

## Dışkıda Protozoonların Araştırılmasında Konvansiyonel ve Ticari Trikrom Boyama Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Merve AYDIN \*   
Semra KUŞTİMUR \*\*

Gülcan ADIYAMAN \*\*  
Funda DOĞRUMAN AL \*\*

Tuğba KAYA \*\*

\* Erzincan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-24100 Erzincan - TÜRKİYE  
\*\* Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-06500 Ankara - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2012-6089

### Özet

Dışkının parazitolojik incelemesinde kalıcı boyama yöntemleri nativ-lugol incelemeye göre daha yüksek duyarlılık göstermesinin yanında, hazırlanan dışkı preparatlarının daha sonra incelenebilmesine olanak sağlaması ve protozoonların iç yapılarını tanımlanması nedeniyle tercih edilmektedir. Kalıcı boyama yöntemi olarak en sık trikrom boyama yöntemi kullanılmaktadır. Laboratuvarında hazırlanan konvansiyonel trikrom boyama çok basamaklı, hazırlanması ve uygulanması zahmetli olup, kısa sürede yapılan, az basamak içeren ve solüsyonları kit içerisinde hazır olarak kullanıma sunulan ticari trikrom ürünleri bulunmaktadır. Bu çalışma dışkıda protozoonların saptanmasında konvansiyonel ve ticari trikrom boyama yöntemlerinin karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Parazit incelemesi amacıyla gönderilen 155 dışkı örneği konvansiyonel ve ticari (PARAPAK®, ECOSTAIN®, Meridian Bioscience, Inc, USA) trikrom boyası ile boyanarak mikroskopik olarak incelenmiş ve her iki yöntem protozoonları saptama, her alanda görülen protozoon sayısı ve protozoonların tipik morfolojik özelliklerini göstermesine dayalı boyama kalitesi açısından değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; protozoonların saptanmasında konvansiyonel ve ticari yöntemler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P=0.752$ ). Bununla birlikte ticari trikrom boyama yönteminin konvansiyonel trikrom yöntemine göre duyarlılığı %78.2, özgüllüğü ise %99.2 olarak belirlenmiştir. Her alanda görülen parazit sayısı açısından iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasına rağmen ( $P=0.545$ ), protozoonun tipik morfolojik özelliklerini göstermesi açısından yöntemler karşılaştırıldığında istatistiksel fark anlamlı olarak tespit edilmiştir ( $P=0.008$ ).

**Anahtar sözcükler:** *Gastrointestinal protozoonlar, Tanı, Trikrom boyama*

## Comparison of Conventional and Commercial Trichrome Staining Methods for Detecting Protozoan in Stool Samples

### Summary

In parasitological examination of stool, permanent staining methods are preferred because they enable stool preparations be examined afterwards and they define internal structures of protozoons, besides showing higher sensitivity compared to native-lugol examination. Trichrome staining method is frequently used as permanent staining method. Conventional trichrome staining is multiple-stage, preparation and application is troublesome, but there are commercial trichrome products prepared in a short time, having fewer stages and solutions of which are brought into use in kit. This study is carried out for comparing conventional and commercial trichrome staining methods in detection of protozoan in the stool. 155 stool samples sent for parasitological examination are stained with conventional and commercial (PARAPAK®, ECOSTAIN®, Meridian Bioscience, Inc, USA) trichrome stain and examined microbiologically; both methods are evaluated in terms of staining quality based on detection of protozoons, the number of protozoons detected in each area and having typical morphological features of protozoons. The difference between conventional and commercial methods in detection of protozoan is not statistically significant ( $P=0.752$ ). Besides, the sensitivity of commercial trichrome staining method is 78.2% compared to conventional method, specificity is 99.2%. Although no statistically significant differences are detected between two methods as to number of parasites in each area ( $P=0.545$ ), when they are compared with respect to having morphological features of protozoons, statistically significant difference is detected ( $P=0.008$ ).

**Keywords:** *Gastrointestinal protozoan, Diagnosis, Trichrome staining*



İletişim (Correspondence)



+90 312 2024627



mervegazi@yahoo.com.tr

## GİRİŞ

Bağırsak parazitleri, gelişmekte olan ülkeler için en önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır <sup>1</sup>. Bağırsak parazitlerinin dağılımı; toplumun kültürel yapısı, sosyo-ekonomik düzeyi, temizlik ve beslenme alışkanlıkları, eğitim düzeyi, iklim ve çevre koşullarına bağlı olarak değişmektedir <sup>2,3</sup>.

Bağırsak protozoonlarının tanısı amacı ile dışkı örneklerinin mikroskopik incelemelerinde, ancak birçok yöntem bir arada kullanıldığında tatmin edici sonuçlar alınmaktadır <sup>1</sup>. Parazit az sayıda olduğunda, parazitin atipik formları görüldüğünde veya aynı dışkı örneğinin birden fazla parazit içermesi durumunda doğru tanı konulmasının zor olduğu ifade edilmektedir <sup>4</sup>. Kalıcı boyama yöntemleri ise hazırlanan dışkı preparatlarının daha sonra incelenebilmesine olanak sağlaması, protozoonların morfolojik yapılarının tanımlanması ve nativ-lugole göre daha yüksek duyarlılık göstermesi nedeniyle tercih edilmektedir <sup>5</sup>. Kalıcı boyama yöntemleri olarak en sık trikrom, demir hematoxilen, spencer-monroe ve asit fast boyama yöntemleri (aside dirençli protozoonlar için) kullanılmaktadır <sup>6</sup>. Trikrom boyama yöntemi, bu yöntemler arasında rutin laboratuvarlarda protozoonların dışkıdaki artefaklardan, konak ve maya hücrelerinden ayırt edilmesine ve protozoonların iç yapılarının incelenmesine olanak tanımakta ve sık kullanılmaktadır <sup>7</sup>.

Bu çalışmada; laboratuvarımız parazitoloji birimine rutin parazitolojik inceleme için gönderilen dışkı örnekleri, konvansiyonel ve ticari trikrom boyası ile boyanarak mikroskopik olarak incelenmiş ve her iki yöntem protozoonları saptama, her alanda görülen protozoon sayısı ve protozoonların tipik morfolojik özelliklerini göstermesine dayalı boyama kalitesi açısından değerlendirilmiştir.

## MATERYAL ve METOT

Çeşitli poliklinik ve kliniklerden karın ağrısı, ishal, kabızlık, gaz, bulantı, iştahsızlık gibi gastrointestinal sistem şikayetleri ile gönderilen 155 dışkı örneği nativ-lugol yöntemi ile incelendikten sonra konvansiyonel ve ticari (PARAPAK®, ECOSTAIN, Meridian Bioscience, Inc, USA) trikrom boyası ile boyanarak her iki yöntem protozoonları saptama, her alanda görülen protozoon sayısı ve protozoonların tipik morfolojik özelliklerini göstermesine dayalı boyama kalitesi açısından değerlendirilmiştir. Her alanda 3 ve üzerinde görülen parazit sayısı çok, her alanda 3'ün altında görülen parazit sayısı az olarak tanımlanmıştır.

### Konvansiyonel Trikrom Boyama Yöntemi

Dışkı örnekleri lamlara yayıldıktan sonra, kenarları kurumaya başlarken Schaudinn fiksatifinde en az yarım saat bekletildi. Sırasıyla %70'lik etil alkolde beş dakika, D'Antoni'nin iodin solüsyonunda üç dakika, %70'lik etil

alkol içeren iki şalede iki ve beş dakika, trikrom boya solüsyonunda ise sekiz dakika bekletilen lamlar çıkartılarak fazla boyanın süzülmesi sağlandı ve %90 asit-alkole üç kez batırılıp çıkarıldı, %95'lik etil alkol içeren iki şalede çalkalandı. Sırasıyla karbol-ksilen içeren iki şalede iki ve beş dakika, ksilen içeren iki şalede ise sırasıyla iki ve beş dakika bekletildikten sonra lamlar kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamların üzerine kapatıcı (quick-hardening mounting medium, Fluka Biochemika Eukitt®, USA) damlatılarak lamelle kapatıldı. Preparat immersiyon yağı kullanılarak ışık mikroskopunda 100X objektifte incelendi. Bu boyama sırasında tespit basamağı da dahil olmak üzere on üç basamak kullanıldı ve toplam boyama işlemi yaklaşık 70 dakika sürdü <sup>8</sup>.

### Ticari Trikrom Boyama Yöntemi

Üretici firmanın (PARAPAK®, ECOSTAIN, Meridian Bioscience, Inc, USA) önerileri doğrultusunda iki farklı solüsyon (Trikrom Enhancer A & Trikrom Enhancer B) karıştırılarak hazırlanan, 48 saat içerisinde kullanılması gereken ve aynı zamanda da hazırlandıktan sonra boyama işleminden önce bir saat bekletilme gerekliliği taşıyan boya solüsyonu kullanıldı. Dışkı örneği çok yoğun olmayacak biçimde lamların 2/3'lük bölümüne yayıldıktan sonra tam kurumadan üzerini kapatacak şekilde boyadan yaklaşık bir ml lama damlatılarak üç dakika bekletildi. Daha sonra distile su ile yıkanan lamlar kurutma kağıdında dik olarak süzülerek sırasıyla %90 ve %100 asit alkolde üçer defa daldırıp çıkarıldı. Lamlar %100 etil alkolde ve sonrasında modifiye Hemo-De solüsyonunda üçer dakika bekletildi. Kuruyan lamların üzerine kapatıcı damlatılarak lamelle kapatıldı. Preparat immersiyon yağı kullanılarak ışık mikroskopunda 100X objektifte incelendi. Ticari trikrom boyasında Schaudinn fiksasyon aşaması bulunmamakta olup bu boyama yönteminde uygulanan altı basamak yaklaşık 10 dakika sürdü.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde 16.0 SPSS bilgisayar programı kullanıldı ve P<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

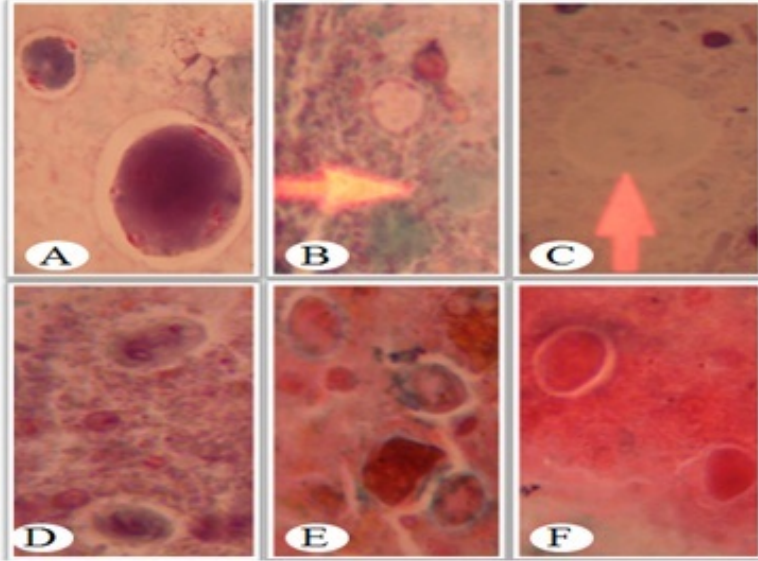
## BULGULAR

Çalışmamızda 155 hastanın dışkı örneği, protozoonların araştırılması amacıyla, nativ-lugol mikroskopik inceleme, konvansiyonel ve ticari trikrom boyama yöntemiyle değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların 83'ü kadın (%54), 72'si erkek (%46) cinsiyette idi. Hastalara ait toplam 155 dışkı örneğinin makroskopik incelemesinde %68'nin (n=105) şekilli, %32'nin (n=50) ishalleri olduğu gözlemlendi.

Nativ-lugol ile dışkı örneklerinin %3'ünde (n=5), konvansiyonel trikrom boyama yöntemiyle %14.8 (n=23) parazit belirlendi. Her iki yöntem arasında parazit saptama açısından istatistiksel fark anlamlı olarak belirlendi (P<0.001). Konvansiyonel trikrom boyama yöntemi ile incelenen dışkı

örneğin 23'ünde (%14.8) protozoon saptanırken, ticari trikrom boyama yönteminde ise bu oran 19 (%12.2) olarak saptanmıştır. Her iki boyama yönteminde de en sık olarak *Blastocystis* spp. tespit edilmiştir (Tablo 1). *Entamoeba histolytica* ve *Entamoeba dispar* şüphesiyle kliniklerden hasta örneği gönderilmemiştir. Bu nedenle ELISA testi ile dışkıda antijen aranmamıştır. İncelenen dışkı örnekleri nativ-lugol, konvansiyonel ve ticari trikrom boyama yöntemi ile örneklerin hiçbirinde şüpheli kistik yapı ve/veya trofozoit görülmemiştir.

Her iki yöntem protozoonları saptama, her alanda görülen protozoon sayısı ve protozoonların tipik morfolojik özelliklerini göstermesine dayalı boyama kalitesi açısından karşılaştırıldığında, parazit saptamada konvansiyonel ve ticari yöntemler arasında istatistiksel fark anlamlı olmasa da ( $P=0.545$ ), konvansiyonel trikrom boyama yöntemi referans alındığında, ticari trikrom boyama yönteminin duyarlılığı %78.2, özgüllüğü ise %99.2 olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Protozoonun tipik morfolojik özelliklerini göstermesi açısından iki yöntem karşılaştırıldığında istatistiksel fark



**Şekil 1.** Protozoonların konvansiyonel trikrom ve ticari trikrom boyasındaki görünümü

A) Konvansiyonel trikrom boyası ile *Blastocystis* spp.'nin görünümü, B-C)Ticari trikrom boyası ile *Blastocystis* spp.'nin görünümü (atipik hayalet hücreler) görünüm, D) Konvansiyonel trikrom boyası ile *G. intestinalis* kistin görünümü, E-F) Ticari trikrom boyası ile *G. intestinalis* kistin görünümü (atipik)

**Fig 1.** The protozoan in conventional and commercial trichrome staining methods

A) The *Blastocystis* spp. in conventional trichrome staining, B-C)The *Blastocystis* spp. in commercial trichrome staining (atypical ghost cells) görünüm, D) *G. intestinalis* cyst in conventional trichrome staining, E-F) *G. intestinalis* cyst in commercial trichrome staining (atypical)

**Tablo 1.** İncelenen 155 dışkı örneğinde saptanan protozoonların dağılımı

**Table 1.** Distribution of detected protozoan in examined of 155 stool samples

Saptanan Protozoonlar	Nativ-lugol*		Konvansiyonel Trikrom Boyama *		Ticari Trikrom Boyama *	
	n	%	n	%	n	%
<i>Blastocystis</i> spp.	3	1.9	18	11.61	16	10.32
<i>Giardia intestinalis</i> ( <i>G. intestinalis</i> )	1	0.6	2	1.29	2	1.29
<i>Endolimax nana</i> ( <i>E. nana</i> )	-	-	2	1.29	1	0.64
<i>Blastocystis</i> spp. & <i>G. intestinalis</i>	1	0.6	1	0.64	0	0
<b>Toplam</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>23</b>	<b>14.83</b>	<b>19</b>	<b>12.25</b>

\* Yüzdeler tüm incelenen örnekler göz önüne alınarak hesaplanmıştır

**Tablo 2.** Her iki trikrom boyama yöntemiyle incelenen 155 dışkı örneğinin dağılımı

**Table 2.** The distribution of 155 stool samples which were examined with both trichrome staining methods

Değerlendirme Kriterleri		Konvansiyonel Trikrom Boyama		Ticari Trikrom Boyama	
		n	%	n	%
Protozoon	Var	23	14.8	19	12.3
	Yok	132	85.2	136	87.7
Sayı	Az sayıda	13	8.4	15	9.7
	Çok sayıda	10	6.4	4	2.6
Morfoloji	Tipik	23	14.8	10	6.4
	Atipik	0	0	9	5.8
<b>Toplam</b>		<b>155</b>	<b>100</b>	<b>155</b>	<b>100</b>

anlamli olarak tespit edilmiştir (P=0.008). Konvansiyonel boyama yönteminin boya kalitesinin daha iyi olduğu, protozoonların tipik morfolojisini ve içyapılarını daha iyi gösterdiği gözlenmiştir. Konvansiyonel boyama yöntemi ile boyanan preparatlarda parazitlerin hücre çeperinin daha net görülmesi, çekirdeklerinin daha düzgün boyanması, her alanda görülen parazit sayısının da daha fazla olması ve parazitlerin boyalı morfolojisinin zemin renklerinden daha belirgin ayrıldığı belirlenmiştir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Bağırsak protozoonlarının tanısı için dışkının mikroskopik incelenmesinde, birkaç yöntemin bir arada kullanılmasının tanıda duyarlılığı artırdığı bildirilmektedir <sup>8</sup>. Dışkı örneklerinin mikroskopik incelemesinde uygulanan yöntemler; hastanın semptom ve bulgularına, dışkının kan ve/veya mukus içerip içermemesine, laboratuvar çalışanlarının deneyimlerine, malzemelerin çeşitliliğine, ayrılacak zamanın süresine, hatta hastanın bağırsıklık durumuna göre de farklılık gösterebilmektedir. En sık kullanılan yöntemler serum fizyolojik ve lugol solüsyonu ile direkt mikroskopik inceleme; çeşitli yoğunlaştırma yöntemleri sonrasında inceleme ve kalıcı boyalı preparatların hazırlanması ile yapılan incelemelerdir <sup>9</sup>.

Trikrom, demir hematoksilin, spencer-monroe ve kinyoun asit fast boyama yöntemi (aside dirençli protozoonlar için) kalıcı boyama yöntemleri olarak kullanılmaktadır <sup>6</sup>. En sık kullanılan kalıcı boyama yöntemlerinden biri olan trikrom boyama yönteminin 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 <sup>8-10</sup>. Ayrıca bu boya laboratuvar ortamında hazırlanabilir, yüksek düzeyde stabil ve uzun bir raf ömrüne sahiptir <sup>9</sup>. Ancak konvansiyonel trikrom yönteminde solüsyonların hazırlanması zaman almakta, boyama işleminin basamak sayısı fazla olmakta ve uzun sürmektedir <sup>7</sup>. Ticari boyama yönteminin olumsuzlukları göz önüne alındığında konvansiyonel trikrom boyama yöntemi uzun bir boyama yöntemi olmasına rağmen parazitlerin iç yapılarının ve çeperlerinin daha iyi boyanması sebebiyle daha uygundur ve tanıda yarar sağlamaktadır. Çalışmamızda kullandığımız ticari boyama yönteminde ise ayrıca bir tespit basamağı bulunmamakta, daha pratik ve kısa sürmektedir. Bu yöntemin dezavantajı ise günlük örnek sayısı sabit olmayan laboratuvarlarda boyanın önceden hazırlanması fazla boya sarf edilmesine neden olup maddi kayba yol açabilmektedir. Aynı zamanda uygulama öncesi boyanın hazırlandıktan sonra en az bir saat bekletilmesi gün sonu gelen örnekler açısından uygulama kısıtlılığı oluşturmaktadır. Çalışmamızda klasik trikrom boyama yöntemi ile nativ-lugol incelemede belirlenemeyen 18 dışkı örneğinde parazit belirlenmiştir Her iki yöntem arasında

parazit saptanması açısından istatistiksel fark anlamlı olarak saptanmıştır (P<0.001).

Ülkemizde bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde; Aykan ve ark.'ları dışkı örneklerindeki protozoonların trikrom boyası kullanılarak değerlendirilmesi amacıyla 2141 dışkı örneğini incelemişlerdir. İncelenen dışkı örneklerinde 174 (%8.1) protozoon belirlenmiştir. 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. Bu çalışmada bağırsak protozoonlarının değerlendirilmesinde trikrom boyama yöntemi %87.9 oranında duyarlı bulunmuştur <sup>5</sup>.

Daldal ve ark.'nın çalışmalarında ishallerde bağırsak protozoonlarının tanısında nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemleri ile 500 dışkı örneği incelenmiştir. Dışkı örneklerinin nativ-lugol yöntemi ile %5.2'sinde *G. intestinalis*, %2.2'sinde *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), %1.8'inde *Entamoeba coli* (*E. coli*), %2'sinde *Trichomonas intestinalis*, %0.6'sında *B. hominis*, %0.2'sinde *E. nana*, %0.2'sinde *Entamoeba hartmanni* ve %0.2'sinde *Chilomastix mesnili* bulunmuşken, trikrom boyasında, %6.2'sinde *G. intestinalis*, %2.8'sinde *E. histolytica*, %2.2'sinde *E. coli*, %0.8'inde *B. hominis*, %0.4'ünde *E. nana*, %0.2'sinde *E. hartmanni* saptanmıştır <sup>11</sup>.

Doğruman-Al ve ark.'nın yaptığı çalışmada 105 dışkı örneği *Blastocystis* spp. enfeksiyonu açısından nativ-lugol, trikrom boyama, İmmun Floresan Antikor (IFA) yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Nativ-lugol ile 11 (%10.5), trikrom boyama yöntemi ile 15 (%14.3) ve IFA yöntemi ile 26 (%24.8) dışkı örneğinde pozitiflik saptanmıştır. Kültür yöntemiyle karşılaştırıldıklarında nativ-lugol, trikrom ve IFA yöntemlerinin duyarlılığı sırasıyla %36.7, %50 ve %86.7 özgüllükleri ise; %91, %100 ve %97.3 olarak belirlenmiştir <sup>12</sup>.

Çalışmamızda konvansiyonel trikrom boyama yöntemi ile incelenen 155 dışkı örneğinde *Blastocystis* spp. varlığı %11.61 bulunmuştur. Yetkin ve ark.'nın 2010 yılında 110 öğrenci üzerinde flotasyon, nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemleri kullanarak yaptıkları çalışmada da *Blastocystis* spp. varlığı (%11.81) bizim sonuçlarımıza benzer bulunmuştur <sup>13</sup>.

Kellogg ve ark.'ları, 12.321 dışkı örneğini nativ-lugol ve trikrom boyası yöntemleri ile parazit açısından değerlendirmişlerdir. Dışkı örneklerinin %99.2'sinde trikrom boyası ile parazit bulunurken, nativ-lugol yöntemi ile bu oran %47 olarak tespit edilmiştir. İki yöntem karşılaştırıldığında istatistiksel fark anlamlı olarak bulunmuştur (P<0.001) <sup>14</sup>.

Üner ve ark. inceledikleri dışkı örneklerinde nativ-lugol ile %24.1, trikrom boyama ile %37 oranında parazit saptadıklarını bildirmişlerdir <sup>15</sup>. Ok ve ark. ise toplam 311 dışkıda nativ-lugol yöntemi ile %1.2 oranında protozoa kisti,

%0.4'ü protozoa trofozoitine rastlarken, trikrom boyasında %1.4 oranında protozoa kisti %2.1'i protozoa trofozoitine rastlamışlardır<sup>16</sup>. Yapılan tüm bu çalışmalarda trikrom boyama yönteminin parazitlerin saptanmasında nativ lugol incelemeye göre daha üstün olduğu belirlenmiştir.

Ticari trikrom ve konvansiyonel trikrom boyalarının karşılaştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Garcia ve ark. konvansiyonel ve ticari trikrom boyasını karşılaştırmak amacıyla 51 dışkı örneği incelemiştir. Örneklerde *E. histolytica/dispar* (n=5), *E. coli* (n=9), *E. hartmanni* (n=6), *E. nana* (n=12), *Iodamoeba butschlii* (n=8), *B. hominis* (n=19), *G. intestinalis* (n=6) ve *Dientamoeba fragilis* (n=2) protozoonlarını saptamışlar ve konvansiyonel trikrom ile boyanan preparatlarda parazitlerin nükleuslarının ve diğer yapılarının daha düzgün boyandığını ve tespitinin kolay olduğunu, ticari trikrom boyasında ise parazit yapılarının iyi boyanmadığını belirlemiştir. Protozoonların morfoloji kalitesi konvansiyonel trikrom boyama yönteminde %53.7, ticari trikrom boyama yönteminde ise %35.8 olarak saptanmıştır<sup>17</sup>.

Çalışmamızın sonuçları trikrom boyama yöntemleri açısından Garcia ve ark.'nın sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur. Konvansiyonel trikrom boyama yöntemi ile incelenen 155 dışkı örneğinin 23'ünde (%14.8) protozoon saptanırken, ticari trikrom boyama yönteminde ise bu oran 19 (%12.2) olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda nativ-lugol ve klasik trikrom boyama yöntemlerinden elde edilen veriler ülkemizde yapılan yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Trikrom boyama yönteminin direk mikroskopiden daha duyarlı olduğu bu çalışmalarda da saptanan ortak bulgu olarak dikkati çekmektedir<sup>14-16</sup>.

Sonuç olarak; klasik trikrom boyama yönteminin uzun sürmesi ve çok basamak içermesine karşın parazitlerin morfolojilerini tanımlamaları açısından ticari boyama yönteminden daha üstün oldukları gözlenmiştir. Ticari trikrom boyama yönteminin ise kısa sürede ve pratik uygulanımı olmasına rağmen protozoonların morfolojik özelliklerini tanımlamada yetersiz kaldığı belirlenmiştir. Bu nedenle ticari trikrom boyama yöntemlerinin rutin kullanımı öncesinde, konvansiyonel boyama yöntemleriyle karşılaştırılarak performansları değerlendirilmesinin gerektiğine ve dışkıda mikroskopik inceleme ile parazit aranmasında sadece nativ-lugol inceleme yapılmasının yetersiz olduğu, trikrom boyama yönteminin de uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Oyelese AO, Udoh SJ, Zailani SB, Ijaware CO:** Pattern of intestinal parasites among hospital patients at Ile-Ife. *Afr J Med Med Sci*, 31 (2): 107-109, 2002.
- Markell EK, Voge M, John DT:** Parasite, Parasitism and Host Relations. In, Ozmat S (Ed): *Medical Parasitology*. 7<sup>th</sup> ed., pp. 5-22, WB Saunders Co, Mexico, 1992.
- Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M:** Unat'ın Tıp Parazitolojisi "İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıkları". 5. Baskı, s. 19-44, İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları, İstanbul, 1995.
- Koltaş İS, Özcan K, Aras D, Mıdıklı D:** Adana'nın çeşitli sağlık kuruluşlarında Amip görülen dışkıların kültür ve trikrom boyama yöntemleri ile değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg*, 23 (2): 126-128, 1999.
- Aykan B, Çağlar K, Kuştımur S:** Dışkı örneklerindeki protozoonların trikrom boyası kullanılarak değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg*, 29 (1): 34-38, 2005.
- Garcia LS:** Microscopic examination of fecal specimens. In, Isenberg HD (Ed): *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. ASM Press, USA, 1992.
- Ok ÜZ, Yereli K:** Parazitoloji laboratuvarında sık kullanılan dışkı inceleme yöntemlerinin değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg*, 20 (2): 285-292, 1996.
- Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E:** Parazit hastalıklarında tanı. In, Özcel MA, Altıntaş N (Eds): *Dışkı İnceleme Yöntemleri*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No: 15, 1-61, İzmir, 1997.
- Ok ÜZ, Korkmaz M, Ok GE, Özkan AT, Özcel MA:** Bağırsak protozoasının tanısında nativ-lugol, formol-eter konsantrasyon ve trikrom boyama yöntemlerini karşılaştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 20, 75-82, 1996.
- Garcia LS:** Examination of fecal specimens microscopic examination. In, Garcia LS (Ed): *Diagnostic Medical Parasitology*. 5<sup>th</sup> ed., pp. 802-803, Washington, 2007.
- Daldal N, Atambay M, Çelik T:** İshalli olgularda bağırsak protozoonlarının tanısında nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. *İnönü Üniv Tıp Fak Derg*, 9 (3): 175-178, 2002.
- Doğruman-Al F, Şimşek Z, Boorum K, Ekici E, Şahin M, Tuncer C, Kuştımur S, Altınbaş A:** Comparison of methods for detection of Blastocystis infection in routinely submitted stool samples, and also in IBS/IBD patients in Ankara, Turkey. *PLoS ONE*, 5 (11): e:15484, 2010.
- Yetkin A, Değer S, Özdal N:** Intestinal parasites in the students of Van Health High School and Faculty of Veterinary Medicine. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (1): 81-84, 2010.
- Kellogg AJ, Elder J:** Justification for use of a single trichrome stain as the sole means for routine detection of intestinal parasites in concentrated stool specimens. *J Clin Microbiol*, 37 (3): 835-837, 1999.
- Üner A, Aksoy Ü, Dağcı H, Babaoğlu A:** Şekilli ve şekilsiz dışkılarda değişik Amip türlerinin bulunma sıklığının nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemleri ile araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 23 (3): 233-236, 1999.
- Ok ÜZ, Korkmaz M, Ok GE, Özkan AT, Özcel MA:** Barsak protozoasının tanısında nativ-lugol, formol-eter konsantrasyon ve trikrom boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 20 (1): 75-82, 1996.
- Garcia LS, Shimizu RY:** Evaluation of intestinal protozoan morphology in human fecal specimens preserved in EcoFix: Comparison of Wheatley's trikrom stain and EcoStain. *J Clin Microbiol*, 23 (3): 1974-1976, 1998.