

Türkiye'de Bir AIDS Hastasında İlk Mikrosporidiaz ve Solunum Sistemini Tutan İlk Kriptosporidiaz Olgusu(*)

Ergene BÜGET(**), Özden BÜYÜKBABA-BORAL(**), Hayriye KIRKOYUN-UYSAL(**), Özcan NAZLICAN(***), Tolga ÖĞÜT(**), Gökhan ŞENGÜR(**)

ÖZET

Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesinde tedavi altında olan bir AIDS olgusunda, hastanın inatçı diyaresine ek olarak solunum sistemi şikayetleri artmıştır. İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılan dört ayrı dışkı örneği incelenmesinde *Cryptosporidium* oocistleri ile *Microsporidium* sporları belirlenmiş, ayrıca terminal dönemde alınan iki ayrı balgam örneğinde de çok sayıda *Cryptosporidium* oocistleri görülmüştür.

Bu olgu *Cryptosporidium*'ların diyare ile birlikte yurdumuzda ilk kez solunum yolu infeksiyonu etkeni olarak saptanması ve yine yurdumuzda ilk kez dışkı örneğinde *Microsporidium* sporlarının görüldüğü olgu olması nedeni ile bildirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kriptosporidiaz, mikrosporidiaz, AIDS

SUMMARY

First Case Report in Turkey: Microsporidiosis and Pulmonary Cryptosporidiosis in an AIDS Patient.

An AIDS patient hospitalized at Haseki Education and Research Hospital, in addition to persistent diarrhea, increasing of pulmonary complaints were seen. *Cryptosporidium* oocysts and *Microsporidium* spores were determined in four different stool samples of the patient examined at Istanbul Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology. At the terminal stage of infection, a number of *Cryptosporidium* oocysts were seen in two sputum samples of the patient. Because of this case is the first pulmonary cryptosporidiosis and the first microsporidiosis in Turkey was reported.

Key words: Cryptosporidiosis, microsporidiosis, AIDS

GİRİŞ

Cryptosporidium cinsi 1907 yılında tanımlanmış, ancak kliniği ve epidemiyolojisine ilişkin bilgiler son yıllarda aydınlatılmıştır. Özellikle immün sistemi baskılananlarda ve AIDS'lilerde ağır seyirli diyare etkenidir. Yapılan son çalışmalar *Cryptosporidium* infeksiyonlarının sadece gastrointestinal sistemle sınırlı kalmadığını, solunum ve safra yolu infeksiyonlarında da rol oynadığını göstermiştir (1,2).

Kriptosporidiazın patogenezi normal bireylerde ve immün sistemi baskılananlarda halâ tam açık olmakla birlikte atılan oocist sayısı ile diyare arasında tam bir korelasyon vardır. Çalışmalar villus atrofile-

rinin ve malabsorbsiyonun 24 saatte 10⁸ oocist çıkarılan hastalarda meydana geldiğini göstermiştir. Kriptosporidiaz, immün sistemi normal bireylerde belirtisiz veya 20 günle kendini sınırlayan kusma, düşük ateş, abdominal kramp, günde 5-10 kez sulu ve mukuslu diyare ile seyredir. İmmün sistemi baskılananlarda ise barsak infeksiyonu, solunum problemleri, kolesistit, hepatit, pankreatit ile birlikte görülür. Çok sık dışkılama, kilo kaybı, kusma, karın ağrısı, bulantı ve orta derecede ateşle seyredir (3).

Cryptosporidium'ların tanısında dışkı, balgam ve safra örneklerinde oocistler araştırılır. Bu amaçla hazırlanan preparasyonlar modifiye aside dirençli boyama yöntemlerinden biri uygulanarak incelenir. Oocistler pembe-kırmızı renkte boyanır. Dışkı örneklerinde DFA ve ELISA ile dışkıda antijen araştırması oldukça duyarlıdır (4-6). *C. parvum*'un 18-20 kDa ağırlığındaki antijenlerine karşı elde edilen monoklonal antikorlar kullanılarak immüno-floresans ile oocist içindeki sporozoitler belirlenebilir

(*) Bu olgu İ.Ü. Araştırma Fonu'na desteklenen bir araştırma projesinin yürütülmesi sırasında saptanmıştır. Çalışma halen devam etmektedir.

(**) İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

(***) Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

(7).

Tedavi halen tartışmalıdır. Ancak paromomisin ile atılan ookist sayısının önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Halofuginon ve letrazuril etkinliği araştırılan ilaçlar arasındadır (1,2,8).

Yeni tanınan protozoonlar arasında yer alan Microsporidium'lar mitokondrileri olmayan zorunlu hücre içi parazitidirler. Günümüze kadar bildirilen insan mikrosporidiaz olgularının sayısı 400 kadardır ve bu olguların tümünün HIV'li ve immün sistemi baskılanmış kişilerde olması fırsatçı patojen olarak Microsporidium'ların önemini artırmıştır. Özellikle AIDS'lilerde diğer enterik patojenlerin belirlenmediği, kronik diyare olgularının %15-30'undan sorumlu tutulmaktadır. Microsporidium'lar ayrıca insanda yerleşim yerlerine göre çok çeşitli infeksiyonlara da neden olurlar (9,10).

CD4 sayısı 100 hücre/mm³'ün altında ve kronik diyareli bireylerde Microsporidium infeksiyonunun düşünülmesi ve araştırılması önerilmektedir. Microsporidium sporlarının belirlenmesinde altın standart, elektron mikroskopisidir. Pratikte ise dışkı, idrar, balgam, konjunktiva salgısı, nazal salgı örneklerinden hazırlanan preparasyonlar; modifiye trikrom, modifiye aside dirençli boyama yöntemleri ile boyanarak incelenebilir.

Modifiye trikrom ile sporlar pembe, modifiye asit boyama ile pembe - kırmızı renkte boyanırlar. Ayrıca calcofluor white, fungifluor, Uvitex 2B gibi kemofluoresan ajanlar spor duvarı kitinine bağlanır ve sporlar fluoresans mikroskopta mavi-beyaz fluoresans verirler. DFA ve PCR yöntemleri de araştırma amacı ile kullanılmaktadır. Tedavide metronidazol, itrakonazol, primakin, lomotel, loperamid ve albendazol çeşitli hastalarda denenilen ilaçlardır (1,11,12).

OLGU

33 yaşında erkek, biseksüel konfeksiyon işçisi 31.10.1996'da iştahsızlık, kilo kaybı ve ateş şikayetleri ile Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesine başvurmuştur. 7.11.1996'da ELISA ile anti-HIV antikorları pozitif bulunmuş ve Western Blot testi ile so-

nuç doğrulanmıştır.

2.12.1996'da CD4 = %2 (48/mm³) olarak bulunan hasta, Ağustos 1998'e kadar kontrollerine düzenli olarak gelmiştir.

Eylül 1997'de yapılan kontrolünde CD4 = %5 (80/mm³) olarak bulunan hastanın bu dönemde solunum yolları şikayetleri olmuş, ancak amoksisilin tedavisine olumlu yanıt alınmıştır.

9.11.1998 tarihli kontrolünde bulantı, kusma, halsizlik ve ateş yakınmaları artan hastanın özellikle sağ akciğer bazalinde ronküsler saptanmış ve son iki ayda 5 kg'lık kaybı olduğu gözlemlenmiştir.

9.11.1998 - 24.11.1998 tarihlerinde hospitalize edilen hastaya 14 günlük ampisilin - sulbaktam tedavisi uygulanmıştır. 21.12.1998'de öksürük, bulantı ve şiddetli diyare yakınması ile tekrar polikliniğe gelen hasta yatırılarak AZT + ddC tedavisine, ampisilin - sulbaktam tedavisi eklenmiştir.

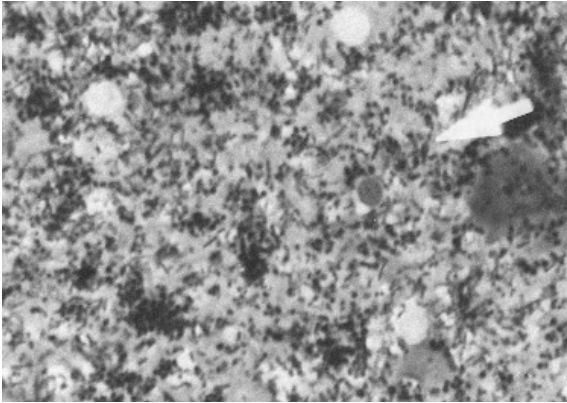
31.12.1998'de trimetoprim-sulfametoksazol başlanan hastanın, İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılan dışkı kültüründe patojen bakteri ürememiş, parazitolojik incelemede ise Cryptosporidium ookistleri ve Microsporidium sporları belirlenmiştir. Bunun üzerine hastaya spiramisin tedavisi uygulanmıştır. Diyarinin geçmemesi üzerine semptomatik tedavi amacı ile difenoksilat (Lomotil) tedaviye eklenmiştir. Ancak son iki ayda 19 kg kaybeden hastanın diyaresi kesilmemiş, öksürük, balgam çıkarma ve ateş bulguları devam etmiştir. Bu dönemde hastadan alınan yeni dışkı örneklerinin yanısıra balgam örnekleri de incelenmiş, balgam örneklerinde de çok sayıda Cryptosporidium ookistleri görülmüştür.

17.1.1999'da akciğer tüberkülozu tanısı konan hastaya beşli antitüberkülo tedavi ile antiretroviral tedavi (AZT (Retrovir) + ddC (Hivid)) uygulanmıştır.

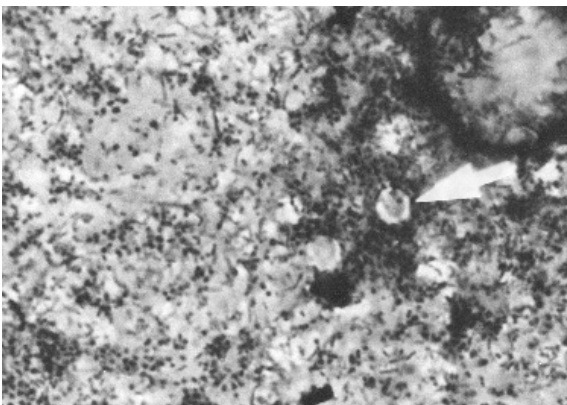
12.2.1999 tarihine kadar yardımla mobilize olabilen hasta aynı gün ateşinin 40°C'ye yükselmesi ve diyaresinin aynı sıklıkla devam etmesi nedeni ile HIV tükenmişlik tablosuna girmiş ve immobil hale gelmiştir. 23.2.1999'da " kardiyopulmoner arrest " tablosu ile kaybedilmiştir.

MİKROBİYOLOJİK İNCELEME

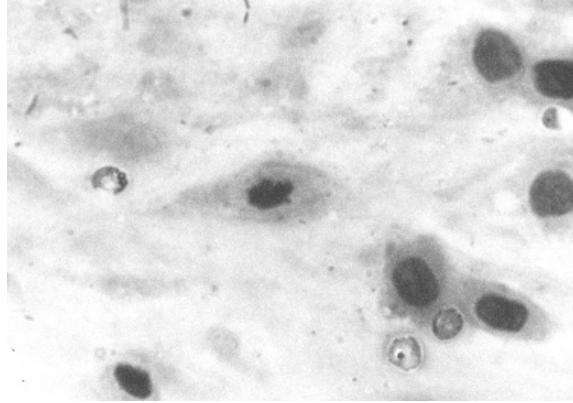
AIDS'li ve inatçı diyare yakınmaları olduğu bildirilen hastanın dışkı örneklerinden rutin bakteriyolojik ve parazitolojik incelemelerin yanısıra, özellikle immün sistemi baskılanmış bireylerde etken olabilecek protozoonlar araştırılmıştır. Bu amaçla alınan dışkı örneklerinin bir kısmı $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmış, diğer kısmı ise formol-eter yöntemi ile yoğunlaştırılarak çok sayıda preparasyon hazırlanmıştır. Ayrıca hastanın terminal döneminde alınan üç ayrı balgam örneğinden de direkt preparasyonlar hazırlanmıştır. Bu preparasyonlar; modifiye asit boyama, modifiye trikrom ve modifiye safranin boyama yöntemleri ile boyanmıştır. Modifiye asit boyama yönteminin sıcak ve soğuk metodları ayrı ayrı uygulanmıştır (1,11,12) incelenen dışkı örnekleri preparasyonlarında modifi-



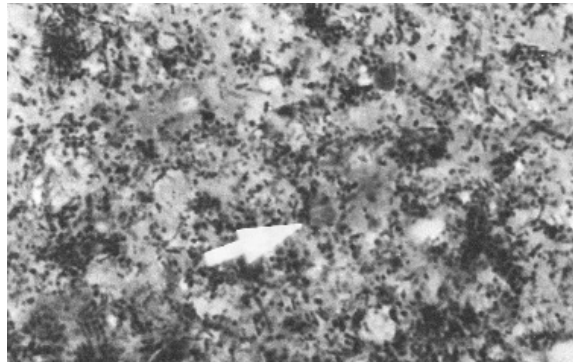
Resim 1: Dışkı örneğindeki modifiye asit boyama ile (sıcak yöntem) koyu pembe -kırmızı Cryptosporidium ooksitleri



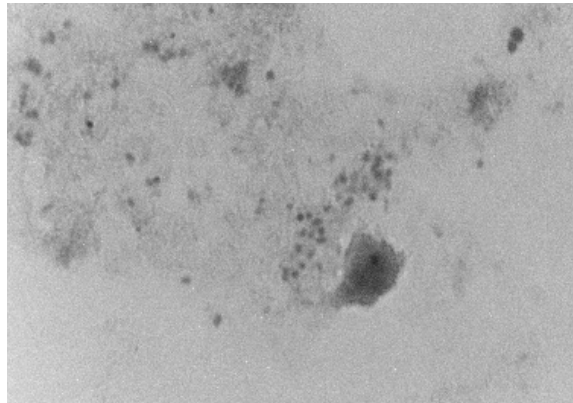
Resim 2: Dışkı örneğinde modifiye asit boyama ile (soğuk yöntem) çoğu renksiz ya da açık pembe boyanan Cryptosporidium ooksitleri



Resim 3: Balgam örneğinde modifiye asit boyama ile Cryptosporidium ooksitleri (sıcak yöntem)



Resim 4: Dışkı örneğinde modifiye asit boyama ile Cryptosporidium ooksitleri Microsporidium sporları



Resim 5: Dışkı örneğinde, modifiye trikrom ile Microsporidium sporları

ye asit boyama yöntemleri ile çok sayıda Cryptosporidium oocisti ile Microsporidium sporları belirlenmiş, ayrıca modifiye trikrom yöntemi ile Microsporidium sporları saptanmıştır. Modifiye asit boyama yöntemleri ile boyanan balgam örneklerinden hazırlanan preparasyonlarda da yoğun Cryptospori-

dium ookistleri görülmüş, ancak *Microsporidium* sporları belirlenmemiştir. Modifiye asit boyama yönteminin sıcak uygulamasında *Cryptosporidium* ookistlerinin aside dirençli boyanma özelliğinin soğuk yöneme göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Modifiye safranin boyama yöntemi ile *Cyclospora cayentensis* ookisti saptanmamıştır (Resim 1-5).

TARTIŞMA

Microsporidium'ların omurgasızlarda özellikle böceklerde, balık, kemirgen ve memelilerde 80 cins ve 700 türü bilinmektedir. Ancak bugüne kadar insan infeksiyonlarında rol oynadığı belirlenen 6 cins ve bu cinsler içerisinde bazı türler tanımlanmıştır. Bunlar; *Nosema conori*, *Wittforma cornae*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora hominis*, *Encephalitozoon hellem*, *Encephalitozoon cuniculi*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Enterocytozoon bieneusi*'dir (1,13).

Günümüze kadar insanda bildirilen *Microsporidium* etkenli olgu sayısının 400'ün üzerinde olması ve bu olguların tümünün HIV'li ve immün sistemi baskılanmış bireylerde olması, fırsatçı patojen olarak *Microsporidium*'ların önemini artırmıştır (9,10). AIDS'lilerde diğer enterik patojenlerin belirlenmediği, kronik diyare olgularının %15-30'undan sorumlu tutulan *Microsporidium*'ların özellikle CD4 sayısı 100 hücre/mm³'ün altında olanlarda mutlaka düşünülmesi ve araştırılması önerilmektedir (1,11,12).

İnsan olgularında *Microsporidium*'ların çok çeşitli yerleşimler ile farklı klinik tablolara neden olabildikleri bildirilmiştir. Barsak duvarı epiteli, lamina propria, böbrek, safra yollarına yerleşerek; enterit, kronik diyare, nefrit, kolesistite, kornea ya da konjunktivada lokalize olarak; kornea ülseri, irritasyon, görme bozukluğu ve keratite, karaciğer ve beyinde lokalize olduklarında; hepatit ve konvülsiyonlara, akciğer ve burun epitelinde lokalize olduklarında; pnömoni, rinosinüzit ve bronşite, iskelet ve kas liflerinde lokalize olarak miyozite ayrıca jeneralize infeksiyonlara da neden olabilirler (1,14).

Bu olguda da modifiye trikrom ve modifiye asit bo-

yama yöntemleri ile *Microsporidium* sporları belirlenmiş ve Kanada'dan getirilen *Microsporidium* preparasyonu pozitif kontrol olarak kullanılarak tanımlanmıştır. Mikrosporidiaz için denenen ilaçlardan biri olan loperamid tedavide etkin olmamıştır.

C. parvum immün sistemi baskılananlarda ve AIDS'lilerde ağır seyirli diyare etkeni olmakla birlikte, son yıllarda solunum ve safra yolu infeksiyonlarında da rol oynadığının belirlenmesi, bu protozoonun yerleşiminin sadece gastrointestinal sistemle sınırlı kalmadığını göstermiştir (1,2).

1980'den bu yana solunum sistemini tutan 57 kriptosporidiaz olgusu bildirilmiştir. Bunların 17'sinde başka bir patojen saptanmamıştır. Bu olguların %77'sinde diyare, %77'sinde öksürük, %58'inde nefes darlığı, %54'ünde balgam çıkarma, %45'inde ateş, %33'ünde göğüs ağrısı şikayetlerinin olduğu bildirilmiştir (15-17).

AIDS'li 5 hastada akciğer istilası ile birlikte seyreden beş kriptosporidiaz olgusu bildirilmiş, bu hastaların dışkı örnekleri ile bronşiyal aspirasyon örneklerinde modifiye asit boyama ile *Cryptosporidium* ookistleri gösterilmiştir. Tüm olgularda öksürük ve aşırı balgam çıkarma şikayetlerinin olduğu, bu hastaların dördünde ilave akciğer patojenleri olarak; ikisinde *M. tuberculosis*, birinde *M. fortuitum*, birinde de CMV + *P. carinii*'nin varlığı belirlenmiş, bu hastalarda kusma ve diyarenin birlikte seyrettiği gözlemlenmiştir. Bir hastada ise bronşiyal aspirat örneğinde sadece *Cryptosporidium*'ların etken olduğu gösterilmiştir. Bu hastada diyarenin solunum yolu infeksiyonundan 1 ay sonra meydana geldiği belirlenmiştir (15).

Sunulan bu olguda da, hastanın dışkı örneklerinin yanısıra son bir ayda artan solunum sistemi şikayetleri nedeni ile iki ayrı balgam örneği incelenmiş ve ikisinde de çok sayıda *Cryptosporidium* ookistleri belirlenmiştir. Bu olguda hastanın infeksiyonunun başlangıcında *M. tuberculosis* ile infekte olduğu, ancak tedavi sonrası bu infeksiyonun eradike olduğu gözlemlenmiştir. Ancak son 2 ayda artan inatçı diyareninin yanısıra tekrar solunum yolu örnekleri incelendiğinde herhangi bir patojen saptanmazken, iki ayrı balgam örneğinde çok miktarda *Cryptosporidi-*

um ookistleri görülmüştür. Hastada diğer olgulardakine benzer öksürük, balgam çıkarma ve ateş şikayetleri gözlemlenmiştir.

Özellikle *E.bieneusi* ve *E.intestinalis*'in etken olduğu diyare olgularında albendazol ile olumlu sonuçlar alındığı bildirilmektedir. Ancak bu olguda hastanın kısa bir terminal dönem geçirip eks olması, bu tedavinin denenmesine olanak sağlamamıştır.

Yurdumuzda ilk kez hem *Microsporidium*'ların, hem de solunum sistemini tutan *Cryptosporidium*'ların belirlendiği bu olgu, immün sistemi baskılanmışlarda ve AIDS'lilerde bu patojenlerin özellikle araştırılması gerektiğini bir kez daha vurgulamak amacı ile sunulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Garcia LS, Bruckner DA: Diagnostic Medical Parasitology, P 54, 3th ed, ASM Press, Washington DC (1997).
2. Ungar BLP: *Cryptosporidium* "GL Mandell, JE Bennett, R Dolin (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases", p 2497, 4th ed, Churchill Livingstone, New York (1995).
3. Du Pont HL, Chapnell CL, Sterling CR, Okhuysen PC, Rose JB, Jakubowski W: The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers, N Engl J Med 332:855 (1995).
4. Garcia LS, Brewer TC, Bruckner DA: Fluorescence detection of *Cryptosporidium* oocyst, in human fecal specimens by using monoclonal antibodies, J Clin Microbiol 25: 119 (1987).
5. Newman RD, Jaeger KL, Wuhib Lima AA, Guerant RL, Sears CL: Evaluation of *Cryptosporidium* spp. in stool specimens, J Clin Microbiol 31:2080 (1993).
6. Rosenblatt JE, Sloan LM: Evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* spp. in stool specimens, J Clin Microbiol 31:1468 (1993).
7. Elshewy KR, Kilani RT, Hegazi MM, Makhlof LM, Wenmann WM: Identification of low-molecular-mass coproantigens of *Cryptosporidium parvum*, J Infect Dis 169:460 (1994).
8. Goodname RW, Kimball K, Ou CN, White AC, Genta RM, Lifshitz CH, Chappell CL: Intestinal function and injury in acquired immunodeficiency syndrome-related cryptosporidiosis, Gastroenterology 108:1075 (1995).
9. Van Gool T, Hollister WS, Schattenkerk JE, Van den Bergh Wearman MA, Terpstra WJ, Van Ketel RJ, Reiss P, Canning EU: Diagnosis of *Enterocytozoon bienewsi* microsporidiosis in AIDS patients by recovery of spores from faeces, Lancet 336:697 (1990).
10. Weber R, Bryan RT, Owen RL, Wilcox CM, Gorelkin L, Visvesvara GS: Improved light microscopical in stool and duodenal aspirates, N Engl J Med 326:161 (1992).
11. Ryan NJ, Sutherland G, Coughlan K, Globan M, Doultree J, Marshall J, Baird RW, Dwyer B: A new trichrome blue stain for detection of microsporidial species in urine stool and nasopharyngeal specimens, J Clin Microbiol 31:3264 (1993).
12. Didier ES, Orenstein JM, Aldras A, Bertucci D, Rogers LB, Janney FA: Comparison of three staining methods for detecting microsporidia in fluids, J Clin Microbiol 33:3138 (1995).
13. Garcia LS: Classification of human parasites, Clin Infect Dis 25:21 (1997).
14. Bryan RT: Microsporidia, "GL Mandell, JE Bennett, R Dolin (eds): Infectious Diseases, 4th ed" p 2513, Churchill Livingstone, New York (1995).
15. Clavel A, Arnal AC, Sanchez EC, Cuesta J, Letona S, Amiguet JA, Castillo FJ, Varea M, Gomez-Lus R: Respiratory cryptosporidiosis: Case series and review of literature, Infection 24:341 (1996).
16. Meynard JL, Meyohas MC, Binet D, Chouaid C, Frottier J: Pulmonary cryptosporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome, Infection 24:328 (1996).
17. Poirot JL, Deluol AM, Antoine M, Heyer F, Cadrenel J, Meynard JL, Meyohas MC, Girard PM, Roux P: Bronchopulmonary cryptosporidiosis in four HIV-infected patients, J Eukaryot Microbiol 43: 789 (1996).