

Renal Transplantlı Bir Hastada *Cryptosporidium parvum* Gastroenteriti

Cryptosporidium parvum Gastroenteritis in a Patient with Renal Transplantation

Ülfet Çetinkaya¹, İsmail Dursun², Salih Kuk¹, İzzet Şahin¹, Süleyman Yazar¹

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

ÖZ

Bu çalışmada renal transplantasyonun 14. gününde bol sulu ishali başlayan bir vaka sunulmuştur. Dışkı örneği karbol fuksin boyama yöntemi, kopro-ELISA ve nested polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *Cryptosporidium* spp. yönünden incelenmiştir. Karbol fuksin boyama yöntemi ve kopro-ELISA ile pozitif bulunan örnekten nested PCR ile elde edilen amplicon jelden pürifiye edilerek DNA dizi analizi yapılmıştır. DNA dizi analizi sonucu etkenin *Cryptosporidium parvum* olduğu tespit edilmiştir. *Cryptosporidium parvum* nadir bir gastroenterit etkeni olmakla birlikte solid organ transplantasyonu yapılanlarda ciddi klinik diyare nedeni olabilmektedir. Sonuç olarak, organ transplantasyonu sonrası görülen ishal sebepleri arasında *C.parvum*'un da düşünülmesi gerektiği kanaatindeyiz. (*Türkiye Parazitol Derg* 2015; 39: 231-3)

Anahtar Kelimeler: *Cryptosporidium parvum*, gastroenterit, transplantasyon

Geliş Tarihi: 25.10.2014

Kabul Tarihi: 19.01.2015

ABSTRACT

In this study, a case who starting abundant watery diarrhea on the 14th day of renal transplantation is presented. Stool sample was analyzed for *Cryptosporidium* spp. by carbol fuchsin staining method, copro-ELISA and nested polymerase chain reaction (PCR). From sample found positive by Carbol-fuchsin staining method and Copro-ELISA, DNA sequence analysis was performed, gel-purified from amplicon obtained by nested PCR. As a result of DNA sequence analysis was determined to be *Cryptosporidium parvum*. Although *C. parvum* is a rare causative agent of gastroenteritis it can be cause serious clinical diarrhea solid organ transplantation patient. As a result, also *C.parvum* must be considered as a causative agent of diarrhea occurring after organ transplantation. (*Türkiye Parazitol Derg* 2015; 39: 231-3)

Keywords: *Cryptosporidium parvum*, gastroenteritis, transplantation

Received: 25.10.2014

Accepted: 19.01.2015

GİRİŞ

Cryptosporidium cinsi protozoonlar, memeliler, kuşlar, sürüngenler ve balıklar dahil olmak üzere birçok canlıda bulunabilen küçük, intraselüler parazitlerdir. *Cryptosporidium* cinsi altında farklı türler bulunmasına rağmen insanlarda en

sık gözlenen tür *C.parvum*'dur (1, 2).

Cryptosporidium enfeksiyonu, olgun ookistlerin ağız yoluyla alınması ile insana bulaşmaktadır. Çiğ tüketilen gıdaların dışkı ile temas etmesinin önlenmesi, temas etmiş yiyeceklerin iyi bir şekilde yıkanması, yemek öncesi ellerin yıkanması

Bu çalışma 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde sunulmuştur, 29 Eylül - 5 Ekim 2013, Denizli, Türkiye.

This study was presented in the 18th National Parasitology Congress, 29 September - 5 October 2013, Denizli, Turkey.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr. Süleyman Yazar. E.posta: syazar@erciyes.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2015.3886

©Telif hakkı 2015 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2015 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

ve yiyeceklerin dikkatli bir şekilde pişirilmesi korunmada ön plana çıkmaktadır (1, 2).

Tanıda, dışkı örneklerinde parazite ait ookistlerin görülmesi esastır. Ookist boyutlarının çok küçük olması nedeniyle direkt mikroskopik incelemede kolaylıkla gözden kaçabilmektedir. Bu nedenle de dışkı yaymalarının karbol fuksin boyama yöntemi ile boyanması gerekmektedir. Boyama yöntemine ek olarak kopro-ELISA ile parazite ait antijenler aranabilir. Fakat bu iki yöntemle de örnekler *Cryptosporidium* spp. olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda ise polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tanıda etkin olarak kullanılmaktadır (1-3).

Hem immun sistemi baskılanmış (ISB) hem de immun sistemi sağlam (ISS) hastalarda *Cryptosporidium* enfeksiyonları kendini bol ve sulu diyare ile göstermektedir. ISS olan kişilerde klinik tablo kendini sınırlayan ishal şeklinde seyretmesine rağmen, ISB kişilerde tablo çok daha ağır seyretmekte ve devam eden enfeksiyonlarda hasta kaybedilebilmektedir (1-3). Solid organ transplantasyonu yapılanlarda da *Cryptosporidium* nadir bir gastroenterit etkeni olmakla birlikte ciddi klinik diyare nedeni olabilmektedir. Bu çalışmada, renal transplantasyonun 14. gününde bol sulu ishali başlayan bir vaka sunulmuştur.

OLGU SUNUMU

Reflü nefropatisine sekonder kronik böbrek yetmezliği (KBY) nedeniyle beş yıldır periton diyaliz programında olan 12 yaşındaki erkek hastaya anneden renal transplantasyon yapılmıştır. Mikofenolat mofetil (MMF), takrolimus ve prednisolon protokolü alan hastanın transplantasyon sonrası izlemede 14. günde bol sulu ishalinin başladığı görülmüştür.

Laboratuvar incelemesinde; tam kan sayımında hemoglobin 9,5 g/dL, hematokrit %27,2, beyaz küre sayısı 3430/mm³ (%67 nötrofil, %27,9 lenfosit, %2,2 monosit), trombosit sayısı 324.000/μL; biyokimyasal tetkiklerinde glukoz 96 mg/dL, üre 11 mg/dL, kreatinin 1,49 mg/dL, ürik asit 4,5 mg/dL, AST 19 IU/l, ALT 22 IU/l; tam idrar tetkiki normal olarak değerlendirilmiştir. Dışkının direkt mikroskopik incelemesinde parazite rastlanmamış, fakat dışkının karbol fuksin boyama yöntemi (Resim 1) ve kopro-ELISA (*Cryptosporidium* II; Wampole, United States) ile incelenmesi sonucu *Cryptosporidium* spp. pozitif olarak değerlendirilmiştir.

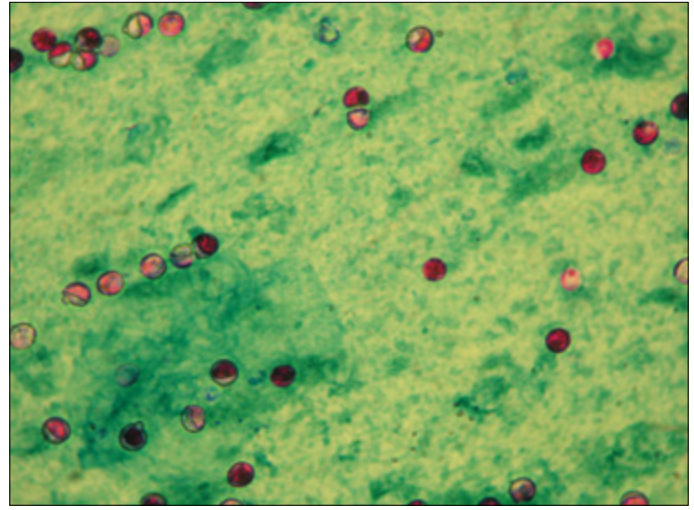
Dışkı örneğinden Qiamp stool mini kit kullanılarak DNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen genomik DNA ekstraktı 18S small-subunit (SSU) rRNA gen bölgesini hedef alan spesifik primerler kullanılarak nested PCR ile analiz edilmiştir. Birinci reaksiyonda SSU-F2 (5'-TTCTAGAGCTAATACATGCG-3') ve SSU-R2 (5'-CCCTAATCCTTCGAAACAGGA-3') primerleri kullanılarak 1325 bp büyüklüğündeki DNA bölgesi; ikinci reaksiyonda ise SSU-F3 (5'-GGAAGGGTTGTATTATTAGATAAAG-3) ve SSU-R4 (5'-CTCATAAGGTGCTGAAGGAGTA-3') primerleri kullanılarak 819-825 bp büyüklüğündeki bölge amplifiye edilmiştir (4).

Nested PCR'da 1. ve 2. reaksiyon için benzer reaksiyon karışımı ve termalcycle protokolü uygulanmıştır. 25 μL'lik reaksiyon karışımı 2,5 μL 10x buffer B, 3 μL MgCl₂(25 mM), 1 μL Primer F (20 pmol/μ), 1 μL Primer R (20 pmol/μ), 0,5 μL dNTP mix (10 mM), 1 μL Genomik DNA 1 μL Taq DNA Polimeraz ve 15 μL distile sudan oluşmaktaydı. PCR için termalcycle protokolü, ön denatürasyon 95°C'de 3 dakika; denatürasyon 94°C'de 45 saniye; bağlanma 55

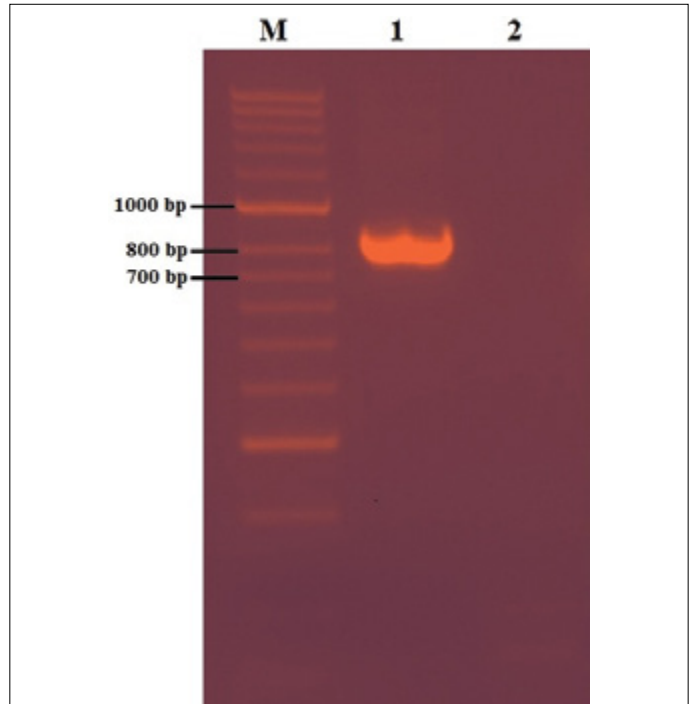
°C'de 45 saniye; uzama 72°C'de 60 saniye 35 siklus ve son uzama 72°C'de 7 dakika olacak şekilde ayarlanmıştır.

Amplifikasyon sonunda elde edilen PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutularak Gel Logic 212 Pro Jel görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir (Resim 2).

PCR sonucu jel üzerinde belirlenen ampikonlar Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega) kiti kullanılarak jelden pürifiye edilmiştir. Pürifikasyon sonrası örnekler SSU-F3 ve SSU-R4 primerleri ile çift yönlü olarak sekanslatılmıştır. DNA dizi analizi sonucu etkenin *C.parvum* olduğu belirlenmiştir.



Resim 1. Karbol fuksin boyama yöntemi ile *Cryptosporidium* spp. ookistleri (1000x)



Resim 2. *Cryptosporidium* spp. 819-825 bp uzunluğundaki Nested PCR ürününün %2'lik etidyum bromidle boyanmış agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100bp DNA ladder (Hyperladder II, BIONLINE), Hat 1. *Cryptosporidium* spp. pozitif hasta, Hat 2. negatif kontrol

Paramomisin tedavisi başlanan hastanın bir hafta içinde ishali gerilediği ancak ikinci haftada tedavinin kesilmesini takiben ishali tekrarladığı görülmüş ve nitazoksanid tedavisi başlanarak dört haftaya tamamlanmıştır. Dört hafta nitazoksanid tedavisi sonrasında yapılan dışkı analizinde ookiste rastlanmamıştır.

TARTIŞMA

Cryptosporidium parvum insanda gastroenterite neden olan intraselüler yerleşimli bir parazittir. ISS kişilerde genellikle birkaç günde kendini sınırlayan, nadiren birkaç haftaya kadar uzayan sulu veya mukuslu, karın ağrısının eşlik ettiği diyare görülürken ISB bireylerde daha ciddi enfeksiyona yol açabilmektedir (1-3). Bu nedenle *Cryptosporidium* spp. üzerinde yapılan çalışmalar genellikle ISB hastalarda yoğunlaşmıştır.

Batero ve ark. (5) ISB 111 olgu da en sık rastlanan parazitin *Cryptosporidium* spp olduğunu, Ülçay ve ark. (6) ishali ISB 36 hastanın %8,6'sında, Tanyüksel ve ark. (7) 116 kanserli hastanın %17'sinde, Yıldız ve ark. (8) 72 solid tümörlü hastanın %8,3'ünde, Eren ve ark. (9) ISB 254 hastanın %7'sinde *Cryptosporidium* spp. belirlemişlerdir. Raja ve ark. (10) Renal transplantlı ve akut ishali 644 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada hastaların %53'ünün, Rafiei ve ark. (11) 390 ISB hastanın % 4,1'inin *Cryptosporidium* ile enfekte olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda renal transplantasyonun 14. gününde bol sulu ishali başlayan bir vaka sunulmuştur. Transplantasyon yapılanlarda devam eden immunsupresyon nedeniyle cryptosporidiosis tedavisi özel önem arz etmektedir. Literatürde 2-4 hafta nitazoksanid tedavisi ile başarılı sonuçlar bildirilmiştir (12, 13).

Transplantasyon sonrası geçen süre ile gastroenterit etkenleri sıklığı değişmektedir. Altıparmak ve ark. (14) tarafından yapılan retrospektif değerlendirmede erken (0-1 ay) posttransplant dönemde gastroenterit MMF, antibiyotik ve kolşisin ile ilişkili iken, enfeksiyöz ajanları bir aydan sonra etken olarak bildirmişlerdir. Benzer şekilde Bandin ve ark. (15) tarafından yayınlanan yedi cryptosporidiosisli renal transplant vakasının değerlendirildiği çalışmada *Cryptosporidium* en erken altıncı ayda bildirilmiştir. Olgumuzda posttransplant erken dönemde, 14. günde başlayan gastroenterit sebebi olarak *Cryptosporidium* tespit edilmiştir.

SONUÇ

Cryptosporidium parvum nadir bir gastroenterit etkeni olmakla birlikte solid organ transplantasyonu yapılanlarda ciddi klinik diyare nedeni olabilmektedir. Bu olgu; immun sistemi baskılanmış ve özellikle de ishali hastalarda bu parazitin düşünülmesi ve tanının bu istikamette yönlendirilmesi gerektiğini hatırlatmıştır.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı hastadan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağlıdır.

Yazar Katkıları: Fikir - S.Y., U.Ç.; Tasarım - S.Y., U.Ç., İ.D.; Denetleme - S.Y., S.K., İ.Ş.; Kaynaklar - İ.D., S.Y.; Malzemeler - İ.D., U.Ç.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - S.Y., U.Ç., İ.D.; Analiz ve/veya Yorum - S.Y., S.K., İ.Ş.; Literatür taraması - U.Ç., İ.D.; Yazıyı Yazan - U.Ç.; Eleştirel İnceleme - S.Y.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Informed Consent: Written informed consent was obtained from the patient.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - S.Y., U.Ç.; Design - S.Y., U.Ç., İ.D.; Supervision - S.Y., S.K., İ.Ş.; Funding - İ.D., S.Y.; Materials - İ.D., U.Ç.; Data Collection and/or Processing - S.Y., U.Ç., İ.D.; Analysis and/or Interpretation - S.Y., S.K., İ.Ş.; Literature Review - U.Ç., İ.D.; Writer - U.Ç.; Critical Review - S.Y.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

1. Thompson RC, Olson ME, Zhu G, Enomoto S, Abrahamsen MS, Hijawi NS. Cryptosporidium and cryptosporidiosis. Adv Parasitol 2005; 59: 77-158. [CrossRef]
2. Ok ÜZ, Balcıoğlu İC. Cryptosporidiosis. Özcel MA, editör. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği; 2007. p. 363-82.
3. Clark DP. New insights into human cryptosporidiosis. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 554-63.
4. Xiao L, Escalante L, Yang C, Sulaiman I, Escalante AA, Montali RJ, et al. Phylogenetic analysis of Cryptosporidium parasites based on the small-subunit rRNA gene locus. Appl Environ Microbiol 1999; 65: 1578-83.
5. Botero JH, Castano A, Montoya MN, Ocampo NE, Hurtado MI, Lopera MM. A preliminary study of the prevalence of intestinal parasites in immuno compromised patients with and without gastrointestinal manifestations. Med Trop Sao Paulo 2003; 45: 197-200.
6. Ülçay A, Görenek L, Coşkun O, Araz E, Acar A, Eyigün CP. Diagnosis of intestinal protozoa in patients with immune deficiency. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2008; 32: 328-33.
7. Tanyüksel M, Gün H, Doğançlı L. Prevalence of Cryptosporidium sp. in patients with neoplasia and diarrhea. Scand J Infect Dis 1995; 27: 69-70. [CrossRef]
8. Yıldız M, Çöplü N, Kılıç S, Babür C, Öncül Ö, Esen B. İshali olan solid tümörlü hastalarda enterik patojen olarak Cryptosporidium araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2001; 25: 1-8.
9. Eren C, Mete Ö, Akpolat N, Çiçek M. Bağışıklık Sistemi Baskılanmış Bireylerde Cryptosporidium'un Elisa Ve Modifiye Aside Dirençli Boyama Yöntemi İle Araştırılması. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012; 32: 1545-53. [CrossRef]
10. Raja K, Abbas Z, Hassan SM, Luck NH, Aziz T, Mubarak M. Prevalence of cryptosporidiosis in renal transplant recipients presenting with acute diarrhea at a single center in Pakistan. J Nephrothol 2014; 3: 127-31.
11. Rafiei A, Rashno Z, Samarbazadeh A, Khademvatan S. Molecular Characterization of Cryptosporidium spp. Isolated From Immunocompromised Patients and Children. Jundishapur J Microbiol 2014; 7: e9183. [CrossRef]
12. Acikgoz Y, Ozkaya O, Bek K, Genc G, Sensoy SG, Hokelek M. Cryptosporidiosis: A rare and severe infection in a pediatric renal transplant recipient. Pediatr Transplantation 2012; 16: 115-9. [CrossRef]
13. Gerber DA, Green M, Jaffe R, Greenberg D, Mazariegos G, Reyes J. Cryptosporidial infections after solid organ transplantation in children. Pediatr Transplantation 2000; 4: 50-5. [CrossRef]
14. Altıparmak MR, Trabulus S, Pamuk ÖN, Apaydın S, Sariyar M, Öztürk R, et al. Diarrhoea following renal transplantation. Clin Transplant 2002; 16: 212-6. [CrossRef]
15. Bandin F, Kwon T, Linas MD, Guignon V, Valentin A, Cassaing S, et al. Cryptosporidiosis in paediatric renal transplantation. Pediatr Nephrol 2009; 24: 2245-5. [CrossRef]