

Mersin İlinde İlkokul Öğrencilerinde *Cryptosporidium* spp. Ookistlerinin Araştırılması

Feza OTAĞ¹, Gönül ASLAN¹, Gürol EMEKDAŞ¹, Esin AYDIN¹,
Ayşegül TAYLAN ÖZKAN², Kemal ÇEBER³

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, ²Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı,
Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Parazitoloji Laboratuvarı, Ankara, Niğde Devlet Hastanesi, Niğde

ÖZET: *Cryptosporidium*, immun sistemi baskılanmış bireylerde öldürücü diyareye neden olabilen zorunlu hücre içi yerleşim gösteren bir protozondur. *Cryptosporidium parvum* ve *Cryptosporidium hominis*'in genellikle kontamine içme ve kullanma sularıyla bulaştığı bilinmektedir. Güvenilir kesin tedavisinin olmaması ve sağlıklı bireylerde asemptomatik olarak bulunabilmesi Cryptosporidiosis'in önemini artırmaktadır. Çalışmamızda Mersin İli merkezi ve semtlerinde dört ilköğretim okulunda öğrenim gören 8-12 yaş grubu öğrencilerinden (n=72) alınan dışkı örneklerinin Modifiye Kinyoun's aside dirençli boyama (Soğuk) yöntem ve Auramin-O ile boyama yöntemi ile boyanarak *Cryptosporidium* ookistleri araştırılmıştır. Dört öğrencide %5.5 oranda *Cryptosporidium* ookisti saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Cryptosporidium*, ookist, ilköğretim okulu çocukları

Investigation of *Cryptosporidium* Oocysts in Elementary School Students in Mersin

SUMMARY: *Cryptosporidium parvum*, a protozoon, is an obligate intracellular parasite which can cause fatal diarrheal disease in immunocompromised individuals. *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* are usually known to be transmitted from fecally contaminated drinking and tap waters. Because oocysts can be detected in asymptomatic healthy individuals and no safe and effective therapy for cryptosporidial enteritis is available, the importance of cryptosporidiosis is increased. In this study, stool specimens (n=72) were collected from children, 8-12 years in age, in four elementary school in Mersin. These specimens were stained with modified Kinyoun's acid-fast (cold) and auramine O stains and examined for the oocysts of *Cryptosporidium* spp. *Cryptosporidium* oocysts were found in the specimens of 4 (5.5%) asymptomatic children.

Key Words: *Cryptosporidium*, oocyst, elementary school students

GİRİŞ

Cryptosporidium gelişmiş ülkelerde kontamine suların içilmesiyle fekal-oral yolla bulaşırken gelişmekte olan ülkelerde ise kötü hijyen şartlarına bağlı olarak ayrıca kişiden kişiye ve kontamine gıdalarla da bulaşabilmektedir (7, 8). Hastaneler, huzurevleri ve çocuk yuvaları gibi kalabalık ortamlarda bulaşmanın daha sık olduğu ve enfeksiyonun çocuklarda yetişkinlere göre daha fazla görüldüğü belirtilmektedir (3).

Günümüzde *C. parvum* hakkında yapılan çalışmalar insan ve hayvan kaynaklı *C. parvum* izolatlarının fenotip ve genotip açısından farklı olduğunu ortaya koymuştur. Hayvanlarda izole edilen parazitlerin (Tip I), insanlarda izole edilen parazit-

lerin (Tip II) genetik olarak farklı oldukları gözlenmiştir. Birkaç olgudan elde edilen izolatin hayvan kaynaklı Tip I'le genetik benzerliği, insanlarda görülen enfeksiyonların hayvan kaynaklı bulaş sonucu olabileceğini düşündürmüştür. Ancak farklı birçok çalışmada sporadik insan olgularının nedeninin Tip II parazitlerden kaynaklandığı bildirilmektedir (7)

Su kaynaklı salgınlarda Tip I parazitlerin daha fazla olduğunun tesbit edilmesi üzerine yapılan araştırmalarda su kaynaklarının yakınında bulunan çiftliklerdeki sığır gübrelerinde bol miktarda *C. parvum* ookistleri tesbit edilmiştir (7).

Ookistler nemli ortamda aylarca canlı kalabilirler. Doğada vahşi ve evcil hayvanlar konak olabilmektedirler. Dünya nüfusunun %0,6-4,3 oranında *Cryptosporidium* ile infekte olduğu tahmin edilmektedir (11).

İlimizde çeşitli semtlerde içme suyu, kullanma suyu ve atık su ile deniz suyunda *Cryptosporidium* ookistleri varlığı araştırıldı-

ğımız çalışmamızda; içme suyunda %11,36, deniz suyunda %2,85, atık su örneklerinde %21 *Cryptosporidium* ookisti saptanmıştır. Ayrıca sulama amaçlı kullanılan 2 adet kullanma suyunun birinde *Cryptosporidium* ookisti saptanmıştır (5).

Bu çalışmada; içme sularında *Cryptosporidium* ookisti araştırdığımız aynı bölge yer alan dört ilköğretim okulu öğrencilerinde *Cryptosporidium* ookisti varlığı araştırılması ve içme suyunda *Cryptosporidium* ookisti varlığı ile ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mersin İli merkezi ve semtlerine içme suyu Berdan Barajı'ndan sağlanmaktadır. Biri ana depo olmak üzere toplam 6 depodan Mersin şebekesine su gönderilmektedir. Çalışmamız merkez ve semtleri olmak üzere toplam 4 bölgeyi kapsamaktadır. Tece İlköğretim Okulu (Tece), Suphi Öner İlköğretim Okulu (Bahçelievler), Karaduvar İlköğretim Okulu, Yalınayak İlköğretim Okulu (Karaduvar), Necdet Ülger İlköğretim Okulunda (Akkent) öğrenim gören toplam 72 öğrencilerden (gönlüllük esasıyla) dışkı örnekleri alınarak *Cryptosporidium* ookisti varlığı Modifiye Kinyoun'nun aside dirençli (Soğuk) boyama yöntemi ve Auramin-O boyama yöntemi ile araştırıldı.

Modifiye Kinyoun'nun aside dirençli (Soğuk) boyama yöntemi: Lam üzerinde kurutulmuş 100 µl örnek saf metanolde 1 dakika tespit edilir. Kinyoun's karbol fuksinle 5 dak. boyandıktan sonra %50 etanolde 3-5 sn.tutulur. Su ile yıkanır %1'lik sülfirik asitle 2 dak. muamele edilir. Tekrar su ile yıkanan preparat metilen mavisi ile 1 dak. boyanır. Su ile yıkanır, kuruması beklenir ve 100X objektifte incelenir.

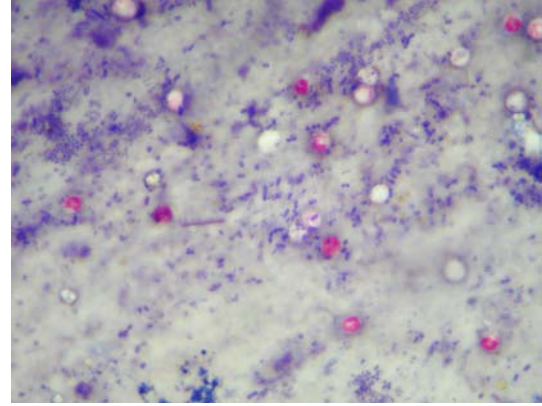
Auramin-O boyama yöntemi: Lam üzerinde kurutulmuş 100 µl örnek 72-75 °C'de yarım saat süreyle fikse edilir. Auramin-O boyası ile kaplanan preparat oda ısısında 15 dak. bekletilir. Suyla yıkanır havada kurutulduktan sonra %0,5 asit-alkol ile renk giderme işlemi yapılır. Tekrar suyla yıkanır bu kez %0,5 potasyum permanganat ile kaplanır ve 2 dak. beklenir. Suyla yıkanır havada kurutulmuş preparat floresan mikroskopunda incelenir.

BULGULAR

Öğrencilerin 39'u kız, 33'ü erkek, yaş ortalaması 9.6 olarak belirlenmiştir. Çalışma grubunda yer alan öğrencilerin 4'ünde (%5,5) her iki boyama yöntemi ile de *Cryptosporidium* ookisti varlığı belirlenmiştir (Şekil 1). Pozitif olguların ikisinin kız, ikisinin erkek olduğu belirlenmiştir. Dışkı örneklerinde saptanan *Cryptosporidium* ookistlerinin okullara göre dağılımı tablo 1'de sunulmuştur. Bu öğrencilerin tümünün Karaduvar İlköğretim okulunda öğrenci olması dikkat çekici bulunmuştur (Tablo 1).

Tablo 1. Dışkı örneklerinde saptanan *Cryptosporidium* ookistlerinin okullara göre dağılımı

Okullar	<i>Cryptosporidium</i> ookist varlığı
Tece İlköğretim Okulu (n:18)	-
Necdet Ülger İlköğretim Okulu (n:18)	-
Karaduvar İlköğretim Okulu (n:18)	4
Suphi Öner İlköğretim Okulu (n:18)	-
Toplam (n:72)	4



Şekil 1. Dışkı örneğinde *Cryptosporidium* ookistlerinin Modifiye Kinyoun'nun aside dirençli (Soğuk) boyama yöntemi ile görünümü

TARTIŞMA

Ülkelerin gelişmişlik düzeyleri, immun sistem, kalabalık ortamlarda yaşam, hayvanlarla yakın temas, sıcak ve nemli iklim gibi faktörler *Cryptosporidium* prevalansını etkilemektedir (9).

Cryptosporidium prevalansı Amerika Birleşik Devletlerinde immun sistem yetersizliği olmayan çocuklarda %6,4 (9), Suudi Arabistan'da okul öncesi beş yaş altı asemptomatik çocuklarda %4,7 olarak bildirilmektedir (2). Ülkemizde çeşitli araştırmacılar tarafından farklı bölge ve gruplardaki çalışmalarda *Cryptosporidium* prevalansı %0,4-35,5 olarak bildirilmektedir. Ülkemizdeki araştırmalarda genellikle semptomatik ve riskli gruplar seçtiğinden oranların oldukça yüksek olduğu gözle çarpılmaktadır (3). Doğan ve ark.ları (6) Eskişehir Yetiştirme Yurdu çocuklarında prevalansı %2,2 bulurken, Özdemir ve ark.ları (12) Gülhane Tıp Akademisi ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniğine başvuran başka nedenlerle endoskopi uygulanacak ancak cryptosporidiosis açısından asemptomatik 100 olgunun 3 (%3)'ünde, Akyön ve ark. ları (1) 200 sağlıklı çocuğun %3,5'inin dışkı örneğinde *C. parvum* ookisti saptanmıştır. İlimizde ishal şikayeti bulunmayan sağlıklı kişilerden oluşan aile bireylerinde yaptığımız çalışmamızda ise bu oranlarla uyumlu olarak %3,1 oranında pozitiflik tesbit edilmiştir (3).

Gelişmiş toplumlarda dışkı taramalarında asemptomatik taşıyıcılık oranları %1'in altında tesbit edilirken az gelişmiş ve

endüstrileşmemiş toplumlarda oranların %10-30'lara yükseldiği belirtilmektedir (4). Tarama amaçlı yaptığımız bu çalışmada *Cryptosporidium* ookist varlığı %5,5 olarak tesbit edilmiştir. Bu veriler özellikle Pettolla-Mantovani (10) ve Al Braiken'in (2) çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur. İlimizde Börekçi ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmaya göre daha yüksek bulunmasının nedeni Karaduvar bölgesinin özelliğinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Karaduvar deniz kıyısında tarım, hayvancılık ve balıkçılığın iç içe olduğu Mersin il merkezi ile birleşmiş il merkezine 10 km uzaklıkta yer almakta, su ve kanalizasyon sistemi yetersizdir. Çeber ve ark. (5) tarafından yapılan çalışmada Karaduvar'dan alınan içme (n: 3) ve kullanma sularının (n:1) tümünde (toplam 4 örnek) *Cryptosporidium* ookist varlığı tesbit edilmiştir. Bu çalışmada su örnekleri 10'ar litrelik temiz plastik bidonlara alınmış işleme alınmaya kadar +4 °C'de bekletilmiştir. Su örnekleri 0.45 µm'lik selüloz asetat membran filtresi (Ø, 45 mm.) (Sartorius AG, Goettingen, Almanya) bulunan vakum pompalı filtrasyon (ILDAM, Ankara) cihazından süzölmüştür. Daha sonra filtre üzerinde kalan partikülata yine aynı su örneğinin 20 ml'si içerisinde yıkanmış ve 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Dipteki çöküntünün 1.5 ml'si ependorf tüpüne alınmış ve buradan lam üzerine 100 µl konularak her bir örnek için 4 adet kalın yayma preparatları hazırlanmıştır. Bu preparatların ikisi Modifiye Kinyoun's aside dirençli boyama (Soğuk) yöntemi ile diğer ikisi Auramin-O ile boyanmıştır. Işık mikroskobu ve flouresan mikroskobunda iki mikroskopist tarafından değerlendirilmiştir. Bu bölge su örnekleri, öğrencilerden alınan dışkı örnekleri ile aynı periyot içinde alınmıştır. Bu iki çalışmada pozitifliklerin aynı bölgede belirlenmesi çocuklardaki *Cryptosporidium* ookist varlığının su kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konuda kesin verilerin elde edilmesi için moleküler çalışmalarla genotipik benzerliğin gösterilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- **Akyon Y, Erguven S, Arikan S, Yurdakok K, Gunalp A,** 1999. *Cryptosporidium parvum* prevalence in a group of Turkish children. *Turk J Pediatr*, 41(2):189-96.
- 2- **Al-Braiken FA, Amin A, Beeching NJ, Hommel M, Hart CA,** 2003. Detection of *Cryptosporidium* amongst diarrhoeic and asymptomatic children in Jeddah, Saudi Arabia. *Ann Trop Med Parasitol*, 97:505-10
- 3- **Börekçi G, Otağ F, Emekdaş G,** 2005. Mersin'de bir gecekondu mahallesinde yaşayan ailelerde *Cryptosporidium* prevalansı. *İnfeksiyon Derg*, 19(1): 39-46
- 4- **Current WL, Garcia LS,** 1991. Cyriptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev*, 4: 325-58
- 5- **Çeber K, Aslan G, Otağ F, Delialioğlu N, Öztürk C, Babür C, Emekdas G,** 2005. Mersin İlinde İçme, Kullanma, Atık ve Deniz Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookistlerinin Saptanması. *Türkiye Parazitol Derg*, 29(4):224-228.
- 6- **Doğan N, Akgün Y,** 1998. İshalli olgularda *Cryptosporidium* ookistlerinin araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 22: 243-246.
- 7- **Döşkaya M, Dayangaç N, Kuman HA,** 2003. *Cryptosporidium parvum*. *Türkiye Parazitol Derg*, 27(1): 64-70.
- 8- **Fayer R, Morgan U, Upton SJ,** 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol*, 30:1305-1322.
- 9- **Hunter PR, Nichols G,** 2002. Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*, 15: 145-54
- 10- **Pettoello-Mantovani M, Di Martino L, Dettori G, Vajro P, Scotti S, Ditullio MT, Guandalini S,** 1995. Asymptomatic carriage of intestinal *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunodeficient children. A prospective study. *Pediatr Infect Dis J*, 14:1042-1047.
- 11- **Redlinger T, Corella-Barud V, Graham J, Galindo A, Avitia R, Cardenas V,** 2002. Hyperendemic *Cryptosporidium* and *Giardia* in households lacking municipal sewer and water on the United States-Mexico Border. *Am J Med Trop Hyg*, 66(6): 794-798.
- 12- **Özdemir ET Tanyüksel M, Kuştimur S, Araz E, Uygun A, Can C, Tunçer C,** 2002. Cryptosporidiosis açısından asemptomatik olan bireylerde *Cryptosporidium parvum* araştırılması. *Gülhane Tıp Dergisi*, 44(3):249-253