

# Dışkıda *Cryptosporidium* spp. Antijenlerinin ELISA ile Araştırılması

Güliden SÖNMEZ TAMER<sup>1</sup>, Serpil GÜLENÇ<sup>2</sup>

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, <sup>1</sup>Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
<sup>2</sup>Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Kocaeli, Türkiye

**ÖZET:** Bu çalışmada cryptosporidiasisin etkensel tanısındaki zorluklar dikkate alınmış ve rastlantısal olarak ishal, karın ağrısı, bulantı-kusma gibi gastrointestinal yakınma ile başvuran 80 olgunun ve kontrol grubu olarak sağlıklı 65 kişinin dışkı örnekleri cryptosporidiasis yönünden Kinyoun asit fast boyama yöntemi ve dışkıda *Cryptosporidium* spp. antijenlerini aramaya yönelik hazırlanmış ELISA kiti (r-biopharm, Germany) ile incelenmiştir. Alınan sonuçlar karşılaştırılarak ELISA ile dışkıda spesifik antijen arama yönteminin etkensel tanıya katkı sağlayıp sağlamadığı araştırılmıştır. İncelenen 80 dışkı örneğinin sonuçlarına bakıldığında kinyoun asit fast boyama yöntemi ile üç örnekte (%3,75) *Cryptosporidium* spp. ookistleri, monoklonal ELISA ile yapılan değerlendirmelerde ise beş örnekte (%6,25) *Cryptosporidium* spp. spesifik antijenlerin saptandığı görülmüştür. Kinyoun asit fastle boyanan üç örnek ELISA ile de pozitif olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise her iki yöntemle de *Cryptosporidium* enfeksiyonu saptanmamıştır. *Cryptosporidium* ELISA kitinin bu çalışmada sensitivitesi %85, spesifitesi %100, negatif prediktif değeri %97,4, pozitif prediktif değeri %100 olarak saptanmıştır. Uzun süren diyaresi olan hastalarda, klasik yöntemlerle etken saptanamıyorsa cryptosporidiasis yönünden maliyeti yüksek olmasına rağmen deneyimli personel gerektirmeyen ELISA ile de değerlendirmenin yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** *Cryptosporidium* spp., tanı yöntemleri

## The Investigation of the Presence of Antibodies for *Cryptosporidium* spp. in Fecal Samples using ELISA

**SUMMARY:** In this study, difficulties in the effective diagnosis of cryptosporidiosis were considered. Fecal samples of 80 patients who applied to our clinic with gastrointestinal complaints were analyzed for the presence of cryptosporidiosis by the acid-fast staining method and ELISA kit (R-Biopharm, Germany) which detects the presence of *Cryptosporidium* spp. specific antibodies. The results of ELISA were compared with the results of the acid-fast stain and the question of whether ELISA can be used for effective diagnosis of cryptosporidiosis was investigated. Out of 80 fecal samples, 3 samples (3.75 %) were found to be positive for oocysts of *Cryptosporidium* spp. with the acid-fast stain and 5 samples (6.25 %) were found to be positive with ELISA. Three samples were found to be positive with both methods. In this study, the sensitivity, specificity, negative productivity and positive productivity with *Cryptosporidium* ELISA kit were 60%, 100%, 97.4% and 100%, respectively. These findings showed us that. ELISA should be considered as the choice of method for the diagnosis of cryptosporidiosis in patients who have had diarrhea for a long-period of time, even though the method is more costly.

**Key Words:** *Cryptosporidium* spp., diagnosis methods

## GİRİŞ

*Cryptosporidium* türleri bir hayvan enfeksiyon etkeni olarak uzun süreden beri tanınmakta olup, yirmiden fazla türünün bulunduğu bilinmektedir. AIDS'li hastalarda yaygın olarak tespit edilmesiyle birlikte *Cryptosporidium* ların insan sağlığı açısından önemi ortaya konmaya başlamıştır. İnsanda ve o-murgalı hayvanlarda enfeksiyona en çok neden olan tür *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) olarak bilinmektedir. Moleküler çalışmalar *C. parvum* 'un sığır ve insan genotiple-

rinin (*C. hominis*) olduğunu ortaya çıkarmıştır. *C. hominis* sadece insanları enfekte ederken, diğer genotip insanlar ve sığırlar başta olmak üzere diğer evcil hayvanları enfekte etmektedir. İnsanlarda *C.parvum*, *C.hominis*, *C.meleagridis*, *C.felis*, *C. canis*, *C. suis* ve *C. muris* olmak üzere yedi türü enfeksiyon yapabilmektedir (2, 4).

*Cryptosporidium* 'lar evrimini tek konakta tamamlamaktadır. Ookistleri ağız yolu ile alındıktan sonra eksiste olmakta, açığa çıkan sporozoitler epitel hücre duvarına tutunarak parazitofor vakuol oluşturmaktadır. Intraselüler, ekstrasitoplazmik yerleşim gösteren sporozoitler merontlara dönüşmekte, merontların bazıları merozoitlere dönüşerek başka hücreleri enfekte ederken, bazıları seksüel evrim (sporogoni) sonucu zigot oluşturmaktadır. Oluşan iki farklı ookist formundan kalın duvar-

Makale türü/Article type: **Araştırma / Original Research**

Geliş tarihi/Submission date: 27 Mayıs/27 May 2008

Düzeltilme tarihi/Revision date: 10 Eylül/10 September 2008

Kabul tarihi/Accepted date: 26 Eylül/26 September 2008

Yazışma /Corresponding Author: Güliden Sönmez Tamer

Tel: (+90) (262) 303 75 40 Fax: (+90) (262) 303 70 03

E-mail: guldensonmez@hotmail.com

lı olanlar dış ortama atılırken, ince duvarlı ookistler yeni hücreleri enfekte ederek enfeksiyonu devam ettirmektedir (4, 5).

Çocuklar, beslenme yetersizliği olanlar ve immün sistemi baskılanmış kişiler *Cryptosporidium* enfeksiyonuna daha duyarlıdır. Enfeksiyon *Cryptosporidium* ookistlerini içeren dışkıyla kontamine su ve besinlerin ağız yoluyla alınması veya enfekte havuz, göl ve ırmak sularında yüzme aracılığıyla bulaşmaktadır. *Cryptosporidium* enfeksiyonunun klinik belirtileri konağın immün sisteminin durumuna bağlı olarak değişmektedir. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde günde yirmi litreye varabilen kolera benzeri ishale neden olup, yaşamı tehdit eden bir tablo oluşturabilmektedir (13, 19).

Çalışmamızda cryptosporidiasisin etkensel tanısındaki zorluklar dikkate alınmış ve rastlantısal olarak ishal, karın ağrısı, bulantı-kusma gibi gastrointestinal yakınma ile başvuran 80 olgunun dışkı örneği cryptosporidiasis yönünden modifiye asit fast boyama yöntemi ve dışkıda *Cryptosporidium* spp. antijenlerini aramaya yönelik hazırlanmış ELISA kiti (r-biopharm, Germany) ile incelenmiştir. Alınan sonuçlar karşılaştırılarak ELISA ile dışkıda spesifik antijen arama yönteminin etkensel tanıya katkı sağlayıp sağlamadığı araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamıza Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Parazitoloji laboratuvarına ishal, karın ağrısı, bulantı-kusma gibi gastrointestinal yakınmalar ile başvuran yaşları 3-84 arasında değişen toplam 80 (47'si kız, 33'ü erkek) hasta alındı. Yaş ortalamaları  $23.1 \pm 17$  olarak saptandı. Kontrol grubu ise ishali olmayan, sağlıklı 65 (34'ü kız, 31'i erkek) hastadan oluşturuldu. Bunların yaş ortalamaları  $25 \pm 31$ 'di. Çalışma ve kontrol grubundaki toplam 145 dışkı örneğine formol etil asetat çöktürme yöntemi uygulandı. Daha sonra kinyoun asit fast ile boyanarak *Cryptosporidium* spp. açısından mikroskopta incelendi. Toplanan dışkı örneklerinin bir kısmı ise ependorflara alınarak hiçbir koruyucu madde eklenmeden  $-20^\circ\text{C}$  saklandı. Bu örnekler *Cryptosporidium* spp. antijenlerini aramaya yönelik hazırlanmış ELISA (r-biopharm, Germany) yöntemiyle çalışıldı. Kit üretici firmanın önerdiği şekilde uygulandı ve değerlendirme 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda yapıldı.

Formol etil asetat çöktürme yöntemi uygulanan örneklerden elde edilen sedimentten yapılan yayma preparatlar oda ısısında kurumaya bırakıldı. Daha sonra toplam 145 dışkı örneğine kinyoun asid-fast boyama yöntemi uygulandı.

**Kinyoun Asid-Fast Boyama Yöntemi:** Kuruyan preparatlar saf metanol içinde bir dakika tutularak tespit edildi ve sonra kinyoun karbol fuksinle beş dakika boyandı. Boyayı uzaklaştırmak amacıyla preparat %50 alkole batırılıp çalkalandı. Musluk suyu ile yıkanıp %1'lik sülfürik asit içeren şalede iki dakika bekletildi ve sonra musluk suyuyla yıkandı. Metilen mavisi içeren şalede bir dakika bekletildikten sonra tekrar musluk suyu ile yıkanıp kurutuldu. Daha sonra 100X objektifle incelendi.

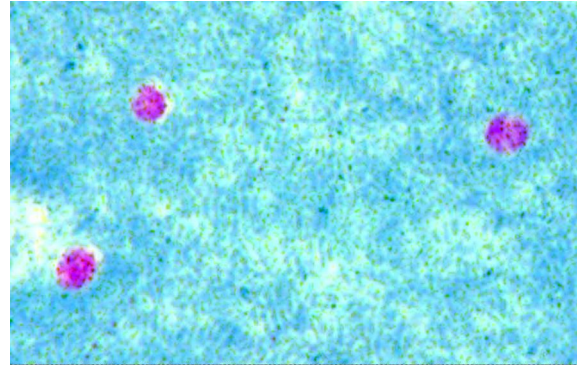
## BULGULAR

İncelenen 80 dışkı örneğinin sonuçlarına bakıldığında kinyoun asit fast boyama yöntemi ile üç örnekte (%3,75) *Cryptosporidium* spp. ookistleri, monoklonal ELISA ile yapılan değerlendirmelerde ise beş örnekte (%6,25) *Cryptosporidium* spp. spesifik antijenlerin saptandığı görülmüştür. Kinyoun asit fast boyama ile pozitif bulunan üç örnek ELISA yöntemi ile de pozitif saptanmıştır (Şekil 1).

Cryptosporidiosis açısından pozitif olguların 3'ü (%60) kız, 2'si (%40) erkekti. İshali olmayan, sağlıklı kontrol grubundaki 65 kişide ise her iki yöntemle de cryptosporidiosis saptanmamıştır.

**Tablo 1.** Kinyoun asit fast boyama ve ELISA yöntemi ile cryptosporidiosis tanısı alan hastalar

Yöntem	Hasta			Kontrol		
	POZ Sayı (%)	NEG Sayı (%)	Toplam	POZ Sayı	NEG Sayı	Toplam
<b>Kinyoun Asit Fast Boyama</b>	3 (3,8)	77 (96,2)	80	0	65	65
<b>ELISA</b>	5 (6,2)	75 (93,8)	80	0	65	65



**Şekil 1.** Kinyoun asit fast boyama yöntemiyle *Cryptosporidium* ookistleri

## TARTIŞMA

*Cryptosporidium* enfeksiyonları gelişmekte olan ülkeler daha sık olmak üzere tüm dünyada görülmektedir. Yurt dışında ishal tanısı alan çocuklarda yapılan bir araştırmada *Cryptosporidium* spp. ookistleri %4,4 olarak saptanmıştır (21). Diğer bir çalışma ise 15 yaş üzeri 455 kişide yapılmış ve bu oran %0,2 bulunmuştur (22). Türkiye'de yapılan çalışmalarda *Cryptosporidium* prevalansını Yücel ve ark.Elazığ'da %1,54 (31), Özçelik ve ark. Sivas'ta %11,8 (20), Türk ve ark. (28) İzmir'de %0,42 olarak bildirmişlerdir. Doğanç ve ark. (6) Ankara'da rastgele seçilen 50 çocukta modifiye asit fast boyama yöntemiyle *Cryptosporidium* spp. araştırmışlar ve iki (%4) çocukta pozitif olarak değerlendirilmiştir. Mersin'de kinyoun asit fast boyama yöntemiyle diyare şikayeti

olmayan 466 normal sağlıklı kişide yapılan bir çalışmada ise incelenen örneklerin %3,1'inde *Cryptosporidium* spp. ookistlerine rastlanmıştır (3). İnçeboz ve ark. (12) gastrointestinal şikayetleri olan 225 hastanın dışkılarına kinyoun asit fast boyama uygulamışlar ve *Cryptosporidium* spp. %0,4 oranında tesbit etmişlerdir. Şiddetli ishal ile başvuran olgularda immunité problemi olmasa da cryptosporidiosis açısından araştırılması gerektiğini vurgulamışlardır. Malatya'da diyareli hastalarda yapılan benzer bir çalışmada 500 dışkı örneği kinyoun asit fast boyama yöntemi ile incelenmiş ve dışkı örneklerinin %1,6'sında *Cryptosporidium* türlerine rastlanmıştır (1). Cryptosporidiosis prevalansını Tanyüksel ve ark. (27) Ankara'da ishal tanısı alan neoplastik hastalarda %16,9, Ok ve ark. (18) İzmir'de kemoterapi uygulanan tümörlü çocuk hastalarda %35,5, Yıldız ve ark. (30) ishali olan solid tümörlü hastalarda %8,3 olarak saptamışlardır. *Cryptosporidium* görülme sıklığı bağışıklığı baskılanan hastalarda normal populasyona göre artmaktadır. Farklı sonuçların elde edilmesinde çalışılan örneklerin değişen sayıları ve bölgesel farklılıklar etken olabileceği gibi örnekleri değerlendirenlerin deneyimi de önemli olmaktadır. Mikroskobik çalışmalar eğitilmiş personele ihtiyaç gösteren kişisel deneyim gerektiren çalışmalardır.

Silva ve ark. (24) Brezilya'da 52 HIV/AIDS hastasında ve kontrol grubu olarak seçilen 38 sağlıklı bireyde dışkıda *Cryptosporidium* sıklığını safranin/metilen mavisi, modifiye trichrome boyama ve ELISA yöntemleriyle araştırmışlardır. Boyama yöntemleriyle hastaların üçünde (%5,8) *Cryptosporidium* pozitif tespit edilirken, ELISA ile bu hastaların dördünde (%7,7) pozitiflik saptanmıştır. Üç hasta ise her iki yöntemle de pozitif olarak bulunmuştur. Kontrol grubundaki kişilerin hiçbirinde parazit tespit edilmemiştir. Mikroskobik yöntemlerle karşılaştırmalı olarak yapılan çeşitli çalışmalarda ELISA'nın en az mikroskobik yöntemler kadar duyarlı olduğu görülmüş ve mikroskobik yöntemlere iyi bir alternatif olduğu vurgulanmıştır (19, 24).

Cryptosporidiosis tanısı dışkı incelemelerinde ookistlerin veya gastrointestinal mukoza biyopsi örneklerinde intrasellüler evrelerinin gösterilmesi veya çeşitli moleküler yöntemlerle konmaktadır. Modifiye asit-fast'le boyanmış dışkı örneklerde beş mikrometre boyundaki kırmızı boyanmış dört sporozoit içeren ookistlerin özellikle daha büyük olan (10 mikrometre) *Cyclospora* ookistlerinden ayırılması önem taşımaktadır. Çoklaştırma yöntemlerinden modifiye çinko sülfat santrifüj flotasyon tekniği veya Sheather'in şeker flotasyon yöntemi sonrası hazırlanan örneklerin faz kontrast mikroskobunda incelenmesiyle iyi sonuçlar alınmaktadır. Formol etil asetat sedimentasyon yönteminde ookistler debristen ayrılabilir. Auramine-rhodamine boyama yöntemi de tanıda kullanılmaktadır. Ayrıca immünofloresan ve ELISA yöntemi tanıda yardımcı olmaktadır (4, 7, 8, 9, 11).

Cryptosporidiosis tanısında dışkıda ELISA yönteminin sensitivitesi %94-97, spesifitesi %99-100 olarak bildirilmektedir (13). Dışkı örneklerinde *Cryptosporidium* tanısında ELISA'nın performansını değerlendiren bir çalışmada 94 HIV (+) olgunun dışkı örneğinin incelenmesinde ELISA ve modifiye Ziehl-Neelsen boyama yöntemi kullanılmış, ELISA'nın sensitivitesi %100,

spesifitesi %96, pozitif prediktif değeri %89, negatif prediktif değeri %100 olarak bulunmuştur (15). Gelişmekte olan ülkelerde HIV(+) bireylerde koksidian parazitlerin %6-40 oranında görüldüğü bildirilmektedir (10).

Yapılan bir başka çalışmada cryptosporidiosis açısından 198 dışkı örneği ELISA, direkt florasan antikor (DFA), modifiye immunflorasan açısından karşılaştırılmış, ELISA'nın sensitivitesi %94, DFA'nın %91, modifiye immunflorasan testinin sensitivitesi %64 olarak bulunmuştur (2).

IFAT ve ELISA ile 296 dışkı örneği *Cryptosporidium* açısından değerlendirilmiş; 100 örnek her iki yöntemle de pozitif saptanmıştır. Araştırma sonucunda ELISA'nın sensitivitesi %93, spesifitesi %99, pozitif prediktif değeri %99 olarak saptanmıştır. Ayrıca ELISA'nın diğer bağırsak parazitleri ile de çapraz reaksiyon vermediği gözlenmiştir. ELISA'nın dışkıda *Cryptosporidium* spp. saptamak için hızlı kolay bir metod olduğu bildirilmiştir (23).

İntestinal koksidian parazitler trichrome veya modifiye asit fast boyama yöntemiyle tanınmaktadır (14, 17). Ancak bu yöntemlerin sensitivitesinin immunflorasan ve ELISA ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu bildirilmektedir (9, 25). ELISA'nın çok sayıda örneği kısa sürede tanıma açısından çok sensitif ve spesifik bir yöntem olduğu bildirilmektedir (16).

Ungar ve ark. (29) yapmış oldukları bir çalışmada ELISA'nın IFAT ve asit fast boyama içeren mikroskobik yöntemlerle kıyaslandığında sensitivitesinin %82 olarak saptandığı bildirilmektedir.

Yapılan bir başka çalışmada toplam 345 dışkı örneği mikroskopi (direkt yayma ve konsantrasyon sonrası) ve ELISA (ProSpecT Microplate Assay) ile *Cryptosporidium* spp. açısından incelenmiş ve 16 örnek pozitif olarak saptanmıştır. Bunların beşi mikroskobik incelemede, 16'sı ise ELISA'da pozitif olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar göstermiştir ki ELISA çabuk, basit ve mikroskopiye göre daha sensitif bir methodur (26).

Çeşitli ELISA kitlerinin *Cryptosporidium* spp. saptama açısından karşılaştırıldığı bir diğer araştırmada Merifluor (Meridian) *Cryptosporidium* kiti referans alınmış ve ELISA'nın *Cryptosporidium* saptama açısından sensitivitesi diğer kitlerde %98 (Alexon) ve %99 (Meridian Premier) olarak saptanmış ve spesifiteleri ise her iki kitede de %100 olarak saptanmıştır (8).

*Cryptosporidium* ELISA kitinin bu çalışmada sensitivitesi %85, spesifitesi %100, negatif prediktif değeri %97,4, pozitif prediktif değeri %100 olarak saptanmıştır.

ELISA ile çok sayıda örneğin aynı zamanda çalışılması, objektif olarak spektrofotometrede okunması ve eğitilmiş personele ihtiyaç duyulmadan değerlendirilmesi avantajlarıdır. Maliyeti yüksek olmasına rağmen tanıda sensitivitesi ve spesifitesi yüksek ELISA testinin kullanılması modifiye asit fast boyama yöntemi ile atlanabilecek olgularda önem taşımaktadır. ELISA'nın özellikle cryptosporidiosis açısından riskli hastaların tanısında klasik yöntemlere ek olarak uygulanmasının son derece önemli olduğu kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. **Atambay M, Daldal N, Çelik T**, 2003. Malatya'da ishali dışkılarda *Cryptosporidium* spp. araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 27: 12-14.
2. **Bialek R, Binder N, Dietz K, Joachim A, Knobloch J, Zelck UE**, 2002. Comparison of fluorescence, antigen and PCR assays to detect *Cryptosporidium parvum* in fecal specimens. *Diag Microbiol Infect Dis*, 43: 283-288.
3. **Börekçi G, Otağ F, Emektaş G**, 2005. Mersin'de bir gecekondu mahallesinde yaşayan ailelerde *Cryptosporidium* prevalansı. *İnfek Derg*, 15(1): 19-41.
4. **Caccio SM**, 2005. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol*, 21: 430-437.
5. **Clark DP**, 1999. New insights into human cryptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev*, 12(4): 554.
6. **Doğancı T, Araz E, Ensari A, Tanyüksel M, Doğancı L**. 2002. Detection of *Cryptosporidium parvum* infection in childhood using various techniques. *Med Sci Monitor*, 8 (12): 223-226.
7. **Flanigan TP, Weverling GJ, Van Gool T**, 1996. Prospective trial of paromomycine for cryptosporidiosis in AIDS. *Am J Med* 100(3): 370-372.
8. **Garcia LS, Shimizu RY**, 1997. Evaluation of nine immunoassay kits for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. *J Clin Microbiol*, 35: 1526-1529.
9. **Garcia LS, Bruckner DA**, 1993. *Diagnostic Medical Parasitology*, 2nd ed., American Society for Microbiology, Washington DC, p.501-540.
10. **Hamshmei R, Smith NH, Cron S**, 1997. Cryptosporidiosis in Houston, Texas: report of 95 cases. *Medicine*, 78: 118.
11. **Holmberg SD, Moorman AC, Von Bargen JC**, 1998. Possible effectiveness of clarithromycin and rifabutin for cryptosporidiosis chemoprophylaxis in HIV disease. HIV Outpatient Study (HOPS) Investigators. *JAMA*, 279: 384-386.
12. **İnceboz T, Sarı B, Orhan V**, 2002. Gastrointestinal şikayetleri olan olgularda *Cryptosporidium* araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 26: 149-150.
13. **John TJ, Petri AW**, 2006. *Markell and Vogle's Medical Parasitology*. 9. baskı, WB Saunders Company, 68-71.
14. **MacKenzie WR, Shell WL, Blair KA**, 1995. Massive outbreak of waterborn *Cryptosporidium* infection in Milwaukee, Wisconsin: Recurrence of illness and risk of secondary transmission. *Clin Infect Dis*, 21(1): 57-62.
15. **Marquez RF, Cardoso LV**, 2005. Performance of an immunoenzymatic assay for *Cryptosporidium* diagnosis fecal samples. *Brazil J Infect Dis*, 9 (1): 3-5.
16. **Mehta P**, 2002. Laboratory diagnosis of Cryptosporidiosis. *J Postgrad Med*, 48: 217.
17. **O'Donoghue, PJ**, 1995. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int J Parasitol*, 25: 139-195.
18. **Ok ÜZ, Kavaklı K, Çetingül N**, 1995. Kemoterapi uygulanan tümörlü çocuklarda barsak parazitlerinin sıklığı. *Türkiye Parazitol Derg*, 19: 385-390.
19. **Ok ZÜ, Üner A, Korkmaz M**, 1995. Cryptosporidiosis. Özel MA(Ed) *İmmun yetmezliklerde önemi artan hastalıklar*. Türkiye Parazitoloji Derneği. Yayın No:12, s.23-42.
20. **Özçelik S, Dökmetaş S, Sümer Z, İçağasıoğlu D, Dökmetaş İ**, 1996. Gastroenteritlilerde *Cryptosporidium* görülme sıklığı. *Türkiye Parazitol Derg*, 20(3-4): 333-336.
21. **Pherwarii AV, Bhavé SY, Bijim AM, Desai AG**, 1989. Prevalence of *Cyptosporidium* in children with acute diarrhea. *Indian J Pediatr*, 6: 133-135.
22. **Rahman M, Shahid N, Rahman H, Sack DA, Hossain S**, 1990. Cryptosporidiosis: A cause of diarrhea in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg*, 2(2): 127-130.
23. **Rosenblatt J, Sloan ML**, 1993. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* spp. in stool specimens. *J Clin Microbiol*, 31(6): 1468-1471.
24. **Silva CV, Ferreira MS, Gocalves- Pires Mdo R, Costa-Cruz JM**, 2003. Detection of *Cryptosporidium* specific coproantigen in human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome patients by using a commercially available immunoenzymatic assay. *Mem Ins Oswaldo Cruz*, 98(8): 1097-1099.
25. **Smith HV, Caccio SM, Tait A**, 2006. Tools investigating the environmental transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in humans. *Trends in Parasitology* 22: 160-167.
26. **Srijan A, Wongs B, Pitarangsi C, Serichantalergs O, Fukuda CD, Bodhidatta L, Mason CJ**, 2005. Re-evaluation of commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium* spp. from stool specimens. *Sutheast Asian J Trop Med Public Health*, 36: 26-29.
27. **Tanyüksel M, Haznedaroğlu T, Gün H**, 1995. Neoplastik hastalarda *Cryptosporidium* spp. araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 19: 56-63.
28. **Türk M, Şener GA, Orhon M, Candüz K, Yurtsever SG, Türker M**, 2004. Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında Ocak 2001-Haziran 2003 yılları arasında saptanan barsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 28(2): 100-102.
29. **Ungar, BP**, 1990. Enzyme-linked immunoassay for detection of *Cryptosporidium* antigens in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 28: 2491-2495.
30. **Yıldız M, Çöplü N, Kılıç S, Babür C, Öncül Ö, Esen B**, 2000. İshali olan solid tümörlü hastalarda enterik patojen olarak *Cryptosporidium* araştırılması. II. Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi (25-29 Eylül 2000, Şanlıurfa) Özet kitabı, İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği, s.250.
31. **Yücel A, Bulut V, Yılmaz M**, 2000. Elazığ yöresinde diyareli olgularda ve hemodiyaliz olgularında *Cryptosporidium* spp. araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 24: 126-32.