalı Antony van Leeuwenhoek 1681’de kendi dışkıında görmüştür. 1859 yılında V.Lamb bu kamçıliya *Cercomonas intestinalis* adını vermiştir. İlk kültürü trofozoit döneminden 1960 yılında Karapetyan tarafından yapılmış; kendisi 1970 yılında tavşan ve kedi gibi hayvanlardan elde edilen *Giardia*’ların ve 1976’da ise insandan elde edilen *G. lamblia*’nın aksenik kültürünü yapmıştır. İn vitro ortamda kistten çıkışı ise ancak 1987 yılında gerçekleşmiştir^{2-4,7-9}.

Türkiye’de Çelebi 1912 yılında yayınlanan kitabında *G.lamblia* hakkında bilgi vermiş, ayrıca *G. lamblia*’nın Türkiye’deki yayılışını ve sıklığını gösteren ilk büyük araştırmayı Unat (1958) yapmıştır¹⁴.

2.1.3. *Cryptosporidium* Tarihçesi

Cryptosporidium ilk kez Clarke tarafından 1895 yılında laboratuvar faresinde fark edilmiş fakat tanımlanması bundan 12 yıl sonra yani 1907 yılında Tyzzer tarafından yapılmıştır. 1910 yılında Tyzzer *Cryptosporidium muris* adı ile cins ve türünü tarif etmiş, 1912’ de *Cryptosporidium parvum*’ u bildirmiştir^{1-3,5,7,11}.

İlk insan olguları 1976 yılında Nime ve arkadaşları tarafından bildirilmiş, 1981-1982 yıllarında ise AIDS’li hastalarda bu parazite rastlanmıştır. Daha sonra ki yayınlanan araştırmalarda hayvan bakıcıları, turistler ve bağışıklığı sağlam olan kişilerde de bu parazite rastlanıldığı bildirilmiştir. 1985-1995 yılları arasında infeksiyonun klinik ve epidemiyolojisine ilişkin bilgiler elde edilmiştir^{1,11}.

2.2. Sınıflandırma

2.2.1. *Entamoeba* Cinsinin Sınıflandırılması

İnsanın sindirim sistemine yerleşen *Entamoeba* cinslerinin sınıflandırılması şu şekildedir¹.

Şube: Protozoa

Altşube: Sarcomastigophora

Üst sınıf: Sarcodina

Sınıf: Rhizopoda

Takım: Amoebida

Aile: Endamoebidae

Cins: *Entamoeba*

Tür: *Entamoeba histolytica*

Entamoeba dispar

2.2.2. *G. lamblia*’ nın Sınıflandırılması

Giardia cinsinin sınıflandırılması⁸.

Şube: Protozoa

Altşube: Sarcomastigophora

Üst sınıf: Mastigophora

Sınıf: Zoomastigophora

Takım: Diplomonadida

Aile: Hexamitidae

Cins : *Giardia*

Tür: *Giardia lamblia* (*Giardia intestinalis*, *Lamblia intestinalis*)

2.2.3. *Cryptosporidium*' un Sınıflandırılması

Omurgalıların sindirim ve solunum yollarına yerleşen *Cryptosporidium*'un sınıflandırılması şöyledir¹.

Şube: Protozoa

Bölüm: Apicomplexa

Sınıf: Sporozoasida

Altsınıf: Coccidiosina

Takım: Eucoccidiorida

Alttakım: Eimeriorina

Aile: Cryptosporidiidae

Cins: *Cryptosporidium*

2.3. Morfolojik Yapı

2.3.1. *E. histolytica*'nın Morfolojik Yapısı

Amöbiyoz etkeni olan *Entamoeba histolytica*, trofozoit döneminde oluşturduğu yalancı ayaklarla (psödopodlar) hem biçimlerini değiştirebilen hem de hareket edebilen kist döneme geçtiğinde, bu özelliklerini yitirerek kist örtüsü ile kaplanan tek hücreli kamçısız bir protozoondur.

Bu protozoonun yaşam döngüsünde beş farklı evrim dönemi görülür. Bunlar; trofozoit, prekist, kist, metakist, metakistik trofozoit'tir^{1,2,4,5,10,13}.

E.histolytica ve *E.dispar* morfolojik olarak ayırt edilememektedir. Son yıllarda *E.histolytica* invaziv, *E.dispar* ise non-invaziv tür olarak değerlendirilmektedir. Bu görüşe göre *E.dispar* aslında önceden nonpatojenik olarak nitelendirilmekte ve semptomatik hastalık oluşturmamaktadır. Ancak deneysel çalışmalar, *E.dispar*'ın dokuları istila etmemekle birlikte, deney hayvanlarında fokal intestinal lezyonlar yaptığı göstermiştir^{18,20}. Her ne kadar *E. histolytica* ile *E.dispar*'ın mikroskopik ayrımını imkansız kılan morfolojik benzerlikleri bulunsada bugün için her iki tür arasında biyokimyasal, immünolojik ve genetik farklılıkların bulunduğunu gösteren bilgiler elde edilmiştir¹³. Her iki tür için farklı DNA restriksiyon fragment patternleri (RFLP); tekrarlayıcı DNA sekansların türe özgül tek olması; genomdaki aktin geni organizasyonunun farklı olması gibi DNA seviyesinde de farklılıklar bulunmaktadır^{13,50}.

2.3.1.1. Trofozoit

Aktif olarak yalancı ayaklarla hareket eden, büyüyen, beslenen ve çoğalan dönemdir. Sabit bir şekli yoktur. Trofozoitin büyüklüğü 12-60 µm olup genelde 20 µm'nin üstündedir. Taze dışkıdan hazırlanan mikroskopik preparatlarda trofozoitler hareketli görülmektedir. Yalancı ayaklar hem hareket hem de partikül ve eriyik haldeki besinlerin alımında rol oynarlar yani kalın bağırsakta bulunan bakteri ve besin artıklarını fagositoz ve pinositoz ederek beslenirler. Sitoplazması ekto ve endoplazma diye ikiye ayrılır ve bu iki tabaka özellikle yalancı ayaklar bölgesinde birbirinden kolaylıkla ayırt edilebilir. Ektoplazma yumurta akı kıvamında, granülsüz bir tabakadır. Endoplazma granüllüdür ve içinde çekirdek ile besin vakuolleri bulunur. Fakat mitokondri ve Golgi kompleksi yoktur, endoplazmik retikulum az gelişmiştir. Glutathion ve glutathion enzimlerine sahip olmadığı gibi purin nukleotidlerini de sentezleyemez. Trofozoitin biri bağırsak boşluğunda diğeri dokularda görülen iki tipi bulunmaktadır¹⁻⁴.

2.3.1.1.1. Bağırsak Boşluğu Şekli

Sıgıntı, apatojen, minuta veya tetragena şekli adı da verilmektedir. Doku şeklinden küçük olup 12-20 µm çapındadır. Sitoplazma içinde eritrositler görülmez, bakteriler görülür¹³. Akut amipli dizanteri dönemini geçirmiş kişilerin ve portör olanların dışkılarında bulunmaktadır¹.

Taze dışkıda *E.histolytica*'nın trofozoit şekillerinde görülen yalancı ayakların parmak şeklinde oluşu ve hızlı hareket edişi, trikrom ile boyalı preparatlarda ise çekirdek zarı içinde düzenli periferik kromatin tanecikleri, küçük merkezi karyozomun olması ve sitoplazmada eritrositlerin görülmesi hastalık oluşturan patojen *E. histolytica* için tanı koydurucu özellikler olarak bilinmektedir¹.

2.3.1.1.2. Doku Şekli

Hastalandırıcı, doku eritici veya manga adı da verilmektedir. Asıl parazit ve patojen olan bu şekil 20-60 µm çapıda olup hastalık oluşturması esnasında sitoplazması içinde 1-10 arası eritrosit bulunabilmektedir. Çekirdeğin büyüklüğü ile parazitin büyüklüğü orantılı olup, canlı trofozoitte çekirdek görülmez, ancak boyalı preperatlarda görülür. Boyanmış preperatta çekirdek zarının iç yüzeyinde küçük, hepsi aynı büyüklükte olan kromatin tanecikleri, merkezi (santral) bir çekirdekçik (nukleolus=karyozom) ve çekirdek zarı ile çekirdekçik arasında uzanan linin iplikçikleri ve bu iplikçiklerin üzerinde kromatin tanecikleri bulunmaktadır^{1,4}.

2.3.1.2. Prekist

Trofozoitelerin bölünmesiyle ortaya çıkan ve kist dönemi öncesi besin vakuollerinin kaybolmasından sonra, çekirdek yapısı trofozoitin çekirdek yapısına benzeyen hareketsiz yapılardır^{1,2}. Prekistlerde endoplazma-ektoplazma ayrımı yoktur. Sitoplazmasında çomak ve tanecikler halinde kromatoid cisimcikler görülür.^{1,3,4,10} Tek çekirdekli olan bu yapı özellikle hastalık belirtilerinin azaldığı ve enfeksiyonun kronikleştiği dönemde yarı katı dışkıda görülmektedir^{4,10,13,15}.

2.3.1.3. Kist

Prekistin etrafına kist duvarı salgılanmasıyla oluşan kistler yuvarlak olup hafif oval veya asimetric şekillerde de görülebilirler. Büyüklükleri ortalama 10-15µm arasında genellikle 15µm'den daha küçüktür. İçinde uçları yuvarlak, çomak şeklinde kromatoidal cisimcikler ve iyot eriyiği ile kahverengiye boyanan glikojen vakuolü bulunur. Bunların ikisi de depo besin maddesi içerir. Kist 1-2-4 çekirdekli olabilir fakat ilk oluştuğunda tek çekirdekli; daha sonra bunların iki kez bölünmesi sonucunda dört çekirdekli olur. Glikojen vakuolleri bu dört çekirdekli olgun kistlerde genellikle kaybolmasına rağmen kromatoid cisimcikler daha uzun süre kalırlar fakat bunlarda daha sonra kaybolurlar. Dört çekirdekli kist, olgun, bulaştırıcı evre olarak kabul edilir ve kistler şekilli dışkılarda görülmektedir.^{1,2,4,9,10,13}

2.3.1.4. Metakist

Dört çekirdekli olgun kistlerin ağız yoluyla alınmasıyla mideden geçerek ince bağırsakta açılarak dört çekirdekli metakistik amibe dönüşürler¹³.

2.3.1.5. Metakistik Trofozoit

Metakistin çekirdeklerinin bölünmesiyle oluşan 8 adet çekirdeğin etrafına sitoplazma toplanarak küçük amipler (amöbula) oluşmaktadır. Bu amipler kalın bağırsağa geçerek büyür ve patojen veya sığıntı trofozoitlere dönüşürler¹⁰.

2.3.2. *G. lamblia*'nın Morfolojik Yapısı

G. lamblia'nın trofozoit (vegetatif) ve konaklar arası bulaşımı sağlayan enfektif kist şekilleri vardır⁸.

2.3.2.1. Trofozoit

G. lamblia'nın trofozoit evresi aktif olarak kamçıları ile hareket eden, beslenen ve çoğalan evresi olup, karakteristik ve ayrı bir morfolojik görünüme sahip, 9-21 µm boyunda, 5-15 µm eninde, 2-4 µm kalınlığındadır. Uzunlamasına ortadan ikiye bölünmüş armut biçiminde, dorsal (arka) yüzü konveks, ventral (ön) yüzü konkav olup önden yuvarlak ve geniş, arkaya doğru gittikçe daralmakta ve arka uçta sivri olarak sonlanmaktadır^{8,16}. Parazitin ön yüzünde genişleyen bölümün tamamını kaplayan bir yapı olan emici disk (yapışkan ya da ventral disk) yer almaktadır. Bu yapı sayesinde parazit tutunmak istediği yüzeylere tutunabilmektedir. Bu diskin hemen arkasında iki adet oval şeklinde çekirdek ve çekirdekte merkezi karyozomlar bulunmaktadır. İki çekirdek arasında adeta mikroorganizmayı ortadan ikiye ayıran armutun dar ucuna doğru uzanan aksonem, median cisimler ve organizmanın dört çift kamçıya kök oluşturan kinetosomal kompleksler yer almaktadır^{1,2,6,8}.

Ön kamçılar blefaroblastların önüne geçtikten sonra birbirleri ile çaprazlaşıp, vücudun ön kısmından yanlara dönerek, ön yan ve arka yan kamçılar ise vücudun yan taraflarından dışarı çıkmaktadırlar. Kuyruk kamçıları orta blefaroblasttan çıkarak arka uçtan serbest kalmaktadırlar^{8,10}.

Orta cisim olarak adlandırılan merkezi mikrotübüler yapılar iki tane olup, emici diskin arkasında, arka aksonemleri çaprazlamaktadırlar. Hematoksilinle koyu boyanan orta cisimlerin *Giardia* cinsine özgü olduğu bildirilmekte ve türlere göre değişik şekillerde (hafif kıvrık, sosis, eğri çomak biçiminde) bulunabilmektedir. *G. lamblia*'da orta cisim pençe şeklinde olduğu bildirilmiştir^{7,8}.

2.3.2.2. Kist

Kist, fizyolojik formu minimuma inmiş, hareketsiz, beslenmeyen, konağın içinde yaşadığı çevre koşullarına dayanıklı, bir konaktan diğerine geçişi sağlayan bulaşıcı evrim dönemidir. *G. lamblia*'nın kistleri 8-12 µm uzunluğunda, 7-10 µm genişliğinde, oval, sitoplazmaları ince granüllü yapı göstermektedir. İçinde orta cisimler, emici disk, kamçı ve genellikle dört çekirdek bulunmaktadır. Oluşum yeri ince bağırsaktır ve etrafı ince bir kist duvarıyla çevrilidir. Bu duvar ile sitoplazma arasında bir boşluk görülür. Oldukça dayanıklı olan kistler mideden tahrip olmadan geçer, 8°C'de 2 aydan çok, sırasıyla 21 ve 37°C'de 1 ay ve 4 gün kadar canlı kalırlar^{2,6,8,10,13}.

2.3.3. *Cryptosporidium* sp.'nin Morfolojik Yapısı

Cryptosporidium insanın mide ve bağırsak mukozal epitel hücrelerinin mikrovilus bölgelerinde (brush border) yaşar. Yaşamında diğer apicomplexa grubunda bulunan diğer parazitlerde olduğu gibi, trofozoit, şizont (meront I), merozoit, gametler, zigot, ookist ve sporozoit evreleri görülür. Hücre içindeki trofozoit, 2-2,5 µm çapında yuvarlak veya oval görünümündedir. Ookistler 4-6 µm çapında, kalın bir duvarla çevrilmiş, sferik ve içerisinde 4 sporozoit bulunan yapılardır. Sporokistleri bulunmamaktadır. Sporozoitler 4.9×1.2 µm büyüklüğünde, düz ve renksiz olup, rhoptri, mikronem ve yoğun granüller içeren, konak hücreye invazyonu sağlayan apikal kompleks adı verilen organelle sahiptir. Konak enterositleri içinde bulunan ookistlerin %80'i kalın duvarlı ve çift cidarlı iken, yaklaşık %20'si ince cidarlıdır. Dış ortama dirençsiz, yalnız tek bir zarla çevrili olan ince cidarlı ookistler otoenfeksiyondan sorumludurlar^{1,2,10,22}.

2.4. Evrim

2.4.1. *E. histolytica*'nin Evrimi

E. histolytica'nin konak zinciri insan-insan-insandır. Köpek, kene, sıçan ve bazı maymunlarda da yaşamını sürdürmektedir^{1,3,10}. Deneysel çalışmalar için genellikle yavru kedi ve köpekler, tavşanlar, keneler, hamsterler, maymunlar ve kobaylar kullanılmaktadır. Amöbiyoz 4 çekirdekli olgun kistlerin ağız yolu ile alınmasıyla oluşmaktadır. Amöbiyoz insana doğrudan ağız yoluyla bulaşacağı gibi, insan dışkıyla kirlenmiş yiyecek ve içeceklerle de bulaşabilmektedir. Enfeksiyon her yaşta ve cinsiyette görülebilir. *E. histolytica*'nin normal ve patojen dönemli 2 evriminin olduğu bilinmektedir^{1,3,4,5,13,18}.

2.4.1.1. Normal Dönemli (Patojen Olmayan) Evrim

E. histolytica'nın 4 çekirdekli olgun kistlerinin ağız yoluyla alınmasından sonra bağırsakta pankreas, safra veya diğer sindirim salgıları ve ortamın pH'sı gibi etkilerle, kistin duvarı erimektedir. Her bir çekirdeğin etrafı sitoplazma ile çevrilerek metakistik amibe dönüşmekte ve bu çekirdekler de ikiye bölünerek 8 çekirdekli metakistik form oluşmakta, her bir çekirdeğin etrafını sitoplazma çevirdikten sonra bir kistten 8 adet küçük metakistik trofozoit (amöbula) meydana gelmektedir. Bu amöbulalar bağırsak mukozasında ki besin artıkları ve bakterilerle beslenerek büyümekte ve bağırsak boşluğu (minuta) şekline dönüşmektedir^{1,3,4}.

Trofozoitlerin, kalın bağırsak boşluğunda ilerlerken bağırsak içeriğindeki su oranının gittikçe azalması, konağın direnci, beslenmesi veya bilinmeyen sebepler sonucunda, morfolojik ve fizyolojik değişikliklere uğradıkları ve kist şekline dönüştükleri, bu dönüşüm sırasında trofozoitlerin önce içlerindeki sindirilmemiş besinleri attığı, daha sonra homojen ve yuvarlak olan prekist şekline dönüştüğü bildirilmektedir^{18,23}. Tek çekirdekli olan prekist daha sonra 2 ve 4 çekirdekli hale dönüşüp dışkı ile tekrar dış ortama atılmakta ve insanlar tarafından su ve besin yolu ile ağızdan alınarak evrimi tekrar başlamaktadır^{1,2,10}.

2.4.1.2. Patojen Dönemli Evrim

Bağırsak boşluğunda bulunan minuta şekli amipler birbirini takip eden bölünmeler ve bazı etkenler sonucunda daha büyüyerek doku eritici enzimler salgırlar. Bağırsak epitel hücrelerini eriterek, eritrositleri fagosite eden hematofaj şekle dönüşürler. Mukoza katları arasına yayılarak tipik amip ülser veya abselerini oluşturmakta, kist dönemine geçmeden ikiye bölünerek çoğalıp patojen dönemli evrimi sürdürürler^{1,4}.

2.4.2. *G. lamblia*'nın Evrimi

Monoksen bir parazit olan *G. lamblia*'nın konak zinciri insan-insan insan olarak uzanır. Bazen ve bazı ülkelerde bu zincire kunduz, koyun, köpek, sığır, kedi ve gerbil gibi canlılar da girmektedir^{2,8,17}. İnsan *Giardia* kistleriyle bulaşık yiyecek ve içeceklerle veya kistlerle bulaşık parmakların ağza alınmasıyla giyardiyoza yakalanır. Kistler ağız yoluyla alınmasından sonra mideye gelir. Mide özusunun, pankreatik salgıların ve enzimlerin etkisiyle duodenumda açılır (ekskistasyon)^{8,30,31,32}. Duodenumda rüptüre olan kist duvarından geriye 4 çekirdekli bir sitoplazma kalır, bu da trofozoiti oluşturur ve trofozoit boyuna ikiye bölünerek çift çekirdekli 2 trofozoit meydana getirir^{1,2,7,8,13}.

Trofozoitler emici diskleriyle duodenum, jejunum ve ileumun üst kısmı ile ender olarak safra kesesi ve safra yollarının epitelyum yüzeylerine yapışarak kolonize olurlar fakat invazyon yapmazlar^{3,8,13}. Trofozoitler epitelden ayrıldığında bağırsak peristaltizmi nedeniyle akarak dışkı içerisinde dış ortama atılmaktadırlar. Ancak genellikle trofozoitler ince bağırsağın son bölümlerine ulaştığında safra tuzlarının etkisi ile kiste dönüşüm başlamaktadır (enkistasyon)^{8,13}. Enkistasyonun ilk evresinde trofozoitlerin kamçıları kısalıp hareketleri yavaşlamakta, sitoplazması yoğunlaşıp, kalın hyalin kist duvarı salgılanmaktadır. İki çekirdekli trofozoit, iki çekirdekli kistler haline dönüşmekte ve daha sonra kistin içindeki iki çekirdekten her birinin bölünmesi ile dört çekirdekli kistler oluşarak evrimi tamamlanmaktadır^{1,6,8,10,13}.

2.4.3. *Cryptosporidium* sp.'nin Evrimi

Cryptosporidium türleri, aseksüel (şizogoni, merogoni) ve seksüel (gametogoni, sporogoni) döllenme şekillerinin değişimi ile karakterize evrimini tek bir konakta (monoksen) tamamlar. Parazitin yerleştiği ve konak hücre orjinli bölgeye parazitoforoz vaküol denir^{1,11}. *Cryptosporidium* türlerinde başlıca 6 gelişim evresi bulunmaktadır^{1,2,13}.

2.4.3.1. Ekskistasyon Evresi

Ağız yolu alınan kalın duvarlı ookistlerin çeperleri ince bağırsakta safra tuzları ve pankreatik enzimlerin yardımıyla ekskiste olmakta ve sonucunda sporozoitler serbest kalıp, bağırsak boşluğuna dökülmektedir^{1,11,13}.

2.4.3.2. Merogoni Evresi

Serbest kalan sporozoitler konağın epitelyum hücreleri içindeki mikrovillus bölgesine girmekte (enterosit) ve burada trofozoitlere (tek nükleuslu meront) dönüşmektedir. Daha sonra bu merontlar eşeysiz olarak (merogoni ile) çoğalarak Tip 1 merontları oluşturmaktadır. Tip 1 merontlardan 6-8 adet merozoit oluşur ve bu merozoitlerden tekrar eşeysiz çoğalma ile Tip 1 meront ya da Tip 2 merontlar oluşur^{1,11,22,28}.

2.4.3.3. Gametogoni Evresi

Tip 2 merontalardan meydana gelen merozoitler konakta yeni hücelere girdiklerinde mikro ve makrogametositlere ve daha sonra makro ve mikrogametlere dönüşürler^{1,22}.

2.4.3.4. Döllenme Evresi

Kamçısız fakat hareketli olan mikrogametın makrogameti döllemesiyle zigot oluşur ve gametogoni tamamlanır¹.

2.4.3.5. Ookist Evresi

Zigot duvarının kalınlaşmasıyla, dış çevre koşullarına dayanıklı, infekte ookistler oluşur. Bu ookistlerin %80'i kalın, %20'si ince duvarlıdır. İnce duvarlı ookistler yeni hücreleri infekte ederek infeksiyonu devam ettirirken (otoinfeksiyon), kalın duvarlı ookistler dışkı ile dışarı atılırlar^{11,13,17,22}.

2.4.3.6. Sporogoni Evresi

Ookist içinde sporlanma ile dört infektif sporozoit oluşur¹. Ookistlerin vücuda alınmasından dışkıda ookistlerin görülmesi insanlarda 5-21 gün, sığırlarda 2-7 gün, kedilerde 5-10 gündür¹¹.

2.5. Epidemiyoloji

2.5.1. *E. histolytica*'nın Epidemiyolojisi

E. histolytica'nın sebep olduğu amöbiyoz, dünya nüfusunun yaklaşık %10'unun enfekte olduğu, başta tropikal ve subtropikal bölgeler olmak üzere dünyanın hemen her bölgesinde ve her sosyo-ekonomik grupta görülmektedir^{1,2,9,17,18}. Yılda 40-50 milyonun *E. histolytica*'nın neden olduğu kolit ve karaciğer apsesine yakalandığı ve 40 ila 110 bin kişinin de bu hastalıktan öldüğü sanılmaktadır¹. Ölüme neden olan parazit hastalıkları arasında sıtma ve şistozomiyozdan sonra üçüncü sırada yer almaktadır. *E. histolytica* parazit hastalıkları arasında en kozmopolit olanıdır. Ülkemizde yapılan araştırmalar sonucunda ise bağırsak parazitlerinin dağılımında *E. histolytica* insidansının %0,3 ile %17,4 arasında değiştiği tespit edilmiştir^{1,4,13}.

E. dispar'ın prevelans olarak *E. histolytica*'ya göre dokuz kat daha fazla görüldüğü ve bu nedenle *E. histolytica*'ya atfedilen yaklaşık dünya nüfusunun %10'unda görülen infeksiyonların büyük çoğunluğunun *E. dispar* olduğu öne sürülmektedir^{18,20}.

Amöbiyoz *E. histolytica* kistleri ile bulaşmaktadır. Trofozoitler vücut dışında fazla yaşayamadıkları özellikle düşük ısıya, oksijene ve mide asidine dayanıklı olmadıkları için bulaşmada etkisizdirler. Amöbiyoz epidemiyolojisinde insan dışında diğer canlıların bir rolü yoktur. Kistleri içeren dışkıları konduktan sonra yiyecek

ıceceklere konan sinek, böcek gibi eklem bacaklılara bildiğimiz anlamda vektör denmesi doğru deđildir².

Bu hastalığın prevalansında ki artış, daha çok kültürel alışkanlıklara, yaşı, temizlik kurallarına, sosyo-ekonomik duruma, büyük topluluklar halinde yaşıma alışkanlığına, kanalizasyon sistemlerinin olup olmamasına ve endemik bölgelerden g gibi nedenlere bağlanmıştır. Amöbiyoz, her yaşıta görülmekle birlikte daha çok yetişkinlerde görülmektedir. Amibik kolit ise her iki cinsiyette de eşit oranda görülürken, amibik karaciğer apsesi (AKA) ve diğer bağırsak dışı olgular erkeklerde yaklaşık olarak 10 kat daha fazla görülmektedir. *E.dispar*'a ise kadınlarda erkeklerden daha sık rastlanmaktadır¹³.Yeni doğan ve çocukluk çağında olanlarda, gebelik ve doğum sonrası dönemlerde, kortikosteroid alan maligniteli ve malnütrisyonlu kişilerde ise amip infeksiyonlarının daha şiddetli klinik tablolar ile seyrettiği ortaya konmuştur^{18,19,23-26}. Yapılan çalışmalarda, homoseksüel erkeklerde *E. histolytica* ve diğer bağırsak parazitleri infeksiyonlarına daha sık rastlandığını ve cinsel yolla geçişin mümkün olduğunu gstermektedir^{18,24}.

Epidemiyolojik çalışmalarda, amip infeksiyonlarına en çok Meksika, Güney Amerika Natal, Batı Afrika ve Güney-Doğu Asya lkelerinde rastlanmaktadır^{2,18}. Bu parazitin prevalansının %10 olmasına rağmen son zamanlarda *E.dispar* ayrımı yapılamayan tropikal ülkelerdeki araştırmalara göre prevalans %50 hatta %80'lere çıkabilmektedir. İki türün morfolojik olarak değil de sadece genetik özellikleri bazında ayırt edilebilmeleri epidemiyolojik taramalarda ve tanı da zorluklara neden olmaktadır. Çünkü monoklonal antikor, DNA hibridizasyonu ve PCR gibi yöntemleri uygulamak rutin tanı laboratuvarları için hem zor hem de pahalıdır².

2.5.2. *G. lamblia*'nın Epidemiyolojisi

Giyardiyozda infeksiyon kaynağı infekte kişilerin dışkılılarıyla dış ortama atılan kistlerdir. Kozmolit bir dağılım gösteren bu parazit daha çok ılıman ve tropikal bölgelerde görülür. Giyardiyoza yakalanmada yaş, iklim, sosyal ve cinsel yaşam tercihi rol oynar fakat cinsiyet ve ırkın bir etkisi yoktur². Çocuklarda yüksek oranda, özellikle de 10 yaşın altında ki çocuklarda %15-30 oranları arasında grlmektedir^{17,33}. Gelişmekte olan ülkelerde %20-30 arasında, Amerika'da da hem endemik, hem önemli hem de en sık rastlanan protozoon hastalığı olarak yayılış göstermektedir. Yine bu ülkedeki CDCP (Center for Disease Control and Prevention)'ye göre giyardiyoz yönünden 5 yaş altında ki çocuklar ve hamile kadınlara yüksek risk altındadır. Ülkemizde ise yapılan çalışmalar sonucunda değişik şehirlerde %0,8 ile %54,8 gibi farklı sayılarda değerler bulunmuřtur¹.

G. lamblia'da bulaş; dört çekirdekli kistlerin fekal-oral yolla insandan insana bulaş, kontamine yiyecek ve ıceceklerle çevresel bulaş ve zoonotik bulaş olarak

bilinmektedir⁸. Fakat anormal seks ilişkileriyle ve homoseksüellerde de anal-oral seks esnasında bulaşabildiği de ileri sürülmüştür^{2,17,20}. *G. lamblia*'da bulaşımına karşı duyarlılığı artıran sebeplerin başında şahsın achlorhydria (mide özsuyuunda Hc1 yokluğu) ve pankreatik hastalıklar gelir²⁸. Ayrıca giyardiyoz turist (gezgin) diyaresi olarak da bilinmektedir^{2,6,20}. Bazı araştırmacılar ise zoonotik bulaşta; kedi, köpek, koyun, keçi, domuz, sığır, kunduz hatta kuşlar da dahil olmak üzere değişik hayvanların insanlara giyardiyoz bulaşmasında potansiyel rolü olduğunu savunmaktadır^{8,34-36}.

2.5.3. *Cryptosporidium* sp.'nin Epidemiyolojisi

Kriptosporidyoza, evcil hayvanlardan insanlara bulaşabilen Antartika dışında, sıcak iklime sahip tüm bölgelerde görülen zoonoz bir hastalıktır. İnsandan insana, hayvandan hayvana da bulaş olabilmektedir. Özellikle su kaynaklı epidemiler görülmektedir. Düşük sayıda ookistin infeksiyon oluşturması, ookistlerin uzun süre dış ortamda canlı kalabilmesi ve birçok dezenfektana karşı dirençli olması, konaktan atıldığında oositlerin infektif olması, bazı genotiplerin hayvanlar için rezervuar olması ve konağın bağışıklık sisteminin baskılanmış olması gibi sebepler *Cryptosporidium* epidemiyolojisini belirleyen faktörlerdir^{1,2,13}.

Bu parazitoza çocukların, erişkinlerden; anne sütü ile beslenmeyenlerin beslenenlere göre daha sık yakalandığı bilinmektedir. Ayrıca, ookistlerle pislenen çiğ sütler, yaş, meslek, beslenme bozukluğu, immün yetersizlik, hijyenik koşullar ve infekte kişilerle yakın temas risk faktörlerini oluşturmaktadır^{11,28}. Hastaneler, huzurevleri ve çocuk yuvaları gibi kalabalık ortamlarda bulaşmanın daha sık olduğu belirtilmektedir^{43,44}.

Tüm dünyada yaygın olan bu parazit, 1987 yılında Amerika'da yaklaşık 13 bin kişiyi etkileyen kriptosporidyoza epidemisine yol açmış ve bunların %39'unun dışkıında ookistler görülmüştür². Birçok ülkede görülmekle birlikte gelişmiş ülkelerde diyareli çocuklarda %1-3, gelişmekte olan ülkelere ise %4-17 arasında insidansa sahiptir^{1,2,17}.

Ülkemizde ise 1985 yılında ilk Adana'da Ç.Ü. Parazitoloji Anabilim Dalımızda yapılan çalışmada, ishalleri çocuklarda %8.2, normal çocuklarda % 4.08 olarak bulunmuştur. Bunun dışında yapılan araştırmalarda bu parazitozun ülkemizde görülme oranı %0.1-30.4 arasında değişmektedir¹¹.

2.6. Patojenite

2.6.1. *E. histolytica* Patojenitesi

E. histolytica kistleri ağız yoluyla alındıktan sonra kalın bağırsakta metakist ve metakistik trofozoit şekillerine dönüşerek kolonize olur ve eritrositlerle beslenerek ülserler oluşturur. Bağırsak duvarının ülserasyonu, amibik dizanteri klinik tablosuna neden olur veya hastalığın klinik belirtileri olmadan da belli belirsiz hasar olabilir¹³. Aynı zamanda amip kan yoluyla karaciğer, akciğer, safra kesesi, deri, plevra, dalak, beyin, idrar yolları ve üreme organlarında apse oluşturabilir. *E. histolytica*'nın hastalık oluşturmasında insan vücut direncinin önemi olduğu kadar, amibin virülansı, sayısı ve trofozoitleri tarafından salınan enzimler, enterotoksinler, sitotoksinler ve amibin dokuya teması ile ilgili hücre erimesi de önemlidir^{10,13}.

E. histolytica'nın patojenite mekanizması iki ana konuda ele alınmıştır.

1. Amibin oluşturduğu toksinler ile gelişen olaylar. Bunlar salınan enzimler, trofozoitlerden serbest kalan enterotoksinler veya sitotoksinlerdir.

2. Amip-konak arasında direkt hücresel temas ile gerçekleşen olaylar ki bunlarda hücre erimesi şeklinde kendini gösterir³.

Hücre öldürücü etki, amiplerin konak hücresine tutunmaları ile başlar. Bunu, diğer hücreleri amiplerin fagositozu izler ve fagosite edilen hücreler erirler. Bu etkinlik patojenitede dış zarın önemini gösterir. Ayrıca amip yüzeyindeki mikroflamanlarında olaya katkısı bulunmaktadır. Patojenitede yapışma, hücre erimesinin yanısıra konak savunma mekanizmasına karşı parazitin direncinin artmasında da etkili olmaktadır⁴.

E. histolytica konak hücresine yüzeyinde bulunan galaktoz bağlayan lektin aracılığıyla bağlanmaktadır. Galaktoz, lektini hücre yüzeyindeki glikonlara bağlayarak hedef hücreye yapışmasını sağlar. Amibin hedef hücre ile ilişkisinden sonra oluşan ilk biyokimyasal olay aktin polimerizasyonudur. Bu olay fagositik zarların genişlemesi ile birlikte^{3,13}. Ayrıca proteaz sekresyonu, dokuya penetrasyonu kolaylaştırır. İki amibik proteinazın patogeneze önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Bunlar tiol proteinaz(sistein) ve metallokollagenazdır. *E.histolytica*'yı kodlayan 6 farklı gen (EhCP1- EhCP6) belirlenmiştir. *E.dispar*'da da EdCP2, EdCP3 ve EdCP4 genleri saptanmıştır. Sistein proteinaz kodlayan genlerde ki farklılık, *E.histolytica* ile *E.dispar* arasındaki patojenite farklılıklarını belirleyebilir²¹.

Amipler bağırsak çeperinde, ülserin genellikle kenarlarında ve dibinde bulunurlar ve erimiş hücrelerle, eritrositlerle beslenirler. Ülserlere en çok çekumda, rektumda ve sigmoid kolonda, ağır olgularda ise kalın bağırsağın her tarafında rastlanıldığı gibi, ince bağırsak ve apandiste lezyonlar görülebilmektedir^{1,3,4}.

Başlangıçta ufak sarı akıntılar halinde olan lezyonlar açılır, ağzı dar bir şişe tarzında amip yaraları meydana gelir. Yaralar bağırsak kıvrımları yönünde ilerlediklerinden enleri boylarından büyüktür. Burada amipler, erimiş hücreler ve alyuvarlarla beslenip çoğalırlar. Amipler bağırsak çeperinde, ülserin genellikle kenarında ve dibinde bulunurlar^{1,3,4,10,18}.

Amipler venciklerden veya periton boşluğundan geçerek karaciğere varabilirler. Ya da lenf damarlarından sağ kalbe, akciğere ve diğer organlara geçebilirler. *E. histolytica*'dan kaynaklanan karaciğer absesinde (AKA) basit hepatit, amip hepatiti ve amip absesi görülebilmektedir. Karaciğer absesi plevraya, akciğere, deriye, bağırsağa, perikarda, peritona, safra yollarına ve damarlara açılabilir^{1,4,18,19,21,27}.

2.6.2. *G. lamblia* Patojenitesi

İnfeksiyonun kistlerin ağız yolu ile alınmasının ardından oluştuğu ve on kadar kistin bile enfeksiyona sebep olduğu bilinmektedir^{3,8}. Patojen etki parazit virülansına, sayısına, konağın bağışıklığına bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca giyardiyoz patogeneğinde, trofozoitin emici özelliğinin yanında spesifik resöptör-ligand ilişkisinin rol oynadığı, diskin mikrotübüler yapısında ki tubulinlerin, kontraktil proteinlerin, yüzey membranındaki lektinlerin yardımı ile duodenum çeperine yapışması rol oynamaktadır^{8,17,18}. Yapışma çeperde mekanik irritasyona ve bunun sonucunda da müköz salgısında artmaya, dehidratasyona, sürgüne (ishale) ve gaz birikmesine yol açar². Bu parazitte görülen malabsorbsiyon ve sürgün birden çok etmene bağlı olmakla beraber, bağırsak epitelyum yapısını değiştirerek belirgin veya orta dereceli villus atrofisine yol açar. Ksiloz ve disakkaritlerin, yağda eriyen vitaminlerin malabsorbsiyonu, infekte kişide kilo kaybına yol açar^{2,8,17,28}.

Steare denilen yağlı sürgünün olduğu hastalarda ince bağırsakta bakteri kolonizasyonunun arttığı ve serbest safra asitlerinin seviyesinin yükseldiği saptanmış bunların birinin ya da her ikisinin birden yağlı sürgüne yol açtığı ileri sürülmüştür².

2.6.3. *Cryptosporidium* sp. Patojenitesi

Bağışıklık sistemi sağlam olan kişilerde *Cryptosporidium* sıklıkla terminal jejunum ve ileumda, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ise mide, duodenum, kolon, bilier ve pankreatik kanallar ve solunum sistemine yerleşerek enfeksiyona neden olabileceği bildirilmiştir¹. Enfekte bağırsak epitelyum hücrelerinde absorpsiyonun bozulduğu ve sekresyonun arttığı gözlenmiştir. Bağırsaklarda villüs atrofisi, kript hiperplazisi gözlenmektedir¹³.

İshalin patofizyolojisi tam olarak açıklanamamıştır. Sonuçta oluşan ishalin hem tanımlanamayan bir toksin nedeni ile hem de bağırsak villuslarında hasar ile oluşan malabsorbsiyon nedeni ile olduğu var sayılmaktadır. Üç ana mekanizmanın etkili olduğu düşünülmektedir.

Bunlar;

- 1- Doğrudan sitotoksik etkiyle bağırsak yapısının bozulması
- 2- Konak immün yanıtın bir parçası olarak. İnflamatuar metabolit ve hormonların salınımı
- 3- Parazitin enterotoksik özellik göstermesi^{11,41,42}.

2.7. Klinik Belirtiler

2.7.1. *E. histolytica*' da Klinik Belirtiler

Amobiyoz ile ilgili klinik belirtiler ele alındığında genel olarak;

- I. Asemptomatik bulgulu amobiyoz (olguların %85-95'i)
- II. Semptomatik bulgulu amobiyoz (olguların %5-15'i)
 - A) Bağırsak amobiyozu
 - Dizanterik amobiyoz
 - Dizanterik olmayan amobiyoz
 - B) Bağırsak Dışı amobiyoz(Semptomatik olguların %5'i)
 - Karaciğer amobiyozu
 - Akciğer amobiyozu
 - Diğer bağırsak dışı odaklı amobiyoz^{1,2}. (plevra, perikard, beyin, dalak, üreme organları, idrar yolları ve deri)

I. Asemptomatik Bulgulu Amobiyoz: Tüm asemptomatik olgularda herhangi bir semptom görülmediği halde infekte şahıslar kist çıkarırlar. Bu kişilere portör adı verilmektedir. Semptomları kesin bir çerçevede tarif edilmemekle birlikte hastalığın şiddetine, bağırsakta sınırlı kalıp kalmamasına, diğer organlara geçip geçmemesine göre değişik semptomlar görülebilmektedir^{1,2,13,18,21}.

II. Semptomatik Bulgulu Amobiyoz

A) Bağırsak Amobiyozu: Amobiyozisin en yaygın şekli olup, dizanterik olan ve dizanterik olmayan şekilde seyredilmektedir. Bu tip amobiyozda kuluçka süresi 2-5 gün veya daha uzundur. Klinik kuluçka süresi ortalama 1-4 ay arasında değişir². *E. histolytica* en çok kalın bağırsağa yerleşmekte, eritrositlerle beslenmekte ve ülserler oluşturmaktadır. Hastalık sırasında nadiren ateş görülmektedir¹.

- **Dizanterik olan şekil:** Akut bağırsak amobiyozu olup, bu hastalıkta karın ağrısı, kramp, gaz gibi şikayetlerle birlikte normal görünümde olmayan kötü kokulu dışkı çıkarma ve bu dışkının şeffaf mukuslu ve kanlı görünümü ile ağaç çileği ezmesi şeklinde görülebilir. Ayrıca bu tipte iştahsızlık, kilo kaybı ve kronik halsizlik gibi belirtilerde görülebilir¹⁻³.

- **Dizanterik olmayan şekil:** Sessiz seyredildiği gibi karın ağrısı, konstipasyon ve zaman zaman daire nöbetleri, gaz şikayetinden dolayı çekumda şişkinlik hissi, şekilli dışkı çıkarma, sigmoid kolon ve çekumda hassasiyet ve hafif ağrı görülebilir. Oldukça sık oluşan sekunder bakteriyel enfeksiyondan dolayı hafif lökositoz görülmektedir¹.

B) Bağırsak Dışı Amobiyoz

- **Karaciğer amobiyozu:** Bu tip amobiyoz tiri ön dönem ve apse dönemi diye ikiye ayrılabilir. Ön dönemde sağ üst kadranda ve sağ omuzda ağrı, karaciğerde büyüme, ateş ve sedimentasyon yükselmesi görülür. Ön dönem kendiliğinden iyileşirse de genelde apse dönemine dönüşür. Apsenin oluşumu olgularının çoğunda (%85) sağ loptadır fakat sol lopta veya her iki lopta da görülebilir. Ayrıca öksürük, kusma, kronik yorgunluk, uyku hali, ateş ve üşüme gibi komplikasyonlarda görülebilmektedir^{2,3,5,18,19,21,28}.

Karaciğer amobiyozunun görülmesi ileri yaşlarda, özellikle 40-50 yaşları arasında, erkeklerde kadınlardan daha sık görülmektedir^{1-3,10}.

- **Akciğer amobiyozu:** Karaciğer amip apselerinin diyafram yolu ile akciğere açılmasıyla veya kan yolu ile *E. histolytica* trofozoitlerinin akciğere taşınmasıyla oluşabilir. Bağırsak ve karaciğerden sonra en çok tutulan organdır¹³. Öksürük, yüksek ateş, toraksın yarısını kaplayan ağrı ve yorgunluk semptomları arasındadır. Öksürükle gelen balgamda karaciğer hücreleri de görülebilmektedir^{1,3,10,21,28}.

- **Diğer bağırsak dışı odaklı amobiyoz:** Bağırsak dışı tutulan diğer bölgeler olarak beyin, dalak, perianal apse, genitoüriner, perinefritik apse, infekte rektal kist, rektovajinal fistül, penil, servikal ülser, uterus tutulumu ve vajina lezyonları'dır^{13,29}.

2.7.2. *G. lamblia*'da Klinik Belirtiler

İnfeksiyonun ortaya çıkması için oral yoldan 10-25 adet kistin alınması yeterlidir. *Giardia* kistini alan kişilerin %25-50'si semptomatik, %35-70'i asemptomatiktir^{8,13}. Kuluçka süresi genelde 1-2 haftadır. Biyolojik kuluçka süresi ise 10-36 gündür². Klinik belirtilerde periyodik yağlı sürgün (ishal), karın şişliği, patlama şeklinde aşırı gaz oluşumu (borborogomi), kramp şeklinde karın ağrıları, epigastik bölgede duyarlılık, kilo ve iştah kaybı, anemi ve malabsorbsiyon sendromu sayılabilir. Ayrıca artmış mukus sekresyonu, dehidratasyon, halsizlik, bulantı, kusma, ateş ve ürtiker gibi semptomlarda görülmektedir^{1-3,6,8,12,17}.

Ağır seyreden olgularda çocuklar Çöliak hastalığına, erişkinlerde ise tropikal spruya benzer durumlar görülebilir. Bu durumda bol miktarda açık renkli dışkıya ek olarak, hipoproteinemi, folik asit ve yağda eriyen vitamin eksiklikleri ile villüslerin yapısında bozukluklar vardır^{2,8}.

Giyardiyozda başlangıçta dışkı bol miktarda ve sulu iken, daha sonra yağlı, kötü kokulu ve yüzer nitelikte bir hal alır. Dışkıda makroskopik kan, püvy ve mukus genellikle bulunmaz, mikroskopik olarak da polimorf çekirdekli hücreler görülmez^{8,10,13,19}.

G.lamblia infeksiyonlarından sonra artralji, sinovit ve artrit de görülebilmektedir^{37,38}.

2.7.3. *Cryptosporidium* sp'.de Klinik Belirtiler

Cryptosporidium, bağışıklık sistemi sağlam kişilerde sıklıkla terminal jejunum ve ileuma, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde akciğer, özofagus, mide, karaciğer, pankreas, safra kesesi, apendiks, duodenum, kolon, rektum, orta kulak ve konjonktivada da bulunabileceği ve klinik belirtiler yerleştiği organlara göre ortaya çıktığı bildirilmiştir^{1,13}.

Ookistlerin ağız yoluyla alınmasından semptomların görülmesine kadar geçen süre konağın sağlık durumuna göre ortalama 5 ile 28 gün arasında değişmektedir^{2,17}. Belirtilerin şiddeti kişiden kişiye değişmekle birlikte, atılan ookist sayısı ile paralellik göstermektedir. Klinik semptomların şiddeti ve süresi konağın yaş ve immün sisteminin durumuna göre değiştiği için, AIDS'li hastalarda uzun süren ve hayatı tehdit eden infeksiyon şeklinde, immün sistemi sağlam kişilerde ise kısa süreli ve kendiliğinden tamamen iyileşme şeklinde sonuçlanmaktadır¹.

Bağışıklığı sağlam kişilerde en sık rastlanan semptomlar; bol ve sulu koleraya benzeyen diyare, karın ağrısı, bulantı, kusma, 39°C'yi geçmeyen hafif ateş ve baş ağrısıdır. Bunların dışında hafif kas ağrısı, halsizlik, kuvvetsizlik ve iştahsızlık olabilir.

İmmun sistemi sağlam olan kişilerde bu bulgular kısa sürede geçer, spontan olarak tam iyileşme görülür^{1,2,10,17,28,45}.

Edinsel immün yetmezliği olan veya immün sistemi baskılı kişilerde görülen belirtiler; çok şiddetli ishal, günde yirmi litreye yakın sıvı kaybı, elektrolit ve su balansının bozulması, zayıflama, bulantı, kusma, karın ağrısı, baş ağrısı, ateş gibi belirtiler görülür. Ayrıca bu belirtiler gastrointestinal sistemle sınırlı kalmayabilmekte, safra kesesi ve safra yolları, pankreas kanallarını tutarak, pankreasta büyüme, solunum sistemini tutarak sinüzit ve nonspesifik belirtilere, eklemleri tutarak ağrı yakınmalarına da neden olduğu bildirilmektedir^{1,17,41,45-47}.

2.8. İmmünoloji

2.8.1. *E. histolytica*'da İmmünoloji

Hastalığın oluşmasında, kişinin beslenme şeklinin ve savunma mekanizmasının durumunun etkili olduğu ileri sürülmüştür. İnfekte kişilerde anti-lektin antikorlarının oluştuğu ve bunların parazitin sitotoksik etkisini bloke ettikleri ama trofozoitin hücreye yapışmasını engelleyemediği belirtilmiştir. Ayrıca invaziv amöbiyozdan kurtulanlarda hem hümmoral hem de hüccresel bağışıklığın varlığı saptanmıştır^{2,10,21}.

Patojen ya da patojen olmayan amiplerin neden olduğu salgısal IgA, bağırsaklarda müköz zarlara girişlerini engelleyebilmektedir⁴. Amiplere karşı oluşan antikorların parazitlerin dokuya girmesi sonucunda oluştuğu sanılmaktadır. Fakat patojen olmadığı bilinen amiplere karşı da antikor oluşmaktadır. Endemik bölgelerde amöbiyoz olgularında yüksek düzeyde IgG, çok düşük düzeyde IgM ve IgA antikorlarının varlığı gösterilmiştir. Saptanan bazı antikorlar tanıda rol oynayabilmekte ancak hastalığa karşı koruyucu özellik gösterememektedir^{1,3,4}.

2.8.2. *G. lamblia*'da İmmünoloji

Konağın *G.lambli*a'ya karşı sergilediği savunma mekanizması da parazitozun patogeneğinde rol oynar. Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar insanlarda tekrarlayan *Giardia* enfeksiyonuna karşı edinsel bağışıklığın olduğunu göstermektedir^{2,13}. *G. lamblia*'nın konağın reaksiyonlarına karşı canlılığını sürdürebilmek için Variant Surface Protein (VSP) olarak adlandırılan majör yüzey antijenlerinde değişiklik yaptığı bildirilmektedir. Söz konusu VSP'de ki değişiklik paraziti intestinal proteaz aktivitesinden korumakla birlikte oksijen stabilitesini sağlamakta, böylece farklı konaklara adaptasyonunu kolaylaştırarak immün yanıtta kaçışta önemli bir rol oynamasına neden olmaktadır¹³.

İnfeksiyonun sınırlı olması, *Giardia*'ya özgül antikorların hasta serumlarında saptanması, hipoglobulinemili kişilerin enfeksiyona daha duyarlı olması, küçük yaşlarda parazite daha sık rastlanması gibi sebepler insanlarda bağışıklık yanıtının varlığını desteklemektedir⁸.

Giyardiyozda birçok enfeksiyonda olduğu gibi serumda önce IgM sınıfı antikorlar erken oluşmakta ve 2-3 hafta içerisinde hızla gerilemekte, daha sonra IgA ve IgG'nin oluştuğu da bildirilmiştir. Semptomatik hastalarda IgM ve IgA yanıtlarının asemptomatik hastalara göre daha yüksek olduğu, buna karşılık IgG yanıtında farklılık olmadığı bildirilmektedir^{3,13}.

2.8.3. *Cryptosporidium* sp. İmmunolojisi

Cryptosporidium bağışıklık yanıtı hakkında yapılan çalışmalarda enfeksiyonun önlenmesinde ve iyileşmesinde CD₄ T lenfositleri ve gamma interferonunun (IFN- γ) önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. AIDS'li hastalarda CD₄ sayısı > 180 hücre/mm³ olanlarda enfeksiyon spontan temizlenebilirken, 180'den az olanlarda persistan hastalık, 100'den az olanlarda kronik ve 50'den az olanlarda ölüm riski olduğu bildirilmiştir^{1,11,17}. Ayrıca sitokinlerden interlökin 5 (IL-5) ve interlökin 12 (IL-12)'nin azalmasının enfeksiyonun şiddetlenmesine neden olduğu bildirilmektedir¹⁷.

Cryptosporidium ile infekte kişilerin serumlarında IgG, IgM ve IgA antikorları bulunmuştur. Özellikle salgısal IgA'nın, enfeksiyonun iyileşmesinden sorumlu olduğunu ve yetmezliğinde hastalığın kronikleştiği bildirilmiştir. Yaşlı hayvanların gençlere oranla kriptosporidyozla dirençli olduğu bilinmekte ve bu durumun önceden geçirilen enfeksiyonun verdiği bağışıklıkla ilgili olduğu fakat yaşlanma sonucu bu direncinde gelişebildiği bildirilmektedir^{3,11}.

Sonuç olarak akut ve kronik kriptosporidyozda özellikle CD₄ lenfositlere bağımlı sistemik hücresel bağışıklığın önemli olduğu, humoral bağışıklığın ise kriptosporidyozdan korunmada rol oynadığı bildirilmektedir¹.

2.9. Tanı

2.9.1. *E. histolytica*'da Tanı

Klinik olarak tanı koymak zordur. *E. histolytica*'nın oluşturduğu bağırsak ve bağırsak dışı amöbiyozun tanısının konması için, etkeni görerek yapılan direkt (etkense) tanı ve bu parazite karşı oluşmuş antikorların saptanması için uygulanan indirekt tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Ayrıca moleküler tanı yöntemleri de kullanılmaktadır¹⁻⁴.

2.9.1.1. Direkt (Etkensel) Tanı

Entamoeba histolytica'da direkt tanı için dışkının incelenmesi gerekmektedir. Dışkının mikroskopik muayenesinin dışında makroskopik görünümünde önemli olduğu görülmektedir. Dışkının görünüşü, kokusu, kıvamı, kan ve mukus ihtiva edip etmediği, günde kaç kez dışkılama yapıldığı hastalığın tanısında önemlidir. Mikroskopik olarak dışkı muayenesinde ise taze dışkının en az üç kez ve en geç 30 dakika içerisinde incelenmesi, 3-5 gün ara ile bakının tekrarlanması, dışkının kanlı mukuslu yerinden inceleme materyali alınması, mikroskop altında incelerken hareketli *E. histolytica* trofozoitlerinin görülmesi ve bu trofozoitlerinin içinde eritrositlerin bulunmuş olması, trofozoit dışında bulunan eritrositlerin ise birbirine yapışarak diziler halinde bulunmaları (Anderson olayı) ve Charcot-Leyden kristallerinin parazitinin sitoplazması içinde görülmesi, mikroskopik tanıya yardımcı olmaktadır^{1,2,4,13,17,21,49}. Eğer parazitini tanımlama direkt preparatta yapıldıysa sonrasında kalıcı boyalı preparatlar hazırlanmalıdır³.

Taze dışkıda *E.histolytica* tanısını koyabilmek için kullanılan dışkı muayene yöntemleri olarak; nativ-lügol yöntemi, Ritchie'nin formaldehit eter yöntemi, Otto'nun çinko sülfat ile yüzdürme yöntemi kullanılmaktadır. Boyama yöntemleri olarak da; Lawles, Heidenhain'in demirli hemotoksilen, İyot, Eosin, klasik Trichrome, Celestine Blue B ve Celestine Blue B-Trikrom boyama yöntemleri kullanılmaktadır^{1,13}.

Bağırsak ve bağırsak dışı amöbiyozun tanısında gerek dışkı, gerekse biyopsi ve aspirasyon materyalleri Robinson, Diamond, Dobell, Boeck ve Drbohlav, Cleveland ve Coller, Jones, Balamuth ve TY-S 33, TYSGM-9 gibi besiyerlerine ekilerek veya deney hayvanlarına inoküle edilerek de tanıya gidilmektedir¹.

E.histolytica'nın morfolojik olarak özellikle *E.dispar* gibi diğer amip türlerinden ayırımı zordur. Morfolojik olarak ayırt edilemediklerinden, trofozoitler içinde fagosite edilmiş eritrosit görülmedikçe, mikroskopik inceleme tanı için yeterli değildir¹⁸. Ayrıca son yıllarda *E.dispar*'lı bazı olgularda mikroskopik bakıda eritrosit içeren amiplerin de olması (%16 sıklıkla), mikroskopinin tek başına güvenilir bir yöntem olmadığını (duyarlılığın düşük olduğunu) göstermektedir^{13,49,51}. *E.dispar*'ın dışkı örneklerinde daha sık görülmesi ve tedavi gerektirmemesi nedeniyle iki amip türünün kolayca ayırımını sağlayacak serolojik testlere ve izoenzim araştırmalarına gerek görülmektedir. Son yıllarda *E.histolytica* invaziv patolojik histolytica olarak; *E.dispar*'da noninvaziv nonpatojenik histolytica olarak isimlendirilmektedir. Bu iki amibin ayırımını tam yapılamıyorsa ve amöbiyoz etkeni olarak *E.histolytica* tanısı konulduğunda, eğer hastada klinik belirtiler bulunmuyorsa, bu hastanın *E.dispar* ile infekte olduğu düşünülmelidir¹.

2.9.1.2. İndirekt Tanı

Direkt bakı ile tanısı konulamayan örneklerin tanısının konulmasında serolojik ve moleküler yöntemler olarak çeşitli indirekt yöntemler kullanılır. Kan serumu, plevra sıvısı, BOS, periton sıvısı ve dışkı gibi şüpheli materyalde parazit antijenlerine karşı oluşmuş olan antikorların veya parazit antijenlerinin saptanması amaçlanmaktadır. Duyarlı serolojik yöntemler arasında İndirekt Hemaglutinasyon (IHA), İndirekt Floresan Antikor (IFA), Enzim Immunassay (ELISA), Agar Difüzyon, Bentonit Flokülasyon, Latex Aglutinasyon, Kompleman birleşmesi, Counter İmmüno-elektroforez gibi tanı yöntemleri vardır¹.

2.9.1.2.1. Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Yöntemi

ELISA, serolojik tanı yöntemi olarak 1980'den sonra kullanılmaya başlanan, bir hemaglutinasyon plağı çukuru içinde oluşturulan antijen-antikor kompleksi üzerine, enzim ile işaretli anti insan IgG, IgM ve diğer antikorların konması ve substratın eklenmesiyle pozitif olgularda renk oluşmasının gözlenmesi esasına dayanan, parazit hastalıklarının tanısında güvenilir ve duyarlı bir yöntemdir. Bu yöntemin yalancı pozitif sonuçlar vermesi dışında duyarlılığı ve özgüllüğü %90'ın üzerindedir^{1,11,13}.

2.9.1.2.2. İndirekt Floresan Antikor (IFA) Yöntemi

1960 yıllarından beri parazit hastalıklarının tanısında kullanılan bu yöntem genellikle bilinen antijenlerle, bu antijenlere karşı oluşan özgül antikorlar araştırılmaktadır. Bu antikorların araştırılmasında keçi veya tavşandan elde edilen insan antikorlarına karşı oluşturulan anti-antikorlar kullanılmaktadır. Bunlar floresan işaretli insan anti IgG, anti IgA, anti IgM ve anti IgD şeklinde piyasada bulunmaktadır¹.

2.9.1.2.3. İndirekt Hemaglutinasyon (IHA) Yöntemi

Bu yöntem, koyun veya '0' grubu insan eritrositlerinin yüzeyine bir kimyasal madde ile kaplanan bilinen antijen molekülleri ile, şüpheli serumlarda bilinmeyen antikorları arama esasına dayanır. Pozitif olgularda eritrosit yüzeyine kaplanan antijen ile antikor karşılaştığında, eritrositler birbirine yapışarak ortamda granüllü bir görünüm (hemaglutinasyon) oluştururlar¹.

Son yıllarda kullanılan moleküler tanı yöntemlerinden birisi olan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi *E.histolytica*'nın tanımlanmasında çok daha duyarlı sonuçlar vermektedir¹.

2.9.2. *G. lamblia*'da Tanı

Giyardiyozun kesin tanısı dışkıda kistlerin veya trofozoitlerin, duodenum sıvısında trofozoitlerin bulunması ile konur. *G. lamblia* trofozoitleri emici diskleri ile bağırsak mukozasına çok sıkı tutundukları için arka arkaya dışkı incelemelerinde bile parazite rastlanmada güçlüklerle karşılaşmaktadır. Semptomatik kişilerde ilk incelemede saptanabildiği halde, asemptomatik kişilerde şüphe edildiği takdirde üç kez seri dışkı incelemesi tavsiye edilmektedir. Tanıda direkt ve indirekt yöntemler kullanılmaktadır^{2,3,8,17,20}.

2.9.2.1. Direkt Tanı

G. lamblia'nın kesin tanısı için dışkıda kistler bazen de trofozoitler görülmesiyle konur. Trofozoitler sulu dışkılarda, dışkının özellikle mukuslu kısmından hazırlanmış preperatta hareketli olarak, kistler ise katı, yarı katı veya sulu dışkılarda daha çok görülebilir. Makroskobik olarak dışkı örneği yumuşak, pis kokulu, camcı macunu görünümünde veya tamamen normal kıvamdadır. Mikroskobik olarak, ilk yarım saat içinde serum fizyolojik ya da nativ-lügol ile hazırlanan preperatlarda trofozoit veya kistlerin görülmesi tanı koydurucudur. Hastanın kliniğinden şüpheleniliyorsa ve nativ-lügol yöntemi ile tanı koyulamıyorsa, Ritchie'nin formalin-eter sedimentasyon yöntemi veya çinko sülfat ile yüzdürme yöntemi kullanılarak tanı koyma şansı artırılabilir. Tanı konulan durumlarda kalıcı preperatlar hazırlamak için ise çeşitli boyama yöntemlerinden yararlanılır. Bunlar; Giemsa, Trichrome ve Heidenhain'in demir Hematoxylene'dir^{1,8,10}.

Ayrıca dışkı örneklerinin sonuç vermediği fakat hala giyardiyoz şüpheli olan durumlarda duodenum materyali incelenmelidir. Bunun için de hastaya ya duodenal tubaj uygulanır veya biyopsi yapılır ya da Entero-Test (String Test) kullanılır^{2,13,18}.

2.9.2.2. İndirekt Tanı

Giyardiyoz tanısında IFA, ELISA, Western Blot gibi serolojik ve immunolojik yöntemler kullanılmaktadır. *Giardia* için spesifik DNA proplarının geliştirilmesiyle DNA bazlı moleküler tanı yöntemleriyle dışkı tetkiklerinde yapılması mümkündür. Fakat bu yöntemler rutin incelemeler için pratik değildir^{1,20,22}.

2.9.3. *Cryptosporidium*'da Tanı

Cryptosporidium infeksiyonlarına tanı koymak amacı ile dışkı, balgam, duodenum sıvısı, safra örnekleri ve bağırsak biyopsisinde *Cryptosporidium* ookistleri

araştırılır. Dışkı taze olarak incelenebildiği gibi, % 10 formol veya sodyum asetat-asetik-asit formol (SAF) ile tespit edildikten sonra da incelenebilmektedir. Tespit sonrası inceleme, laboratuvarında enfeksiyonu riskini azaltması nedeni ile tercih edilmektedir. Ookistlerin çoklaştırılması amacı ile yüzdürme ve çöktürme yöntemleri kullanılmaktadır. Yüzdürmede Sheather'in şeker solüsyonu, çinko sülfat veya doymuş tuzlu su, çöktürmede ise formol-eter veya formol-etil asetat kullanılmaktadır^{1,11,22,28}.

2.9.3.1. Direkt Tanı

Laboratuvarlarda kriptosporidiyoz direkt tanısında en çok boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Boyamalardan en fazla modifiye asit-fast yöntemi kullanılmakta ve bu boya ile ookistler kırmızı boyanmaktadır. En fazla kullanılan diğer bir boyama yöntemi floresan boyamadır. Bunların haricinde lugol ve giemsa boyama da kullanılmaktadır^{1,2,11,13,17}.

2.9.3.2. İndirekt Tanı

İndirekt tanıda serolojik ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Serolojik yöntemlerden; Doğrudan İmmunfloresans Tekniği (DFA), Hızlı İmmunokromatografik yöntemler, ELISA, IHA ve LATEX gibi immunolojik temele dayalı yöntemler, moleküler tanı yöntemlerinden ise PZR yöntemleri *Cryptosporidium* tanısında kullanılmaktadır^{1,22,28}.

2.10. Tedavi

2.10.1. *E. histolytica* Tedavisi

Amobiyozun etkin bir şekilde tedavi edilmesi; hem semptomatik hastaların iyileştirilmesi, hem de bulaştırıcılığın önlenmesi açısından gereklidir. Bu nedenle enfeksiyonun kliniğine ve yerleşim yerine göre etkili ilaçların veya ilaç kombinasyonlarının seçilmesi önemlidir. Amobiyoz tedavisinde kullanılan tüm ilaçlar *E. histolytica* trofozoitlerine karşı etkili iken, bu ilaçların çoğu parazitin kist evresine etkili değildir. Tedavide etkili ilaçlar etkilerine göre üçe ayrılırlar³⁹.

2.10.1.1. Dokudaki Amiplere Etkili İlaçlar

5-nitroimidazoller (metronidazol, tinidazol, ornidazol), Emetin, Dehidroemetin, Klorokin

2.10.1.2. Bağırsak Lümenindeki Amiplere Etkili İlaçlar

Dikloroasetamidler (diloksanid furoat, klefamid, teklozan, etofamid), Halojenli hidroksikinolinler (iyodokinol, kliokinol), antibiyotikler (tetrasiklin, paramomisin, eritromisin)

2.10.1.3. Hem Doku Hem de Bağırsak Lümenindeki Amiplere Etkili İlaçlar

5-nitroimidazoller (metronidazol, tinidazol, ornidazol)^{1,2,10,39,}

Aseptomatik olgularda metronidazol ve diğer nitroimidazoller önerilmemektedir. Sağlık Bakanlığı intestinal amobiyoz tedavisinde metronidazol ve ornidazolü önermiştir³⁹.

Ayrıca ilaç tedavisi dışında hastalara bol sıvı verilmeli ve istirahat önerilmelidir. Tedavi edilen hastalar tedavileri bittikten sonra klinik ve laboratuvar olarak takip edilmelidir^{4,15}.

2.10.2. *G. lamblia* Tedavisi

Günümüzde giyardiyoza tedavisinde çok yönlü araştırmalar yürütülmektedir. Ancak, *G. lamblia*'nın üretilmesi ve izolasyonunda ki zorluklar nedeniyle in vivo ilaç etkinlikleri daha çok klinik gözlemler şeklinde değerlendirilmektedir³⁹.

Semptomatik tedavide, çocuklarda demir eksikliği anemisi varsa demirli preparatlar, B vitamini eksikliği varsa B vitamini kompleksleri, folik asit eksikliği varsa folik asit ve proteinden zengin diyet verilmeli, sıvı kaybı karşılanmalıdır. Sadece proteinden zengin diyetlerde dışkıda kistlerin kaybolduğu bildirilmektedir^{1,40}.

Tedavide *G. lamblia*'ya karşı etkinliği kanıtlanmış ve tedavisinde kullanılan birçok ilaç bulunmaktadır. Bunlardan nitroimidazol türevlerinden, Metronidazol, secnidazole, ornidazol, tinidazol; Akridin boyalarından, mepakrin, kinakrin; Nitrofuran grubundan, Furazolidon'dur. Bunlar arasından en çok tercih edilen ilaç metronidazoldur^{13,18,20,39}. Diğer nitroimidazol türevlerinden olan tinidazol, ornidazol ve secnidazol yarılanma ömürlerinin daha uzun olması nedeniyle tek doz şeklinde etkili olmaktadır³⁹.

2.10.3. *Cryptosporidium* sp. Tedavisi

Bu parazite karşı henüz etkili bir tedavi bulunmadığı için hastalardaki infeksiyon kronikleşerek hayatı tehdit edebilmektedir^{3,48}.

2.10.3.1. İmmun Sistemi Sağlam Kişilerde Tedavi

Bu kişilerde dehidratasyon tablosu durumunda sıvı ve elektrolit kaybını karşılamak üzere oral veya IV tedavi uygulanır. Bu grup olguların çoğunda başka bir tedaviye ihtiyaç yoktur⁴⁸.

2.10.3.2. İmmun Sistemi Baskılanmış Kişilerde Tedavi

Bu hastalarda daha fazla sıvı, elektrolit, karbonhidrat ve amino asit replasmasının yanı sıra ilaç tedavisi de başlanmalıdır. Kanseri, transplantasyon tedavileri gibi immunsuprese ilaç uygulanan hastalarda bu tedavilere ara verilmelidir. Özellikle AIDS'li hastalarda CD₄ hücre sayısını arttırmak için tedaviden önce antiretroviral tedaviler uygulanmalıdır^{11,48}.

İmmun sistemi baskılanmış kişilerde tedavi için kullanılacak ilaçlar;

İmmun sistemi düzenleyiciler (IL 2, bovin transfer faktör, hiperimmün, kolostrum), antimikrobikler (paramomisin, spiramisin, nitazoksanid, roksitromisin, letrazuril, azitromisin, lasalosid, maduramisin, aprinosid) ve antidiyaretikler (morfin sülfat, somostatin analogları, difenoksilat) tedavi amaçlı kullanılabilir^{11,48}.

2.11. Korunma

Bütün paraziter hastalıklarda olduğu gibi bu parazitlerde büyük halk sağlığı sorunu oluşturduğu ve ekonomik kayıplara da neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle tedavinin uzun sürmesi, maliyetinin fazla olması gibi sebeplerden dolayı hastalıktan korunmaya önem verilmesi gerekmektedir. *E.histolytica*, *G.lambliia* ve *Cryptosporidium* sp.'nin bulaşımı kist ve ookist şekilleriyle bulaşmış yiyecek ve içeceklerle ağız yolundan olduğu için korunmada özellikle şunlara dikkat edilmelidir:

- İnsan ve hayvan dışkıyla infekte kist ve ookistlerin çevreye yayılması engellenmelidir.

- Kişisel hijyen önlemleri alınmalıdır.

-Yemekler iyi pişirilmeli, çiğ yenen besinler çok iyi yıkanmalıdır.

- Sağlıklı içme ve kullanma suları temin edilmelidir.

- Kanalizasyon ve fosseptik sistemler denetlenmeli, içme sularına karışması engellenmelidir.

- Hastalar tedavi edilmelidir.

- Toplu yaşanan (okul, kreş, cezaevi, hastane, huzurevi, kışla vb.) yerlerde gıda ve içme suyu işi ile uğraşan personeller periyodik olarak muayene edilmelidir.

- İnsan dışkıısının gübre olarak kullanılması önlenmelidir.

- Karasinek ve hamamböcekleriyle mücadele edilmelidir.

- Riskli cinsel ilişkiden kaçınılmalı veya önlem alınmalıdır.

- Parazit ve yaptığı hastalık, bulaşma yolları hakkında halk bilgilendirilmeli ve eğitilmelidir. Bu konuda yapılacak eğitim programları broşur, film ve video gösterileri ile desteklenmelidir^{1,4,8,10,11,13}.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

1. Dışkı örnekleri: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarında çeşitli kliniklerden rutin tetkik amacıyla gönderilen, ishalli, kanlı ve/veya mukuslu, yağlı dışkılama öyküsü bulunan toplam 94 şüpheli dışkı örneği toplandı.

2. Kimyasal maddeler:

- Sülfürik asit
- Metil Alkol
- İyot-alkol
- %70'lik alkol
- %90'lık alkol
- %95'lik alkol
- Asit-alkol
- Karbon-ksilen Solüsyonu
- Schaudinn Fiksativi
- Mayer albumini
- Ksilen

3. Boyalar:

- Karbol fuksin
- Metilen mavisi
- Lugol
- Trikrom

4. ELISA Test Kitleri

5. Triage Parazit Panel

6. Cihazlar:

- ELISA Yıkayıcı
- ELISA Okuyucu
- Santrifüj
- Vorteks
- Süre ölçer

7. Diğerleri:

- Plastik kapaklı dışkı kapları, ependorf tüpleri
- Entellan
- Lam, lamel, bağıt

3.2. Örneklerin Toplanması

Mayıs 2010-Nisan 2011 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarında rutin tetkik amacıyla gönderilen toplam 94 şüpheli ve özellikli (kanlı ve/veya mukuslu, yağlı, ishalli) dışkı örnekleri 30 dakika içerisinde serum fizyolojik ve lugol (nativ-lugol) ile preparatlar hazırlanarak incelendi. Daha sonra boyama için preparatlar hazırlandı ve kalan dışkı örnekleri ELISA ve Triage çalışılması için ependorf tüplerine alınarak, -20°C'de saklanarak derin dondurucuya kaldırıldı.

3.3. Yöntemler

Çalışmada, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına rutin tetkik amacıyla gönderilen toplam 94 şüpheli dışkı örneği kullanıldı. Dışkı örnekleri alındıktan sonra bekletilmeden her örnek;

1. Makroskobik olarak, (renk, koku, kıvam, kan, mukus)
2. Serum fizyolojik ve lugol kullanılarak, lam lamel arası preparat yapılarak parazitolojik yönden, incelendi.
3. Yayma preparat hazırlanarak havada kurutuldu, metil alkolle tespit edildi ve modifiye asit-fast boyası ile boyandı.
4. Trikom boya yapmak için Schaudinn fiksativi ile homojen karışım yapılan dışkı örneklerinden yayma yapılarak kurutuldu ve boyandı.

3.3.1. Parazitolojik İnceleme Yöntemi

Plastik kaplardaki taze dışkı örnekleri ilk olarak makroskobik olarak (renk, koku, kıvam, kan, mukus), daha sonra serum fizyolojik ve lugolle (nativ-lugol) lam lamel arası preperat hazırlanarak bağırsak parazitleri yönünden incelendi. Aynı zamanda her bir örnek yayma preperat yapılarak kurutuldu ve metil alkolle tespit edilerek modifiye asit-fast yöntemi ile boyanarak *Cryptosporidium* sp. açısından incelendi. *E.histolytica/dispar* ve *G.lambliia* açısından incelenecek olan dışkı örnekleri de Schaudinn fiksatifine içine alınarak homojen bir karışım elde edildi. Bu karışımdan ve hazırlanan mayer albumininden eşit miktarlarda alınarak yapılan yayma preperatlar kurutuldu ve Trikrom boya yöntemiyle boyandı.

3.3.2. Modifiye Asit-Fast Boyama Yöntemi

3.3.2.1. Gerekli Eriyikler:

1. Kinyoun'un Karbol fuksin eriyiği:

- Bazik fuksin 4 gr
- Fenol (kristalize) 8 gr
- Alkol (%95) 20 ml
- Damıtık su 100 ml

2. Asit Alkol eriyiği:

- Sülfürik asit 1 ml
- Etil alkol 99 ml

3. Malaşit Yeşili:

- Malaşit yeşili 4 gr
- Alkol 50 ml

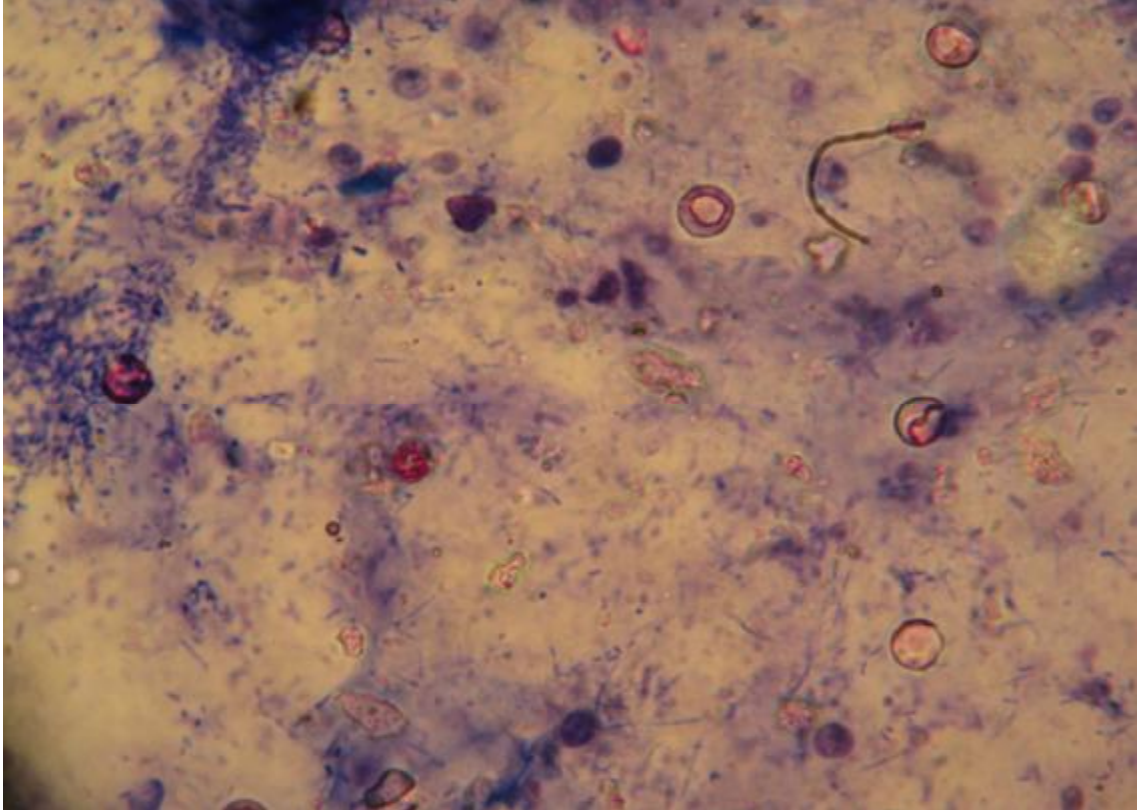
4. Metilen Mavisi:

- Metilen mavisi 0.3 gr
- Damıtık su 100 ml

3.3.2.2.Boyama Yöntemi

- § Dışkı örneklerinden yayma yapılan ve havada kurutulan preparatlar metil alkol ile 3 dakika tespit edildi.
- § Preparatların üzeri kaplanacak şekilde Kinyoun'un Karbol fuksin eriğiyle 8-10 dakika ısıtılmaksızın boyandı ve çeşme suyu altında 2-3 saniye yıkandı.
- § %1'lik sülfürik asit ile deklöre edildi ve tekrar çeşme suyuyla yıkandı.
- § Metilen mavisi ile yaklaşık 1 dakika boyandı.
- § Çeşme suyuyla yıkanarak havada kurutuldu.
- § Mikroskopta $\times 40$ ve $\times 100$ büyütme objektiflerinde incelendi.

Mavi zemin üzerinde pembe-kırmızı renkte ya da boya almamış *Cryptosporidium* sp. ookistleri görüldü. (Şekil 1)



Şekil 1. *Cryptosporidium* sp. ookistlerinin modifiye asit-fast boyamada ki görünümü

3.3.3. Trikrom Boyama Yöntemi

Schaudinn tespit sıvısına alınan şüpheli dışkı örneklerindeki parazitlerin kist ve/veya trofozoit şekillerinin iç yapılarını, özellikle çekirdek ince yapısını daha iyi görünür duruma getirmek ve sonuçların kalıcılığını sağlamak amacıyla yapılır.

3.3.3.1. Gerekli Eriyikler

1. Trikrom Boya:

- Distile su 100 ml
- Glasiyal asetik asit 1 ml
- Phosphotungstic asit 0.7 gr
- Chromotrope 2R 0.4 gr
- Light gren SF 0.3 gr
- Bismarc brown 0.1 gr

2. Schaudinn Fiksatif

- Sulu Merkurik klorür 45 gr
- Etil alkol (%95) 310 ml
- Glasiyal asetik asit 50 ml
- Gliserol 15 ml
- Distile su 625 ml

3. Asit-alkol

- %95 Etil alkol 600 ml
- Glasiyal asetik asit 4 ml
- Damıtık su 350 ml

4. İyot-alkol

- %70 etil alkol 40 ml
- İyot kristalleri 2-3 gr

5. Karbol-Ksilen Solüsyonu

□ Sıvı fenol 200 ml

□ Ksilen 600 ml

6. %70'lik Alkol

□ %95 Etil alkol 726 ml

□ Damıtık su 274 ml

7. %90'lık Etil Alkol

□ %95'lik Etil alkol 945 ml

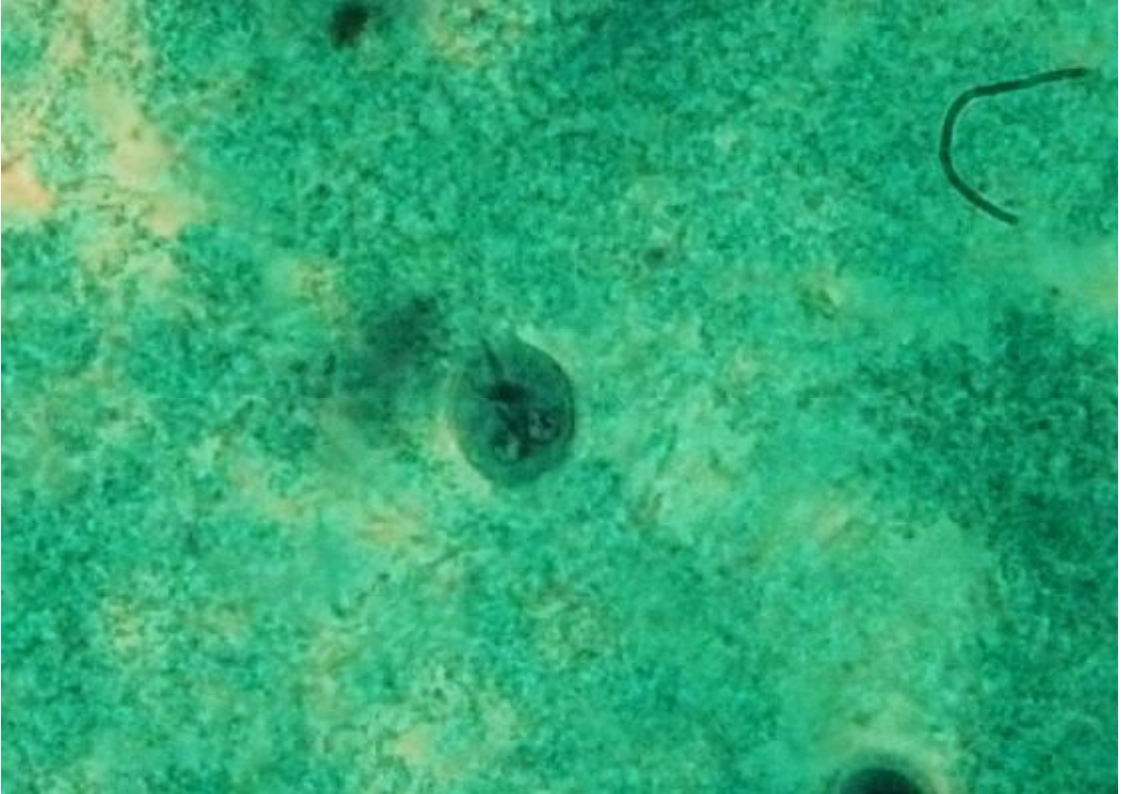
□ Damıtık su 55 ml

3.3.3.2. Boyama Yöntemi

- Santrifüj tüpüne alınan 3-5 ml Schaudinn fiksatifine 1 gr kadar dışkı örneğinden kondu, karıştırılarak homojen hale getirildi ve 1 saat bekletildi.
- 1 saat sonunda solüsyon gazlı bezden süzüldü.
- Süzülen solüsyon 5 dakika 1500 rpm. de santrifüj edildi ve üst kısım atıldı.
- Sediment kısımdan bir damla lama aktarıldı ve üzerine hazırlanan Mayer albumininden (Bir yumurta akı+ 2-3 ml gliserin karıştırılarak gazlı bezden süzüldü) aynı miktarda konularak karışım beyaz bir renk alana kadar dairesel hareketlerle lama yayıldı ve kurumaya bırakıldı.
- Kuruma işleminden sonra preperat iyot-alkol solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
 - %70'lik etil alkole 10 defa daldırılıp çıkarıldı.
 - Trikrom boya solüsyonunda 15 dakika bekletildi.
 - Daha sonra asit-alkol solüsyonuna 10 defa,
 - %90'lık etil alkole 10 defa,
 - %95'lik etil alkole 10 defa daldırılıp çıkarıldı.
 - Karbon-ksilen solüsyonunda 5 dakika,
 - Ksilen solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
 - Lamın üzeri ıslakken lamel konularak entellanla kapatıldı.
 - Mikroskopta $\times 40$ ve $\times 100$ büyütmeli objektiflerde incelendi.



Şekil 2 . *Entamoeba histolytica* trofozoitinin Trikröm boya ile görünümü



Şekil 3. *Giardia lamblia* trofozoitinin Trikröm boya ile görünümü

3.3.4. ELISA Testleri

Dışkı örneklerinde *E. histolytica* antijenlerini belirlemede Cellabs'ın Entamoeba CELISA kiti (Şekil 4), *G. lamblia* antijenlerini belirlemede Generic Assays ELISA kiti (Şekil 5), *Cryptosporidium* sp. antijenlerini belirlemede Wampole ELISA kiti (Şekil 6), kitlerin prosedürlerine göre uygulandı.

3.3.4.1. *E.histolytica* ELISA Yöntemi



Şekil 4. *Entamoeba histolytica* ELISA Kiti

3.3.4.1.1. Örneklerin Hazırlanması

-20°C' de saklanan dışkı örnekleri oda ısısına getirildi. Her bir hasta için numarandırılıp hazırlanan ependorf tüplerine 400 µl sulandırma solüsyonu konuldu. Daha sonra her bir örnekten (dışkı katı ise 0,15-0.20 g, sıvı ise 400 µl kadar) yeterli miktarda sulandırma solüsyonu üzerine konarak vortekslendi ve 10 dakika bekletilerek üstte kalan sıvı kısım test için kullanıldı.

3.3.4.1.2. Yıkama solüsyonu Hazırlanması

50 ml konsantre yıkama solüsyonu 950 ml distile su ile sulandırılarak ELISA yıkayıcı şişesine konuldu.

3.3.4.1.3. Yöntemi

1. Test için 96 kuyucuk hazırlandı ve plağa yerleştirildi.
2. Birinci kuyucuğa negatif kontrolden 100 µl, ikinci kuyucuğa pozitif kontrolden 50 µl eklendi.
3. Kalan her test kuyucuğuna hazırlanan örneklerden 200 µl eklendi.
4. Bütün kuyucuklara 1'er damla (50 µl) enzim konjugattan eklendi ve 2 saat oda sıcaklığında üzeri kapalı olarak inkübasyona bırakıldı.
5. 2 saat sonunda yıkama işlemi (3 defa bütün kuyucukların tamamen doldurulup boşaltılmasıyla) yapıldı.
6. Her bir kuyucuğa 2'şer damla (100 µl) substrat damlatıldı ve 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. Inkübasyon süresinden sonra her bir kuyucuğa 1'er damla (50 µl) durdurma solüsyonu eklendi.
8. Havaya karşı 450 nm' de ELISA okuyucusunda okutuldu.

3.3.4.2. *G. lamblia* ELISA Yöntemi

3.3.4.2.1. Örneklerin Hazırlanması

-20°C' de saklanan dışkı örnekleri oda ısısına getirildi. Her bir hasta için numarandırılıp hazırlanan ependorf tüplerine 1 ml sulandırma solüsyonu konuldu. Daha sonra her bir örnekten (100 mg kadar) yeterli miktarda sulandırma solüsyonu üzerine konarak vortekslendi ve üstte kalan sıvı kısım test için kullanıldı.



Şekil 5. *Giardia lamblia* ELISA kiti

3.3.4.2.2. Yıkama Solüsyonunun Hazırlanması

100 ml konsantre yıkama solüsyonu 900 ml distile su ile sulandırılarak ELISA yıkayıcı şişesine konuldu.

3.3.4.2.3. Yöntemi

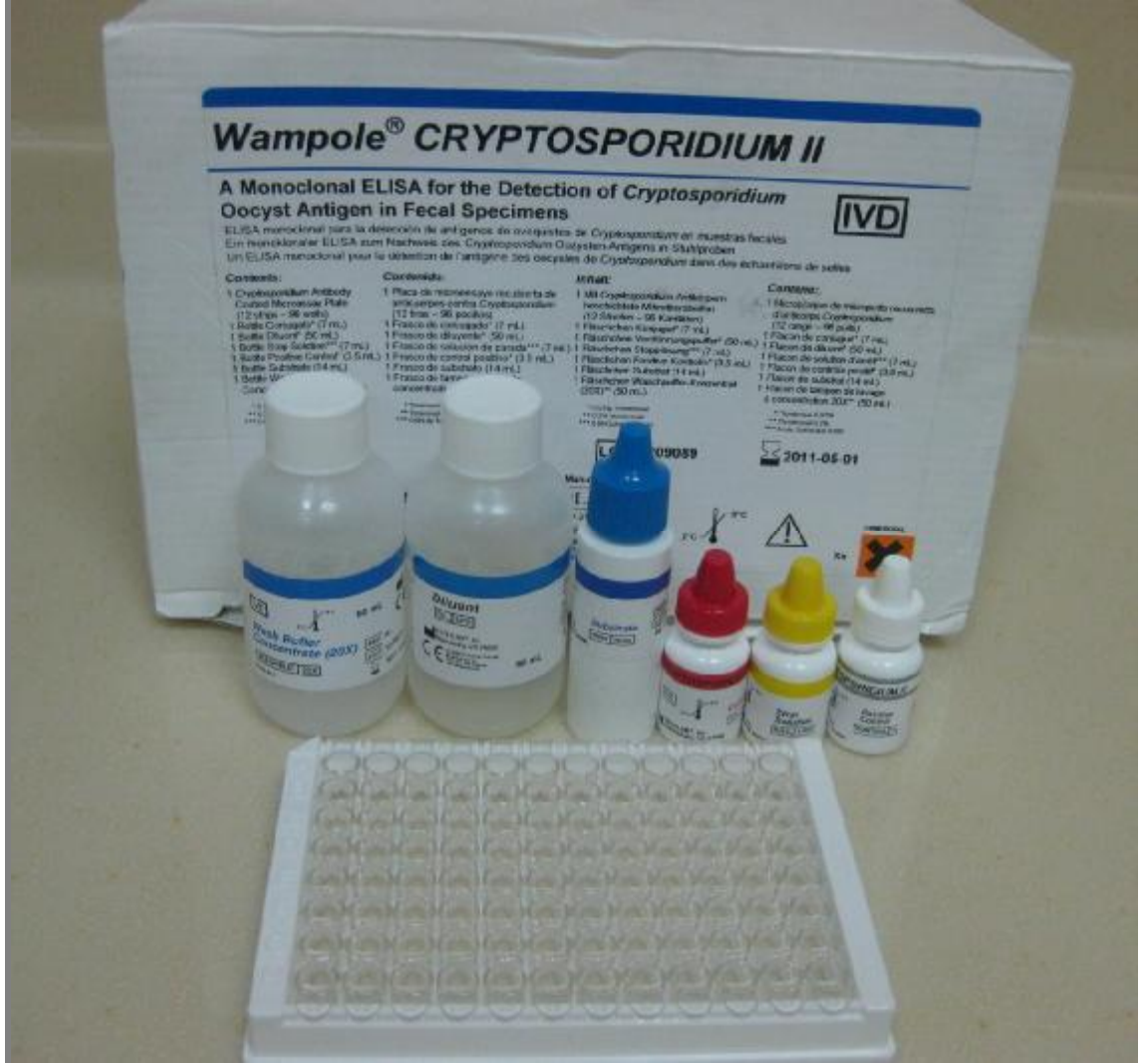
1. Test için 96 kuyucuk hazırlandı ve plağa yerleştirildi.
2. Birinci kuyucuğa negatif kontrolden 2 damla (100 µl), ikinci kuyucuğa pozitif kontrolden 2 damla (100 µl) eklendi.
3. Kalan her test kuyucuğuna hazırlanan örneklerden 100 µl eklendi.

4. Plak kapatıldı ve 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyondan sonra yıkama işlemi (5 defa bütün kuyucukların tamamen doldurulup boşaltılmasıyla) yapıldı.
6. Bütün kuyucuklara 2'şer damla (100 µl) enzim konjugattan eklendi ve 30 dakika oda sıcaklığında üzeri kapalı olarak inkübasyona bırakıldı.
7. İnkübasyondan sonra tekrar yıkama işlemi (5 defa bütün kuyucukların tamamen doldurulup boşaltılmasıyla) yapıldı.
8. Her bir kuyucuğa 2'şer damla (100 µl) substrat damlatıldı ve 10 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
9. Daha sonra her bir kuyucuğa 2'şer damla (100 µl) durdurma solüsyonu eklendi.
10. Havaya karşı 450 nm' de ELISA okuyucusunda okutuldu.

3.3.4.3. *Cryptosporidium* ELISA Yöntemi

3.3.4.3.1. Örneklerin Hazırlanması

-20°C' de saklanan dışkı örnekleri oda ısısına getirildi. Her bir hasta için numarandırılıp hazırlanan ependorf tüplerine 400 µl sulandırma solüsyonu konuldu. Daha sonra her bir örnekten (dışkı katı ise 0,1 g, sıvı ise 100 µl kadar) yeterli miktarda sulandırma solüsyonu üzerine konarak vortekslendi ve üstte kalan sıvı kısım test için kullanıldı.



Şekil 6. *Cryptosporidium* ELISA kiti

3.3.4.3.2. Yıkama solüsyonunun Hazırlanması

50 ml konsantre yıkama solüsyonu 950 ml distile su ile sulandırılarak ELISA yıkayıcı şişesine konuldu.

3.3.4.3.3. Yöntemi

1. Test için 96 kuyucuk hazırlandı ve plağa yerleştirildi.
2. Birinci kuyucuğa negatif kontrolden 2 damla (100 µl), ikinci kuyucuğa pozitif kontrolden 1 damla (50 µl) eklendi.

3. Kalan her test kuyucuğuna 100 µl dilüsyon sıvısı ve üzerine 50 µl hazırlanan örneklerden eklenerek oda sıcaklığında 1 saat üzeri kapalı olarak inkübasyona bırakıldı.

4. . İnkübasyondan sonra yıkama işlemleri (5 defa bütün kuyucukların tamamen doldurulup boşaltılmasıyla) yapıldı.

5. Yıkama işleminden sonra her bir kuyucuğa 1 damla (50 µl) konjugat eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika üzeri kapalı olarak inkübasyona bırakıldı.

6. İnkübasyondan sonra tekrar yıkama işlemleri (5 defa bütün kuyucukların tamamen doldurulup boşaltılmasıyla) yapıldı.

7. Her bir kuyucuğa 2'şer damla (100 µl) substrat eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika üzeri kapalı olarak inkübasyona bırakıldı.

8. Daha sonra her bir kuyucuğa 1'er damla (50 µl) durdurma solüsyonu eklendi.

9. Havaya karşı 450 nm' de ELISA okuyucusunda okutuldu.

3.3.5. Triage Parazit Panel Testi

Örneklerin değerlendirilmesinde *E.histolytica*, *G. lamblia* ve *Cryptosporidium* sp. için spesifik antijenleri belirlemeye yönelik Biosite Triage micro parazit panel kullanıldı. (Şekil 7)



Şekil 7. Triage Micro Parazit Panel Kiti

3.3.5.1. Örneklerin Hazırlanması

-20°C' de saklanan dışkı örnekleri oda ısısına getirildi. Her bir hasta için numarandırılıp hazırlanan kit içerisindeki tüplere tüp üzerindeki doldurma hattına kadar (0.5 ml) sulandırma solüsyonu eklendi. Daha sonra her bir örnekten (dışkı katı ise kit içerisindeki örnek kaşığı dolusu, sıvı ise 500 µl kadar) yeterli miktarda sulandırma solüsyonu üzerine konarak vortekslendi. Örneğin seyreltilmesi ve karıştırılmasından sonra mavi kapaklı örnek tüpünün kapağı atıldı ve tüpün içerisine filtre cihazı yerleştirilerek renksiz kapakla kapatıldı. Tüpler santrifüj cihazına yerleştirilerek 5 dakika 1500-1800 g hızında santrifüj edildi.

3.3.5.2. Yöntemi

1. Test cihazları numaralandırılıp hazırlandı.
2. Santrifüj edilen örnekler içerisindeki filtre çıkarılmadan 500 µl alınarak test cihazının saptama bölgesinin ortasına pipet kullanılarak aktarıldı ve örneği tamamen emmesi beklenildi.

3. Kit içerisindeki pipet ve uçları kullanılarak 140 µl enzim konjugat eklendi ve 3 dakika inkübasyona bırakıldı.

4. İnkübasyon süresi sonunda 7 damla (280 µl) yıkama solüsyonu eklendi ve tamamen emmesi beklendi. Bu işlem 2 kez tekrarlandı.

5. Saptama bölgesinin ortasına 4 damla (160 µl) substrat eklendi ve 5 dakika inkübasyona bırakıldı.

6. Süre sonunda sonuçlar değerlendirildi.

4.BULGULAR

Çalışmada kullanılan toplam 94 dışkı örneğinin makroskobik inceleme sonucu 85'i ishalleri 9'u yumuşak kıvamlı idi. Ayrıca bu 94 örneğin 28'i kanlı mukuslu, 34'ü yağlı dışkı olarak saptandı. Direkt mikroskopi (nativ-lugol) ve trikrom boyama yöntemi ile, 4'ünde (%4.3) *E.histolytica/E.dispar* kisti ve/veya trofozoiti, 12'sinde (%12.8) *G.lambli*a kist ve/veya trofozoitleri görüldü. Modifiye asit-fast boyama yöntemi ile 5'inde (%5.3) *Cryptosporidium* sp.'ye ait ookistler görüldü. *E.histolytica/E.dispar* için pozitif saptanan 4 dışkı örneğinden 3'ü kanlı-mukuslu, *G.lambli*a için pozitif saptanan 12 dışkı örneğinden 9'u yağlı dışkı olarak saptandı. Ayrıca inceleme yapılan örneklerden 3'ünde *Blastocystis hominis* (*B.hominis*) görüldü. (Çizelge 1)

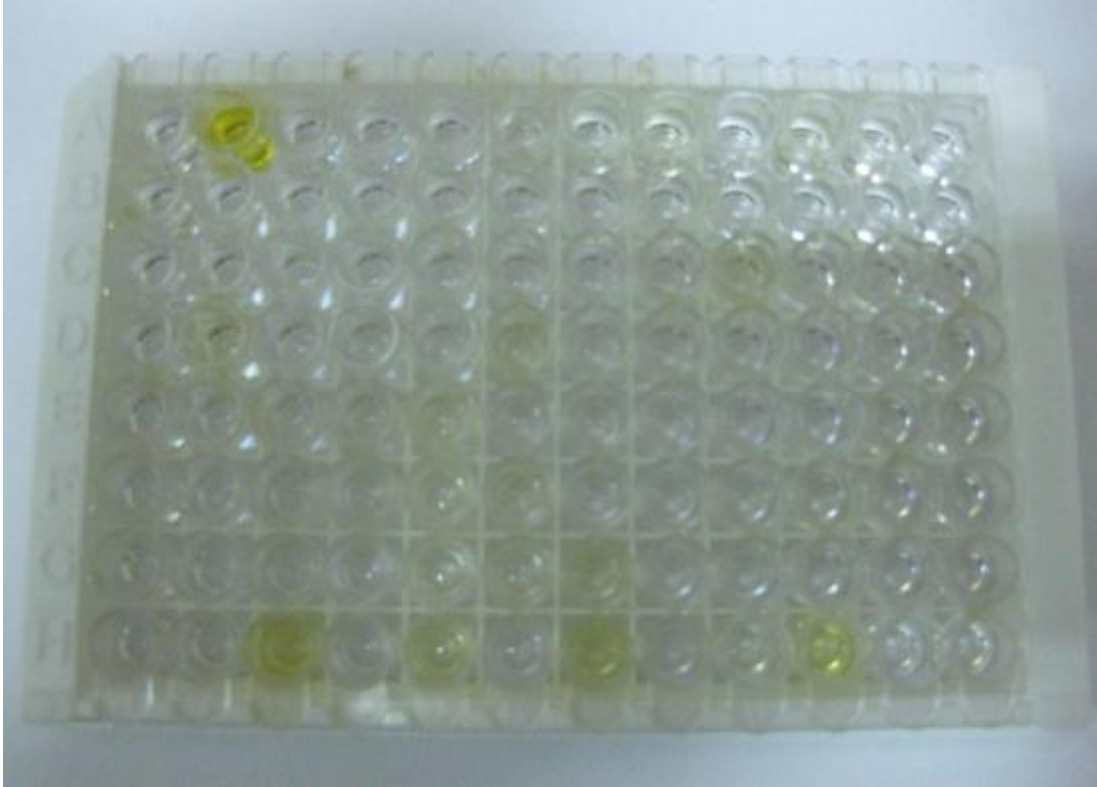
Çizelge 1. Direkt mikroskopi (nativ-lugol) ve/veya trikrom boyama ve Modifiye Asit-fast Yöntemleri ile Protozoonların Dağılımı

	Direkt mikroskopi (nativ-lugol) ve/veya trikrom boyama (+)	Asit-fast Boyama(+)
<i>E.histolytica/E.dispar</i>	4	□—
<i>G.lambli</i> a	12	—□
<i>Cryptosporidium</i> sp.	—□	5
<i>B.hominis</i>	3	□—

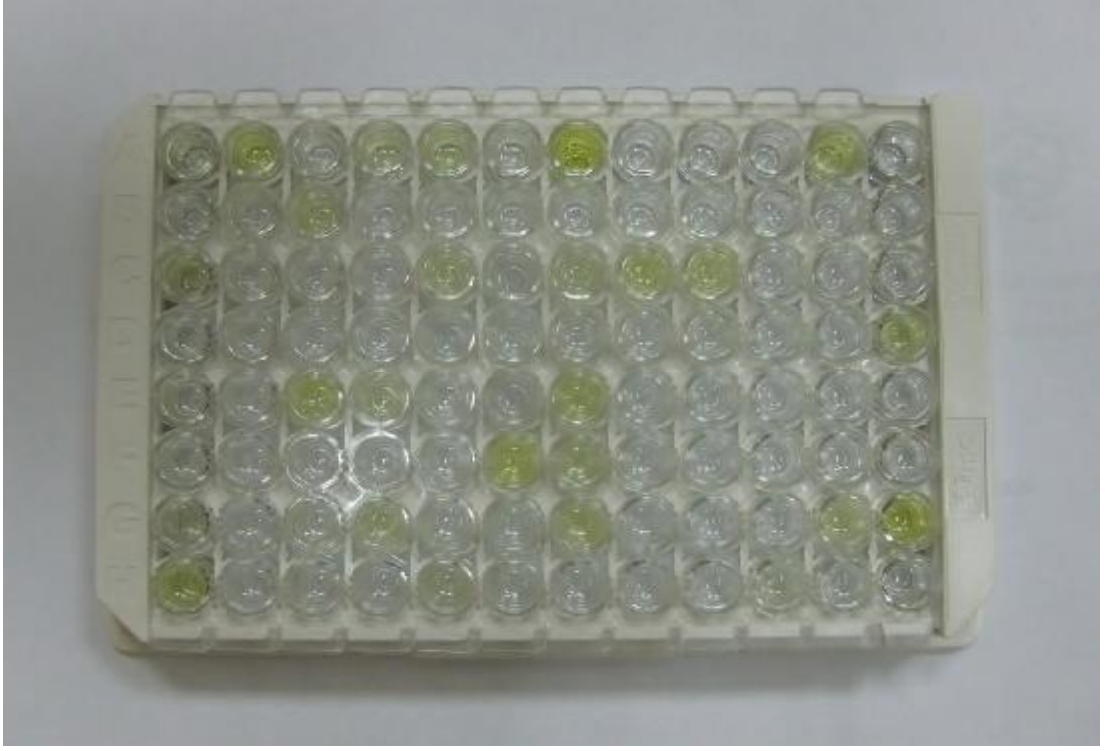
ELISA yöntemi ile toplam 94 ishalleri dışkı örneğinin 5'inde (%5.3) *E.histolytica*, 13'ünde (%13.8) *G.lambli*a, 10'unda (%10.6) *Cryptosporidium* sp. antijenleri tespit edildi. ELISA test kitlerinin prosedürlerine göre pozitif ve negatif kontrol kullanılarak uygulanan yöntem ile çalışılan örneklerin bulunduğu plaklar ELISA okuyucusunda havaya karşı 450 nm'de okutulduktan sonra elde edilen değerlerden *E.histolytica* için Cut off değeri 0.150 OD ve bunun üzeri pozitif, *G.lambli*a için Cut off değeri 0.80 OD ve bunun üzeri pozitif, *Cryptosporidium* sp. için Cut off değeri 0.150 OD ve bu değerlerin üstü pozitif olarak değerlendirildi. (Çizelge 2)

Çizelge 2. Direkt mikroskopi ve/veya Trikrom, Modifiye Asit-fast boyama ve ELISA Yöntemlerinin Dağılımı

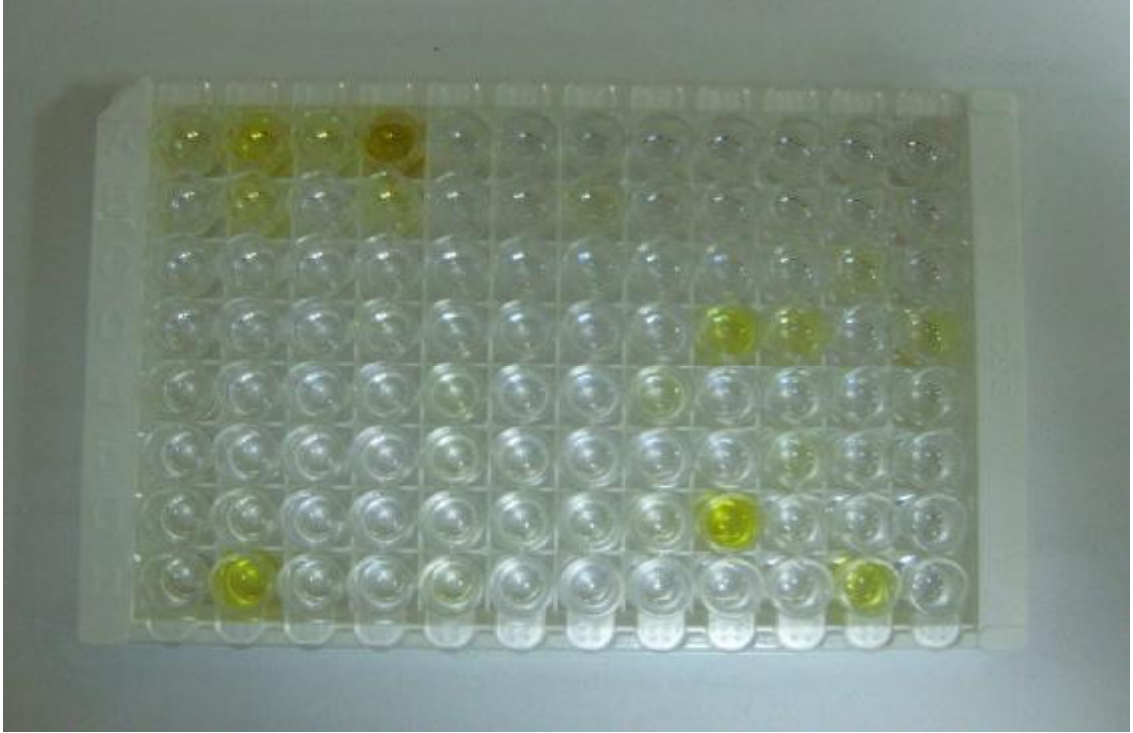
	Direkt mikroskopi + Asit-fast + Trikrom Boyama		ELISA	
	Sayı	%	Sayı	%
<i>E.histolytica/dispar</i>	4	4.3	5	5.3
<i>G.lambliia</i>	12	12.8	13	13.8
<i>Cryptosporidium</i> sp.	5	5.3	10	10.6



Şekil 8. *Entamoeba histolytica* için ELISA plağında pozitif ve negatif kuyuların görünümü



Şekil 9. *Giardia lamblia* için ELISA plağında pozitif ve negatif kuyuların görünümü



Şekil 10. *Cryptosporidium* sp. için ELISA plağında pozitif ve negatif kuyuların görünümü

Triage mikro parazit panelleri ile çalışılan toplam 94 dışkı örneğinin 10'unda (%10.6) *G. lamblia* spesifik antijeni tespit edildi. Ancak *E.histolytica/dispar* ve *Cryptosporidium* sp. için spesifik antijen saptanmadı. (Çizelge 3) Triage parazit panel test prosedürüne göre pozitif ve negatif kontrol kullanılarak uygulanan yöntemde pozitif bir örnek antijen adının yanındaki test bölgesinde ayrı bir mor-siyah band oluşturdu. Negatif bir örnek renkli bir band oluşturmadı. Pozitif kontrol bölgelerinde spesifik antikorlara bağlı olarak *E.histolytica/dispar*, *G.lamblia* ve *Cryptosporidium* sp. için antijenler bulunduğundan, burada oluşan renkli bantlar testteki tüm adımların uygun yapıldığını göstermektedir. (Şekil 11)

Çizelge 3. Triage Parazit Panel Dağılımı

	Triage Parazit Panel (+)
<i>E.histolytica/dispar</i>	0
<i>G.lamblia</i>	10
<i>Cryptosporidium</i> sp.	0



Şekil 11. Triage Parazit Panel sonuçları. (46 nolu kart) Negatif sonuç (TEST ZONES), (50 nolu kart) *Girdia lamblia* için pozitif sonuç (TEST ZONES GIARD) ve Kitin pozitif kontrol serum bantları (TEST ZONES GIARD, E.HIST, CRYPT)

Çizelge 4. *Entamoeba histolytica* için Mikroskopi ve ELISA sonuçlarının karşılaştırılması

	Mikroskopi pozitif	Mikroskopi negatif	Toplam
ELISA pozitif	3	2	5
ELISA negatif	1	88	89
Toplam	4	90	94

ELISA testinin duyarlılığı: $3/(3+1) \times 100 = \%75.0$

ELISA testinin özgüllüğü: $88/(88+2) \times 100 = \%97.8$

Mikroskobik inceleme ile ELISA yöntemi karşılaştırıldığında ELISA'nın duyarlılığı %75, özgüllüğü %97.8 olarak saptandı.

Triage parazit panel yöntemi ile yapılan çalışmalarda *E.histolytica/E.dispar* için pozitif sonuca ulaşamadığından istatistiksel analizi yapılamadı.

Çizelge 5. *Giardia lamblia* için Mikroskopi ve ELISA sonuçlarının karşılaştırılması

	Mikroskopi pozitif	Mikroskopi negatif	Toplam
ELISA pozitif	12	1	13
ELISA negatif	0	81	81
Toplam	12	82	94

ELISA testinin duyarlılığı: $12/(12+0) \times 100 = \%100$

ELISA testinin özgüllüğü: $81/(81+1) \times 100 = \%98.8$

Mikroskobik inceleme ile ELISA yöntemi karşılaştırıldığında ELISA'nın duyarlılığı %100, özgüllüğü %98.8 olarak saptandı.

Çizelge 6. *Giardia lamblia* için Mikroskopi ve Triage sonuçlarının karşılaştırılması

	Mikroskopi pozitif	Mikroskopi negatif	Toplam
Triage pozitif	10	0	10
Triage negatif	2	82	84
Toplam	12	82	94

Triage testinin duyarlılığı: $10/(10+2) \times 100 = 83.3$

Triage testinin özgüllüğü: $82/(82+0) \times 100 = \%100$

Mikroskobik inceleme ile Triage yöntemi karşılaştırıldığında Triage yönteminin duyarlılığı %83.3, özgüllüğü %100 olarak saptandı.

Çizelge 7. *Giardia lamblia* için ELISA ve Triage sonuçlarının karşılaştırılması

	ELISA pozitif	ELISA negatif	Toplam
Triage pozitif	9	1	10
Triage negatif	4	80	84
Toplam	13	81	94

Triage testinin duyarlılığı: $9/(9+4) \times 100 = \%69.2$

Triage testinin özgüllüğü: $80/(80+1) \times 100 = \%98.8$

ELISA ile Triage yöntemi karşılaştırıldığında Triage yönteminin duyarlılığı %69.2, özgüllüğü %98.8 olarak saptandı.

Çizelge 8. *Cryptosporidium* sp. için Mikroskopi ve ELISA sonuçlarının karşılaştırılması

	Mikroskopi pozitif	Mikroskopi negatif	Toplam
ELISA pozitif	4	6	10
ELISA negatif	1	83	84
Toplam	5	89	94

ELISA testinin duyarlılığı: $4/(4+1) \times 100 = \%80$

ELISA testinin özgüllüğü: $83/(83+6) \times 100 = \%93.3$

Mikroskobik inceleme ile ELISA yöntemi karşılaştırıldığında ELISA'nın duyarlılığı %80, özgüllüğü %93.3 olarak saptanmıştır.

Triage parazit panel yöntemi ile yapılan çalışmalarda *Cryptosporidium* sp. için pozitif sonuca ulaşamadığından istatistiksel analizi yapılamadı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bağırsak parazitlerinden *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* ve *Cryptosporidium* sp.'nin tanısı temel olarak dışkı, daha seyrek olarak duodenal sıvı ve biyopsi örneklerinde parazitin çeşitli formlarının saptanmasına dayanmaktadır⁵⁰.

Dışkıda parazitlerin saptanması doğrudan boyasız inceleme ile başlamaktadır. Dışkıyı serum fizyolojik (nativ) ile doğrudan incelemenin avantajları; hareketli parazitleri görme olanağı sağlaması, yöntemin kolay ve ucuz olmasıdır. Çalışmada Parazitoloji Anabilim Dalında toplanan 94 dışkı örnekleri ilk olarak serum fizyolojik ve lugol (nativ-lugol) ile doğrudan incelendi, daha sonra bu örnekler trikrom ve modifiye asit-fast boyama yöntemi ile boyandı. Bu inceleme sonunda örneklerin 4'ünde (%4.3) *E.histolytica*/*E.dispar*, 12'sinde (%12.8) *G.lambli*a kisti veya trofozoiti, 5'inde (%5.3) *Cryptosporidium* sp.'ye ait ookistler görüldü.

Ucuz ve hızlı bir yöntem olan dışkı mikroskopisinde örnekler uygun ve yeterli sayıda hazırlandığında duyarlı bir yöntem olup tanıda altın standart olarak kabul edilmektedir. Fakat deneyimli mikroskopistlere olan ihtiyaç, elde edilen sonuçların genellikle tekrarlanabilir ve objektif olmaması ayrıca bağırsak parazitlerinin aralıklı atılımı gibi dezavantajlarından dolayı günümüzde dışkı tanısı için antijen tarama yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır⁵⁰.

Vidal ve arkadaşlarının⁵⁶ yaptıkları çalışmada bağırsak parazitlerinin aralıklı atılımı nedeniyle tek bir dışkı örneği ile tanı koymanın her zaman mümkün olmayacağı ve en az üç dışkı örneğinin incelenmesiyle bile *Giardia lamblia* için %11.3, *Entamoeba histolytica* için %22.7'lik tanı düzeyine erişilebileceğini bildirmişlerdir. Ancak doğrulama için farklı bir yöntemle duyulan ihtiyaç gün geçtikçe artmıştır. Bu doğrultuda çalışmamızda mikroskopi için tek bir dışkı örneği incelenmiş ancak beraberinde antijen tanı yöntemleri de doğrulama amaçlı değerlendirmeye alınmıştır.

Çalışmada toplanan 94 dışkı örneği mikroskopik incelemeden sonra ELISA yöntemleriyle değerlendirildi. ELISA ile toplam 94 örneğin 5'inde (%5.3) *E.histolytica*, 13'ünde (%13.8) *G.lambli*a, 10'unda (%10.6) *Cryptosporidium* sp. antijenleri tespit edildi. Bu sonuçlar mikroskopik inceleme ile karşılaştırıldığında *E.histolytica* için ELISA'nın duyarlılığı %75, özgüllüğü %97.8, *G.lambli*a için ELISA'nın duyarlılığı %100, özgüllüğü %98.8, *Cryptosporidium* sp. için ELISA'nın duyarlılığı %80, özgüllüğü %93.3 olarak saptandı.

Gonzales-Ruiz ve arkadaşlarının⁵⁹ yaptıkları bir çalışmada amipli dizanteri tanısı için dışkıda *E.histolytica* antijenlerini saptamak amacıyla spesifik monoklonal antikolar kullanarak fecal antijen capture (FAC) ELISA yöntemini uygulamış ve diğer

parazitlerle çapraz reaksiyon vermediğini, ELISA'nın duyarlılığının %87, özgüllüğünün %100 olduğunu saptamışlardır.

Çalışmamızda kullanılan *E.histolytica* antijenlerini saptama kiti adezine spesifik monoklonal antikolar ihtiva etmektedir. Bu monoklonal antikolar patojen olan *E. histolytica*'ya özgü galaktoza ve N-asetil-D-amin'i bağlayan lektine karşı geliştirilmiş antikolardır. Sulandırılan dışkı örneği, adezine spesifik monoklonal antikor içeren konjugatla birlikte *E.histolytica* adezinine bağlanan poliklonal antikolar yapıştırılmış kuyucuklara aktarıldıktan sonra şayet hasta örneğinde adezin varsa, inkübasyon sırasında monoklonal ve poliklonal antikolar bağlanarak substrat ilavesi ile oluşan enzim-antikor-antijen kompleksine bağlı renk oluşumu gözlenmektedir.

Mengeloğlu ve arkadaşları⁵⁸ yaptıkları çalışmada 1720 dışkı örneğinin 44'ünde (%0.37) amip kistleri görmüş ve kist görülen bu örneklerden ELISA yöntemiyle 26'sında (%59.1) *E.histolytica*'ya spesifik antijen varlığı saptamışlardır.

İnsanlarda morfolojik olarak benzer olan iki *Entamoeba* türü mikroskopik bakıda ayırt edilememektedir. Sitoplazmasında fagosite edilmiş eritrositler bulunan trofozoitlerin görülmesi *E.histolytica*'nın *E.dispar* ve diğer apatojen amip türlerinden ayırt edilmesini sağlasa da bu durum kronik infeksiyonlarda pek rastlanmamakta ve nadir de olsa *E.dispar*'nda eritrositleri fagosite ettiği bildirilmiştir^{13,51,60}. Son yıllarda gelişmiş antijen saptama yöntemleriyle bu iki tür ayırt edilebilmekte ve bu testler Gal/GalNac spesifik lektini saptamaktadırlar⁵¹. Çalışmamızda mikroskopide *E.histolytica*/*E.dispar* pozitif saptanan 4 örnekten 3'ü ELISA ile pozitif, bir örnek ise negatif bulunmuştur. Negatif olan bu örnek *E.dispar* olarak saptanmıştır. Ancak mikroskopide negatif bulunan iki örnek ELISA ile pozitif saptanmıştır.

Nesbitt ve arkadaşları⁶¹ 842 dışkı örneğini inceledikleri çalışmada mikroskopi ile %8.2, ELISA ile %0.8 *E.histolytica* prevalansı saptarken, *E.dispar* prevalansının %7.4 olduğunu bildirmişlerdir.

Koltaş ve arkadaşlarının⁶² Adana'da 15 yaş altındaki çocuklarda yaptığı çalışmada 131 ishali dışkı örneklerinin mikroskopi ile 16'sında *E.histolytica*/*E.dispar*, ELISA ile 22'sinde *E.histolytica* bulmuşlar, ELISA'nın duyarlılığını %63.6, özgüllüğünü %98.2 olarak saptamışlardır.

Giardia lamblia tanısında mikroskopi tercih edilen seçenek olmasına rağmen kist sayısının az olması halinde ve giardia trofozoitlerinin epitel hücrelerine tutunarak bağırsaktan atılmaması sonucu dışkıda bulunmamasından dolayı tek bir örnekteki dışkı bakısının duyarlılığı düşüktür. Ancak ELISA yönteminde çok hafif infeksiyonlarda dahi dışkıda bulunabilen az miktardaki antijeni saptayabilmektedir^{8,13,14,50}. Çalışmamızda kullandığımız kit ile *G.lambli*a'ya özgü 65-kDa glikoprotein (GSA 65) spesifik antijeni belirlenmektedir.

Hanson ve arkadaşları⁵⁷ semptomatik ve asemptomatik 106 olguyu dahil ettikleri çalışmada 7 gün ara ile aldıkları dışkı örnekleriyle direkt mikroskopik inceleme duyarlılığının semptomatik hastalar için %75'ten %83'e; asemptomatik hastalarda ise %61'den %77'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir.

Özekinci ve arkadaşları⁵³ çeşitli gastrointestinal şikayetlerle başvuran hastalardan topladıkları 188 dışkı örneğini nativ-lugol ile direkt mikroskopik bakı ve antijen ELISA testi ile değerlendirmişlerdir. 188 örnekten direkt bakı ile 141'inde *G.lamblia* kist ve/veya trofoziti bulunurken, 47 dışkı örneğinde herhangi bir parazit saptayamamışlardır. Bu 141 örnekten 136 'sını, 47 örnekten 9'unu ELISA ile pozitif olarak belirlemişlerdir. Sonuç olarak iki yöntem karşılaştırıldığında ELISA'nın duyarlılığı %96.4, özgüllüğü %80.8 olarak saptamışlardır.

El-Sahn ve arkadaşları⁶³ 162 çocuktan topladıkları örneklerin mikroskopi ile 45'inde, antijen ELISA ile 42'sinde *G.lamblia* bulmuşlar ve mikroskopi ile ELISA karşılaştırıldığında duyarlılığı %91.1, özgüllüğü %99.1 olarak saptamışlardır.

Cryptosporidium sp.'nin dünyada özellikle gelişmekte olan ülkelerde ki insanlarda ishale neden olan en yaygın üç patojenden biri olduğu düşünülmektedir. Laboratuvarında mikroskopi ile tanı koymak oldukça tecrübe gerektiren bir işlemdir ve özellikle dışkıda az sayıda ookist olduğunda tanı koymak daha da zorlaşır. Bu yüzden günümüzde kullanılan antijen ELISA testlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü mikroskopiye göre üstündür^{11,13,50}.

Tamer ve arkadaşları⁵⁵ ishalleri 80 dışkı örneğini *Cryptosporidium* sp. yönünden modifiye asit-fast boyama yöntemi ve dışkıda antijen aramaya yönelik ELISA (r-biopharm, Germany) ile incelemişler, sonuç olarak boyama yöntemi ile 3 örnekte ookist (%3.75), ELISA yöntemi ile 5 örnekte (%6.25) antijen saptamışlardır. ELISA kitinin duyarlılığını %85, özgüllüğünü %100 olarak belirlemişlerdir.

Elgün ve arkadaşları¹¹ Adana'da yaptıkları çalışmada toplam 154 dışkı örneğinin 8'inde (%5.19) modifiye asit-fast boyama yöntemiyle *Cryptosporidium* sp. ookistleri bulunurken, ELISA (Microwell ELISA) ile 37'sinde (%24) *Cryptosporidium* sp. antijeni saptamışlardır. Kullanılan kit, çalışmamızda kullandığımız kitin tanı prensibi gibi monoklonal antikor kullanılarak *Cryptosporidium* sp. ookistlerinin sahip olduğu antijenleri saptamaya yöneliktir.

Yılmaz ve arkadaşlarının⁶⁴ Van'da yaptığı çalışmada 0-15 yaş arası, 870 kız ve 1130 erkek, toplam 2000 ishalleri çocuktan toplanan dışkı örneklerini modifiye asit-fast boyama ve antijen ELISA yöntemiyle incelemişlerdir. 2000 çocuğun 39'unda boyama ile, 97'sinde ELISA ile *Cryptosporidium* sp. saptadıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ki 94 dışkı örneği *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, *Giardia lamblia* ve *Cryptosporidium* sp. için spesifik antijenleri (*E.histolytica/dispar* için 29 kDa yüzey antijeni, *G.lamblia* için alpha-1-giardin, *Cryptosporidium* sp. için

protein disülfit izomeraz) saptayan Triage parazit panel enzim immunoassay testi ile değerlendirildi. Sonuçta 94 örnekten *Giardia lamblia* için 10 (%10.6) pozitiflik bulundu. Mikroskopi ve ELISA ile karşılaştırıldığında *Giardia lamblia* için Triage testinin mikroskopiye göre duyarlılığının %83.3, özgüllüğünün %100; ELISA'ya göre duyarlılığının %69.2, özgüllüğünün %98.8 olduğu saptandı. *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* ve *Cryptosporidium* sp. için Triage parazit panel enzim immunoassay testi ile hiç pozitif örnek bulunamadığından istatistiksel analizi yapılamamıştır. Bu durum Triage parazit panel enzim immunoassay testinin *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* ve *Cryptosporidium* sp parazitleri için yanlış negatif sonuç verdiğini göstermektedir.

Leiva ve arkadaşları⁶⁵ *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* için yaptığı çalışmada 2 yaşından büyük 134 ishalleri dışkı örneklerinde mikroskopi, Triage parazit panel (TPP) ve PCR sonuçlarını karşılaştırmışlar ve 134 örnekten mikroskopi ile 8 örnekte (%6) *E.histolytica/E.dispar*, PCR ile 10 (%7.5) örnekte *E.dispar*, 2 (%1.5) örnekte *E.histolytica*, ve sadece TPP ile 1 örnekte *E.histolytica/E.dispar* saptamışlardır. Ayrıca direkt mikroskobide 22 tane *G.lambli*a, TPP ile 23 tane *G.lambli*a, saptamışlar. Direkt mikroskopiyle saptanan bir *Cryptosporidium* sp. ookistini TPP ile saptayamamışlardır. Sonuç olarak mikroskopi ile TPP'in sadece *G.lambli*a tanısında uygunluk gösterdiğini saptamışlardır. Bu çalışma ile çalışmamızda elde edilen sonuçlar kısmen benzerdir. Leiva ve arkadaşları'nın çalışmasından farklı olarak çalışmamızda çalışmamızda hem *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* hemde *Cryptosporidium* sp. tanısında Triage parazit panel enzim immunoassay testi ile pozitif sonuç elde edilemedi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikroskopik yöntemin birçok avantajı bulunmasına rağmen antijen arama testlerinden ELISA yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğünün yüksek olması, deneyimli mikroskopistlere ihtiyaç duyulmaması, yöntemin basit ve objektif değerlendirmeyi sağlaması gibi sebeplerden rutin mikroskopi ile birlikte kullanılmasının yararlı olacağı sonucu çalışmamızda elde edilmiştir.

Her ne kadar saha koşullarında kullanımı basit ve pratik olarak kabul edilebilir olsada çalışmamızda triage parazit panel testinin mikroskopi ve ELISA' ya göre duyarlılığının ve özgüllüğünün (*G.lambli*a hariç) düşük olması, pahalı olması ve ELISA yöntemine göre az miktardaki antijenleri saptayamama gibi dezavantajlardan dolayı rutinde kullanılması pek uygun bulunmamıştır. Triage parazit panel testi ile ilgili yapılan çalışmaların ülkemizde ve dünyada yetersiz olması bu konuda daha fazla örnekle çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu ortaya çıkarmaktadır. Özellikle gelişmiş ve referans laboratuvarlarda *E.histolytica/dispar* ve *Cryptosporidium* sp. tanısında mutlaka antijen ELISA yönteminin kullanılmasının faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

7.KAYNAKLAR

1. **Özcel MA.** *Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları*, Meta Basım, İzmir, **2007**.
2. **Saygı G.** *Temel Tıbbi Parazitoloji*, Dizgi Baskı Es-Form Ltd., İzmir **2009**.
3. **Unat EK, Yücel A, Atlas K, Samastı M.** *Unat'ın Tıp Parazitolojisi*. 5.Baskı, İstanbul: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Vakfı Yayınları, **1995**.
4. **Şanlı S, Özcan K.** Adana ve Çevresindeki Çeşitli Sağlık Kuruluşlarından Elde Edilen Dışkı Örneklerinde *Entamoeba histolytica*'nın Kültür, Boyama ve Elektroforez Yöntemleriyle Diğer Amip Türlerinden Ayrılması.Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı Yüksek lisan Tezi, Adana:**2000**.
5. **Percival SL.** *Microbiology of Waterborne Diseases*. Elsevier-Science&Technology Rights Department in Oxford,UK: Elsevier Academic Press, **2004**; 285-287.
6. **Erlandsen SL, Meyen EA.** *Giardia and Giardiasis*. New York,USA: Plenum Press,**1984**.
7. **Pierres OG, Caccio S, Fayer R, Mank TG, Smith UV, Thompson ARC.** *Giardia and Cryptosporidium from Molecules to Disease*. UK: MPG Books Group, **2009**.
8. **Özcel MA, Üner A.** *Giardiasis*. İzmir: *Türkiye Parazitoloji Derneği* Yayın No 14, **1997**.
9. **Göçmen B.** *Genel Parazitoloji*. 1.Baskı, İzmir: Çağdaş Kopyalama Merkezi, **1998**.
10. **Kuman HA, Altıntaş N.** *Protozoon Hastalıkları*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, **1996**.
11. **Elgün G, Koltaş İS.** İshalli Dışkı Örneklerinde *Cryptosporidium sp.* Antijeninin ELISA Yöntemiyle Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana: **2009**.
12. **Bogitsh JB, Carter EC, Oeltmann TN.** *Human parasitology*. USA: Elsevier Academic Press, **2005**; 63-88
13. **Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.** *Enfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre İnfeksiyonlar*. 3. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, **2008**; 2557-2570.
14. **Aras D, Özcan EK.** *Giardia lamblia*'nın Tanısında Latex Aglutinasyon Yönteminin Uygulanması. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı Bilim Uzmanlığı Tezi, Adana: **1996**.
15. **Demirel M.** Semptomatik ve asemptomatik olgulardan izole edilen *Entamoeba histolytica* suşlarında patojenite kriterlerinden izoenzim paternlerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD. Bursa, **1997**;18-52.
16. **Markell EK, Vogt M, John DT.** *Medical Parasitology*. 7th Ed. W.B. Saunders Company, **1992**; 63-79.
17. **Mandell GL, Bennett JE, Dolin R.** *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th Ed. Volume 2, USA: Churchill Livingstone, **2000**; 2798-2913.

18. **Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.** *Enfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.* İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, **2002**; 1901-1910.
19. **Cohen J, Powderly WG.** *Infectious Diseases.* 2th Ed. Spain: Mosby, **2004**; 1567-1571.
20. **Markell EK, John DT.** *Markell and Voge's Medical Parasitology.* 8th Ed. USA: W.B. Saunders Company, **1999**; 24-62.
21. **Serter D, Ertem E, Gökengin D.** *Başlıca Bakteriyel, Paraziter ve Mikotik Enfeksiyon Hastalıkları.* İzmir: Nobel Tıp Kitapevi, **2000**; 405-411.
22. **Ash LR, Orihel TC.** *Ash Orihel's Atlas of Human Parasitology.* 5th Ed., Singapore: ASCP, **2007**.
23. **Bruckner DA.** *Amebiasis.* Clinic Microbiology Review, **1992**; 356
24. **Radvin JL.** *Amebiasis.* Clinic Infectious Diseases, **1995**; 1453.
25. **Walderich B, Weber A, Knoboch J.** Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* from German travelers and residents of endemic areas. *Am J Trop Med Hyg.* **1997**; 57(1):70.
26. **Haque R, Ali IKM, Akther S, Petri WA.** Comparison of PCR, isoenzyme analysis and detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica*. *Infection. J. Clinic Microbiology.* **1998**, 449.
27. **Ferrari NM, Schmitz R, Framil VM, Muller H, Chieffi P.** Epidermal cyst infected by *Entamoeba histolytica* in a patient with no past history of intestinal amebiasis. *International Journal of Dermatology*, **2010**, 49; 1454-1456.
28. **Altuntaş K.** *Tıbbi Genel Parazitoloji ve Protozooloji.* Ankara: Medical Network&Nobel **1991**.
29. **Radvin JI, Guerrant RL.** A review of parasite cellular mechanisms involved in the pathogenesis of amebiasis. *Rev Infect Diseases* **1982**; 4(6):1185
30. **Boucher SEM, Gillin FD.** Excystation of in vitro derived *Giardia lamblia* cysts. *Infectious Immunology*, **1990**; 58 (11): 3516-3522.
31. **Feely DE, Gardner MD, Hardin EL.** Excystation of *Giardia muris* induced by a phosphate-bicarbonate medium. *Journal Parasitology*, **1991**; 77: 441-448.
32. **Meyer EA.** *Giardia as an organism*, In: *Giardia: From Molecules to Disease.* **1994**; 7: 3-13.
33. **Mahmud MA, Chappell C, Hossain MM et al.** Risk Factors for development of first symptomatic *Giardia* infection among infants of a birth cohort in rural Egypt. *Am J Trop Med Hyg*, **1995**; 53: 84-88.
34. **Stranden AM, Eckert J, Kohler P.** Electrophoretic characterization of *Giardia* isolated from humans, cattle, sheep and a dog in Switzerland. *Journal of Parasitology*, **1990**; 76: 660-668.
35. **Hunter PR, Thompson RC.** The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Int J Parasitology*, **2005**; 35; 1181-1190.
36. **Graczyk TK, Grimes BH, Knight R, Da Silva AJ, Pieniazek NJ, Veal DA.** Detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* carried by synanthropic flies by combined fluorescent in situ hybridization and a monoclonal antibody. *Am J Trop Med Hyg* **2003**; 68: 228-232.

37. **Letts M, Davidson D, Lalonde F.** Synovitis secondary to giardiasis in children. *Am J Orthop*, **1998**; 27(6): 451-454.
38. **Letts M, Meza- Ortiz F.** Giardiosis-associated arthralgia in children. *Arc Med Res*, **2001**; 32(3): 248-250.
39. **Akisü Ç, Korkmaz M.** *Tıbbi Parazitolojide Tedavi. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:20* İzmir: Meta Basım, **2005**.
40. **Ortiz JJ, Ayoub A, Gargala G, Chenge NL, Favennec L.** Randomized clinical study of nitazoxanide compared to metronidazol in the treatment of symptomatic giardiasis in children from Northern Peru. *Aliment Pharmacol Ther*, **2001**;15: 1409-1415.
41. **John TJ, Petri AW, Markell and Voge's Medical Parasitology.** 9th Ed, W.B. Saunders Company, **2006**; 68-71.
42. **Özcel MA, Turgay N, İnci A, Köroğlu E.** *Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları No:21*, **2007**: 93-97.
43. **Otağ F, Aslan G, Emekdaş G, Aydın E, Taylan Özkan A, Çeber K.** Mersin ilinde İlkokul öğrencilerinde *Cryptosporidium spp.* oookistlerinin araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **2007**;31(1):17-19.
44. **Börekeçi G, Otağ F, Emekdaş G.** Mersin'de bir gecekondulu mahallesinde yaşayan ailelerde *Cryptosporidium* prevelansı. *İnfeksiyon Dergisi*, **2005**; 19(1):39-46.
45. **Döşkaya M, Dayangaç N, Kuman HA.** *Cryptosporidium parvum*. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **2003**;27(1): 64-70.
46. **Tamer GS, Gülenç S.** Dışkıda *Cryptosporidium spp.* antijenlerinin ELISA ile Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **2008**; 32(3): 198-201.
47. **Antony H.** Cryptosporidiosis. Gilles HM. *Protozoal Diseases*. London: Arnold Press,**1999**:592-606.
48. **Huston CD, Petri WA.** Jr. Amebiasis: clinical implications of the recognition of *Entamoeba dispar*. *Curr Infect Dis Rep*. **1999**; 1: 441-447
49. **Haque R, Neville LM, Hahn P, Petri WA.** Jr. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using Entamoeba and Entamoeba histolytica stool antijen detection kits. *J Clin Microbiology*. **1995**;33: 2558-2561.
50. **Uyar Y, Taylan Özkan A.** Amebiyazis, Giardiyazis ve Kriptosporidiyazis Tanısında Antijen Tarama Yöntemlerinin Yeri *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **2009**;33(2):140-150.
51. **Tuncay S, İnceboz T, Över L, Yalçın G, Usluca S, Şahin S, Delibaş SB ,Aksoy Ü, Akisü Ç.** Dışkıda *Entamoeba histolytica*'nın saptanmasında kullanılan yöntemlerin birlikte değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, Meta Basım, **2007**; 31(3): 188-193.
52. **Zeyrek YZ, Özbilge H, Yüksel MF, Zeyrek CD, Sırmatel F.** Şanlıurfa'da Parazit Faunası ve ELISA Yöntemi ile Dışkıda *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* Sıklığı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, Meta Basım, **2006**; 30(2): 95-98.
53. **Özekinci T, Uzun A, Suay A, Elçi S, Akpolat N, Atmaca S.** Giardiasisin Tanısında Enzym İmmun Assay (EIA) ve Direkt İnceleme Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, Meta Basım, **2005**; 29(2): 89-92.

54. **Maraha B, Buiting AGM.** Evaluation of Four Enzyme Immunoassays for the Detection of *Giardia lamblia* Antigen in Stool Specimens. *European Journal of Clinical Microbiology&Infectious Diseases*, **2000**; 19: 485-487.
55. **Sönmez Tamer G, Gülenç S.** Dışkıda *Cryptosporidium spp.* Antijenlerinin ELISA ile Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, Meta Basım, **2008**; 32(3): 198-2008.
56. **Vidal AMB, Catapani WR.** Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) immunoassaying versus microscopy: advantages and drawbacks for diagnosing giardiasis. *Sao Paulo Med J*, **2005**; 123: 282-285.
57. **Hanson LK, Cartwright CP.** Use of Enzyme Immunoassay does not eliminate the need to analyze multiple stool specimens for sensitive detection of *Giardia lamblia*. *J Clin Microbiol*, **2001**; 39 (2): 474-77.
58. **Mengeloğlu FZ, Aktaş E, Külah C, Beğendik Cömert F.** Dışkı Örneklerinde ELISA Yöntemi ile *Entamoeba histolytica*'nın Saptanması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, **2009**; 33(1): 1-3.
59. **Gonzales-Ruiz A, Haque R, Rehman T, Aguirre A, Hall A, Guhl F, Warhust DC, Miles MA.** Diagnosis of Amebic Dysentery by Detection of *Entamoeba histolytica* by an Invasive Strain-specific monoclonal-antibody Based Enzyme-linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol*, **1994**; 32(4): 964-970.
60. **Tanyuksel M, Petri WA Jr.** Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev*, **2003**; 16(4):713-729.
61. **Nesbitt RA, Mosha FW, Katki HA, Ashraf M, Assenga C, Lee CM.** Amebiasis and comparison of microscopy to ELISA technique in detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *J Natl Med Assoc*, **2004**; 96(5):671-677.
62. **Koltaş IS, Demirhindi H, Hazar S, Özcan K.** Importance of the detection of amoebic antigens in stool samples for the diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection, among children in southern Turkey. *Ann Trop Med Parasitol*, **2007**; 101(2): 143-50 .
63. **el-Sahn AA, Megahed AM, Eissa SM, Barakat RM.** Diagnosis of giardiasis using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on formalin preserved stools. *J Egypt Public Health Assoc.* **2000**; 75 (3-4):277-90.
64. **Yılmaz H, Tas CZ, Cicek M.** Investigation of Cryptosporidiosis by enzyme-linked immunosorbent assay and microscopy in children with diarrhea. *Saudi Med J*. **2008**; 29(4): 526-529.
65. **Leiva B, Lebbad M, Winiiecka-Krusnell J, Altamirano I, Tellez A, Linder E.** Overdiagnosis of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in Nicaragua: A Microscopic, Triage Parasite Panel and Pcr Study. *Archives Med. Research* . **2006**;37: 529-534.

8. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Adana'da doğdu. İlkokulu Gazeteci Adem Yavuz İlkokulu'nda, ortaokulu Meryem Abdurrahim Gizer İlköğretim Okulunda ve liseyi Adana Ticaret Odası Anadolu (ATO) Lisesi'nde okudu. Üniversite lisans eğitimini 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde tamamladı. Aynı yıl yine Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı Parazitoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.