

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNSANLARDA MICROSPORIDIA'LARIN
EPİDEMİYOLOJİSİ
(MALATYA İLİ ÖRNEĞİ)**

DOKTORA TEZİ

**Uzm. Bio Ülkü KARAMAN
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nilgün DALDAL**

MALATYA – 2007

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNSANLARDA MICROSPORIDIA'LARIN
EPİDEMİYOLOJİSİ
(MALATYA İLİ ÖRNEĞİ)**

DOKTORA TEZİ

**Ülkü KARAMAN
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nilgün DALDAL**

**Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2006/15 Tıp proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA – 2007

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

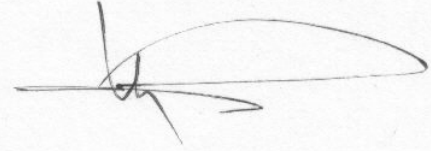
Ülkü KARAMAN'a ait bu bilimsel çalışma jüri üyeleri olarak tarafımızdan Parazitoloji Anabilim Dalında **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

İMZA

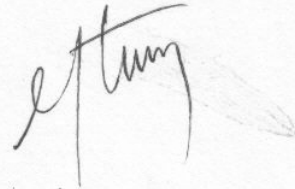
Başkan Prof.Dr. Nilgün DALDAL



Üye Doç.Dr..Mustafa KAPLAN



Üye Doç.Dr. Yasemin ERSOY



Üye Doç.Dr. Selma AY



Üye Yrd.Doç.Dr. Metin ATAMBAY



Yukarıda imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../ 2007

Prof.Dr. Tayfun GÜLDÜR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmasında seçtiğim parazitin ilginç özellikleri, farklı araştırmalarda çok değişik bulgulara ulaşılması ve Türkiye’de insanlarda yapılan ilk epidemiyolojik çalışma olması severek çalışmama yol açtı. Oldukça yorucu ve çaba isteyen bu zorlu sürecin üstesinden gelmemde, devamlı desteklerini esirgemeyen ve öğrenciliğim boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim, tanımaktan ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Prof. Dr. Nilgün DALDAL ve Yrd. Doç. Dr. Metin ATAMBAY’a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın aşamalarında değerli katkıları ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. Rainer WEBER’e, Prof. Dr. Lynne S. GARCIA’ya ve Doç. Dr. Mustafa YAMAN’a şükranlarımı sunarım.

Değerli yardımları için Parazitoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, 2005-2006 ve 2006-2007 öğretim yılı Tıbbi Laboratuvar bölümü birinci ve ikinci sınıf öğrencilerine teşekkür ederim.

Çalışmam esnasında Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Elif YEŞİLADA’ya, Yrd. Doç. Dr. Şengül YÜKSEL’e ve laboratuvarında çalışan personele yardımlarından dolayı şükranlarımı sunarım. Ayrıca verilerin istatistiki analizini yapan Dr. Cemil ÇOLAK’a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca desteklerini ve ilgilerini esirgemeyen annem, babam ve kardeşlerime teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmam sırasında ihtiyacım olduğunda yardımlarını ve ilgilerini esirgemeyen Murat GEZGÜÇ, Uzm. Dr. Zuhal KARACA, Hanife TURAN, Aysel KOÇ, Ceylan KARAKOÇ, Dr.Feray ÇETİN ve adını burada saymadığım sevgili arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Ayrıca her an yanımda olduğunu hissettiğim, beni sürekli destekleyen ve cesaret veren dostum Aysel - Orhan KARACA çiftine, Tuğba Raika KIRAN ve Dr.İlkay GÜNER’e şükranlarımı sunarım. Hayat sizinle daha anlamlı.

Çalışmayı destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve değerli yardımlarından dolayı Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca beni sürekli destekleyen ve cesaretlendiren, çalışmalarımda büyük katkıları olan sevgili eşim Ömer KARAMAN'a ve çalışmamı bitirmemi sabırla bekleyen çocuklarım Enes ve Nisa'ya şükranlarımı sunarım. Benim mutluluk kaynağımısınız.

İÇİNDEKİLER

KONULAR

	s. No
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	III
TABLolar DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	VII
KISALTMALAR.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1 Tarihçe.....	3
2.2 Sistematığı.....	4
2.3. Micrasopridiaların Morfolojik Özellikleri.....	5
2.3.1. Spor Morfolojisi.....	5
2.3.2. Hücre duvarı.....	6
2.3.3. Polar Tüp.....	6
2.4.Evrim.....	9
2.4.1 İnfektif evre.....	9
2. 4.2. Proliferatif ve vegetatif evre.....	13
2. 4.3. Hücre içi sporogonik evre.....	14
2.5. İnsanda enfeksiyon yapan mikrosporidium türleri.....	16
2.5.1. Encephalitozoon.....	16
2.5.2. Septata.....	18
2.5.3. Enterocytozoon.....	19
2.5.4. Nosema.....	21
2.5.5. Pleistophora.....	21
2.5.6. Trachipleistophora.....	22
2.5.7. Vittaforma.....	22
2.5.8. Brachiola.....	22
2.5.9. Microsporidium.....	22
2.6. Epidemiyoloji.....	23
2.7. Bulaşma.....	26
2.8. Microsporidumlarda humoral ve hücrel immunite.....	28
2.9. Microsporidiaların Biyokimyası.....	28
2.10. Patogenez:.....	29
2.11. Klinik belirtiler:.....	30
2.11.1. Sindirim Sistemi Enfeksiyonları.....	30
2.11.2. Hepatit, Pankreatit ve Peritonit.....	32
2.11.3. Göz Enfeksiyonları.....	32
2.11.4. Sinüzit.....	33
2.11.5. Akciğer enfeksiyonları.....	33
2.11.6. İdrar Yolu Enfeksiyonları.....	33
2.11.7. Myozitis.....	33
2.11.8. Serebral enfeksiyonlar.....	34
2.11.9. Nadir Belirtiler.....	34
2.11.10. Sistemik enfeksiyonlar.....	34
2.12. Tanı.....	35
2.12.1. Dışkı Örneklerinin ışık ve fluorasan mikroskopisiyle incelenmesi.....	38
2.12.2. Histolojik İncelemeler.....	42

2.12.3. Serolojik tanı.....	42
2.12.4. Flow sitometre.....	42
2.12.5. PCR.....	43
2.12.6. Elektron Mikroskobu.....	43
2.12.7. Hücre Kültürü.....	43
2.13. Tedavi.....	44
2.14. Korunma.....	45
3. MATERYAL METOD.....	46
3.1. Veri Toplama Aşaması.....	46
3.2. Anket Formunun Geliştirilmesi.....	46
3.3. Örneklerin ve Verileri Toplanması.....	47
3.4. <i>Microsporidium spp.</i> Tanısı İçin Kullanılan Yöntemlerin Geliştirilmesi.....	48
3.5. <i>Microsporidium spp.</i> Tanısı İçin Kullanılan Yöntemler	49
3.5.1. Formol Eter Sedimantasyon Yöntemi.....	49
3.5.2. Boyama Yöntemleri.....	50
3.5.2.1. Calcofluor boyama.....	50
3.5.2.2. Modifiye Trichrome Boyası (Weber'in Trichrome Boyası, Chromotrope 2R boyası).....	51
3.5.2.3. Acid Fast-Trichrome Boyası.....	52
3.5.2.4. Giemsa.....	53
3.6. Verilerin Analizi.....	53
4. BULGULAR.....	55
4.1. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile yaş arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	63
4.2. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile cinsiyet arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	64
4.3. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile bulantı kusma arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	65
4.4. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile immünsüpresiflik+kanser arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	66
4.5. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile BGG arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	67
4.6. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile nefes darlığı arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	68
4.7. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile ishal olma durumu arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	69
4.8. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile kabız olma durumu arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	70
4.9. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile makat kaşıntısı arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	71
4.10. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile salya arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	72
4.11. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile karın ağrısı arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	73
4.12. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile iştahsız olma durumu arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	74
4.13. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile anemi arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	75
4.14. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile vücut kaşıntısı ve allerji olma durumu arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	76

4.15. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile ülseratif kolit arasındaki karşılaştırmanın bulguları.....	77
4.16. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile denek sayısının yeterli olmadığı hastalık veya hastalık belirtilerinin bulguları.....	79
4.17. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile çok değişkenli lojistik regresyon analizi bulguları.....	80
5.1. TARTIŞMA.....	81
5.1. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile yaş arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	84
5.2. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile cinsiyet arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	85
5.3. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile bulantı kusma arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	85
5.4. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile immünsüpresiflik+kanser arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu.	86
5.5. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile BGG arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	87
5.6. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile nefes darlığı arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	87
5.7. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile ishal olma durumu arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	88
5.8. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile kabız olma durumu arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	89
5.9. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile makat kaşıntısı arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	89
5.10. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile salya arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	90
5.11. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile karın ağrısı arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	90
5.12. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile iştahsız olma durumu arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu.....	91
5.13. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile anemi arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	91
5.14. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile vücut kaşıntısı ve allerji olma olma durumu arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu .	92
5.15. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile ülseratif kolit arasındaki karşılaştırma bulgularının tartışılması ve yorumu	92
5.16. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile denek sayısının yeterli olmadığı hastalık veya hastalık belirtilerine ait bulguların tartışılması ve yorumu.....	93
5.17. <i>Microsporidium spp.</i> görülme durumu ile çok değişkenli lojistik regresyon analizi tartışılması ve yorumu.....	93
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	94
7. ÖZET.....	96
8. SUMMARY.....	98
9. KAYNAKLAR.....	100
10. EKLER.....	115
11. ÖZGEÇMİŞ.....	120

TABLolar ve GRAFİKLER DİZİNİ

Tablo 1: Microsporidia'ların Sistematığı.....	4
Tablo 2: Microsporidia türleri, lokalizasyonlar ve patogenezi.....	35
Tablo 3: Microsporidianın Tanısında Kullanılan Teknikler.....	37
Tablo 4: Malatya ve Çevresinde <i>Microsporidium spp.</i> Oranı.....	61
Tablo 5: Parazitoloji Laboratuvarına Gelen Hastaların İllere Göre Dağılımı.....	62
Tablo 6: Parazitoloji Laboratuvarına Gelen Hastaların Polikliniklere Göre Dağılımı.....	62
Tablo 7: Yaş ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	63
Tablo 8: Cinsiyet ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	64
Tablo 9: Bulantı- Kusma ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	65
Tablo 10: Pozitif Olgulardaki Bulantı- Kusma ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	65
Tablo 11: İmmünsüpresiflik+Kanser ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	66
Tablo 12: Pozitif Olgulardaki immünsüpresiflik+kanser ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	66
Tablo 13: BGG ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	67
Tablo 14: Pozitif Olgulardaki BGG ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	67
Tablo 15: Nefes Darlığı ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	68
Tablo 16: Pozitif Olgulardaki Nefes Darlığı ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	68
Tablo 17: İshal Olma Durumu ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	69
Tablo 18: Pozitif Olgulardaki İshal ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	69
Tablo 19: Kabız Olma Durumu ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	70
Tablo 20: Pozitif Olgulardaki Kabız Olma ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	70
Tablo 21: Makat Kaşıntısının varlığı ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	71
Tablo 22: Pozitif Olgulardaki Makat Kaşıntısı ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	71
Tablo 23: Salya ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	72
Tablo 24: Pozitif Olgulardaki Salya ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	72
Tablo 25: Karın Ağrısı ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	73
Tablo 26: Pozitif Olgulardaki Karın Ağrısı ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	73
Tablo 27: İştahsız Olma ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	74
Tablo 28: Pozitif Olgulardaki iştahsızlık ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	74
Tablo 29: Anemi Enfeksiyonu ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	75
Tablo 30: Pozitif Olgulardaki Anemi ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	75
Tablo 31: Genel Vücut Kaşıntısı ve Allerji ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	76
Tablo 32: Pozitif Olgulardaki Vücut Kaşıntısı ve Allerji ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	76
Tablo 33: Ülseratif Kolit ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	77
Tablo 34: Pozitif Olgulardaki Ülseratif Kolit ile <i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu.....	77
Tablo 35: <i>Microsporidium spp.</i> 'nin İstatistiği Yapılan Parametrelerde Görülme Durumu.....	78
Tablo 36 : <i>Microsporidium spp.</i> 'nin Farklı Gruplarda Görülme Durumu.....	79
Tablo 37: Parazit İle İlişkili Etkenlerin Lojistik Regresyon Analizi İle Belirlenmesi.....	80
Grafik 1: Pozitif Olguların Aylara Göre Dağılımı.....	61
Grafik 2: Parazitin Yaş gruplarına Göre Dağılımı.....	63

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 1: Microsporidia Sporunun Morfolojisi.....	7
Şekil 2: Microsporidium'un elektron mikroskopik görünümü.....	8
Şekil 3: Sporun konak hücreyi enfekte etmesi.....	9
Şekil 4: Microsporidianın konak hücre içine girmesi.....	12
Şekil 5: Merogoni evresi.....	13
Şekil 6: Sporogonik evre.....	14
Şekil 7: Microsporidanın yaşam döngüsü.....	15
Şekil 8: <i>E. cuniculi</i> 'nin farklı gelişim evreleri.....	16
Şekil 9: <i>E. cuniculi</i> veya <i>E. hellem</i> 'in konağı enfekte ettikten sonraki hücredeki gelişimi	17
Şekil 10: <i>E. intestinalis</i> konak hücrelerini enfekte ettikten sonraki gelişimi.....	19
Şekil 11: <i>E. bieneusi</i> 'nin konak hücrelerini enfekte ettikten sonraki gelişimi.....	20
Şekil 12: Nosema TEM mikroskopisi.....	21
Şekil 13: Su ve yiyeceğin Çevre ve Sağlıklı İnsan Arasındaki İlişkisi.....	26
Resim 1: <i>Encephalitozoon spp.</i>	39
Resim 2: <i>Encephalitozoon spp.</i>	39
Resim 3, 4: Microsporidia sporları.....	40
Resim 5. Calcofluor veMTS ile boyanan sporlar.....	41
Resim 6: <i>Microsporidium spp.</i> sporları Pozitif örnek (MTS).....	55
Resim 7: <i>Microsporidium spp.</i> sporları (MTS).....	56
Resim 8: <i>Microsporidium spp.</i> sporları (MTS).....	56
Resim 9: <i>Microsporidium spp.</i> sporları pozitif örnek (Asit-fast-trichrome).....	56
Resim 10: <i>Microsporidium spp.</i> sporları (Asit-fast-trichrome).....	57
Resim 11: <i>Microsporidium spp.</i> sporları (Asit-fast-trichrome).....	57
Resim 12: <i>Microsporidium spp.</i> sporları (Asit-fast-trichrome).....	58
Resim 13: <i>Microsporidium spp.</i> sporları Pozitif Örnek (Calcofluor).....	59
Resim 14: <i>Microsporidium spp.</i> sporları (Calcofluor).....	59
Resim 15: <i>Microsporidium spp.</i> sporları (Calcofluor).....	60
Resim 16: <i>Microsporidium spp.</i> sporları (Calcofluor).....	60

KISALTMALAR

PT	: Polar tüp
rRNA	: Ribozomal ribonükleik asit
µm	: Mikrometre
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
HSP70	: Heat Shock Protein
PP	: Polaroplastlar
PT	: Polar Tüp
EX	: Eksospor
EN	: Endospor
PAS	: Periodic Acid Schiff boyası
FeS	: Demir sülfür
PTSs	: Polar tüp proteinleri
SDS-PAGE	: Sodium Dodesil Sülfat- Poliacrilamid Jel Elektorofez
PV	: Parazitofor vakuol
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
MTS	: Modifiye Trichrome Boyama
INF-γ	: İnterferon gama
TNF	: Tümör nekrozis faktör
IL	: İnterlökin
RFLP	: Restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi
IFAT	: İndirekt floresan antikor testi
IgG	: Immunoglobulin G
IgM	: Immunoglobulin M
LM	: Işık mikroskobu
EM	: Elektron mikroskobu
IF	: İmmunofloresans teknik
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
CSF	: Serebrospinal sıvı
KOH	: Potasyum hidroksit
TEM	: Transmission elektron mikroskobisi
mg	: Miligram
NaOH	: Sodyum hidroksit

BGG	: Büyüme gelişme geriliği
ml	: Milimetre
gr	: Gram
dk	: Saniye
HCl	: Hidroklorik asit
sn	: Saniye
St h	: Standart hata
WS	: Warthn-Starry
SEM	: Taramalı-Scanning elektronik mikroskopisi
nm	: Nanometre
FCM	: Flow sitometri
cm	: Santimetre
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
M	: Molar
N	: Normal
HIV	: Human immünoyüfisiyans virus
AIDS	: Acquired Immüno Deficieny Syndrom
Malabsorbsiyon	: Emilimin bozuk oluşu
Ekstrüksiyon aygıtı	: Boşaltım aygıtı
Anchoring disk	: Tutunma diski
Karyokinezis	: Hücre içeriğinin gelişimi (çekirdeğin gelişimi)
Sitokinezis	: Sitoplazmanın gelişimi
Fagozom	: Fagositik vakuol
Protoplasm	: Hücrenin canlı albümini, protoplazma
Plasmodium	: Çok çekirdekli protoplazma, içinde iki veya daha fazla çekirdek bulunan protoplazma kitlesi

1. GİRİŞ

İlk kez 1857’de tanımlanan ve zorunlu hücre içi paraziti olan microsporidialar farklı hayvan gruplarında ve omurgasızlarda görülmektedir. Bu nedenle tarih boyunca ipek böcekçiliği, bal arıcılığı ve ticari balıkçılık endüstrilerinde ciddi ekonomik sorunlara yol açtığı gözlenmiştir. Ayrıca kemiriciler, tavşanlar, kürk hayvanları ve primatlarda önemli hastalık etkenleri oldukları da bilinmektedir. Son yıllarda ise microspora şubesinde bulunan microsporidia içinde yer alan protozoonlardan bazılarının, insanlarda da parazitlendikleri ve ölümlere neden oldukları anlaşılmıştır (1-7). İlk insan olgusu 1959’da bildirilmiş olup insanda parazitlenen cinsler *Brachiola*, *Encephalitozoon*, *Enterocytozoon*, *Microsporidium*, *Nosema*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora* ve *Vittoforma* olarak saptanmıştır (8- 10).

Microsporidialar türüne bağlı olarak genellikle kendiliğinden iyileşen ishal, kornea ülseri ve miyozit gibi semptomlar ile karakterize olan sporadik vakalara neden olmaktadır. Ayrıca immun yetmezlikli kişilerde ishalin önemli bir etkeni olarak düşünülmekte ve Human immünodeficiency virus (HIV) enfeksiyonunda fırsatçı patojen olarak değerlendirilmektedirler. Çalışmalarda Acquired Immüno Deficiency Syndrom’lu (AIDS) hastalarda diğer enterik patojenlerin bulunmadığı kronik ishallerin % 15-30’unun microsporidial kökenli olduğu belirlenmiştir (1, 2, 11, 12).

Son yıllarda microsporidiumların mantar orjinli olup olmadığı konusunda araştırmalar yapılmış olup, bu konuda fikir birliği sağlanamamıştır. Ancak *E.cuniculi*’nin filogenetik analizlerinde mantar orjinli olduğu hakkında deliller sunulmuştur (13-15).

Nükleer zarlı bir çekirdek ve intrastoplazmik bir membran sistemine sahip olan microsporidialar gerçek ökaryot olarak kabul edilirler. Ancak spesifik olarak ökaryotik ribozomal özellikler bulunmaz ve rRNA’ları prokaryotik ölçüdedir. Ayrıca mitokondrisi, peroksizomları ve tipik bir golgi aygıtı yoktur (4).

Türlerine göre farklılıklar gösteren ve genellikle oval olan 1-10 µm boyutlarındaki microsporidiaların sporları enfektif olup nemli ve serin ortamlarda bir yıldan uzun süre yaşayabilmektedirler (4, 5, 16).

Sporlar solunum ya da ağız yolu ile alındıktan sonra konak hücreye özellikle enterositlere girerek evrimini tamamlarlar (5, 16).

İnsanlarda bulaşımın fekal-oral, oral-oral, kontamine yiyecek, su ve solunum yoluyla olduğu bildirilmektedir (17).

Microsporidiaların tanısı dışkı, idrar, sinus aspiratları, nazal akıntı, bronkoalveolar lavaj veya doku biyopsilerinde, sporlarının veya evrim dönemlerinin görülmesiyle konulur. Tanıda boya yöntemleri (Modifiye Trichrome, Gram boyama, Giemsa, Floresans boyalar, asit-fast, Periodic Acid Schiff (PAS), Hematoxylen-eosin, Wartin-Stary), serolojik yöntemler, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve Elektron mikroskopisi kullanılmaktadır (4, 5).

Microsporidiaların epidemiyolojisi ile ilgili yurt dışı çalışmalarında genellikle HIV pozitif, immün süpresif ve homoseksüel hastalar araştırma grubunu oluşturmuştur. Ülkemizde parazitin görülme yüzdesiyle ilgili araştırmalara, ulaşılan kaynak bilgilerde rastlanılmamıştır. Çalışmada Malatya ve çevresinde araştırma evreninin genişletilerek (Çocuklar, Sindirim sistemi rahatsızlığı olanlar vb.) mikrosporidiaların epidemiyolojisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca nedeni belirlenemeyen ishaller, karın ağrısı ve sindirim sistemi rahatsızlıkları ile parazitin arasındaki ilişki araştırılarak anlamlı bir ilişki çıkması durumunda, rutin olarak dışkıda microsporidia aranmasının gerekliliği de tartışılacaktır.

2 GENEL BİLGİ

Altalem protozoa grubunda olan Microsporidia terimi, hem hücre içine yerleşen protozoonlar için hem de bunların ait olduğu alem için kullanılmaktadır.

2.1 Tarihçe

Microsporidia ilk 1857'de Nageli tarafından, *Nosema bobbycis* olarak adlandırılmıştır. Balbiani ise 1882 yılında paraziti microsporidia adı altında ayrı bir grup olarak sınıflandırmıştır. İlk yıllarda parazit hakkında ayrıntılı bilgi bulunmadığı için, basit bir gruptandırma yapılmıştır (18,19). Fakat sonraki araştırmacılar microsporidiaları farklı şekillerde sınıflandırmışlardır.

Parazit 1976'da Microspora şubesi adı altında toplanılmış olup 1977'de yapısal özellikleri, spor ve gelişme safhalarındaki çekirdeğin şekli, konak-parazit ilişkisi ve polar tübüldeki sarmal sayılarına göre sınıflandırılmıştır (3, 4). Daha sonra araştırmacılar çekirdek yapılarına göre sınıflandırma yaparak tek çekirdekli Pleistophorida, iki çekirdekli Nosematidida olarak gruptandırmıştır. Parazit, 1980'de ise Protista alemi ve protozoa altalemi altında sınıflandırılmıştır (20).

Parazitin çekirdeğinin diplokaryon olup olmamasına, mayoz bölünmesine ve sporophorous organeline göre sınıflandırma ise 1986'da yapılmıştır. Ancak bu durum filogenetik analizi açısından yararlı görülmemiştir (20). Sporum morfolojisine ve gelişme safhalarına göre sınıflandırma yine 1986 yılında yapılmıştır. Kromozom siklusundaki farkların gözden geçirilerek değerlendirilmesi ise 1992 yılında temel taksonomik kriter olarak önerilmiştir (3).

Araştırmacılar parazitin orjini hakkında da farklı çalışmalar yapmışlardır. Microsporidiumların evrimsel olarak prokaryotlardan ökaryota geçiş formunda bir organizma olduğu düşünülmüştür (21-23). Microsporidiumların orjinleri hakkında 1998 yılında yapılan bir çalışmada ise hücre içi parazitliğine uyum sağlayacak genlere sahip olduğu belirlenmiştir (24).

Sancak'ın bildirdiğine göre 2000'li yıllarda Edling ve ark. alfa ve beta tubilin genlerinin dizi analizini yapmışlar ve microsporidianın protozoolardan çok

mantarlarla daha yakın ilişkide olduklarını bildirmişlerdir. Gen dizisinin kıyaslanması sonucunda ise microsporidia ve mantarlar arasındaki yakın ilişkiyi destekler sonuçlar elde etmişlerdir. Ayrıca *Varimorpha necatrix* ve *Nosema locustae*'nin gen dizi analizleri tanımlanmış ve protozoadan çok mantar gen dizisiyle daha yakın ilişkili olduğunu bulmuşlardır (19).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise microsporidiumların mitokondrilerini kaybetmiş ökaryotlar olabileceği öne sürülmüştür (22).

2.2 Sistematığı

Microsporidiaların omurgalılarda ve omurgasızlarda, 100'den fazla cinsi ve 1200'ün üzerinde türü tanımlanmıştır. İnsanlardan izole edilen türlerin taksonomisi Tablo 1 de verilmiştir (25-29).

Tablo 1: Microsporidia'ların Sistematığı

Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins	Tür	
Microspora	Dihaplophasea	Dissociodihaplophasida	Nosematidae	Nosema	<i>N. connori</i> (<i>B. connori</i>)	
					<i>N. algerae</i> (<i>Brachiola algerae</i>)	
		<i>N. ocularum</i>				
		Brachiola	<i>B. vesicularum</i>			
	Meiodihaplophasida	None infecting humans				
	Haplophasea	Glugeida	Pleistophoridae	Pleistophora	Pleistophora spp	
				Trachipleistophora	<i>T. hominis</i> <i>T. antropophora</i>	
			Encephalitozoonidae	Encephalitozoon	<i>E. hellem</i> <i>E. cuniculi</i>	
				Septata	<i>S. intestinalis</i> (<i>E. intestinalis</i>)	
			Chytridiopsida	Enterocytozoonidae	Enterocytozoon	<i>E. bienersi</i>
			Sınıflandırılmayan	Sınıflandırılmayan	Sınıflandırılmayan	Vittaforma
	Sınıflandırılmayan	<i>M. ceylonensis</i>				
<i>M. africanum</i>						

Encephalitozoon intestinalis önce *Septata intestinalis* olarak isimlendirilmiştir. Ancak morfolojisi, antijenik özellikleri ve moleküler düzeylerindeki benzerlik nedeniyle *Encephalitozoon* genusuna dahil edilmiştir. Son yıllarda da evcil ve vahşi hayvanları enfekte edebilen microsporidialardan *E. cuniculi*, *E. intestinalis* ve *E. bieneusi*, kuşları ve özellikle papağanları enfekte edebilen *E. hellem*, *E. bieneusi* ve *V. corneae* su yüzeylerinden, *Nosema spp.* türleri ise su birikintilerinden izole edilmiştir (8, 25).

2.3. Microsporidiaların Morfolojik Özellikleri

Microsporidiumlar spor oluşturan, tek hücreli ve zorunlu hücre içi paraziti olup konak hücresi dışında metabolik aktivasyon göstermemektedirler (19).

Microsporidiumlar çekirdek ve intrastoplazmik membran sistemine sahiptir. Ayrıca atipik bir golgi aygıtı da bulunmaktadır. Ancak 5.8 SrRNA'sız olup prokaryotlara benzeyip mitokondrileri, peroksizomları ve klasik bir golgi aygıtları bulunmaz. Parazitte bulunan ve bulunmayan organeller deney ortamında tiamin pirifosfatla histokimyasal olarak kanıtlanmıştır (1-6, 30, 31).

Türlerine göre farklılıklar gösteren ve genellikle 1-10 µm boyutlarındaki microsporidiaların sporları enfektif olup nemli ve serin ortamlarda bir yıldan uzun süre yaşayabilirler (1-6). Memelileri enfekte eden microsporidiaların ise sporları, ortalama 1-3 µm boyutlarında küçük ve oval şekildedir (4).

Destek cisimlerini oluşturan polar tüp (PT) hücrenin posterioruna doğru helozon şeklinde uzanırken, ön kısmında yer alan polar keseye düz bir şekilde bağlanmaktadır. Polar tüpün düz kısmı membranlardan oluşan bir kitle ile sarılmıştır. Tabakalardan oluşan bu kitle veziküllere doğru uzanarak, polaroplastları (PP) oluşturmaktadır (1, 2).

2. 3.1. Spor Morfolojisi

Spor, dışta oldukça dirençli olan hücre duvarına sahiptir. Enfektif sporlarda çekirdek monokaryon ya da diplokaryon şeklinde bulunabilir. Spor içinde bir membran sistemi, sporoplasma içinde hücrenin posterioruna doğru helozon şeklinde uzanıp ön kısmında yer alan ankorin "anchoring" diske (tutunma diski) düz bir

şekilde bağlanan polar tüp (PT) ve lameller polaroplast ile tubuler polaroplast bulunur. Plasma membranı ise sporun içeriklerini (ekstrusion aygıtı, sporoplasma ve posterior vakuol) çevreler (Şekil 1). Ekstruksion aygıtı (boşaltım aygıtı) polar tüp, anchoring disk, polaroplast ve posterior vakuolden oluşur. Genellikle tek çekirdek içerir ancak Vittiforma cinsleri iki çekirdek içerebilir (10, 18, 24, 32, 33).

2. 3. 2. Hücre duvarı (4, 13, 34-37)

Spor duvarının mekanik özellikleri sporun çevresel etkenlere karşı direncini yükseltir ve içeriğinin hücre içine boşalması için hidrostatik basıncın artmasını sağlar.

Spor, dışta oldukça dirençli olan glikoprotein ve kitin yapısındaki ekzospor (EX), içte kitin yapısındaki endospor (EN) ve sitoplazmayı çeviren plazma membranı olmak üzere üç tabakadan oluşmuştur.

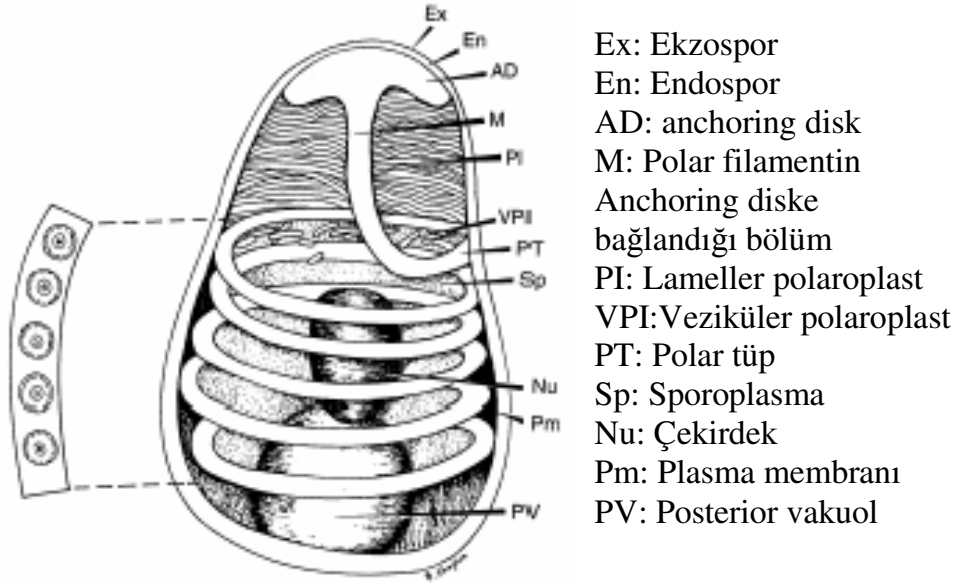
Sporun dış kısmında yer alan ekzospor kompleks olup üç tabakalıdır. Bunlar dış kısımda dikenli bir tabaka, ortada lamina ve içte fibröz tabakadır. Endosporun ekzospora bir köprü ile bağlandığı tespit edilmiştir. Kitinin endosporun temel komponenti ve fibriler sistemin bir parçası olduğu öne sürülmüş olup *E. intestinalis* ile yapılan immünohistokimyasal çalışma ile de desteklenmiştir. Spor duvarı, bir veya iki çekirdekli spor içeriği (sporoplasm), yeni konak hücre sine sporoplazmı inokule etmeye yarayan, dışa çıkıntı yapan bir yapıyı (polar tübül), polar tübüllerin dar yerini çevreleyen kompleks bir membran sistemini (lamellar polaroplast), düzensiz endoplazmik retikulum ve serbest ribozomları çevrelemektedir.

Spor yüzeyi mekanik korumanın yanı sıra polar tüpün boşalmasını ve aktivasyon boyunca spor duvarının modifikasyonunu da sağlar.

2. 3. 3. Polar Tüp

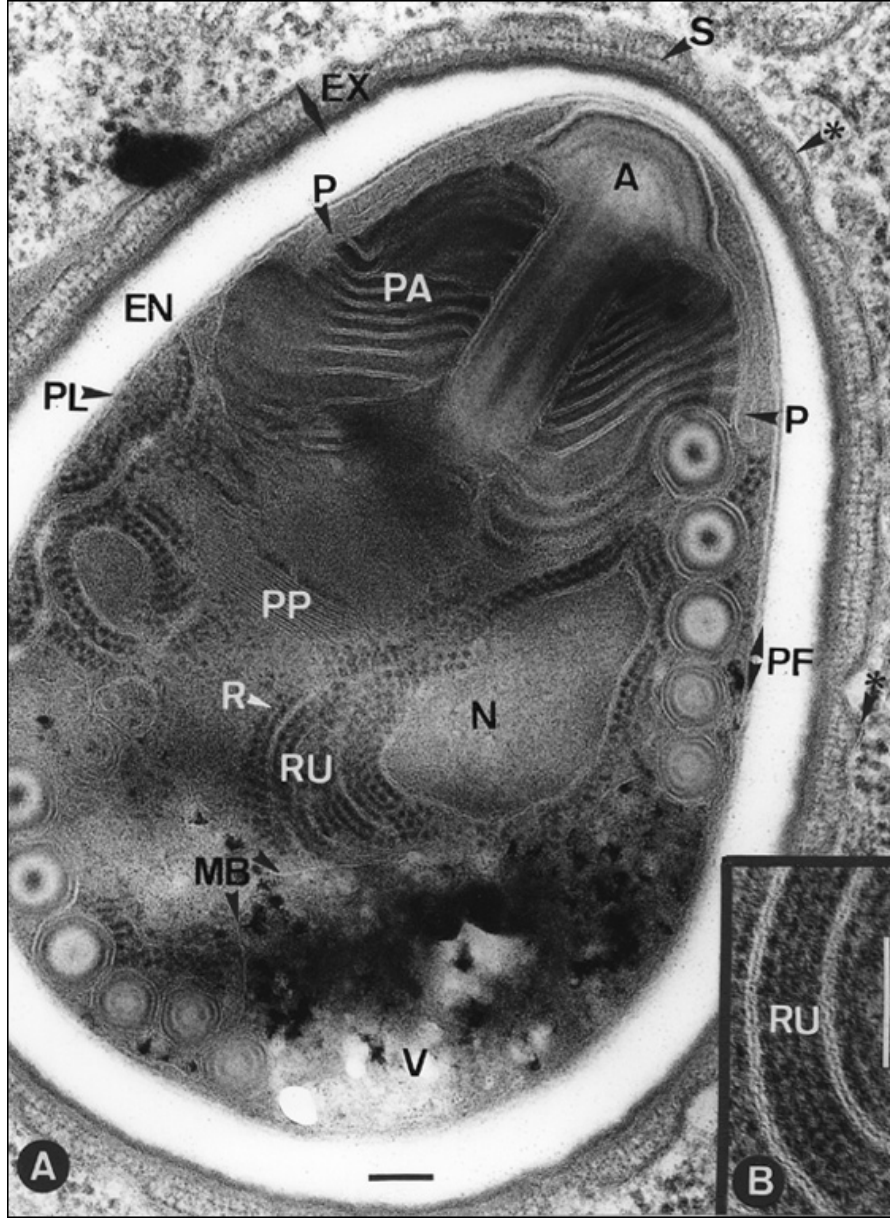
Polar tüpün helezon sayısı en az beş olup tür ayrımında önemlidir. Helezon sayısı 6-10 arasındaki çift sıralılar Enterocytozoon ve Brachiola cinslerinde, 5-11 arasındaki tek sıralılar ise Encephalitozoon, Trachipleistophora ve Vittiforma cinslerinde bulunur (16). Tüp düz bir kısımla anchoring diske bağlanır (Şekil 1). Microsporidia polar tüpünün kesitsel analizinde 3-20 tabaka açıklanmıştır. Boşaltım

esnasında ve sonrasında farklı tabakalara rastlanılmıştır. İleri yapısal gözlemlerde polar tüpün tüp içinde ters dönerek kaydığı belirlenmiştir. Polar tüp proteinleri (PTSs) *Ameson michaelis*, *Encephalitozoon spp*, *Glugea americanus* ve *Glucea atherinae* türlerinde tanımlanmıştır. Bu türlerde en az 3 farklı PTSs bulunmuştur. Ancak bunların birbirlerini nasıl etkiledikleri ve fonksiyonları net olarak saptanamamıştır (22).



Şekil 1: Microsporidia Sporunun Morfolojisi (32).

Çekirdeğin şekli, cinsler arasında değişim gösterir. Bazılarında çekirdek tüm evrim boyunca bir tane iken (*Encephalitozoon*), diğerlerinde iki çekirdek bulunur (*Nosema*). Her iki tip çekirdeğin şekli bir cinsin evriminin farklı evrelerinde meydana gelebilmektedir (4). Microsporidianın elektron mikroskopik görüntüsü de şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2: Microsporidium'un elektron mikroskopik görünümü **A** anchoring disk; **EN** endospor, **EX** ekzospor, **MB** Membranlar, **N** Çekirdek, **P** Polar tüp, **PA** ön polaroplast; **PF** polar filament; **PL** plasma membranı **PP** arka polaroplast; **R** ribozom **RU** Granüllü endoplazmik retikulum **S** ekzospor **V** posterior vakuol (38).

2. 4. Evrim

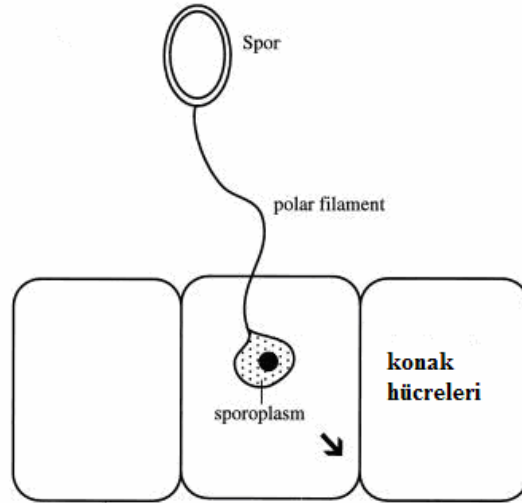
Microsporidiaların konak hücresi dışında aktif evreleri bulunmamaktadır. Yaşam evrelerinin tümü konak hücresi içinde geçer. Yaşam döngüsünü tek konakta tamamlamakta, arakonak veya vektör için bir kanıt bulunmamaktadır. Sivrisinekleri enfekte eden türler için ise kompleks gelişim evrelerinin araştırılması yapılmaktadır (4, 22).

Uygun konakta uygun şartlar altında konak hücreye penetre olan parazitin polar tüpü, sporun ön kısmına doğru getirilir ve konak hücresi içerisine sporoplazma boşaltılması ile hücre enfekte olur (22).

Microsporidiaların evriminde infektif, proliferatif-vegetatif ve hücre içi sporogonik olmak üzere 3 evre vardır (4, 19, 39).

2.4.1. İnfektif evre

Sporlar konak tarafından solunum ya da ağız yolu ile alındığında helozon şeklindeki polar tüp düzleşir, tüpün iç kısmı dış kısmın içinden (radyo antenine benzer şekilde) kayarak ilerler ve konak hücreye özellikle enterositlere girer. Tüp tamamen düzleşince spor içindeki sporoplazma tüpün içinden geçerek konak hücre sitoplazmasına karışır ve gelişmeye başlar (Şekil 3) (1, 2, 18, 33).



Şekil 3: Sporun konak hücreyi enfekte etmesi (18).

Spor aktivasyonu ve polar t p deŒarjı

Spor aktivasyonu ve polar t p deŒarjı (enfekte sporoplasmanın konak hücre içine enjeksiyonu) 2 saniyeden daha kısa zaman alır. Spor germinasyonunun bu süreci tam olarak anlayamamıŒtır. Fakat türden t re deęiŒiklik gösteren birkaç uyaran sporu aktive eder ve sporoplazmayı kısa zamanda bölmelere ayırarak çökmesine neden olur (16, 22). Bu spor içinde osmotik basıncın anormal artıŒıyla sonuçlanarak posterior vakuolu geniŒletir bu da polar tüpün ters d n Œ n  (eversiyonu) tetikler ve konak hücre içine sporoplasm enjeksiyonuyla sonuçlanır (22).

Spor duvarının anterior kısmında çıkıntı oluŒur ve sporun apeksinde ters d n Œ baŒlar. Apeks sporun zayıf bölgesidir ve polar tüpün sporu deldiği yerdir. Spordan ıkımiŒ polar tüpün uzunluğu 50 m ile 500 m boyutlarına varabilir. Bu uzunluk sporun uzunluğunun 100 katı kadardır (22). Spordan çıkan polar t p tipine göre 100 ms⁻¹'i aŒan bir hızla hareket edebilir. Sporopazma hızlı bir Œekilde polar tüpe doğru yönelir ve 15-500 ms içinde tüpe varır. Bu arada sporoplasmanın membranı boŒ sporda kalır. Fakat enjekte edilen sporoplasma ploroplasttan oluŒan yeni bir plasma membranıyla sarılır. Spordan ıkıŒ sonrasında sporoplasma hemen tüple birleŒir ve birkaç saniye sonra tüpten ayrılarak hücre invazyonu gerekleŒir (22).

Hücre İnvazyonu

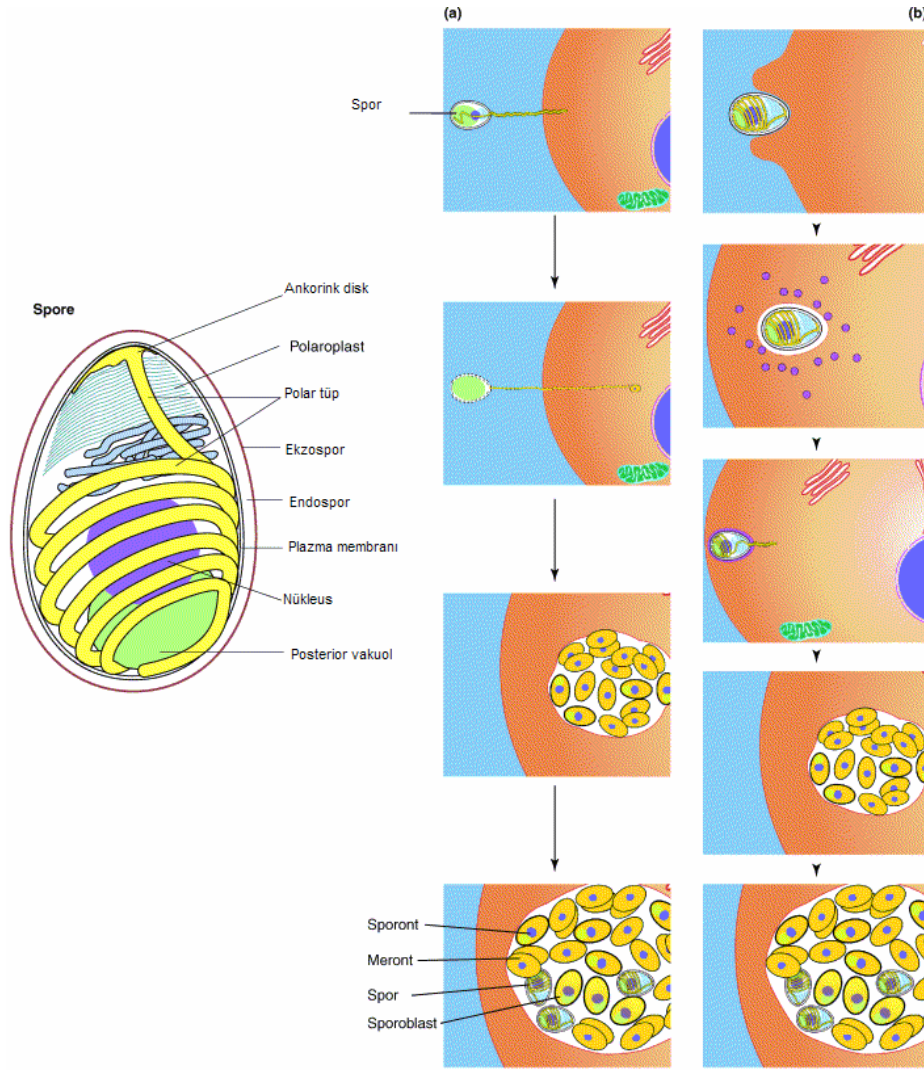
Polar tüpün konak hücreye nasıl penetre olduğu açık değildir. BaŒlangıta spordan dıŒarı çıkan polar tüpün (g  yardımıyla) konak hücrenin plazma membranı delip girdiği d Œ n lm Œt r (bir enjeksiyon iğnesi gibi) (22). Fakat son alıŒmalarda polar tüpün konak hücreye fagositoz ile girdiği  ne sürülmektedir (16, 22).

Bigliardi ve ark.(16) sığır pulmoner fibroblastları içinde *Encephalitozoon hellem* kullanarak polar tüpün konak hücreye invaginasyonuyla kendi içeriğini boŒalttıęını bildirmişlerdir. İnvazyon süreci sonunda microsporidium sporu bir vakuol içinde muhafaza edilir. Franzen'in bildirdiğine göre Magaud ve ark. makrofajın plazma membranına invajine olmuŒ *E. intestinalis*'i yayınlamışlardır. Farklı bir alıŒmada ise fagositik sürecin, hücre membranıyla spor apeksinin birleŒmesiyle oluŒtuęu  ne s r lm Œt r (22).

Parazitofor vakuollerinin orjini

Bir çok microsporidia türleri konak hücre sitoplazması içinde etrafını saran bir vakuol olmadan gelişimini sürdürür. Bazı cinslerin ise (*Encephalitozoon spp.*, *Glugoides intestinalis*) etrafını saran bir membran onu sitoplazmadan ayırır ve parazitofor vakuol (PV) olarak bilinir. İnfeksiyonun erken evrelerinde gerçekleşen PV'ün orjini tam olarak anlaşılamamış olup konak hücrelerinden orjin aldığı bildirilmiştir. Fakat boşalmış bir sporla, fagositik hücre içinde boşalan spor arasındaki farkı ayırt etmek zordur (22).

Microsporidiumun konak hücre membranına penetre olan uzun sarmallı polar tüpü, hücre sitoplazmasına hızlı bir şekilde geçer. Son çalışmalarda microsporidiumların konak hücreye geçişinin fagositozla olduğu gösterilmiştir. Bununla beraber fagositozdan sonra microsporidiumun polar tüpü olgun fagozomdan (fagositik vakuol) kaçır ve konak hücre sitoplazmasını enfekte eder (Şekil 4) (22).



Şekil 4: Microsporidiannın konak hücre içine girmesi (22)

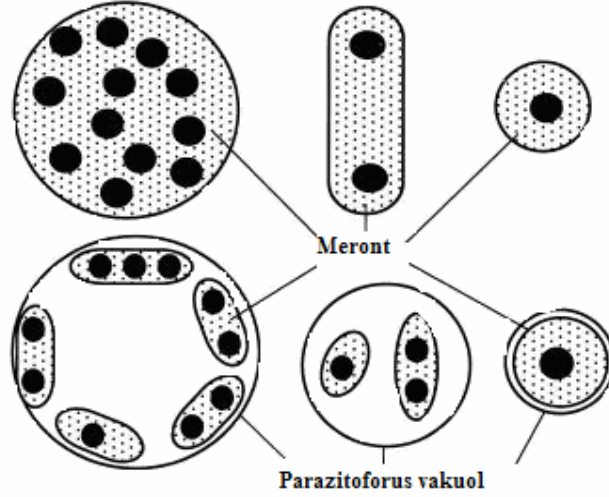
a. Aktif yayılım: polar tüp spordan ayrılarak konak hücreye enjekte edilir. Enfektif sporoplasm konak hücrenin stolazmasına yerleşir. Spor boşalır ve *Encephalitozoon spp.* türlerinde bir vakuol içinde merogoni ile parazit çoğalır.

b. Endositozis: konak hücre endositoz ile sporu içine alır. Fagozomla çevrilir. Konak hücrenin lizozomu paraziti yok etmeye çalışır. Ancak parazit polar tüpü kullanarak lizozomdan kaçır ve enfektif sporoplasm konak sitoplazmasını enfekte eder. Merogoni ile merontlar oluşur.

2. 4. 2. Proliferatif ve vegetatif evre

Merogoni/Şizogoni Evresi

Sporoplazmanın uygun bir konağa girmesiyle sporoblastlar meront olarak adlandırılan ve çoğalma gösteren hücreler aracılığı ile konak hücrenin sitoplazmasında (Nosema, Enterocytozoon), PV içinde (Encephlitozoon, Septata) ya da parazitin salgıladığı şekilsiz bir kabuk içinde (Pleistophora, Trachipleistophora) gelişir veya konağın endoplazmik retikulumuyla (Endoreticularis, Vittiforma) çevrilir (16,18,40). Merontlar sitoplazmalarındaki ufak farklılıklarla birlikte yapısal olarak basit hücrelerdir ve hücre zarı tek katlıdır. Bunlar defalarca ikiye veya daha fazla sayıya ortadan bölünerek çoğalırlar (Şekil 7) (40,41). Yuvarlaklaşmış çok çekirdekli plasmodial formların (*E. bienewisi*) veya kurdela benzeri çok çekirdekli hücrelerin (Septata) oluşumu ile sonuçlanan karyokinezis, sitokinezisten önce defalarca meydana gelebilir (Şekil 5) (41).

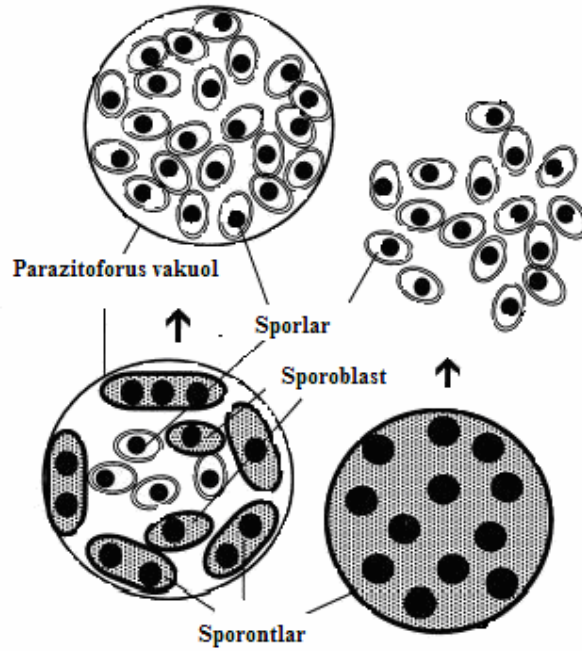


Şekil 5: Merogoni evresi (18).

2. 4. 3. Hücre içi sporogonik evre

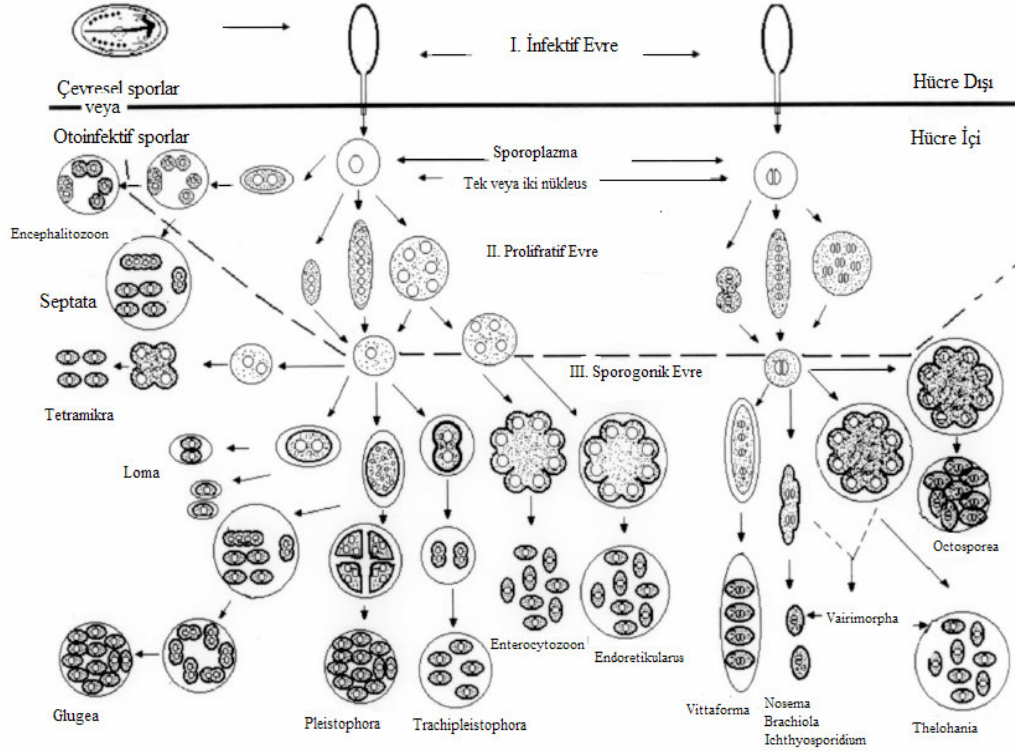
Sporogonik faz

Sporogoni, merontların sporontlara dönüştüğü zaman başlar (40). Sporontlar, ikiye bölünme ya da çoklu füzyon ile çoğalıp, sporoblastları oluşturan hücrelerdir. Daha sonra oval şekilli sporoblastlardan olgun sporlar meydana gelir ve hücre membranının parçalanmasıyla serbest kalırlar (şekil 6) (16).



Şekil 6: Sporogonik evre (18).

E.bieneusi'nin tüm evreleri konak hücre sitoplazmaları ile direkt temas sonucu meydana gelir. Encephalitozoon ve Septata türlerinin sporogonisi, konağın oluşturduğu membran ile sınırlanmış parazitoforus vakuolde meydana gelir. Pleistophora türünde ise parazitin oluşturduğu ince bir membran ile konak sitoplazmasından paraziti ayıran sporoforus vesikül içinde gelişir (Şekil 7) (40).



Şekil 7: Microsporidanın yaşam döngüsü (32).

I İnfektif evre: Konak hücrenin plazma membranından hücre sitoplazmasına polar tüpün girişi

II. Polar tüpün konak hücre içinde gelişip çoğalması

Solda tek çekirdekli sağda ise iki çekirdekli sporolasmannın, cinslere göre gelişip çoğalması farklıdır.

Birinci tip; karyokinezden sonra hücreler hemen ikiye bölünür (Brachiola).

İkinci tip; birden fazla bölünmeden sonra çekirdekler tesbih tanesi gibi dizilirler (Nosema).

Üçüncü tip; bölünmeden sonra nükleuslar daire şeklinde çevrilirler (Endoretikularis).

Encephalitozoon ve Septata cinsleri konak hücresi tarafından salgılanan parazitoforus vakuölü ile çevrilirler. Pleistophora da ise parazit tarafından salgılanan sporoforus içinde gelişimini sürdürür.

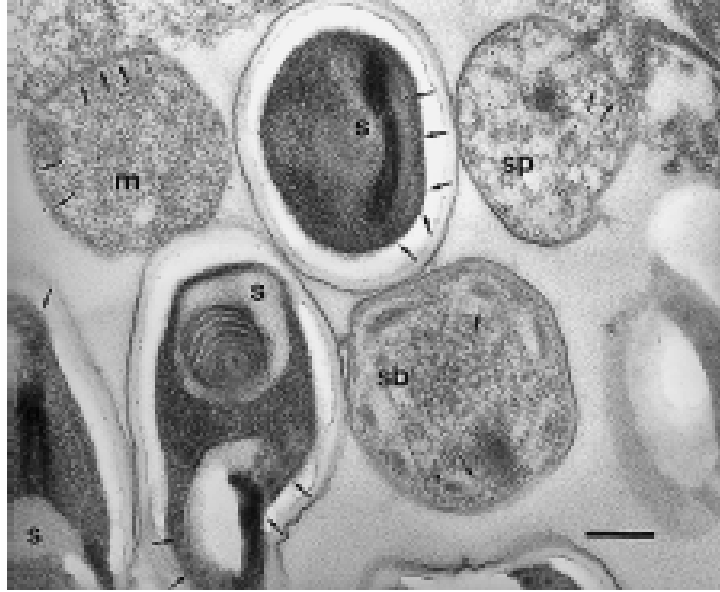
III. Sporogonik evre:

Nosema, Brachiola, Tetramicra, Enterocytozoon ve Ichthyosporidium cinsleri konak hücre sitoplazmasıyla ilişkilidir.

2. 5. İnsanda İnfeksiyon Yapan Microsporidium Türleri

2. 5. 1. Encephalitozoon

Bu cins içinde *E. cuniculi*, *E. hellem* ve *E. intestinalis* türleri yer almaktadır. Gelişimlerini konak hücre sitoplazması içinde membrana bağlı olarak bulunan bir vakuolde (Parazitoforus vakuölü-PV) gerçekleştirirler ve çoğaldıkça (ikiye bölünerek) vakuölü büyütürler. Daha sonra parazitoforus vakuölü membranı ve konak hücre plazma membranının patlamasıyla sporlar serbest kalır. Encephalitozoon sporları elipsoid şeklinde olup, yaklaşık olarak 2-2.5µm x 1-1.5µm boyutlarında, 5-8 kez kıvrılmış polar bir filament içerirler. Sporların kıvrıntılı bir ekzospor yüzeyi, kalın bir endosporu ve genellikle bir polar vakülü bulunmaktadır (18, 19) (Şekil 8).

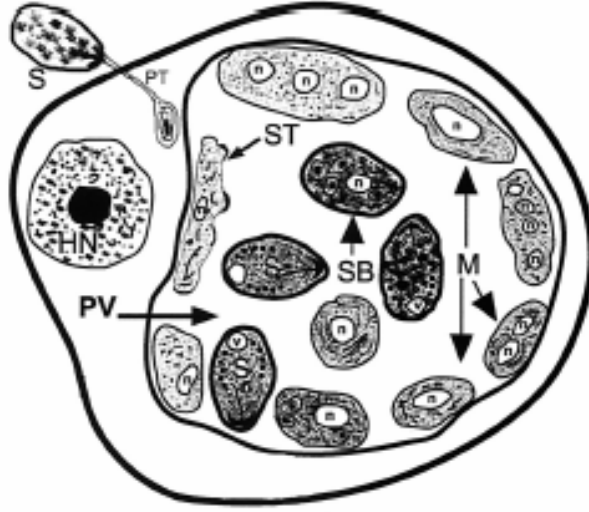


Şekil 8: *E. cuniculi*'nin farklı gelişim evreleri; M: meront, Sp: sporont, sb: polartüp, S:sporlar (16).

Tüm evrelerinde tek parçalı çekirdekleri bulunur. Merontları vakuol membranına yapışık olarak dururlar ve ikiye bölünerek çoğalırlar. Sporontları vakuolde serbest olarak bulunur ve kaba bir endoplasmik retikulumları vardır. Bölünerek iki sporoblast oluştururlar (2, 42). *Encephalitozoon spp.* türleri bağırsak infeksiyonun erken dönemlerinde dışkıda görülebilir, ancak bu cins içinde yer alan türler genellikle böbrek ve solunum sistemine yayılım gösterirler ve geç dönemde idrar ve solunum yolu sekresyonlarında bulunurlar (18, 19).

Encephalitozoon cuniculi

İsimplendirilmesi 1923'de yapılan *E. cuniculi* kemirgenlerde, etoburlarda, kuşlarda, primatlarda ve insanlar gibi memelilerde parazitlenmektedir. Makrofaj, epitel, vasküler endotelyal ve böbrek tübül hücrelerini enfekte eder. Ayrıca öncelikle beyin ve böbrek olmak üzere çoğu dokuda bulunabilir (Şekil 9) (41).



Şekil 9: *E. cuniculi* veya *E. hellem*'in konağı enfekte ettikten sonraki hücredeki gelişimi PT (polar tüp), PV(Parazitoforus vakuol), M(Meront), ST(sporont), SB(Sporoblast), S(spor), HN(Konak hücre çekirdeği) (8)

E. cuniculi normal popülasyonda serolojik olarak %9 oranında bulunmuştur. Tropikal bölgelerden gelen turistlerde oran daha fazladır. İmmun sistemi baskılanmış hastalarda enterik, hepatik ve musküler yaygın klinik formları vardır. AIDS'lilerde peritonit olguları da görülmüştür (1).

Encephalitozoon hellem

Paraziti Didier ve ark.(42) Sodium Dodesil Sülfat- Poliacrilamid Jel Elektorofez (SDS-PAGE) yöntemi ile 1991 yılında tanımlamışlar ve Western Blot yöntemi ile de kanıtlamışlardır. *E. cuniculi* ve *E. hellem*'in moleküler analizi sonucunda ise küçük subünit rRNA dizilimlerindeki farklılıklarla aynı tür olmadıkları doğrulanmıştır (18, 41, 42).

E. hellem 2-2.5 ile 1.0-1.5 µm boyutlarında, polar tübül 5-7 halka içerir ve genellikle tek sıralıdır. Parazitin makrofajlara, korneaya ve konjunktivaya, buruna, bronş epiteline, üriner sistem epiteline ve böbreğe yerleştiği tespit edilmiştir (42).

E. cuniculi ve *E. hellem*'i TEM mikroskopisi ile ayırt etmek mümkün değildir (Şekil 9). Tür ayrımının yapılabilmesi için Western blot veya PCR tekniklerinin de yapılması gereklidir (8).

2. 5. 2 Septata

Septata intestinalis (E. intestinalis)

S. intestinalis 1993'de tanımlanarak sınıflandırılmış ve sadece HIV ile enfekte hastalarda bulunmuştur (7). Fakat daha sonra kronik ishalli olguların lamina propria makrofajlarında ve enterositlerinde de saptanmıştır (41).

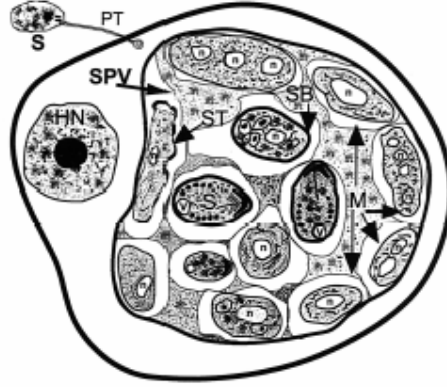
Önce *S. intestinalis* olarak isimlendirilmiş sonra morfolojisi, antijenik özellikleri ve moleküler düzeylerindeki benzerlik nedeniyle Encephalitozoon genusuna dahil edilmiş ve *E. intestinalis* olarak isimlendirilmiştir (25).

Parazitin sporları yuvarlak tek çekirdekli veya 2 - 4 çekirdekli olabilir. Parazit gelişimi ise hücre içinde parazitofor vakuolde meydana gelir ve enfekte olan hücreler, gelişen organizma çevresinde parazitin salgıladığı fibriler ağ yapısı gösterirler. Böylece PV septalı gözlenir (2, 7, 41).

Elektron mikroskopik incelemede 1.2µm uzunluk ve 50 nm çapta tek tübüler uzantı gösterebilirler. Bunlar sporont yüzeyinden başlangıç alır ve genişlemiş ampul

benzeri bir yapı ile sonlanırlar. Olgun sporlar 1.2-2.0 µm boyutundadır ve tek sıralı 4-7 halkalı polar tübüller içerirler (15).

E. intestinalis'nin konak hücreni enfekte ettikten sonraki evrim dönemleri bölünen PV de gelişir (şekil 10) (8).



Şekil 10: *E. intestinalis* konak hücreni enfekte ettikten sonraki gelişimi PT (polar tüp), SPV (Parazitoforus vakuol), M (Meront), ST (sporont), SB (Sporoblast), S (spor), HN (Konak hücre çekirdeği), V (Posterior vakuol) (8).

E. intestinalis sindirim sistemi infeksiyonlarında tespit edilen yaygın bir infeksiyon olup, *E. bienewisi*'den sonra en sık bulunan microsporidiadır (43).

2. 5. 3. Enterocytozoon

Gelişimlerini konak hücre sitoplazması içinde gerçekleştirirler. Çekirdekleri tek parçalıdır. Işık mikroskopunda tek çekirdekli formları ile beraber çok çekirdekli gelişim evreleri de görülebilir. Fakat meront ve sporontların ayırt edilmesi zordur (2).

Elektron mikroskopik incelemelerde merontlarda düzensiz çekirdek ve sitoplazmada transvers yarıklar gözlenir. Sporontlarda yüzey örtüsü oldukça geç evrelerde sporoblast oluşumu esnasında gözlenir. Elektron mikroskopunda, sporontlarda elektron yoğun diskler görülebilir, bu diskler daha sonra polar tüpleri oluştururlar. Parazitin tüm evreleri hücre sitoplazmasında gerçekleşir. Erken gelişim evrelerinde iki çekirdek bulunabilir. İnfeksiyon genellikle ince bağırsakta ve safra yollarında kalır, olgunlaşmış sporlar dışkı yoluyla atılır (2).

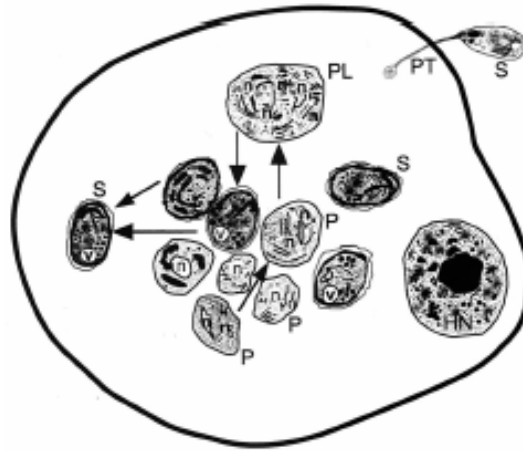
Enterocytozoon bieneusi

İlk kez 1985 yılında AIDS'li bir hastadan izole edilmiş ve sadece AIDS' lilerde görüldüğü bildirilmiştir (19). *E.bieneusi* insan bağırsaklarında entorositleri tutar ve ağır ishallere neden olur. Ayrıca nadir olarak safra yolu, safra kesesi, nonparankimal karaciğer hücreleri, pankreatik kanal, trakea, bronş, burun ve epitel hücrelerinde de saptanmıştır (1, 40). Parazitin multiorgan tutulumu yapabildiği de bildirilmiştir (44).

E.bieneusi yaklaşık olarak 5-7 kez kıvrılmış polar filamentten meydana gelen ve 0.7-1µm-1.1-1.6µm çapında olan en küçük microsporidiadır. Ayrıca kitin yapısındaki ince bir endospor tabakasıyla diğer microsporidialardan ayrılır (18).

Tüm gelişim evreleri konak hücre sitoplazması ile direkt temas halinde olup sporoforöz vezikül, pansporoblastik membran oluşmamaktadır (Şekil 11). Parazitin tüm gelişim evresi tek çekirdekli dir. Evrimin ilk dönemlerinde uzamış ve yine tek çekirdek içerir. Proliferatif ve spongiyal formlar 6µm çapta, multinükleer plasmodiaya (çok çekirdekli protoplasma) dönüşürler ve tek membran ile çevrilirler (41).

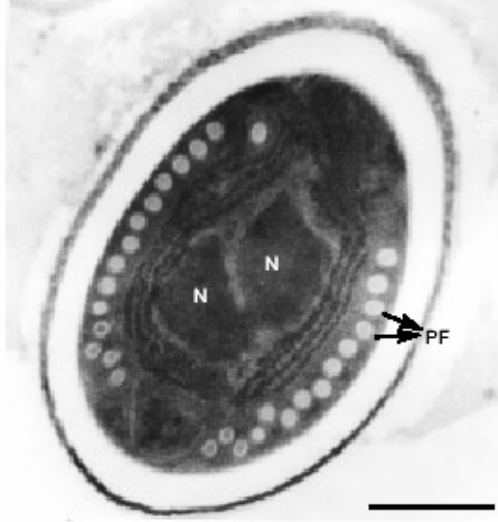
E.bieneusi'nin konak hücreni enfekte ettikten sonraki gelişimi PV' süz ortamda konak hücre sitoplazmasında gerçekleşir (şekil 11) (8).



Şekil 11: *E.bieneusi*'nin konak hücreni enfekte ettikten sonraki gelişimi; PT (polar tüp), P(Plasmodium), M(Meront), ST(sporont), SB(Sporoblast), S(spor), HN(Konak hücre çekirdeği), V(Posterior vakuol) PL (sporlaşmış plasmodium- çok çekirdekli protoplasma) (8).

2. 5. 4. Nosema

Genellikle omurgasızlarda görülen *Nosema spp.* insanda ender infeksiyon yapar. Gelişimlerini konak hücre sitoplazması içinde gerçekleştirirler. Çekirdekleri tüm evrelerinde iki parçalıdır. Hem merogonik hem de sporogonik evrelerinde ikiye bölünerek çoğalırlar. Polar tüpünde 10-12 burğu bulunmaktadır. Sporlar oval ve 4-4.5x2-2.5µm boyutlarındadır (şekil 12) (2, 18, 45).



PF: Polar filament, N: Çekirdek

Şekil 12: *Nosema spp.* TEM mikroskopisi (45).

Timus hipoplazisi olan immun yetmezlikli 4 aylık bir bebekte *N.connori*, immun yetmezliği olmayan 11 yaşında bir çocukta *N.ceylonensis*, Botswana'da 26 yaşında bir kadında *N.africanum*'un yaptığı tek taraflı körlükle seyreden keratit bildirilmiştir (1).

Chichilla ve ark. (46) 61 yaşındaki hipertansiyon hastasının dışkı örneğini modifiye trichrome boyası (MTS) ve elektron mikroskobu ile incelemişler ve *Nosema* benzeri organizmaya rastladıklarını bildirmişlerdir.

2. 5. 5. Pleistophora

Böcekler, vertebralılar ve başlıca balıklarda görülmesine karşın insanlarda da olgular bildirilmiştir. İnsanda miyozitli ve immün yetmezliği olan hastaların kaslarında saptanmıştır. Parazit hücre içinde oluşturduğu ince amorf bir tabaka ile sınırlı vezikülde (sporoforöz vezikül) gelişir. Sporlar, yaklaşık 2-2.8x3-4µm

boyutlarında oval ve polar túbülünde 10-12 burğu bulunmaktadır. Sporun duvar yapısı ise tipik microsporidia yapısına benzer (40- 42).

Tüm gelişim döneminde çekirdek tek parçalıdır. Ancak meront oluşumu sırasında çekirdekler çoğalır ve plazma membranının çevresinde kalın şekilsiz bir zar oluşur. Merontlar içlerinde birkaç çekirdek bulunan küçük parçalara ayrılırlar (2). Sporogoni çok spordur ve sporoföröz vezikül içinde değişik sayıda spor oluşumu ile sonlanır. Sporlar 9-12 halkalı olup 2-8 ile 3.2-3.4 µm boyutunda túbüller içerir (40, 41).

2. 5. 6. Trachipleistophora

Bu cins ilk olarak miyoziti olan AIDS'li bir hastada bildirilmiştir. Parazitin invitro kültürü yapılabilir. Merontlar ikili bölünme ile iki ve dört çekirdek içerebilirler (18, 20, 47)

2. 5. 7. Vittiforma

İlk olarak Davis ve ark. (48) keratit tanısı ile gelen 45 yaşındaki hastada tanımlamışlardır. Sporları 3.7x1µm boyutlarındadır. Polar túbülde 6 burğu bulunur. Keratit gibi lokal enfeksiyona ya da yaygın enfeksiyonlara yol açabilir (19, 48). Hücreler çift çekirdekli olup, kültürlerinde tüm evreler tek tek görülebilir (18).

2. 5. 8. Brachiola

İlk kez bir hastanın korneasından izole edilmiştir. Sporlar 2.5-2.9x1.9-2µm boyutlarındadır. Polar túbülde 7-10 kıvrım bulunmaktadır (18, 20, 47).

2. 5. 9. Microsporidium

Taksonomik olarak sınıflandırılmayan organizmalar için ortak bir terimdir. *M. ceylonensis* Sri Lanka'daki bir erkekte korneal ülserde saptanmıştır. *M. africanum* ise Botswana'da bir kadındaki perfore ülserde tespit edilmiştir (4).

2. 6. Epidemiyoloji

Microsporidialar fırsatçı parazit olarak tanınan infeksiyon etkenleridir. Dünyada Arjantin, Avustralya, Brezilya, Kanada, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Çin, İtalya, Japonya, Yeni Zellanda, İspanya, Srilanka, İsviçre, Tayland, Uganda, ABD, Zambia, İsveç, Botswana ve Hollanda gibi farklı ülkelerden bildirilmiştir (25).

İnsanlarda en sık infeksiyon oluşturan türler *E.bieneusi* ve *E.intestinalis*'dir. Her iki tür de dünyada yaygın olarak bulunmaktadır. Başlıca HIV ile enfekte hastalarda kronik ishal etkeni olmakla birlikte, immün süpresif olmayan kişilerde de akut ve kendini sınırlayan ishallere neden olabilmektedir. Bunların dışında *V. corneae*, *Trachipleistophora spp.* ve *Brachiola spp.* olmak üzere diğer microsporidia türlerine de nadiren rastlanılmaktadır (10,19).

İnsanlarda dissemine infeksiyonlara yol açan Encephalitozoon ve Encephalitozoon benzeri organizmalar genellikle AIDS'li hastalarda fırsatçı patojen olarak görülürler. Diğer bir microsporidia olan *Pleistophora spp.* HIV negatif fakat immün sistemi baskılanmış bir hastada myositis etkeni olarak saptanmıştır. Encephalitozoon benzeri organizmalardan *S. intestinalis* ishalleri AIDS hastalarının % 2.2'sinde bulunmuştur (3).

Çoğunlukla immün sistemi yetersiz insanlarda infeksiyon oluşturan microsporidiaların varlığı ilk olarak 1959 yılında bildirilmiştir (3). Hayvanlarla temas öyküsü olan bir çocuk ateş, konvülsiyon ve baş ağrısı şikayetleri ile hastaneye getirilmiş ve beyin omurilik sıvısının (BOS) incelenmesi ile Encephalitozoon cinsi sporlar tanımlanmıştır. Ayrıca 1973 de de iki olgu bildirilmiş olup bunlardan biri atipik aplazi tanımlı çocuk hasta olup diğeri kornea tutulumlu 11 yaşında yine bir çocuk hastadır (18).

Tanyükselin bildirdiğine göre *E. bieneusi* ilk olarak 1985 yılında Haitili AIDS'li bir hastanın enterositlerinde tespit edilmiş olup, o tarihten günümüze kadar da sadece insanlarda görülmüştür. 1985'ten itibaren İngiltere, Amerika Birleşik Devletleri, Uganda, Zambia, Avustralya ve Hollanda gibi dünyanın çeşitli yerlerinde AIDS'li hastalarda tespit edilmiştir. Bu hastalarda gözlenen en önemli bulgular, kronik ishal ve

kilo kaybıdır. Kronik ishallerde AIDS hastalarında yapılan endoskopik çalışmalar sonucunda, *E. bienersi* prevalansı % 7-50 olarak saptanmıştır. Bununla beraber, koprodiagnostik tekniklerin kullanıldığı çalışmalarda, HIV pozitif kronik ishallerde hastalarda prevalans % 9-16 bulunmuştur. Hanneman ve arkadaşları ise HIV pozitifli 41 ishallerde hastanın 9'unda (% 22) modifiye trichrom boyama (MTS) ile microsporidia saptamışlardır. Yine Avusturya'da Weinmayr ve arkadaşları, 377 AIDS'li hastanın 35'inde (% 9.3) Calcofluor ve Giemsa boyama ile *E. bienersi* saptamışlar, bunu da elektron mikroskobu ile doğrulamışlardır (3).

Bretagne ve ark. (49), yaptıkları bir çalışmada, 60 HIV-pozitif hastanın 4'ünde (%7), klinik olarak sağlıklı 980 Afrikalı çocuğun 8'inde dışkıda *E. bienersi* sporlarına rastladıklarını bildirmişlerdir.

Tanyükselin bildirdiğine göre, sadece HIV pozitiflerde 1993 yılına kadar saptanan *E. bienersi* bu yılın başında, Afrika'da 7 hafta kalan hafif ishal semptomlu bir tıp öğrencisinin dışkı örneğinde saptanmıştır. Hastanın yapılan immunolojik incelemelerinde ise herhangi bir immun yetmezlik durumu saptanamamıştır (3).

Ayrıca Field ve ark. (50) 180 HIV pozitif hastanın %33'ünde, Kotler ve Orenstein (51) immun sistemi baskılanmış ve ishallerde hastaların %39'unda, Garcia ve ark. (52) % 42'sinde bu parazite rastlamışlardır. Kokoskin ve ark. ise (53) HIV pozitif hastaların %12'sinde, MTS boyasında modifikasyon yaparak paraziti tespit etmişlerdir.

Avustralya'da HIV pozitif 180 hastada yapılan bir çalışmada ise kronik ishallerde 109 hastanın 36'sında (% 33) ve ishallerde olmayan 71 hastanın 1'inde endoskopi ve duodenum biyopsilerinde microsporidia tespit edilmiştir. Bu çalışmada, yeni bir tanı tekniği olarak kullanılan Warthin – Starry boyama yöntemi, elektron mikroskobu sonuçlarıyla %100 uyumluluk göstermiştir ve sonuçlar değerlendirildiğinde 37 microsporidia pozitif olgunun 33'ünde etken olarak *E. bienersi*, diğer 4 protozoon da ise *Encephalitozoon ssp.* saptanmıştır. Olguların 4'ünde microsporidia sporları makrofajlar içinde bulunurken diğerleri enterositlerde bulunmuştur (3).

Degiolami ve ark. da (54) MTS ve uvitex 2B ile %18.6 oranında parazite rastlamışlardır. Raynaud ve ark. ise (55) Fransa'da kronik ishallerde, immünsüpresif

olmayan 4 gencin dışkı örneklerini MTS ve Uvitex 2B ile boyayarak *E. intestinalis* saptamışlardır. Hastaların ikisi albendazol ile tedavi edilmiştir. Benzer olarak Müller ve ark. (29) Almanya'da kronik ishali HIV pozitif 104 hastanın 10'unda pozitiflik tespit etmişlerdir. Ayrıca Fournier ve ark. (56) AIDS'li 12 hastanın idrar örneklerinde, Brasil ve ark. (57) kronik ishali olan 40 HIV hastasının 11'inde, ve Termmathurapoj ve ark. da (58) Tayland'da çocuklarda yaptıkları bir araştırmada Calcofluor ve Gram-chromotrope yöntemlerini kullanarak %1,3 oranında microsporidiaya rastladıklarını bildirmişlerdir.

Müller ve ark. (59) ishal şikayeti ile gelen 148 turistin 5'inde ışık mikroskopisi ile 9'unda ise PCR ile tanı koymuşlardır.

Tumwine ve ark. (60) Uganda'da 72 saat ve üzerinde ishal şikayeti olan çocuklardan alınan örnekleri PCR testi ile incelemişler ve %17.4'ünde *E. bienewisi*'ye rastlamışlardır. Araştırmacılar yağmurlu mevsimlerde parazitin görülme oranının arttığını bildirmiş ancak kötü beslenme ve ishal ile parazitin görülme oranı arasında anlamlı bir ilişkiye rastlamamışlardır.

Kumar ve ark. (61) 153 HIV pozitif hastanın dışkı örneklerinin 10'nunda *E. bienewisi* saptamışlardır.

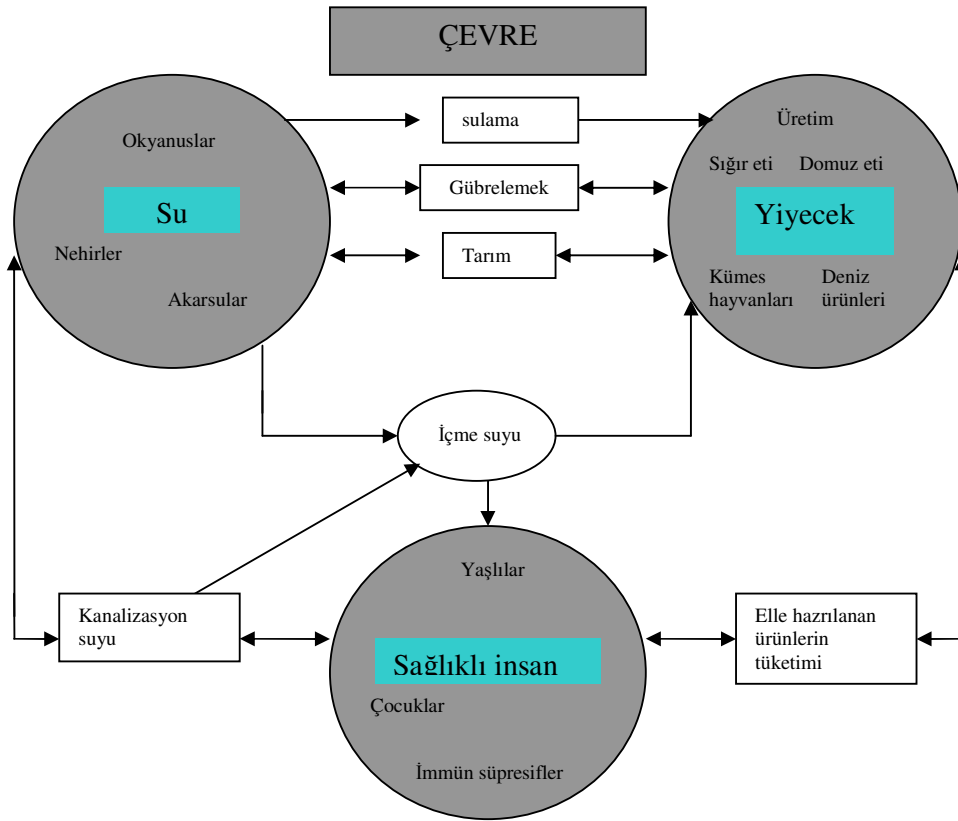
Abreu-Acosta ve ark. (62) İspanya'da ishal ve zatürece şikayeti olan 273 hastanın 156 dışkı örneğinde %11.5, 40 idrar örneğinde %2.5 ve 37 tükürük örneğinde %16.2 oranında *E. bienewisi*'e rastlamışlardır.

Ülkemizde ulaşılan kaynak bilgilere göre şu ana kadar insanlarda parazitin epidemiyolojisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak Yazar ve ark (63) kanserli bir hastada, Büget ve ark.(64) AIDS hastasında *Microsporidium spp.*'ye, Özkırım ve Keskin (65) arılarda Nosema'ya, Eröksüz ve ark. (66) tavşan kolonisinde *Encephalitozoon spp.*'ye ve Yaman ve Radek coleoptera'larda %42 oranında Nosema'ya rastladıklarını bildirmişlerdir (67).

2. 7. Bulaşma

Microsporidia'ların doğada yaygın olarak bulunması ve infeksiyonun tüm dünyada görülmesi nedeniyle birçok geçiş yolu ve kaynağı olduğu düşünülmektedir (18). Parazitlerin dış ortam da oldukça dirençli olduğu *E. cuniculi* sporlarının 22°C'de en az 4 hafta ve *E. hellem*'inde -70°C'de birkaç ay canlı kalabildiği bildirilmiştir (4).

Microsporidia'ların kaynağı ve bulaş şekli kesin olmamakla birlikte solunum sekresyonları, idrar ve dışkı yoluyla çevreye yayıldıkları varsayılmaktadır. Ayrıca insan infeksiyonlarının zoonoz olup olmadığı net değildir (5). Slifko ve ark. da (68) Microsporidiaların su ve yiyecek kaynaklı bulaşabileceğini bildirmiş ve çevre ile sağlıklı insan arasındaki yiyecek-su ilişkisini şematize (şekil 13) etmişlerdir.



Şekil 13: Su ve yiyeceğin Çevre ile Sağlıklı İnsan Arasındaki İlişkisi (68).

E. bienersi ve *E. intestinalis*'in insanlara geçiş yolu olarak çevreye salınmış sporların sindirim sistemi aracılığı ile bulaş yaptığı en kuvvetli varsayımdır. İnsan *Encephalitozoonozisi*'nde sporlar idrar, balgam, konjunktival sıvıda saptanmış, dışkı

örneklerinde ise bulunamamıştır (5, 69). *E.hellem*, *E.bieneusi* ve *E.intestinalis*'e bronş epiteline, bronkoalveolar lavaj örneklerinde, nazal epitel ve akıntıda rastlanılmıştır. *E. hellem* infeksiyonu ile, görülen prostat infeksiyonunu da kapsayan geniş üriner sistem tutulumu, seksüel geçiş ihtimalini de düşündürmektedir (41).

Hayvanlardaki deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar Encephalitozoon türlerinin transplasental olarak anneden yavrusuna geçebildiğini göstermiştir. Konjenital olarak kazanılmış insan infeksiyonu ise henüz bildirilmemiştir (4).

E. bieneusi infeksiyonu olan hastalarda bağırsak tutulumunun sık, solunum yolu tutulumunun ise nadir olması, fekal-oral, oral-oral, aerosol inhalasyonu ya da kontamine yiyeceklerin alınması gibi farklı geçiş yolları olabileceği olasılığını artırmıştır. Ayrıca oküler infeksiyonların kaynağı da tam olarak bilinmemektedir. Direkt inokülasyon yolu ile ya da sistemik infeksiyon sonucu göz tutulumu olabileceği düşünülmektedir (19).

Hayvanlarda vertikal geçiş tanımlanmış olmasına rağmen insanlarda gösterilmemiştir. Microsporidia'nın solunum ve intestinal sistemde bulunması, idrar ve dışkı ile sporların atılması nedeniyle horizontal geçişin olabileceği düşünülmektedir. Risk faktörleri arasında intravenöz ilaç kullanımı, homoseksüellik, yüzme havuzları ve meslek gereği su ile temas yer almaktadır. İnsanları enfekte eden birçok microsporidia türünün hayvanları da enfekte edebilmesi zoonotik geçiş olasılığını kuvvetlendirmiştir (18, 19, 70-74).

Microsporidiaların sporları dış ortama oldukça dayanıklıdır ve suda uzun süre canlı kalabilir. Ayrıca çok küçük oldukları için su filtrelerinden de geçebilirler. Enfekte hayvanın idrarı ve dışkısıyla atılan parazit, suları kontamine edebilir. Bu durum mikroorganizmaların sudan bulaş özelliği ile ilgili varsayımları destekler niteliktedir (19). Bursseau ve ark. da (75) 2005 yılında parazitin sporlarının nemli toprakla bulaşabildiğini bildirmişlerdir.

John ve ark. (76) çalışmalarında microsporidiaya karşı klor ve ozonun serbest klordan daha güçlü bir dezenfektan olduğunu göstermişlerdir. Çalışmada kullanılan ozon değerlerine göre *E. intestinalis*' in ozona karşı *E. coli* ve diğer virüslere göre

daha dayanıklı fakat *Cryptosporidium* ookistinden daha hassas olduğunu saptamışlardır.

2.8. Microsporidiosisde humoral ve hücrel immunité

Hayvanlarda yapılan deneylerde infeksiyon sonucu serolojik cevap geliştiği ve parazite özgü antikor yoğunluğu ile patolojik bulgular arasında ilişki olduğu görülmüştür. Ancak her yüksek titrede antikor pozitifliği gösteren hayvanda parazit bulunmadığı, bazen antikor cevabının geçirilmiş bir infeksiyonda da olabildiği bildirilmektedir (2, 4).

Antikor varlığının tek başına korunmayı sağlamadığı ancak farelerde bazı antikorların in vitro şartlarda, makrofajların paraziti öldürmesini sağlayan opsonize edici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. HIV infeksiyonu gibi hücrel immün yetmezlik durumlarında ise latent microsporidial infeksiyon ortaya çıkabilir. İnsan microsporidiosisinde humoral immün cevap iyi aydınlatılmamıştır. Ancak microsporidiya özgül antikorların tek başına koruyucu olmadığı saptanmıştır (41).

2. 9. Microsporidiaların Biyokimyası

Microsporidia türlerinin endosporunda ve ekzosporunda kitin tanımlanmıştır. Ekzosporunda bulunan kitin insan makrofajlarında kitin bağlayan reseptöre bağlanabilir. Böylece parazit makrofajlar aracılığıyla konakta yayılabilir. Microsporidia sporlarındaki kitinolitik aktivitenin, spor duvarının olgunlaşma sürecinde ve ekstraksiyon esnasında, polar tüpün gelişiminde rol oynayabileceği bildirilmiştir. *E. cuniculi* ve *E. intestinalis* sporlarının kitinolitik aktivitesinin, 80 °C'de 10 dk. veya 55 °C'ye 20 dk. kitin hidrolizatla inkübasyon edildiğinde bloke edilebildiği saptanmıştır. Yapılan çalışmada selüloz aktivitesine ise rastlanılmamıştır (77).

Franzen ve ark.nın (78) bildirdiğine göre Didier ve Shaddock ve Didier LPS ve L arginine bağımlı mekanizma tarafından oluşan INF- γ ve peritoneal makrofajlar tarafından sağlanan reaktif nitrojenin, *E. cunuculi*'nin öldürülmesine katkıda bulduklarını göstermişlerdir. Birçok hücre içi organizma sinyal aktarımı ile makrofaj aktivasyonunu durdurabilir. Nitrik oksit ve mikrosporidia tarafından oluşan solunum çıkışı yanıtının şekillenmesi mikrosporidyanın makrofaj içinde henüz

bilinmeyen bir mekanizma sayesinde yaşamasına katkı sağlayabilir. Nitrik oksit makrofajlarda INF - γ ve TNF- α oluşumunu uyardığı ve TNF- α hücre içi patojenlere karşı fagositoz ve hücre içi öldürmeyi destekleyerek savunmada önemli rol oynadığı bilinmektedir.

Franzen ve ark. (78) çalışmalarında monosit türetimli farklı mikrosporidialı insan makrofajlarında sitotokinler ile nitrik oksit miktarı ölçülmesini amaçlamışlar ve mikrosporidialarla makrofajlarının stimülasyonundan sonra TNF alfa ile INF - γ de bir artış gözlemişlerdir. Fakat sitokin düzeyleriyle hücre içi sporların sayısı arasında net bir korelasyon saptamamışlardır. Aynı çalışmada, makrofajlar microsporidia sporları ile infekte edilmiş ve bunun sonucunda IL-10 düzeyinde artış olduğu saptanmıştır. Parazitin makrofaj içinde yaşamını sürdürebilmesi için koruyucu bir mekanizmanın olduğu sonucuna varmışlardır.

2.10. Patogenez

Uzun süren bir konak - parazit etkileşimi sonucunda, çoğu memelide latent ya da hafif semptomatik infeksiyon şeklinde, düşük patojenitede microsporidial infeksiyon oluşmaktadır. Memelilerde gözlenen Encephalitozoon infeksiyonlarında aktif bir immun cevaba rağmen, parazitler konak hücrelerinde kalırlar. Parazitin çoğalması ve immun cevap arasında denge olduğu sürece infeksiyon latent olarak kalır (3).

Enterocytozoon ve Pleistophora türleri az sayıda dokularda gözlenirken, Encephalitozoon türleri çoklu organ sistemlerini infekte edebilir. Bu organlarda yangısal cevabın genellikle bulunmadığı, klasik mikrogranülomlar gözlemlendiği ifade edilmiştir (3).

İnsanlarda en çok görülen microsporidial infeksiyon *E. bienersi*'ye bağlı olarak oluşurken ince bağırsak enterosit villuslarının infeksiyonu villus duyarsızlığı, kript hiperplazisi, infekte villus hücrelerini nekrozu ve intraepitelyal lenfositlerin artışıyla karakterizedir (3, 39).

E. bienersi infeksiyonlarının yalnız ince bağırsaklarda sınırlı kalmayıp, safra kanalı ve kesesine geçerek sklerozon kolanjit oluşturduğu ve bunun yanında nazal,

bronşiyal ve sinüs epitelyumuna yerleşerek rinosinüzite neden olduğu saptanmıştır (3).

Encephalitozoon ve *Septata spp.* AIDS'li hastalarda konjunktiva, kornea, burun, epitel, böbrek, periton ve karaciğer dokularında tespit edilmiştir. Burada *E. cuniculi* sık olarak görülürken, *E. hellem* yeni tanımlanmış olmasına rağmen, AIDS'li hastalarda gittikçe artan bir oranda saptanmaktadır. Morfolojik olarak *E. cuniculi*'ye benzemekle birlikte biyokimyasal ve antijenik olarak farklı bir yapıya sahiptir. İlk olarak süperfisial kornea ve konjunktival epitelyumda tanımlanan *E. hellem*'in, bugün nazal epitelyum, böbrek ve diğer dokuları infekte edebileceği bilinmektedir. Yapılan bir araştırmada bir hastanın bronkoalveolar lavaj ve transbronşiyal biopsi örneklerinde etyolojik ajan olarak *E. hellem* saptanmıştır (3).

Oküler microsporidial enfeksiyonlar patolojik olarak stromal veya epitelyal olarak sınıflandırılmıştır. Patogenez hastanın immün durumuna göre değişmektedir. İmmün yetmezliği olmayan kişilerde Nosema ve benzeri organizmalar korneal stroma derinliklerinde sporları ile beraber fagositik hücre içinde ve serbest olarak gösterilmiştir (5, 41).

2. 11. Klinik belirtiler

2. 11. 1. Sindirim Sistemi İnfeksiyonları

E. bienensi, *E. cuniculi* ve *E. intestinalis* (*S. intestinalis*) sindirim sistemi enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Son zamanlarda Nosema benzeri organizma ile de enfeksiyon bildirilmiştir (2-4, 79)

E. bienensi'nin enfeksiyon bölgesi ince bağırsakların enterositleri olup, Cryptosporidial ishalden daha hafif seyirlidir. En belirgin semptomları kronik ishal, anoreksi ve kilo kaybı şeklinde gözlenmiştir. İshal, şekilsiz ve sulu dışkılama şeklindedir, dışkıda kan veya lökosit bulunmaz. Dışkılama sayısı gündü 20 veya daha fazla olabilir. *E. bienensi* enfeksiyonlarında ayrıca abdominal ağrı, bulantı, kusma ve ateş ile birlikte malnütrasyon görülebilmektedir. Tüm bu semptomlara parazitin sklerozan kolanjit veya kolesistite yol açtığı ayrıca pulmoner tutulmuşta öksürük ve dispnenin de görülebileceği bildirilmiştir (18, 80-82).

E. bienewsi ve *E. intestinalis* bağışıklık sistemi bozuk kişilerde süregen, inatçı sürgün, ateş, halsizlik, iştahsızlık, bulantı ve kilo kaybı ile karakterize olan hastalık oluştururlar. Yalnız, bu belirtilerin başka etkenlere bağılı olarak gelişebileceği de unutulmamalıdır. Ek olarak D- ksiloz ve yağ absorpsiyonu bozulur. Malabsorpsiyon görölür (9, 18, 39, 80). İşhal aralıklarla görölür ve aylarca sürebilir. Hastalar sıklıkla yemek yemekte isteksizdirler ve uykusuzluktan şikayet edebilirler (18, 82). Bazı hastalar aralıklı olarak işhal olabilirler bir kısmı ise paraziti apotojen olarak vücutlarında bulundururlar (83, 84). Kronik işhali olan daha önceden enterik patojenleri negatif olan hasta gruplarında *E. bienewsi* %7 ile 50 arasında bulunmuştur (18, 85).

Safra sisteminin *E. bienewsi* infeksiyonunda ise kolesistit olsun veya olmasın AIDS bağılantılı *Cryptosporidium spp.*'de açıklanamayan bazı kolanjiopatilerin etkeni olduğu bildirilmiştir (18).

E. bienewsi'nin sindirim sistemi dışına yayılması çok nadirdir. Ancak sindirim sistemi lamina propria hücrelerinde (86), bronşoalveolar lavaj sıvısında, transbronşiyal biopsi örneklerinde ve HIV bulaşmış hastaların nasal sinüslerinde saptanmıştır (18, 87, 88).

Encephalitozoon spp'in sindirim sistemi belirtileri *E. bienewsi*'ye benzer şekildedir, *E. intestinalis* kilo kaybına ve kötü emilimli bir işhale neden olur (18, 89, 90). İntestinal infeksiyonların yanı sıra bu parazitler, safra sistemi ve safra kesesine ulaşarak kolanjit ve kolesistite neden olabilirler (91). Yayılmış infeksiyonlar düzenli meydana gelir ve böbrekleri içine alan üriner sistemin ağır infeksiyonlarını da içerirler (18, 89). Tedavi edilmeyen *E. intestinalis*, bağırsak infeksiyonu sonucunda delinmelere ve peritonite yol açabilir (92).

E. cuniculi sadece arasıra gastrointestinal sisteme bulaşır ve insanlardaki patojenitesi bilinmemektedir. Franzen ve ark. (93) gastrointestinal sistemi içeren *E. cuniculi* infeksiyonu yayılmış bir AIDS hastası tanımlamışlar ve eşlik eden başka gastrointestinal belirtiler gözlemlememişlerdir. Weber ve ark. (94) *E. cuniculi* yüzünden yayılmış infeksiyonlu ikinci bir hasta tanımlamışlardır ve bu hastanın hiç

gastrointestinal belirtisi olmamasına rağmen dışkı örneklerinde mikrosporidia sporları bulunmuştur.

HIV ile enfekte olmamış kişiler arasında *Encephalitozoon spp*'li intestinal enfeksiyonlu yalnız 3 vaka rapor edilmiştir (18).

Nosema benzeri mikrosporidium ise AIDS li bir hastanın dışkısında belirlenmiş ve kısmen sindirim sistemi bağ doku hücrelerinde yerleştiği bildirilmiştir. Bu durum ise gerçek bir enfeksiyondan çok tesadüfi bir bulguya dayandırılmıştır (79).

2. 11. 2. Hepatit, Pankreatit ve Peritonit

HIV enfeksiyonunda hepatit ve peritonitte genellikle etken *E.cuniculi* iken, sistemik enfeksiyonların *E.hellem*, *E.cuniculi* ve *E.intestinalis*'in olabildiği bildirilmektedir (41, 69, 95-97).

Karaciğer ve pankreasın da yer aldığı birkaç organ sistemini içine alan, yayılmış bir *T. antopophtera* enfeksiyonu, 8 yaşındaki HIV enfeksiyonlu felçli ve serebral lezyonlu bir kızda rapor edilmiştir (18, 98).

2. 11. 3. Göz İnfeksiyonları

Sindirim sistemi enfeksiyonlarının yanı sıra, gözle ilgili olgular da insanlardaki mikrosporidiosisin en yaygın olduğu enfeksiyonlardır (99, 100). Ayrıca *Microsporidium ceylonensis* immüsitesi yeterli kişilerde korneal stroma enfeksiyonunda, korneal skarda, vaskülarizasyonda ve görme keskinliğinin azalmasında etken olarak saptanabilmektedir. *Microsporidium ocularum* enfeksiyonunda ise gözde iritasyon, bulanık görme ve korneal ülser meydana gelebilir (41).

Encephalitozon, *E. cuniculi* ve *E. hellem* enfeksiyonlarında ilk ve en sık görülen klinik şekil keratokonjunktivit olup, gözde yabancı cisim hissi, aşırı gözyaşı, göz ağrısı azalan görme keskinliği ve fotofobi gibi belirtiler gösterir. Göz muayenelerinde diffüz yüzeyel benekli keratopati gözlenir (41, 42, 56, 99). Ayrıca sağlıklı kişilerde keratit etkeni olarak korneal stromada parazite rastlanılmış ve *N.corneum* adı verilmiştir. Bir

diğer hastanın korneal biyopsi materyalinde de rastlanılmış ve *N. ocularum* olarak isimlendirilmiştir (41).

N. corneum, *V. cornea*, *N. ocularum* ve *T. hominis*'in etken olduğu göz infeksiyonları da bildirilmiştir (100-106).

2. 11. 4. Sinüzit

İnsan microsporidia enfeksiyonunda yaygın bir klinik tablodur. Her üç *Encephalitozoon* türünün HIV pozitif hastalarda rhinosinüzite neden olduğu bildirilmiştir (18, 93). *E. bienewisi* ve *T. hominis* şiddetli rinit ve genizdeki poliplerden şikayetçi HIV enfeksiyonlu hastaların sinus biyopsilerinde saptanmıştır (18, 106).

2. 11. 5. Akciğer enfeksiyonları

Microsporidialı akciğer enfeksiyonları diğer sistemlere göre daha az rapor edilmiştir (18). HIV enfeksiyonlu hastalarda alt solunum yollarının enfeksiyonu asemptomatik olabileceği gibi zatüve veya bronşiolitle de ilişkilendirilebilir (18, 107).

2. 11. 6. İdrar Yolu İnfeksiyonları

Araştırmacılar *E. cuniculi* enfeksiyonunun özellikle, böbrek yetmezliği olan ve çokluorganla ilişkili HIV ile infekte hastalarda göz önünde bulundurulmasının gerekli olduğunu bildirmişlerdir (56).

Ureter enfeksiyonları, yayılmış *Encephalitozoon* enfeksiyonlu HIV bulaşmış hastalarda genel bir bulgu olup hastalarda, hematüri, sistit, intestinal nefritler, renal rahatsızlık veya asemptomatik belirtiler gösterir (18).

2. 11. 7. Myozitis

Microsporidiaların kasa yerleşerek kas güçsüzlüklerine yol açtığı ve yerleştiği bölgeye özgü belirtiler verdiği bildirilmiştir (4). *Pleistophora*, *Nosema* ve *T. hominis*'in neden olduğu enfeksiyonlarda, hastanın kas hücrelerinde lenfosit, plazma hücreleri ve histiosit birikimine bağlı olarak inflamatuvar reaksiyon sonucu, kaslarda

fibrozis geliştiği gözlenmiştir (2, 56, 107-109). Ayrıca hastalarda ateş, miyosit, miyalji ve ilerleyen zayıflama şikayetleride gözlenebilir (106, 110-115). Kalp kasına bile yerleşebildiği bildirilmiştir (116).

2. 11. 8. Serebral infeksiyonlar

Encephalitozoon spp.'lerin beyin bölgesine yerleşerek görsel ve bilişsel zayıflık, baş ağrısı, kusma, spastik kasılmalar ve ani felçler, uykusuzluk gibi sinir sistemine özgü belirtiler gözlemlendiği rapor edilmiştir (92, 117, 118).

2. 11. 9. Nadir Belirtiler

Microsporidialar nadir olarak üretra (8, 119), prostat (120), dil (121), kemik (122) ve deriye (18) yerleşebilir.

2. 11. 10. Sistemik infeksiyonlar.

Encephalitozoon, Trachipleistophora ve Pleistophora cinslerine ait türler hastalarda genellikle yayılma eğilimlidirler. Sinüzit, keratokonjunktivit, hepatit, miyozit, peritonit, nefrit, ensefalit veya pnömoniye yol açabilirler (20, 106, 118). Bunların tüm vücuda yayılarak sistemleri etkileyebildikleri ve yerleştikleri bölgelere özgü belirtiler gösterdikleri bildirilmiştir (41, 123-125).

Georges ve ark. 1998 yılında HIV pozitif bir hastada çoklu organ tutulumlu bir olgu rapor etmişlerdir. Hastanın dışkı, duodenal biyopsi, geniz akıntısı ve balgamında parazite rastlamışlardır (44).

Nosemanın da vücuda yayılabildiğini gösteren olgular bulunmaktadır (18, 126, 127)

Türlerin yapmış oldukları infeksiyonlar genel olarak tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Microsporidia türleri, lokalizasyonlar ve patogenezi (1, 18).

Tür	Lokalizasyon	Patogenez
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	Generalize Karaciğer, beyin, böbrek	Hepatit(AIDS) Peritonit(AIDS) Konvülsiyonlar
<i>Encephalitozoon hellem</i>	Kornea ve konjunktiva Epiteli, akciğer,böbrek, Burun epiteli	Keratopati Bronşit, Pnömoni, Nefrit, Üretrit, Sistit, Nazal Polipozis (AIDS)
<i>Encephalitozoon sp.</i>	Burun, kornea ve konjunktiva epiteli	Bilateral konjunktivit ve nazal obstruksiyon (AIDS)
<i>Encephalitozoon (Septata) intestinalis</i>	Bağırsak duvarı epiteli, Lamina propria ve makrofajlar ince bağırsak, böbrek, safra kanalları	Enterit, kronik ishal, nefrit, kolesistit
<i>Nosema connori</i>	Generalize	Fulminan, öldürücü
<i>Nosema corneum (Vittaforma corneae)</i>	Korneal stroma	Üriner sistem infeksiyonu, Keratit,
<i>Nosema ocularum</i>	Korneal stroma	Korneal ülser, İrritasyon, görme bozukluğu (AIDS)
<i>Microsporidium ceylonensin</i>	Korneal stroma	Korneada skar Granulasyon
<i>Microsporidium africanum</i>	Korneal stroma	Unilateral nekrotizan Keratit, perfore Korneal ülser
<i>Entorocytozoon bieunensi</i>	İnce bağırsak enterositleri, papilla, ekstrahepatik safra kanalları, akciğer	Kronik sekretuar İshal, sklerozan Kolenjit, bronşit Pnömoni, rinosinuzit (AIDS)
<i>Pleistophora sp.</i>	İskelet kas lifleri	Miyozit
<i>Brachiola algerae</i>	Deri, kas, göz	Konjiktivit, deri ve kasta infeksiyon
<i>Trachipleistophora anthropophthera</i>	Kas	Ensefalit, miyozit, yaygın infeksiyon
<i>Trachipleistophora hominis</i>	Kas göz, burun	Miyozit, keratokojuvit, sinüzit, rinit

2.12. Tanı

Parazit sporlarının, çevre koşullarına oldukça dirençli olduğu, %10'luk formol ile tespit sonrasında bile canlılıklarını korudukları saptanmıştır. Bu nedenle dışkı ya da duodenal drenaj örnekleri taze materyal şeklinde veya %5-10 formol içinde laboratuvara gönderilebilir. Ayrıca taze dokular serum fizyolojik içinde ya da antibiyotikli besiyeri içinde saklanabilir. Fakat hücre kültürü ya da moleküler inceleme için taze materyalin olması gerekmektedir. Sistemik infeksiyonlarda örnek olarak idrar önerilmektedir. Diğer vücut sıvıları (balgam, bronkoalveolar lavaj, nazal akıntı veya BOS), konjunktiva sürüntüsü, kornea kazıntısı veya doku örneği de incelenebilir (19).

Kas ve karaciğer gibi biyopsi örnekleriyle tanı konulabilirse de, en elverişli bölge ince bağırsaklardır. Mide, kolon, rektum gibi diğer gastrointestinal bölgelerden alınan biyopsi örnekleri ile ince bağırsak örnekleri kıyaslandığında organizmalar hiç bulunmaz ya da nadirdir (1,2).

Kronik ishalli ve CD4 sayısı 100 mm^3 'ün altındaki hastalarda microsporidial infeksiyonların öncelikle düşünülmesi ve araştırılması önerilmektedir (2). Microsporidiaların tanısında kullanılabilen teknikler Tablo 3'de verilmiştir (4).

Tablo 3: Microsporidiamın Tanısında Kullanılan Teknikler (4)

Teknikler	Rutin kullanım için Önerilenler	Düşünceler
LM		
Dışkı örnekleri		
Chromotrope boyası	++	Güvenilir ve yapılması kolaydır.
Giemsa	-	Parazitin sporlarını diğer elementlerden ayırmak zordur.
Floresan boyalar	+	Calcofluor ve Uvitex 2B tanı için hassastır ancak spesifik değildir.
IF tekniği	-	Anti-Enterocytozoon antikorları çapraz reaksiyon verebilir
Vücut sıvıları		
Chromotrope boyası	++	Güvenilir ve yapılması kolaydır.
Giemsa	+	Duodenal aspirasyonda, idrarda, göz sıvısında, BAL ve CSF kullanımı hassas olup spesifik değildir.
IF tekniği	++	Anti-Enterocytozoon'nun tanısı için önerilmez ancak anti-Encephalitozoon için kullanılabilir.
Sürüntüler		
Giemsa	+	Hassas olmayıp bazı araştırmacılar tarafından kullanılmıştır.
Parafin bloklardaki Doku örnekleri		
Hematoksilen eosin	+	Hassas olduğu bildirilmiştir.
PAS	+	Enterocytozoon için kullanılmamasına rağmen Nosema ve diğer türler için önerilir.
Modifiye gram boyası	++	Hassas olup, standarde edilmemiştir.
Giemsa	-	Hassas değildir.
Warthin-Stary	+	Hassas olup, standarde edilmemiştir. Umut vericidir.
Chromotrope	++	Güvenilirdir, ancak epidemiyolojik çalışmalar için önerilmemektedir.
IF	++	Anti-Enterocytozoon için önerilmez ancak anti-Encephalitozoon için kullanılabilir.
Plastik bloklardaki doku örnekleri		
Toluidine	+	
Methylene blue azure II-fuchsn	+	
EM		
Vücut sıvıları	+	Spesifiktir ancak hassasiyeti bilinmiyor. Türlerin sınıflandırılması için kullanılabilir.
Doku örnekleri	++	Altın standarttır. İdrar ve dışkı örneklerinde hassaslığı azalabilir.
Serolojik antikor testleri		
Encephalitozoon serolojisi	-	Hassaslığı ve spesifitesi bilinmiyor.
Enterocytozoon serolojisi	-	Hassaslığı ve spesifitesi bilinmiyor.
Kültürü	-	Encephalitozoon ve Nosema spp.'nin hücre kültürleri yapılmıştır. Ancak Enterocytozoon için yeterli değildir.
PCR	-	Laboratuvar araştırmaları dışında kullanışlı değildir.

LM: Işık mikroskobu, **EM:** Elektron mikroskobu, **IF:** Immunofloresans **BAL:** Bronşoalveolar lavaj, **CSF:**

Serebrospinal sıvı, **PAS:** Periodic Acid Schiff,

- rutin kullanım için önerilmemektedir, + kullanılabilceği rapor edilmiştir.

+ + araştırmacılar tarafından kullanılan testlerdir.

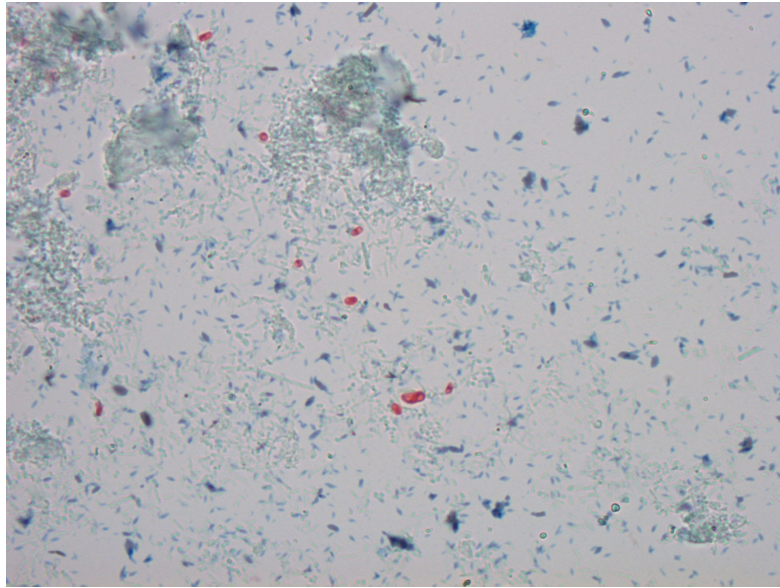
2.12. 1. Dışkı Örneklerinin ışık ve fluorasan mikroskopisiyle incelenmesi

Işık mikroskobu tanıda etkili olmasına karşın cins ve tür düzeyinde ayırım yapılmasını sağlamaz. Parazit hücre içinde ya da dışında oval, reflaktif cisimcikler olarak görülebilirler. Gram ile boyanan örneklerde Gram pozitif boyanan sporlar, maya hücrelerine benzer bir görünüm sergilerler. Sporlar, pembemsi-kırmızı renkte boyanması ve tomurcuklanma göstermemesi ile mayalardan ayrılır. Kesin ayırım için %1'lik aside dirençli boyama ya da Weber'in Modifiye Tricrome Boyama (MTS) ile tanının doğrulanması gerekir (33, 47).

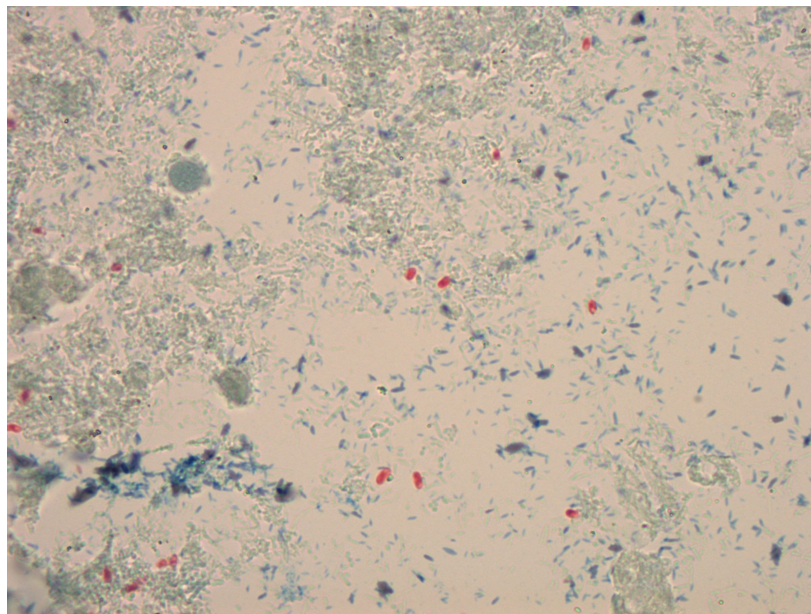
Modifiye Trichrome Boyası (Weber'in Trichrome Boyası, Chromotrope 2R boyası)

Özellikle dışkı örneklerinin boyandığı bir tekniktir. Boyanın farklı modifikasyonları yapılmaktadır. Bu teknikte sporun duvarı parlak pembe renge boyanır (Resim 1,2). Yöntem aracılığıyla 0.8-1.4 µm olan *E. bienersi*, 1.5-4 µm olan *B. algerae*, *Encephalitozoon spp.*, *V. corneae* ve *Nosema spp.* türleri görülebilir (4, 25, 9, 128). Araştırmacılar MTS yönteminin rutin tanıda kullanılabileceğini bildirmişlerdir (53, 129, 130).

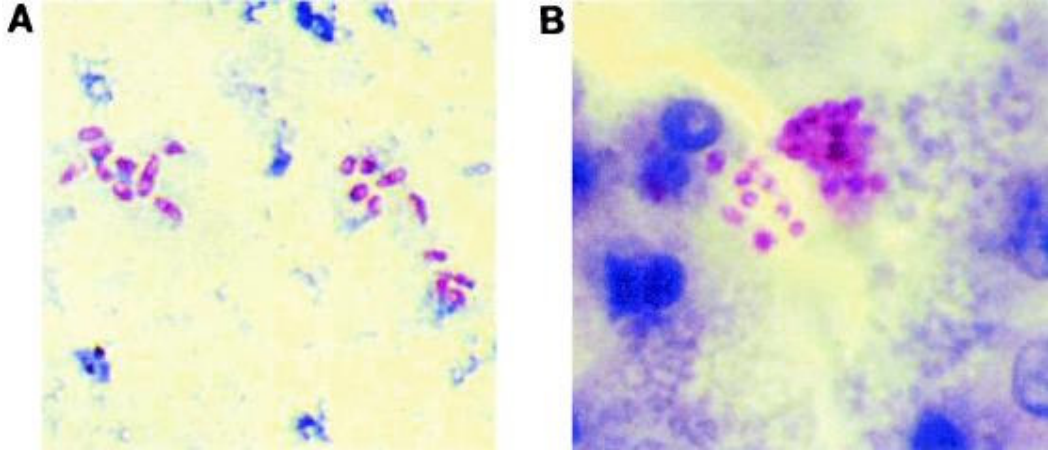
Ayrıca Ryan ve ark. boyada fast green yerine aniline blue kullanmışlar ve bu yöntem ile parazitlerin daha iyi boyandığını tespit etmişlerdir (Resim 3,4) (33).



Resim 1: *Encephalitozoon spp.* 100X (131).



Resim 2: *Encephalitozoon spp.* 100X (131)



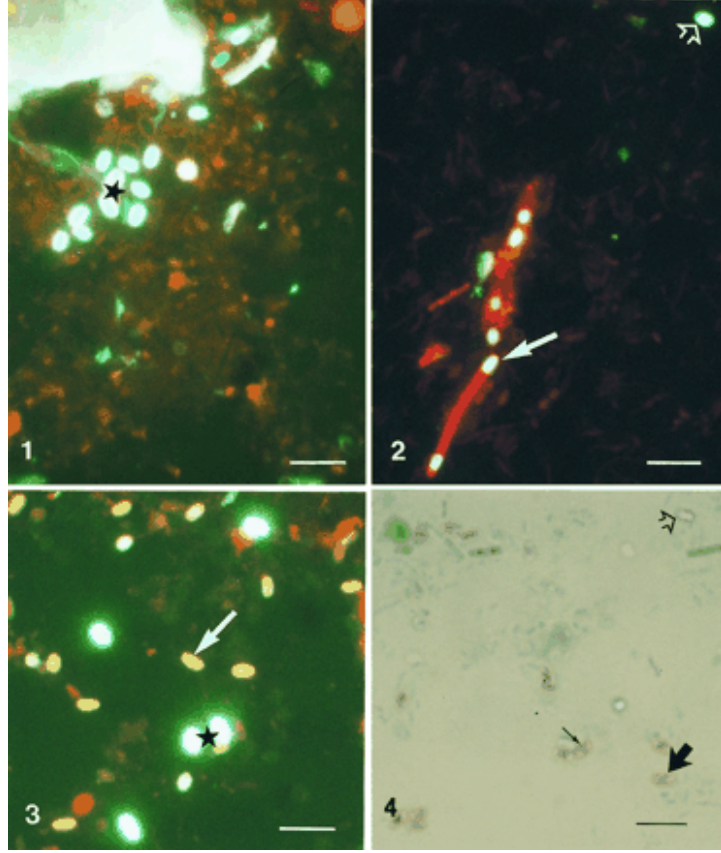
Resim 3,4: Microsporidia sporları (33)

Floresan boyalar

Başlıca boyalar Calcofluor White, Fungi Fluor ve Uvitex 2B olup bunlar sporları boyarlar. Uvitex 2B ve Calcofluor spor duvarının endospor tabakasındaki kitine bağlanarak mavi-beyaz floresans verir. Kitin içeren diğer mikroorganizmalar, özellikle mantar sporları da bu boyalar ile boyandıklarından, özellikle ayırıcı tanının önemli olduğu ve microsporidium kistlerinin 5 μm 'den küçük olduklarının unutulmaması gereklidir. Microsporidiumlar ile mantarların farklı şekillerde boyandıkları yeni boyalar ile ilgili çalışmalar ise devam etmektedir (2, 25, 41).

Microsporidiaların canlı olup olmadığını anlamak için Calcofluor M2R ve Sytox green boyaları kullanılabilir. Canlı sporlar Calcofluor M2R ile 395-415nm dalga boyunda tukuaz-mavi oval şekilde görülürken ölü sporlar beyaz-sarı rekte gözlenirler. Sytox green ile boyamada ise canlı sporlar görüntü vermezken ölü sporların içerisine boya rahatlıkla girebilir ve 470-490nm dalga boyunda parlak sarı-yeşil renkte floresans verir (132).

Araştırmacılar floresan boyaların hızlı ve kolay olduğunu ayrıca MTS ile paralel boyanmasının da tanıya duyarlılığı artırdığını bildirmişlerdir (29, 54, 80, 133, 134,).



Resim 5. Calcofluor ve MTS ile boyanan sporlar

- 1 : (☆), mavimsi parlak görülenler Calcofluor ile boyanmış sporlar
 2: (⇨) tek olan spor , (→) kırmızı boyanmış olanların içinde olanlar bakteri
 3: (☆) sporlar (⇨) sarımsı boyananlarda sporlar
 4: MTS ile boyanmış boş spor (⇨), (⇨) ve (⇨) normal sporlar (133).

Warthin-Starry (WS)

E.bieneusi ile encephalitozoon benzeri protozoonların tanısında kullanılır ve duyarlılığı oldukça yüksek bir tanı yöntemidir. Bu yöntem sonuçlarının EM sonuçlarıyla %100 uyum gösterdiği tespit edilmiştir (50, 135).

Field ve ark. HIV pozitif 180 Hastanın biyopsi örneklerini WS ile boyamış ve TEM ile paralel sonuçlar elde etmişlerdir. Araştırmacılar WS boyasının parazitin tanısında duyarlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir (50).

Asit-Fast –Trichrome Boyası

Microsporidiumun tanısında kullanılan yöntemlerden biri olup, Reisner ve ark. (136) *Cryptosporodim parvum* ve microspordia tanısında tek bir yöntem olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

2.12.2. Histolojik İncelemeler

Sürüntülerde Uvitex 2B veya Calcofluor'un, kesitlerde de Calcofluor white, MTS, Giemsa, Manson's Trichrome, Acridine orange, Gomori's methamine, %1'lik asit fast ve MTS boyaalarının kullanılabildiği belirtilmiştir (3, 33, 47, 137).

2.12.3. Serolojik tanı

Microspordia tanısında enzyeme-linked immunosorbent assay (ELISA), Western Blot, İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT), İmmün floresan ve immünoperoksidaz yöntemleri kullanılabileceği bildirilmiştir (25, 33, 41, 47, 67, 138).

Seroepidemiolojik çalışmalar için uygun olan bu testlerde microsporidiaya karşı tespit edilen antikorların yeni bir infeksiyonu mu, latent bir infeksiyonu mu, çapraz reaksiyonu mu yoksa poliklonal B hücre aktivasyonunu mu gösterdiğinin ayırt edilmesinde güçlükler bulunduğu belirtilmiştir (33, 139). Monoklonal antikor testi ise *E. bienensi*'nin tanısında Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve IFAT'a göre daha hassas bulunmuştur (140).

2.12.4. Flow sitometre

Flow sitometri (FCM) ile microsporidiaların tanısı yapılabilmektedir. Franzen ve ark. (141) 2004'de kültürü yapılmış olan parazitleri FCM ile tespit etmişlerdir. Flow sitometri yönteminin kullanımının kolaylığı ve duyarlı olması nedeniyle araştırmalarda kullanılabileceği vurgulamışlardır.

2.12.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Moleküler yöntemler, taksonomik sınıflama, filogenetik çalışmalar ve özellikle klinik örneklerden microsporidia tespiti ve tür ayrımı için önem taşımaktadır (18, 29).

B. algerae, *E. bienewisi*, *E. intestinalis*, *E. hellem*, and *E. cuniculi*'nin PCR ile ayrımı yapılmıştır (25, 61,133, 142, 143).

2.12.6. Elektron Mikroskopu

Yöntemin özgüllüğü yüksek olup duyarlılığı düşüktür. Ayrıca yorucu ve uzun zaman gerektirmektedir. Transmission elektron mikroskopisi (TEM) ile parazitin polar filamenti tespit edilmektedir. Günümüzde TEM, moleküler yöntemlerin uygulanmadığı laboratuvarlarda hala tanımlamada kullanılan tür tayininde altın standart kabul edilen bir yöntemdir. TEM ile sporların yapısal özellikleri incelenerek, parazitin cins ve tür düzeyinde ayrımı yapılabilmektedir. Ancak *E.cuniculi* ve *E.hellem*'in ince yapısı EM altında bile birbirlerine çok benzediğinden ayırt edilmesi çok zordur (19, 25, 33, 47, 144-147).

2.12.7. Hücre Kültürü

İnsanları enfekte eden türlerin hepsi olmasa da bir kısmının kültürleri yapılmıştır. İnsanı enfekte eden birçok türün, *N. corneum*, *E.hellem*, *E.cuniculi*, *E.intestinalis*, *T. hominis* ve *V. corneae*'nin üretilmesinde hücre kültürleri kullanılır. Ancak *E.bienewisi*'nin uzun süreli kültürü yapılamamaktadır (8, 19, 42, 114,148).

E. cuniculi'nin idrar, bronkoalveolar lavaj, beyin ve balgam gibi örneklerle 13 izolat kültürü elde edilmiştir. İngiltere ve İtalya'dan birer izolat (149, 150), Amerika ve İspanya'dan 2'şer izolat (121, 151), İsviçre'den ise 7 izolat toplanmıştır (91, 152-154). De Groote ve ark. (120) kültürde elde etikleri parazitin TEM ile incelemelerinde bir çok gelişim evresini içeren bölünmemiş PV'ün varlığını göstermişlerdir.

E. intestinalis'in ise idrar, dışkı, balgam, burun mukozası, BAL sıvısı, duodenal aspirat ve biyopsiden olmak üzere 27 izolasyonu yapılmıştır (8).

2.13. Tedavi

Microsporidia infeksiyonlarının kesin tedavisi yönünde çalışmalar devam etmekte olup çeşitli vakalarda tedavi denemelerinin başarılı sonuçlar verdiğine dair yayınlar bulunmaktadır. Çalışmalarda metranidazol, albendazol ve itrikonazol ile tedavide başarılı sonuçlar bildirilmiştir (34, 56, 155, 156). Sinefungin, albendazol, ve fumagilin, nifedipin, azitromisin, atovaquone, kinakrin ve paromamisin ile in vitro tedavi denemeleri ise başarısız olmuştur (23, 41). Keratokonjunktivitlerde topikal fumagilinle semptomatik gelişim de sağlanmıştır (18, 157).

Bağışıklık sistemi zayıf hastalarda tedavideki başarı sınırlıdır. İlaç etkinliğini değerlendirmek için hayvan modellerinde in vitro çalışmalar yapılmakta ve bu çalışmalar *E. cuniculi*, *E. hellem*, ve *E. intestinalis*'i içermektedir (18, 126, 158, 159).

İnvitro çalışmalarda albendazol, fumagilin, 5 fluorourasil, siprofloksasin, oksibendazol ve propomadine ethionate'in hücre kültürlerindeki *E.cunuculi*'nin gelişimini durdurduğu saptanmıştır. Klorokin, peflosine, azitromisin, rifambutin ve thiabendazol ise yüksek konsantrasyonlarda kısmen etkili bulunmuştur. Aprinosid, metranidazol, minoksisilin, doksisisilin, itrakonazole ve difloromytronitin de tedavide kullanılmaması önerilmiştir. Çünkü mikrosporidia sporlarının üremesini engelleyen konsantrasyonlar, aynı zamanda kültürdeki hücreler için de zehirli bulunmuştur (158).

2. 14. Korunma (2, 4)

- Fekal –oral yolla bulaşma olabildiğinden kişisel hijyene önem verilmelidir.
- Konjuktivit ve diğer göz infeksiyonlarını önlemek için kirli ellerle gözlere dokunulmaması gerekmektedir.
- Ellerin temizliğine önem verilmelidir.
- Çeşitli vücut sıvılarında enfektif sporlar bulunabileceğinden, özellikle hastanelerde gerekli önlemler alınmalıdır.
- Solunum yolu ile de geçiş olabileceğinden balgamlarında spor tespit edilen hastalarda özel önlemler alınmalıdır.
- Sporların bulunabileceği yerlerin en az 30 dakika dezenfektanlarla (% 70 Etanol, %0.3-1 Formaldehit, %1 Hidrojen Peroksit, % 1 NaOH) temizlenmesi, enfekte maddelerin kaynatılması veya 120 °C 10 dk otoklavlanmasının etkili olduğu bildirilmektedir.

3. MATERYAL METOD

Araştırmanın evrenini, 2006 yılında Malatya ili ve çevresinden, sindirim sistemi şikayetleri ile İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi polikliniklerine baş vuran hastalar oluşturmuştur.

Araştırmanın örneklemini seçerken, Parazitoloji Anabilim Dalı'na gelen hastalar dikkate alınarak sindirim sistemi şikayeti olan bireylere ulaşma hedefi konmuş olup bu doğrultuda 2665 dışkı örneği incelenmiştir.

3. 1. Veri Toplama Aşaması

Araştırmaya başlamadan önce etik kurul raporu alınmıştır (Ek: 1). Çalışmanın bağımlı değişkeni olan Malatya ili ve çevresindeki bireylerde *Microsporidium spp.* epidemiyolojisinin belirlenmesi amacı ile anket formu geliştirilmiştir (Ek: 3). Ayrıca her hastaya hasta bilgilendirilme formu doldurulmuş ve imzalatılmıştır (Ek 2).

3.2 Anket Formunun Geliştirilmesi

Dışkı örneği alınması sırasında uygulanmak üzere *microsporidium* varlığı ile ilişkilendirilebilecek verilerin toplanması amacıyla bir anket geliştirilmiştir.

Anketi oluşturan maddelerin gerekçeleri;

a. Birçok parazitin görülme oranlarında cinsiyet rol oynamaktadır (160). Bu nedenle cinsiyet faktörü ile *Microsporidium spp.* arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

b. Parazitlerin pozitiflik yüzdesi ile konağın yaş durumu arasında ilişki bulunma oranının yüksekliği (160) dikkate alınarak, yaş faktörü ile *Microsporidium spp.* arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

c. Çalışmanın yapıldığı hastanenin bölge hastanesi olması nedeniyle deneklerin farklı bölgelerden gelmeleri ve bu durumun epidemiyolojik verileri etkileyip etkilemeyecekleri düşünülerek ikametgahları belirlenmek istenmiştir.

d. Parazitlerin alerjik reaksiyonlar oluşturabilmeleri nedeniyle (160) denek gurubunda genel vücut kaşıntısı ve allerji varlığı ile *Microsporidium spp.* arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

e. Araştırmacıların parazitini görülmesi ile ishal, karın ağrısı, ateş, bulantı kusma, iştahsızlık, nefes darlığı, üriner sistem infeksiyonu, kilo kaybı ve eklem ağrısı arasında bir ilişki olduğunu bildirmeleri (4, 18) doğrultusunda, bu şikayetlerle *Microsporidium spp.* arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

f. Parazit görülmesi ile kabızlık, halsizlik, dispepsi, makat kaşıntısı, eozinofili, salya, büyüme gelişme geriliği (BGG), obezite ve enüresis nokturna arasında bir ilişki olduğu bilgileri (160) göz önüne alınarak *Microsporidium spp.* ile de bir ilişkinin olabileceği düşünülmüştür.

g. Parazitin bazı hastalık gruplarında görülme yüzdesinin yüksek olduğu ile ilgili bilgiler (2, 4, 18) doğrultusunda, deneklerin kronik bir hastalığının olup olmadığı ve varsa ne olduğunun belirlenerek *Microsporidium spp.* arasındaki ilişkinin, değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3.3 Örnekler ve Verilerin Toplanması

Araştırmada kullanılan veri toplama araçları 01.01.2006-31.12.2006 tarihleri arasında sindirim sistemi şikayetleri ile İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Dahiliye, Genel Cerrahi, Hematoloji, Pediatri, İnfeksiyo Hastalıkları, Radyasyon Onkolojisi, Dermatoloji, Acil, Gastroenteroloji ve Dahiliye polikliniklerine başvuran hastalardan Parazitoloji Anabilim Dalına yönlendirilmiş olanlara uygulanmıştır. Hastalara dışkı toplama kapları verilmiş ve ishalleri olanların 3-4 çorba kaşığı, olmayanların ise bir ceviz büyüklüğündeki dışkı örneklerini kaba koyup ağzını sıkıca kapattıktan sonra 1 saat içinde Parazitoloji Laboratuvarı'na ulaştırmaları gerektiği açıklanmış ve anket uygulanmıştır.

Anket araştırmacı tarafından yapılmıştır. Ayrıca çalışmadaki tanıya yönelik veriler hastanın anemnezi esnasında hastadan ve hekiminden alınmıştır

Araştırmada incelenen microsporidiuma özgü Şikayetler, anket formunun ölçtüğü özelliklerle sınırlıdır.

Araştırmaya katılan hastaların kendilerine verilen anket formunu içtenlikle ve dürüst bir Şekilde cevapladıkları, ayrıca hazırlanan formun yeterli geçerlilik ve güvenilirliğe sahip olduğu varsayılmıştır.

3.4. *Microsporidium spp.* Tanısı İçin Kullanılan Yöntemlerin Geliştirilmesi

Ulaşılan kaynak bilgilerde Ülkemizde parazitin tanısına ve epidemiyolojisine yönelik bir çalışmaya rastlanılmadığından standarize edilmiş bir yöntem için Lynne S. Garcia (Santa Monica/California) ve Prof Dr. Rainer Weber'e (İsviçre Züriç Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Bölümü) ulaşılmış ve tanı için kullanılması düşünölen yöntemler ayrıntıları ile yazılarak önerileri istenmiştir. Her iki araştırmacıdan gelen öneriler doğrultusunda dışkı örnekleri için boyalar hazırlanmıştır.

Kullanılacak boya yönteminin hassaslığı için, pozitif örnekle paralel yapılması gerekliliği nedeniyle Rainer Weber'den pozitif dışkı örneği ve incelemede kolaylık sağlamak için boyanmış pozitif preparatlar istenmiştir (Ek:4). Toplanan örnekler pozitif örnekle paralel boyanmış, incelenmiş ve doğruluğunu test etmek amacıyla boyanan örneklerden seçilen pozitif, negatif ve Őüpheli 10 örnek Rainer Weber'e gönderilmiştir. Rainer Weber'den gelen sonuçların, çalışmada yapılan tespitlerle uyumlu olduğu görölmüş ve microsporidium tanısının konulabileceği kanaatine varılmıştır.

3.5. *Microsporidium spp.* Tanısı İçin Kullanılan Yöntemler

Örnekler önce formol eter sedimatasyon yöntemi ile çoklaştırılmış daha sonra dört farklı yöntem kullanılarak boyanmıştır.

3. 5. 1. Formol Eter Sedimantasyon Yöntemi (161).

Solüsyonlar

1. %10'luk Formol

Formaldehyde %35-40 (Ak kimya) 100 ml

Distile su 900 ml

2. Diethyl ether (Merck) direkt kullanılır

Yöntem

1. 1-1.5 gr taze dışkı 10ml %10'luk formol konulan plastik bir kap içinde iyice ezilmiştir. Fiksasyon işleminin tam olarak gerçekleşmesi için 30 dakika bekletilmiştir. Dışkı sulu olduğunda ise 5-6 ml örnek kullanılmıştır.

2. Süspansiyon süzgeç yardımıyla boş kaba boşaltılmış, sonra 15ml'lik konik santrifüj tüpüne konulmuştur.

3. Süspansiyonun üzerine 3ml eter eklenmiş ve tüpün ağzı baş parmakla iyice kapatıldıktan sonra kuvvetlice 30 sn çalkalanmıştır. Tüpün içinde basınç oluştuğundan arada parmak biraz gevşetilerek gazın çıkması sağlanmıştır.

4. Süspansiyon 500Xg'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.

5. Üst sıvı döküldükten sonra alttaki çökelti tek kullanımlık pastör pipeti yardımıyla lamlara çok ince bir şekilde yayılmıştır.

Kalan dışkı örneği ve sedimantasyondan artan çökeltiye %10'luk formol eklenmiş ve +4°C'de saklanmıştır.

3.5.2. Boyama Yöntemleri

3.5.2.1. Calcofluor boyama (133, 18)

Phosphate Buffered Saline (PBS)

NaCl (Merck no:K28713500)	8 gr
NaH ₂ PO ₄ 7H ₂ O (Merck no: K24242374)	1,15 gr
KH ₂ PO ₄ (Merck no: K997671)	0,2 gr
KOH (Merck no:B192112)	0,2 gr
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 1M'lık NaOH (Merck no:B190862) ile 7,2'ye ayarlanmıştır.

Evan's blue (Merck no: K25612469) PBS ile %5'lik hazırlanmıştır.

Fluorescent Brightener 28 (MP Biomedicals no: 158067) %10'luk KOH ile %0,5'lik hazırlanmıştır.

Yöntem

1. Sedimantasyon sonucu hazırlanan yaymalar kuruduktan sonra Metil alkol (Metanol) %≥99.9 (Carlo Erba) ile 10 dk. tespit edilmiştir.

2. Örneklerden fazla alkol uzaklaştırılmış ve havada kurutulmuştur.

3. Calcofluor 3 dk.

4. Distile su ile yıkama 1-2sn

5. Evans blue 30sn

6. Distile su ile yıkama 1-2sn

Lamlar kuruduktan sonra immersiyon yağı damlatılmış Carl Zeis axioplan 2 imaging floresans mikroskopunda 365 nm dalga boyunda incelenmiştir.

Her boyama pozitif bir kontrolle paralel olarak boyanmıştır.

3.5.2.2. Modifiye Trichrome Boyası (Weber'in Trichrome Boyası, Chromotrope 2R boyası) (4)

Chromotrope Boya Solüsyonu

Chromotrope 2R (Sigma no:C-3143)	6.0 gr
Fast green (Carlo Erba code no 491391)	0.15 gr
Phosphhotungstic Acid Hydrate(Aldrich no:22.420-0)	0.7 gr

Karışıma 3ml glacial acetic acid (Merck) eklenmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra 30 dk bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 100 ml distile su eklenmiş ve iyice karıştırılarak homojen bir karışım elde edilmiştir.

Acid Alkol

%90 etil alkol

Ethanol absolute %99,8 (Carlo Erba)	900 ml
Distile su	100 ml

Karışım iyice karıştırılmıştır.

Yukarıda hazırlanan solüsyondan 995.5 ml alınmış ve 4.5 ml glacial acetic acid (GAA) eklenmiştir.

Yöntem

Yaymalar kurduktan sonra

1. Methanol 10 dk
2. Havada kurutulur
3. Chromotrope staining 90 dk
4. Acid alkol 8 sn ve daha az
5. %95'lik etanol 8 sn
6. %95'lik etanol 10 dk
7. %100'lük etanol 10 dk
8. %100'lük etanol 10 dk
9. Xylene (carlo Erba) 10 dk

Bekletilmiş ve son şaleden de çıkardıktan sonra kuruması beklenmiş, immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskobunda 100'lük objektifte incelenmiştir

3. 5. 2. 3. Acid Fast-Trichrome Boyası (136)

1. Chromotrope Boya Solüsyonu

Chromotrope 2R (Sigma)	6.0 gr
Fast green (Carlo Erba code no 491391)	0.15 gr
Phosphhotungstic Acid Hydrate (Aldrich no:22.420-0)	0.7 gr

Karışıma 3 ml glacial acetic acid (Merck) eklenmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra 30 dk bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 100 ml distile su eklenmiş ve iyice karıştırılarak homojen bir karışım elde edilmiştir.

Karışımın pH'sı 2 N'lik HCl (Merck) ile 2.5'a ayarlanmıştır.

2. Acid Alkol

%90 etil alkol

Ethanol absolute %99,8 (Carlo Erba)	900 ml
Distile su	100 ml

Karışım iyice karıştırılmıştır.

Yukarıda hazırlanan solüsyondan 995.5 ml alınmış ve 4.5 ml glacial acetic acid eklenmiştir.

3. Carbol fuchsin boya solüsyonu

Basic fuchsin (oxoid no: BR050A)	4 gr
%95 Ethanol	25 ml

Fuchsin havan ile ezilerek yavaş yavaş etil alkol eklenmiş ve karışıma 56°C'de eritilmiş Phenol extra puredan (Riedel-de haen) 8 ml konulmuştur. Bunun üzerine 100 ml distile su eklenmiş ve karışım 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra süzülüp kullanım için hazır hale getirilmiştir.

Yöntem

Sedimentten alınan örnekler yayılmış ve kuruması beklenmiştir.

1. Methanol 10 dk
2. kuruması beklenir.
3. Kinyoun carbol fuchsin 10 dk
4. Musluk suyu ile yıkama
5. %0.5lik HCl (etil alkol ile hazırlanmış) 5 dk
6. Musluk suyu ile yıkama
7. Chromotrope staining 37°C'de 30 dk
8. Acid alkol 8 sn
9. %95'lik ethanol 8 sn
10. %95'lik ethanol 10 dk
11. %100'lük ethanol 10 dk
12. %100'lük ethanol 10 dk
13. Xylene 10 dk

Preparatlar kuruduktan sonra immersiyon yağı damlatılmış ve incelenmiştir.

3. 5. 2. 4. Giemsa

%5'lik Giemsa solüsyonu hazırlanmıştır

Sedimentten alınan örnekler yayılmış ve kuruması beklenmiştir

1. Methanol 10 dk
2. Kuruması beklenmiştir.
3. Giemsa boyası 30 dk
4. Distile su ile yıkama

Preparatlar kuruduktan sonra immersiyon yağı damlatılmış ve incelenmiştir.

3. 5. 6. Verilerin Analizi

Veriler ortalama, standard hata veya sayı/yüzde olarak verilmiştir. İstatistiksel analizde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ile ki-kare testi kullanılmıştır. $P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Analizlerde SPSS 11.5 for Windows paket programı kullanılmıştır (162).

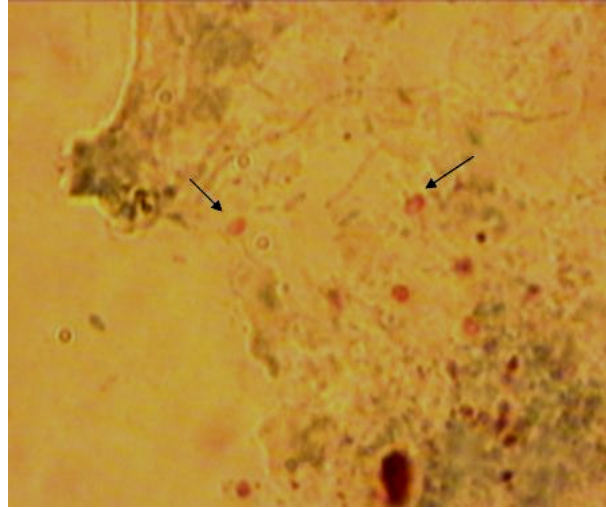
Çalışmada ayrıca çok değişkenli lojistik regresyon analizi, parazit ile yaş, cinsiyet, bulantı kusma, immünsüpresif+kanser, Büyüme gelişme geriliği (BGG),

ishal, kabızlık, makat kaşıntısı, salya, karın ağrısı, iştahsızlık, nefes darlığı, anemi, genel vücut kaşıntısı ve ülseratif kolit değişkenleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Verilerin analizinde ise SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, USA) paket programı kullanılmıştır.

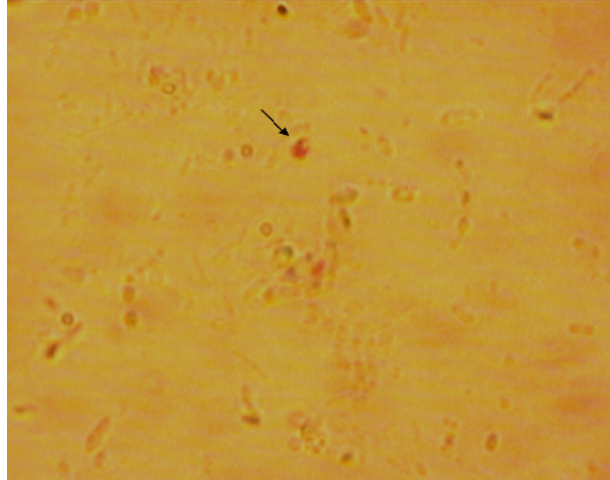
4. BULGULAR

Araştırmada Ocak 2006 - Aralık 2006 tarihleri arasında Malatya ili ve çevresinden, sindirim sistemi Şikayetleri ile Acil, Pediatri, Radyasyon Onkolojisi, İnfeksiyon Hastalıkları, Hematoloji, Genel Cerrahi, Dermatoloji ve Gastroenteroloji bÖlÖmlerine başvuran hastalardan Parazitoloji laboratuvarına yÖnlendirilen ve araştırmayı kabul eden 2665 hastanın dıŐki Örneği incelenmiştir.

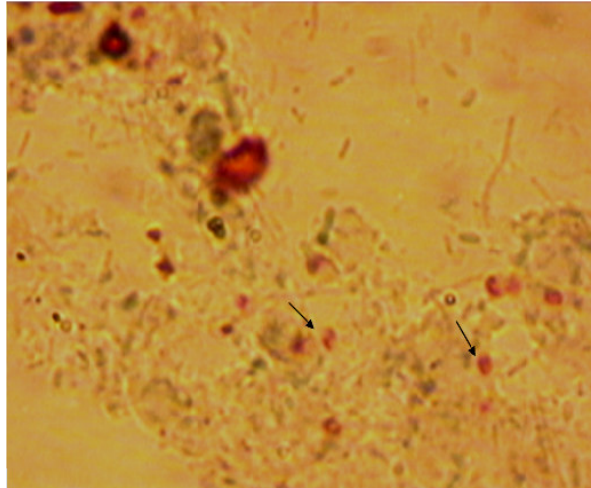
Microsporidium spp. saptanan 226 olgunun tanısında MTS (Resim 6,7,8), Asit-Fast-Trichrome (Resim 9,10,11,12), Calcofluor (Resim 13,14,15,16) ve Giemsa boyama yÖntemleri kullanılmıştır. Ancak Giemsa Boyası ile boyanan preparatlarda sporların net ayrımı yapılamadığından diğer Üç yÖntemle (MTS, Asit-Fast-Trichrome, Calcofluor) pozitif olanlar değerlendirilmeye alınmıştır.



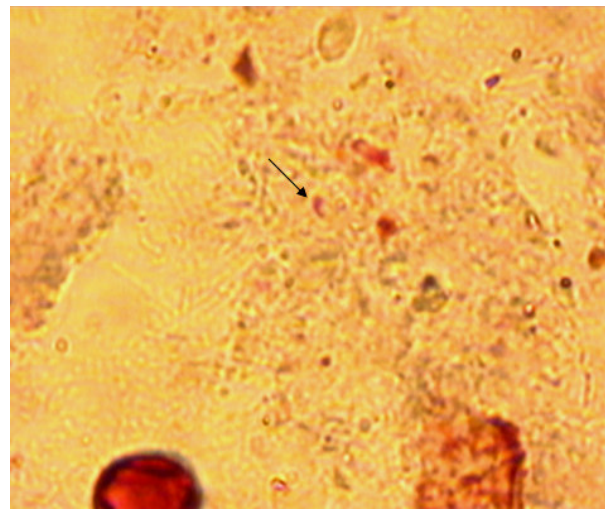
Resim 6: *Microsporidium spp.* sporları pozitif Örneğ 100X (MTS)



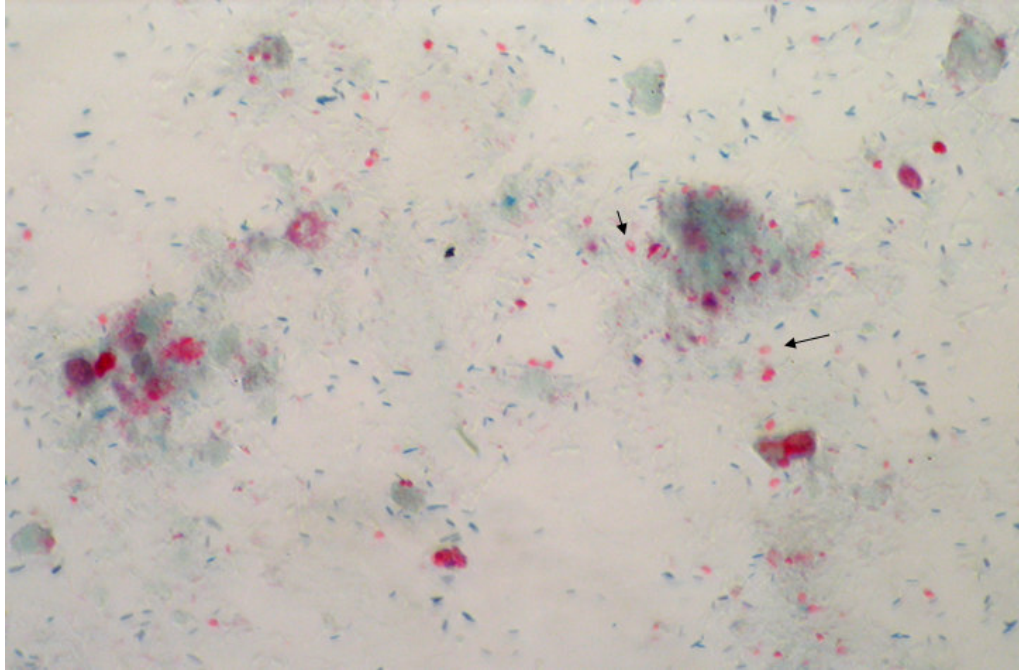
Resim 7: *Microsporidium spp.* sporları 100X (MTS)



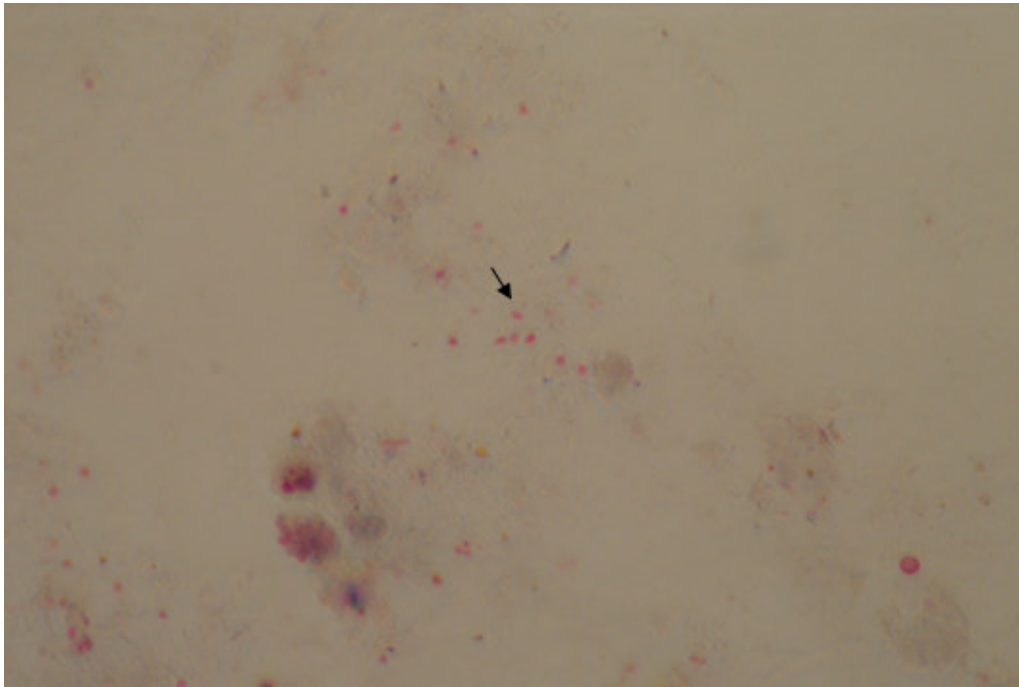
Resim 8: *Microsporidium spp.* sporları 100X (MTS)



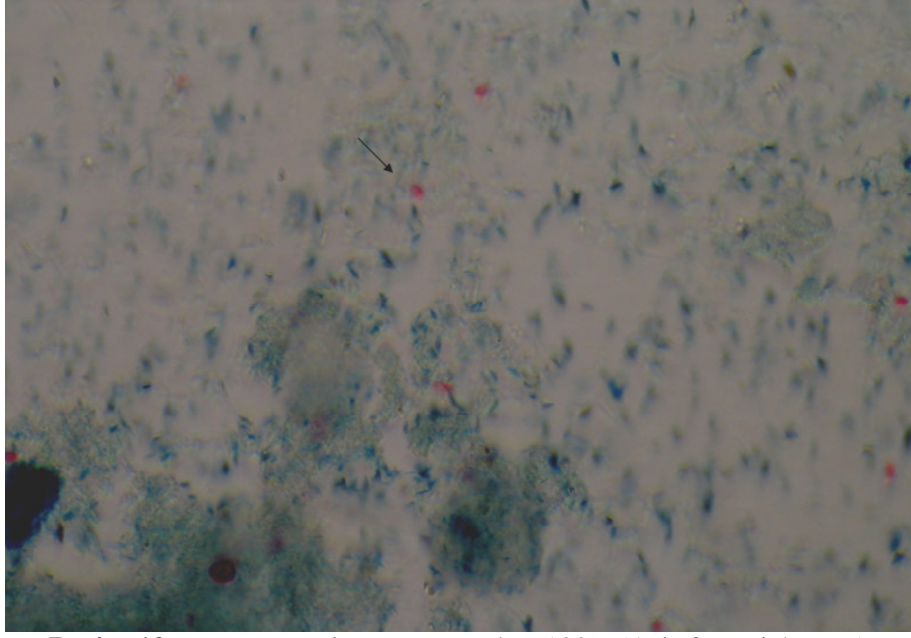
Resim 9: *Microsporidium spp.* sporları pozitif örnek 100X (Asit-fast-trichrome)



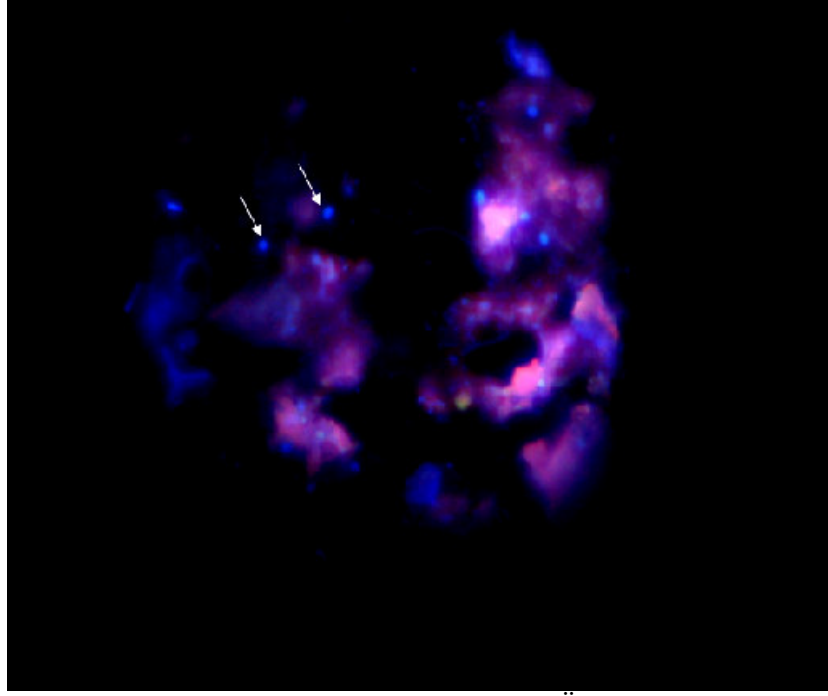
Resim 10: *Microsporidium spp.* sporları 100X (Asit-fast-trichrome)



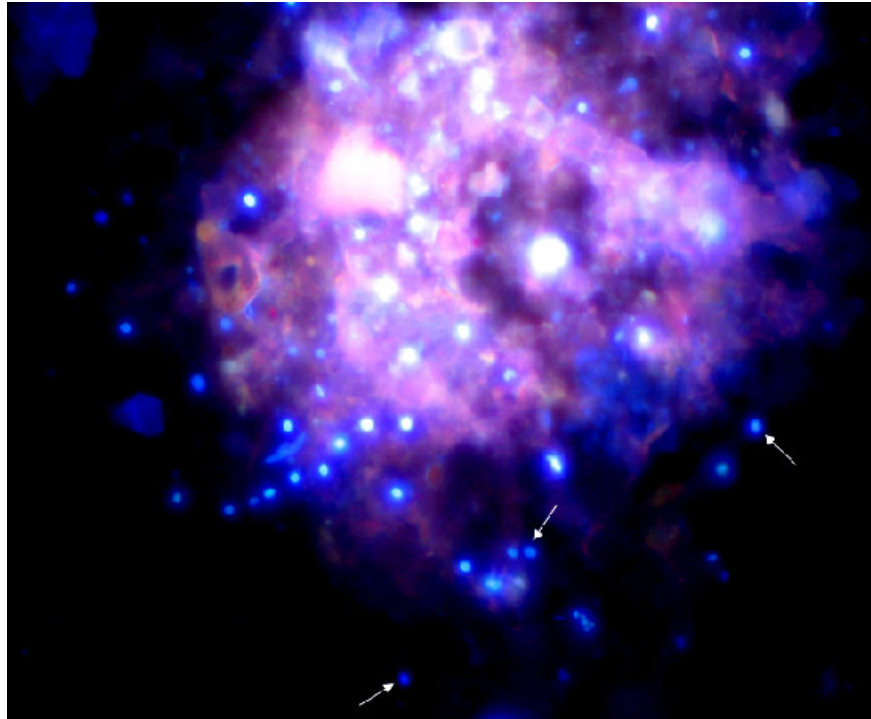
Resim 11: *Microsporidium spp.* sporları 100X (Asit-fast-trichrome)



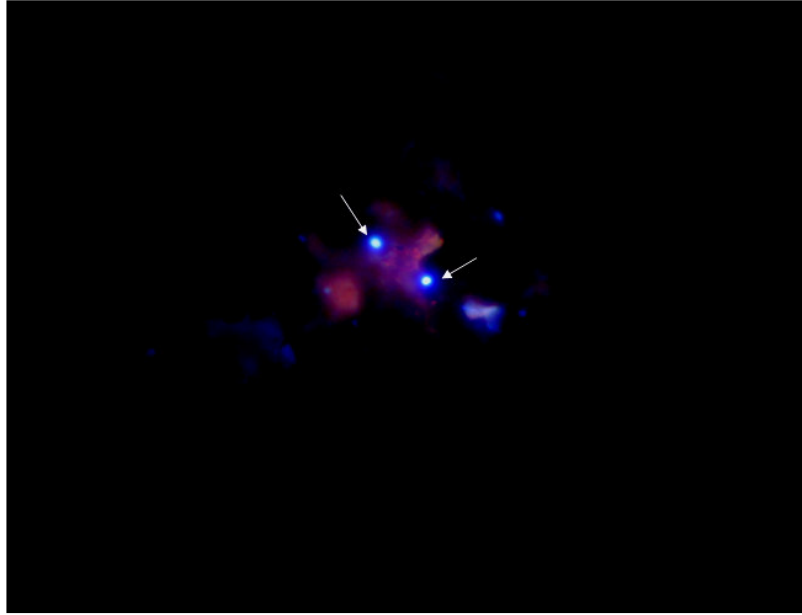
Resim 12: *Microsporidium* spp. sporları 100X (Asit-fast-trichrome)



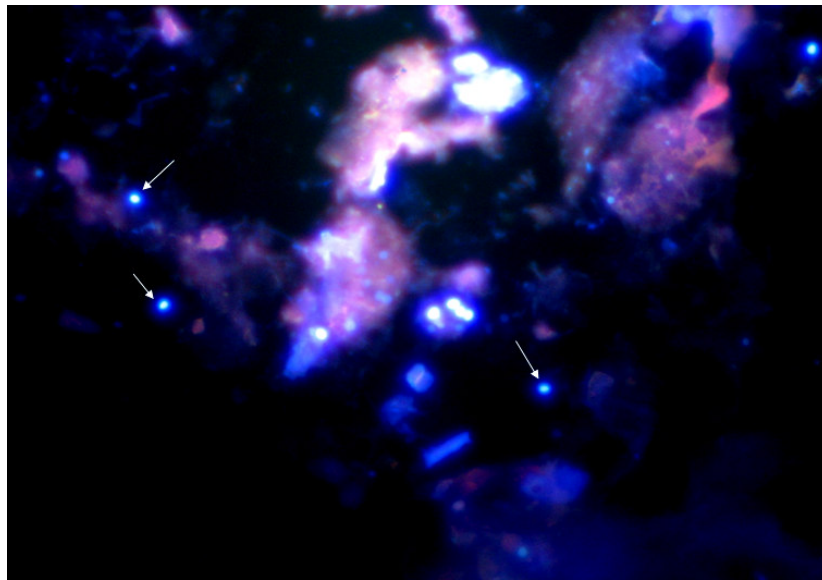
Resim 13: *Microsporidium spp.* sporları Pozitif Örnek 100X (Calcofluor)



Resim 14: *Microsporidium spp.* sporları 100X (Calcofluor)



Resim 15: *Microsporidium spp.* sporları 100X (Calcofluor)



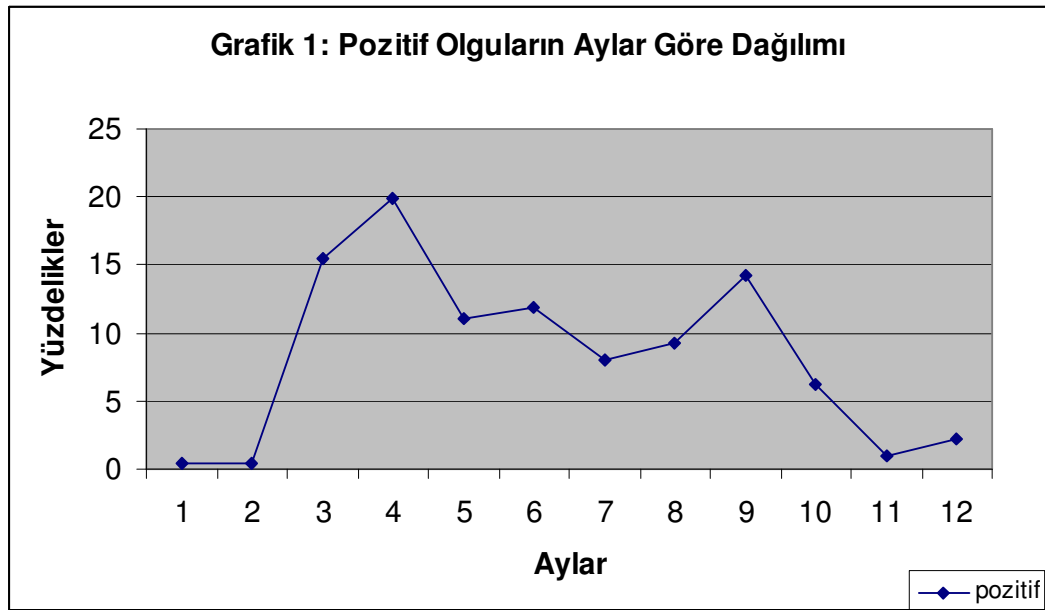
Resim 16: *Microsporidium spp.* sporları 100X (Calcofluor)

Araştırma sonucuna göre Malatya ve çevresindeki *Microsporidium spp.* oranları tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4: Malatya ve Çevresinde *Microsporidium spp.*

<i>Microsporidium spp.</i> Görülme Durumu	Sayı	%
Negatif	2439	91.5
Pozitif	226	8.5
Toplam	2665	100.0

Araştırmadaki hastaların yaş ortalaması 24,56 (St h= 0,38) olup, pozitiflik oranının aylara göre dağılımı grafik 1’de verilmiştir.



Hastaneye başvuran hastaların geldiği illere göre dağılımı ise tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5: Parazitoloji Laboratuvarına Gelen Hastaların İllere Göre Dağılımı

İller	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Merkez	2173	89.1	192	85.0	2365	88.8
Diğer iller*	51	2.1	5	2.2	56	2.1
Adıyaman	131	5.4	18	8.0	149	5.6
Maraş	84	3.4	11	4.9	95	3.5
Toplam	2439	100.0	226	100.0	2665	100

* İzmit, Kars, İstanbul, Ankara, Batman, Bingöl, Bitlis, Kıbrıs, Adana ve Gaziantep

Polikliniklerden gelen hastaların yüzdeleri de tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6: Parazitoloji Laboratuvarına Gelen Hastaların Polikliniklere Göre Dağılımı

Poliklinikler	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Acil	36	1.5	1	0.4	37	1.4
Dahiliye	383	15.7	33	14.6	416	15.6
Dermatoloji	214	8.8	31	13.7	245	9.2
Gastroenteroloji	295	12.1	20	8.8	315	11.8
Genel Cerrahi	32	1.3	6	2.7	38	1.4
Hematoloji	120	4.9	17	7.5	137	5.1
İnfeksiyon Hastalıkları	163	6.7	9	4.0	172	6.5
Pediyatri	1142	46.8	100	44.2	1242	46.6
Radyasyon Onkolojisi	54	2.2	9	4.0	63	2.4
Toplam	2439	100.0	226	100.0	2665	100.0

Araştırmanın hipotezlerinin denenmesi için toplanan verilerin istatistiksel analizleri sonucunda elde edilen bulgular:

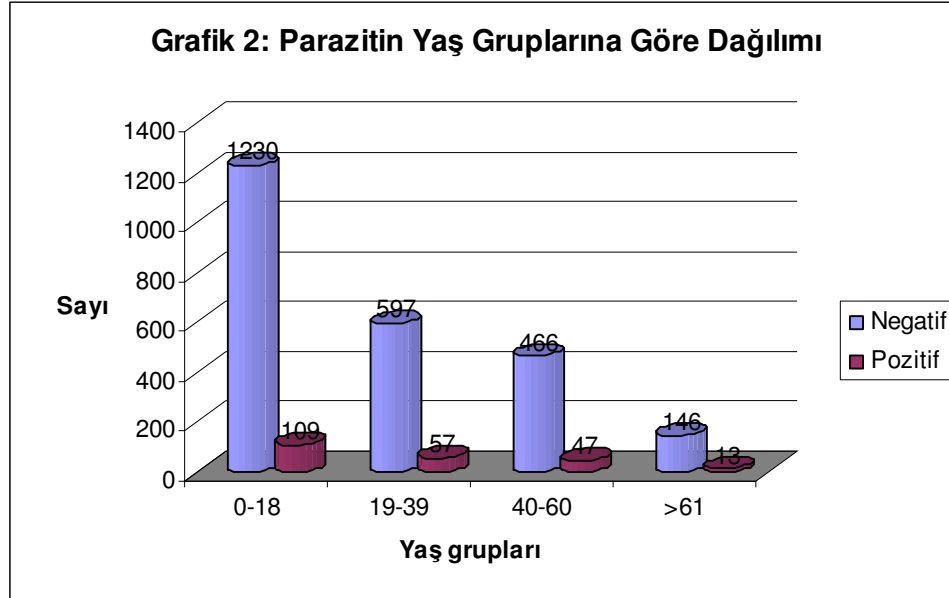
4. 1. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile yaş arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile yaş arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7: Yaş ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Değişken	Yaş		Toplam
	Negatif	Pozitif	
Sayı	2439	226	2665
Ortalama	24.5	25.22	
Std. hata	0.403	1.296	

İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi sonucuna göre, hastalığın görülmesi ile yaş değişkeni açısından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0,6$). Parazitin yaş gruplarına göre dağılımı da grafik 2’de verilmiştir.



4. 2. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile cinsiyet arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile cinsiyet arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: Cinsiyet ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Cinsiyet	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Erkek	1177	91.2	103	8.8	1280	100.0
Kadın	1262	90.3	123	9.7	1385	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda cinsiyet ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilememiştir (p=0.44).

4. 3. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile bulantı kusma arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile bulantı kusma arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: Bulantı- Kusma ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Bulantı kusma	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2337	91.6	215	8.4	2552	100.0
Var	102	90.3	11	9.7	113	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda bulantı kusma ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilememiştir ($p=0.75$).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu ise Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10: Pozitif Olgulardaki Bulantı- Kusma ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

	Bulantı Kusma	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	215	113.0
Var	11	113.0
Toplam	226	

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda bulantı kusma ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($P=0.000$)

4. 4. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile immünsüpresif+kanser arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile immünsüpresiflik+kanser arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11: İmmünsüpresiflik+Kanser ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

İmmünsüpresiflik +Kanser	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2034	83,4	202	89,4	2236	83,9
Var	405	16,6	24	10,6	429	16,1
Toplam	2439	100,0	226	100,0	2665	100,0

Kikare analizi sonucunda immünsüpresiflik+kanser ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilmiştir (p=0.02).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12: Pozitif Olgulardaki immünsüpresiflik+kanser ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

İmmünsüpresiflik+Kanser	Görülen (N)	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	202	113.0
Var	24	113.0
Toplam	226	

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda immünsüpresiflik+kanser ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (P=0.000)

4. 5. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile büyüme gelişme geriliği (BGG) arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile BGG arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 13’de verilmiştir.

Tablo 13: BGG ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

BGG	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2272	91.8	203	8.2	2475	100.0
Var	167	87.9	23	12.1	190	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda kanser ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilememiştir (p=0.07).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 14’de verilmiştir.

Tablo 14: Pozitif Olgulardaki BGG ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

BGG	Gözlenen (N)		Beklenen (N)	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	203	113.0	203	113.0
Var	23	113.0	23	113.0
Toplam	226	226	226	226

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda BGG ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (P=0.000)

4. 6. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile nefes darlığı arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile nefes darlığı arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 15’de verilmiştir.

Tablo 15: Nefes Darlığı ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Nefes Darlığı	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2417	91.7	220	8.3	2638	100.0
Var	22	81.3	6	18.7	32	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda nefes darlığı ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilmiştir ($p=0.04$).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 16’da verilmiştir.

Tablo 16: Pozitif Olgulardaki Nefes Darlığı ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Nefes Darlığı	Gözlenen (N)		Beklenen (N)	
	Yok	Var	Yok	Var
Yok	220	6	113.0	113.0
Var	6	220	113.0	113.0
Toplam	226	226	226	226

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda nefes darlığı ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($P=0.000$)

4. 7. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile ishal olma durumu arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile ishal olma durumu arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 17’de verilmiştir.

Tablo 17: İshal Olma Durumu ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

İshal	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	1587	90.9	159	9.1	1746	100.0
Var	852	92.7	67	7.3	919	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda İshal olma durumu ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilememiştir (p=0.12).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 18’de verilmiştir.

Tablo 18: Pozitif Olgulardaki İshal ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

İshal	İshal	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	159	113.0
Var	67	113.0
Toplam	226	

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda ishal ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (P=0.000)

4. 8. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile kabız olma durumu arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile kabızlık arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 19’de verilmiştir.

Tablo 19: Kabızlık Durumu ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Kabızlık	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2169	91.7	197	8.3	2366	100.0
Var	270	90.3	29	9.7	299	100.0
Toplam	2366	91.5	299	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda kabızlık ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilememiştir (p=0.42).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 20’de verilmiştir.

Tablo 20: Pozitif Olgulardaki Kabızlık ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Kabızlık	Kabızlık	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	197	113.0
Var	29	113.0
Toplam	226	

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda kabız olma ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (P=0.000)

4. 9. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile makat kaşıntısı arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile makat kaşıntısı arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 21’de verilmiştir.

Tablo 21: Makat Kaşıntısının varlığı ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Makat Kaşıntısı	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2177	91.8	193	8.2	2370	100.0
Var	262	88.8	33	11.2	295	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda makat kaşıntısı varlığı ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilememiştir (p=0.07).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 22’de verilmiştir.

Tablo 22: Pozitif Olgulardaki Makat Kaşıntısı ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Makat Kaşıntısı	Gözlenen (N)		Beklenen (N)
Yok	193	113.0	
Var	33	113.0	
Toplam	226		

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda makat kaşıntısı ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (P=0.000)

4. 10. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile salya arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile gece yatarken ağızdan gelen akıntı (salya) olma durumu arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 23’de verilmiştir.

Tablo 23: Salya ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Salya	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2045	91.5	191	8.5	2236	100.0
Var	394	91.8	35	8.2	429	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda salya ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilememiştir (p=0.79).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 24’de verilmiştir.

Tablo 24: Pozitif Olgulardaki Salya ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Salya	Salya	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	191	113.0
Var	35	113.0
Toplam	226	

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda salya ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (P=0.000)

4. 11. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile karın ağrısı arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile karın ağrısı arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 25’de verilmiştir.

Tablo 25: Karın Ağrısı ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Karın Ağrısı	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	1543	92.0	132	8.0	1675	100.0
Var	896	90.5	94	9.5	990	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilememiştir ($p=0.14$).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 26’da verilmiştir.

Tablo 26: Pozitif Olgulardaki Karın Ağrısı ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Karın Ağrısı	Gözlenen (N)		Beklenen (N)	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	132	113.0	132	113.0
Var	94	113.0	94	113.0
Toplam	226	226.0	226	226.0

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda karın ağrısı ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilmiştir ($P=0.011$)

4. 12. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile iştahsız olma durumu arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile iştahsız olma durumu arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucu tablo 27’de verilmiştir.

Tablo 27: İştahsızlık ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

İştahsızlık	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2413	91.7	220	8.3	2633	100.0
Var	26	81.3	6	18.7	32	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda iştahsız olma durumu ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilmiştir (p=0.04).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 28’de verilmiştir.

Tablo 28: Pozitif Olgulardaki İştahsızlık ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

İştahsızlık	Gözlenen (N)		Beklenen (N)	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	220	113.0	220	113.0
Var	6	113.0	6	113.0
Toplam	226	226	226	226

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda iştahsızlık ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (P=0.000)

4.13. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile anemi arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile anemi arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunu tablo 29'da verilmiştir.

Tablo 29: Anemi ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Anemi	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2371	91.6	217	8.4	2588	100.0
Var	68	88.3	9	11.7	77	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilememiştir ($p=0.41$).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 30'de verilmiştir.

Tablo 30: Pozitif Olgulardaki Anemi ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Anemi	Anemi	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	217	113.0
Var	9	113.0
Toplam	226	

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda anemi ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir ($P=0.000$)

4. 14. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile genel vücut kaşıntısı ve allerji varlığı arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile genel vücut kaşıntısı ve allerji varlığı arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda testi tablo 31’de verilmiştir.

Tablo 31: Genel Vücut Kaşıntısı ve Allerji Olması ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Genel Vücut Kaşıntısı ve Allerji	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2235	92.0	195	8.0	2430	100.0
Var	204	86.8	31	13.2	235	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilmiştir (p=0.01).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da Tablo 32’de verilmiştir.

Tablo 32: Pozitif Olgulardaki Genel Vücut Kaşıntısı ve Allerji ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Genel Vücut Kaşıntısı ve Allerji	Gözlenen (N)		Beklenen (N)	
Yok	195		113.0	
Var	31		113.0	
Toplam	226			

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda genel vücut kaşıntısı ve allerji ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir (P=0.000).

4. 15. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile ülseratif kolit arasındaki karşılaştırmanın bulguları

Microsporidium spp. görülme durumu ile ülseratif kolit arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda testi tablo 33’de verilmiştir.

Tablo 33: Ülseratif Kolit ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Ülseratif Kolit	Negatif		Pozitif		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	2397	91.7	217	8.3	2614	100.0
Var	42	82.4	9	17.6	51	100.0
Toplam	2439	91.5	226	8.5	2665	100.0

Kikare analizi sonucunda ülseratif kolit ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilmiştir (p=0.03).

Pozitif olgular arasında yapılan Kikare analizi sonucu da tablo 34’de verilmiştir.

Tablo 34: Pozitif Olgulardaki Ülseratif Kolit ile *Microsporidium spp.* Görülme Durumu

Ülseratif Kolit	Durumu	
	Gözlenen (N)	Beklenen (N)
Yok	217	113.0
Var	9	113.0
Toplam	226	

Kikare analizi sonucunda pozitif olgularda ülseratif kolit ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilmiştir (P=0.000)

Microsporidium spp. görülme durumu ile istatistik yapılan parametreler arasındaki ilişkinin toplu olarak gösterilmesi de tablo 35’de verilmiştir.

Tablo 35: *Microsporidium spp.*’nin İstatistiği Yapılan Parametrelerde Görülme Durumu

Şikayetler		Negatif		Pozitif		Toplam	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Cinsiyet*	Erkek	1177	91.2	103	8.8	1280	100.0
	Kadın	1262	90.3	123	9.7	1385	100.0
Bulantı kusma**	Yok	2337	91.6	215	8.4	2552	100.0
	Var	102	90.3	11	9.7	113	100.0
İmmünesüpresiflik +Kanser***	Yok	2034	83,4	202	89,4	2236	83,9
	Var	405	16,6	24	10,6	429	16,1
BGG**	Yok	2272	91.8	203	8.2	2475	100.0
	Var	167	87.9	23	12.1	190	100.0
Nefes Darlığı***	Yok	2417	91.7	220	8.3	2638	100.0
	Var	22	81.3	6	18.7	32	100.0
İshal**	Yok	1587	90.9	159	9.1	1746	100.0
	Var	852	92.7	67	7.3	919	100.0
Kabızlık**	Yok	2169	91.7	197	8.3	2366	100.0
	Var	270	90.3	29	9.7	299	100.0
Makat Kaşıntısı**	Yok	2177	91.8	193	8.2	2370	100.0
	Var	262	88.8	33	11.2	295	100.0
Salya**	Yok	2045	91.5	191	8.5	2236	100.0
	Var	394	91.8	35	8.2	429	100.0
Karın Ağrısı**	Yok	1543	92.0	132	8.0	1675	100.0
	Var	896	90.5	94	9.5	990	100.0
İştahsızlık***	Yok	2413	91.7	220	8.3	2633	100.0
	Var	26	81.3	6	18.7	32	100.0
Anemi**	Yok	2371	91.6	217	8.4	2588	100.0
	Var	68	88.3	9	11.7	77	100.0
Genel Vücut Kaşıntısı ve Alerji***	Yok	2235	92.0	195	8.0	2430	100.0
	Var	204	86.8	31	13.2	235	100.0
Ülseratif Kolit***	Yok	2397	91.7	217	8.3	2614	100.0
	Var	42	82.4	9	17.6	51	100.0

* Genel değerlendirmede anlamlı ilişki yok, ** Genel değerlendirmede anlamlı ilişki bulunmayan ancak pozitiflerin arasındaki değerlendirmede anlamlı ilişki bulunan parametreler, *** Genel ve pozitifler arasındaki değerlendirmede anlamlı ilişki bulunanlar

4. 16. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile denek sayısının yeterli olmadığı hastalık veya hastalık belirtileri bulguları

Sindirim sistemi şikayetleri olan hastalar da *Microsporidium spp.* görülme durumu ile üriner sistem infeksiyonu, diyabet, obezite, eklem ağrısı, dispepsi, enüresis nokturna, kronik karaciğer hastalığı, ateş ve eozinofili arasındaki ilişki n=30'un altında olduğu için sadece yüzdeleri tablo 36'da verilmiştir. Ayrıca halsizlik şikayeti ile gelen hastalar da n=55, pozitif=2 ve Kilo Kaybı şikayeti ile gelen hastalarda n=56 pozitiflik=1 olduğu için yine sadece yüzdeler verilmiştir.

Tablo 36: *Microsporidium spp.*'nin Farklı Gruplarda Görülme Durumu

Şikayetler		Negatif		Pozitif		Toplam	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Üriner Sistem İnfeksiyonu	Yok	2413	91.5	225	8.5	2638	100.0
	Var	26	96.3	1	3.7	27	100.0
Diyabet	Yok	2429	91.5	225	8.5	2654	100.0
	Var	10	90.9	1	9.1	11	100.0
Halsizlik	Yok	2388	91.4	224	8.6	2612	100.0
	Var	51	96.2	2	3.8	53	100.0
Obezite	Yok	2434	91.5	226	8.5	2660	100.0
	Var	5	100.0	0	0.0	5	100.0
Dispepsi	Yok	2397	91.5	224	8.5	2621	100.0
	Var	42	95.5	2	4.5	44	100.0
Eklem ağrısı	Yok	2435	91.5	225	8.5	2660	100.0
	Var	4	80.0	1	20.0	5	100.0
Enüresis nokturna	Yok	2422	91.6	223	8.4	2645	100.0
	Var	17	85.0	3	15.0	20	100.0
Kr. Karaciğer Hastalığı	Yok	2437	91.5	226	8.5	2663	100.0
	Var	2	100.0	0	0.0	2	100.0
Kilo Kaybı	Yok	2384	91.4	225	8.6	2609	100.0
	Var	55	98.3	1	1.7	56	100.0
Ateş	Yok	2402	91.5	226	8.5	2628	100.0
	Var	37	100.0	0	0.0	37	100.0
Eozinofili	Yok	2426	91.5	225	8.5	2651	100.0
	Var	13	93.0	1	7.0	14	100.0

4. 17. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile çok değişkenli lojistik regresyon analizi bulguları

Lojistik regresyon modeline ait parametre tahminleri, standart hataları, Wald istatistikleri, serbestlik dereceleri, odds oranları ve güven sınırlarına ait bilgiler Tablo 37’de sunulmuştur.

Tablo 37: Parazit İle İlişkili Etkenlerin Lojistik Regresyon Analizi İle Belirlenmesi

Değişken	Katsayı	S. Hata*	Wald	S. D**	Önemlilik	Odds Oranı	% 95 Güven Aralığı	
							Alt sınır	Üst sınır
BGG	0.485	0.240	4.096	1	0.043	1.625	1.015	2.600
Karın Ağrısı	0.252	0.144	3.074	1	0.080	1.286	0.971	1.704
İştahsızlık	0.971	0.467	4.320	1	0.038	2.641	1.057	6.598
Nefes Darlığı	0.936	0.462	4.098	1	0.043	2.549	1.030	6.307
Genel Vücut Kaşıntısı	0.686	0.211	10.569	1	0.001	1.986	1.313	3.003
Ülseratif Kolit	0.979	0.378	6.710	1	0.010	2.661	1.269	5.579
Sabit	-0.499	0.396	1.590	1	0.207	0.607		

S. Hata*: Standart Hata, S.D**: Serbestlik Derecesi

Sonuçlara göre, parazit görülmesi ile BGG, karın ağrısı, İştahsızlık, nefes darlığı, genel vücut kaşıntısı ve ülseratif kolit arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu değişkenler arasında parazit değişkenini en fazla açıklayan değişken ülseratif kolitdir. Diğerleri ise sırasıyla iştahsızlık, nefes darlığı, genel vücut kaşıntısı, BGG ve karın ağrısıdır. Lojistik regresyon modelinin uyumu Hosmer-Lemeshow testi ile incelendiğinde, modelin paraziti tahminlemede yeterli olduğu bulundu ($p=0,96$).

5. TARTIŞMA

Microsporidiumun epidemiyolojisinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada sindirim sistemi şikayetleri ile gelen hastalar incelenmiş ve elde edilen bulgular hipotez sırasına göre tartışılmış ve yorumlanmıştır.

Ulaşılan kaynaklarda parazitin epidemiyolojisi ile ilgili Arjantin, Avustralya, Brezilya, Kanada, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Çin, İtalya, Japonya, Yeni Zellanda, İspanya, Srilanka, İsviçre, Tayland, Uganda, ABD, Zambia, İsveç, Botswana ve Hollanda'da yapılan çalışmalar bulunmaktadır (25). Ülkemizde ise şu ana kadar insanlarda parazitin epidemiyolojisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak Yazar ve ark (63) kanserli bir hastada, Büget ve ark.(64) AIDS hastasında *Microsporidium spp.*'ye, Özkırım ve Keskin (65) arılarda Nosema'ya, Eröksüz ve ark. (66) Tavşan kolonisinde *Encephalitozoon spp.*'ye ve Yaman ve Radek coleoptera'larda %42 oranında Nosema'ya rastladıklarını bildirmişlerdir (67).

Parazitin varlığı ile ilgili ilk araştırmalar olgu sunumu olarak verilmiştir. Daha sonra microsporidium ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar genellikle immün süpresif hastalarda yapılmış (29, 50, 56, 57) ve Müller ve ark. (22) % 6.7, Bretagne ve ark.(49) % 7, Field ve ark. (50) %33, Kotler ve ark. (51)%39, Garcia ve ark. (52) % 42, Kokoskin ve ark. (53)%12 Brasil ve ark. (57) %27.5, Kumar ve ark.(61) %6.5 Tanyüksel'in (3) bildirdiğine göre Hanneman ve arkadaşları % 22 ve Weinmayr ve arkadaşları % 9.3 oranında parazite rastlamışlardır. Ayrıca Fournier ve ark. (56) AIDS'li 12 hastanın idrarlarında *Microsporidium spp.* bildirmişlerdir.

İmmün sistemi sağlam bireylerde yapılan çalışmalarda ise parazitin akut ve kronik ishallere neden olabileceğini bildirmişler (10, 19) ve Bretagne ve ark. (49) %7, Termmathurapoj ve ark. (58) %1.3, Tumwine ve ark. (60) %17.4 ve Abreu-Acosta ve ark. (62) 156 dışkı örneğinde %11.5, 40 idrar örneğinde %2.5 ve 37 tükürük örneğinde %16.2 oranında microsporidium saptamışlardır. Ayrıca Raynaud ve ark.(55) da kronik ishalleri immünsüpresif olmayan 4 gencin dışkı örneklerinde parazite rastlamışlardır. Araştırmada Parazitoloji Laboratuvarı'na yönlendirilen 2665 hastanın 226'sında (%8.5) *Microsporidium spp.*'sine rastlanılmıştır (tablo 4). Araştırmalarda elde edilen pozitiflik oranlarındaki farklılıkların çalışılan bölgenin özelliklerinden,

seçilen örneklemeden, kullanılan yöntemlerden ve araştırmacıların tecrübesinden kaynaklandığı düşünülebilir.

Çalışma Malatya bölgesinde yapılmış olmasına rağmen araştırma süresince çevre illerden gelen hastalar da değerlendirmeye alınmıştır. Pozitif olguların %85'i Malatya ve çevresinden gelen hastalardır. İl dışından gelen hastaların değerlendirilme sonuçlarına göre ise Adıyaman yöresinden hastaneye sindirim sistemi şikayeti ile başvuranlarda *Microsporidium spp.* oranı %5.3 ve Kahramanmaraş yöresinden gelenlerde %11.5 olarak tespit edilmiş olduğundan buralarda epidemiyolojik bir çalışma yapıldığında *Microsporidium spp.* olgularının daha yüksek çıkabileceği düşünülmüştür. Pozitif olguların %2.2'si ise Malatya'ya diğer illerden tatil amaçlı gelen hastalardır (Tablo 5). Müller ve ark. (59) ishal şikayeti ile gelen 148 turistin %6.0'sında *microsporidium* rastladıklarını bildirmişlerdir. Bu durum parazitin turist ishallerine neden olabileceği görüşünü destekler niteliktedir.

Çalışmada pozitif olguların aylara göre dağılımına bakıldığında (grafik 1) yağmurlu mevsimlerde parazitin görülmesinde artışın olduğu gözlemlenmiştir. Benzer bir çalışmada da Tumwine ve ark. (60) yağmurlu mevsimlerde parazitin görülme oranının arttığını bildirmişlerdir. Elde edilen sonuç Tumwine ve ark. bildirdiklerine benzerdir. Çalışma verileri ve gelecek yıllardaki *Microsporidium spp.* olgularının düzenli olarak değerlendirilmesi ile parazitin mevsimlere göre dağılımı konusunun netleşebileceği düşünülmüştür.

Dışkı örnekleri calcufluor, MTS ve asit-fast-Trichrome boyları ile boyanmış şüphelenilen örnekler tekrar incelenmek üzere boylar tekrarlanmış ve sonuçlar birbirine paralel çıkmıştır.

Giemsa boyası ile boyamada ise parazitin tipik özelliklerini gösteren bulgulara rastlanılmadığından kesin tanı konulamamıştır. Bu durum boya yönteminden, araştırmacıdan ve seçilen örnekten kaynaklanmış olabilir.

Çalışmada elde edilen pozitiflik (%8.5) boya yöntemleri ile sınırlı kalmıştır. Ulaşılan kaynak bilgilerde rutin tanıda boya yöntemlerinin önemi vurgulanmıştır. Kokoskin ve ark. (53) Weber'in yöntemindeki sıcaklığı 50°C'ye yükselterek zamanı

10 dk. ya indirmişlerdir. Yapılan modifikasyonun etkili bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Degirolami ve ark. (54) MTS ve uvitex 2B ile %18.6 oranında parazite rastlamışlardır. Raynaud ve ark. (55) da MTS ve Uvitex 2B ile boyayarak *E. intestinalis*'e rastlamışlardır. Carter ve ark. (129) da parazitin tanısında MTS'nin etkili bir yöntem olduğunu vurgulamışlardır. Benzer olarak Ryan ve ark. (33) MTS boyasında fast green yerine aniline blue kullanmışlar ve bu yöntem ile de parazitlerin iyi boyandığını tespit etmişlerdir (Resim 3,4). Ignatius ve ark. (130) ise microsporidianın rutin tanısında MTS ve uvitex 2B'nin kullanılabilirliğini önermişlerdir.

Franzen ve ark. (80) da Uvitex 2B boyasının, Degirolami ve ark. (54) ise hem Uvitex 2B boyasının hem de MTS yönteminin tanıda hızlı ve hassas bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Chioralia ve ark (133) Calcofluor White 2MR ile MTS 'nin paralel kullanılmasının parazitin tanısında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yine Joseph ve ark. (134) ise Calcofluor boyasını KOH ile hazırlamışlar ve bu şekilde boyamanın daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca Reisner ve ark. (136) *C. parvum* ve microsporidianın tanısında tek bir yöntem olarak Asit Fast-Trichrome'un kullanılabilirliğini bildirmişlerdir.

Boya yöntemlerinde, kitin içeren diğer mikroorganizmaların ve özellikle mantar sporlarının da bu boyalar ile boyandıkları bildirilmiştir (2, 25, 41). Çalışma süresince bu özellik dikkate alınarak örnekler değerlendirilmiştir.

Microsporidiaların canlı olup olmadığını anlamak için calcofluor M2R ve Sytox gren boyalarının kullanılabilirliği bildirilmiş olup canlı sporların calcofluor M2R ile 395-415nm dalga boyunda turkuaz-mavi oval şekilde görüldüğü ölü sporların ise beyaz-sarı renkte gözlemlendiği saptanmıştır (132). Çalışmada da pozitif örneklerde beyaz-sarı renkte sporlara rastlanılmıştır.

Çalışmada poliklinik hastalarının bölümlere göre dağılımı yapıldığında (tablo 6) araştırmanın amacına yönelik olarak pediatriyen gelen hastaların oranının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Pozitif olguların da %44.2'sini çocuk hastalar oluşturmaktadır.

Bretagne ve ark. (49) da klinik olarak sağlıklı 980 Afrikalı çocuğun 8'inde dışkıda *Microsporidium spp.* rastlamışlardır. Bu durumdan *Microsporidium spp.*'nin immun süpresif olmayan hasta gruplarında ve çocuklarda da görülebildiği ve hastaneye farklı şikayetler ile gelen hastaların microsporidium açısından da değerlendirilmesi gerektiği sonucu çıkarılabilir.

5. 1. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Yaş Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile yaş arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi sonucuna göre, hastalığın görülmesi ile yaş değişkeni açısından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (tablo 7). Ulaşılan kaynak bilgilerde yaş grupları ile parazit görülme oranının karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat çalışmada parazitin yaş grubuna göre dağılımı yapıldığında 0-18 yaşta görülme oranının arttığı gözlenmiştir (grafik 2).

Kaynak bilgilerde insanlarda microsporidia infeksiyonlarının toprak, fekal-oral, oral-oral, kontamine yiyecek, su ve inhalasyon yoluyla bulaşabildiği bildirilmektedir (4, 5, 17, 19, 68, 69, 76). Bu durum, çocukların hijyen kurallarına dikkat edemediğinden parazitin oranında artışın gözlendiği şeklinde yorumlanabilir. Ayrıca yaşlıların bağışıklık sistemlerinin zayıflamasına bağlı olarak parazite karşı duyarlı oldukları bildirilmiştir (47, 139). Çalışmada 61 yaş ve üstündeki 160 hastada %5.8 oranında parazite rastlanılmıştır. Hastaların bağışıklık sistemi ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Ancak parazitin görülme yüzdesinin azımsanmıyacak derecede olduğu belirlenmiştir.

5. 2. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Cinsiyet Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile cinsiyet arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo 8). Ayrıca ulaşılan kaynak bilgilerde cinsiyet ile parazitin görülme oranının karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde ise erkek ve kadında parazit görülme yüzdelerinin birbirine çok yakın olduğu belirlenmiştir. Bu parazitin cinsiyet ayrımı göstermediği şeklinde yorumlanabilir.

5. 3. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Bulantı Kusma Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Çalışmada bulantı ve kusması olan hastalardan %9.7'sinde parazite rastlanmış, *Microsporidium spp.* görülme durumu ile bulantı kusma arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo 9). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede ise anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo10). Bu durum her bulantı kusma şikayeti bulunan hastada *Microsporidium spp.*'nin görülmeyebileceğini ancak pozitif olgularda güçlü bir anlamlı ilişki çıkmasından dolayı parazit açısından da değerlendirilmesi gerektiği şeklinde açıklanabilir. Kaynak bilgilerde *E. bienewisi* ve *E. intestinalis* infeksiyonlarında sindirim sistemi şikayetleri, bulantı ve kusma şikayetlerinin oluşabileceğini ancak bu belirtilerin başka etkenlere bağlı olarak da gelişebileceği belirtilmiştir (2, 4, 9, 39). Fakat bulantı kusmanın epidemiyolojisi ile ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır.

5. 4. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle İmmünsüpresiflik+kanser Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile immünsüpresiflik+kanser arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (tablo 11). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede de anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo12). Araştırma ile benzer olarak *E. bienewisi*'nin çoğunlukla bağışıklık sistemi zayıf olanlar ve CD4 hücre sayısı 100 UI dan aşağıdaki hastalarda yaygın olduğu bildirilmiştir (18, 39, 78, 79). Benzer çalışmalarda da Müller ve ark. (29) %6.7, Bretagne ve ark. (49) %7, Field ve ark (50) %33, Kotler ve ark. (51) %39, Garcia ve ark. (52) % 42, Kokoskin ve ark. (53) %12, Brasil ve ark. (57) %27.5, Kumar ve ark. (61) %6.5, Tanyükselin bildirdiğine göre (3) Hanneman ve arkadaşları % 22 ve Weinmayr ve arkadaşları % 9.3 oranında parazite rastlamışlardır. Safra sisteminin *E. bienewisi* infeksiyonunda ise kolesistitli olsun veya olmasın AIDS bağlantılı *Cryptosporidium spp.*'de açıklanamayan bazı kolanjiopatilerin etkeni olduğu bildirilmiştir (18). Nosema benzeri mikrosporidium ise AIDS'li bir hastanın dışkıında belirlenmiş ve gerçek bir infeksiyondan çok tesadüf bir durum olduğu belirtilmiştir (79). Ayrıca immün yetmezlikli kişilerde ishalin önemli bir etkeni olarak düşünülmekte ve HIV infeksiyonunun pandemik gelişiminin bir parçası olarak fırsatçı patojen olarak değerlendirilmektedir. AIDS'li hastalarda diğer enterik patojenlerin bulunmadığı kronik ishallerin Microsporidial kökenli olduğu belirlenmiştir (1,2, 11, 12, 49). Plesitophora da miyozitli ve immün yetmezliği olan hastaların kaslarında saptanmıştır (40). Çalışmada da %10.6 oranında parazite rastlanılmıştır. Ancak araştırmada hastaların CD4 düzeylerine bakılmadığı için immünsüpresiflik durumlarının oranı ile ilgili bilgi alınamamış ve hastaya uygulanan anket esnasında klinisyen tarafından hastaya konulan tanı ile sınırlı kalmıştır. Kanser hastalarında ise tedavi sırasında sindirim sistemi yakınmaları gözlenen ve laboratuvara yönlendirilen hastalar değerlendirilmiş ve immün süpresif durumda olma ihtimallerinin yüksek olduğu kabul edilmiştir.

İmmün süpresif ve kanser hastalarının tedavileri sırasında *Microsporidium spp.*'nin de bakılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

5. 5. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Büyüme ve Gelişme Geriliği (BGG) Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile BGG arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo 13). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede ise anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo14). Bu durum her BGG şikayeti bulunan hastada *Microsporidium spp.*'nin görülmeyebileceğini ancak pozitif olgularda güçlü bir anlamlı ilişki çıkmasından dolayı parazit açısından da değerlendirilmesi gerektiği şeklinde açıklanabilir. Ulaşılan kaynak bilgilerde ise parazit ile BGG oranı arasındaki ilişkiyle ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak çalışmalarda parazitin malarbsorbsiyona neden olduğu bildirilmiştir (2, 9, 39, 147). Çalışmada da malarbsorsiyon sonucunda BGG olabileceği düşünülmüş ve çocukların %12.1'inde parazite rastlanılmıştır.

5. 6. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Nefes Darlığı Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile nefes darlığı arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. (tablo 15) Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede de anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo16). Bir çalışmada özellikle Encephalitozoon türlerinin dispneye neden olduğu bildirilmiştir (4). Çalışmada nefes darlığı şikayeti ile gelen hastalarda parazite rastlanılmış olup, bu durumda bulunan hastalarda *Microsporidium spp.*'nin bakılmasının da önemli olduğu sonucu çıkarılmıştır.

5.7. *Microsporidium Spp.* Görülme Durumu İle İshal Olma Durumu Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile ishal olma durumu arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo 17). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede ise anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 18).

Kaynak bilgilerde microsporidiumların tedavi olmadan geçebilen ishallere neden olabileceği ve 2-3 gün süren turist ishallerinin görülebileceği bildirilmiştir (2, 4, 9, 39, 59.). Tropikal bölgelerde yaşayan ve *E. bienensi* ile enfekte olan çocuklarda persistan ishal tablosunun meydana gelebildiği gözlenmiştir (47, 139). *E. intestinalis*'in ise kilo kaybına ve kötü emilimli bir ishale neden olabildiği saptanmıştır (89, 90). Araştırmacıların bildirdiklerine göre ishal kademe kademe görülür ve aylar sürebilir. Bazı hastalar aralıklı olarak ishal olabilirler bir kısmı ise paraziti apatojen olarak vücutlarında bulundurlar (83, 84). Kronik ishali olan ve daha önceden enterik patojen saptanmayan hastalarda *E. bienensi* %7 ile 50 arasında bulunmuştur (18, 85). Tumwine ve ark. (60) Uganda'da ishal şikayeti olan çocukların %17,4'ünde *E. bienensi*'ye rastlamıştır. Fakat ishal ile parazitin görülme oranı arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır.

Çalışmada ishal şikayeti ile gelen hastaların %7.3'ünde parazite rastlanılmıştır. Bu durum her ishal şikayeti bulunan hastada *Microsporidium spp.*'nin görülmeyebileceğini ancak pozitif olgularda güçlü bir anlamlı ilişki çıkmasından dolayı parazit açısından da değerlendirilmesi gerektiği şeklinde açıklanabilir.

5. 8. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Kabızlık Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Çalışmada kabızlık şikayeti ile gelen hastaların %9.7 oranında parazite rastlanılmıştır. *Microsporidium spp.* görülme durumu ile kabızlık arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo19). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirilmede ise güçlü bir anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 20). Bu durum her kabızlık şikayeti bulunan hastada *Microsporidium spp.*'nin görülmeyebileceğini ancak pozitif olgularda güçlü bir anlamlı ilişki çıkmasından dolayı parazit açısından da değerlendirilmesi gerektiği şeklinde açıklanabilir. Kaynak bilgilerde kabız olma durumu ile ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

5. 9. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Makat Kaşıntısı Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile makat kaşıntısı arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo 21). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirilmede ise anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 22). Ayrıca çalışmada %11.2 oranındaki yüksek pozitiflik dikkate değerdir. Genel bilgilerde de makat kaşıntısının, çoğu parazit infeksiyonlarında görülebildiği bildirilmiştir (160). Bu durum her makat kaşıntısı şikayeti bulunan hastada *Microsporidium spp.*'nin görülmeyebileceğini ancak pozitif olgularda güçlü bir anlamlı ilişki çıkmasından dolayı parazit açısından da değerlendirilmesi gerektiği şeklinde açıklanabilir. Ulaşılan kaynak bilgilerde makat kaşıntısı ile ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

5. 10. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Salya Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile gece yatarken ağızdan gelen akıntı (salya) varlığı arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo 23). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede ise güçlü bir anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 24). Ulaşılan kaynaklarda ise salya ile ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmada %8.2 oranında *Microsporidium spp.* saptanmıştır. Araştırmada paraziter infeksiyonların salyaya neden olabileceği göz önüne alınarak bu parametre eklenmiştir (1, 2). Çalışmada her salya şikayeti bulunan hastada *Microsporidium spp.*'nin görülmeyebileceği ancak pozitif olgularda güçlü bir anlamlı ilişki çıkmasından dolayı parazit açısından da değerlendirilmesi gerektiği sonucu çıkarılabilir.

5. 11. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Karın Ağrısı Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile karın ağrısı arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo 25). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede ise anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 26). Ulaşılan kaynakta da benzer olarak parazitin hastalarda karın ağrılarına neden olabileceği bildirilmiştir (2). Çalışmada %9.5 oranında *Microsporidium spp.* görülmüştür.

Araştırmada her karın ağrısı şikayeti bulunan hastada *Microsporidium spp.*'nin görülmeyebileceği ancak pozitif olgularda güçlü bir anlamlı ilişki çıkmasından dolayı parazit açısından da değerlendirilmesi gerektiği sonucu çıkarılabilir.

5. 12. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle İştahsızlık Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile iştahsızlık arasındaki karşılaştırmaya yönelik uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (tablo 27). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede de anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 28). Araştırmacılar *E. bienersi* ve *E. intestinalis*'in bağışıklık sistemi bozuk kişilerde süregen, inatçı sürgün, ateş, halsizlik, iştahsızlık, bulantı ve kilo kaybı ile karakterize olan hastalık oluşturabildiklerini bildirmişlerdir (2, 9, 39). Çalışmada da benzer bir sonuç elde edilmiş olup *Microsporidium spp.* görülmesi ile iştahsızlık arasında bir ilişki gözlenmiştir. Bu durumun parazitin hastanın sindirim sistemine yerleşmesi nedeniyle oluşabildiği ve diğer sindirim sistemi rahatsızlıklarında olduğu gibi *Microsporidium spp.*'nin de bu tür şikayetlere neden olabileceğini destekler niteliktedir. Yine diğer etkenler araştırılırken *Microsporidium spp.*'nin de araştırılmasının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

5. 13. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Anemi Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile anemi arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (tablo 29). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede ise anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 30). Ulaşılan kaynak bilgilerde anemi ile ilgili bir karşılaştırmaya rastlanılmamıştır. Çalışmada %11.7 oranında yüksek bir pozitiflik elde edilmiştir. Bu durum her anemi şikayeti bulunan hastada *Microsporidium spp.*'nin görülmeyebileceği ancak pozitif olgularda güçlü bir anlamlı ilişki çıkmasından dolayı parazit açısından da değerlendirilmesi gerektiği şeklinde açıklanabilir.

5. 14. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Genel Vücut Kaşıntısı ve Allerji Olma Durumu Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile genel vücut kaşıntısı ve allerji arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (tablo 31). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede de güçlü bir anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 32). Kaynak bilgilerde genel vücut kaşıntısı ve allerji ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Genel bilgilerde ise parazitlerin alerjik belirtiler gösterebileceği bildirilmektedir (2, 160). Çalışmada %13.2 oranında bir pozitiflik elde edilmiştir. Bu durum *Microsporidium spp.*'nin alerjik reaksiyonlara da neden olabileceği sonucunu düşündürmüştür. Alerji şikayeti ile başvuran hastalarda *Microsporidium spp.*'nin de değerlendirilmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

5. 15. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Ülseratif Kolit Arasındaki Karşılaştırma Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Microsporidium spp. görülme durumu ile ülseratif kolit arasındaki karşılaştırmaya ilişkin uygulanan Kikare analizi sonucunda ülseratif kolit ile *Microsporidium spp.* görülme durumu arasında bir ilişki tespit edilmiştir (tablo 33). Pozitif örnekler arasındaki değerlendirmede de anlamlı ilişki gözlenmiştir (tablo 34). Ulaşılan kaynak bilgilerde ise ülseratif kolit ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Genel bilgilerde *E. bienensi*'ye bağlı olarak ince bağırsak enterosit villuslarının infeksiyonun villus duyarsızlığı, kript hiperplazisi, infekte villus hücrelerinin nekrozu ve intraepitelyal lenfositlerin artışıyla karakterize olduğu belirtilmiştir (3, 39). Çalışmada ülseratif kolitli hastalarda %17.6 oranında *Microsporidium spp.*'ye rastlanılmıştır. Bu nedenle ülseratif koliti bulunan hastalarda *Microsporidium spp.*'nin de değerlendirilmesinin önemli olacağı sonucuna varılmıştır.

5. 16. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Denek Sayısının Yeterli Olmadığı Hastalık Veya Belirtilerine Ait Bulgularının Tartışılması ve Yorumu

Sindirim sistemi şikayetleri olan hastalar da *Microsporidium spp.* görülme durumu ile üriner sistem infeksiyonu, diyabet, obezite, eklem ağrısı, dispepsi, enüresis nokturna, kronik karaciğer hastalığı, ateş ve eozinofili arasındaki ilişki n=30'un altında olduğu için sadece yüzde değerleri verilmiştir. Ayrıca halsizlik şikayeti ile gelen hastalar da n=55, pozitif=2 ve kilo kaybı şikayeti ile gelen hastalarda n=56 pozitiflik=1 olduğu için yine sadece yüzde oranı verilmiştir (Tablo 36).

Bu nedenle araştırmalarda bu gruplardaki denek sayısını artırarak incelemelerin yapılması ve sonra istatistiki olarak anlamlılığının değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.

5. 17. *Microsporidium spp.* Görülme Durumu İle Çok Değişkenli Lojistik Regresyon Analizi Tartışılması ve Yorumu

Çalışmada lojistik regresyon modeline göre, parazitin görülmesi ile BGG, karın ağrısı, iştahsızlık, nefes darlığı, genel vücut kaşıntısı ve ülseratif kolit değişkenleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (tablo 37). Yapılan değerlendirmede parazitin görülme durumu ile değişkenler arasındaki karşılaştırmanın önem sırası ise ülseratif kolit, iştahsızlık, nefes darlığı, genel vücut kaşıntısı, BGG ve karın ağrısı olarak belirlenmiş olup bu şikayetler ile ilgili hastalıkların tanısında *Microsporidium spp.*'ninde aranmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada sindirim şikayeti olan 2665 hastadan alınan örnekler modifiye trichrome, calcufluor, asit fast-trichrome boyama yöntemleri ile incelenmiş ve %8.5 oranında *Microsporidium spp.* bulunmuştur. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre işhatsızlık, genel vücut kaşıntısı, allerji, immün süpresif+kanserde, nefes darlığı olanlarda ve ülseratif kolitli hastalarda hem genel hem de pozitiflerin arasında yapılan istatistiki değerlendirmeye göre anlamlı ilişki gözlenmiştir. Aynı zamanda ishal, karın ağrısı, salya, kabızlık, bulantı kusma, büyüme gelişme geriliğinin'de, makat kaşıntısı ve anemide genel değerlendirmede anlamlı bir ilişki gözlenmemiş ancak pozitiflerin arasında yapılan istatistiki değerlendirmede ise fark anlamlı bulunmuştur. Ayrıca lojistik regresyon modeline göre, parazitin görülmesi ile BGG, karın ağrısı, işhatsızlık, nefes darlığı, genel vücut kaşıntısı ve ülseratif kolit değişkenleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır

Araştırma bulgularına dayanarak;

1. *Microsporidium spp*'nin epidemiyolojisine yönelik olan çalışma Malatya bölgesi ile sınırlı kaldığından ülkemizin diğer yörelerinde de parazitin epidemiyolojisine yönelik çalışmaların yapılması,

2. *Microsporidium spp*'nin bulaşması ve evrimi hakkında deneysel çalışmalara yer verilmesi ve korunma yolları hakkında bilgilendirme çalışmaları yapılmalı,

3. *Microsporidium spp*'nin tanısında klinik belirtiler göz önünde bulundurularak, uzun süren sindirim sistemi şikayetlerinde hastaların laboratuvara yönlendirilerek parazitin araştırılmasının sağlanması,

4. İmmün süpresif ve kanser hastalarında tedavi süresince ve sonrasında hastanın şikayetleri göz önüne alınarak *Microsporidium spp*'nin tanısı için örnek alınımının yapılması,

5. Rutin tanıda boyama yöntemlerinin kullanılması,

6. Tanıda şüpheye düşüldüğünde tekrar boyama yapılması, bunun da yetersiz kaldığı durumlarda laboratuvar koşullarının uygunluğu ön koşuluyla TEM ve PZR tekniklerine başvurulması,

7. Parazitin görülmesinde ülseratif kolit, işhatsızlık, nefes darlığı, genel vücut kaşıntısı, BGG ve karın ağrısının şikayetler ile ilgili hastalıkların tanısında *Microsporidium spp.*'ninde aranmasının gerekli olduğu,

8. Sindirim sistemi şikayetleri olan hastalarda *Microsporidium spp.* görülme durumu ile üriner sistem infeksiyonu, diyabet, obezite, eklem ağrısı, dispepsi, enüresis nokturna, kronik karaciğer hastalığı, ateş ve eozinofili arasındaki ilişki n=30'un altında olduğu için değerlendirme yeterli görülmemiştir. Farklı araştırmalarda bu gruplardaki denek sayısını artırarak incelemelerinin yapılması ve istatistiki olarak anlamlılığının değerlendirilmesinin uygun olacağı önerileri sunulmuştur.

7. ÖZET

İNSANLARDA MICROSPORIDIA'LARIN EPİDEMİYOLOJİSİ (MALATYA İLİ ÖRNEĞİ)

İlk kez 1857'de izole edilip tanımlanan ve zorunlu hücre içi paraziti olan microsporidialar farklı hayvan gruplarında ve omurgasızlarda görülmektedir. Son yıllarda ise microspora şubesinde bulunan microsporidia içinde yer alan protozoonlardan bazılarının insanlarda parazitlendikleri ve ölümlere neden oldukları anlaşılmıştır.

Microsporidiaların epidemiyolojisi ile ilgili yurt dışı çalışmalarında genellikle HIV pozitif, immün süpresif ve homoseksüel hastalar araştırma grubunu oluşturmuştur. Ülkemizde parazitin görülme yüzdesiyle ilgili araştırmalara, ulaşılan kaynak bilgilerde rastlanılmamıştır. Çalışmada Malatya ve çevresinde araştırma evreninin genişletilerek (Çocuklar, Sindirim sistemi rahatsızlığı olanlar vb.) mikrosporidiaların epidemiyolojisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 2006 yılında Malatya ili ve çevresinden, sindirim sistemi şikayetleri ile İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi polikliniklerine başvuran ve Parazitoloji Anabilim Dalına gelen hastalar dikkate alınarak sindirim sistemi şikayetler olan bireylere ulaşma hedefi konmuş olup bu doğrultuda 2665 dışkı örneği incelenmiştir.

Araştırmaya başlamadan önce etik kurul raporu alınmıştır. Çalışmanın bağımlı değişkeni olan Malatya ili ve çevresindeki bireylerde *Microsporidium spp.* epidemiyolojisinin belirlenmesi amacı ile anket formu geliştirilmiştir. Ayrıca her hastaya hasta bilgilendirilme formu doldurulmuş ve imzalatılmıştır. Dışkı örnekleri modifiye trichrome boyası (MTS), Aist-Fast-Trichrome, Calcofluor ve Giemsa boyama yöntemi ile incelenmiş ve 226 (%8.5) pozitiflik saptanmıştır.

Çalışmada işsizlik, genel vücut kaşıntısı, allerji, immün süpresif+kanserde, nefes darlığı olanlarda ve ülseratif kolitli hastalarda hem genel hem de pozitiflerin arasında yapılan istatistiki değerlendirmeye göre anlamlı ilişki bulunmuştur. Aynı zamanda ishal, karın ağrısı, salya, kabızlık, bulantı kusma, büyüme gelişme geriliğinin'de, makat kaşıntısı ve anemide genel değerlendirmede anlamlı bir ilişki

gözlenmemiş ancak pozitiflerin arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede ise fark anlamlı bulunmuştur.

Sonuç olarak *Microsporidium spp.*'nin ülkemizde tanınan bir parazit olmadığından nedeni belirlenemeyen ishallerde, karın ağrısında, iştahsızlıkta, genel vücut kaşıntısı ve allerjide, immün süpresif+kanserde, nefes darlığında ve ülseratif kolitte rutin olarak dışkıda parazitin aranması gereğinin önemi vurgulanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Microsporidium spp.* , Malatya

8. SUMMARY

THE EPIDEMIOLOGY OF MICROSPORIDIAS IN HUMAN (MALATYA SAMPLE)

Microsporidias first isolated and defined in 1857 are obligate intracellular parasite observed in animal groups and invertebrates. It has been found out in recent years that some of the protozoan in microsporidia in microspora division also get parasitized and cause deaths among human.

Generally homosexual patients and patients with HIV positive and immune suppressive constitute the participants of the international studies about epidemiology of microsporidias. No previous research about the prevalence of the parasite in Turkey has been found in the literature accessed. This study aims at defining the epidemiology of microsporidias by expanding the research population (children, and people with digestive system disorders etc.) in and around Malatya. Thus 2665 feces samples from the patients visiting İnönü University Medical Faculty policlinics and forwarded to Parasitology Department with some digestive systems complaints were analyzed.

Prior to the study, an ethical board report was obtained. A questionnaire form was developed in order to detect the epidemiology of *Microsporidium spp.*, which is the dependent variable of this study, among people in and around the Malatya province. Moreover each patient was asked to fill in and sign a patient information form. The feces samples were analyzed using modified trichrome (MTS), Aist-Fast-Trichrome, Calcofluor and Giemsa painting methods and 226 samples (8.5 %) were found positive.

The study revealed statistically significant correlation between both general samples and positive samples in the cases of lack of apatite, general body pruritus, immune supressive+cancer, dispne and ulcetative colitis. On the other hand while no significant difference was observed in the general analysis in the cases of diarrhea, stomachache, salivation, constipation, nausea and vomiting, retarded growth and

development, pruritus ani, and anemia, a high degree of significance was found out of statistical assessment among positive samples.

Consequently it is emphasized that it is important to check the feces samples for *Microsporidium spp.* parasite regularly for cases including unexplained diarrhea, stomachache, lack of apatite, general pruritus, immune supressive-cancer, dispne, and ulcerative colitis, since *Microsporidium spp.* is not a commonly known parasite in our country.

Key words: *Microsporidium spp.*, Malatya

9. KAYNALAR

1. Kuman H.A, Altıntaş N: Protozoon Hastalıkları: Bornova-İzmir, s. 191-94, 1996
2. Daldal N, Alkan MZ: Isosporiosis, sarcocystosis, microsporidiosis. İmmun Yetmezlikte Önemi Artan Parazit Hastalıkları. ed: Özcel MA: Türkiye Parazitol. Dern. Yay. 12: 51-67,1995
3. Tanyüksel M, Gün H: Mikrosporidia. *T. Parazitol. Derg.* 19(2), 200-209, 1995
4. Weber R., Bryan RT, Schwartz DA, Owen RL.: Human Microsporidial infections. *Clin Microbiol Rev.* 7(4), 426-61, 1994
5. Weiss LM: Microsporidia (ed: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R) Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. sixth ed. Vol II. 3237-57, 2005
6. Didier E: Microsporidiosis. *Clinical Infectious Diseases.* 27:1-8, 1998
7. Sobottka I, Albrecht H, Schafer H, et all. Disseminated *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* infection in a patient with AIDS:Novel diagnostic approaches and autopsy-confirmed parasitological cure following treatment with albendazole, *J Clin Microbiol* 33(11), 2948, 1995
8. Visvesvara GS In vitro cultivation of microsporidia of clinical importance. *Clin Microbiol Rev.* 15(3):401-13. 2002
9. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Srechenberger Pc, Winn Jr WC. Parasitology: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 5 ed. 1098-1099, 1997
10. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Intestinal and Urogenital Protozoa: Medical Microbiology, Fourth ed. 698-711, 2002
11. Shadduck JA. Human microsporidiosis and AIDS, *Rev Infect Dis.* 11:203, 1989.
12. Shadduck JA. Greeley E. Microsporidia and human infections, *Clin Microbiol Rev.* 2:158-165, 1989
13. Xu Y, Weiss LM. The microsporidian polar tube: A highly specialised invasion organelle. *Intern J Parasitol* 35:941-953, 2005.
14. Tanabe Y, Watanabe MM, Sugiyama J. Are *Microsporidia* really related to *Fungi*?: a reappraisal based on additional gene sequences from basal fungi, *Cambridge Journals.*106: 1380-1391, 2002

15. Fischer WM, Palmer JD. Evidence from small-subunit ribosomal RNA sequences for a fungal origin of Microsporidia. *Mol Phylogenet Evol.* 36(3):606-22, 2005.
16. Bigliardi E, Sacchi L: Cell Biology and invasion of the microsporidia. *Microbe and infection.* 373 - 379, 2001
17. Didier Es, Stowall ME, Green LC, Brindley PJ. Et. al.: Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission. *Veter Parasitol.* 126,145-166, 2004
18. Franzen C, Müller A. Moleküler tecniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia. *Clin Microbiol Rev.*12: 243-85, 1999
19. Sancak B, Akyön Y. Microsporidia: Genel özellikleri, infeksiyonları ve laboratuvar tanısı. *Microbiol Bült.* 39:513-522, 2005.
20. Didier ES. Microsporidiosis: an emerging and opportunistic infection in humans and animals. *Acta Trop.* 94:61-76, 2005.
21. C. R. Vossbrinck, J. V. Maddox, S. Friedman, B. A. Debrunner-Vossbrinck & C. R. Woese. Ribosomal RNA sequence suggests microsporidia are extremely ancient eukaryotes. *Nature* 326, 411–414, 1987
22. Franzen C. Microsporidia: how can they invade other cells? *Trends in Parasitology* 20(6), 275-279, 2004
23. Visvesvara GS, da Silva AJ, Croppo GP, Pieniazek NJ, Leitch GJ, Ferguson D, de Moura H, Wallace S, Slemenda SB, Tyrrell I, et al. In vitro culture and serologic and molecular identification of Septata intestinalis isolated from urine of a patient with AIDS. *J Clin Microbiol.* 33(4):930-6. 1995
24. Keeling P J. McFadden GI, Origins of microsporidia. *Trends in Microbiology* 6 (1)19-23, 1998
25. Microsporidiosis.
<http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Microsporidiosis.htm> 2005
26. Koudela, B., Visvesvara, G. S., Moura, H. & Vavra, J. The human isolate of *Brachiola algerae* (Phylum Microspora): development in SCID mice and description of its fine structure features. *Parasitol*, 123:153–162. 2001
27. Cali A, Weiss LM, Takvorian PM. *Brachiola algerae* The Journal of Eukaryotic Microbiology Spore Membrane Systems, their Activity During Extrusion, and a New Structural Entity, the Multilayered Interlaced Network,

- Associated with the Polar Tube and the Sporoplasm. *J Eukar Microbiol*: 49(2):164–174. 2002
28. Cali A, Takvorian PM, Lewin S, et all. *Brachiola vesicularum*, N. G., N. Sp., a New Microsporidium Associated with AIDS and Myositis *J Eukar Microbiol* 45 (3): 240–251. 1998
 29. Müller A, Stellerman K, Hartmann PIA. A powerful DNA extraction method and PCR for detection of Microsporidia in clinical stool specimens. *Clin Diagn Lab Immunol*. 6(2): 243-246, 1999.
 30. C.R. Vossbrinck and C.R. Woese, Eukaryotic ribosomes that lack a 5.8S RNA. *Nature* 320, 287–288. 1986
 31. P.M. Takvorian and A. Cali, Enzyme histochemical identification of the Golgi apparatus in the microsporidian, *Glugea stephani*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 41, 63–64, 1994
 32. Weiss LM, Microsporidia: emerging pathogenic protists. *Acta Tropica* 78;89-102, 2001.
 33. Garcia LS. Laboratory identification of the microsporidia. *J Clin Microbiol.*40:1892-1901, 2002
 34. Hayman JR, Hayes SF, Amon J, Nash TE. Developmental expression of two spore wall proteins during maturation of the microsporidian *Encephalitozoon intestinalis*. *Infect Immun.* 69(11):7057-66. 2001
 35. Prigneau O, Achbarou A, Bouladoux N, Mazier D, Desportes-Livage I. Identification of proteins in *Encephalitozoon intestinalis*, a microsporidian pathogen of immunocompromised humans: an immunoblotting and immunocytochemical study. *J Eukaryot Microbiol.* 47(1):48-56. 2000
 36. Bigliardi E, Selmi MG, Lupetti P, Corona S, Gatti S, Scaglia M, Sacchi L. Microsporidian spore wall: ultrastructural findings on *Encephalitozoon hellem* exospore. *J Eukaryot Microbiol.* 43(3):181-6. 1996
 37. Bohne W, Ferguson DJ, Kohler K, Gross U. Developmental expression of a tandemly repeated, glycine- and serine-rich spore wall protein in the microsporidian pathogen *Encephalitozoon cuniculi*. *Infect Immun.* 68(4):2268-75. 2000

38. **Ronny Larsson. Cytology and taxonomy of the microsporidia**
<http://www.biol.lu.se/cellorgbiol/microsporidia/index.html>
Ronny.Larsson@cob.lu.se 2004.
39. Farthing MJG, Cevallos AM, Kelly P. Intestinal Protozoa. Ed: Manson-Bahr: Manson's Tropical Diseases. 20 th ed, 1290-2, 1996
40. Chup GL, Alroy J, Adelman LS, Bren JC, Skolnik PR. Myositis due to Pleistophora (microsporidia) in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 16:15, 1993.
41. Karaca Ö, Rota S. İnsan microsporidial infeksiyonları. *Türk Microbiyol Cem Derg.* 26(1-4):142-150, 1996.
42. Didier ES, Didier PJ, Friedberg DN, et all. Isolation and characterization of a new hman microsporidian, *Ecephalitozoon hellem* (n.sp), from three AIDS patients with keratoconjunctivitis. *J Infect Dis.*,163:617-621,1991
43. Aguila CD, Cropo GP, Moura H et all. Ultrastructure, immunofluorescence, Western Blot, and PCR analysis of eight isolates of *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* established in culture from sputum and urine samples and düodenal aspirates of five patients with AIDS. *J Clin Microbiol.* 36(5):1201-8, 1998
44. Georges E, Rabaud C, Amiel C, et all. *Enterocytozoon bienewisi* multiorgan microsporidiosis in a HIV-infected patient. *J Infection* 36:223-225,1998
45. Yaman M, Radek R, Aslan I, Ertürk Ö. Characteristic features of *Nosema phyllotretae* wiser 1961, a microsporidian parasite of *Phyllotreta atra* (Coleoptera:Chrysomelidae) in Turkey, *Zoolog Stud.* 44:368-72, 2005
46. Chinchilla M, Reyes L, Guerrero OM. Nosema like organisms found in an immunocompetent human patient. First report in Central América. *Parasitol Latinoam* 57: 69-71, 2002
47. Franzen C, Müller A. Microsporidiosis: human diseases and diagnosis. *Microbes Infect* 3:389-400, 2001
48. Leitch G J, Scanlon M, Shaw A, Visvesvara G S, Wallace S. Use of a fluorescent probe to assess the activities of candidate agents against intracellular forms of *Encephalitozoon* microsporidia. *Antimicrob Agents Chemother.* 41, 337-344, 1997
49. Bretagne S, Foulet F, Alkassoum W, Fleury-Feith J, Develoux M, Prevalence of *Enterocytozoon bienewisi* spores in the stool of AIDS patients

- and African children not infected by HIV, *Bull Soc Pathol Exot.* 86(5):351-7. 1993
50. Field AS, Hing MC, Milliken ST, Marriott DJ. Microsporidia in the small intestine of HIV-infected patients. A new diagnostic technique and a new species. *Med J Aust.* Mar 15;158(6):390-4.1993,
 51. Kotler DP, Orenstein JM. Prevalence of intestinal microsporidiosis in HIV-infected individuals referred for gastroenterological evaluation. *Am J Gastroenterol.* 89(11):1998-2002. 1994
 52. Garcia LS, Shimizu RY, Bruckner DA. Detection of microsporidial spores in fecal specimens from patients diagnosed with cryptosporidiosis. *J Clin Microbiol.* 32(7):1739-41. 1994
 53. Kokoskin E, Gyorkos TW, Camus A, et al. Modified Technique for efficient detection of Microsporidia. *J Clin Microbiol* 32(4):1974-1975, 1994.
 54. DeGirolami PC, Ezratty R, Desai G, McClough A, Asmuth D, Wanke C, Federman M. Diagnosis of intestinal Microsporidiosis by examination of stool and duodenal aspirate with Weber's. *J Clin Microbiol.* 33(4):805-10, 1995
 55. Raynaud L, Delbac F, Brossolle V, et al. Identification of *Encephalitozoon intestinalis* in travelers with chronic diarrhea by specific PCR amplification. *J Clin Microbiol* 36(1):37-40,1998
 56. Fournier S, Liguory O, Sarfati C, David-Ouaknine F, Derouin F, Decazes JM, Disseminated infection due to *Encephalitozoon cuniculi* in a patient with AIDS: case report and review. *HIV Med.* 1:155-161, 2000
 57. Brasil P, Lima DB, Paiva DD et al. Clinical and diagnostic aspect of intestinal Microsporidiosis in HIV-infected patients with chronic diarrhea in Rio De Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 42(6):299-304, 2000
 58. Termmathurapoj s, Engkanun K, Naaglor T et al. Cross-sectional study of intestinal protozoan infections in orphans and childcare workers at the phayathi babies' home, Bangkok, Thailand. *J Trop Med Parasitol* 23,21-7, 2000
 59. Muller A, Bialek R, Kamper A, Fatkenheuer G, Salzberger B, Franzen C. Detection of microsporidia in travelers with diarrhea. *J Clin Microbiol.* Apr;39(4):1630-2 2001

60. Tumwine JK, Kekitiinwa A, Nabukeera N, Akiyoshi DE, Buckholt MA, Tzipori S. *Enterocytozoon bieneusi* among children with diarrhea attending Mulago Hospital in Uganda, *Am J Med Hyg* 67(3), 299-303, 2002
61. Kumar SS, Ananthan S, Joyee AG. Detection of *Enterocytozoon bieneusi* (Microsporidia) by polymerase chain reaction (PCR) using species-specific primer in stool samples of HIV patients. *Indian J Med Res.* 121:215-19, 2005
62. Abreu-Acosta N, Lorenzo-Morales J, Leal-Guio Y, et al. *Enterocytozoon bieneusi* (microsporidia) in clinical samples from immunocompetent individuals in Tenerife, Canary Islands, Spain. *T Royal Soc Trop Med Hygien.* 99, 848-55, 2005
63. Yazar S, Eser B, Yalcin S, Sahin I, Koc AN. 2003. A case of pulmonary Microsporidiasis in an acute myeloblastic leukemia (AML) - M3 patient. *Yonsei Med J.* 44(1):146-9.
64. Büget E, Büyükbaba-Boral Ö, Kirkoyun-Uysal H, Et All. 2000. Türkiye'de bir AIDS hastasında ilk mikrosporidiaz ve solunum sistemini tutan ilk kriptosporidiaz olgusu. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 30(3-4):166-170
65. Ozkirim A, Keskin N. 2001. A survey of *Nosema apis* of honey bees (*Apis mellifera* L.) producing the famous Anzer honey in Turkey. *Z Naturforsch [C].* 56(9-10):918-9.
66. Eröksüz H, Eröksüz Y, Metin N, Özer H. Bir tavşan kolonisindeki doğal encephalitozoonosis olguları üzerine morfolojik incelemeler. *Tr J veterinary Animal Sciences.* 23, 191-95, 1999
67. Yaman M, Radek R. *Nosema chaetocnema* sp.n. (Microspora: Nosematidae), a microsporidian parasite of *Chaetocnema tibialis* (Coleoptera: Chrysomelidae), *Acta Protozool.* 42, 231-237, 2003
68. Silifko TR, Smith HV, Rose JB. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *International Journal of Parasitology*, 30; 1379-93, 2000
69. Weber R, Kuster H, Visvesera GS, Bryan RT, Schwartz and Luthy R, disseminated microsporidiosis due to *Encephalitozoon hellem*: pulmonary colonization, microhematuria and mild conjunctivitis in a patient with AIDS, *Clin Infect Dis* 17:415, 1975.
70. Avery SW, Undeen AH. The isolation of microsporidia and other pathogens from concentrated ditch water. *J Am Mosq Control Assoc.* 3(1):54-8. 1987

71. Cotte L, Rabodonirina M, Chapuis F, Bailly F, Bissuel F, Raynal C, Gelas P, Persat F, Piens MA, Trepo C. Waterborne outbreak of intestinal microsporidiosis in persons with and without human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis.* 180(6):2003-8. 1999
72. Deplazes P, Mathis A, Weber R. Epidemiology and zoonotic aspects of microsporidia of mammals and birds. *Contrib Microbiol.* 6:236-60. 2000
73. Schwartz DA, Visvesvara GS, Diesenhouse MC, et al. Pathologic features and immunofluorescent antibody demonstration of ocular microsporidiosis (*Encephalitozoon hellem*) in seven patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Ophthalmol.* 15;115(3):285-92. 1993
74. Schwartz DA, Visvesvara GS, Leitch GJ, Tashjian L, Pollack M, Holden J, Bryan RT. Pathology of symptomatic microsporidial (*Encephalitozoon hellem*) bronchiolitis in the acquired immunodeficiency syndrome: a new respiratory pathogen diagnosed from lung biopsy, bronchoalveolar lavage, sputum, and tissue culture. *Hum Pathol.* 24(9):937-43. 1993
75. Brusseau ML, Oleen JK, Santamaria J, et al. Transport of microsporidium *Encephalitozoon intestinalis* spores in sandy porous media. *Water Research* 39, 3636-42, 2005
76. John DE, Haas C N., Nwachuku N, Gerba CP. Chlorine and ozone disinfection of *Encephalitozoon intestinalis* spores. *Water Research,* 39(11), 2369-2375, 2005
77. Schottelius J, Hüger F, Schüler Th, Gonçalves da Costa SC. Chitinolytic activity in viable spores of *Encephalitozoon* Species. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 95(5):703-5, 2000
78. Franzen C, Hartmann P, Salzberger B. Cytokine and nitric oxide responses of monocyte-derived human macrophages to microsporidian spores. *Experimental parasitol.* 109:1-6, 2005.
79. McDougall R J, Tandy M W, Boreham R E, Stenzel D J, O'Donoghue P J. Incidental finding of a microsporidian parasite from an AIDS patient. *J Clin Microbiol.* 31, 436-439. 1993
80. Eeftink Schattenkerk J K M T, Van Gool T. Clinical and microbiological aspects of microsporidiosis. *Trop Geogr Med.* 44, 287. 1992

81. Franzen C, Müller A, Salzberger B, Fätkenheuer G, Eidt S, Mahrle G, Diehl V, Schrappe M. Tissue diagnosis of intestinal microsporidiosis using a fluorescent stain with Uvitex 2B. *J Clin Pathol.* 48, 1009–1010. 1995
82. Caramello P, Mazzucco G, Romeo M, Ullio A, De Rosa G, Lucchini A, Forno B, Brancale T, Macor A, Preziosi C, Gioannini P. Clinical and microscopical features of small-intestinal microsporidiosis in patients with AIDS. *Infection.* 23:362–368. 1995
83. Rabeneck L, Gyorkey F, Genta R M, Gyorkey P, Foote L W, Risser J M. The role of microsporidia in the pathogenesis of HIV-related chronic diarrhea. *Ann Intern Med.* 119:895–899. 1993
84. Rabeneck L, Genta R M, Gyorkey F, Clarridge J E, Gyorkey P, Foote L W. Observations on the pathological spectrum and clinical course of microsporidiosis in men infected with the human immunodeficiency virus: follow-up study. *Clin Infect Dis.* 20, 1229–1235, 1995
85. Eeftinck Schattenkerk J K M T, Van Gool T, van Ketel R J, Bartelsman J F, Kuiken C L, Terpstra W J, Reiss P. Clinical significance of small-intestinal microsporidiosis in HIV-1-infected individuals. *Lancet.* 337:895–898, 1991
86. Schwartz D A, Abou Elella A, Wilcox C M, Gorelkin L, Visvesvara G S, Thompson S E, Weber R, Bryan R T. The presence of *Enterocytozoon bieneusi* spores in the lamina propria of small bowel biopsies with no evidence of disseminated microsporidiosis. *Arch Pathol Lab Med.* 119:424–428. 1995
87. De Aguila C, Lopez-Velez R, Fenoy S, Turrientes C, Cobo J, Navajas R, Visvesvara G S, Croppo G P, Da Silva A J, Peniazek N J. Identification of *Enterocytozoon bieneusi* spores in respiratory samples from an AIDS patient with a 2-year history of intestinal microsporidiosis. *J Clin Microbiol.* 35, 1862–1866. 1997
88. Josephson G D, Sarlin J, Reidy J, Pincus R. Microsporidial rhinosinusitis: is this the next pathogen to infect the sinuses of the immunocompromised host? *Otolaryngol Head Neck Surg.* 114, 137–139. 1996
89. Chu P, West A B. *Encephalitozoon (Septata) intestinalis*. Cytologic, histologic, and electron microscopic features of a systemic intestinal pathogen. *Am J Clin Pathol.* 106, 606–614, 1996

90. Clark S, Morgan S, Williams J. Chronic diarrhoea associated with *Septata intestinalis*. *Postgrad Med J.* 71, 764. 1995
91. Willson R, Harrington R, Stewart B, Fritsche T. Human immunodeficiency virus 1-associated necrotizing cholangitis caused by infection with *Septata intestinalis*. *Gastroenterology.* 108:247–251. 1995
92. Soule J B, Halverson A L, Becker R B, Pistole M C, Orenstein J M. A patient with acquired immunodeficiency syndrome and untreated *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* microsporidiosis leading to small bowel perforation. Response to albendazole. *Arch Pathol Lab Med.* 121, 880–887. 1997
93. Franzen C, Schwartz D A, Visvesvara G S, Müller A, Schwenk A, Salzberger B, Fätkenheuer G, Hartmann P, Mahrle G, Diehl V, Schrappe M. Immunologically confirmed disseminated, asymptomatic *Encephalitozoon cuniculi* infection of the gastrointestinal tract in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis.* 21, 1480–1484, 1995
94. Weber R, Deplazes P, Flepp M, Mathis A, Baumann R, Sauer B, Kuster H, Luthy R. Cerebral microsporidiosis due to *Encephalitozoon cuniculi* in a patient with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 13;336(7):474-8. 1997
95. Terada S, Reddy K R, Jeffers L J, Cali A, Schiff E R. Microsporidian hepatitis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1987;**107**:61–62.
96. Zender H O, Arrigoni E, Eckert J, Kapanci Y. A case of *Encephalitozoon cuniculi* peritonitis in a patient with AIDS. *Am J Clin Pathol.* 1989;**92**:352–356.
97. Pol S, Romana C A, Richard S, Amouyal P, Desportes Livage I, Carnot F, Pays J F, Berthelot P. Microsporidia infection in patients with the human immunodeficiency virus and unexplained cholangitis. *N Engl J Med.* 328: 95–99. 1993
98. Orenstein J M, Gaetz H P, Yachnis A T, Frankel S S, Mertens R B, Didier E S. Disseminated microsporidiosis in AIDS: are any organs spared. *AIDS.* 11, 385–386, 1997
99. Lowder C Y. Ocular microsporidiosis. *Int Ophthalmol Clin.*;33, 145–151, 1993

100. Microsporidiosis. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Microsporidiosis.htm>, 1999
101. Davis R M, Font R L, Keisler M S, Shadduck J A. Corneal microsporidiosis. A case report including ultrastructural observations. *Ophthalmology*. 97: 953–957, 1990
102. Shadduck J A, Meccoli R A, Davis R, Font R L. Isolation of a microsporidian from a human patient. *J Infect Dis*. 162, 773–776. 1990
103. Silveira H, Canning E U. *Vittaforma corneae* n. comb. for the human microsporidium *Nosema corneum* Shadduck, Meccoli, Davis & Font, 1990, based on its ultrastructure in the liver of experimentally infected athymic mice. *J Eukaryot Microbiol*. 42, 158–165. 1995
104. Bryan R T, Cali A, Owen R L, Spencer H C. Microsporidia: opportunistic pathogens in patients with AIDS. *Prog Clin Parasitol*. 2:1–26, 1991
105. Cali A, Meisler D M, Lowder C Y, Lembach R, Ayers L, Takvorian P M, Rutherford I, Longworth D L, McMahon J, Bryan R T. Corneal microsporidiosis: characterization and identification. *J Protozool*. 38, 215–217. 1991
106. Field A S, Marriott D J, Milliken S T, Brew B J, Canning E U, Kench J G, Darveniza P, Harkness J L. Myositis associated with a newly described microsporidian, *Trachipleistophora hominis*, in a patient with AIDS. *J Clin Microbiol*. 34:2803–2811, 1996
107. Kelkar R, Sastry P S R K, Kulkarni S S, Saikia T K, Parikh P M, Advani S H. Pulmonary microsporidial infection in a patient with CML undergoing allogeneic marrow transplant. *Bone Marrow Transplant*. 19:179–182, 1997
108. Macher A M, Neafie R, Angritt P, Tuur S M, Nelson R P, Cali A. Case for diagnosis *Mil Med*. 153, 41–48, 1988
109. Macher A M, Neafie R, Angritt P, Masur S M. Microsporidial myositis and the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): a four-year follow-up. *Ann Intern Med*.;109, 343. 1988
110. Ledford D K, Overman M D, Gonzalo A, Cali A, Mester W, Lockey R F. Microsporidiosis myositis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med*. 102, 628–630, 1985

111. Chupp G L, Alroy J, Adelman L S, Breen J C, Skolnik P R. Myositis due to *Pleistophora* (Microsporidia) in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis.* 16:15–21, 1993
112. Grau A, Valls M E, Williams J E, Ellis D S, Muntané M J, Nadal C. Miositis por *Pleistophora* en un paciente con sida. *Med Clin (Barcelona)*.107,779–781, 1996
113. Preston D C. Electrophysiology of microsporidia myositis in an AIDS patient. *Muscle Nerve*.16, 1420–1422, 1993
114. Hollister WS, Canning EU, Weidner E, Field AS, Kench J, Marriott DJ. Development and ultrastructure of *Trachipleistophora hominis* n.g., n.sp. after in vitro isolation from an AIDS patient and inoculation into athymic mice. *Parasitology.* 112 (Pt 1):143-54. 1996
115. Cali A, Takvorian P M, Lewin S, Rendel M, Sian C, Wittner M, Weiss L M. Identification of a new *Nosema*-like microsporidian associated with myositis in an AIDS patient. *J Eukaryot Microbiol.* 43:108, 1996
116. Curry A, Beeching NJ, Gilbert JD, Scott G, Rowland PL. *Trachipleistophora hominis* infection in the myocardium and skeletal muscle of a patient with AIDS. *J Infect.* 51,139-144,2005
117. Mertens R B, Didier E S, Fishbein M C, Bertucci D C, Rogers L B, Orenstein J M. *Encephalitozoon cuniculi* microsporidiosis: infection of the brain, heart, kidneys, trachea, adrenal glands, and urinary bladder in a patient with AIDS. *Mod Pathol*.10, 68–77, 1997
118. Yachnis A T, Berg J, Martinez-Salazar A, Bender B S, Diaz L, Rojiani A M, Eskin T A, Orenstein J M. Disseminated microsporidiosis especially infecting the brain, heart, and kidneys: report of a newly recognized pansporoblastic species in two symptomatic AIDS patients. *Am J Clin Pathol*.106:535–543. 1996
119. Corcoran G D, Isaacson J R, Daniels C, Chiodini P L. Urethritis associated with disseminated microsporidiosis: clinical response to albendazole. *Clin Infect Dis.* 22:592–593, 1996
120. Schwartz D A, Visvesvara G, Weber R, Bryan R T. Male genital tract microsporidiosis and AIDS: prostatic abscess due to *Encephalitozoon hellem*. *J Eukaryot Microbiol.* 41, 61, 1994

121. De Groot MA, Visvesvara G, Wilson ML, et al. Polymerase chain reaction and culture confirmation of disseminated *Encephalitozoon cuniculi* in a patient with AIDS: successful therapy with albendazole. *J Infect Dis.* 171(5):1375-8. 1995
122. Belcher J W, Guttenberg S A, Schmookler B M. Microsporidiosis of the mandible in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *J Oral Maxillofac Surg.* 55, 424–426. 1997
123. Bergquist N R, Stintzing G, Smedman L, Waller T, Andersson T. Diagnosis of encephalitozoonosis in man by serological tests. *Br Med J.* 288, 902. 1984
124. Weber R, Sauner B, Spycher MA, Delazes P, Keller R, Amman R, Briner J, Lüthy R. Detection of *Septata intestinalis* (Microsporidia) in stool specimens, and copro-diagnostic monitoring of successful treatment with albendazole, *Clin Infect Dis.* 19:342, 1994.
125. Weber R, Sauer B, Lüthy R, Nadai D. Intestinal coinfection with *Enterocytozoon bieneusi* and *Cryptosporidium* in a human deficiency virus W-infect child with chronic diarrhea, *Clin Infect Dis.* 17:480, 1993.
126. Leitch G J, He Q, Wallace S, Visvesvara G S. Inhibition of the spore polar filament extrusion of the microsporidium, *Encephalitozoon hellem*, isolated from an AIDS patient. *J Eukaryot Microbiol.* 40:711–717, 1993
127. Fedorko D P, Nelson N A, Cartwright C P. Identification of microsporidia in stool specimens by using PCR and restriction endonucleases. *J Clin Microbiol.* 33, 1739–1741, 1995
128. Mota P, Rauch CA, Edberg SC, microsporidid and cyclospora: Epidemiology and assessment of risk from the environment. *Critical Rev Microbiol.* 26(2), 69-90, 2000
129. Carter PL, MacPherson DW, McKenzie RA. Modified Technique to recover microsporidian spores in sodium acetate-acetic acid-formalin-fixed fecal samples by light microscopy and correlation with transmission electron microscopy. *J Clin Microbiol* 34(11), 2670-73, 1996
130. Ignatius R, Hensvheel S, Liesenfeld O, et al. Comparative Evaluation of Modified Trichrome and Uvitex 2B stains for detection of low numbers of microsporidial spores in stool specimens. *J Clin Microbiol* 35(9), 2266-69, 1997

131. Weber R'in kendi labortuvarlarında PCR ile doğrulanmış 2 *Encephalitozoon* spp'sinin MTS ile boyanmış resimleri (kendi koleksiyonundan).
132. Green LC, LeBlanc PJ, Didier ES. Discrimination between viable and dead *Encephalitozoon cuniculi* (microsporidian) spores by dual staining with sytox green and calcofluor white M2R. *J Clin Microbiol* 38 (10):3811-14, 2000
133. Chioralia G, Trammer T, Kampen H, Seitz H. Relevant criteria for detecting microsporidia in stool specimens *J Clin Microbiol*, 36 (8), 2279-83, 1998
134. Joseph J, Murthy S, Garg P, Sharma S, Use of Different Stains for Microscopic Evaluation of Corneal Scrapings for Diagnosis of Microsporidial Keratitis *J Clin Microbiol*, 44(2), 583-5, 2006
135. Field AS, Marriott DJ, Hing MC. The Warthin-Starry stain in the diagnosis of small intestinal microsporidiosis in HIV-infected patients. *Folia Parasitol (Praha)*. 40(4):261-6, 1993
136. Reisner BS, Spring J. Evaluation of combined Acid-Fast-trichrome stain for detection of microsporidia and *Crptosporidium parvum*. *Arch Pathol Lab Med*, 124, 777-779, 2000
137. Joseph J, Vemuganti GK, Garg P, Sharma S. Histopathological evaluation of ocular microsporidiosis by different stains. *BMC Clin Pathol*. 23; 6. 2006
138. Aldras AM, Orenstein JM, Kottler DP, Shaddock JA, Didier E. Detection of microsporidia, by indirect immunofluorescence antibody test using polyclonal and monoclonal antibodies, *J Clin Microbiol* 32:608, 1994.
139. Mathis A, Weber R, Deplazes P. Zoonotic potential of the microsporidia. *Clin Microbiol Rev*. 18(3):423-45, 2005
140. Accoceberry I, Thellier M, Desportes-Livage I. Et all. Production of monoclonal antibodies directed against the *Microsporidium Enterocytozoon bieneusi* *J Clin Microbiol*. 37(12):4107-12, 1999
141. Franzen C, Müller A, Hartmann P, Salzberger B. Quantitation of Microsporidia in cultured cell by flow cytometry. *Wiley-Liss Inc*. 60A:107-114, 2004
142. Sokolova YY, Sokolov IM, Fuxa JR. Identification of Microsporidia infections in nature: light microscopy or PCR? *Protitology* 3(4):273-281, 2004
143. Becker PJA, Derks GJM, Gool V, Rietveld FJR, Sauerwein RW. *Encephalocytozoon intestinalis*- specific monoclonal antibodies for

- laboratory diagnosis of Microsporidiosis. *J Clin Microbiol* 34(2):282-85, 1996
144. Sateeshkumar S, Ananthan S. Electron microscopy identification of microsporidia (*Enterocytozoon bieneus*) and *Cylospora cayetanensis* from stool samples of HIV infected patients. *Indian J Med Microbiol.* 22(2):119-122, 2004
 145. Bryan RT, Weber R. Microsporidia: emerging pathogens in immunodeficient persons. *Arch Pat lab Med.* 117:1243-45, 1993.
 146. Van gool T, Snijders F, Reis P et all. Diagnosis of intestinal and disseminated microsporidial infections in patients with HIV by a new rapid fluorescenc techniqu. *J Clin Patho.* 46(8):694-699, 1993
 147. Ryan NJ, Sutherland G, Coughln K, et all. A new trichrome ble stain for dete ction of microsporidial species in urine, stoll and nasopharyngeal specimens. *J clin microbiol* 31(12): 3264-3269. 1993
 148. Visvesvara GS, Leitch GJ, Da Silva AJ, et all. Polyclonal and monoclonal and PCR-amplifid smali-ssubunit rRNA identificatin of a Microsporidian, *Encephalitozoon hellem*, isolated from an AIDS patient with disseminated infection, *J Clin Microbiol* 32(11):2760, 1994
 149. Hollister WS, Canning EU, Colbourn NI, Aarons EJ. Encephalitozoon cuniculi isolated from the urine of an AIDS patient, which differs from canine and murine isolates. *J Eukaryot Microbiol.* Jul-Aug;42(4):367-72. 1995
 150. Rossi P, La Rosa G, Ludovisi A, Tamburrini A, Gomez Morales MA, Pozio E. Identification of a human isolate of Encephalitozoon cuniculi type I from Italy. *Int J Parasitol.* 28(9):1361-6. 1998
 151. del Aguila C, Moura H, Fenoy S et all. Visvesvara GS. In vitro culture, ultrastructure, antigenic, and molecular characterization of Encephalitozoon cuniculi isolated from urine and sputum samples from a Spanish patient with AIDS. *J Clin Microbiol.* 39(3):1105-8. 2001
 152. Deplazes P, Mathis A, Baumgartner R, Tanner I, Weber R. Immunologic and molecular characteristics of Encephalitozoon-like microsporidia isolated from humans and rabbits indicate that Encephalitozoon cuniculi is a zoonotic parasite. *Clin Infect Dis.* 22(3):557-9. 1996

153. Deplazes P, Mathis A, van Saanen M, Iten A, Keller R, Tanner I, Glauser MP, Weber R, Canning EU. Dual microsporidial infection due to *Vittaforma corneae* and *Encephalitozoon hellem* in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis.* 27(6):1521-4. 1998
154. Mathis A, Michel M, Kuster H, Muller C, Weber R, Deplazes P. Two *Encephalitozoon cuniculi* strains of human origin are infectious to rabbits. *Parasitology.* 114 (Pt 1):29-35. 1997
155. He Q, Leitch GJ, Visvesvara GS, Wallace S, Effects of Nifedipine, Metronidazole, and nitric oxide donors on spore germination and cell culture infection of the microsporidia *Encephalitozoon hellem* and *encephalitozoon intestinalis*. *Antimicrob Agents Chemoter,* 40(1), 179-185, 1996
156. Albrecht H, Stellbrinck H J, Sobottka I. Failure of itraconazole to prevent *Enterocytozoon bieneusi* infection. *Genitourin Med.* 71, 325–326, 1995
157. Fedorko D P, Hijazi Y M. Application of molecular techniques to the diagnosis of microsporidial infections. *Emerging Infect Dis.* 2, 183–192, 1996
158. Beauvais B, Sarfati C, Challier S, Derouin F. In vitro model to assess effect of antimicrobial agents on *Encephalitozoon cuniculi*. *Antimicrob Agents Chemother.* 38:2440–2448. 1994
159. Canning E U, Hollister W S. In vitro and in vivo investigations of human microsporidia. *J Protozool.* 38, 631–635, 1991
160. Unat, E. K, Yücel, A, Altaş, K, Samastı M, Unat' ın Tıp Parazitolojisi. *Cer Tıp Fak Vak Yay.*15 (5. Baskı). 1995.
161. Ok ÜZ, Girginkardeşler N, Kilimccioğlu A, Limoncu E. Dışkı inceleme Yöntemleri. Ed: Özcel MA, Altıntaş N:Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye parazitol dern yay. 15,26-7, İzmir,1997
162. Özdamar K. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi–1. Kaan Kitabevi. 2. baskı. 1999.

10. EKLER

1. Etik Kurul Raporu
2. Bilgilendirme Formu
3. Anket Formu
4. Prof. Dr. Rainer Weber'in G6nderdiği 6rneklerin Belgesi

Ek 1

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 09/03/2006
Toplantı Yeri : TÖTM.-MALATYA
Araştırmanın Protokol No.su : 2006/31

“İnsanlarda Mikrosporidia'ların Epidemiyolojisi (Malatya İli Örneği)” konulu araştırma incelenmiştir.

Adı geçen araştırmanın;araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi yönergesinde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve 10.madde gereği sorumluluk araştırmacıya ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakıncanın bulunmadığına karar verildi.

Prof.Dr. Ercüment Ölmez Başkan İmza	Prof.Dr. İsmet Aydoğdu Başkan Yrd. İmza	Prof.Dr. Tayfun Güldür Üye İmza
Doç.Dr. Savaş Demirbilek Üye İmza	Doç.Dr. M. Mutlu Meydanlı Üye İmza	Doç.Dr. Hale Kırımlıoğlu Üye İmza
Yrd.Doç.Dr. Osman Celbiş Üye İmza	Doç.Dr. Yaşar Bayındır Üye İmza	Ecz. Songül Harputluoğlu Raportör İmza

Ek 2

HASTA (Veli/Vasi) BİLGİLENDİRME FORMU

Bu klinik çalışmanın amacı, “İnsanlarda Mikrosporidia’ların Epidemiyolojisi (Malatya İli Örneği)” isimli tıbbi uygulamanın etkinliğini değerlendirmektir.

Bu tıbbi uygulamanın hastalığınıza yapılacak olan tedavinin etkinliğini artırmada iyi olacağı düşünülmektedir.

Fakültemiz Etik Kurulu tarafından, bu çalışmanın Helsinki Deklerasyonunda belirtilen maddelere göre ahlaki, vicdani ve tıbbi kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

Çalışma öncesinde bu tıbbi uygulama ile ilgili tedaviyi istediğinize dair bir evrak imzalamanız gerekmektedir.

Bu çalışmaya katılmakta karar tamamen size aittir (özgürsünüz). Başlangıçta kabul edip, daha sonra fikir değiştirip, hiç gerekçe göstermeden çalışmadan ayrılabilirsiniz. Bu durumda sizinle ilgili tıbbi özende bir değişiklik olmayacaktır.

HASTA (Veli/vasi) RIZA FORMU

Aşağıda imzası bulunan ben “İnsanlarda Mikrosporidia’ların Epidemiyolojisi (Malatya İli Örneği)” isimli, planlanan klinik çalışma hakkında, uzm. Ülkü **KARAMAN**’dan tam olarak bilgi aldığımı beyan ederim.

Bu tıbbi uygulamanın etik açısından Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) kurallarına uygun olarak incelendiğini ve insanlara uygulanmasının sakıncalı olmayacağı bana anlatıldı.

Bana verilen bu bilgiler temelinde, istediğim herhangi bir zaman, hiç bir sakınca olmadan, çalışmadan çekilebileceğimi teyid ediyorum.

Hasta No:

Hastanın Adı Soyadı:

İmzası:

Hastanın Doğum tarihi:

Hastanın veli/vasisinin Adı Soyadı:

İmzası:

Araştıracının İmzası:

Tarih:

ANKET FORMU

Kayıt no :
 Adı Soyadı :
 Cinsiyeti :
 Yaşı :
 İkametgah adresi
 ve tel. :

1	Allerjik şikayetiniz var mı?	Evet	Hayır
2	Halsizlik şikayetiniz var mı?	Evet	Hayır
3	Makat kaşıntısı şikayetiniz var mı?	Evet	Hayır
4	Çocuk hasta iseniz Büyüme gelişme geriliği şikayetiniz var mı?	Evet	Hayır
5	Salya şikayetiniz var mı?	Evet	Hayır
6	Obezite şikayetiniz var mı?	Evet	Hayır
7	İshal şikayetiniz var mı?	Evet	Hayır
8	Karın ağrınız var mı?	Evet	Hayır
9	Ateş şikayetiniz varmı?	Evet	Hayır
10	Gaz şikayetiniz varmı?	Evet	Hayır
11	Bulantı kusma varmı?	Evet	Hayır
12	Hazımsızlık şikayetiniz varmı?	Evet	Hayır
13	Kabızlık şikayetiniz varmı?	Evet	Hayır
14	Son günlerde kilo kaybınız oldumu?	Evet	Hayır
15	Çocuğunuzda Enüresis nakturna şikayeti varmı?	Evet	Hayır
16	Eklem ağrılarınız varmı?	Evet	Hayır
17	Üriner sistem infeksiyonunuz var mı?	Evet	Hayır
18	Kronik bir hastalığınız veya hastalıklarınız var ise nedir?		

Araştırma Konusu : **İnsanlarda Mikrosporidia'ların Epidemiyolojisi (Malatya ili Örneği)**

Yukarıda belirtilen ifadeleri okuduğumu, onayladığımı ve ayrıca bu testin uygulanabilmesi için dışkı vermeyi kabul ediyorum.

Hastanın İmzası :

Ek 4

University Hospital
Zurich



**Division of Infectious Diseases
and Hospital Epidemiology
Dept. of Medicine**

RAE U 53

Dr. Ülkü Karaman
Ionu University Turgut Ozal
Medicine of Faculty
Department of Parasitology
Malatya/Turkey

Rainer Weber, MD
Head of the Division

University Hospital Zurich
Division of Infectious Diseases
and Hospital Epidemiology
Dept. of Medicine

Rämistrasse 100
CH-8091 Zürich, Switzerland

Phone (direct) +41 44 255 38 26
Phone (secret.) +41 44 255 25 41
Phone (main) +41 44 255 11 11
Fax +41 44 255 32 91
infweb@usz.unizh.ch

Zürich, September 6th, 2006 RW/cv

Microsporidia

Dear Colleague

Please find enclosed the following:

- Stained slide, positive for Enterocytozoon
- Stained slide, positive for Encephalitozoon
- Stool sample containing Enterocytozoon Microsporidia

We hope, that these samples are helpful. Please do not hesitate to contact us by e-mail if there are any further questions.

With best regards

Rainer Weber, MD
Professor of Medicine
Head of the Division

11. ÖZGEÇMİŞ

Adıyaman'nın Besni ilçesinde 1970 yılında doğmuş ilk ve orta öğrenimini Malatya'da tamamlamıştır. Yozgat Sağlık Meslek Lisesi'ni 1988 yılında bitirdikten sonra Malatya İl Sağlık Müdürlüğü'ne bağlı Arapgir Devlet Hastanesi ve Çavuşoğlu Sağlık Ocağı kurumlarında sırasıyla çalışmış ve Eskişehir Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi hemşirelik bölümünü 1993 yılında bitirmiştir. İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne 1994 yılında başlamış ve 1998 yılında mezun olmuştur. Parazitoloji Anabilim Dalı'na 1999 yılında yüksek lisans eğitimine başlamış ve eğitimi dolayısı ile bu anabilim dalına geçici görevle hemşire olarak atanmıştır. Eğitimini 2001 yılında bitirmiş olup 2003 yılında aynı anabilim dalında doktora eğitimine başlamıştır. Halen eğitimini sürdürmektedir.

Evli ve iki çocuk annesidir.

