

Gaitada Parazit İncelemesinde Kullanılan Yoğunlaştırma Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Nilay ÇÖPLÜ¹, Ayşegül GÖZALAN¹, Levent AKIN²

¹Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Ankara,
²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara

ÖZET: Gaitada parazit araştırmasında yaygın olarak kullanılan direkt incelemeye ek olarak, özellikle az sayıda helmint yumurtası ya da protozoon kisti bulunması halinde yakalama şansını arttırmak için yoğunlaştırma yöntemlerine gereksinim bulunmaktadır. Bu çalışmada, 134 adet gaita örneğine, direkt incelemeye ek olarak yedi adet yoğunlaştırma yöntemi uygulanmış, testler arası uygunluk, uygulama ve inceleme kolaylığı, aldığı süre, maliyet gibi faktörler açısından incelenmiştir. Karşılaştırmaya alınan yüzdürme yöntemleri ZnSO₄, kolay ZnSO₄, doymuş NaCl ve Sheather's şeker yüzdürme, çöktürme yöntemleri ise Ritchie Formalin-Ether, kolay Telemann ve basit çöktürme yöntemleri şeklindedir. İstatistiksel analizler kapp ve McNemar testleri kullanılarak yapılmıştır. Yöntemlerin uygulanmasında genellikle çöktürme yöntemlerinin daha zor olduğu, mikroskopik inceleme açısından helmint yumurtalarının tüm yöntemlerle kolay, protozoa kistlerinin ise zor değerlendirildikleri, 7-50 dakika arasında zaman aldıkları ve hiçbirinin pahalıya mal olmadıkları gözlenmiştir. Laboratuvarlar, yöntem seçiminde kendi olanakları çerçevesinde karar vermelidirler. Ancak bu çalışmanın verilerine göre basit çöktürme ve kolay ZnSO₄ yüzdürme yöntemlerinin bir arada kullanılmasının laboratuvarların başarısını arttıracakları düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: İntestinal parasitöz, yoğunlaştırma yöntemleri

The Comparison of the Concentration Techniques Used in Investigation of Feces for Parasitosis

SUMMARY: In coproparasitological examination, there is need to perform concentration methods in order to increase the probability of finding helminth eggs and protozoa cysts in addition to the widely used direct examination, especially when they are low in number. In this study, seven concentration methods were investigated on 134 fecal specimens as to their conformity of test results, difficulties in performing the test or interpretation, the time required and the cost. The methods compared were flotation methods using ZnSO₄, modified ZnSO₄, saturated NaCl and Sheather's sugar flotation and sedimentation methods using Ritchie formalin-ether, modified Telemann and simple sedimentation. Statistical analysis was performed with kappa and McNemar tests. The procedure of the methods were more troublesome when sedimentation techniques were performed, interpretation was easy for helminth eggs but difficult for protozoa cysts with all of the methods, the time required varied between 7-50 minutes, and none of them were expensive. Every laboratory can make their own choices depending upon their conditions, but according to the results of this study, it is apparent that simple sedimentation techniques together with the modified ZnSO₄ flotation method would increase the success of the laboratory in diagnosis.

Key Words: Intestinal parasitosis, concentration techniques

GİRİŞ

Gastrointestinal kanalda parazitik infeksiyonlar, gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olup, tanısında gaitada helmint yumurtalarının yada larvalarının ve protozoa trofozoit yada kistlerinin gösterilmesi gereklidir. Bunun için uygun koşullarda alınmış olan gaita yine uygun yöntemlerle incelenmelidir. Direkt inceleme yöntemi, hem kısa zaman alması,

hem de uygulamadaki kolaylıkları nedeniyle hemen her parazitoloji laboratuvarında kullanılmaktadır. Direkt inceleme protozoa trofozoitlerinin tanımlanmasına da imkan verirken, eritrosit ve lökosit varlığını da gözleme olanağı sağlamaktadır. Yumurta, trofozoit yada kistlerin gaitada intermittan olarak bulunması yada sayının değişkenlik göstermesi halinde on gün içinde alınmış olan üç ayrı örneğin değerlendirilmesi de direkt incelemenin başarısını arttırmaktadır (2). Öte yandan, protozoa kistleri ve helmint yumurtalarının az sayıda bulunmaları halinde, dansite farkından yararlanarak fekal materyalden ayırıp yoğunlaştırmak, tanımlama şansını arttırmaktadır (1-3, 6, 7, 9-12).

Yoğunlaştırma yöntemleri başlıca yüzdürme ve çöktürme

Geliş tarihi/Submission date: 02 Mart/02 March 2006
Düzelme tarihi/Revision date: 08 Aralık/08 December 2006
Kabul tarihi/Accepted date: 06 Şubat/02 February 2007
Yazışma /Corresponding Author: Nilay Çöplü
Tel: (+90) (312) 458 21 59/1230 Fax: (+90) (312) 435 35 46
E-mail: nilaycöplu@yahoo.com

yöntemleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Yüzdürme yöntemlerinde yumurta ve kistlerden daha yüksek dansiteye sahip sıvılar tercih edilerek yüzmeleri sağlanırken, çöktürme yöntemlerinde daha hafif sıvılar kullanılarak ve/veya santrifüj ederek çökmeleri hedeflenmektedir (2, 3, 6, 10). Çöktürme yöntemleri fekal materyalin yumurta ve kistlerden ayrılmasında genellikle yüzdürme kadar etkili olamamakta, ancak yüzdürme yöntemleri ile de operküle trematod ve sestod yumurtalarının tanımlanması yetersiz kalabilmektedir (4). Genellikle direkt incelemeye ek olarak bir yüzdürme ve bir de çöktürme yönteminin uygulanması önerilmektedir (4, 6, 11)

Laboratuvarlar açısından yöntem seçiminde testler arası uyumluluğun yanı sıra, yöntemi uygulama ve değerlendirme kolaylığı, aldığı zaman ve maliyet gibi faktörler de önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, bir parazitoloji laboratuvarında kullanılabilirlik yoğunlaştırma yöntemlerinin, bu faktörleri de göz önünde tutarak incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ YÖNTEM

Bu çalışma Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü laboratuvarında yapılmış olup, toplam 134 gaita örneği çalışmaya alınmıştır. Örnekler rutin gaitada parazit incelenmesi için başvuran hastalara aittir. Bu nedenle Ankara ilinde yaşayan her yaşta birey kapsama alınmıştır. Örneklerin incelenmesi mikrobiyoloji uzmanınca yapılmış ve her sefer aynı kişi tarafından değerlendirilmiştir. Öncelikle direkt inceleme uygulanmış, daha sonra diğer yoğunlaştırma yöntemleri çalışılmıştır. Direkt incelemede 22 gaita örneğinde kist yada trofozoid, 9 gaita örneğinde yumurtaya rastlanmış olup, 103 örnekte ise herhangi bir yumurta yada kist görülmemiştir. Hazırlanan tüm preparatlar 10X ve 40X objektifle incelenmiştir.

Direkt inceleme: Temiz bir lam üzerine birer damla serum fizyolojik, metilen mavisi ve lugol damlatılmış, gaitadan alınan örnekle arkasından gazete okunacak yoğunlukta preparat hazırlanmıştır (6).

Yoğunlaştırma yöntemleri: Yüzdürme ve çöktürme esasına dayanmak üzere iki grup yoğunlaştırma yöntemleri uygulanmıştır. Yüzdürme yöntemleri ZnSO₄ yüzdürme yöntemi, kolay ZnSO₄ yüzdürme yöntemi, doymuş NaCl ile yüzdürme yöntemi ve Sheather's şeker yüzdürme yöntemi şeklindedir. Çöktürme esasına dayanan yöntemler ise Ritchie Formalin-Ether yöntemi, kolay Telemann yöntemi ve basit çöktürme yöntemidir. Yöntemlerin uygulaması özetle şöyledir:

(1). ZnSO₄ yüzdürme yöntemi: Fındık büyüklüğünde gaitanın üzerine 5 ml %10 formalin eklenip, 3-4 adet cam boncuk yardımı ile gaita homojenize edilmiştir. 30 dakikalık inkubasyondan sonra bir santrifüj tüpüne süzülerek aktarılmış, 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Sedimentin üzerine ZnSO₄ (400 gr. ZnSO₄, 1 L musluk suyu, Dansite:1.2) eklenip 1500 rpm'de 1,5 dakika santrifüj edilmiştir. Tekrar bir dakika beklendikten sonra yüzeyden 2 öze dolusu materyal alınıp incelenmiştir (4).

(2). Kolay ZnSO₄ yüzdürme yöntemi: Fındık büyüklüğünde gaita ve 5-6 adet cam boncuk 5-6 ml'lik bir penisilin şişesine konulup, 3-4 ml ZnSO₄ solusyonu (ZnSO₄ 330 g, distille su 1L) ile karıştırılarak gaita homojenize edilmiştir. Penisilin şişesinin tümü, üzerinde bir meniskus oluşacak şekilde ZnSO₄ solusyonu ile doldurulmuştur. Üzerine bir lamel kapatılarak 30 dakika bekletildikten sonra lamel incelenmiştir.

(3). Doymuş NaCl ile yüzdürme yöntemi: Fındık büyüklüğünde gaita ve 4-5 cam boncuk içeren bir penisilin şişesine 3-4 ml. doymuş NaCl (NaCl 375 g, musluk suyu 1 lt) eklenip homojenize edilmiştir. Penisilin şişesinin tümü, üzerinde bir meniskus oluşacak şekilde doymuş NaCl ile doldurulmuştur. Üzerine bir lamel kapatılarak 30 dakika bekletildikten sonra lamel incelenmiştir.

(4). Sheather's şeker yüzdürme yöntemi: Fındık büyüklüğünde gaita bir santrifüj tüpüne alınıp üzerine Sheather's şeker solusyonu (sukroz 500 g, fenol 6,5 g, distille su 320 ml) eklenmiştir. Baget ile homojenizasyon sağlandıktan sonra tüpün üzerinde 1-2 cm boşluk kalacak şekilde şeker solusyonu eklenmiştir. Santrifüj için 1000 rpm'de 10 dakika bekletilmiş, öze ile yüzeyi toplanarak incelenmiştir (3).

(5). Ritchie Formalin-Ether çöktürme yöntemi: Fındık büyüklüğünde gaita, 10 ml %0,9 NaCl ile homojenize edildikten sonra süzülerek santrifüj tüpüne alınmıştır. Santrifüj için 2000 rpm'de 1 dakika çevrilmiş, supernatan atılıp, %0,9 NaCl eklenmiş ve bu işlem supernatan berraklaşana kadar tekrarlanmıştır. Sedimentin üzerine 10 ml. formalin eklenip 5 dakika beklenmiş, 3 ml ether eklenip kuvvetlice çalkalandıktan sonra 1,5 dakika 2000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Sedimentten preparat hazırlanmıştır (3).

(6). Kolay Telemann yöntemi: Fındık büyüklüğünde gaita, 4-5 cam boncuk içeren tüpe konduktan sonra 3 ml %16 HCl eklenmiştir. Homojenizasyon sağlandıktan sonra 3 ml eter eklenmiştir. Santrifüj tüpüne süzdürülmüş ve 1 dakika 2000 rpm'de çevrilmiştir. Preparat sedimentten hazırlanmıştır.

(7). Basit çöktürme yöntemi: Fındık büyüklüğünde gaita 10 ml. %0,9'luk NaCl ile iyice karıştırılıp bir santrifüj tüpüne süzülmesi ve 30-45 dakika bekletilmiştir. Supernatan atılıp yeniden 5-6 ml NaCl eklenerek 2000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiş ve sediment incelenmiştir.

Yöntemler, pratik uygulamayı etkileyebilecek faktörler açısından da değerlendirilmiştir. Bu amaçla yöntemi uygulamada işlem ve mikroskopik inceleme: kolay, orta derecede kolay ve zor olarak değerlendirilmiş, süre için işleme başlama aşamasından preparatın incelenmesine kadar geçen zamanı ölçülmüş, maliyet için ise kullanılan malzemelerin fiyatları göz önünde tutulmuştur.

Verilerin analizinde SPSS 10.0 istatistik programı kullanılarak, yüzdelik değerler hesaplanmış, yöntemler arası uyum derecesini belirlemek için kappa istatistiği yapılmış, gruplar

arası istatistiksel fark McNemar testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışılan materyalde aynı örnekte birden farklı parazit yumurtası yada kiste rastlanmamıştır. Çalışma süresince parazit yumurtası olarak *Hymenolepis nana*, *Ascaris lumbricoides*, *Tenia saginata* ve *Trichuris trichura*'ya rastlanmış olup sırasıyla 7, 3, 3 ve 1 adet saptanmıştır. Çoğaltma yöntemleriyle saptanan 14 helmint yumurtasından sadece 9'u direkt mikroskopik incelemede saptanabilmiştir. (+2 adet *H. nana* ve 2 adet *A.lumbricoides* yumurtası görülememiştir.) Protozoalar açısından incelendiğinde 20 adet *Giardia intestinalis* ve 4 adet *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* kist ve trofozoitlerine rastlanmıştır. Toplam 24 adet olan protozoa kistlerinden yalnızca 2 adet *G. intestinalis* direkt inceleme ile saptanamamıştır. Hiçbir yoğunlaştırma yönteminde trofozoidler görülmediği için yoğunlaştırma yöntemlerinin değerlendirilmesinde kistler kullanılmıştır. Yoğunlaştırma yöntemlerine göre saptanan parazit yumurtaları ve kistleri Tablo 1'de sunulmaktadır.

Laboratuvarların tercih ettiği yöntemlerin yumurta ve kistlerin yakalanabilmesi açısından hangilerinin birbirinin yerini tutabilir olduğunun saptanması amacıyla testler arası uyumluluk analizi yapılmış olup, direkt inceleme bir yoğunlaştırma yöntemi olmaması nedeni ile analiz dışı tutulmuştur. Testler arası uyumluluk ve p değerleri Tablo 2a, b, c, d ve e'de sunulmaktadır.

- H. nana* için testler arası en yüksek uyumluluk %79,2 olarak kolay Telemann çöktürme yöntemi ile kolay ZnSO₄ yüzdürme ve %71,6 olarak basit çöktürme-kolay ZnSO₄ yüzdürme ve basit çöktürme- kolay Telemann çöktürme arasında bulunmuştur. Buna rağmen hiçbir testin *H. nana* için birbirleri yerine kullanılacak yöntemler olmadıkları düşünülmüştür.
- T. saginata* için; Formalin-Ether çöktürme-doymuş NaCl yüzdürme yöntemleri ile Telemann çöktürme -basit çöktürme-kolay ZnSO₄ ve ZnSO₄-Sheather's şeker yüzdürme yöntemlerinin %100 uyumlu oldukları ve birbirleri yerine kullanılacak testler olduğu görülmüştür.
- A. lumbricoides* için yöntemler arası uyumluluk; Telemann çöktürme- kolay ZnSO₄- ZnSO₄- doymuş NaCl ve basit çöktürme- Sheather's şeker yüzdürme yöntemleri arasında %100 olarak bulunmuştur ve bu testler birbirleri yerine kullanılacak testlerdir.
- T. trichura* istatistiksel koşulları yerine getirmediği için istatistiki testler yapılamamıştır.
- Kistlerin tanımlanmasında birbirinin yerini tutabilecek testlerin araştırılmasında:
- G. intestinalis* için testler arası en yüksek uyumun; Formalin-Ether çöktürme ile basit çöktürme yöntemleri (%85,8) arasında olduğu bunu %78,0 ile Formalin-Ether - ZnSO₄'ün izlediği gözlenmiştir. Bu testler birbirleri yerine en fazla kullanılacak testlerdir.

- E. histolytica* için; Formalin-Ether çöktürme-basit çöktürme-doymuş NaCl yüzdürme yöntemleri ve kolay ZnSO₄-ZnSO₄ yüzdürme yöntemleri %100 birbirleriyle uyum göstererek birbirinin yerine kullanılabilir olduklarını göstermiştir.

İrdelenen yöntemlerin pratik uygulamada sağladıkları kolaylıklar açısından bulguları Tablo 3'de sunulmuştur. Direkt incelemenin işlem ve değerlendirme açısından kolay, hızlı ve ucuz bir yöntem olduğu gözlenmektedir. Yoğunlaştırma yöntemlerinin hiçbirisi işlem açısından kolay bulunmamakta, ancak çöktürme yöntemlerinin genelde daha zor oldukları gözlenmektedir. Mikroskopik incelemede ise yumurtaların hemen hepsi kolayca tanımlanabilirken, kistlerin değerlendirilmesi çoğunda zor bulunmuştur. Maliyet açısından incelendiğinde tüm yöntemlerin rutin tanı laboratuvarlarında kolayca bulunabilen ucuz malzemelerle çalışıldığı saptanmıştır. Aldıkları süre bakımından incelendiğinde en çok tanımlama yapılabilen basit çöktürme yönteminin aynı zamanda en uzun zaman alan yöntem olduğu gözlenmektedir. Bunu ZnSO₄ yüzdürme, kolay ZnSO₄ yüzdürme ve doymuş NaCl ile yüzdürme yöntemleri izlemektedir. Sheaters' şeker yüzdürme, kolay Telemann yöntemi ve Ritchie Formalin-Ether yöntemleri ise 15 dakika ve altında zaman almaktadır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada parazitoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılan direkt inceleme yönteminin uygulama açısından avantajlı olduğu, ancak veriler incelendiğinde, parazitöz tanımlamasında yetersiz kalabildiği gözlenmektedir. Yoğunlaştırma yöntemleriyle elde edilen sonuçlar incelendiğinde, trofozoitlerin saptanamadığı, kistlerin tanımlanmasında ise uygulanan işlemlerin ve kullanılan malzemelerin morfolojik yapıyı çok fazla değiştirmesinden kaynaklanan güçlüklerin yaşandığı saptanmıştır. Bu durum protozoa tanımlamasında yoğunlaştırma yöntemlerinin ancak tecrübeli elemanlarca değerlendirilebilir olduğunu düşündürmüştür. Formalin-Ether çöktürme yöntemiyle helmint yumurtalarında tanımlama başarılı olurken, protozoa kistlerinin tanımlanmasında daha az başarılı bulan bir çalışma vardır (8). Ancak yine de yoğunlaştırma yöntemlerinin protozoa kistlerini saptamada direkt incelemeden daha yüksek tanımlama sağladığı da gösterilmiştir (9). Helmint yumurtalarının aranmasında ise beklendiği gibi yoğunlaştırma yöntemleri laboratuvarın başarısını arttırmıştır. Hangi yöntemin seçileceği konusunda rutin tanı laboratuvarları kendi olanaklarına göre hareket etmelidir. Bizim verilerimize göre çöktürme yöntemlerinin uygulanması genelde yüzdürme yöntemlerine göre daha zahmetli bulunmuştur. Ancak genellikle önerildiği gibi bir çöktürme, bir yüzdürme yönteminin kullanılması halinde seçilecek olan yöntemlerin basit çöktürme ve kolay ZnSO₄ olması birbirinin yerine kullanılacak testler açısından da uygun seçimler olacak ve tüm yumurta ve kistlerde tanımlamada başarıyı arttıracaktır. Çöktürme yöntemlerinden Formalin-Ether ya da kolay Telemann çöktürme

Tablo 1. Kullanılan tüm yöntemlerle saptanan parazit kist ve yumurtalarının sayısı.

RFE-Y: Ritchie Formalin –Ether Yöntemi; **KT-Y:** Kolay Telemann Yöntemi; **BÇ-Y:** Basit çöktürme Yöntemi; **KÇSY-Y:** Kolay ZnSO₄ Yüzdürme Yöntemi; **ÇSY-Y:** ZnSO₄ Yüzdürme Yöntemi; **DTSY-Y:** Doymuş NaCl Yüzdürme Yöntemi; **SŞSY-Y:** Sheather's Şeker Yüzdürme Yöntemi; **D-Y:** Direkt Yöntem

Yöntem	n	RFE-Y	KT-Y	BÇ-Y	KÇSY-Y	ÇSY-Y	DTSY-Y	SŞSY-Y	D-Y	
<i>H. nana</i>	7	3	5	6	5	2	4	1	5	
Yumurta	<i>A. lumbricoides</i>	3	2	1	2	1	1	2	1	
	<i>T. saginata</i>	3	2	3	3	3	1	2	3	
	<i>T. trichiura</i>	1	1	0	1	0	0	1	0	
	Toplam	14	8	8	12	9	4	8	4	9
Kist	<i>G. intestinalis</i>	20	14	13	18	12	11	9	6	18
	<i>E. histolytica/ E. dispar</i>	4	3	4	3	2	2	3	0	4
	Toplam	24	17	17	21	14	13	12	6	22

Tablo 2a. *H. nana* için yöntemler arası uyumluluk

<i>H. nana</i>	RFE-Y (p)	KT-Y (p)	BÇ-Y (p)	KÇSY-Y (p)	ÇSY-Y (p)	DTSY-Y (p)	SŞSY-Y (p)
RFE-Y	1,000						
KT-Y	0,486 (0,625)	1,000					
BÇ-Y	0,427 (0,375)	0,716 (1,000)	1,000				
KÇSY-Y	0,228 (0,688)	0,792 (1,000)	0,716 (1,000)	1,000			
ÇSY-Y	0,389 (1,000)	0,562 (0,250)	0,489 (0,125)	0,270 (0,375)	1,000		
DTSY-Y	0,566 (1,000)	0,655 (1,000)	0,585 (0,625)	0,655 (1,000)	0,320 (0,625)	1,000	
SŞSY-Y	-0,011 (0,625)	0,325 (0,125)	0,276 (0,063)	0,325 (0,125)	0,663 (1,000)	-0,120 (0,375)	1,000

Tablo 2b. *T. saginata* için testler arası uyumluluk

<i>T. saginata</i>	RFE-Y (p)	KT-Y (p)	BÇ-Y (p)	KÇSY-Y (p)	ÇSY-Y (p)	DTSY-Y (p)	SŞSY-Y (p)
RFE-Y	1,000						
KT-Y	0,796 (1,000)	1,000					
BÇ-Y	0,796 (1,000)	1,000 (1,000)	1,000				
KÇSY-Y	0,796 (1,000)	1,000 (1,000)	1,000 (1,000)	1,000			
ÇSY-Y	0,663 (1,000)	0,494 (0,500)	0,494 (0,500)	0,494 (0,500)	1,000		
DTSY-Y	1,000 (1,000)	0,796 (1,000)	0,796 (1,000)	0,796 (1,000)	0,663 (1,000)	1,000	
SŞSY-Y	0,663 (1,000)	0,494 (0,500)	0,494 (0,500)	0,494 (0,500)	1,000 (1,000)	0,663 (1,000)	1,000

Tablo 2c. *A. lumbricoide* için testler arası uyumluluk

<i>A. lumbricoides</i>	RFE-Y (p)	KT-Y (p)	BÇ-Y (p)	KÇSY-Y (p)	ÇSY-Y (p)	DTSY-Y (p)	SŞSY-Y (p)
RFE-Y	1,000						
KT-Y	0,663 (1,000)	1,000					
BÇ-Y	0,492 (1,000)	0,663 (1,000)	1,000				
KÇSY-Y	0,663 (1,000)	1,000 (1,000)	0,663 (1,000)	1,000			
ÇSY-Y	0,663 (1,000)	1,000 (1,000)	0,663 (1,000)	1,000 (1,000)	1,000		
DTSY-Y	0,663 (1,000)	1,000 (1,000)	0,663 (1,000)	1,000 (1,000)	1,000 (1,000)	1,000	
SŞSY-Y	0,492 (1,000)	0,663 (1,000)	1,000 (1,000)	0,663 (1,000)	0,663 (1,000)	0,663 (1,000)	1,000

Tablo 2d. *G.intestinalis* için testler arası uyumluluk

<i>G. intestinalis</i>	RFE-Y (p)	KT-Y (p)	BÇ-Y (p)	KÇSY-Y (p)	ÇSY-Y (p)	DTSY-Y (p)	SŞSY-Y (p)
RFE-Y	1,000						
KT-Y	0,629 (1,000)	1,000					
BÇ-Y	0,858 (0,125)	0,673 (0,180)	1,000				
KÇSY-Y	0,659 (0,727)	0,691 (1,000)	0,701 (0,070)	1,000			
ÇSY-Y	0,780 (0,375)	0,634 (0,727)	0,731 (0,016)	0,572 (1,000)	1,000		
DTSY-Y	0,669 (0,125)	0,605 (0,289)	0,553 (0,012)	0,536 (0,508)	0,568 (0,727)	1,000	
SŞSY-Y	0,360 (0,039)	0,495 (0,002)	0,375 (0,002)	0,409 (0,109)	0,313 (0,227)	0,507 (0,453)	1,000

Tablo 2e. *E.histolitica/E.dispar* için testler arası uyumluluk

<i>E. histolitica</i>	RFE-Y (p)	KT-Y (p)	BÇ-Y (p)	KÇSY-Y (p)	ÇSY-Y (p)	DTSY-Y (p)	SŞSY-Y (p)
RFE-Y	1,000						
KT-Y	0,853 (1,000)	1,000					
BÇ-Y	1,000 (1,000)	0,853 (1,000)	1,000				
KÇSY-Y	0,796 (1,000)	0,660 (0,500)	0,796 (1,000)	1,000			
ÇSY-Y	0,796 (1,000)	0,660 (0,500)	0,796 (1,000)	1,000 (1,000)	1,000		
DTSY-Y	1,000 (1,000)	0,853 (1,000)	1,000 (1,000)	0,796 (1,000)	0,796 (1,000)	1,000	
SŞSY-Y	-	-	-	-	-	-	1,000

Tablo 3. Kullanılan yöntemlerin uygulama aşamasındaki durumları

Yöntem	İşlem Kolaylığı*	Mikroskopik inceleme kolaylığı**		Süre (dk)
		Yumurta	Kist	
Direkt inceleme	Kolay	Kolay	Kolay	3
Ritchie Formalin-Ether yöntemi	Zor	Kolay	Zor	15
Kolay Telemann yöntemi	Zor	Kolay	Zor	7
Basit çöktürme yöntemi	Orta derecede kolay	Kolay	Zor	50
Kolay ZnSO ₄ yüzdürme yöntemi	Orta derecede kolay	Kolay	Zor	35
ZnSO ₄ yüzdürme yöntemi	Zor	Kolay	Zor	45
Doymuş NaCl ile yüzdürme	Orta derecede kolay	Orta derecede kolay	Orta derecede kolay	35
Sheater's şeker yüzdürme yöntemi	Zor	Kolay	Orta derecede kolay	15

*İşlem kolaylığı testin aşama sayısı ve uygulanan işlemlerin teknik elemanın deneyimli olmasına duyulan ihtiyaca göre sınıflandırılmıştır.

**Mikroskopik inceleme kolaylığı, yumurta yada kistin morfolojik yapısının değerlendiren uzmanın görüşüne göre sınıflandırılmıştır.

yöntemleri de basit çöktürmeden sonra seçilebilecek yöntemlerken, yüzdürme yöntemlerinden doymuş NaCl yüzdürme yöntemi kolay ZnSO₄'e yakın başarı göstermiştir. Yüzdürme yöntemlerinden birinin seçilmesi aşamasında ZnSO₄ ve Sheater's şeker yüzdürme yöntemlerinin uygun yöntemler olmadıkları gözlenmektedir. Sheater's şeker yüzdürme yöntemi *Cryptosporidium* spp. için önerilen bir yoğunlaştırma yöntemidir (5). Diğer kist yada yumurtaların saptanmasında ise Sheater's şeker yüzdürme yönteminin yetersiz kaldığı gözlenmiştir. Bu yöntemin direkt yöneme ek olarak seçilecek yoğunlaştırma yöntemlerinden biri olmamasının yerinde olacağı, buna karşılık *Cryptosporidium* spp. düşünülen hallerde uygulayabilmek için laboratuvarın elinde gereken gerecin bu-

lundurulmasında yarar olacağı düşünülmüştür. ZnSO₄ ise hem uygulaması zor bir yöntem olarak bulunmakta, hem de tanımlamada diğer yüzdürme yöntemlerinden daha az başarı sağlanmakta, bu nedenlerle de önerilmemektedir.

Benzer çalışmaların bulguları irdelendiğinde yoğunlaştırma yöntemlerinin direkt incelemeye göre tanımlamada daha başarılı oldukları tekrar gösterilmiştir (1, 7-10, 12). Sestod ve nematodlarda yüzdürme yöntemlerini daha başarılı bulan bir çalışmaya karşılık, çöktürmeleri daha başarılı bulan bir başka çalışma da mevcuttur. Daha çok Formalin-Ether çöktürme ve ZnSO₄ yüzdürme yöntemlerini kullanmış olan bu çalışmalar protozoa kistlerinin saptanmasında da yine yüzdürme yöntem-

lerini daha üstün bulmuşlardır (10, 11). Bizim çalışmamızda hem kist hem yumurtalar açısından çöktürme yöntemleri daha çok sayıda pozitif sonuç vermiştir. Ancak, klinik örnek bazında incelendiğinde, bir çöktürme ve bir yüzdürme yönteminin beraber kullanılmasının tanımlama şansını arttırdığı da gözlenmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Abo-Shehada MN**, 1992. A critical study into the fecal nalysis routine in practice in Jordan. *Trop Geogr Med*, 44(4): 369-72.
2. **Aldeen William, Whisenant J, Hale D, Matsen J, Carrol K**, 1993. Comparison of pooled formalin-preserved fecal specimens with three individual samples for detection of intestinal parasites. *J Clin Microbiol*, 31: 144-145.
3. **Markell EK, Voge M, John DT**, 1992. *Medical Parasitology*. 7. baskı. WB Saunders Company. p.406-428.
4. **Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC**. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5. Baskı. Lippincott. p.1076
5. **Kvac M, Kvetonova D, Puzova G, Ditrich O**, 2003. Comparison of selected diagnostic methods for identification of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium andersoni* in routine examination of faeces. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 50 (8): 405-11.
6. **MA Pfaller, LS Garcia**, 1999. Parasitology. PR. Murray, EJ. Baron, MA Pfaller, FC Tenover, RH Tenover. Manual of Clinical Microbiology. 7.ci baskı, ASM Press. p.1146-48
7. **Mendoza D, Nunaz FA, Escobedo AA, Pelavo L, Fernandez M, Torres D, Cordovi RA**, 2003. Usefullness of 2 coproparasitological methods and their utilization in an anti giardiasis therapeutic trial. *Rev Cubana Med. Trop*, 55(3): 174-8.
8. **Methanitikorn R, Sukontason K, Sukontason KL, Piangjai S**. 2003. Evaluation of the formalin-tween concentration technique for parasitic detection. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 45(5): 289-291.
9. **Shetty N, Prabhu T**, 1998. Evaluation of faecal preservation and staining methods in the diagnosis of acute amoebiasis and giardiasis. *J Clin Pathol*, 41: 694-699.
10. **Sing S**, 1990. Laboratory diagnosis of intestinal parasitosis. *Indian J Pediatr*, 57: 789-92.
11. **Truant AL, Elliott SH, Kelly MT, Smith JH**, 1981. Comparison of formalin-ethyl ether sedimentation, Fomalin-Ethyl acetate sedimentation, and zinc sulfate flotation techniques for detection of intestinal parasites. *J Clin Microbiol*, 13 (5): 882-884.
12. **Yılmaz M**, 1986. 520 dışkı örneğinin bağırsak parazitleri yönünden üç ayrı yöntemle karşılaştırmalı olarak incelenmesi. *Türkiye Parazitol Derg*, 1-2 (9): 109-112.