

İstanbul'da Akut Sürgünlü Çocuklarda *Cryptosporidium* Sıklığı

Recep Öztürk¹, Cafer Eroğlu¹, Hülya Çaşkurulu¹, Dilek Civanoglu², Özer Pala²

Özet: Bu araştırmada, 100 akut sürgünlü, 107 sürgünsüz çocuk (kontrol grubu) dışkıya modifiye Ziehl-Neelsen (ZN) ve auramin-rodamin boyama yöntemiyle incelendi. Sürgünlü 2 (%2) olguda *Cryptosporidium* oocistleri görüldü, kontrol grubunda *Cryptosporidium* görülmedi. Pozitif sonuç veren örnekler özgül direkt immünofluoresansla doğrulandı; ayrıca bu olgularda diğer enteropatojen bakteriler, rotavirus, adenovirus ve diğer bağırsak parazitleri araştırılıp sürgünün sebebi olmadıkları gösterildi. Verilerimiz, İstanbul'da çocuklardaki akut sürgün olgularında, *Cryptosporidium*'un etyolojik ajanlardan biri olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: *Cryptosporidium*, sürgün.

Summary: The frequency of *Cryptosporidium* in children with acute diarrhea in Istanbul. In this study stools of 100 children with acute diarrhea and 107 children without diarrhea (control group) were examined by modified Ziehl-Neelsen (ZN) and auramine-rhodamine (AR) stains. *Cryptosporidium* oocysts were found in 2 (2 %) of patients with diarrhea and in none of 107 control patients. Samples showing positive results were confirmed by specific direct immunofluorescence; in addition, enteropathogenic bacteria, rotavirus, adenovirus and other intestinal parasites were ruled out as the cause of the diarrhea. Our data indicate that *Cryptosporidium* is one of the etiologic agents of the acute diarrhea in children in Istanbul

Key Words: *Cryptosporidium*, acute diarrhea.

Giriş

Cryptosporidium, özellikle bağışık yanıtı baskı altında olan insanlarda sindirim ve solunum yolları infeksiyonu yapabilen *Apicomplexa* şubesi *Coccidia* alt sınıfından bir parazittir (1-4).

Cryptosporidium ilk kez 1907'de Tyzzer tarafından farede bulunmuştur. İnsanda ilk infeksiyonu 1976'da Nime ve arkadaşları bildirmiştir (1-4). Kriptosporidoz, zoonotik bir infeksiyondur. Bulaşmasında özellikle buzağuların dışkısı rol oynar; insandan insana da bulaşır. Sessiz infeksiyonlar ve hastalık bittikten sonra hala oocist saçanlar bulaştırıcı olurlar. Oocistlerle pislenen sular ve çiğ sütlerle bulaşma olur. Çocuk yuvaları, bakımevleri ve hastanelerde bulaşmalar olur (1-6).

AIDS'li olgularda sürgen ve öldürücü mide-bağırsak, karaciğer ve solunum yolu infeksiyonu yapar. Bağışık yanıtı normal olanlarda 1-2 hafta süren, kendi kendine iyileşen sürgünlere neden olur.

Bütün sindirim yolunu tutabilir, ama en ağır infeksiyon jejunumda görülür. Solunum ve safra yolları parazitle istilaya uğrayabilir (1,4).

Gelişmiş ülkelerde % 1-2 gibi bir insidans gösterir, ama gelişmekte olan ülkelerde % 3-20 gibi oranda rastlanır. Ülkemizde konuyla ilgili sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır (1-4, 7-9).

Çalışmamızda ülkemizdeki çalışmaların azlığını dikkate alarak, immün yetmezliği olmayan akut sürgünlü ve sürgünü olmayan 0-6 yaş grubu çocuklarda *Cryptosporidium* sıklığını araştırmayı amaçladık.

Yöntemler

Eylül 1993-Mart 1994 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği ve Sağlık Bakanlığı Haseki Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniğinden Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarına gönderilen 100 (53 erkek/47 kız; ortalama yaş 17 ay) sürgünlü ve 107 (51 erkek/56 kız; ortalama

yaş 23 ay) sürgünsüz 0-6 yaş grubu çocukların dışkısı incelendi. Araştırmaya alınan olgular daha önce sık sık infeksiyon geçirmemiş, son 2 aydır antibiyotik ve immünoşüpresif bir madde kullanmamış, malnütrisyonu olmayan olgular arasında seçildi; böylece olgular elden geldiğince immün yetersizliği olmayan kişiler arasından seçilmeye çalışıldı.

Alınan dışkılar makroskopik olarak incelendi. Direkt ve Ritchie'nin formaldehid eter yöntemiyle çöktürdükten sonra tuzlu su ve Lugol çözeltisiyle incelenip helmint yumurtası, protozoon kisti ve trofozoiti arandı (3,4).

Direkt ve çöktürme örneklerinden iki preparat hazırlanıp, biri modifiye Ziehl-Neelsen (ZN) (sıcak yöntemle), diğer auramin-rodaminle (AR) boyandı (4,10-13). ZN preparasyonu ışık mikroskopunda, AR preparasyonu floresans mikroskopunda incelendi.

Cryptosporidium oocisti görülen olgular, *Cryptosporidium* oocistleri ve *Giardia* kistlerine karşı hazırlanmış ve FITC ile işaretlenmiş monoklonal antikor içeren direkt immünofluoresan kitiyle (Meridian Diagnostics, Inc). incelenerek doğrulandı.

Sürgünlü çocuklardan elde edilen dışkılar *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, enteropatojen *Escherichia coli*, *Aeromonas*, *Vibrio* ve *Yersinia* yönünden standard kültür metodları kullanılarak incelendi.

Ayrıca *Cryptosporidium* görülen dışkı örneklerinden ELISA yöntemiyle rotavirus (Wellcozyme, Wellcome) ve adenovirus (Alfa Biotech-Schiapparelli Diagnostic İsmunit, İtalya) antijeni ticari kitlerle araştırıldı.

Sonuçlar

GB (2 yaşında kız) ve AS (17 aylık kız) adlı hastaların dışkılarında hem ZN, hem AR boyama yöntemleriyle *Cryptosporidium* oocistleri görüldü (% 2). Sürgünü olmayan 107 çocuğun dışkısında *Cryptosporidium* görülmedi.

Bu dışkılar direkt immünofluoresan yöntemiyle doğrulandı. *Cryptosporidium* oocistleri bulunan dışkılarda enteropatojen bakterisi üremedi; diğer bir bağırsak paraziti görülmedi. Rotavirus ve adenovirus antijenleri ELISA yöntemiyle negatif bulundu.

Bulunan iki olguda, *Cryptosporidium*'un sürgünün olası olarak tek etkeni olduğu kabul edildi. Olgular kontrole gelmediklerinden takipleri yapılmadı.

(1) Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul
(2) Sağlık Bakanlığı, Haseki Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi, İstanbul

İrdeleme

Cryptosporidium, immün yetmezlikli olgularda süregen, ağır seyirli, öldürücü sürgünlere neden olmaktadır. İmmün yetersizliği olmayan kişilerde, özellikle çocuk yaş grubunda karın ağrısı, 1-3 hafta süren ve kendi kendine iyileşen akut sürgünlere neden olmaktadır (1-4). Ev hayvanları, özellikle buzağuların dışkıları bulaşmada rol oynar ve bunlarla temaslarda daha sık bulunur (1-5). Ayrıca su ve süt ile bulaşma yanında, insandan insana bulaşabilmektedir. Hastanelerde ve çocuk yuvalarında salgın yapabilmese önemini artırmaktadır (14,15). Mutad klor dozlarına dayanabilmesi su ile bulaşan salgınlara neden olmaktadır (2,6).

Yapılan incelemelerde, sürgünlü olguların dışkılarında Avrupa'da % 1-2; Kuzey Amerika'da % 0.6-4.3 Asya, Avustralya, Afrika, Orta ve Güney Amerika'da % 3-20 bu parazit bulunabilmektedir (1-4). Ülkemizde, Özcan ve arkadaşları (7) Adana'da sürgünlülerde % 8.2, sürgünsüzlülerde % 4.8, Üner ve arkadaşları (8) Adana ve İzmir'den topladıkları sürgünlü ve/veya sürgünsüz toplam 600 dışkının bir tanesinde (% 0.16). Mülazımoğlu ve arkadaşları (9) İstanbul'da 73 sürgünlü olgunun bir tanesinde (% 1.36) *Cryptosporidium* gördüklerini bildirmişlerdir. Üner ve arkadaşları (8)'nin olgusunda *Giardia* kistleri birlikte bulunmuştur. Sonuçlarımız aynı bölgede inceleme yaptığımız Mülazımoğlu ve arkadaşları (9)'nın verileriyle uyumludur.

İnceleme yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüğü etkilediğini hatırlamak önemlidir. Yöntemine göre yalancı negatif sonuçlar alınabilir. Duyarlılık ZN boyamayla % 40.6, AR boyamayla % 93.8, özgüllük ZN ile % 52, AR ile 85.7 bulunmuştur (6).

Ayrıca, uzun süre formalinde bekletilmiş dışkılarda aside direncin kaybolabilmesi de dikkate alınmalıdır (9, 13).

Bunları hesaba katarak, gerektiğinde daha duyarlı olduğu bildirilen monoklonal antikorlu direkt immünofluoresans ve ELISA ile antijen arama teknikleri denenmelidir.

Sonuç olarak, immün yetmezliği olmayan sürgünlerde de etken olarak bulunabilen *Cryptosporidium* 'un ülkemizde değişik bölgelerdeki sıklığının daha büyük olgu gruplarıyla çalışılmasının ve sürgünlü olgulardaki rutin parazitolojik incelemelerde dikkate alınmasının gerektiği kanısındayız.

Kaynaklar

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 4th ed.

- Philadelphia: JB Lippincott, 1992: 905-8
2. Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 325-58
 3. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M. *Unat'ın Tıp Parazitolojisi. İnsanın Ökaryontlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıkları*. 4. baskı. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. Üniversite Yayın No. 3641, Fakülte Yayını No. 162, 1991; 239, 595-600
 4. Garcia LS, Bruckner DA. *Diagnostic Medical Parasitology*. 2'nd ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1993: 49-56, 528-37
 5. Lengerich EJ, Addiss DG, Marx JJ, Ungar BLP, Juranek DD. Increased exposure to Cryptosporidia among dairy farmers in Wisconsin. *J Infect Dis* 1993; 167: 1252-5
 6. Rush BA, Chapman PA, Ineson RW. A probable waterborne outbreak of cryptosporidiosis in the Sheffield area. *J Med Microbiol* 1990; 32: 239-42
 7. Özcan K, Köksal F, Aksaray N, Yiğit S. Çocuk ishallerinde *Cryptosporidium*'un rolü. *Türk Klin Tıp Bilimleri Araş Derg* 1987; 5: 329-32
 8. Üner A, Daldal N, Özbel Y, Hazratı Tappet K. Çocuklarda *Cryptosporidium* sp. aranması *Türk Parazit Derg* 1991; 15:42-8
 9. Mülazımoğlu L, Vahaboğlu H, Görgün Ö, Yıldırım İ, Semerci İ, Taşer B. Beş yaş altı çocuklarda *Cryptosporidium* sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* 1993; 23: 113-5
 10. Ebersole LL. Acid fast stain procedures. In: Isenberg HD, ed. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Vol. 2. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992: 3.5. 1-11
 11. MacPherson DW, McQueen R. Cryptosporidiosis. Multiattribute evaluation of six diagnostic methods. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 198-202
 12. Hendrickson DA, Krenz MM. Reagents and stains. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991: 1289-314
 13. Schimizu RY. Special stains for *Coccidia* and *Cyanobacterium* like-bodies. Modified Ziehl-Neelsen Acid fast stain (hot). In: Isenberg HD ed. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Vol 2, Washington DC: American Society for Microbiology, 1992: 7.4.2.1-4
 14. Ravn P, Lundgren JD, Kjaeldgaard P, Holten-Anderson W, Hojlyng N, Nielson JD, Gaub J. Nosocomial outbreak of cryptosporidiosis in AIDS patients. *Br J Med* 1991; 302: 277-80
 15. Alpert G, Bell LM, Kirkpatrick CE, Budnick LD, Campus JM, Friedman HM, Plotkin SA. Outbreak of cryptosporidiosis in a day-care center. *Pediatrics* 1986; 77: 152-7
 16. Arrowood MJ, Sterling CR. Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody based methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1490-5