

İzlemdeki HIV/AIDS Olgularındaki İntestinal Parazitlerin Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemler ile Saptanması

Detection of Intestinal Parasites with Conventional and Molecular Methods in Follow-up HIV/AIDS Cases

Özer AKGÜL¹, Kadriye KART YAŞAR², Burcu SAPMAZ³, Hayriye KIRKOYUN UYSAL⁴,
Taner YILDIRMAK⁵, Funda ŞİMŞEK⁵, Ömer Faruk KARASAKAL⁶, Reyhan ÇALIŞKAN¹,
Yaşar Ali ÖNER¹

¹ İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

¹ İstanbul Aydın University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

² Sağlık Bilimleri University Dr. Sadi Konuk Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Istanbul, Turkey.

³ Nişantaşı Üniversitesi Meslek Yüksekokulu, İstanbul.

³ Nişantaşı University Vocational School, Istanbul, Turkey.

⁴ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

⁴ İstanbul University İstanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

⁵ Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

⁵ Okmeydanı Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Istanbul, Turkey.

⁶ Üsküdar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İstanbul.

⁶ Üsküdar University Vocational School of Health Services, Istanbul, Turkey.

* Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiş (Proje no: 45409) ve çalışmanın sonuçları, 7. Avrupa Mikrobiyologlar Kongresi (7th Congress of European Microbiologists-FEMS; 9-13 Temmuz 2017)'nde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 24.01.2018 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 18.05.2018

ÖZ

Geliştirilen tedavi rejimleri sayesinde kronik hastalıklar listesine alınan insan immünyetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu ile yaşayan bireylerin yaşam süreleri ve yaşam kaliteleri genel popülasyona yaklaşmıştır. Ancak, günümüzde HIV ile enfekte bireylerin bazılarında ishal başta olmak üzere yaşam kalitesini düşüren gastrointestinal sistem (GİS) ile ilişkili çeşitli rahatsızlıklar görülebilmektedir. İmmün sistemi zayıflamış olgular bazı parazit enfeksiyonlarına daha kolay yakalanmaktadırlar. Parazitlerin patojen hale geçmesin-

İletişim (Correspondence): Dr. Özer Akgül, İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 532 565 9944, **E-posta (E-mail):** akgulozer@hotmail.com

de veya patojenitelerinin artmasında konak parazit ilişkileri ve konağın parazitlere karşı olan direncinin azalması veya kaybolması rol oynamaktadır. Bu çalışmada, tedavi alan/almayan 90 HIV/AIDS olgusundaki intestinal parazitlerin, mikroskopi temelli konvansiyonel ve multipleks-polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) temelli moleküler yöntemlerle saptanması amaçlanmıştır. Olgulardan alınan dışkı örneklerinin *Giardia* spp., *Blastocystis* spp., *Entamoeba histolytica*, *Dientamoeba* spp. ve *Cryptosporidium* spp. varlığı açısından incelenmesi ve sonuçların demografik/klinik verilerle ilişkilendirilmesi hedeflenmiştir. Çalışmaya dahil edilen olguların; yaş ortalamasının 34.02 ± 9.7 yıl, tanı süresi ortalamasının 2.4 ± 1.7 yıl olduğu, olguların %85.6'sının erkek, %14.4'ünün ise kadın olduğu, %60'ında heteroseksüel cinsel temas, %33.3'ünde homoseksüel cinsel temas, %1.1'inde kan/kan ürünleri ile temas, %5.6'sında ise bilinmeyen bulaş yolu öyküsünün olduğu, %50'sinin antiretroviral tedavi (ART) aldığı, %50'sinde ise henüz ART başlanmadığı, CD4+ T lenfosit sayısı ortalamalarının 400 hücre/mm^3 ve ortanca viral yük düzeylerinin 114.527 kopya/ml olduğu belirlenmiştir. Moleküler yöntemler ile 33 (%36.7) olguda en az bir intestinal parazit saptanmış, *Giardia* spp., *Blastocystis* spp., *E.histolytica*, *Dientamoeba* spp., *Cryptosporidium* spp. ve çoklu parazit varlığı saptanma oranları sırasıyla; %2.2, %22.2, %13.3, %4.4, %3.3 ve %7.7 olarak belirlenmiştir. Cinsel yönelim türü (özellikle homoseksüel cinsel temas) ile parazit saptanma oranları arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$). Olgularda parazit saptanma sıklığının; CD4+ T lenfosit sayısındaki artış ile ters ($p = 0.062$), viral yük düzeyindeki artış ile doğru ($p < 0.001$) orantılı olduğu görülmüştür. Moleküler yöntemler ile parazit saptanmasının ART almayan ($p = 0.002$) veya ishali olan ($p = 0.019$) olgularda daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çalışmada gözlenen intestinal parazit enfeksiyonlarında saptanan artışın müdahale gerektirdiği anlaşılmıştır. Tüm HIV/AIDS olgularında, erken ve özgül tedaviye karar verebilmek için duyarlılığı daha yüksek yöntemlerle rutin parazit taramasının yapılması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: HIV/AIDS; intestinal parazit; moleküler yöntemler.

ABSTRACT

In people living with human immunodeficiency virus (HIV), several complaints related to the gastrointestinal system, mainly diarrhea can be determined. In our study, we aimed to detect the existence of intestinal parasites with conventional methods based on microscopy and with molecular methods based on multiplex-PCR among 90 anti-retroviral treatment (ART) naive or ART adherent HIV/AIDS cases. The existence of *Giardia* spp., *Blastocystis* spp., *Entamoeba histolytica*, *Dientamoeba* spp. and *Cryptosporidium* spp. were searched in stool samples and the relation with the existence of these parasites and demographic/clinical data of the cases were determined. The demographic and clinical data of the participants included in the study were as follows; the average age was 34.02 ± 9.7 years, average time of diagnosis was 2.4 ± 1.7 years. Gender distribution was as follows; 85.6% male and 14.4% female. HIV transmission was related with heterosexual intercourse in 60%, homosexual intercourse in 33.3%, blood/blood products contact in 1.1% and with unknown routes in 5.6% of the cases. Fifty percent of the patients were in pre-ART and 50% was in on-ART state. The average CD4+ T lymphocyte count was detected as 400 cells/mm^3 and the median of viral load was 114.527 copies/ml. An overall prevalence of at least one intestinal parasitic infection was recorded as 36.7% and the prevalence of this infection due to *Blastocystis* spp. was 22.2%, followed by *Dientamoeba* spp. (13.3%), *E.histolytica* (4.4%), *Cryptosporidium* spp. (3.3%), *Giardia* spp. (2.2%) and multiple parasitic infections (7.7%). The type of sexual behaviours related with the detection of intestinal parasites were statistically significant especially in homosexual intercourse ($p < 0.001$). The increase in CD4+ T lymphocyte counts were reversely associated ($p = 0.062$) and the increase in the levels of viral load were positively associated ($p < 0.001$) with detection rate of intestinal parasite. The detection of parasites by molecular methods was statistically significant in pre-ART participants ($p = 0.002$) and participants with diarrhea ($p = 0.019$). In the present study, the increase in the frequency of intestinal parasitic infections has shown that essential interventions are required. In all HIV/AIDS cases, routine parasitic screening should be performed by more sensitive methods to manage early and specific treatment.

Keywords: HIV/AIDS; intestinal parasites; molecular methods.

GİRİŞ

İnsan immünyetmezlik virüsü (Human Immunodeficiency Virus-HIV), lentivirüs ailesinden, tek sarmallı RNA içeren, zarflı bir retrovirüstür. HIV'in iki serotipi mevcuttur; HIV-1 ve HIV-2. Bu iki virüs serotipinin bulaş yollarının aynı, ancak HIV-2 bulaşının daha zor ve AIDS'e dönüşme süresinin daha uzun olduğu bilinmektedir. HIV; kan, cinsel temas veya konjenital yolla bulaşabilen ve tedavi edilmediğinde kazanılmış immünyetmezlik sendromu (Acquired Immunodeficiency Syndrome- AIDS) tablosuna yol açan viral bir enfeksiyon etkenidir¹.

Geliştirilen tedavi rejimleri sayesinde HIV ile yaşayan bireylerin yaşam süreleri ve yaşam kaliteleri HIV negatif bireylerinkine yaklaşmıştır. Ancak, günümüzde HIV ile enfekte bireylerin bazılarında ishal başta olmak üzere yaşam kalitesini düşüren gastrointestinal sistem (GİS) ile ilişkili çeşitli rahatsızlıklar görülebilmektedir. Bu bulguların temelde; nonenfeksiyöz (kullanılan tedavi rejimi ile ilişkili), enfeksiyöz (fırsatçı patojenler ile ilişkili) ve HIV enteropatisi (HIV'in kendisi ile ilişkili) gibi komplikasyonlar nedeniyle oluşabileceği öngörülmektedir. Nedenleri değişkenlik gösterse de, HIV/AIDS olgularındaki GİS şikayetlerinin bireylerin CD4+ T lenfosit sayıları ile doğrudan ilişkili olduğu ve olgularda sıklıkla görülen GİS şikayetlerinin sırasıyla; ishal, kilo kaybı, abdominal ağrı, disfaji, anoreksi ve kusma olduğu bildirilmiştir^{2,3}. HIV ile yaşayan ve yaşlanan bireylerin yaşam kalitelerini bozan GİS ile ilişkili bu bulguların, etyolojilerinin genel ve bireye spesifik olarak aydınlatılmasının, belirtilerin tedavisi veya remisyonu adına atılmış önemli bir adım olacağı düşünülmektedir.

İmmünsuprese bireylerin, fırsatçı parazitler ile oluşan GİS hastalıklarından büyük oranda etkilendiği ve bireylerdeki CD4+ T lenfosit sayısındaki azalmanın bu hastalıkların daha şiddetli ve daha atipik seyretmesine neden olduğu belirtilmiştir. Günümüzde, HIV/AIDS olgularındaki intestinal parazitlerin tanısında mikroskopi temelli konvansiyonel boyama tekniklerinin kullanımı rutin olarak uygulanan bir yöntem olmakla birlikte; bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllük oranlarının moleküler yöntemlerle karşılaştırılması ve sonuçların bireylerdeki diğer faktörler (CD4+ T lenfosit sayısı, viral yük düzeyi, komorbid hastalık varlığı ve tedavi alma/uyum durumu vb.) ile birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir⁴. Fırsatçı intestinal parazitlerin moleküler yöntemlerle değerlendirilmesiyle daha yüksek duyarlılık ve özgüllük değerlerine ulaşılabileceği ve bunun olgular adına büyük bir kazanım olacağı düşünülmektedir⁵.

Bu çalışmada, tedavi alan ve almayan HIV/AIDS olgularındaki intestinal parazitlerin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle saptanması amaçlanmıştır. Bu amaçla, çalışmaya katılan tedavi alan veya tedavi almaksızın izlenen 90 HIV/AIDS olgusunun demografik ve klinik verileri (yaş, cinsiyet, uyruk, olası bulaş yolu, tanı sonrası geçen zaman, CD4+ T lenfosit sayısı ve oranı, viral yük düzeyleri, kullanılan tedavi kombinasyonu ve GİS'e ilişkin şikayetleri) yapılan birebir görüşmelerle elde edilmiş ve kayıt altına alınmıştır. Bu çalışma ile olgulardan alınan dışkı örneklerinin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle *Giardia* spp., *Blastocystis* spp., *Entamoeba histolytica*, *Dientamoeba* spp. ve *Cryptosporidium* spp.

varlığı açısından incelenmesi ve elde edilen sonuçların olguların demografik ve klinik verileri ile istatistiksel olarak ilişkilendirilmesi araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 20.06.2014 ve Karar No: 12).

Çalışma Tasarımı

Çalışmaya; Ocak 2015-Mart 2016 tarihleri arasında 14 aylık zaman dilimi içerisinde etik ve gizlilik kurallarına uyularak yapılan yüz yüze görüşme sonucunda yaşları 20-60 arasında değişen, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji kliniğinde HIV pozitif tanısı olarak izlenen toplam 90 HIV/AIDS olgusu dahil edildi. Olgulara ait demografik ve klinik veriler kayıt altına alınarak dışkı örnekleri konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle incelendi.

Konvansiyonel Yöntemler

Çalışmaya katılan 90 olgunun her birinden dışkı örneği alındı. Örneklerdeki *Cryptosporidium* spp. varlığını saptamak amacıyla Modifiye Ehrlich-Ziehl-Neelsen boyama yöntemi, *Dientamoeba* spp. varlığını saptamak amacıyla ise Trikrom boyama yöntemiyle iki preparat hazırlandı ve bu preparatlar mikroskopta çift göz körleme olarak incelendi. Örneklerdeki *Giardia* spp., *Blastocystis* spp. ve *E.histolytica* varlığını saptamak için ise formol-etil asetat konsantrasyon yöntemi uygulandı daha sonra Nativ-Lugol direkt muayene yöntemiyle mikroskopik incelemeler çift göz körleme olarak gerçekleştirildi.

Moleküler Yöntemler

Olgulardan alınan dışkı örneklerinde yukarıda belirtilen beş parazitin DNA'sı üretici firmanın önerileri doğrultusunda QIAamp® DNA Stool Mini Kit (QIAGEN GmbH, Almanya) kullanılarak ekstrakte edildi. Elde edilen ekstraktlar multipleks-PCR yöntemiyle LightCycler® 480 II (Roche Diagnostics, Almanya) cihazında, LightMix® Hexaplex Color Compensation Kit (Roche Diagnostics, Almanya) ve LightMix® Modular Primer/Probe (TIB Molbiol GmbH, Almanya) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda amplifiye edildi ve parazitlerin varlıkları Cp (Crossing Point) noktalarına göre kantitatif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Normallik denetimi Shapiro Wilk testi, Histogram, Q-Q plot ve box plot grafikleri ile kontrol edildi. Grup varyanslarının homojenliği ise Levene testi ile değerlendirildi. Parametrik testlerin varsayımlarını sağlayan değişkene ilişkin (yaş) iki grup ortalaması bağımsız gruplarda t-testi ile karşılaştırılmıştır. Parametrik testlerin varsayımlarını sağlamayan değişkenlere ilişkin iki grup ortanca değerleri ise (viral yük, tanı sonrası geçen zaman) Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Olguların CD4+ T lenfosit sayılarının oluşturduğu üç gruptaki nicel değişkenler bakımından parametrik test varsayımlarının sağlanmadığı

belirlendiğinden grup ortancaları Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi yöntemiyle değerlendirildi, analiz sonrası çoklu karşılaştırmalar Dunn testi ile yapıldı. Kategorik değişkenler ki-kare, Yates düzeltmeli ki-kare ve Fisher'in kesin olasılık testleriyle değerlendirildi. Mikroskopik değerlendirmenin moleküler yöntemlere uyumu Kappa testiyle analiz edildi. Analiz sonuçları ortalama, standart sapma, ortanca değer, en küçük değer, en büyük değer, frekans ve yüzde şeklinde verildi. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ ve çift yönlü olarak ele alındı. Analizler G Power 3.1.9.2 ve SPSS 21 programları kullanılarak yapıldı^{6,7}.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen olguların en az 20, en çok 60 yaşında olduğu ve olguların yaş ortalamasının 34.02 ± 9.7 yıl olduğu hesaplanmıştır. Çalışmada olguların pozitif western blot test sonuçlarının tarihleri dikkate alınarak belirlenen tanı sürelerinin en az 0.3 yıl, en çok 7.5 yıl olduğu ve ortalama tanı süresinin 2.4 ± 1.7 yıl olduğu hesaplanmıştır. Çalışmamıza dahil edilen 90 gönüllünün 77 (%85.6)'sinin erkek, 13 (%14.4)'ünün ise kadın cinsiyete sahip olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamıza katılmayı kabul eden olgular ile yapılan görüşmelerde, tüm olgular olası HIV bulaş yolu açısından sorgulanmış ve olguların 54 (%60)'ünün heteroseksüel cinsel temas, 30 (%33.3)'unun homoseksüel cinsel temas, 1 (%1.1)'inin kan/kan ürünleri ile temas, 5 (%5.6)'inin ise bilinmeyen bulaş yolu öyküsü olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen olguların HIV laboratuvarına ilişkin klinik verileri incelendiğinde; CD4+ T lenfosit sayılarının $64-1150$ hücre/ mm^3 arasında değiştiği ve olgulara ait ortanca CD4+ T lenfosit sayısının 362 hücre/ mm^3 olduğu belirlenmiştir. Çalışmaya katılan ART alan/almayan 90 gönüllüye ait viral yük düzeylerinin ise $0 (< 20$ kopya/ml veya minimum saptama limitinin altında) ile $4.778.420$ kopya/ml arasında değiştiği ve olgulara ait ortanca viral yük düzeyinin 114.527 kopya/ml olduğu hesaplanmıştır. Olguların 45 (%50)'inin herhangi bir ART ajanı almadan tedavisiz izlendiği, 25 (%27.8) olgunun tenofovir/emtrisitabin + efavirenz (TDF/FTC + EFV), 20 (%22.2) olgunun ise tenofovir/emtrisitabin + lopinavir/ritonavir (TDF/FTC + LPV/r) rejimlerini kullanarak takip edildikleri belirlenmiştir. Çalışmamıza katılan olguların 35 (%38.9)'i herhangi bir GİS bulgusu belirtmezken, 44 (%48.9)'ü ishal, 27 (%29.9)'si karın ağrısı, 28 (%31)'i kilo kaybı, 4 (%4.4)'ü hazımsızlık, 4 (%4.4)'ü gaz olmak üzere GİS bulguları tanımlamışlardır. Çalışmamızda yukarıdaki oranlara dahil 38 (%42.1) olguda ise çoklu (en az iki) GİS bulgusu belirlenmiştir.

Mikroskopik yöntemlerle 18 (%20), moleküler yöntemlerle 33 (%36.7) olguda en az bir intestinal parazit saptanmıştır. Moleküler yöntemler ile saptanan parazitlerin *Giardia spp.*, *Blastocystis spp.*, *E.histolytica*, *Dientamoeba spp.*, *Cryptosporidium spp.* ve çoklu parazit varlığı için dağılımları sırasıyla; %2.2, %22.2, %13.3, %4.4, %3.3 ve %7.7 olarak belirlenmiştir. Çalışmaya katılan olgulardaki intestinal parazitlerin saptanmasında kullanılan mikroskopik ve moleküler yöntemlerin tanısallık başarıları, moleküler yöntemler baz alınarak hesaplanmış ve yöntemlere ilişkin elde edilen uyumluluk sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmada moleküler yöntemler ile intestinal parazit saptanması durumu bulaş yolu temelinde değerlendirildiğinde, homoseksüel bireylerde parazit saptanma oranlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$). Çalışmaya dahil edilen olgularda CD4+ T lenfosit sayısındaki azalma ile intestinal parazit saptanma sıklığındaki artış arasındaki bağıntının istatistiksel anlamlılık sınırına yakın olduğu anlaşılmıştır ($p = 0.062$). Olgulardaki viral yük artışı ile intestinal parazit saptanma sıklığındaki artış arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0.001$) ve buna paralel olarak herhangi bir ART almayan olgularda intestinal parazitlerin daha sık saptanması arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.002$).

Tablo I. Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerin İntestinal Parazit Saptamadaki Uyumlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

		Moleküler yöntemler (n)		Kappa (K) değeri ± Standart hata	p değeri
		Pozitif	Negatif		
Konvansiyonel yöntemler (n)	Pozitif	18	0	0.603 ± 0.086	< 0.001
	Negatif	15	57		

Tablo II. Moleküler Yöntemler ile Parazit Saptanan/Saptanmayan Olguların Demografik ve Klinik Verilerine Ait Karşılaştırmalı İstatistiksel Sonuçlar

		Moleküler yöntemler ile saptanan parazit		p değeri
		Yok	Var	
Viral yük (kopya/ml) [medyan (min-max)]		1.960 (< 20-2.544.780)	554.257 (< 20-4.778.420)	< 0.001
Olası bulaş yolu n (%)	Heteroseksüel cinsel temas	40 (%70.2)	14 (%42.4)	<0.001
	Homoseksüel cinsel temas	11 (%19.3)	19 (%57.6)	
	Kan/kan ürünleriyle temas	1 (%1.8)	0 (%0)	
	Bilinmeyen bulaş yolu	5 (%8.8)	0 (%0)	
CD4+ T lenfosit sayısı n (%)	< 200 hücre/mm ³	13 (%22.8)	15 (%45.5)	0.062
	201-499 hücre/mm ³	22 (%38.6)	11 (%33.3)	
	> 500 hücre/mm ³	22 (%38.6)	7 (%21.2)	
ART rejimi	Kullanmıyor	21 (%36.8)	24 (%72.7)	0.002
	TDF/FTC + EFV veya TDF/FTC + LPV/r kullanıyor	36 (%63.2)	9 (%27.3)	
İshal	Yok	35 (%61.4)	11 (%33.3)	0.019
	Var	22 (%38.6)	22 (%66.7)	

Gastrointestinal şikayetler arasında yer alan ishalin bildirildiği olgularda intestinal parazit saptanma oranlarının daha yüksek olması, bu iki parametre arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir ($p= 0.019$). Çalışmada elde edilen istatistiksel ve/veya klinik olarak anlamlı olan sonuçlar Tablo II'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Geliştirilen ART rejimleri sayesinde HIV ile yaşayan bireylerin yaşam süreleri ve yaşam kaliteleri, HIV negatif bireylerinkine yaklaşmıştır. Ancak, günümüzde HIV ile enfekte bireylerin bazılarında ishal başta olmak üzere yaşam kalitesini düşüren çeşitli GİS rahatsızlıkları görülebilmektedir. GİS ile ilişkili bu bulguların temelinde; nonenfeksiyöz (kullanılan ART rejimi ile ilişkili), enfeksiyöz (fırsatçı patojenler ile ilişkili) ve HIV enteropatisi (HIV'in kendisi ile ilişkili) gibi komplikasyonlar nedeniyle oluşabileceği öngörülmektedir⁸.

Başta ishal olmak üzere GİS semptomlarının büyük bir kısmı HIV ile yaşayan bireyler için önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. HIV ile yaşayan bireylerde fırsatçı enterik parazitler enfeksiyonların görülme sıklığı; gelişmiş ülkelerde %30-60 arasında, gelişmekte olan ülkelerde ise %90 oranında izlenmektedir². İntestinal enfeksiyon etkenlerinin belirlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada, ishali olan 50 HIV/AIDS olgusu, ishali olmayan 50 HIV/AIDS olgusu ve HIV ile enfekte olmayan ancak ishali olan 50 bireyden alınan dışkı örnekleri üç grup halinde mikroskopik ve serolojik temelli yöntemlerle incelenmiş ve grupların intestinal parazit varlığı açısından pozitif bulunma oranları sırasıyla %20, %2 ve %18 olarak belirlenmiştir⁹. Çalışmaya dahil edilen olgulardaki intestinal parazitlerin moleküler yöntemlerle saptanma oranları ile ishali olan/olmayan olgular karşılaştırıldığında, ishali olmayan olgularda parazitlerin saptanmadığı olgu oranı %61.4 olarak bulunurken, parazitin saptandığı olgu oranı %33.3 olarak belirlenmiştir. Diğer yandan ishali olan olgularda parazit saptanmayan olgu oranı %38.6, saptanan olgu oranı ise %66.7 olarak hesaplanmıştır. İshal varlığı ile intestinal parazit sıklığındaki artış ve ishal tanımlamayan olgularda intestinal parazitin daha az saptanması arasındaki bağlantının istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p= 0.019$).

Bireylerin immün yanıt düzeyindeki azalma ile *G.intestinalis*'in virülansı arasındaki ilişki nedeniyle, parazitin patoloji oluşturabilmesinde AIDS hastalığının predispozan bir faktör olduğu bilinmektedir^{10,11}. CD4+ T lenfosit sayısı < 200 hücre/mm³ olan olgularda %59.3 oranında intestinal parazitin saptandığı bir çalışmada, ishali olan olgularda (%73.6) olmayan olgulara (%25.9) göre intestinal parazitlerin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek oranlarda saptandığı ve parazit saptanan olguların %18.6'sında *Giardia* türlerinin varlığı bildirilmiştir¹². Çalışmamıza katılan 90 HIV/AIDS olgusunun, moleküler ve konvansiyonel yöntemlerle 2 (%2.2)'sinde *Giardia* spp. saptanmış, olgulardan birinin CD4+ T lenfosit sayısının 187 hücre/mm³, diğerinin ise 359 hücre/mm³ olduğu belirlenmiştir. Sosyo-ekonomik düzey, hijyenik alışkanlıklar ve tedaviye erişim olanakları gibi faktörlerin, çalışmamızdaki *Giardia* spp. sıklığının diğer çalışmalara kıyasla daha düşük saptanmasının olası nedenleri arasında sayılabileceği düşünülmektedir.

Blastocystis türleri, özellikle son yıllarda bağışıklığı baskılanmış olgularda ciddi enfeksiyonlara yol açması, anti-paraziter tedaviye direnç göstermesi, kolon kanseri ve irritabl kolon sendromu ile olan potansiyel bağlantısı, turist ishaline yol açabilmesi gibi nedenlerle daha sık gündeme gelmektedir¹³. Ertuğ ve arkadaşları¹⁴, *Blastocystis* enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin aydınlatılmasında, çok merkezli ve geniş kapsamlı moleküler ve klinik çalışmalara gereksinim olduğunu belirtmişlerdir. *Blastocystis* türlerinin, başta AIDS olmak üzere, bağışıklığı baskılanmış olgularda kronik ve/veya tekrarlayan ishale yol açabileceği bildirilmiştir¹⁵. Çalışmamıza katılan 90 gönüllüden alınan dışkı örneğinin, moleküler yöntemlerle 20 (%22.2)'sinde, konvansiyonel yöntemlerle 9 (%10)'unda *Blastocystis* spp. saptanmıştır. Literatürü destekler nitelikte bulunan çalışmamızın sonuçları, patojenitesi ile ilgili tam bir fikir birliği sağlanamasa da, özellikle AIDS olgularında saptanan ishallerde *Blastocystis* türlerinin akla gelmesi gerektiğini düşündürmüştür.

Dientamoeba fragilis'in HIV/AIDS olgularındaki rolü henüz tam olarak açıklanabilmiş değildir¹⁶. Yapılan bir çalışmada, HIV ile enfekte olan/olmayan bireylerde *D. fragilis* sıklığı incelenmiş ve HIV ile enfekte olan bireylerde *D. fragilis* prevalansının daha yüksek olduğu belirlenmiştir¹⁷. Ancak, HIV ile enfekte ve gastrointestinal şikayetleri olan/olmayan bireyler ile yapılan bazı çalışmalarda, *D. fragilis*'in saptanamadığı bildirilmiştir¹⁸⁻²⁰. Çalışmaya katılan olgulardan alınan dışkı örneklerinin, moleküler yöntemlerle 12 (%13.3)'sinde, konvansiyonel yöntemlerle 4 (%4.4)'ünde *Dientamoeba* spp. saptanmıştır. Çalışmamızda moleküler yöntemlerle *D. fragilis* varlığı açısından pozitif saptanan 12 olgunun tamamının CD4+ T lenfosit sayısı < 200 hücre/mm³ olan grupta yer aldığı belirlenmiştir. Bu nedenle, etkenin özellikle AIDS tanımlayıcı hastalık semptomlarına sahip olgularda detaylı olarak irdelenmesi gerektiği anlaşılmıştır.

Global olarak HIV/AIDS olgularında *E. histolytica* kökenli gelişen amebiyazın en çok problem yaratan paraziter enfeksiyonlardan biri olduğu bilinmektedir. 2014 yılında 91 HIV ile enfekte ve 91 HIV enfekte olmayan kontrol grubunun incelendiği bir çalışmada, *E. histolytica* IgG seropozitifliğinin HIV ile enfekte olan bireylerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu ve sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında HIV ile enfekte olgularda %30.8 oranında *E. histolytica* IgG seropozitifliğinin saptandığı bildirilmiştir. Ayrıca, bireylerde saptanan *E. histolytica* seropozitifliğinin AIDS gelişen/gelişmeyen olgularda anlamlı farklılık göstermediğine ve HIV/AIDS olgularında özellikle *E. histolytica* temelli intestinal parazitolojinin erken dönemde ve gelişmiş yöntemlerle saptanması gerektiğine dikkat çekmiştir²¹. Çalışmamıza dahil edilen 90 HIV/AIDS olgusundan alınan dışkı örneklerinin, moleküler yöntemlerle 4 (%4.4)'ünde, konvansiyonel yöntemlerle 2 (%2.2)'sinde *E. histolytica* saptanmıştır. Çalışmamızda moleküler yöntemlerle *E. histolytica* pozitif saptanan dört olgu, yapılan görüşmelerde HIV'ı olası olarak homoseksüel cinsel temas ile edindiklerini belirtmişlerdir. İntestinal parazit bulaşı açısından önemli bir risk faktörü olması nedeniyle, özellikle homoseksüel cinsel temasta bulunmuş/bulunan HIV/AIDS olgularının *E. histolytica* varlığı açısından incelemenin yaşam kalitesinin artırılması açısından önemli olacağı düşünülmüştür.

Cryptosporidium türlerinin immünsüpre bireylerde en önemli morbidite ve mortalite etkeni olduğu, patogenezlerinin henüz tam olarak anlaşılmadığı ve yeni terapötik ajanların geliştirilmesi için gösterilen çabaların kısıtlı olduğu açıkça anlaşılmaktadır²². *Cryptosporidium* spp.'nin tedavi almayan HIV/AIDS olgularındaki ishali önemli bir etkeni olduğunun bildirildiği bir çalışmada *Cryptosporidium* spp. saptanan olgu oranları, ishali grupta toplam %8.5, akut ishali olan grupta %2.6, kronik ishali olan grupta ise %20 olarak saptanmış, akut/kronik ishal arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve yazarlar *Cryptosporidium* spp.'nin tedavi almayan HIV/AIDS olgularındaki persistan ishal ile yakından ilişkili olduğunu belirtmişlerdir²³. Özellikle son yıllardaki çalışmalar incelendiğinde; ART alan HIV/AIDS olgularında görülen immün iyileşme sonucunda bireylerdeki *Cryptosporidium* spp. sıklığında ART'ye ve onun potansiyel yararlarına bağlı bir azalma gözlenmekte ve yapılan klinik çalışmaların bu temelde ilerlediği gözlenmektedir. 2015 yılında 399 HIV/AIDS olgusunun dahil edildiği bir klinik çalışmada, 23 olguda *Cryptosporidium* spp.'nin saptanma oranları ART almayan grupta %73.9, ART alan grupta ise %26.1 olarak bildirilmiş ve aradaki bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir²⁴. Çalışmaya katılan 90 HIV/AIDS olgusundan alınan dışkı örneklerinin, moleküler yöntemlerle 3 (%3.3)'ünde, konvansiyonel yöntemlerle 1 (%1.1)'inde *Cryptosporidium* spp. saptanmıştır. Moleküler yöntemlerle *Cryptosporidium* spp. saptanan olguların; CD4+ T lenfosit sayı ortalamalarının 79.7 hücre/mm³, ortalama viral yük düzeylerinin 657.487 kopya/ml olduğu, olguların ART kullanmadığı ve tüm olguların ishal olduğu görülmüştür. Literatür ile benzer verilerin saptandığı çalışmamızda, *Cryptosporidium* spp. varlığının özellikle AIDS hastaları için hala önemli bir morbidite ve/veya mortalite nedeni olduğu anlaşılmıştır.

HIV/AIDS olgularındaki morbiditenin önemli nedenlerinden biri olan intestinal parazitlerin tanısının erken, uygun ve etkin olarak yapılmasının, bireylerdeki yaşam kalitesini artırıcı bir yaklaşım olacağı düşünülmektedir²⁵. Bireylerdeki intestinal parazit tanısında rutin olarak uygulanan mikroskopi temelli konvansiyonel yöntemlerin kısıtlılıklarının bulunduğu görülmekle birlikte, bu yöntemlerin ülkemizdeki birçok merkezde primer tanı yöntemi olarak uygulandığı bilinmektedir. Mikroskopi temelli konvansiyonel yöntemler ile varlıkları saptanamayan ancak demografik ve klinik bulgular açısından intestinal parazitler ile enfekte olabileme potansiyeli bulunan olgularda PCR gibi moleküler temelli tanı yöntemlerinin intestinal parazit tanısındaki kullanımlarının bireyler için avantaj olacağı düşünülmektedir^{26,27}. Çalışmamızda, intestinal parazit saptanmasında rutin olarak kullanılan mikroskopik yöntemlerin daha gelişmiş olan moleküler yöntemlere kıyasla uyum oranlarının düşük/orta düzeyde olduğu (Kappa ± SS = 0.603 ± 0.086) ve özellikle klinik olarak GİS şikayetleri olan HIV/AIDS olgularında moleküler tanı yöntemlerinin akla gelmesi gerektiği düşünülmüştür.

Bu çalışmanın kısıtlılığı, araştırılan *Giardia* spp., *Blastocystis* spp., *Dientamoeba* spp. ve *Cryptosporidium* spp. için tür tayininin, daha ileri moleküler araştırmalar ve daha yüksek bütçe gerekliliği nedeniyle yapılamamış olmasıdır. CD4+ T lenfosit sayısı < 200 hücre/

mm³ düzeylerinde, homoseksüel cinsel temas öyküsü olan, herhangi bir ART rejimi almayan veya tedaviye uyum sağlayamayan, viral yük düzeyleri moleküler saptama limitinin altına düşürülemeyen ve ishal başta olmak üzere çeşitli GİS şikayetleri bulunan HIV/AIDS olgularındaki intestinal parazit tanısında özellikle moleküler yöntemlerin tercih edilmesi, daha erken ve etkin tanıyı sağlayacağı ve bireylerdeki morbiditeyi aydınlatmaya yardımcı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Gilbert PB, McKeague IW, Eisen G, et al. Comparison of HIV-1 and HIV-2 infectivity from a prospective cohort study in Senegal. *Stat Med* 2003; 22(4): 573-93.
2. De A. Current laboratory diagnosis of opportunistic enteric parasites in human immunodeficiency virus-infected patients. *Trop Parasitol* 2013; 3(1): 7-16.
3. Corley DA, Cello JP, Koch J. Evaluation of upper gastrointestinal tract symptoms in patients infected with HIV. *Am J Gastroenterol* 1999; 94(10): 2890-6.
4. Thompson T, Lee MG, Clarke T, Mills M, Wharfe G, Walters C. Prevalence of gastrointestinal symptoms among ambulatory HIV patients and a control population. *Ann Gastroenterol* 2012; 25(3): 243-8.
5. Stensvold CR, Nielsen HV. Comparison of microscopy and PCR for detection of intestinal parasites in Danish patients supports an incentive for molecular screening platforms. *J Clin Microbiol* 2012; 50(2): 540-1.
6. Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods* 2009; 41(4): 1149-60.
7. IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.
8. Logan C, Beadsworth MB, Beeching NJ. HIV and diarrhoea: what is new? *Curr Opin Infect Dis* 2016; 29(5): 486-94.
9. Uppal B, Kashyap B, Bhalla P. Enteric Pathogens in HIV/AIDS from a tertiary care hospital. *Indian J Community Med* 2009; 34(3): 237-42.
10. Bhajee F, Subramony C, Tang SJ, Pepper DJ. Human immunodeficiency virus-associated gastrointestinal disease: Common endoscopic biopsy diagnoses. *Patholog Res Inter* 2011; 2011:247923.
11. Fregonesi BM, Suzuki MN, Machado CS, et al. Emergent and re-emergent parasites in HIV-infected children: immunological and socio-environmental conditions that are involved in the transmission of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. *Rev Soc Bras Med Trop* 2015; 48(6): 753-8.
12. Gupta M, Bala M, Deb B, Muralidhar S, Sharma DK. Prevalence of intestinal parasitic infections in HIV-infected individuals and their relationship with immune status. *Indian J Med Microbiol* 2013; 31(2): 161-5.
13. Ok ÜZ, Üner A, Korkmaz M. *Blastocystosis*, s: 43-9, In: Özcel MA (ed), İmmün Yetmezlikte Önemi Artan Parazit Hastalıkları, 1995. Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir.
14. Ertuğ Ş, Malatyali E, Ertabaklar H, Özlem Çalışkan S, Bozdođan B. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates and evaluation of clinical symptoms detected in Aydın Province, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49(1): 98-104.
15. Hamad I, Abou Abdallah R, Ravaux I, et al. Metabarcoding analysis of eukaryotic microbiota in the gut of HIV-infected patients. *PLoS ONE* 2018; 13(1): e0191913.
16. Stark D, Barratt JLN, Hal Sv, Marriott D, Harkness J, Ellis J. Clinical significance of enteric protozoa in the immunosuppressed human population. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22(4): 634-50.
17. Garcia JA, Cimerman S. Detection of *Dientamoeba fragilis* in patients with HIV/AIDS by using a simplified iron hematoxylin technique. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012; 45(2): 156-8.
18. Lebbad M, Norrgren H, Naucler A, Dias F, Andersson S, Linder E. Intestinal parasites in HIV-2 associated AIDS cases with chronic diarrhoea in Guinea-Bissau. *Acta Tropica* 2001; 80(1): 45-9.

19. Ramakrishnan K, Shenbagarathai R, Uma A, Kavitha K, Rajendran R, Thirumalaikolundusubramanian P. Prevalence of intestinal parasitic infestation in HIV/AIDS patients with diarrhea in Madurai City, South India. *Jpn J Infect Dis* 2007; 60(4): 209-10.
20. Lindo JF, Dubon JM, Ager AL, et al. Intestinal parasitic infections in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative individuals in San Pedro Sula, Honduras. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58(4): 431-5.
21. Abdollahi A, Saffar H, Saffar H, Sheikhabahaei S, Rasoulinejad M. Is the evaluation of *Entamoeba histolytica* infection in HIV-positive patients of any clinical significance? *Acta Med Iran* 2015; 53(1): 46-50.
22. Uysal HK, Adas GT, Atalik K, et al. The prevalence of *Cyclospora cayentanensis* and *Cryptosporidium* spp. in Turkish patients infected with HIV-1. *Acta Parasitol* 2017; 62(3): 557-64.
23. Paboriboune P, Phoumindr N, Borel E, et al. Intestinal parasitic infections in HIV-infected patients, Lao People's Democratic Republic. *PLoS ONE* 2014; 9(3): e91452.
24. Kiros H, Nibret E, Munshea A, Kerisew B, Adal M. Prevalence of intestinal protozoan infections among individuals living with HIV/AIDS at Felegehiwot Referral Hospital, Bahir Dar, Ethiopia. *Int J Infect Dis* 2015; 35: 80-6.
25. Mirjalali H, Mohebbali M, Mirhendi H, et al. Emerging intestinal *Microsporidia* infection in HIV(+)/AIDS patients in Iran: microscopic and molecular detection. *Iran J Parasitol* 2014; 9(2):149-54.
26. Wong SS, Fung KS, Chau S, Poon RW, Wong SC, Yuen KY. Molecular diagnosis in clinical parasitology: when and why? *Exp Biol Med (Maywood)* 2014; 239(11): 1443-60.
27. Batra R, Judd E, Eling J, Newsholme W, Goldenberg SD. Molecular detection of common intestinal parasites: a performance evaluation of the BD Max™ Enteric Parasite Panel. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016; 35(11): 1753-7.