

Gaita Örneklerindeki Protozoonların Trikróm Boyası Kullanılarak Değerlendirilmesi

Berna AYKAN¹, Kayhan ÇAĞLAR¹, Semra KUŞTİMUR¹

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 06500 Beşevler, Ankara

ÖZET: Bağırsak protozoonlarının tanısında morfolojik inceleme, patojen olan ve olmayan türlerin ayırt edilmesinde bugün halen geçerli olan bir yöntemdir. Kalıcı boyama yöntemleri ise hazırlanan gaita preparatının daha sonra incelenebilmesine olanak sağlaması ve protozoonların morfolojik yapılarını iyi bir şekilde ortaya koyması nedeniyle tercih edilir. Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına inceleme için gönderilen 2141 adet gaita örneği trikróm boyası ile boyanarak incelenmiştir. İncelenen 2141 gaita örneğinden 165'inde toplam 181 adet (%7,70) parazit organizma bulunduğu gözlenmiştir. Yedi örnekte helmint varlığı saptanmıştır. Gaita örneklerinde toplam 174 adet protozoon bulunmuş ve trikróm boyası ile değerlendirilmiştir. Çalışmamız sonucunda, genel olarak trikróm boyama yöntemi bağırsak protozoonlarının değerlendirilmesinde %87,93 oranında başarılı bulunmuştur. Sonuç olarak, patojen olan ve olmayan protozoonların tür düzeyinde tanısında direkt incelemenin yanında trikróm boyama yönteminin kullanılmasının tanıyı daha güvenilir kıldığı görülmektedir.

Anahtar sözcükler: Protozoon, gaita, trikróm boyama.

Evaluation of the Protozoa Found in Fecal Samples Using the Trichrome Staining Method

SUMMARY: The morphological diagnosis of intestinal protozoa is a widely accepted method today. A permanent staining method is preferred since it can visualize the morphological details of protozoal cysts and it allows the stool specimens to be reevaluated later. In this study, 2141 stool specimens sent to the clinical microbiology laboratory of the Gazi University Hospital were examined using the trichrome staining method. We determined 181 parasitic organisms in 165 (7.70%) of these 2141 specimens. Helminthic organisms were detected in seven of these samples. Protozoa were found in 174 specimens evaluated with the trichrome staining method. In our study, trichrome staining was found to be 87.93% successful in the identification of intestinal protozoa. In conclusion, it was seen that the trichrome staining method could make a reliable diagnosis possible when used in addition to the direct examination of the stool specimens in the identification of intestinal pathogenic and nonpathogenic protozoa to the species level.

Key words: Protozoa, stool, trichrome staining

GİRİŞ

Bağırsak parazitleri toplumumuzun her yaş ve her kesiminde ve yurdumuzun tüm bölgelerinde yaygın olarak görülmektedir (16). Bağırsak protozoonlarının tanısı amacı ile gaita örneklerinin mikroskopik incelemelerinde, ancak bir çok yöntem bir arada kullanıldığında tatmin edici sonuçlar alınmaktadır. Gaita örneklerinin serum fizyolojik ve iyot solüsyonları kullanılarak direkt incelemesi, tüm dünyada bağırsak parazitolojilerinin tanısında yaygın olarak kullanılan ve birçok önemli infeksiyon da tanıya olanak sağlayabilen

yöntemlerdir (15). Ancak rutin olarak uygulanan bu yöntemlerin parazit organizmayı tanımlamada yetersiz kaldığı durumlarda, kalıcı boyama yöntemleri, hazırlanan gaita preparatının daha sonra incelenebilmesine olanak sağlaması ve yapıları tespit edilebilir derecede boyaması sebebiyle tercih edilir.

Çalışmamızın amacı, klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen gaita örneklerinde bulunan protozoon kistlerinin trikróm boyası ile değerlendirilmesi ve tür düzeyinde tanımlanmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına 26 Mart - 22 Haziran 2001 tarihleri arasında inceleme için yollanılan 2141 adet gaita

Geliş tarihi/Submission date: 07 Ekim/07 October 2004
Düzeltilme tarihi/Revision date: 29 Kasım/29 November 2004
Kabul tarihi/Accepted date: 13 Aralık/13 December 2004
Yazışma /Corresponding Author: Kayhan Çağlar
Tel: (+90) (312) 202 46 32 Fax: -
E-mail: kcağlar@gazi.edu.tr

örneği öncelikle serum fizyolojik ve iyot solüsyonları kullanılarak direkt olarak incelenmiştir. Protozoon içerdiği görülen ya da protozoon kistine benzer şüpheli yapılar izlenen örnekler, ayrıca trikrom boyama işlemine tabi tutularak bağırsak protozoonları açısından değerlendirilmiştir.

Protozoonlar boyutları, şekilleri, çekirdek yapıları, karyozomların bulunuş ve yerleşimi, çekirdekteki kromatin dağılımı, kromatoid cisimler, vakuoller ve çeşitli inklüzyon cisimlerinin bulunuşları ve görünüşleri gibi çeşitli morfolojik özellikleri değerlendirilerek tanımlanmıştır.

BULGULAR

Gaita örnekleri önce serum fizyolojik ve iyot solüsyonları ile direkt mikroskopik incelenmeye alınmıştır. 2141 örneğin direkt incelenmesi sonucu 165 örnekte (%7,70) toplam 181 parazit organizma varlığı saptanmıştır. 165 gaita örneğinin 7'sinde helmint varlığı (bir örnekte *Ascaris lumbricoides* yumurtaları, üç örnekte *Taenia* segmentleri ve yumurtaları, bir örnekte *Enterobius vermicularis* erişkin formu, bir örnekte *Strongyloides stercoralis* larvası ve bir örnekte de *Hymenolepis nana* yumurtaları); geri kalan 158 gaita örneğinde ise protozoon varlığı (kist, trofozoit ve kist bezeri yapılar) saptanmıştır. Helmint görülen gaita örneklerinden birinde aynı zamanda bir protozoonun da bulunduğu gözlenmiştir. Böylece toplam 159 gaita örneğinde protozoon varlığı saptanmış ve bu örnekler trikrom boyası ile incelemeye alınmıştır.

Protozoon yönünden incelenen 159 gaita örneğinin 151'inde sadece kist veya kist ile birlikte trofozoit olduğu görülmüş, 8 örnekte ise sadece trofozoit varlığı gözlenmiştir. Bu 151 örneğin 15'inde iki farklı protozoonun bir arada bulunduğu saptanmış, böylece toplam olarak 174 ayrı protozoon örneği trikrom boyama ile incelenmiştir. Kist ve kist ile birlikte trofozoit yapıları görülen 166 protozoonun 153'ü trikrom boyama işlemi sonrasında yapılan mikroskopik inceleme ile tanımlanmış ve tür tayini yapılmıştır. Geri kalan 13 kist yapısı boyama sonucu izlenememiştir. Sadece trofozoit içeren 8 örnekteki trofozoit yapıları da trikrom boyası ile tanımlanamamıştır. Bu sekiz örnekten hazırlanan preparatlarda trofozoit yapıları ya görülememiş ya da iyi boyanmadıkları için tanımlanamamışlardır. Toplam olarak 174 protozoon içeren örneğin trikrom boyama işlemi sonucunda 153'ü tür düzeyinde tanımlanmış, 21'i ise (13 kist yapısı ile sekiz trofozoit yapısı) tanımlanamamıştır. Çalışmamız sonucunda, trikrom boyama yöntemi genel olarak bağırsak protozoonlarının değerlendirilmesinde %87,93 oranında başarılı bulunmuştur. Kist bulunan gaita örnekleri ele alındığında ise, boyama sonucunun daha başarılı olduğu ve trikrom boyasının kistleri boyamada trofozoitlere göre daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Buna göre sadece trofozoit içeren sekiz gaita örneği değerlendirme dışı bırakıldığında, kist

içeren 166 gaita örneğinin trikrom boyama yöntemini ile incelenmesi sonucunda %92,16 oranında başarı elde edilmiştir (166 gaita örneğinden 153'ü tanımlanmıştır).

İki örnekte görülen trofozoit yapıları direkt inceleme sonucunda *Trichomonas hominis* olarak değerlendirilmiş, dört örnekte görülen trofozoit yapıları direkt inceleme sonucu *Chilomastix mesnili* olarak değerlendirilmiş ancak bu yapılar trikrom ile boyama işlemi sonucunda izlenememiştir.

Bu boyama sonuçlarına göre 174 protozoonun dağılımı tablo 1'de görülmektedir. Tanımlanan protozoonların 50'si (%28,73) *Blastocystis hominis*, 39'u (%22,41) *Giardia lamblia* kisti (bu 39 örneğin dördünde *Giardia lamblia* kist ve trofozoitleri görüldü), 35'i (%20,11) *Entamoeba coli* kisti (bu 35 örneğin üçünde *Entamoeba coli* kist ve trofozoiti bir arada görüldü), 12'si (%6,89) *Iodamoeba bütschlii* kisti (bu 12 örneğin dördünde *Iodamoeba bütschlii* kist ve trofozoiti bir arada görüldü), 9'u (%5,17) *Entamoeba histolytica/E. dispar* kisti (bu dokuz örneğin üçünde *Entamoeba histolytica/E. dispar* kist ve trofozoiti bir arada görüldü), 6'sı (%3,44) *Endolimax nana* kisti, 2'si (%1,14) de *Chilomastix mesnili* kist ve trofozoiti olarak tanımlanmıştır.

Tablo 1. 174 protozoonun trikrom boyası ile değerlendirme sonuçları.

Parazitin Adı	Saptanan Sayı	%
<i>Blastocystis hominis</i>	50	28,73
<i>Giardia lamblia</i>	39	22,41
<i>Entamoeba coli</i>	35	20,11
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	12	6,89
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	9	5,17
<i>Endolimax nana</i>	6	3,44
<i>Chilomastix mesnili</i>	2	1,14
Değerlendirilemeyen	21	12,06
Toplam	174	100

İncelenen gaita örneklerinin 15'inde iki ayrı protozoonun birlikte bulunduğu saptanmıştır. Bu örneklerin birinde *Entamoeba histolytica/E. dispar* ve *E. coli* kist ve trofozoitlerinin bir arada bulunduğu gözlemlenmiştir. Geri kalan 14 gaita örneğinin hepsinde bir protozoona ek olarak *Blastocystis hominis*'in bulunduğu gözlenmiştir. Buna göre *B. hominis*'e ek olarak yedi örnekte *E. coli*, üç örnekte *E. histolytica/E. dispar*, iki örnekte *I. bütschlii*, bir örnekte *C. mesnili*, bir örnekte de *G. lamblia* gözlenmiştir. Bir gaita örneğinde de *Enterobius vermicularis* erişkin şekli ile *E. coli*'nin birlikte bulunduğu gözlemlenmiştir. İncelenen 2141 örnekte saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı tablo 2'de izlenmektedir.

Tablo 2. İncelenen 2141 adet gaita örneğinde saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı.

Parazit Adı	Saptanan Sayı
<i>Blastocystis hominis</i>	50
<i>Giardia lamblia</i>	39
<i>Entamoeba coli</i>	35
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	12
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	9
<i>Endolimax nana</i>	6
<i>Chilomastix mesnili</i>	6
<i>Trichomonas hominis</i>	2
<i>Taenia spp.</i>	3
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1
<i>Enterobius vermicularis (erişkin formu)</i>	1
<i>Hymenolepis nana</i>	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1
Değerlendirilemeyen	15
Toplam	181

TARTIŞMA

Gaita örneklerinin mikroskopik incelemesinde uygulanan yöntemler; hastanın şikayetlerine, gaita örneğinin kıvamına, kan ve / veya mukus içerip içermemesine, laboratuvar çalışanlarının niteliklerine, malzemelerin çeşitliliğine, zamanın kısıtlı veya bol olmasına, hatta hastanın bağışıklık durumuna göre de farklılık gösterebilir (14). En sık kullanılan yöntemler serum fizyolojik ve iyot solüsyonu ile direkt olarak inceleme; yüzdürme ya da çöktürme ile konsantrasyon metodu ve kalıcı boyalı preparatla yapılan incelemelerdir. En sık kullanılan kalıcı boyama yöntemlerinden biri de trikrom boyama yöntemidir (1, 3, 14). Trikrom boyama yöntemi, bağırsak protozoonların tanınmasında, parazit organizmaların artefaklardan, konak hücrelerinden, maya hücrelerinden ayırt edilmesinde kullanılan bir kalıcı boyama yöntemidir. Konsantrasyon işlemi uygulanmış gaita örneklerine uygulanabileceği gibi taze gaita örneklerine de başarıyla uygulanabilmektedir (9). Biz çalışmamızı taze gaita örnekleri ile gerçekleştirdik.

Trikrom boyama yönteminin en önemli avantajları; iyi boyanan organizmaların yapılarını ayrıntılı olarak göstermesi, direkt incelemede gözden kaçabilecek protozoonların daha kolay tanınabilmesi, preparatın bozulmadan da uzun süre saklanabilmesi ve pozitif örneklerin kontrol amaçlı kullanılabilmesidir (13, 14, 15). Trikrom boyama yönteminin dezavantajı; tanının morfolojik esaslara göre yapılması nedeniyle *Entamoeba histolytica* gibi patojenliği ispat edilmiş türün *Entamoeba dispar*'dan ayırımını sağlamakta yetersiz kalmasıdır. Bu sebeple çalışma sonuçlarımızı verirken iki türü bir arada belirttik. Bu iki amip türü kültür ve izoenzim analizi yapılarak birbirinden ayırt edilebilmektedir Ancak zaman alıcı

olan kültür ve izoenzim analizi yöntemlerine alternatif olarak, gaitada antijen saptanması veya polimeraz zincir reaksiyonu ile *E. histolytica* 'ya spesifik DNA'nın tespiti gibi yöntemler de başarılı bir şekilde kullanılabilir (8). Yine bu iki amip türünün tespitinde ve birbirinden ayırt edilmesinde son yıllarda yüksek duyarlılık ve özgüllüğü olan real-time PZR yöntemi de direkt gaita örneklerine uygulanabilmektedir (2).

İyi derece de fiksasyonu yapılmamış yaymalarda boyama sonucu protozoonların morfolojik farklılıkları yeterli ölçüde gözlenmemektedir (9). Bazı araştırmacılar trikrom boyama yönteminde fiksatif olarak, hazırlanması kolay ve ucuz olan SAF (sodyum asetik asit formalin) fiksatifini tercih etmişler ve bu fiksatifte saklanmış gaita örneklerine uyguladıkları trikrom boyası sonunda başarılı sonuçlar elde etmişlerdir (6, 9, 17). Tanrıverdi S. ve Özcan K. (17) SAF ve Schaudinn fiksatifine alınan gaita örneklerine, klasik trikrom boyama işlemi uyguladıktan sonra sonuçları karşılaştırdıklarında her iki fiksatifin de trikrom boyama işleminde aynı derecede etkili olduğunu bulmuşlar ve uygulama sonucunda %93,05 oranında başarı elde etmişlerdir. Biz de Schaudinn fiksatifini kullanarak yaptığımız klasik trikrom boyama yöntemi sonucu 174 adet protozoonun değerlendirilmesinde %87,93 oranında başarılı olduk.

Schaudinn fiksatifinde bulunan civa klorürün toksik olması nedeniyle, Garcia ve ark. (5) Schaudinn fiksatifinin hazırlanmasında kullanılan civa klorür yerine çinko sülfat kullandıkları çalışmalarını sonucunda, boyama kalitesinin yüksek olmasa da, civa klorür yerine çinko sülfat kullanılabilirliğini belirtmişlerdir. Ayrıca civa klorür yerine, bakır sülfatın da kullanılabilirliğini ancak bunun da civa klorür kadar başarılı olmadığını belirtmişlerdir. Pietrzak-Johnston ve ark. (7) toksik madde içermeyen, imha edilmesi kolay olan Ecofix, SAF, Parasafe, Proto-fix, STF (Streck Tissue Fixative) gibi çeşitli ticari fiksatifleri gaita örneklerindeki helmint ve protozoonların tanımlanmasında kullanmışlar ve çalışmalarının sonucunda Ecofix'in kalıcı boyalı preparat hazırlamada PVA (Polivinil alkol) ve Schaudinn fiksatifleri kadar ayırıcı tanıda başarılı olduğu bildirilmiştir. STF ile fikse edilmiş örneklerin zayıf preservasyon nedeniyle özellikle amiplerin tür ayırımında yetersiz kaldığı bildirilmiştir. Nace ve ark.'nın (11) STF fiksatifini ile yaptıkları inceleme sonuçları da Johnston ve ark.'ın elde ettikleri sonuçlarla tutarlılık göstermektedir. Garcia ve Shimizu (4), Ecofix fiksatifinde sakladıkları gaita örneklerini Ecostain ve Wheatley'in trikrom boyaları ile boyadıktan sonra sonuçları değerlendirmiş ve Ecofix'in kalıcı boyalı preparat hazırlamada başarıyla kullanılabilirliğini belirtmişlerdir.

Gubash ve Milburn (6), toksik özellikleri bulunan ksilen ve karbol ksilen solüsyonları yerine doymamış hidrokarbon ürünü içeren; Hemo-De, Histoclear, BDH xylene ve Shandon xylene gibi ticari substratlar kullanmışlardır. Sonuçta BDH

xylene substratınının daha başarılı olduğunu bulmuşlar ve boyama sonucunun kalitesinde fiksasyonun önemi kadar dehidratasyon ve boya artıklarının giderilmesi işleminin de önemli olduğunu göstermişlerdir.

İyi tespit edilmiş gaita yaymalarında, organizmaların boyanma özellikleri sabittir. Protozoon yapıları ile zemin arasındaki renk kontrastı organizmaların fark edilmelerini sağlar. Boyanmamış yada kırmızı boyanmış kistler ise yetersiz ya da geç tespit yapıldığının göstergesidir (3, 9, 10, 15). *Entamoeba coli* kistlerinin kalın çeperli olmaları sebebiyle fiksatifte uzun süreli tutulmaları önerilmektedir, çalışmamızda direkt incelemede *E. coli* kisti olduğunu belirlediğimiz örnekleri bu sebeple uzun süre fiksatifte tuttuk ve bazı kistlerin yine de pembe-kırmızı boyandığını gördük. Bu durumu fiksasyonun yetersizliğine bağladık. Ancak bu karakterde boyanan kistlerin tamamında çekirdek ve kromatin yapıları incelenebilmiş ve tanımlanabilmiştir. Uzun süre fiksatifte bekletilen örneklerde bulunan olgunlaşmamış *E. coli* kistlerinin ise oldukça koyu renkte ve kötü kalitede boyandıkları ve bu kistlerin çabuk fiske olduğu tecrübe edilmiştir.

Ok ve ark. (12, 13, 14) trikrom boyası kullanarak yaptıkları çalışmalarda rutin parazitolojik gaita incelemelerinde, özellikle de *B. hominis*, *E. nana*, *C. mesnili*, *E. hartmanni*, *E. histolytica* ve *Dientamoeba fragilis* tanısında, trikrom boyama yönteminin diğer yöntemlere göre daha başarılı olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda trikrom boyama yönteminin *E. histolytica/E. dispar*, *E. coli*, *B. hominis*, *G. lamblia*, *C. mesnili* ve *E. nana* kistleri tanısında oldukça faydalı olduğunu gözlemledik.

Tanyüksel ve ark.(18), amebiyaz tanısında kullanılan mikroskopik yöntemlerle serolojik yöntemleri karşılaştırmışlar ve mikroskopinin yanında standardize edilmiş bir serolojik test kullanımının yararlı olacağını belirtmişlerdir.

Yau ve ark. (19), dışkıda direkt parazite ait antijenik yapının gösteriminin patojen olan ve olmayan türlerin ayrımında çok faydalı olduğunu ancak bu yöntemlerin ancak taze dışkı örneklerine uygulandığında başarılı olduğunu belirtmişlerdir. Farelerde kendi ürettikleri monoklonal antikorları kullanarak SAF fiksatifinde sakladıkları dışkı örneklerindeki *E. histolytica* trofozoitlerini başarılı ile tanımlamışlardır.

Çalışmamız ile, özellikle patojen olan ve olmayan protozoonların tür düzeyinde tanısında, direkt incelemenin yanında gaita örneğinin uygun fiksatif kullanıldıktan sonra kalıcı boyama yöntemi ile incelenmesinin tanıyı daha güvenilir kılacağı görülmektedir. Özellikle de *E. histolytica/E. dispar*'nın diğer amip kistlerinden ayırt edilmesi için, trikrom boyama yönteminin uygulanmasının gerektiğini düşünmekteyiz. Ancak bu iki *Entamoeba* türünün de ayrıntılı tanısının gerektiğini ve antijen tespiti veya moleküler yöntemler bir ileri tanı yöntemi kullanılarak *E. histolytica* ve *E. dispar* ayrımının yapılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. **Balcı MK, Aydoğdu S, Koç Ö, Yeşilbaş B, Yurdaydın C, Özden A**, 1990. Sosyokültürel düzeyi farklı okullarda parazit sıklığı ve parazit tespitinde kullanılan yöntemlerin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bült*, 24: 368-378.
2. **Blessmann J, Buss H, Ton Nu PA, Dinh BT, Ngo QTV, Van AL, Abd Alla MD, Jackson TFHG, Ravdin JI, Tannich E**, 2002. Real-time PCR for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in fecal samples. *J Clin Microbiol*, 40: 4413-4417.
3. **Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS**, eds., 1994. Laboratory methods for diagnosis of parasitic infections. Bailey & Scott's *Diagnostic Microbiology*. Eleventh Edition. St Louis: Mosby Company, p. 604-698.
4. **Garcia LS, Shimizu RY**, 1998. Evaluation of intestinal protozoan morphology in human fecal specimens preserved in Ecofix: Comparison of Wheatley's trichrome stain and EcoStain. *J Clin Microbiol.*, 36: 1974-1976.
5. **Garcia LS, Shimizu RY, Shum A, Bruckner DA**, 1993. Evaluation of intestinal protozoan morphology in polyvinyl alcohol preservative: comparison of zinc-sulfate- and mercuric chloride-based compounds for use in Schaudinn's fixative. *J Clin Microbiol*, 31: 307-310.
6. **Gubash SM, Milburn L**, 1990. Use of terpene-based products, with and without anhydrous alcohol, as clearing agent in trichrome staining technique for intestinal protozoa. *J Clin Microbiol*, 28: 610-611.
7. **Piertzak-Johnston SM, Bishop H, Wahlquist S, Moura H, DaSilva ND, Da Silva SP, Nguyen-Dinh P**, 2000. Evaluation of commercially available preservatives for laboratory detection of helminths and protozoa in human fecal specimens. *J Clin Microbiol*, 38: 1959-1964.
8. **Haque R, Ali IKM, Akther S, Petri WA**, 1998. Comparison of PCR, isoenzyme analysis and antigen detection for diagnosis *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol*, 36: 449-452.
9. **Garcia LS**, 1992. Microscopic examination of fecal specimens: Permanent stained smear (Trichrome). Isenberg HD. eds. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Volume II USA: ASM pres. p. 7.3.6.1.-7.3.6.6.
10. **Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC**, eds., 1992. *Parasitology. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fourth Edition. Philadelphia: Lippincott Company, p. 951-952.
11. **Nace EK, Steurer FJ, Eberhard ML**, 1999. Evaluation of streck tissue fixative, a nonformalin fixative for preservation of stool samples and subsequent parasitologic examination. *J Clin Microbiol*, 37: 4113-4119.
12. **Ok ÜZ, Kavaklı K, Çetingül N, Öztıp S, Nişli G, Üner A, Özcel MA**, 1995. Kemoterapi uygulanan tümörlü çocuklarda bağırsak parazitlerinin sıklığı. *T Parazitol Derg*, 19: 385-390.

13. **Ok ÜZ, Yereli K**, 1996. Parazitoloji laboratuvarlarında sık kullanılan dışkı inceleme yöntemlerinin değerlendirilmesi. *T Parazitol Derg*, 20: 285-292.
14. **Ok ÜZ, Korkmaz M, OK GE, Özkan AT, Özcel MA**, 1996. Bağırsak protozoasının tanısında Nativ-lugol, Formol-eter konsantrasyon ve Trichrome boyama yöntemlerini karşılaştırılması. *T Parazitol Derg*, 20: 75-82.
15. **Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E**, 1997. Dışkı inceleme yöntemleri. Bölüm 1. Parazit Hastalıklarında Tanı. Editörler: Özcel M.A., Altıntaş N., 1-61, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 15,
16. **Saygı G**, 1992. Son yirmi yılda bağırsak parazitleri ile ilgili olarak yapılan yayınların irdelenmesi. *T Parazitol Derg*, 16: 161-189.
17. **Tanrıverdi S, Özcan K**, 1993. Amöbiyaz'ın tanısında doğrudan serum fizyolojik yöntemi ile klasik Trichrome, Alger'in Modifiye Trichrome'u, Celestine Blue B ve Celestine Blue B + Trichrome boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. *T Parazitol Derg*, 17: 1-9.
18. **Tanyüksel M, Egüven S, Tanrıöver B, Baylan O, Gün H**, 1995. Amoebozis tanısında kullanılan mikroskopinin serolojik yöntemlerle (IFA, ELISA) karşılaştırılması. *T Parazitol Derg*, 19: 476-482.
19. **Yau YC, Crandall I, Kain KC**, 2001. Development of monoclonal antibodies which specifically recognize *Entamoeba histolytica* in preserved stool samples. *J Clin Microbiol*, 39: 716-719.