

Mersin İlinde İçme Suyu, Kullanma Suyu, Atık Su ve Deniz Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookistlerinin Araştırılması

Kemal ÇEBER¹, Gönül ASLAN², Feza OTAĞ², Nuran DELİALIOĞLU²,
Candan ÖZTÜRK², Cahit BABÜR³, Gürol EMEKDAŞ²

¹Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, ²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, ³Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı,
Salgın Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Ankara

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 cryptosporidiosisin önemini artırmaktadır. Çalışmamız Mersin il merkezi ve çevresinde içme (44 örnek), kuyu (2 örnek), atık (19 örnek) ve deniz (35 örnek) sularından alınan toplam 100 örnekte *Cryptosporidium* ookisti araştırmak amacıyla yapılmıştır. İçme sularında 5, kullanma sularında 1, deniz suyu örneklerinde 1, atık sularında 4 örnekte *Cryptosporidium* ookisti saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Cryptosporidium*, ookist, içme suyu, kuyu suyu, deniz suyu, atık su

Investigation of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in Tap Water, Well Water, Sewage Water and Sea Water in Mersin, Turkey

SUMMARY: *Cryptosporidium* spp. are protozoa which only live in a host cell and may cause an infection that may result in the death of people with immune deficiency. It is known that *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* infections may be spread by contaminated well and tap waters. The facts that there is no certain and reliable cure and that the organisms may be found asymptotically in the healthy people increases the importance of cryptosporidiosis. Our study has been performed in the city of Mersin and surrounding areas. A total of 100 samples of water were taken from taps (44 samples), wells (2 samples), the sea (35 samples) and sewage (19 samples) to investigate the presence of *Cryptosporidium* oocysts. *Cryptosporidium* oocysts have been detected in 5 samples of tap water, one sample of well water, one sample of sea water and 4 samples of sewage water.

Key words: *Cryptosporidium*, oocyst, tap water, well water, seawater, sewage water

GİRİŞ

Cryptosporidiosis etkeni *Cryptosporidium parvum*, endemik ve epidemik boyutlarda enterite yol açabilen yaygın bir protozoon parazittir. *Cryptosporidium* gelişmiş ülkelerde kontamine suların içilmesiyle fekal-oral yolla bulaşırken gelişmekte olan ülkelerde ise daha çok da kötü hijyen şartlarına bağlı olarak ayrıca kişiden kişiye ve kontamine gıdalarla da

bulaşabilmektedir. Toplumda sporadik cryptosporidiosis bulaşma şeklinin diğer salgınlardan farklı bir şekilde olması muhtemeldir. Büyük salgınlar asıl olarak bir çok kaynaktan gelen içme suyundan veya dinlenmiş suyla temasından kaynaklanmaktadır. Bulaş yolları içerisinde; yüzme havuzları, göl, kişiden kişiye doğrudan veya dolaylı bulaşma, çiğ süt içilmesi, infekte hayvan ile temas, kontamine sebze ve meyvelerin yenilmesi ve endemik ülkelere seyahat sayılabilir (5,7,12).

C. parvum, çeşitli yollarla bulaşabilmesine rağmen şimdilerde suyla bulaşan önemli bir infeksiyon etkeni olarak kabul edilmektedir. Kanada ve İngiltere'de 1992'den itibaren tanı laboratuvarlarında *Cryptosporidium* ookistleri fekal örneklerde rutin olarak incelenmeye başlanmıştır (10).

Geliş tarihi/Submission date: 10 Ağustos/10 August 2005

Düzeltilme tarihi/Revision date: 24 Ekim/24 October 2005

Kabul tarihi/Accepted date: 28 Kasım/28 November 2005

Yazışma /Corresponding Author: Kemal Çeber

Tel: (+90) (324) 337 43 00/1189 Fax: (+90) (324) 337 43 05

E-mail: kceber@harran.edu.tr

IV.Sindirim Yolu ile Bulaşan İnfeksiyonlar Simpozyumu'nda (16-20 Mayıs 2005, Mersin) sunulmuştur.

Cryptosporidiosis immünkompetan kişilerde kendi kendini sulu diyareyle sınırlanırken immünsüpre insanlarda hayatı tehdit edecek kadar ciddi olabilir. Bu nedenle epidemiyolojik çalışmalar daha çok HIV pozitif ve başka sebeple immünsüpre olan kişiler üzerinde yoğunlaşmıştır (9).

Suyun klorlanması yeterli koruma sağlamamaktadır. Suyun bir dakika süreyle kaynatılması, veya 20 dakika iyodine muamele edilmesi, ya da filtre edilmesi ookistlerin etkisiz hale getirilmesi/uzaklaştırılması için kolay ve etkili yöntemlerdir, ancak belediyeler için şehir şebeke sularına uygulanması pratik değildir (17). Ookistler nemli ortamda aylarca canlı kalabilirler. Doğada vahşi ve evcil hayvanlar konak olabilmektedirler. Dünya nüfusunun %0,6-4,3 'ünün *Cryptosporidium* ile infekte olduğu tahmin edilmektedir (17). Cryptosporidiosisle ilgili risk faktörlerinin araştırıldığı çalışmalarda geniş aile yapısının, düşük sosyo-ekonomik durumun ve yaşın etkili olduğu saptanmıştır (1, 3, 17).

İnsan yaşamının vazgeçilmez unsurlarından olan su sınırlı bir kaynaktır. Dünya nüfusunun ve sanayi üretiminin hızla artışına rağmen su kaynaklarının sabit olması bu kaynakların kirlenmesi ve tüketilmesine neden olmaktadır. Dünya nüfusunun %40'ını barındıran 80 ülke şimdiden su sıkıntısı çekmektedir. Bu nedenle su kaynakları çok iyi değerlendirilmeli ve bilinçli atık su yöntemleri ile hayat kalitesini bozmadan alınacak önlemlerle su kaynaklarımızın kirlenmesi önlenmelidir.

Akdeniz'in nemli iklimine sahip kıyı şehri Mersin il merkezi ve çevresinde içme suyu, kuyu suyu ve atık su ile deniz suyunda *Cryptosporidium* ookistlerinin varlığının araştırılması amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mersin il merkezi ve çevresinde içme suyu Berdan Barajı'ndan sağlanmaktadır. Biri ana depo olmak üzere toplam 6 depodan Mersin şebekesine su gönderilmektedir. Çalışmamız merkez ve çevre yerleşim bölgeleri olmak üzere toplam 15 bölgeyi kapsamaktadır.

Örnek toplama ve analiz: Depolardan dağılan içme suyu ve kuyu suyu ile atık su ve deniz suyu örnekleri 10'ar litrelik temiz plastik bidonlara alınmıştır. Tüm su örnekleri işleme alınmaya kadar +4 °C'de bekletilmiştir (15). Su örnekleri 0.45 µm'lik selüloz asetat membran filtresi (Ø, 45 mm.) (Sartorius AG, Goettingen, Almanya) bulunan vakum pompalı filtrasyon (ILDAM, Ankara) cihazından süzülmiştir. 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 preparatlar hazırlanmıştır. Bu preparatların ikisi Modifiye Kinyoun's aside dirençli boyama (Soğuk) yöntemi ile diğer ikisi Auramin-O ile boyanmıştır. Işık mikroskobu ve floresan mikroskobunda iki mikroskopist tarafından değerlendirilmiştir (13, 15, 19).

İçme suyu örnekleri: Altı adet ana su deposunun beslediği Güney, Kuzey, Doğu ve Batı mahallelerindeki (Bahçelievler, Zeytinlibahçe, Akkent, Karaduvar, Viranşehir, Davultepe, Tece) okul ve evlerdeki musluklardan toplam 44 adet içme suyu örneği alınmıştır.

Kuyu suyu örnekleri: Karaduvar ve Bahçelievler bölgelerinden sulama amaçlı kullanılan kuyu kaynaklarındaki tulumba ağzlarından toplam 2 adet örnek alınmıştır.

Deniz suyu örnekleri: Karaduvar, Liman, Atatürk Parkı, Yenişehir, Mezitli, Viranşehir Davultepe, Tece, Çeşmeli, Tömük, Kargıpınarı ve Arpaçbahşiş bölgelerinde deniz kıyısından 20 m içeriden olmak üzere toplam 35 adet örnek alınmıştır.

Atık su örnekleri: Karaduvar, Liman, Atatürk Parkı, Yenişehir, Mezitli, Viranşehir, Davultepe, Tece, Çeşmeli, Tömük, Kargıpınarı ve Arpaçbahşiş bölgelerinden toplanan atık suları ise suyun denize bırakıldığı ilk ağız yerlerinden toplam 19 adet örnek alınmıştır.

Modifiye Kinyoun's aside dirençli (Soğuk) boyama yöntemi: Lam üzerinde kurutulan 100 µl örnek saf metanolde 1 dakika tespit edildi. Kinyoun's karbol fuksinle 5 dak. boyandıktan sonra %50 etanolde 3-5 sn. tutuldu. Su ile yıkanıp %1'lik sülfirik asitle 2 dak.muamele edildi. Tekrar su ile yıkanan preparat metilen mavisi ile 1 dakika boyandı. Su ile yıkanıp, kuruması beklendi ve x100 objektifte incelendi.

Auramin-O boyama yöntemi: Lam üzerinde kurutulan 100 µl örnek 72-75 °C'de yarım saat süreyle fikse edildi. Auramin-O boyası ile kaplanan preparat oda ısısında 15 dak. bekletildi. Suyu yıkanıp havada kurutulduktan sonra %0.5 asit-alkol ile renk giderme işlemi yapıldı. Tekrar suyla yıkanıp bu kez %0.5 potasyum permanganat ile kaplandı ve 2 dak. bekletildi. Suyu yıkanıp havada kurutulan preparat floresan mikroskobunda incelendi.

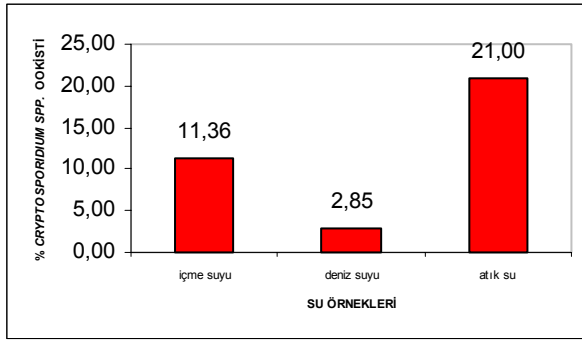
BULGULAR

Bahçelievler, Zeytinlibahçe, Akkent, Karaduvar, Viranşehir, Davultepe, Tece semtlerinden toplanan toplam 44 adet içme suyunun beşinde (%11,36) (Şekil 1), Karaduvar ve Bahçelievler semtlerinden toplanan 2 adet kullanma suyunun birinde (örnek sayısı az olduğundan oranlama yapılmadı ve Şekil 1'de gösterilmedi), Karaduvar, Liman, Atatürk Parkı, Yenişehir, Mezitli, Viranşehir, Davultepe, Tece, Çeşmeli, Tömük, Kargıpınarı, Arpaçbahşiş bölgelerinden bölgelerinden toplanan 35 deniz suyu örneğinin birinde (%2,85) (Şekil 1), Karaduvar, Liman, Atatürk Parkı, Yenişehir, Mezitli, Viranşehir, Davultepe, Tece, Çeşmeli, Tömük, Kargıpınarı ve Arpaçbahşiş bölgelerinden toplanan toplam 19 atık su örneğinin 4'ünde (%21) her iki boyama yöntemiyle *Cryptosporidium* ookisti saptanmıştır (Şekil 1). Ayrıca su örneklerinin birinde Diptera yumurtası ve ikisinde aside dirençli basil saptanmıştır (Tablo 1). Su örneklerinde soğuk modifiye Kinyoun's aside dirençli boyama yöntemi ile saptanan *Cryptosporidium* ookistlerinin mikroskobik görünüşleri Şekil 2'de resimlenmiştir.

Tablo 1. Su örneklerinde saptanan *Cryptosporidium* oookistlerinin semtlere göre dağılımı

	İçme suyu		Kullanma suyu		Deniz suyu		Atık su		Toplam Pozitif	Toplam örnek sayısı
	Örnek	Pozitif*	Örnek	Pozitif*	Örnek	Pozitif*	Örnek	Pozitif*		
Bahçelievler	6	1	1	-	-	-	-	-	1	7
Zeytinlibahçe	8	-	-	-	-	-	-	-	-	8
Akkent	11	-	-	-	-	-	-	-	-	11
Karaduvar	3	3	1	1	2	-	1	-	4	7
Liman	-	-	-	-	2	-	2	-	-	4
Atatürk Parkı	-	-	-	-	2	-	2	-	-	4
Yenişehir	-	-	-	-	2	-	1	-	-	3
Mezitli	-	-	-	-	3	-	2	1	1	5
Viranşehir	5	-	-	-	3	-	1	1	1	9
Davultepe	7	-	-	-	4	-	1	1	1	12
Tece	4	1	-	-	3	1	1	1	3	8
Çesmeli	-	-	-	-	3	-	2	-	-	5
Tömük	-	-	-	-	4	-	2	-	-	6
Kargıpınarı	-	-	-	-	4	-	2	-	-	6
Arpaçbahşiş	-	-	-	-	3	-	2	-	-	5
Toplam	44	5	2	1	35	1	19	4	11	100

* Modifiye Kinyoun's aside dirençli boyama ve Auramin-O boyama yöntemi ile pozitif



Şekil 1: İçme, deniz ve atık su örneklerinde saptanan *Cryptosporidium* oookist oranları

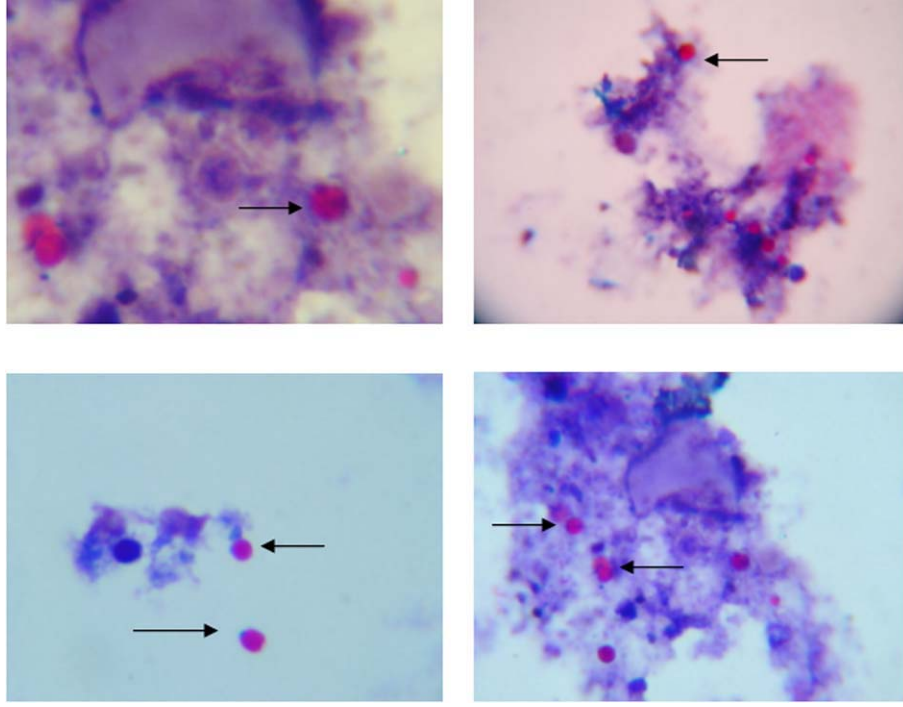
TARTIŞMA

C. parvum ve *C. hominis* sıklıkla insanlarda enfeksiyon oluşturur. Bunlara ilaveten *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. canis* ve *C. muris* in de enfeksiyon oluşturduğu rapor edilmiştir (11). *C. parvum* ve *C. hominis* ' in geçişi genellikle kontamine içme ve kullanma suları ile olmaktadır. Gönüllü seronegatif sağlıklı adaylarla yapılan çalışmada ortalama infekte edici doz (ID₅₀) 132 oookist olduğu bildirilmiştir (7). Bulaş nadiren yiyecek kaynaklı (salata) olabilir. Hayvan ve insan kaynaklı geçişlerde etken en sık *C. parvum*, insan kaynaklı geçişlerde ise *C. hominis* ' tir. Infekte hayvanların dışkısı ile kontamine olmuş sulardan veya infekte hayvanlarla temas ile insanlara geçmesine sebep olmaktadır.

Farias ve ark. Sao Paulo/Brezilya'da yaptıkları çalışmada işlenmemiş atık sularında ve dere sularında *Cryptosporidium* spp. oookistlerini tespit etmişler ve bunun da toplum ve çevre sağlığı için büyük bir risk faktörü taşıdığını belirtmişlerdir (6). Taiwan'da Tai-Lee Hu (8) tarafından yapılan bir çalışmada, domuz çiftliklerinin kirlettiği düşünülen 3 nehirden toplanan su örneklerinde yüksek miktarlarda *Cryptosporidium* oookistleri saptandığı bildirilmiştir.

Ülkemizde işlenmemiş su örneklerinde *Cryptosporidium* oookistleri ve *Giardia intestinalis* kistleri araştırmaya yönelik ilk çalışma Köksal (14) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada İstanbul İline su sağlayan Ömerli, Elmalı, Büyükçekmece ve Kağıthane barajlardan toplanan 40 işlenmemiş su örneği 1µm por büyüklüğünde filtreden süzölmüş ve Cripto/Giardia-cel IF test kullanılarak *Cryptosporidium* oookistleri ve *Giardia intestinalis* kistleri araştırılmış ancak örneklerde oookist saptanmamıştır.

Cryptosporidium ile oluşan enfeksiyonlarda barsak yapısı ve işlevlerinde çeşitli değişiklikler gözlenir. Bu parazitlere bağlı gelişen semptomlar içinde en sık diyare görülür. Diyarenin patogenezi henüz tam olarak anlaşılmamakla birlikte bu parazitler içinde *Cryptosporidium* 'ların diyare patogenezi açıklama yönelik araştırmalarına daha sıklıkla rastlanmaktadır. Öne sürölen mekanizmaların diğere spor oluşturan parazitleri de kapsayabileceği düşünülmektedir (4, 12).



Şekil 2: Su örneklerinde soğuk modifiye Kinyoun's aside dirençli boyama yöntemi ile saptanan *Cryptosporidium* oookistlerinin görüntüleri (koyu kırmızı renkli yuvarlak şekiller)

Cryptosporidiosis geniş kitleleri etkileyebilecek akut sulu ishale sebep olabilmektedir. 1993'de Amerika/Milwaukee şehrinde 403.000 kişinin etkilendiği büyük bir *Cryptosporidium* salgını olmuş, bu salgın ülke tarihinin en büyük su kaynaklı enfeksiyonu olarak kabul edilmiş ve organizmanın halk sağlığındaki önemi vurgulanmıştır. Salgın sonrası federal güvenlik standartları yeniden güncellenmiştir (2, 7, 16).

Sonuç olarak örneklerimizden 44 adet içme suyunun beşinde (%11,36), kuyu sularının birinde, 19 atık suyun dördünde (%21) ve deniz suyu örneklerinin birinde (%2,85) *Cryptosporidium* oookistlerine rastlanmıştır.

Son yıllarda güvenli olmayan içme sularının kitlesel yok edici etkisinin anlaşılmasıyla *Vibrio cholerae* ve *C.parvum*'un CDC tarafından yüksek biyoterörizm listesine alınması, özellikle immünsuprese bireylerde hastane enfeksiyonlarına neden olması gibi nedenlerle *Cryptosporidium* oookistlerinin tanısına yönelik taramaların daha dikkatli yapılması gerektiği düşünülmektedir. Oookistlerin çevre şartlarına ve dezenfektanlara direnç göstermesi de bu yönde yapılacak işlemlerin önemini ortaya çıkarmaktadır.

İçme ve kullanma suları doğrudan vücuda temaslı olduğundan çeşitli kazalarla bulaşabilecek zararlı maddeler ve hastalık yapıcı mikroorganizmaların bulunmaması büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle dışkının içme ve kullanma sularına karışması önlenmelidir. Özellikle içme sularının filtrasyon işleminden sonra

sistemlere dağıtılmasının özellikle immün sistemi baskılanmış hastaları korumada faydalı olacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

1. **Addiss DG, Stewart JM, Finton RJ, Wahlquist SP, Williams RM, Dickerson JW, Spencer HC, Juranek DD**,1991. *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium* infections in child day-care centers in Fulton County, Georgia. *Pediatr Infect Dis J*,10(12): 907-911.
2. **Aslan G**, 2005. Sularla bulaşan enfeksiyonlar.Aslan G.Emekdaş G.Köksal F.Serin S.eds. 4. Ulusal Sindirim Yoluyla Bulaşan Enfeksiyonlar Simpozyumu, 16-20 Mayıs 2005, Mersin. s.152-163.
3. **Börekçi G, Otağ F, Emekdaş G**, 2005. Mersin'de bir gecekondu mahallesinde yaşayan ailelerde *Cryptosporidium* prevalansı. *İnfekt Derg*, 19(1): 39-46.
4. **Cafri U**, 2004. Çevre örneklerinden mikobakteri izolasyonu ve tiplendirilmesi. Yüksek lisans bitirme tezi. Mersin Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.
5. **Döşkaya M, Dayangaç N, Kuman HA**, 2003. *Cryptosporidium parvum*. *T Parazitol Derg*, 27(1): 64-70.
6. **Farias ECW, Gamba RC, Pellizari VH**, 2002. Detection of *Cryptosporidium spp.* oocysts in raw sewage and creek water in the city of Sao Paulo Brazil. *Brazil J Microbiol*, 33: 41-43.
7. **Fayer R, Morgan U, Upton SJ**, 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol*, 30:1305-1322.

8. **Hu TL.**, 2002. Detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in central Taiwan rivers by immunofluorescence assay. *J Microbiol Immunol Infect*, 35(1): 68-70.
9. **Hunter PR, Nichols G**, 2002 Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*, 15(1): 145-154.
10. **Isaac-Renton J, Blatherwick J, Bowie WR, Fyfe M, Khan M, Li A, King A, McLean M, Medd L, Moorehead W, Ong CS, Robertson W**, 1999. Epidemic and endemic seroprevalence of antibodies to *Cryptosporidium* and *Giardia* in residents of three communities with different drinking water supplies. *Am J Trop Med Hyg*, 60(4): 578-583.
11. **Juranek DD**, 2000. Cryptosporidiosis. *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. Eight edition. In: Strickland GT editor, Philadelphia, WB Saunders.
12. **Korkmaz M**, 2000. Sporozoonlarla oluşan diyareler. II. Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi. 25-29 Eylül 2000, Şanlıurfa-Türkiye.
13. **Koneman EW**, 1997. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fifth edition. Philadelphia: Lippincott, p.1094-1096.
14. **Köksal F**, 2002. Kaynak sularının *Giardia* ve *Cryptosporidium* yönünden incelenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 32(3-4): 275-277.
15. **Krüger P, Wiedenmann A, Botzenhart K**, 1998. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in water: Comparison of the conventional microscopic immunofluorescence method with PCR and TaqMan® PCR. OECD Workshop Molecular Methods for Safe Drinking Water, Interlaken'98. July, 5-8, Switzerland.
16. **Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE, Kazmierczak JJ, Addiss DG, Fox KR, Rose JB, et al.** 1994 A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med*. 21; 331(3): 161-167.
17. **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.
18. Web. <http://www.med-chem.com/procedures/Kinyoun.html>