



Barsak Paraziti İnfeksiyonlarında Son Durum: Bir Referans Laboratuvarı Sonuçları

Current Status in Intestinal Parasitic Infections: A Reference Laboratory Results

Selma Usluca , Cahit Babür , Selçuk Kılıç 

Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ankara, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmada çeşitli yakınmalarla hastaneye başvuran hastalardan alınarak laboratuvarımıza gönderilen dışkı örneklerinin barsak parazitleri açısından inceleme sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Ocak 2015-Temmuz 2018 arasında 12 239 dışkı örneği, 1:5 sulandırılmış Lugol solüsyonu kullanılarak lam-lamel arası preparat, fekal konsantrasyon tüpü kullanılarak çöktürme yöntemi, *Cryptosporidium/Giardia* direkt floresan antikor (Crypto/Giardia Cel, Cellabs, Brookvale, NSW, Avustralya), *Entamoeba histolytica* adezin antijenini belirlemek için ELISA (*E. histolytica* II™, TechLab, Blacksburg, VA, ABD), *E. histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. ve *Dientamoeba fragilis* için multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (Multiplexed Diagnostics Gastrointestinal Parasites, 5Plex, AusDiagnostics, Mascot, NSW, Avustralya) yöntemlerinden biri veya birkaçıyla incelenmiştir.

Bulgular: Dışkı örneklerinin 683 (%5.58)'ünde herhangi bir yöntemle parazit saptanmıştır. Yazın daha fazla sayıda hastada parazit saptanmış (n=208); bunu sırasıyla sonbahar (n=165), kış (n=163) ve ilkbahar (n=147) izlemiştir.

Sonuçlar: Gastrointestinal sistemi tutan parazitler infeksiyonlarının halk sağlığı açısından halen önemli bir yeri olduğu, tanısında direkt mikroskopinin tek başına yeterli olmadığı, immünolojik ve moleküler yöntemlerle desteklenerek tanı şansının artırılacağı düşünülmektedir. Özellikle yaz aylarında gastrointestinal yakınmalarla başvuran hastalarda bakteriyel ve viral etkenlerle birlikte parazitler infeksiyon etkenlerinin de araştırılması gerektiği akıldan çıkarılmamalıdır.

Klimik Dergisi 2020; 33(3): 307-13.

Anahtar Sözcükler: Paraziter barsak hastalıkları, *Blastocystis*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*.

Abstract

Objective: The aim of this study was to evaluate the results of examination for intestinal parasites in fecal samples sent to our laboratory by obtaining from patients applied to the hospital because of various complaints.

Methods: 12 239 stool samples were examined by one or several methods such as direct wet mount using 1:5 dilution of Lugol's iodine solution, sedimentation technique using fecal concentration tubes, *Cryptosporidium/Giardia* immunofluorescence (Crypto/Giardia Cel, Cellabs, Brookvale, NSW, Australia), ELISA for detecting *Entamoeba histolytica* adhesin antigen (*E. histolytica* II™, TechLab, Blacksburg, VA, USA), multiplex polymerase chain reaction for *E. histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. and *Dientamoeba fragilis* (Multiplexed Diagnostics Gastrointestinal Parasites, 5Plex, AusDiagnostics, Mascot, NSW, Australia) between January 2015 and July 2018.

Results: In 683 (5.58%) of fecal samples, parasites were detected by any method. Number of patients with parasitic infection were higher in summer (n=208), followed by autumn (n=165), winter (n=163) and spring (n=147), respectively.

Conclusions: It is thought that parasitic infections involving the gastrointestinal tract are still important for public health; direct microscopy alone is not sufficient for the diagnosis, and the diagnostic possibility can be increased by supporting with immunological and molecular methods. It should be kept in mind that bacterial and viral agents as well as parasitic infectious agents should be investigated in patients presenting with gastrointestinal symptoms especially in summer.

Klimik Dergisi 2020; 33(3): 307-13.

Key Words: Parasitic intestinal diseases, *Blastocystis*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*.

ORCID iDs of the authors: S.U. 0000-0002-8934-439X; C.B. 0000-0002-6524-3260; S.K. 0000-0002-4993-650X

Cite this article as: Usluca S, Babür C, Kılıç S. [Current status in intestinal parasitic infections: A reference laboratory results]. *Klimik Derg.* 2020; 33(3): 307-13. Turkish.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence:

Selma Usluca, Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Sıhhiye, Ankara, Türkiye

E-posta / E-mail: selmausluca@gmail.com

(Geliş / Received: 28 Kasım / November 2019; Kabul / Accepted: 30 Kasım / November 2020)

DOI: 10.5152/kd.2020.61

Giriş

Paraziter hastalıklar gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada yaklaşık 4 milyar kişiyi etkilemesi nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur (1,2). Epidemiyolojisinde çevre koşulları, iklim, rezervuar ve ara konakların sıklığı, toprak ve suların dışkıyla kontaminasyonu, fiziksel altyapı yetersizliği, sosyoekonomik düzey, eğitim düzeyi, temizlik ve beslenme alışkanlıkları gibi birçok faktör etkilidir (1,3-5). Paraziter infeksiyonların neden olduğu işgücü kaybı ve tedavi maliyetlerini en aza indirmek için koruyucu tedbirlerin alınması ve tedavi protokolünün belirlenmesi önem taşımaktadır (1-3). En sık görülen bulaşma yolu, infeksiyonun oral yolla alınması şeklindedir. Ülkemizde özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri gibi altyapı eksikliği olan ve sosyoekonomik düzeyin düşük olduğu ve Ege Bölgesi gibi sürekli göç alan yerlerde görülme sıklığı daha yüksektir (6). *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*, *Blastocystis* spp., fekal-oral yolla bulaşan ve en sık görülen paraziter infeksiyon ajanlarıdır. Paraziter infeksiyonlar genellikle öldürücü olmadığı için göz ardı edilebilmekte, ancak ciddi iş gücü kaybına yol açması nedeniyle özellikle ishal yakınması olan olgularda toplumun korunması açısından önem kazanmaktadır.

Bu çalışmada çeşitli yakınmalarla hastaneye başvuran hastalardan alınarak laboratuvarımıza gönderilen dışkı örneklerinin barsak parazitleri açısından inceleme sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler

Ocak 2015-Temmuz 2018 arasında laboratuvarımıza gönderilen 12 239 dışkı örneği, laboratuvara ulaşır ulaşmaz, önce serum fizyolojik ve 1:5 oranında sulandırılmış Lugol'ün iyod solüsyonuyla lam-lamel arası preparat hazırlanarak barsak protozoonları açısından 40 × objektifle mikroskopta incelenmiştir. Tüm örnekler, barsak helmintlerinin yumurtaları açısından da, fekal konsantrasyon tüpü kullanılarak çöktürme yöntemiyle hazırlandıktan sonra, mikroskopta 10× objektifle değerlendirilmiştir. Laboratuvarımızda incelenen örnekler için tüm mikroskopik sahalarda tek bir parazit elemanı görülmesi, *Blastocystis* spp. de dahil olmak üzere tüm barsak parazitleri için tanı kriteri olarak kabul edilmiştir.

Direkt ve konsantrasyon yöntemiyle mikroskopik inceleme sonucunda morfolojik olarak parazite benzer yapılar görülen dışkı örneklerine, *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayatanensis* ve *Isospora belli* açısından modifiye aside dirençli boyama, diğer protozoonlar açısından ise trikrom boyama uygulandıktan sonra 100× objektifle mikroskopta incelenmiştir. Bu örnekler ayrıca *Cryptosporidium*/*Giardia* direkt floresan antikor (DFA) (Crypto/*Giardia* Cel, Cellabs, Brookvale, NSW, Avustralya) ve/veya *E. histolytica* adezin antijenini belirlemek için ELISA (*E. histolytica* II™, TechLab, Blacksburg, VA, ABD) yöntemleriyle değerlendirilmiştir. DFA yöntemiyle floresan mikroskopta *Cryptosporidium* spp. ookistleri ve *G. intestinalis* kistlerinin görülmesi tanı kriteridir. ELISA yönteminde pozitif kontrol örneğinin absorbans değerinin 0.150 ve daha üzeri olması, negatif kontrol örneğinin absorbans değerinin ise 0.150'nin altında olması durumunda test geçerli kabul edilmiş; hasta örneklerinden absorbans değeri 0.150 ve üzeri olanlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) uygulanacak dışkı örnekleri, inceleme yapılncaya kadar herhangi bir koruyucu içermeyen Ependorf tüpleri içerisinde -20°C'de saklanmıştır. DNA ekstraksiyonu QIAamp DNA stool mini kit (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak üretici firmanın önerisi doğrultusunda yapılmıştır. Elde edilen DNA örneklerine (10 µl) Multiplexed Diagnostics Gastrointestinal Parasites (5Plex) (AusDiagnostics, Mascot, NSW, Avustralya) kiti kullanılarak RotorGene® Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazında üretici firmanın önerileri doğrultusunda multiplex "real-time" PCR yöntemi uygulanmıştır. Bu kitle *E. histolytica*, *G. intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. ve *Dientamoeba fragilis* DNA'sı saptanabilmektedir. Amplifikasyon koşulları 95°C'de 10 dakika başlangıç denatürasyonunun ardından 95°C-10 saniye, 60°C-15 saniye, 72°C-15 saniye olacak şekilde 30 döngü reaksiyon ve 75-95°C'de erime eğrisi analizi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Her testte, kit içerisinde mevcut olan pozitif kontrol örneklerinin pozitif, negatif kontrol örneklerinin negatif sonuç vermesi halinde test geçerli kabul edilmektedir. Reaksiyon sonunda pozitif örneklerin uygun amplifikasyon eğrisi vermesi sonucunda pozitif, negatif örneklerin amplifikasyon eğrisi vermemesi sonucunda ise negatif olarak değerlendirme yapılmaktadır.

Bulgular

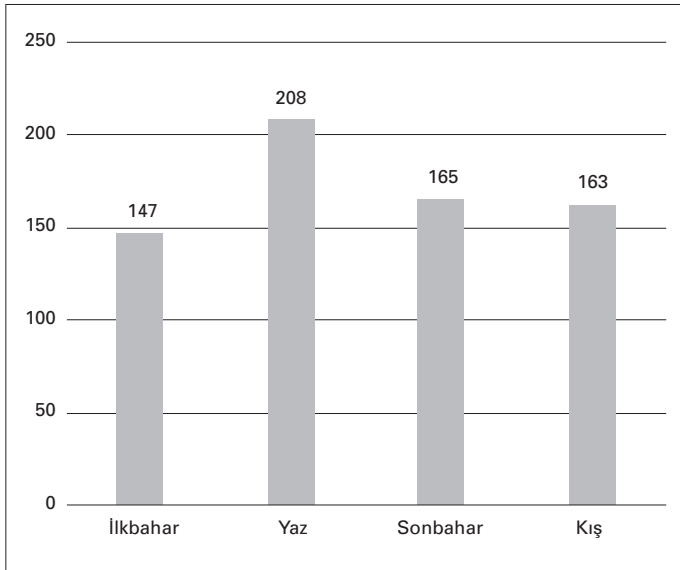
Ocak 2015-Temmuz 2018 yılları arasında incelenen 12 239 hastaya ait dışkı örneğinin 683 (%5.58)'ünde herhangi bir yöntemle parazit saptanmıştır. İncelenen örneklerin yıllara göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. Pozitif olarak belirlenen örneklerdeki parazitlerin yıllara göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre en sık karşılaşılan parazitlerin sırasıyla

Tablo 1. İncelenen Örneklerin Yıllara Göre Dağılımı

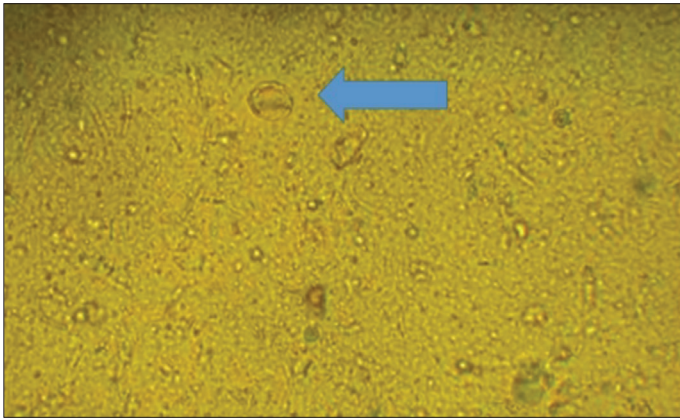
	2015	2016	2017	2018	Toplam
Pozitif	287	179	122	95	683
Negatif	4736	2263	3143	1414	11 556
Toplam	5023	2442	3265	1509	12 239

Tablo 2. Yıllara Göre Parazit Saptanma Durumu

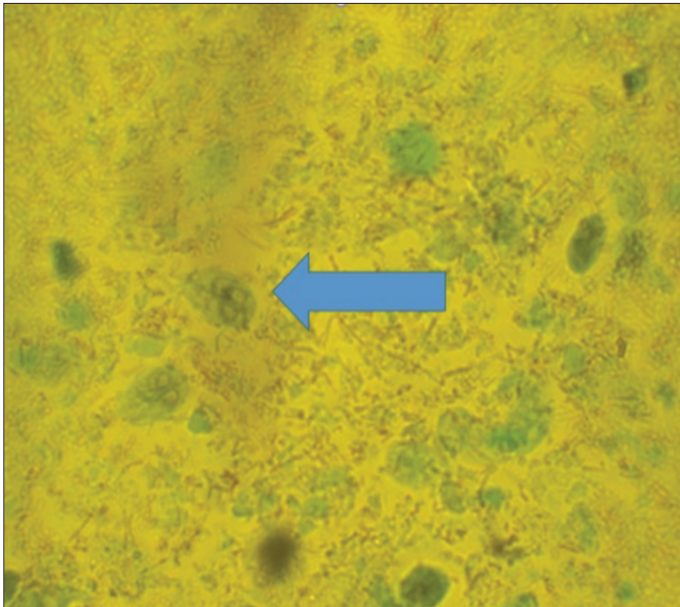
Saptanan Etken	2015	2016	2017	2018	Toplam
<i>Giardia intestinalis</i>	167	15	15	25	222
<i>Blastocystis</i> spp.	101	2	2	63	168
<i>Entamoeba histolytica</i>	0	156	156	0	312
<i>Entamoeba coli</i>	11	4	4	5	24
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	1	2	2	0	4
<i>Cyclospora cayatanensis</i>	4	0	0	0	4
<i>Endolimax nana</i>	1	0	0	1	3
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	0	0	0	1
<i>Entamoeba dispar</i>	1	0	0	0	1
<i>Microsporidium</i> spp.	0	0	0	0	1
<i>Enterobius vermicularis</i>	0	0	0	1	1
Toplam	287	179	179	95	741



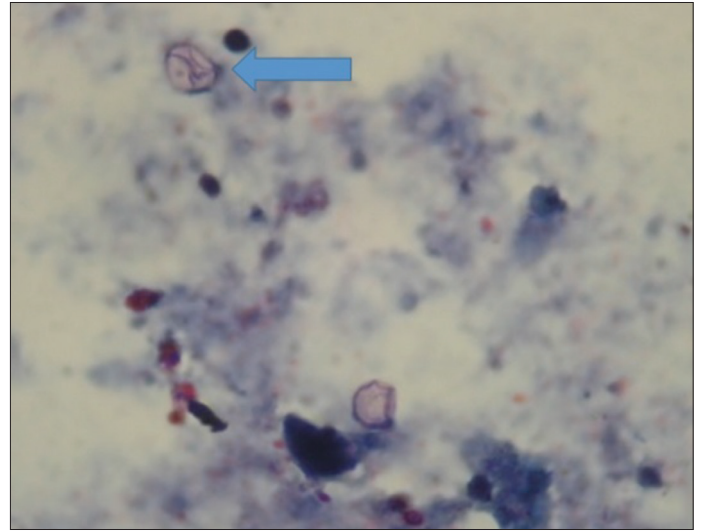
Şekil 1. Saptanan parazitlerin mevsimlere göre dağılımı.



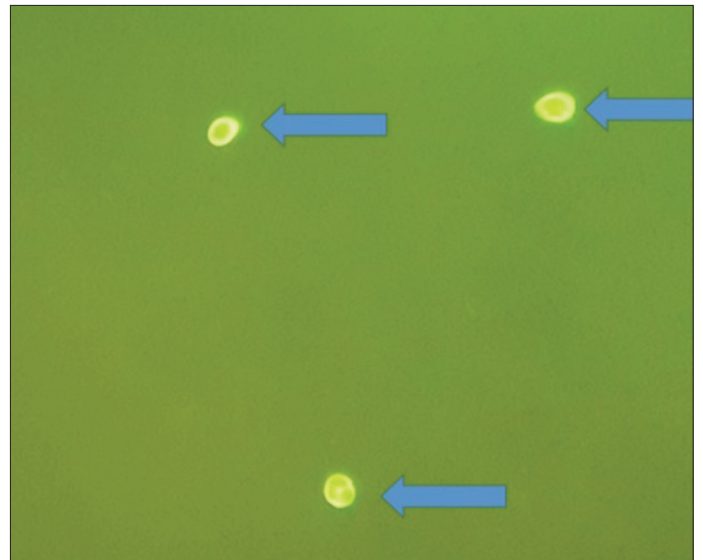
Şekil 2. Lugol solüsyonuyla hazırlanan lam-lamel arası preparatta *Blastocystis* vakuoler formu (40×).



Şekil 3. Trikróm boyamasıyla *Giardia intestinalis* kist ve trofozoitleri (100×).



Şekil 4. Modifiye aside dirençli boyamada *Cyclospora cayatanensis* ookistleri (100×).

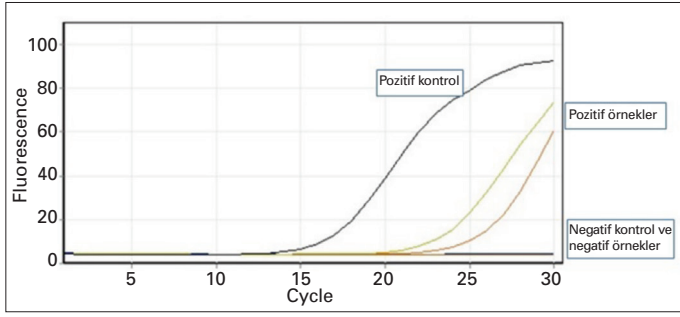


Şekil 5. Direkt floresan antikor yöntemiyle saptanan *Giardia intestinalis* kistleri (40×).

G. intestinalis, *Blastocystis* spp. ve *E. histolytica* olduğu belirlenmiştir. Parazitlerin mevsimlere göre dağılımı Şekil 1’de verilmiştir. Buna göre parazit saptanma oranlarının yaz aylarında daha yüksek olduğu (n=208), bunu sırasıyla sonbahar (n=165), kış (n=163) ve ilkbahar (n=147) aylarının izlediği gözlenmiştir. Mikroskopiyle saptanan parazitlere ait görüntüler Şekil 2, 3, 4, ve 5’te verilmiştir. “Real-time” PCR yöntemiyle pozitif olarak belirlenen örnekler için amplifikasyon eğrileri ve erime eğrileri Şekil 6’da verilmiştir.

İrdeleme

Protozoonların laboratuvar tanısı, dışkı örneklerinin mikroskopik incelemesine dayanmaktadır. Deneyimli bir personel tarafından gerçekleştirildiğinde altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak deneyimli personel tarafından değerlendirilmediğinde mikroskopinin duyarlılığı ve özgüllüğü azalmaktadır. Zahmetli ve uzun mesleki eğitim gerektirmesi,



Şekil 6. "Real-time" polimeraz zincir reaksiyonu amplifikasyon eğrisi.

yanlış pozitif sonuçlar verebilmesi gibi dezavantajları vardır. En önemli kısıtlaması, patojen ve patojen olmayan barsak protozoonlarının ayırt edilmesinin zor olmasıdır (7,8).

Bu kısıtlılıkları nedeniyle DFA, ELISA, kültür, izoenzim analizi ve PCR gibi daha duyarlı ve özgül alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Ancak bu uygulamaların da bazı kısıtlılıkları vardır (7). Diğer parazitleri saptayamaması ve göreceli olarak maliyetinin yüksek olması nedeniyle, antijen tarama yöntemlerinin direkt mikroskopik inceleme ve kalıcı boyama yöntemlerinin yerini alması söz konusu değildir (9). İzoenzim analiziyle birlikte kültür, *E. histolytica*'nın *E. dispar* veya *E. moshkovskii*'den ayırt edilmesini sağlamakta, son yirmi yılda amip infeksiyonu tanısında altın standard olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, amip kültürleri ve izoenzim analiziyle tanı konulması için bir haftalık süre gerekirken ve mikroskopisi pozitif olan birçok örnek, örneğin işlemlenmesinde gecikme veya dışkı örneği alınmasından önce antiamebik tedavi verilmiş olması nedeniyle bu yöntemlerle negatif olarak değerlendirilmektedir (10).

Dışkı incelemelerinde kullanılan bu konvansiyonel yöntemlerin her birinin dezavantajlarını en aza indirebilmek için moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Ancak dışkı örneklerinden DNA izolasyonunun zaman alıcı olması ve bu örneklerde inhibitör maddelerin varlığı moleküler yöntemlerin uygulanmasını kısıtlamaktadır (7,11). Bu nedenle son zamanlarda dışkıdan DNA izolasyonu yöntemleri geliştirilmiş ve basitleştirilmiştir (11).

Konvansiyonel PCR yönteminde DNA amplifikasyonu zahmetli ve pahalıdır ve örnekler arasında çapraz kontaminasyon ihtimali önemli bir problemdir. Bununla birlikte floresans saptayan probalar sayesinde kontaminasyon ihtimali azaltılmış, birden fazla etkenin aynı reaksiyonda saptanmasını sağlayan sistemler geliştirilerek zaman ve maliyetten tasarruf sağlanmıştır. Multipleks "real-time" PCR yönteminin *E. histolytica*, *G. intestinalis* ve *C. parvum*'un rutin tanısında mikroskopiden daha duyarlı ve özgül bir yöntem olduğu bildirilmektedir (7,11).

Geleneksel olarak mikroskopi, tercih edilen yöntem olmakla beraber, deneyimli personelin bulunmaması durumunda tanı atlanabilmektedir. Bu nedenle günümüzde barsak protozoonlarının tanısında mükemmel duyarlılık ve özgüllükleri göz önüne alındığında moleküler yöntemler altın standard olarak kabul edilmeye başlanmıştır (7). Moleküler yöntemlerin en önemli yararı yanlış tanı nedeniyle gereksiz tedavileri ve tedavi maliyetini azaltmalarıdır (12). Her bir yöntemin kendi içerisinde avantaj ve dezavantajları olması nedeniyle

tanının atlanmaması amacıyla laboratuvarımızda birden fazla yöntem bir arada kullanılmaya çalışılmıştır.

G. intestinalis dünyada en yaygın olarak görülen barsak protozoonudur (13). Tanısında ilk tercih edilen yöntem mikroskopidir. Maliyetinin düşük olmasının yanı sıra diğer birçok barsak paraziti de bu yöntemle saptanabilmektedir. Ancak parazitin kist formunun dışkıyla aralıklı olarak atılması veya dışkıdaki kist sayısının az olması halinde, tek bir örneğin incelenmesi durumunda duyarlılık oldukça düşüktür. Duodenum villuslarına emici diskleriyle yapışmış olan trofozoitler, epitel hücrelerinin 72 saatte bir dökülmesiyle dışkıyla atıldıkları için parazitin her zaman dışkıda gösterilmesi mümkün olamamaktadır (9). Tek bir dışkı örneğiyle yapılan rutin dışkı incelemesinde, konsantrasyon yöntemi de uygulanmasına rağmen olguların %10-50'sine yanlış tanı konulabilmektedir. Hastanın birden fazla örneğinin incelenmesi halinde bile duyarlılığın ancak %85'e ulaşabildiği belirtilmektedir. DFA yöntemi giardiyaz tanısında referans yöntem olarak kabul edilmektedir. Mikroskopiyile karşılaştırıldığında duyarlılığı ve özgüllüğü %100'dür ve diğer parazitlerle çapraz reaksiyon görülmemektedir (9).

Blastocystis spp. genellikle apatojen olarak kabul edilmekle birlikte, son yıllarda patojenliği daha fazla tartışılan ve dışkı incelemelerinde en sık görülen protozoonudur (2). Dışkı örneklerinde en sık olarak sırasıyla vakuoler, granüler, multi-vakuoler ve kist formunun görüldüğü bildirilmiştir. Ameboid form çok nadir olarak bildirilmiştir. Avakuoler formun insan barsağında bulunduğu düşünülmektedir (14). *Blastocystis* spp. tanısı, Lugol solüsyonu kullanılarak lam-lamel arası preparatıyla ve trikrom, demir hematoksilin ve Wright gibi kalıcı boyama yöntemleriyle konulabilir. Parazitin büyüklüğü 6-40 µm arasında değişebilmektedir. Lugol solüsyonu kullanılarak lam-lamel arası preparatının incelenmesinde lökosit, *E. histolytica*, *E. hartmanii* ve *Endolimax nana* gibi diğer protozoon kistleriyle karıştırılabilmekle birlikte, özellikle vakuoler formunun ayırt edilmesi daha kolaydır (15). Mikroskopinin duyarlılığı düşük (%48) olduğu için, son yıllarda duyarlılığı daha yüksek olan kültür ve moleküler yöntemler özellikle araştırma amacıyla tercih edilmektedir (16).

E. histolytica, nadir olarak görülmesine rağmen potansiyel invazif bir protozoon olması nedeniyle erken tanı hayati önem taşımaktadır (17). Morfolojik olarak ayırımı yapılamayan *E. histolytica*/*E. dispar*'ın ayırt edilmesi hastalığın tedavi ve takibinde çok önemlidir. *E. histolytica* patojen olup klinik tablolara yol açarken *E. dispar* ve *E. moshkovskii* nonpatojendir (13,18,19). Tanıda tek dışkı örneğinin mikroskopik incelemesinin duyarlılığının %33-50 olduğu bildirilmektedir (20). Etkenin atılımının değişken olması nedeniyle en fazla 10 gün içinde, en az 3 kez dışkı örneği incelenmesiyle bu oranın %85-95'lere çıkabildiği bildirilmektedir (21). Kalıcı boyama yöntemlerinin Lugol solüsyonu kullanılarak lam-lamel arası preparatına göre daha yüksek başarı sağladığı bildirilmektedir (20). *E. histolytica*/*E. dispar* ayırımında zimodem analizi yararlıdır; ancak bu yöntem oldukça zor ve zahmetlidir (18). Patojen *E. histolytica* ile patojen olmayan *E. dispar*'ın ayırımında *E. histolytica*'nın Gal- veya GalNac- bağlayan lektin proteinini saptayan monoklonal antikolar kullanılarak uygulanan ELISA yöntemi %95'in üzerinde duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir ve dışkıda *E. histolytica*/*E. dispar*'ın ayırımına imkan

vermektedir (10,18,19). Bu yöntemin kısa sürede sonuç vermesi, uygulama kolaylığı, türleri ayırt edebilmesi, duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olması ve özellikle endemik alanlarda enfeksiyona erken tanı konulması gibi avantajları bulunmaktadır (19,21). ELISA yöntemi diğer barsak parazitleriyle çapraz reaksiyon göstermemesi açısından da avantajlı olup zimodem analizi ve PCR ile eşdeğer sonuçlara ulaşmaktadır (9). *E. histolytica* DNA'sını saptamaya yönelik moleküler yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri de kültür ve antijen saptama yöntemleriyle karşılaştırılabilir sonuçlar vermektedir (10).

Laboratuvarımızda serum fizyolojik ve Lugol'ün iyod solüsyonu kullanılarak hazırlanan lam-lamel arası preparat, konsantrasyon, trikrom ve modifiye aside dirençli boyama yöntemleri, *Cryptosporidium/Giardia* DFA, *E. histolytica* adezin antijenini belirleyen ELISA, *E. histolytica*, *G. intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. ve *D. fragilis* için multipleks "real-time" PCR uygulanmakta, özellikle ishallerde tümü kombine olarak uygulanarak barsak parazitlerinin tanı şansı artırılmaya çalışılmıştır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda bir ya da birden fazla barsak paraziti saptanma oranlarının kullanılan tanı yöntemleri, patojen olmayan türlerin dahil edilip edilmemesi, hastaların semptomatik olup olmaması gibi nedenlere bağlı olarak %1.84-19.5 arasında değiştiği görülmektedir (1-4,6,22-25). Çalışmamızda incelenen dışkı örneklerinin %5.58'inde herhangi bir yöntemle parazit saptanmıştır. Patojen olmayan parazitler de değerlendirmeye alınmıştır. Hastalara ait klinik bilgilere ulaşamadığı için bu konuda bir değerlendirme yapılamamıştır.

Ülkemizde en sık görülen barsak parazitleri açısından değerlendirildiğinde *Blastocystis* spp.'nin birinci sıklıkta saptandığını bildiren çalışmalar çoğunlukta olmakla birlikte, (1,4,6,22,23-25). *G. intestinalis*'in birinci sıklıkta saptandığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (2,3). Bu durum bazı laboratuvarların, her sahada 5 veya daha fazla parazit görülmesini *Blastocystis* spp. için bildirim kriteri olarak kabul ederken, bazıların incelenen tüm mikroskopik sahada tek bir parazit görülmesi halinde bile bildirimde bulunmalarıyla açıklanabilir. Birçok çalışmada 40x büyütmede her mikroskop sahasında 5 veya daha fazla sayıda parazit görülmesi durumunda bildirilmesi gerektiği belirtilmekle birlikte, günümüzde farklı patojen suşlar olabileceği ve parazitin günlük atılımında farklılıklar olabileceği düşüncesiyle tek bir parazit görülmesi durumunda da bildirilmesi kabul görmektedir (26). Bu nedenle laboratuvarımızda incelenen tüm mikroskopik sahada tek bir parazit görülmesi durumunda *Blastocystis* spp. tanısı konulmaktadır.

Çalışmamızda incelenen örneklerin 242 (%1.97)'sinde saptanan birinci sıradaki parazitin *G. intestinalis*, 240 (%1.96)'ında saptanan ikinci sıradaki parazitin *Blastocystis* spp. ve 157 (%1.28)'sinde saptanan üçüncü sıradaki parazitin *E. histolytica* olduğu belirlenmiştir. *G. intestinalis*'in birinci sırada saptanan etken olmasının, laboratuvarımızda ishallerde giardiyaz tanısında altın standard yöntem olan *Cryptosporidium/Giardia* DFA yönteminin uygulanmasının neden olabileceği düşünülmüştür. *Blastocystis* spp.'nin bildirişi ise incelenen tüm mikroskopik sahada tek bir parazit görülmesi halinde bile yapılmaktadır. *E. histolytica* tanısında sadece Lugol solüsyonu kullanılarak lam-lamel arası preparatı ve konsantrasyon yöntemi kullanılmayıp, trikrom boyama

ve *E. histolytica* adezin antijenini belirleyen ELISA testi de birlikte değerlendirilmektedir. Laboratuvarımızda birden fazla yöntemin bir arada kullanılması ve dışkı mikroskopisinin mümkün olduğunca tanıda altın standard kabul edilen yöntemlerle desteklenmesi nedeniyle sonuçlarımızda yalnızca negatiflik olmadığı düşünülmektedir.

Alver ve arkadaşları (21)'nin çalışmasında dışkı örneklerinde Lugol solüsyonu kullanılarak lam-lamel arası preparatı ve amip antijeni saptama yöntemleriyle alınan sonuçlar retrospektif olarak karşılaştırılmış, lam-lamel arası preparatıyla örneklerin %0.86'sında *E. histolytica/E. dispar* kist ve/veya trofozoitleri belirlenmiş, ELISA testiyle %29.3'ünde pozitiflik saptanmıştır. Yüksel ve arkadaşları (18)'nin çalışmasında ELISA testiyle *E. histolytica* pozitiflik oranının %7 olduğu ve özellikle sonbahar aylarında daha yüksek olarak saptandığı bildirilmiştir. Tuncay ve arkadaşları (19)'nin çalışmasında dışkı örneklerinde lam-lamel arası preparatı ve şüpheli durumlarda trikrom boyama, Robinson besiyerine ekim ve/veya dışkıda *E. histolytica* antijeni aranması yöntemleri uygulanmış, incelenen örneklerin %0.44'ünün uygulanan yöntemlerden en az biriyle pozitif olarak belirlendiği bildirilmiştir.

Ahmed ve arkadaşları (13)'nin çalışmasında ELISA yöntemiyle %17.5 oranında *E. histolytica* pozitifliği saptanmıştır. Mikroskopi ve antijen testleriyle pozitif olarak belirlenen olguların "real-time" PCR ile de pozitif olarak saptandığı, bu iki yöntemle karşılaştırıldığında PCR'in duyarlılık ve özgüllüğünün %100 olduğu bildirilmiştir (13). Roy ve arkadaşları (10)'nin çalışmasında "real-time" PCR yöntemiyle karşılaştırıldığında, antijen saptama testinin duyarlılığı %79, özgüllüğü %96 olarak belirlenirken, konvansiyonel PCR yönteminin duyarlılığı %72, özgüllüğü %99 olarak belirlenmiştir. "Real-time" PCR yöntemiyle pozitif olan, ancak antijen saptama testi ve konvansiyonel PCR ile negatif olan örneklerin yüksek sıklıkta eşige değerleri vermesi, bu örneklerde bulunan düşük sayıdaki parazitin antijen saptama testi ve konvansiyonel PCR'in saptama limitlerinin altında olduğunu düşündürmüştür (10). Ngosso ve arkadaşları (27)'nin çalışmasında PCR yöntemiyle, mikroskopi pozitif olarak saptanan *Entamoeba* türlerinin %33.3'ünün *E. histolytica*, %55.6'sının *E. dispar*, %11.1'inin *E. moshkovskii* olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda *E. dispar* saptanan bir olgu dışında, *E. histolytica*-pozitif olarak değerlendirilen örneklerin sadece ELISA ve/veya PCR yöntemleriyle saptanması, örneklerin alınmasıyla laboratuvarımıza ulaşması arasında geçen sürenin optimum sürenin üzerinde olduğunu düşündürmüştür. Özellikle trofozit formlarının çevre koşullarına dayanıksız olması nedeniyle mikroskopik incelemenin örnek alındıktan sonra en kısa sürede yapılmasının yanlış negatif sonuç verilmemesi açısından önemli olduğu, bu gibi durumlarda tanının ELISA ve/veya PCR yöntemleriyle güçlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre *Enterobius vermicularis* dışında helmint yumurtalarına rastlanmaması, bölge halkının bu etkenlerin bulaşmasında rolü olan beslenme alışkanlığına sahip olmamasıyla açıklanabilir. Örneklerin incelenmesi sırasında selofan band yöntemi kullanılmamasına rağmen dışkı örneği içerisinde bol miktarda *E. vermicularis* larvasına rastlanmıştır. Çalışmamızda *C. cayatenensis*, *Microsporidium*

spp. ve *E. vermicularis*'in saptanması, lam-lamel arası preparat ve konsantrasyon yöntemleriyle saptanması mümkün olmayan etkenlerden şüphelenilmesi durumunda, sırasıyla modifiye aside dirençli ve modifiye trikrom boyama ve selofan lam yöntemlerinin uygulanmasının önemini ortaya koymaktadır.

Parazit saptanan olguların mevsimsel dağılımı incelendiğinde yaz ve sonbahar aylarında daha yüksek oranda parazit saptandığını bildiren çalışmalar olduğu gibi (3,6), ilkbahar ve sonbahar aylarında yüksek olduğunu bildiren çalışmalar (23), ilkbahar ve yaz aylarında yüksek olduğunu bildiren çalışmalar (22), sonbahar aylarında yüksek olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (18). Genel olarak ülkemizde bu konuda yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde kış aylarında hava sıcaklıklarının, barsak parazitlerinin yaşamasına elverişli olmaması nedeniyle parazit saptanma oranlarının en düşük olduğu mevsimin kış mevsimi olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda barsak paraziti infeksiyonlarının ilkbahar, yaz ve sonbahar aylarında daha sıklıkla bildirilmesi parazitlerin dış ortamda yaşamaları ve evrimlerini sürdürmeleri için uygun koşulların bulunmasıyla açıklanabilmektedir (3).

Çalışmamızda parazit saptanma oranlarının yaz aylarında daha yüksek olmasının nedenlerinin barsak parazitlerinin dış ortamda canlılıklarını sürdürebilmeleri için uygun koşulların bulunması, dışarıda açık olarak satılan içeceklerin soğutulmasında kullanılan buzların temiz olmayan sularla sulanması veya yıkanması, kontamine havuz sularının yutulması, ani ve şiddetli yağışlar nedeniyle kanalizasyon sisteminde meydana gelen sorunlardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak lam-lamel arası preparat ve konsantrasyon yöntemleriyle mikroskopik inceleme, parazitoloji laboratuvarlarında uygulanması gereken temel tanı yöntemleri olmasına rağmen, her laboratuvarın personel, bütçe, teknik ve fizik altyapılarının imkan verdiği tanı yöntemleriyle tanı kapasitelerini artırmaya çalışmaları halk sağlığının korunması açısından önem arz etmektedir. Özellikle yaz aylarında gastrointestinal yakınmalarla başvuran hastalarda bakteriyel ve viral etkenlerle birlikte paraziter infeksiyon etkenlerinin de araştırılması gerektiği akıldan çıkarılmamalıdır. Paraziter infeksiyonlarla mücadele edebilmek için epidemiyolojik çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızdan elde edilen veriler değerlendirildiğinde laboratuvarımıza başvuran olgularda barsak paraziti saptanma oranlarında yıllar içerisinde azalma görüldüğü belirlenmiştir. Ancak barsak parazitlerinin epidemiyolojisinin devam eden hızlı kentleşme, göç, alt yapı sorunları gibi nedenlerle önemini korumaya devam edeceği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Kaynaklar

- Pektaş B, Aksoy Gökmen A, İnci A, Biten AA, Keşli R, Ülker T. Bir eğitim araştırma hastanesi'nde üç yıllık bağırsak parazitlerinin dağılımı: Retrospektif bir çalışma. *J Clin Exp Invest*. 2015; 6(3): 269-73. [Crossref]
- Tanrıverdi Çaycı Y, Hacıeminoğlu K, Birinci A. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarında 2014-2016 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2017; 3(3): 6-8. [Crossref]
- Tüzemen NÜ, Alver O, Ener B. Uludağ Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvarında 2011-2015 yılları arasında incelenen dışkı örneklerinde paraziter infeksiyon sıklığının araştırılması. *Flora*. 2017; 22(4): 160-5. [Crossref]
- Çetinkaya Ü, Yazar S, Kuk S, et al. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 2009-2010 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*. 2012; 18(Suppl. A): A93-6.
- Karaman Ü, Enginyurt Ö, Dündar Y, Baykal MK, Gür S. Ordu ilinde bağırsak parazitleri sıklığı. *Dicle Tıp Derg*. 2014; 41(2): 368-74. [Crossref]
- Kapdağlı A, Ertabaklar H, Yaman S, Ertuğ S. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında 2002 yılında başvuran olgulardaki bağırsak parazitlerinin değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 2003; 27(4): 31-4.
- Metwally KM. Comparative study between traditional and advanced technique for detection and diagnosis of the enteric pathogenic and nonpathogenic protozoa in Egypt. *Middle East J Appl Sci*. 2015; 05(2): 496-508.
- McHardy IH, Wu M, Shimizu-Cohen R, Couturier MR, Humphries RM. Detection of intestinal protozoa in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(3): 712-20. [Crossref]
- Uyar Y, Taylan Özkan A. Amebiyazis, giardiyazis ve kriptosporidiazis tanısında antijen tarama yöntemlerinin yeri. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 2009; 33(2): 140-50.
- Roy S, Kabir M, Mondal D, Ali IK, Petri WA Jr, Haque R. Real-time-PCR assay for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol*. 2005; 43(5): 2168-72. [Crossref]
- Verweij JJ, Blangé RA, Templeton K, et al. Simultaneous detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* in fecal samples by using multiplex real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2004; 42(3): 1220-3. [Crossref]
- Beyhan YE, Taş Cengiz Z. Comparison of microscopy, ELISA, and real-time PCR for detection of *Giardia intestinalis* in human stool specimens. *Turk J Med Sci*. 2017; 47(4): 1295-9. [Crossref]
- Ahmed T, Khanum H, Uddin MS, et al. *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium* spp. infection in children in an urban slum area of Bangladesh. *J Biores Commun*. 2016; 2(1): 175-81.
- Doğruman Al F, Hökelek M. Blastocystis hominis fırsatçı bir patojen mi? *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2007; 31(1): 28-36.
- İnceboz T, Usluca Şenlen S. Blastocystis hominis bağırsak hastalığı için potansiyel bir tehlike olabilir mi? *Dokuz Eylül Üniv Tıp Fak Derg*. 2009; 23(1): 37-45.
- Adıyaman Korkmaz G, Doğruman Al F, Mumcuoğlu İ. Dışkı örneklerinde Blastocystis spp. varlığının mikroskopik, kültür ve moleküler yöntemlerle araştırılması. *Mikrobiyol Bül*. 2015; 49(1): 85-97. [Crossref]
- ten Hove RJ, van Esbroeck M, Vervoort T, van den Ende J, van Lieshout L, Verweij JJ. Molecular diagnostics of intestinal parasites in returning travellers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009; 28(9): 1045-53. [Crossref]
- Yüksel P, Çelik DG, Güngördü Z, et al. Dışkı örneklerinde ELISA yöntemiyle *Entamoeba histolytica* lektin antijeninin gösterilmesi: Üç yıllık veriler. *Klimik Derg*. 2011; 24(3): 150-3.
- Tuncay S, İnceboz T, Över L, et al. Dışkıda *Entamoeba histolytica*'nın saptanmasında kullanılan yöntemlerin birlikte değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2007; 31(3): 188-93.
- Ulçay A, Görenek L, Coşkun Ö, et al. İmmün yetmezlikli hastalarda intestinal protozoonların tanısı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2008; 32(4): 328-33.

21. Alver O, Topaç T, Töre O. Entamoeba histolytica tanısında iki metodun (enzyme linked immunosorbent assay [ELISA] ve nativ-Lugol) değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2015; 39(3): 185-9. [\[Crossref\]](#)
22. İnceboz T, Usluca S, Över L, Yalçın G, Tuncay S, Özkoç S. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ne 2005-2009 yılları arasında başvuran olgularda Blastocystis hominis epidemiyolojisinin araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2011; 35(2): 72-6. [\[Crossref\]](#)
23. Usluca S, İnceboz T, Över L, et al. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde 2005-2008 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2010; 34(1): 27-31.
24. Baştemir S, Öncel K, Yereli K, Kilimcioğlu AA, Balcıoğlu C, Girginkardeşler N. Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarında 2011-2015 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türk Mikrobiyol Cemiyet Derg*. 2016; 46(2): 76-81.
25. Düzyol D, Kilimcioğlu AA, Özyurt Cengiz B, Özkan H, Girginkardeşler N. Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji Polikliniği'nde 2006-2010 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin insidansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2012; 36(3): 147-51.
26. Doğan N, Tüzemen NÜ, Dinleyici EÇ. Akut ishali olan ve olmayan çocuklarda farklı tanı yöntemleriyle Blastocystis sp. tanınması. *Osmangazi Tıp Derg*. 2018; 40(2):13-7. [\[Crossref\]](#)
27. Ngosso BE, Nkwengulila G, Namkinga LA. Identification of pathogenic intestinal parasitic protozoa associated with diarrhea among under-fives children in Dar Es Salaam, Tanzania. *Int Inv J Med Med Sci*. 2015; 2(4): 49-55.