

SEMHİ ALTI PARMAK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2013

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS

HIV POZİTİF BİREYLERİN DİŞKİLARINDA
CYCLOSPORA CAYETANENSİS VARLIĞININ ÇEŞİTLİ
YÖNTEMLERLE GÖSTERİLMESİ

SEMİH ALTIPARMAK

DANIŞMAN
PROF. DR. Y. ALİ ÖNER

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Programında Semih Altıparmak tarafından hazırlanan HIV Pozitif Bireylerin Dışkılarında Cyclospora Cayetanensis Varlığının Çeşitli Yöntemlerle Gösterilmesi başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

28 / 02 / 2013

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof.Dr Ali Ağaçfıdan	İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD. 
2.Prof.Dr.Y.Ali Öner (Danışman)	İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD. 
3.Prof Dr Betigül Öngen	İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD. 
4.Prof.Dr Zayre Erturan	İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
5.Yard.Doç.Dr.Pembe Çağatay	İstanbul Tıp Fak. Biyoistatistik ve Tıp Bil. AD. 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

SEMİH ALTIPARMAK

İTHAF

Ailem'e.

TEŞEKKÜR

Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans süresince bilgi ve deneyimlerimden faydalandığım, ilgisi, sabrı ve bana her konuda yardımcı olan kişiliği ile değerli danışman hocam Prof. Dr. Y. Ali Öner'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans süresince yardımlarını aldığım Anabilim Dalı Başkanlarım Prof. Dr. Bülent Gürler ve Prof. Dr. Ali Ağaçfıdan'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans süresince her konuda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Betigül Öngen'e teşekkür ederim.

Bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum değerli hocalarım Prof. Dr. M. Derya Aydın, Prof. Dr. Selim Badur, Prof. Dr. Şengül Derbentli, Prof. Dr. Zayre Erturan, , Prof. Dr. Nezahat Gürler, Prof. Dr. Çiğdem Kayacan, Prof. Dr. Meltem Uzun, Prof. Dr. F. Yıldız Yeğenoğlu ve Prof. Dr. O. Şadi Yenen'e teşekkür ederim.

Değerli hocalarım Doç. Dr. Zerrin Aktaş ve Doç. Dr. Özden Boral'a teşekkür ederim.

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Doç. Dr. Bayram Kıran, Doç. Dr. Hasan Nazik ve Doç. Dr. Dilek Şatana'ya teşekkür ederim.

Çalışma sırasında her türlü destek ve yardımını aldığım Dr. Hayriye Kırkoyun Uysal, Dr. Serdar Susever, Bil. Uz. Sezer Sepetçioğlu, Bil. Uz. Osman Köksal, Vet. Hek. Melis Kanturvardar, Bil. Uz. Kutay Sarsar'a ve tüm yüksek lisans, doktora ve uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma öneri ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimi dönemimde bilimsel eğitimime katkısını esirgemeyen, maddi ve manevi tüm yardımlarından ötürü T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı hocalarından başta Doç. Dr. H. Ayşegül Taylan Özkan'a ve Mik.Uz.Dr. Cahit Babür, Vet.Hek. Mesut Mungan, Dr. Biyo. A. Evren Eken, Tekniker Mustafa Uslular ve tüm personeline teşekkürü borç bilirim.

T.C. Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği hocalarından Sn. Dr. Taner Yıldırım, Sn. Dr. Funda Şimşek ve Sn. Dr. Arzu Kantürk'e yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışma döneminde yardımlarını aldığım İstanbul Tıp Fakültesi Parazitoloji Bilim Dalı çalışanları Bil. Uz. Ebru Sezgi Sabahoğlu, Lab. Tek. Selvi Erçiktı ve Sn. Emine Gündüz'e teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimim sırasında yabancı dil bilgisinden yararlandığım saygıdeğer dostum İngilizce Öğretmeni Bayram Hacıoğlu'na teşekkür ederim.

Hayatımın tüm dönemlerimde bıkmadan usanmadan her konuda bana yardımcı annem Münüre Altıparmak, babam Ülkü Altıparmak ve ablam Nagehan Özdemir'e sonsuz teşekkürlerimi iletirim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22451

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİİ
BEYAN	İV
İTHAF	V
TEŞEKKÜR.....	VI
İÇİNDEKİLER	Vİİİ
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET.....	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Sınıflandırma	3
2.3. Morfolojisi.....	5
2.3.1. Ookist	6
2.3.2. Sporokist.....	6
2.3.3. Sporozoit.....	7
2.3.4. Trofozoit	8
2.3.5. Merozoit	8
2.3.6. Mikroşizont.....	8
2.3.7. Makroşizont	8
2.4. Yaşam Döngüsü.....	8
2.5. Epidemiyolojisi.....	10
2.6. Tanı	16
2.6.1. Mikroskobik tanı.....	17
2.6.1.1. Rutin mikroskobik tanı	17
2.6.1.2. Floresans mikroskobu ile tanı	18
2.6.2. Serolojik tanı.....	18
2.6.3. Moleküler tanı.....	19

2.7. Histopatoloji.....	20
2.8. Klinik	21
2.9. Tedavi	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması ve Çalışma Grubunun Oluşturulması.....	24
3.2. Bazı muayene materyallerinin çalışma grubundan çıkarılması.....	24
3.3. Modifiye Ziehl-Neelsen Boyama Yöntemi (Sıcak Metod).....	24
3.3.1. Kitin açıklaması	25
3.3.2. Boyama metodunun uygulanması.....	25
3.4. Moleküler Tanı Uygulaması.....	26
3.4.1. DNA Ekstraksiyonu	26
3.4.1.1. Kit İçeriği.....	26
3.4.1.2. DNA Ekstraksiyon Prosedürü.....	27
3.4.1.3. QIAcube.....	29
3.4.2. Real-Time PCR Uygulaması	30
3.4.2.1. Kit içeriği.....	31
3.4.2.2. Kitin saklanması.....	31
3.4.2.3. Deney esnasında kullanılan kimyasallar ve ekipmanlar.....	31
3.4.3. Real-Time PCR çalışma prensipleri.....	32
3.4.3.1. Real-Time PCR Çalışması.....	32
4. BULGULAR.....	36
4.1.1. Mikroskopi sonuçlarımız.....	42
4.1.2. Real-Time PCR Sonuçları.....	43
5. TARTIŞMA	47
KAYNAKLAR	54
HAM VERİLER.....	68
FORMLAR	69
ETİK KURUL KARARI.....	70
ÖZGEÇMİŞ	73

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Dünya’da Yapılan Epidemiyolojik Çalışmalar	12
Tablo 2.2. Türkiye’de Yapılan Epidemiyolojik Çalışmalar.	14
Tablo 3.1. DNA Ekstraksiyonu Kit İçeriği.....	27
Tablo 3.2. Mastırmiksin Hazırlanması	33
Tablo 3.3. Standartların Hazırlanışı	34
Tablo 3.4. Amplikasyon Adımları	34
Tablo 4.1. Hastaların ait bilgiler	36
Tablo 4.2. Cinsiyete göre yaş dağılımı.....	40
Tablo 4.3. Cinsiyete göre dışkı şekilleri.....	41
Tablo 4.4. CD4 sayıları ve dışkı şekillerine göre cinsiyet bilgileri.....	41
Tablo 4.5. Sonuçların Kantitatif Değerlendirilmesi.....	44
Tablo 4.6. <i>C. cayetanensis</i> saptanan çalışmanın kantitatif sonuçları.....	46

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>C. cayetanensis</i> 'in morfolojik şekilleri.....	5
Şekil 2.2. <i>C. cayetanensis</i> ookistlerinin sporlanması.....	7
Şekil 2.3. <i>C. cayetanensis</i> ookistinin laboratuvar koşullarında sporlanması.....	9
Şekil 2.4. <i>C. cayetanensis</i> 'in hayat döngüsü	10
Şekil 2.5. <i>C. cayetanensis</i> 'in histopatolojik görüntüleri	21
Şekil 3.1. QIAcube dış görünüşü ve parçaları	29
Şekil 3.2. QIAcube iç görünüşü ve parçaları.....	30
Şekil 3.3. Qiagen Rotor Gene Q Real-Time PCR cihazı.....	30
Şekil 3.4. Primer Design <i>C. cayetanensis</i> Real-Time PCR Tanı kiti.....	31
Şekil 4.1. 52 numaralı hastanın dışkısında tespit edilen <i>C. cayetanensis</i> ookistleri.	42
Şekil 4.2. A.Green Döngüsü İçin Kantitatif Bilgiler.....	43
Şekil 4.3. Standartlar Eğrisi	44
Şekil 4.4. <i>C. cayetanensis</i> saptanan Real-Time PCR Çalışması Siklus Eğrileri	45
Şekil 4.5. <i>C.cayetanensis</i> saptanan çalışmanın standart eğrileri.....	45

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

°C	Santigrat derece
%	Yüzde
Mm	Milimetre
Mg	Miligram
ml	Mililitre
Nm	Nanometre
µm	Mikrometre
µl	Mikrolitre
G	Yerçekimi ivmesi
Rpm	Dakikadaki devir sayısı
AIDS	Acquired immune deficiency syndrome (Edinilmiş immun yetmezlik sendromu)
HIV	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü)
HCV	Hepatit C Virus
HBV	Hepatit B Virus
EBV	Ebstein Barr Virus
Tbc	Tüberküloz
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
SSU-rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit küçük alt birim
CD4+	T-lenfosit taşıyan CD4 reseptörü
DIC	Diferansiyel Interferans Kontrast Mikroskobu

ÖZET

Altıparmak S. HIV Pozitif Bireylerin Dışkılarında *Cyclospora cayetanensis* Varlığının Çeşitli Yöntemlerle Gösterilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. (2013).

Cyclospora cayetanensis koksidian bir parazit olup taksonomik olarak Apicomplexa şubesi içinde yer alır. *C. cayetanensis* hem bağışıklık sistemi normal hem de bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde hastalık tablolarına yol açmaktadır.

İnsanlarda *C. cayetanensis*'e bağlı hastalık geliştiği ilk kez 1979 yılında Ashford tarafından üç olguyla bildirilmiştir. Ülkemizden ilk olgu ise 1998 yılında AIDS'li bir hastada bildirilmiştir. Çalışmamızın amacı ülkemizde HIV pozitif ve gerek semptomatik gerekse asemptomatik bireylerde *C. cayetanensis* varlığını konvansiyonel mikroskopik yöntemler ve moleküler yöntemler ile göstermektir. Çalışmamızda *C. cayetanensis* açısından ülkemizde en az incelenmiş olan HIV pozitif bireylerde *C. cayetanensis*'in araştırılması amaçlanmıştır.

HIV pozitif gönüllü kişilerden toplam 91 dışkı örneği *C. cayetanensis* açısından Real-Time PCR ve Modifiye Ziehl-Neelsen boyama yöntemleriyle araştırılmıştır. Real-Time PCR ile incelenme sonucunda iki hastada, modifiye Ziehl-Neelsen boyama yapılan preparatlarda ise bir hastada pozitif olguya rastlanılmıştır.

Ülkemiz cyclosporiasis için endemik bir ülke sayıldığından, klinik vakalarda özellikle bağışıklığı baskılanmış ve uzun süreli ishali bulunan hastalarda mutlaka akla gelmelidir. Sadece bağışıklığı baskılanmış değil aynı zamanda bağışıklığı sağlıklı kişilerde, çocuklarda, yurt dışı hikayesi bulunan hastalarda tekrarlayan veya uzun süreli ishali ve karın ağrısı şikayetlerinin mevcudiyetinde cyclosporiasis açısından laboratuvaradan istek yapılması uygun olacaktır. Laboratuvarada PCR metodunun kullanılması *C. cayetanensis* tanısı için daha hızlı, etkili ve duyarlı olduğunun çalışmamızda ve literatürlerde görülmesi, mikroskopik yöntemlere göre tercih sebebi olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Cyclospora cayetanensis*, Diyare, Dışkı, Real-Time PCR, HIV.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22451

ABSTRACT

Altıparmak S. Investigation of the presence of *Cyclospora cayentanensis* in fecal samples of HIV positive patients by different methods. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology. İstanbul. 2013.

Cyclospora cayentanensis is a coccidian protozoan parasite and placed in phylum Apicomplexa. *C. cayentanensis* leads to the clinical symptoms in both healthy and immunocompromised individuals.

C. cayentanensis due to the infection in human, and that was first reported by Ashford in three patients in 1979. In Turkey, the first case has been reported in a patient with AIDS in 1998. The aim of this study was to demonstrate the existence of *C. cayentanensis* in both symptomatic and asymptomatic HIV-positive individuals in our country with conventional microscopic techniques and molecular methods. In our country, HIV-positive individuals were minimally examined in terms of *C. cayentanensis*, and one of the other aim of this study was to investigate the *C. cayentanensis* in HIV-positive individuals.

A total of 91 stool samples of HIV-positive volunteers were investigated in terms of *C. cayentanensis* with Real-Time PCR and Modified Ziehl-Neelsen staining methods. Two patients were found as a positive in Real-Time PCR, and one patient was found positive in modified Ziehl-Neelsen staining.

As cyclosporiasis is an endemic disease in our country, *C. cayentanensis* should be considered in clinical cases, especially in immunocompromised and have long-term diarrhea patients. In terms of cyclosporiasis, laboratory request would be appropriate in not only immunocompromised patients but also have a healthy immunity individuals, childrens, patients with a history of overseas trips to endemic areas, patients with a history of recurrent or long-term diarrhea and abdominal pain complaints. The use of PCR method for the laboratory diagnosis of *C. cayentanensis* seems fast, efficient and sensitive according to microscopic methods in our study and the other literatures.

Key Words: *Cyclospora cayentanensis*, Diarrhea, Stool, Real-Time PCR, HIV.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No.22451

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Cyclospora cayetanensis koksidian bir parazit olup taksonomik olarak Apicomplexa şubesi içinde yer alır (1,2). Yaklaşık 8-10 µm boyutunda küresel ookistlere sahiptir (3). Diğer koksidian türler gibi zorunlu hücre içi bir parazittir. Ayrıca otofloresans özelliğe sahiptir (4).

C. cayetanensis hem bağışıklık sistemi Normal hem de bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde hastalık tablolarına yol açmaktadır (5). Yapılan bazı çalışmalarda insanlarda asemptomik olarak bulunduğu da bildirilmiştir (6). Hastalık tabloları genellikle halsizlik, iştahsızlık, abdominal kramplar, uzamış ve sık sık tekrarlayan ishallerden oluşmaktadır (7).

İlk olarak 1870 yılında Eimer tarafından ortaya çıkarılan *Cyclospora* cinsi 1881 yılında Schneider tarafından isimlendirilmiş ve 1902 yılında ise Schaudinn tarafından tanımlanmıştır (8). Bugün bilinen 19 türü bulunan *Cyclospora* cinsinden insanlarda hastalık yapan tek tür *C. cayetanensis* 'tir (9).

İnsanlarda *C. cayetanensis*'e bağlı hastalık geliştiği ilk kez 1979 yılında Ashford tarafından 3 olguyla bildirilmiştir (10). 1994-1999 yılları arasında Amerika kıtasında salgınlara neden olmuştur. Ülkemizden ilk olgu ise 1998 yılında Koç ve ark. (11) edinilmiş immun yetmezlik sendromu (AIDS = acquired immune deficiency syndrome)'li bir hastada bildirilmiştir.

C. cayetanensis şimdiye değin ülkemizden vakalar halinde bildirilmiştir. Ülkemizde bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde henüz kapsamlı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca *C. cayetanensis* rutin dışkı incelemelerinde gözden kaçabilmektedir. Oysa uzamış ve sık tekrarlayan ishallerde mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmamızın amacı ülkemizde insan bağışıklık yetmezlik virusu (HIV=Human immunodeficiency virus) pozitif ve gerek semptomatik gerekse asemptomatik bireylerde *C. cayetanensis* varlığını konvansiyonel yöntemler ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi (Real-Time PCR) ile göstermektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Cyclospora cinsi ilk olarak 1870 yılında Eimer tarafından bir köstebeğin barsağında gösterilmiştir. 1881 yılında Schneider tarafından ilk olarak *Cyclospora glomerica* isimlendirilmiş ve 1902 yılında ise Schaudinn tarafından hayat döngüsü gösterilerek tanımlanmıştır (8).

Cyclospora türleri daha önce de bilinmesine rağmen, 1979 yılında Ashford tarafından insanda ilk *C. cayetanensis* vakasının bildirilmesiyle önem kazanmıştır (1).

1980'li yıllarda ise insanların dışkılarında bu tür organizmalara sık rastlanılmaya başlanmıştır. 1983 yılında Haiti'de AIDS'li bir hastada yapısı *Cryptosporidium*'a benzediği fakat daha büyük olduğu için 'Big *Cryptosporidium*' (Büyük *Cryptosporidium*) olarak belirtilmiştir. 1985 yılında Peru da ki çalışmada ise *Cryptosporidium muris*'e benzerliğinden dolayı '*Cryptosporidium muris*-like object' (*Cryptosporidium muris* benzeri cisim) olarak tanımlanmıştır (1,12,13). 80'li yıllarda yapılan çalışmalarda, *C. cayetanensis*'in koksidian bir parazit türü olduğu bulunmuş ancak dönemin meşhur paraziti olan *Cryptosporidium* cinslerinden biri olduğu düşünülmüştür. 1986 yılında ilk seyahate bağlı diyare olgusu bildirilmiştir. Haiti ve Meksika'dan Amerika Birleşik Devletleri'ne dönen dört turistte daha tanımı tam olarak yapılamamış sporlanmamış ookist yapıları olan organizmalar bildirilmiştir (13).

C. cayetanensis; Ashford tarafından bildirilmesinin üzerinden on yıl geçtikten sonra sporadik vakaların yanı sıra artık büyük salgınlar yapmaya başlamıştır. 1989 yılında Nepal de 55 kişide görülmüştür (14). İlk salgın ise Huang tarafından 1990 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) Chicago şehrindeki bir hastanede su pompasının bozuk olması sebebiyle çamurlu suyun içilmesi sonucu gelişmiş ve diyareli 21 hastada *C. cayetanensis* varlığı gösterilmiştir (1). Bu yayın *C. cayetanensis*'in su yoluyla bulaşabileceği ve salgınlar yapabileceğinin de ilk habercisi olarak dikkati çekmektedir.

1990'lı yıllar *C. cayetanensis*'in öneminin ve potansiyelinin anlaşılması için en önemli dönem olmuştur (15). 1994 yılında Ortega ve ark. *C. cayetanensis*'i sınıflandırmış ve isimlendirmişlerdir (16). Fakat bu döneme kadar *C. cayetanensis*

çeşitli adlarla adlandırılmıştır. Bunlar: Büyük *Cryptosporidium* (Big or Large *Cryptosporidium*), *Cryptosporidium muris* benzeri biçim (*Cryptosporidium muris*-like object), bir kamçılı (a flagellated), sporlanmamış bir koksidian (an unsporulated coccidian), bir mavi-yeşil alg (a blue-green alga) ve koksidian benzeri organizma'(coccidian-like body)dır (1,12,13).

1994 yılında artık ismi konulan *C. cayetanensis* için tedavi çalışmaları başlamış ve trimethoprim-sulfametaksazol'un (TMP-SMX) tedavideki etkinliği gösterilmiştir (17). ABD'nin Florida ve New York kentlerinde 1995 yılında 70 kişide görülmüştür. *C. cayetanensis*'in görülmesindeki sıklık yıllar içinde giderek artmıştır. Herwaldt ve ark. 90'lı yıllardaki *C. cayetanensis*'in besin kaynaklı salgınlarında yaklaşık 3500 kişiyi etkilediğini bildirmişlerdir (15). Yapılan çalışmalarda *C.cayetanensis* salgınının nedeninin ithal edilen taze böğürtlenler olduğu bulunmuştur(18). Hatta bu dönemde ABD ve Kanada yetkilileri Guetamala'dan taze sebze ve meyve ithalini yasaklamıştır. Bu yasak 1999 yılına kadar devam etmiştir.

1999 yılında Eberhard ve ark. üç yeni *Cyclospora* türünü bildirmişlerdir. Bunlar: *C. cercopithecii*, *C. colobi* ve *C. papionis*'tir (19).

2000 yılında ise Döller ve ark. Almanya'da salata yiyen 40 kişiden 34 ünde (85%) *C. cayetanensis* varlığını göstermişlerdir (20). Ardından seyahate bağlı *C. cayetanensis* vakaları avrupa kıtasından da bildirilmeye başlanmıştır. Ülkemizdeki vakalar ise ilk kez 1998 yılında Koç ve ark. (11) tarafından ishal olan AIDS'li bir hastada gösterilmesiyle başlamıştır.

2.2. Sınıflandırma

Cyclospora cinsi içinde 19 tür bulunmaktadır. Bunlar; *C. glomericola* (Schneider 1881), *C. caryolytica* (Schaudinn 1902), *C. viperae* (Phisalix 1923), *C. babaulti* (Phisalix 1924b), *C. scinci* (Phisalix 1924c), *C. tropidonoti* (Phisalix 1924e), *C. zamenis* (Phisalix 1924e), *Cyclospora sp.* (Yamamoto 1933), *C. niniae* (Lainson 1965), *C. cercopithecii* (Eberhard et al.1999a), *C. talpae* (Pellerdy & Tanyi 1968), *C. megacephali* (Ford & Duszynski 1988), *C. ashtabulensis* (Ford & Duszynski 1989), *C. parascalopi* (Ford & Duszynski 1989), *C. angimurinensis* (Ford et. al. 1990), *C. cayetanensis* (Ortega et. al. 1994), *C. colobi* (Eberhard et. al. 1999a), *C. papionis* (Eberhard et al. 1999a), *C. schneideri n.sp.* (8).

C. cayetanensis için Ortega ve ark. (3) tarafından 1994 yılında Peru'daki (Universidad Peruana Cayetano Heredia) Cayetano üniversitesindeki çalışmalardan dolayı '*cayetanensis*' tür ismi olarak önerilmiştir.

Cyclospora cayetanensis in taksonomik sınıflandırılması;

Alan	→	Eukaryota
Alem	→	Chromalveolata
Süperfilum	→	Alveolata
Filum	→	Myzozoa
AltFilum	→	Apicomplexa
Sınıf	→	Conoidasida
Altsınıf	→	Coccidiasina
Takım	→	Eucoccidiorida
Altakım	→	Eimeriorina
Aile	→	Eimeriidae
Cins	→	<i>Cyclospora</i>
Tür	→	<i>Cyclospora cayetanensis</i>

Cyclospora cinsine ait türler arasında yapılan moleküler çalışmalar sonucunda bulunan değişiklikler dışında ayrıca morfolojik olarak da farklılıklar bulunmaktadır. *C. cayetanensis*'in ookistleri yaklaşık olarak 8.6 x 8.6 µm iken *C. glomericola* ookisti 25-36 x 9-10 µm, *C. niniae* 14.6 x 13.3 µm, *C. colobi* 8-9 x 8-9 µm boyutlarındadır (8,13).

Cyclospora cinsine ait türler farklı konaklarda bulunurlar. Bunlar; Reptilia (Sürüngenler), Mammalia (Memeliler), Insectivora (Eklem bacaklılar)'dır (8,12,21). Yapılan çalışmalarda ise *C. cayetanensis*'in sadece insanda bulunduğu bildirilmiştir. Önceleri özellikle primatlarda yapılan bazı çalışmalarda, bazı araştırmacılar *C. cayetanensis*'e benzer ookistler olduğunu bildirmiş olmasına rağmen, sonraları

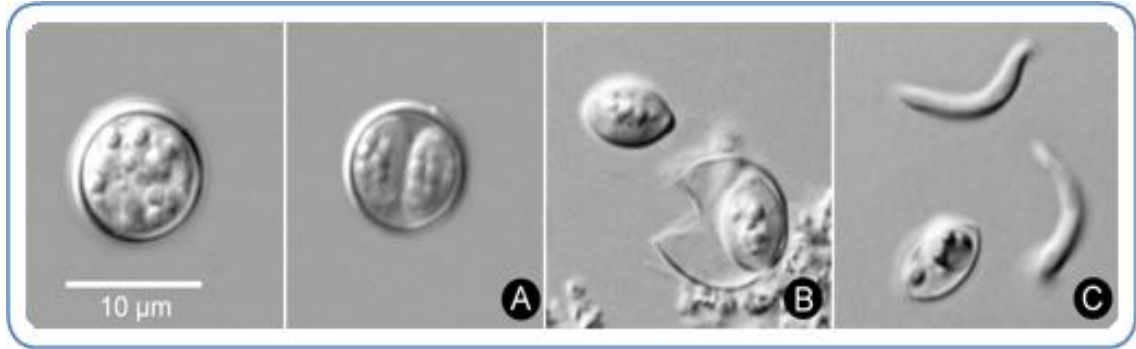
yapılan moleküler çalışmalar sonucu bunların bazılarının yeni tür olduğu bildirilmiştir (19).

C. cayetanensis için taksonomik ve filogenetik çalışmalar ookistlerin morfolojisine ve moleküler düzeyde yapılan çalışmalara göre şekillendirilir. Ancak Koksidia sınıfı yıllar içerisindeki karmaşık ve hatalı gözlemler sonucu uzun zaman karmaşa halinde kalmış ve karmaşa uzun yıllar sürmüştür (22). Moleküler çalışmaların hız kazanmasıyla *C. cayetanensis*'in ribozomal ribonükleik asit (rRNA) küçük alt birimi (SSU-rRNA) ile yapılan çalışmalar sonucunda *C. cayetanensis* in *Eimeria sp.* ile yakın akraba oldukları belirlenmiştir. *Eimeria* türleri içinde özellikle mammalia *Eimeria* içindeki türlerle büyük oranda homoloji gösterdiği (19).

C. cayetanensis coccidia sınıfı içinde insanda patojen olan beş koksidian parazit ile aynı sınıfta yer alır. Diğer dört parazit ise; *Cryptosporidium*, *Toxoplasma*, *Cystoisospora (Isospora)*, *Sarcocystis*'dir (10).

2.3. Morfolojisi

C. cayetanensis polimorfik hücre içi zorunlu bir koksidian parazit olup yaşam döngüsünde görülen morfolojik şekilleri: Ookist, sporokist, sporozoit, trofozoit, merozoit, mikrogametosit ve makrogametositir (1-3,6,12). *C. cayetanensis*'in ookist,sporokist ve sporozoit şekilleri şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. *C. cayetanensis*'in morfolojik şekilleri (23).

Cyclospora cayetanensis ookisti sporlanmamış enfektif olmayan hali. Bir ookist ve içerisinde iki sporokistin görüntüsü (A). Mekanik olarak bir ookisti patlatmış olan iki olgunlaşmamış sporokist görüntüsü (B). Bir boş sporokist ve iki sporozoit, parazitin enfektif hali gösterilmiştir. (C). [Credit: CDC/DPDM].

2.3.1. Ookist

Ookist, *C. cayetanensis*'in çevreye dirençli kist yapısı olarak adlandırılabilir (6). Ookistler insandan sporlanmamış olarak atılırlar ve enfektif olabilmek için dış ortamda sporlanmaya gereksinim duyarlar (1). Ookistlerin laboratuvar koşullarında 7-13 gün ve 22-32 °C'de sporlandıkları gösterilmiştir (1,8). Bu süre dış ortamda bazen haftaları bulabilmektedir.

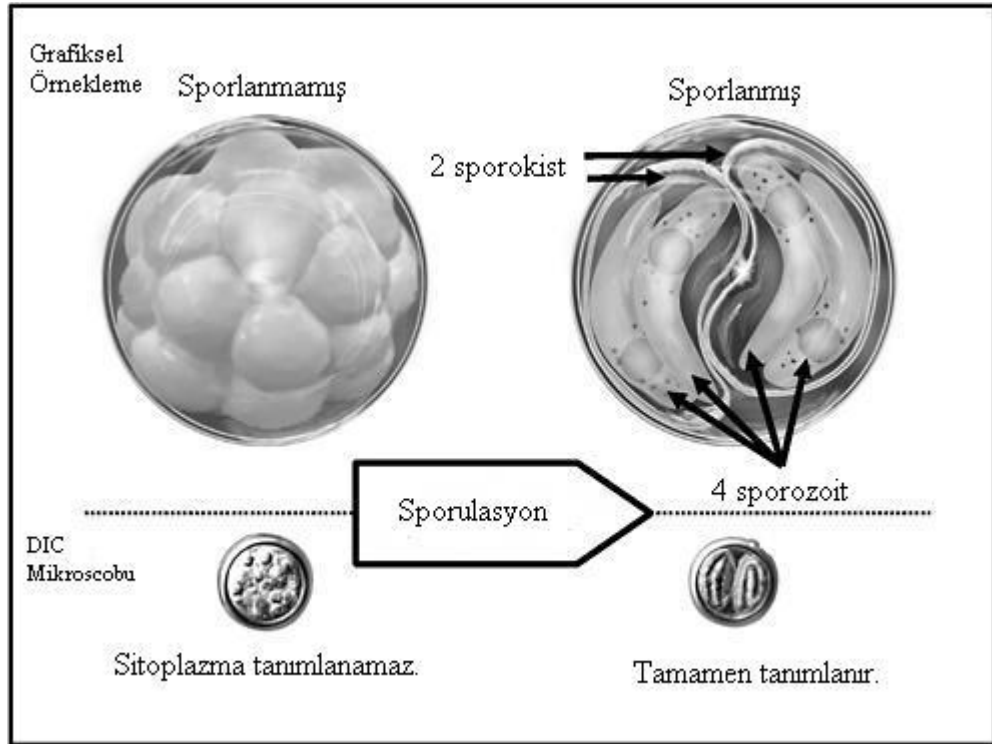
Olgunlaşmamış ookistler yaklaşık olarak 8-10 µm boyutundadırlar (13). Ookistler çift katmanlı bir hücre duvarına sahiptir. İç katman düz 50 nm kalınlığında iken dış katman 63 nm kalınlığında ve pürüklüdür (6-8). Olgun ookistler aynı sporlanmamış ookistler gibi fibriler ceket ve hücre zarına sahiptirler (8). *C. cayetanensis* ookistleri faz kontrast mikroskopunda yeşilimsi, morular bir iç yapıya sahip olarak görülür. Sporlanmamış ookistler granüler sitoplazmaya sahip olabilir. Bu yapıya sahip olanlar 6-9 ciltli globülleri ile dut benzeri bir görünüm alırlar (2,8). Bu yuvarlak cisimler membrana bağlı, rozet formunda, 1-2 µm çapında dış duvarı olmayan yapılar olup otofloresan verirler. Bazı ookistler de bu yapılar toplanarak hilalimsi formu (crescentic form) oluştururlar. Antoni'nin iyot solüsyonu ile boyanabilirler. Ookistlerin granüler yapıları sadece serum fizyolojik ile korunur, diğer kimyasalların etkisiyle birkaç günde birleşerek düzensiz kenarlı cisimler haline gelirler (6,8). Ookistler suda uygun konsantrasyonlarda ozon ile muamele edilirlerse inaktif olurlar. Standart klorlamada ise hayatta kalırlar. Düşük nem ve yüksek ısıya karşı hassastırlar ve hayatta kalamazlar (6).

2.3.2. Sporokist

Ookistin dış ortamda sporlanmasıyla içerisinde 6.3 µm boyutunda ve 4.0 µm eninde 2 adet sporokist gelişir. Sporokistler sferik ve oval yapıda olup 62 nm kalınlığında bir zarla çevrilidirler (6,8). Bu iki sporokist 1994 yılında Ortega ve ark. (16) tarafından Stieda ve Substeidea cisimleri olarak adlandırılmışlardır. Ookistin içerisindeki sporokist yapısı ve sayısı *C. cayetanensis*'i diğer koksidian türlerden morfolojik olarak ayırımını sağlamaktadır. Ayrıca sporokistlerin içinde refraktil globüller bulunur. Bunların bazıları birkaç gün içinde kaybolur. Diğerleri ise sporokistlerin merkezinde toplanırlar.

2.3.3. Sporozoit

Olgun ookistler tripsin ve safra tuzlarıyla ekskistasyona bırakılınca sporokistlerin içinde sporozoitler meydana gelir (22). Bir ookist yapısında iki sporokist ve her sporokistte iki adet sporozoit gelişir. Sporozoitler 9 µm boyunda ve 1.2 µm genişliğinde ve ince, hilal ve iğ şeklinde hareketli ve infektiftir (7). Sporozoitlerin grafiksel şekilleri şekil 2.2’de gösterilmiştir. *C. cayetanensis* sporozoitleri kutup halkası, konoid, rhoptri kanalların birleşiminden oluşan bir apikal komplekse, bir nukleus ve içerisinde büyük bir nukleolus ile mikronem içeren tipik koksidian sporozoit yapılarına sahiptirler. Mikronemler küçük ve çok sayıda olup sporozoitlerin apikal bölgesinden parazitin konak hücreye girişini kolaylaştıran proteolitik enzimler içermektedir. Rhoptriler mikronemlere göre daha azdır fakat daha büyüktürler. Çomak şeklinde olup içeriklerini merkezlerinde bir kanaldan bırakırlar ve konoidin spiral şeklindeki hareketi ile parazitin konak hücreye invazyonunu sağlarlar (1,6,8).



Şekil 2.2. *C. cayetanensis* ookistlerinin sporlanması (24).

Sporlanmamış ve sporlanmış *C. cayetanensis* ookistleri grafiksel olarak şeklin üst kısmında, ookistlerin morfolojik özelliklerini vurgulayan Diferansiyel Interferans Kontrast Mikroskobu (DIC Mikroskobu) görüntüleri ise şeklin alt kısmında gösterilmiştir.

2.3.4. Trofozoit

Trofozitler oval, yaklaşık 4 µm boyunda ve 2 µm enindedir. Hareket açısından oldukça yeteneksizdir (6).

2.3.5. Merozoit

İki adet meront vardır. İlki meront I olarak adlandırılır ve 8-12 merozoite sahiptir. İkincisi ise meront II olarak adlandırılır ve 4 merozoite sahiptir. Merontlar yaklaşık 3-4 µm uzunluğunda ve 0.5 µm genişliğindedir. Merozoitler muz şeklindedirler (6,8).

2.3.6. Mikroşizont

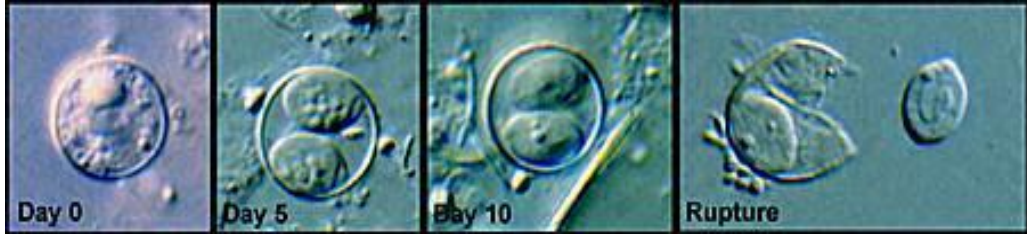
Meront II formu erkek şizont mikrogametosit veya mikroşizont olarak bilinir (6).

2.3.7. Makroşizont

Çoğunlukla Meront II formu dişi şizont makroşizont veya makrogametosit olarak bilinir. Mikroşizonttan daha büyüktürler (6).

2.4. Yaşam Döngüsü

C. cayetanensis ara konağa gereksinim duymadan seksüel ve aseksüel yaşam evrelerini aynı konak üzerinde geçiren monoksen bir parazittir (10-25). Yaşam döngüsü karmaşıktır ve tam olarak açıklanamamıştır. İnsandan sporlanmamış olarak yani enfektif olmayan halde atılan ookistler dış ortamda uygun koşullarda ve sürede sporulasyon geçirerek enfektif hale geçerler (1,2). Bazı kaynaklarda bu döneme eksojen (dışsal) dönem, ookistlerin insan vücudu içinde geçirdiği döneme ise endojen (içsel) dönem denmektedir. Sporlanma sonucunda oluşan ookistlerin insana nasıl geçtiği tam olarak gösterilmemiştir (6). Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular sporlanmış ookistlerin insana, kontamine su ve yiyeceklerle ağız yolu ile geçtiğini düşündürmektedir (22). Ookistlerin sporlanma süreleri ve sporlanma esnasında meydana gelen morfolojik şekilleri şekil 2.3'de gösterilmiştir.

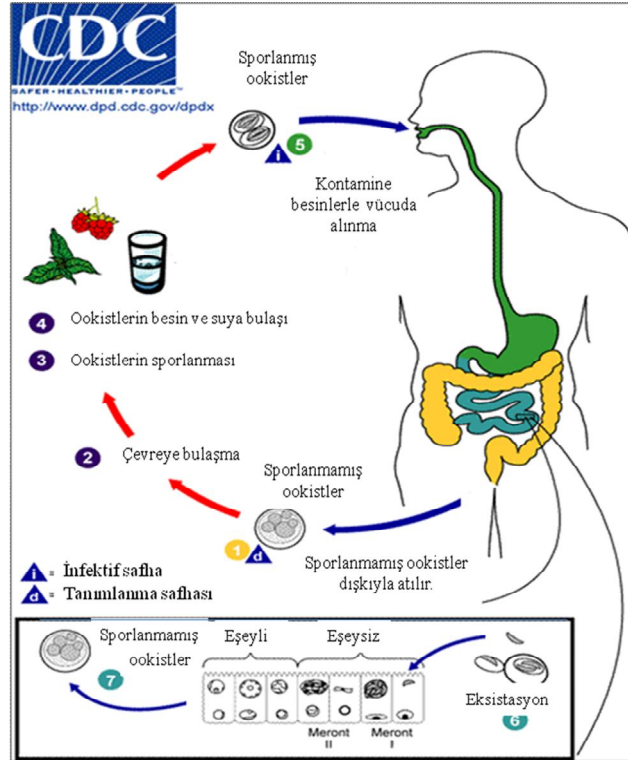


Şekil 2.3. *C. cayetanensis* ookistinin laboratuvar koşullarında sporlanması (26).

DIC mikroskopunda *Cyclospora cayetanensis* bölümleri gösterilmiştir: Taze dışkıda sporlanmamış ookist (Gün 0); beş gün içinde sporlanan ookist (Gün 5) ve 10 (Gün 10), patlamış bir ookist ve iki sporokist. Sporokistin biri ookistin içerisinde diğer sporokist henüz ookisten dışarıya çıkmış. Sporokist içerisindeki sporozoitler zorda olsa görülebilmektedir.

Ağız yoluyla alınan enfektif haldeki ookistler içinde bulunan sporozoitler gastrointestinal sistemde anaerobik ortam, safra tuzları ve enzimlerden dolayı ookist ve sporokist yapılarından kurtularak serbest hale geçerler (22). Bu sporozoitler ince barsak epitelial hücrelere girip, çoğunlukla jejunal, daha az sıklıkta da distal duodenal epitel hücrelerini istila ederler (10,13,27). Sonraki aşamalarda sporozoitler lümenin sonundaki hücrelerde etrafı parazitofor (parasitophorous) vakuoller tarafından çevrilirler. Enterosit hücrelerinde bulunan trofozoitler merogonik, şizogoni veya aseksüel dönemde merozoitlere dönüşürler. Merozoitler de bu hücrelerde gelişir ve büyürler. Bu dönem konak hücrelerine yayılışın olduğu dönemdir. Bu dönemde morfoloji kısmında belirtildiği gibi iki tip meront oluşur. Meront I, 8-12 merozoit ve meront II, 4 merozoite sahiptir. Merontlar konak hücrelerinin içinde aseksüel dönemde oluşurlar. Meront II'de gelişen ve büyüyen merozoitler meront II'den çıkarak yeni konak hücrelerine girerler ve yeni hücrede seksüel veya gametogonik döneme geçerek farklılaşarak mikrogametosit veya makrogametositlere dönüşürler (6,10,22,27).

Mikrogametositler makrogametositleri dölleyerek zigotu oluşturular ve zigotun etrafı hemen koruyucu bir duvarla örtülür. Zigot içerisinde sporlanmamış ookist meydana gelir (6,10,27). *C. cayetanensis*'in yaşam döngüsü şematik olarak şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. *C. cayetanensis* 'in hayat döngüsü (28).

1-Dışkıyla atılan sporlanmamış ookistler. 2-Çevreye bulaşma. 3-Ookistlerlerin dış ortamda sporlanması. 4-Sporlanmış ookistlerin besin zincirine girmesi. 5-Kontamine olan besin ve su yoluyla insan tarafından alınması. 6-Ookistlerin eksistasyona uğraması. 7-Seksüel ve aseksüel dönemlerden sonra sporlanmamış ookist yeniden dışkı ile atılması.

2.5. Epidemiyolojisi

C. cayetanensis 'in sebep olduğu salgınlar bazı araştırmacılar tarafından salgınların nasıl yayıldığını bulmak amacıyla su kaynaklı ve besin kaynaklı olarak ayrılmıştır (5). Fakat yapılan çalışmalarda hem içilen kontamine su ile su kaynaklı, hem de kontamine besinlerin yenmesi sonucu besin kaynaklı salgınlar olduğu görülmüştür. Su kaynaklı salgınlar genellikle belli bir topluluk, alan ve sınırlı bir bölgede görülmüş iken, besin kaynaklı salgınlar ticareti yapılan besinlerin gönderildiği ülkeler arasında ve hatta kıtalararasında görülmüştür.

Bilinen ilk salgın 1990 yılında Chicago'da görülmüştür. Yirmi bir kişiyi etkileyen bu salgının bozulan su pompası nedeniyle su kaynaklı veya düzenlenen bir parti sebebiyle besin kaynaklı olabileceği düşünülmüş ancak kesin kaynak belirlenememiştir (1). 1995 yılında bildirilen iki salgında New York'ta 32, Florida'da

38 kişi olasılıkla kontamine ahududu yedikleri kuşkusuyla hastalanmışlardır. Bu iki salgından hemen sonra yaklaşık üç yılı kapsayacak şekilde gelişen *C. cayetanensis* kaynaklı salgınlarda yaklaşık 2000 kişi etkilenmiştir (15).

Amerika ve Kanada’da 1996 yılında toplam 1465 kişi salgından etkilenmiştir (15). Kuvvetle muhtemel olarak salgının nedeni Guetemala’dan ithal edilmiş ahududular olduğu belirtilmiştir. 1996 yılında O.M. Amin (29) Kuzey Amerika kıtasındaki gastroenterit salgınlarını araştırmış ve 5250 kişiden 225’inde (%4.3) *C. cayetanensis* tespit etmiştir. Aylar açısından en yüksek pozitiflik %6 ile Eylül ayında saptanmış, en düşük yüzde ise %1.4 ile Şubat ayında bulunmuştur. Mevsimlerde ise en yüksek pozitiflik oranına sonbaharda rastlanılmıştır.

Kuzey Amerika kıtasında salgınlar birçok yerde görülürken 1997 yılında Nisan – Mayıs ayları arasında Amerika ve Kanada’da toplam 1012 kişi ahududu yeme şüphesiyle, Haziran ayında Washington’da taze fesleğenin tüketilmesiyle 341 kişi, Eylül ayında Virginia’da 21 kişi meyveden, Aralık ayında ise Florida’da 12 kişi Fransız “mesclun” denilen bir bitkiyi yemesi sonucunda hastalanarak hastanelere başvurmuştur (30-32).

Kanada’nın Ontario bölgesinde 1998 yılının Mayıs ayında 315 kişi muhtemelen ahududu kaynaklı, aynı dönemlerde Georgia’da 17 kişi taze salata kaynaklı *C. cayetanensis* enteriti geçirmişler. Yine Ontario’da bir yıl sonra 104 kişide ahududu kaynaklı salgın görülmüştür. Florida’da 1999 yılının Mayıs ayında 94 kişi tam bilinmeyen besinlerin yenmesi sonucunda, Haziran ayında ise Missiuride 64 kişi fesleğen tüketilmesi sonucunda hastalanmışlar ve bunlara *C. cayetanensis*’in neden olduğu bildirilmiştir (21, 32).

Ortaya çıkan salgınlarla beraber araştırmacılar epidemiyolojik çalışmalara ağırlık vermiştir. Bağışıklık sistemi sağlam çocuklarda yapılan çalışmalarda; Meksika’da Bernal Redondo ve ark. (21) 1998 yılında yapılan bir çalışmada 541 çocuğun 18’inde (%3.3) pozitiflik bildirilirken, Peru’da 2006 yılında Cordova ve ark. (21) 489 çocuğun 64’ünde (%13), Venezuela’da 2001 yılında Chacin-Bonilla ve ark. (33) 132 çocuğun yedisinde (%5.3), Nepal’de 2005 yılında Easow ve ark. (34) 1790 çocuğun 18’inde (%1) ve 1995 yılında ki çalışmada Hoge ve ark. (35) 124 çocuğun altısında (%5), Mısır’da 1998 yılında Nassef ve ark. (21) 80 çocuğun yedisinde (%9), Suudi Arabistan’da 2003 yılında Al-Braiken ve ark. (36) 63 çocuğun yedisinde (%11.1),

Küba’da 2003 yılında Nunez ve ark. (37) 113 çocuğun beşinde (%4.4) ve 2002 yılında Martinez Silva ve ark. (38) 7956 çocuğun 20’sinde (%0.2) pozitiflik saptamışlardır.

Afrika kıtasındaki çocuklarda yapılan *C.cayetanensis* çalışmalarında ise Uganda’da 650’de bir çocuk pozitif bulunurken, Kenyada 4899, Tanzanya’da 76 ve Mozambikte 529 çocuktan hiçbirinde pozitif olguya rastlanılmamıştır (39-42).

Dünya’da tüm yaş gruplarından, farklı özellikteki hasta gruplarıyla yapılan çalışmalarla *C. cayetanensis* epidemiyolojisi belirlenmeye çalışılmıştır. Farklı ülke ve araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalar Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Dünya’da Yapılan Epidemiyolojik Çalışmalar

Yıl	Ülke	Araştırmacı	Hasta Bilgisi	Hasta Sayısı	Kaynak
2001	Guatemala	Pratdesaba	HIV	6/157	47
1997	Honduras	Kaminsky	HIV	9/133	48
2007	Honduras	Kaminsky	AIDS	2/56	49
2006	Venezuela	Chacin-Bonilla ve ark.	HIV	6/103	50
2003	Küba	Capo de Paz	HIV	6/170	51
2009	Endonezya	Kurniawan ve ark.	HIV/AIDS	14/318	52
1999	Guatemala	Bern ve ark.	İmmünkompetant	126/5552	43
2002	Honduras	Kaminsky ve ark.	İmmünkompetant	96/4698	21
2005	Peru	B.S. Alva	-----*	337/3259	44
2002	Çin	Wang ve ark.	İmmünkompetant	10/178	45
2003	Nijerya	Alakpa ve ark.	HIV/İmmünkompetant	11/1109	46

Bağışıklık sistemi sağlam tüm yaş gruplarında yapılan epidemiyolojik çalışmalarda Guetamala'da 1999 yılında Bern ve ark. (43) 5552 kişinin 126'sında, Honduras'ta 2002 yılında Kaminsky (10) 4698 kişinin 96'sında, Peru'da 2005 yılında B. Alva (44) 3259 kişiden 337'sinde, Çin'de 2002 yılında Wang ve ark. (45) 178 kişinin 10'unda, Nijerya'da 2003 yılında Alakpa ve ark. (46) 1109 kişinin 11'inde *C. cayetanensis* pozitifliği bildirmişlerdir.

C. cayetanensis bağışıklık sistemi normal çocuklar ve tüm yaş gruplarında %0-%11 oranında görülürken bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda %0-%40 arasında değişmektedir. Bağışıklık sistemi baskılanmış ve HIV pozitif hastalarda yapılan çalışmalarda ise Guetamala'da 2001 yılında Pratdesaba ve ark. (47) HIV pozitif 157 kişinin altısında, Honduras'ta 1997 yılında Kaminsky (48) HIV pozitif 133 kişinin dokuzunda ve on yıl sonra yine Honduras'ta Kaminsky ve ark. (49) AIDS'li 56 kişinin ikisinde, Venezuela'da 2006 yılında Chacin-Bonilla ve ark. (50) HIV pozitif 103 kişiden altısında, Küba'da 2003 yılında Capo de Paz ve ark. (51) HIV pozitif 170 kişiden altısında, Endonezya'da 318 HIV/AIDS li kişinin 14'ünde Kurniawan ve ark. (52) *C. cayetanensis* varlığını göstermişlerdir.

C. cayetanensis ilk zamanlar turist diyaresi olarak tanımlandığından önemli görünmese de yaptığı salgınlarla tüm yaş gruplarında, bağışıklık sistemi sağlıklı veya baskılanmış kişilerde gıda ve su yoluyla bulaşan hastalık tabloları oluşturmaya başlamasıyla önemli bir patojen haline gelmiştir.

Dünyada bazı bölgelerde ise endemik olarak görülmektedir. Bunlar: Bangladeş, Brezilya, Şili, Küba, Mısır, Haiti, Endonezya, Meksika, Nijerya, Nepal, Peru, Tayland ve Venezuela'dır. Son yıllarda bu listeye Türkiye de eklenmiştir (21,53).

C. cayetanensis Avrupa kıtasında ise daha çok endemik bölgelere yapılan yolculuklara bağlı olarak gösterilmiştir (21).

Ülkemizden yapılan yayınlar daha yoğun olarak olgu sunumları şeklinde bulunmaktadır. Ülkemizden yapılan yayınların bazıları Tablo 2.2 de gösterilmektedir

Tablo 2.2. Türkiye’de Yapılan Epidemiyolojik Çalışmalar.

Yıl	Şehir	Araştırmacı	Hasta Bilgisi	Hasta Sayısı	Kaynak
1998	Kayseri	Koç ve ark.	AIDS	1	11
2002	İstanbul	Büget ve ark.	Miyoloblastik lösemi	1	54
2000	Kayseri	Yazar ve ark.	Siroz	1	55
2004	Ankara	Türk ve ark.	İmmünoyetersizlik	1	56
2006	Ankara	Kılbaş ve ark.	İmmünoyetersizlik	1	57
2009	Ankara	Koru ve ark.	İmmünoyetersizlik	1	58
2006	İzmir	Turgay ve ark.	İmmünoyetersizlik	1	59
2006	Ankara	Sancak ve ark.	İmmünoyetersizlik	5	60
2007	İzmir	Aksoy ve Tuncay	İmmünoyetersizlik	2/554	61
2005	İzmir	Değirmenci	-----*	75/3925	62
2008	Kars	Arslan ve ark.	-----*	1/138	63
2008	Kayseri	Yazar ve ark.	İmmünoyetersizlik	3	64
2010	İzmir	Taşbakan ve ark.	İmmünoyetersizlik	1	65
2010	Eskişehir	Doğan ve ark.	Hamile	1	66
2010	İstanbul	Özdamar ve ark.	-----*	1876/20	67
2011	Diyarbakır	Çiçek ve ark.	İmmünoyetersizlik	2	68
2008	Van	Cengiz ve ark.	-----*	7/5985	69
2011	Malatya	Karaman ve ark.	-----*	129/2281	70
2011	İzmir	Dağcı ve ark.	-----*	26/873	71
2012	İzmir	Turgay ve ark.	-----*	187/1138	72
2012	Diyarbakır	Çiçek ve ark.	-----*	13/75	73

*Bilim dallarında yapılan genel parazitolojik değerlendirmelerle tespit edilen istatistikî bilgilerdir.

Ülkemizdeki ilk *C. cayetanensis* olgusu Koç ve ark. (11) tarafından 1998 yılında AIDS’li bir hastada bildirilmiştir. Ancak 1993 yılında Lebbard ve Linder Türkiyeden dönen bir hastada ve 1995 yılında *C. cayetanensis* İspanya’da Türkiye’den seyahatten dönen bir kişide *C. cayetanensis* varlığını bildirmişlerdir (12,21).

Büget ve ark. (54) 2000 yılında akut miyeloblastik lösemi tanısı konmuş yedi yaşındaki erkek bir çocukta *C. cayetanensis* varlığını bildirmişlerdir. Yazar ve ark. (55) 2002 yılında sirozlu bir hastada, Türk ve ark. (56) 2004 yılında bağışıklık sistemi sağlıklı bir hastada *C. cayetanensis* olgusu bildirmişlerdir.

Fransa’da 2004 yılında Türkiye’den tatilden dönen iki kişide ve 2005 yılında Türkiye’den dönen beş kişide *C. cayetanensis* varlığını bildirmişlerdir (12).

Kılbaş ve ark. (57) 2009 yılında böbrek nakli geçirmiş bir hastada, Kuru ve ark. (58) ise 2006 yılında bağışıklık sistemi normal bir bireyde cyclosporiasis olgusu bildirmişlerdir. Turgay ve ark. (59) 2006 yılında İzmir’de tekne gezisi yaptıktan sonra ishal olan bir kişide, aynı yıl Sancak ve ark. (60) ise bağışıklık sistemi sağlıklı yaşları 27-67 arası değişen beş kişide cyclosporiasis olgusu bildirmişlerdir.

Ülkemizde ilk yıllarda olgu sunumlarıyla görülen *C. cayetanensis* 2007 yılında ilk su kaynaklı cyclosporiasis salgınına neden olmuştur. Aksoy ve Tuncay (61) 2007 yılında İzmir’de 554 ishalleri olan kişide barsak koksidialarını incelemiş ve iki hastada *C. cayetanensis* varlığını göstermişlerdir. İzmir’de 2007 yılında yapılan başka bir çalışmada Değirmenci ve ark. (62) 2005 yılında 3925 kişide saptanan barsak parazitlerini incelemiş ve 75 kişide *C. cayetanensis* olgusu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada *C. cayetanensis* en çok rastlanılan ikinci parazit olarak belirtilmiştir.

Arslan ve ark. (63) 2008 yılında Kars’ta gastrointestinal yakınmalarla çocuk bakım evi hastanesine başvuran 2-6 yaş aralığında 138 çocukta bir *C. cayetanensis* olgusu bildirilmiştir.

Yazar ve ark. (64) 2008 yılında Kayseri’de bağışıklık sistemi sağlıklı ishal şikayeti ile başvuran 3 kişide *C. cayetanensis* olgusu bildirmişlerdir. Taşbakan ve ark. (65) İzmir’de 2010 yılında ishal şikayeti ile başvuran AIDS’li bir kişide cyclosporiasis vakası bildirmişlerdir. Doğan ve ark. (66) 2010 yılında yine bir hamilede cyclosporiasis olgusu bildirmişlerdir.

Özdamar ve ark. (67) 2010 yılında İstanbul'da 2007-2008-2009 yıllarında 1876 dışkı örneğini incelemiş ve 2007 yılında iki, 2008 yılında 17, 2009 yılında bir kişide *C. cayetanensis* olgusu saptamışlardır. Çiçek ve ark. (68) 2011 yılında Diyarbakır ilinde ishalleri bağıışıklık sistemi sağlıklı iki kişide *C. cayetanensis* olgusuna rastlamışlardır. Cengiz ve ark. (69) 2011 yılında Van da 2008 yılında 5985 kişinin dışkı örneğini incelenmişler ve yedi kişide cyclosporiasis olgusuna rastlanılmıştır. Karaman ve ark. (70) 2011 yılında Malatya bölgesinde yapılan çalışmada 2281 dışkı örneği incelenmiş ve 129 (%5.7) kişide *C. cayetanensis* olgusu tespit etmişlerdir. Dağcı ve ark. (71) 2011 yılında yayınladıkları bir yayında İzmir ve çevresinde semptomik ve asemptomatik cyclosporiasis vakalarını araştırmış ve inceledikleri 873 kişinin %3'ünde *C. cayetanensis* olgusu bildirmişlerdir.

Turgay ve ark. (72) 2012 yılında Mayıs 2009-Nisan 2010 dönemleri arasında incelenen dışkı materyallerinden 187 (%16.43) kişide *C. cayetanensis* olgusuna rastlanılmıştır. Çiçek ve ark. (73) 2012 yılında Diyarbakır'da 75 ishalleri kişiden 13 (%17.3) ünde cyclosporiasis olgusu bildirmişlerdir.

2.6. Tanı

C. cayetanensis ookistleri insandan dışkıyla atıldığında sporlanmamış haldedir (1). Bu safhada yapılan mikroskopik incelemelerde görülen ookistler için yalnızca boyut ve şekline bakılarak tanı konulabilmektedir. Ancak bu kesin tanı için yeterli olmamakta ve yardımcı bir tanı yöntemiyle *C. cayetanensis* ookistlerinin doğrulanması gerekmektedir

C. cayetanensis ookistleri *Cryptosporidium spp.* ookistlerinin boyutlarına yakın olduğundan karıştırılıp yanlış sonuçlara sebebiyet verebilmektedir. Ayrıca rutin araştırmalarda kişilerde dışkıyla az sayıda atılan ookistler artefakt sanılabilir veya gözden kaçabilir (14,68). *C. cayetanensis*'in dışkıyla atılmasından sonra sporlanmasını sağlayarak sporokist ve sporozoitlerinin görülmesiyle de tanı konulabilmektedir. Ayrıca floresan mikroskopuyla otofloresan verme özelliği araştırılabilir. Bunun yanı sıra polimeraz zincir reaksiyon yöntemini (PCR) kullanarak parazit DNA'sını göstermek suretiyle tanı konulması mümkündür (1, 21).

2.6.1. Mikroskopik tanı

Tüm paraziter hastalıklarda mikroskopik tanı önemlidir. Duyarlılık mikroskopik incelemeden önce ve inceleme esnasında kullanılan yöntemlere göre değişiklik gösterir. Mikroskopik tanıda çeşitli boyama, çoklaştırma, çöktürme, yüzdürme gibi yöntemler kullanılarak mikroskopi yönteminin duyarlılığı artırılabilir.

Mikroskopik tanıda parazitlerin kist, trofozoit, yumurta, larva, ookist vb. şekilleri incelenir. Paraziter hastalıkların çoğunda ışık mikroskobu kullanılırken ayrıca floresan mikroskobu ve hücrelerin iç yapılarını daha iyi incelemeyi sağlayan faz kontrast mikroskobu ve çeşitli modellerde elektron mikroskopları da kullanılır (74).

2.6.1.1. Rutin mikroskopik tanı

Rutin mikroskopik incelemede önemli olan iyi bir mikroskopisttir. İyi bir mikroskopist dışkıdaki yabancı maddeler ile parazitleri ayıracak bilgi ve birikime sahip olmalıdır.

Dışkının toplanması ve incelenmeye hazır oluncaya kadar yapılan işlemler açısından ilk yapılacak iş dışkının doğru ve yeterli miktarda toplanmasını sağlamaktır.. Dışkı örnekleri etrafa bulaştırılmadan tercihen fiksatifli veya fiksatif içermeyen temiz plastik kaplara konulmalıdır. Genellikle her dışkılamada aynı miktarda yumurta kist ve ookist bulunmayabilir. Bundan dolayı dışkıların üç gün arka arkaya toplanması parazitlerin saptama olasılığını artırır. Dışkılar tuvaletten veya klozet içinden alınmamalıdır.

Dışkılamadan sonra geçen sürede dışkı parazitleri açısından özellikle trofozoit formlarının görülmesi açısından önemlidir.

İkinci işlem dışkının doğru şekilde hazırlanmasını oluşturur. Bu aşamada incelenecek parazitler açısından değişiklik gösterir. Kan ve doku parazitleri ile gastrointestinal sistem parazitleri açısından örnekler aynı koşullarda hazırlanmazlar. Gastrointestinal sistem parazitleri öncelikli olarak direkt bakı ve konsantrasyon işlemleriyle incelenir. Direkt bakı için doğrudan taze dışkıdan ve serum fizyolojik kullanarak hazırlanır. Ayrıca direkt bakıda lügol ve metilen mavisi gibi çeşitli boyalar da kullanılabilir. Geçici boyamalarla parazitlerin iç yapılarının daha iyi görülmesi amaçlanmaktadır. Direkt bakı eğer dışkıda az sayıda parazit varsa düşük bir duyarlılık gösterir. Bunun için konsantrasyon işlemleri uygulanmaktadır. Konsantrasyon işlemleri

formol-eter çöktürme, çinko sülfat yüzdürme yöntemleri ve çeşitli hazır ticari kitlerle yapılabilir.

Ticari olan konsantrasyon kit içeriklerinde fiksatif olarak formol kullanılabilir veya kit içerisindeki mevcut fiksatifin kullanılması istenebilir. Bu kitler genelde biri fiksatif içeren diğeri boş iki bölüm ve arasında süzgeç içeren vidalı bir mekanizmadan oluşan bir sisteme sahiptirler. Ancak konsantrasyon işlemleri preparatların çok yoğun olmasına neden olabileceğinden parazitlerin incelenmesi esnasında zorluk çıkarabilir (74).

Konsantrasyon işlemleri sonrasında yapılan boyama işlemlerinin daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Boyamalar parazit türüne göre değişirken, *C. cayetanensis* için kullanılan boyama yöntemleri olarak genellikle Modifiye Ziehl-Neelsen (sıcak metod), Kinyoun (soğuk metod) ve Safranin boyama yöntemleri en çok tercih edilen yöntemleridir (74).

2.6.1.2. Floresans mikroskobu ile tanı

C. cayetanensis'in diğer koksidian parazitlerden ayrımı yapılırken kullanılan diğeri bir yöntem floresan mikroskobu ile incelemidir. *C. cayetanensis* otofloresans özelliğe sahip bir parazittir. Bu özelliği sebebiyle mikroskopik bulgularımızı floresan mikroskopunda teyit etme şansımız olabilmektedir.

C. cayetanensis ookistleri floresan incelemede 330-380 nm'de açık mavi renk veya 450-490 nm de ise yeşil renkli olarak görülmektedir (1-3,5).

2.6.2. Serolojik tanı

Serolojik tanı daha tam anlamıyla kullanılabilir bir safhada değildir. Ancak serolojik immun yanıt kullanılarak immunfloresan antikor (IFA) için çalışmalar yapılmaktadır (12). Wang ve ark. (45) 2007 yılında cyclosporiasisli hastaların hücresel ve humoral bağışık yanıtı göre geliştirdikleri ürünü kullanmışlardır. Ancak bu ürün birçok araştırmacı tarafından da denenmiş ve daha kullanışlı hale getirilmesi gerektiği bildirilmiştir.

Ortega ve Sanchez (12) 2010 yılında Western Blot testi için çalışmalarda bulduklarını, ciddi yol aldıklarını ancak deneyin kullanılabilir olması için hala yapılması gerekenler olduğunu bildirmişlerdir.

2.6.3. Moleküler tanı

C.cayetanensis'in mikroskopik tanısından kaynaklanan zorluklar nedeniyle moleküler yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır (75). Hem sporadik vakaların tespitinde hem de salgınlar durumunda çevresel faktörlerin ve insan kaynaklı örneklerin incelenmesi açısından moleküler tanı önemlidir. Ayrıca polimeraz zincir reaksiyonu gibi hızlı, yüksek duyarlılık gösteren tekniklerin geliştirilmesi tanıda avantajlar sağlayabilmektedir (1). Bu amaçla çeşitli çalışmalarla yeni ve daha duyarlı yöntemler araştırılmaktadır.

C. cayetanensis'ten DNA izolasyonu, dışkı örneğinde bulunan çok sayıda inhibe edici madde dolayısıyla zorlukla gerçekleştirilir (75).

Relman ve ark. (76) 1996 yılında Nested-PCR ile rRNA'nın küçük altbirim (SSU-rRNA) geninin 294-bp'lik bölgesini amplifiye ettikten sonra elde edilen ürünlere RFLP yöntemi uygulanarak *Cyclospora* türleri arasında ayırım yapabilmeyi amaçlamışlar, ancak başarılı olamamışlardır. *C. cayetanensis* tanısında Real-Time PCR yönteminin kullanılması kantitatif sonuç vermesi, tür ayırımı yapılabilmesi ve duyarlılığı nedeniyle önemli yer tutmaya başlamıştır. Varma ve ark. (77) 2003 yılında Real-Time PCR yöntemiyle az miktarda (~1 ookiste kadar) *C. cayetanensis* DNA'sını dahi saptamayı başarmışlardır.

Eberhard ve ark. (19) 1999 yılında moleküler yöntemlerle üç yeni *Cyclospora* türünü tespit etmişlerdir. Bu üç türün *Cyclospora cercopitheci sp.n.*, *Cyclospora colobi sp.n.* ve *Cyclospora papioonis sp.n.*'dir ve şimdiye kadar insanda patojen olarak bildirilmemelerine rağmen birbirleriyle ve *C. cayetanensis* ile mikroskopik ayırımı zordur. Bu türlerin moleküler olarak ayırımı ise oldukça kolaydır. Ayrıca SSU-rRNA ile yapılan sekans çalışmalarıyla bu üç türün *C. cayetanensis* ile sırasıyla %98.4, %98.7, %98.6 oranlarında homoloji gösterdiği bildirilmiştir.

Adam ve ark. (78) tarafından moleküler tanı markırı üzerinde ribozomal RNA genleri arasında ITS (intervening transcribed spacer) bölgesi bildirilmiştir. Bu bölgenin *Cyclospora* türleri açısından tiplendirmede yararlı olacağı düşünülmektedir.

Mundaca. ve ark. (79) 2008 yılında, bir salgın varlığında, PCR yönteminin tanıda verimliliği üzerine çalışmışlardır. PCR yönteminin tanıda boyalı preparatların mikroskopisinden 2.2 kat daha verimli olduğunu bildirmişlerdir.

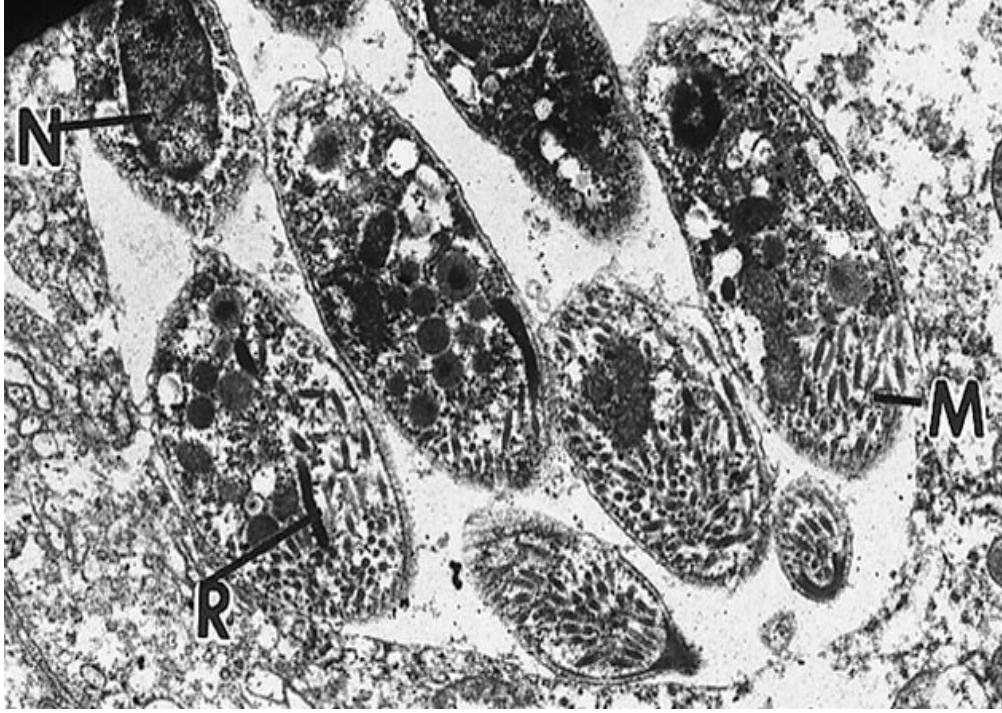
2.7. Histopatoloji

Rutin histolojik incelemeler ışık mikroskobu ile yapılmaktadır. Ancak bazı durumlarda elektron mikroskobu da kullanılmaktadır. Üst ince barsak duvarının enterositleri içerisinde bulunan ve bir hücre içi paraziti olan *C. cayetanensis*, distal duodenum ve jejunumdan alınan doku örneklerinde incelenmektedir (80). Bu incelemelerde elde edilen bilgilerle *C. cayetanensis*'in yaşam döngüsü belirlenmeye başlamıştır.

Ortega ve ark. (12) *C. cayetanensis* ile enfekte hastalarda 1996 yılında yaptıkları farklı çalışmalarda parazitin aseksüel döneminin insan barsağında gerçekleştiğini ve parazitin merozoit şeklini barsak biyopsi örneklerinde histopatolojik olarak gösterilmiştir.

Histolojik çalışmalar öncelikle *C. cayetanensis*'in yaşam döngüsü üzerinde yoğunlaşmış ancak ardından diğer hastalıklarla olan ilgisi de bildirilmeye başlanmıştır (27). Zar ve ark. (81) 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada *C. cayetanensis*'in taşsız kolesistit oluşturacağını histolojik preparatlarla ortaya koymuşlardır. Çalışmalarında HIV pozitif 35 yaşındaki bir erkek hastada sağ üst kadranda palpasyonda ağrı saptanmış ve yapılan rutin histolojik incelemede akut ve kronik kolesistit tanısı konmuştur. Bu sırada barsak epitelinde karakteristik olan çok sayıda intrasitoplazmik parazitifer vakuolleri içinde *C. cayetanensis* trofozoit, merozoit ve şizontları safra kesesi epitelinde tespit edilmiştir (4).

Ortega ve ark. (82) ise 1997 yılında *C. cayetanensis* varlığını tespit ettikleri diyareli 17 hastada, aynı konak üzerinde hem eşeyli hem de eşeysiz üremenin gerçekleştiğini göstermişlerdir. *C. cayetanensis*'in eşeysiz döneminde iki meront olduğunu ; Tip 1 meront da 0.5 x 3-4 µm boyutlarında 8-12 merozoit , Tip 2 merontta ise 0.7-0.8 x 12-15 µm boyutlarında 4 merozoit olduğunu bildirmişlerdir. *C. cayetanensis* in merozoit, meront ve makrogametosit görüntüleri taramalı elektron mikroskobu ile alınmıştır. Merozoitlerin Koksidia sınıfının tipik özelliklerini içerdiği Rhoptiri, mikronem ve nukleusa sahip olduğu şekil 2.5'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. *C. cayetanensis*'in histopatolojik görüntüleri (82).

Mikronem (M), Rhoptriler (R), Nukleus (N).

C. cayetanensis ile enfekte hastalarda patolojik olarak hiperemi, nadiren eozinofili, yüksek oranda epitel lenfositik infiltrasyon, villuslarda atrofi, kript hiperplazisi görülebilmektedir (12,80, 82).

Connor ve ark. (83) 1999 yılında cyclosporiasisli üç hastada elektron mikroskobu ile yaptıkları incelemede ise miyelin benzeri materyali (Myelin-like material=MLM) enterositlerin yanında olduklarını görmüşlerdir. Enfektif olduktan sonra oluşan bu yoğun MLM artışı devam eden infiltrasyon veya immulojik süreç olabileceğini bildirmişlerdir.

2.8. Klinik

Cyclosporiasis'in neden olduğu klinik tablo tam olarak belli değildir. Enfeksiyon asemptomatik veya semptomik olabildiği gibi endemik bölgelerde yaşayanlarda ve bu bölgelere seyahat ederek enfekte olmuş kişilerde farklı belirtiler gösterilebilir.

Klinik belirtiler genellikle cryptosporidiosis, isosporiosis, microsporidiosis ve giardiasis ile benzerdir. Belirtiler genellikle aniden ortaya çıkmakla beraber yavaş yavaş

da görülebilmektedir. Genel olarak konağın yaşı, bağışıklık sistemi ve enfeksiyon dozuna göre belirtiler farklılık gösterebilir (17).

Hastalığın inkübasyon süresinin ookistler alındıktan ortalama 1 hafta olduğu belirtilmiştir. Ancak bazen bu inkübasyon süresinin 12 saat-11gün arasında da değişebileceği belirtilmiştir.

Ortega ve ark. (82) ise 1997 yılında cyclosporidiosisli 17 hastanın tamamında ishal, 16'sında şişkinlik ve gaz, 13'ünde kilo kaybı, 12'sinde bulantı ve abdominal ağrılar, 11'inde idrar tutamama, 10'unda ağız kokusu, 9'unda ateş, 8'inde geğirme, 4'ünde kusma ve kabızlık olduğunu belirtmişlerdir. 2004 yılında Koumans ve ark. (84) Florida'da yaşanan salgın sonrası yapılan bir çalışmada klinik olarak cyclosporidiosisli 24 hastanın 22'sinde gevşek veya sulu dışkılama, 20'sinde iştahsızlık ve kramplar, 17'sinde ishal, 16'sında yorgunluk ve gaz, 15'inde kilo kaybı, 14'ünde bulantı, 10'unda baş ağrısı, dokuzunda ateş, sekizinde şişkinlik ve titreme, yedisinde kusma, beşinde ise eklem ağrıları, kabızlık ve kas ağrısı olduğu bildirilmiştir. 2006 yılında Peru'nun başkenti Lima'da ortaya çıkan 77 kişilik bir cyclosporiasis salgınında Torres-Slimming ve ark. (85) 77 kişinin tamamında ishal, 50'sinde bulantı, 46'sında huzursuzluk, 44'ünde titreme, 40'ında ateş, 36'sında abdominal ağrı, 26'sında baş ağrısı, 24'ünde kusma klinik belirtileri bildirmişlerdir.

2.9. Tedavi

C. cayetanensis'e bağlı gelişen hastalık cyclosporiasis olarak adlandırılır. Cyclosporiasis genel olarak bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda uzun süren ishalleri neden olmaktadır. Özellikle günde 3-8 ishal ataklarına neden olan cyclosporiasis olgularında ayrıca d6nemsel olarak ishal atakları aylarca sürebilir. D6nya Sağlık 6rg6t6 (DS6) bir aydan fazla s6ren ishal vakalarını kronik ishaller olarak adlandırmıştır. Cyclosporiasis olguların dahastalığın bir ay ile 24 ay arasında değişen s6relerde seyrettiği bildirilmiştir (17).

Shlim ve ark. (14) 34 cyclosporiasisli hastada 7eşitli antibiyotik (norfloksasin, tinidazol, nalidiksik asit ve diloksanit furoat) tedavilerini denemişler ancak yeterli sonuç alamamışlardır.

Pape ve ark. (86) ise 1994 yılında cyclosporiasis olduğu laboratuvar sonuçlarına g6re kanıtlanmış 43 AIDS hastasında yaptıkları çalışmada on g6n boyunca TMP-SMX (160 mg- 800 mg) ile tedavi ettikleri hastalarda 2-5 g6n i7inde ishal ve karın ağrısı

şikayetlerinin geçtiği 1 hafta sonunda ise hastalığın tamamen geçtiğini bildirmişlerdir. Ancak tedavi edilen 43 hastaların 28'inde (%44) 1-3 ay içinde semptomların tekrarladığı bildirilmiştir.

Cyclosporiasisli hastalarda Verdier ve ark. (87) 2000 yılındaki TMP-SMX ve siprofloksasinin etkinliğini göstermek için yapıları çalışmada bir hafta sonunda TMP-SMX kullanan hastaların tamamen iyileştiğini siprofloksasin kullanılan hastalarda ise *C. cayetanensis*'in %70 oranında eradike edildiğini bildirmişlerdir.

Diaz ve ark. (88) 2003 yılında yaş aralığı 2-14 olan 272 meksikalı çocuk ile yaptıkları bir çalışmada, çocuklardan 121'i parazitlik açısından pozitif bulunmuş ve %3'ünde *C. cayetanensis* saptanmıştır. Bu çocuklar etken maddesi nitazoksanit olan protozoonlar ve helmintlerin neden olduğu hastalıkların tedavisi için kullanılan bir ilaçla tedavi edilmişler ve sonuçta cyclosporiasis olgularının %71-87 oranında tedavi edildiği bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda cyclosporiasis olgularında genellikle TMP-SMX birlikte kullanılmıştır. Dozu günde iki kez oral olarak en az 7 gün yetişkinlerde 160 mg TMP – 800 mg SMX ve çocuklarda çocuğun kilosuna göre 5mg/kg TMP- 25/kg SMX şeklindedir. Bağışıklık sistemi baskılanmış olan hastalarda ise doz miktarı sabit tutulur fakat günde dört kere en az yedi gün süreyle kullanılması önerilir. Ayrıca çocuklarda kullanılırken anemi yüksek duyarlılık gibi yan etkilerin olabileceği bildirilmiştir (17).

Tedavide Zar ve ark. (81) TMP-SMX alerjisi bulunan HIV pozitif cyclosporiasisli 35 yaşında bir erkek hastayı günde 500 mg olmak koşulu ile üç hafta boyunca levofloksasin ile tedavi etmişlerdir. Tedavi sonucunda parazit açısından yapılan dışkı incelemesinde negatif sonuç almışlardır.

Ülkemizde bildirilen cyclosporiasis olgularının da tedavisinde genellikle TMP/SMX (160mg/800mg) kullanılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Dışkı Örneklerinin Toplanması ve Çalışma Grubunun Oluşturulması

Hasta grubumuz literatüre göre cyclosporiasis'in en sık görüldüğü ve ülkemizde daha az çalışılmış olan HIV pozitif kişilerden oluşturulmuştur.

T.C. Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Bölümüne kayıtlı HIV pozitif 100 kişinin gönüllü olmaları koşuluyla 31.03.2011 – 29.12.2011 tarihleri arasında toplanmış dışkıları çalışmaya alınmıştır. Bu dışkıların içinden çeşitli nedenlerle uygun olmadığı tespit edilen dokuz adet dışkı çalışmadan çıkarılmıştır. 91 hastanın dışkı örnekleri şekilleri sulu, gevşek, yumuşak ve şekilli olarak ayrılmış ve HIV pozitif bireylerin örneklerin alındığı tarihteki yaş, cinsiyet, CD4 ve HIV-RNA sayıları, ek hastalığının olup olmadığı, tanı ve tedavi süreleri kaydedilmiştir (2).

Her bir dışkı örneği ikiye ayrılmış, bir kısmı Real-Time PCR çalışılması amacıyla DNA izolasyonu için -20°C'de ki derin dondurucuda saklanmış, diğer kısım ise çoklaştırma yöntemi ve sonucunda Modifiye Ziehl-Neelsen boyama yapmak amacıyla kullanılmıştır (74,75).

3.2. Bazı muayene materyallerinin çalışma grubundan çıkarılması

'HIV pozitif bireylerin dışkılarında *C. cayetanensis* varlığının çeşitli yöntemlerle gösterilmesi' adlı çalışmaya alınmak için gönüllü olan 100 HIV pozitif kişiden dokuz tanesinin (33,76,78,82,83,84,98,99,100) dışkı örneği çeşitli sebeplerden dolayı uygun olmadığı için çalışma grubuna alınmamıştır. Red sebepleri arasında; dışkı miktarında yetersizlik, taşıma ve saklanma koşullarında olumsuzluk, idrar ve benzeri sıvılarıyla karışmış olması yer almaktadır.

3.3. Modifiye Ziehl-Neelsen Boyama Yöntemi (Sıcak Metod)

Modifiye Ziehl-Neelsen boyama yöntemi *Cryptosporidium spp.* ve *Cystoisospora spp.* gibi diğer parazitlerin de görülmesini sağladığından dolayı ve ayrıca rutin laboratuvar koşullarında uygulanabilirliğinin de yüksek olması sebebiyle

seçilmiştir. Amacımız rutin tanıda ileri tetkiklerden önce mutlaka bir boyama yöntemi ile hastanın dışkı materyalinin boyanması yönündedir (74).

Çalışmamızda Modifiye Ziehl-Neelsen boyama yönteminde ticari bir kit (Gül Boya Laboratuvarı-İstanbul-Türkiye) kullanılmıştır.

3.3.1. Kitin açıklaması

Kitin içeriğinde; kullanım süresi 24 ay, saklama sıcaklığı 15 °C ile 25 °C arası olarak belirtilmiştir. Kit içerisinde karbol-fuksin, metilen mavisi ve ait alkol çözeltileri bulunmaktadır.

3.3.2. Boyama metodunun uygulanması

- 1) Preparatı “A-Karbol Fuksin Çözeltisi ZN” ile örtülmüştür.
- 2) Alttan 5 dakikadan az olmak şartıyla ısıtılmıştır.
- 3) Distile suyla 15 saniye yıkanmıştır.
- 4) Preparatı “B-Asit Alkol” çözeltisi ile yıkadık. 15 saniye sonra lamı silkeleyerek ayırıcı uzaklaştırılmıştır.
- 5) Distile suyla 15 sn yıkanmıştır.
- 6) Preparatı “C-Metilen Mavisi Çözeltisi” ile örttük. 30 saniye sonra lamı silkeleyerek ayırıcı uzaklaştırılmıştır.
- 7) Distile suyla 15 saniye yıkanmıştır.
- 8) Havada tercihen ısıtıcı tabla üzerinde kurutulmuştur.
- 9) Lamın altında kalan boya kalıntılarını bir peçete ile silinmiştir.
- 10) Işık mikroskopunda önce 40x büyütme objektifinde daha sonra 100x lik immersiyon objektifinde sedir yağı damlatarak incelenmiştir.

Boyamayı yapmadan önce dikkat edilmesi gereken önemli iki nokta; yapılan yaymanın ince olması ve öncesinde çoklaştıma metodunun uygulanmasıdır (74).

3.4. Moleküler Tanı Uygulaması

3.4.1. DNA Ekstraksiyonu

3.4.1.1. Kit İçeriği

DNA izolasyon işlemi için iki aşamalı bir sistem kullanılması tercih edilmiştir ve önce manuel klasik izolasyon metoduyla başlanmıştır. InhibitEX tablet kullanılıp inhibe edici maddeler uzaklaştırıldıktan sonra örnekler QIAcube cihazına yüklenmiştir. DNA izolasyonu için QIAcube için de uygunluk gösteren QIAGEN QIAamp DNA Stool Mini Kit (50 adet Kat. No:51504) kullanılmıştır.

Kit içeriğinde bulunan bazı kimyasal maddelerin sağlığa zararlı olduğundan, çalışma esnasında tek kullanımlık eldiven, önlük ve sıçramalardan korunmak için gözlük kullanılmıştır. Buffer AW1 ve AL hidroklorit içerdiğinden, Proteinaz K' nın da duyarlaştırıcı ve iritan özellikte olması nedeniyle bu kimyasallar kullanılırken dikkat edilmiştir. Çalışmamız esnasında QIAcube cihazının kullanılması nedeniyle kullandığımızdan dolayı Buffer AW1, AL ve Proteinaz K ile temas sadece kimyasalları cihaza koyarken olmuştur.

Kit içeriği dışında kullanılan kimyasallar ve ekipmanlar;

- Etanol (%96-100)
- 1,5 ml ve 2 ml lik ependorflar
- Pipet uçları (Filtreli)
- Mikrosantrifüj cihazı
- 70 °C'lik sıcak su banyosu
- Vorteks
- Spatula
- Buz

Tablo 3.1. DNA Ekstraksiyonu Kit İçeriği.

KİT İÇERİĞİ	50 ÖRNEK
QIAamp Mini Spin Columns	50
Toplayıcı Tüpler (2ml)	200
InhibitEX tabletleri	50
Tampon ASL	140 ml
Tampon AL	33 ml
Tampon AW1 (Konsantre halde)	19 ml
Tampon AW2 (Konsantre halde)	13 ml
Tampon AE	12 ml
Proteinaz K	1,4 ml

Kit taze veya donmuş dışkı örnekleriyle çalışılabilmektedir. Dışkıyı lizise uğratmak için Tampon ASL, saf olarak DNA'nın kalmasını sağlamak için ortamdaki kirleticileri kendine çeken InhibitEX ve DNA'yı saflaştırma içinde QIAamp Mini spin columns ve dışkı miktarı olarak 200-250 mg dışkı örneği kullanılmıştır.

İlk aşama olarak Tampon ASL kullanılarak lizis yapılmıştır. Patojen mikroorganizmaların lizisi için dışkı 70 °C de homojenize edilmiştir. Ancak bazı mikroorganizmaların hücre duvar yapıları nedeniyle 70 °C olan bu sıcaklık 95 °C ye kadar çıkarılabilmektedir. Lizis aşamasından sonra InhibitEX kapsül ile ortamdaki kirleticiler ortamdan uzaklaştırılmış ve son aşamada DNA saflaştırma işlemi yapılmıştır. Elde edilen DNA ağırlıkları saklanma koşullarına göre 5-100 µg olmalıdır. Çalışılan tüm örnekler en yüksek 14.000 rpm de ve oda sıcaklığında (15-25 °C) mikrosantifüj cihazı ile santrifüj edilmiştir. Ayrıca hangi basamakta vorteks cihazı kullanılacaksa vortekleme hızı o basamaktaki yapılacak işleme göre ayarlanmıştır.

3.4.1.2. DNA Ekstraksiyon Prosedürü

- 1) -20 °C 'de derin dondurucuda saklanan dışkı örneklerinden 2 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine yaklaşık 200-250 mg kadar konulmuştur. Bu sırada

dışkılarının erimemesi için tüpler buz tanklarının üstünde tutulmuştur. Erimesini istenmemesindeki amaç DNA'nın degrades olmasının engellenmesidir.

- 2) İçerisinde dışkı bulunan numaraları yazılmış mikrosantrifüj tüplerinin her birine 1.4 ml (1400µl) tampon ASL eklenmiş ve iyice vortekslemiştir. Bu aşamada önemli olan iki noktadan ilki tampon ASL koymadan örneklerin erimemiş olması, diğeri ise tampon ASL eklendikten sonra örneklerin iyice vortekslenmesi gereğidir. Bu aşamada yapılan vorteksleme daha yoğun ve homojenize halde bir DNA konsantrasyonu elde edilmesini sağlamaktadır. Bu sebeple vorteksleme işlemi bu basamakta azami olarak 1-2 dakika yapılmıştır.
- 3) 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpleri vorteksledikten sonra 70 °C 'lik sıcak su tankına konulmuş ve tüpleri 5 dk boyunca sıcak su tankında bekletilmiştir.
- 4) Sıcak su tankından alınan örnekler yine 15-30 saniye boyunca vortekslenmiştir.
- 5) Vortekslenen tüplerin içinden süpernatant kısmından 1.2 ml (1200 µl) alınıp yeni 2 ml'lik tüplere eklenmiştir. Bu esnada sedimentten almamaya dikkat edilmiştir.
- 6) 2 ml'lik yeni mikrosantrifüj tüplerimize bir adet InhibitEX Tablet eklenmiş ve 1 dakika boyunca vortekslenmiştir. Vorteksleme işleminden sonra InhibitEX Tablet'in inhibitörleri absorbe etmesi için 1 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.
- 7) İnkübasyondan sonra mikrosantrifüj tüplerimizi 3 dk boyunca 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- 8) Santrifüj işleminden sonra örneklerinin süpernatantları 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alınmış ve tekrar 3 dk santrifüj edilmiştir.

İlk 8 basama el ile klasik olarak çalışılmıştır. Geriye kalan basamaklar hem standardizasyonu sağlamak hem de kontaminasyonu önlemek amacıyla QIAcube cihazıyla kapalı ortamda otomatize sistemle çalışılmıştır.

3.4.1.3. QIAcube

QIAcube kapalı bir ortamda otomatize olarak DNA, RNA, protein saflaştırması yapan bir cihazdır. Bir santrifüj, ısıtıcı karıştırıcı, pipetleme sistemi ve robotik bir kola sahiptir. Santrifüj işlemi en yüksek 12.000 g de 45° lik açı ile yapılmaktadır. Karıştırıcısı 100-2000 rpm, pipetleme sistemi ise 1 ml ve 5-9 µl arasındadır. Cihaz kapalı alanlarda 10-70% nem oranında ve 2000 m aşağısındaki rakımlarda kullanılabilir.

Cihazda bir seferde en az 2, en çok 12 örnek çalıştırılmaktadır. Protokolleri örnek ve çalışma şekline göre www.qiagen.com/MyQIAcube adresinden kolaylıkla indirilip cihaza yüklenebilmektedir. Cihaz açıldıktan sonra gerekli kimyasallar ve sarf malzemeler eklenir ve sonra dokunmatik LED ekranından uygulanacak material çeşidine göre ekstraksiyon programı seçilir. Cihaz tüm ekstraksiyon kitlerine uygunluk göstereceği QIAGEN Manuel Kit kullanılması önerilmektedir. Prosedürlerin süresi yaklaşık olarak 2 saat sürmektedir.



Şekil 3.1. QIAcube dış görünüşü ve parçaları.

- 1) Dokunmatik ekran – 2) Dış kapak kısmı – 3) USB giriş – 4) Sadece yetkili servisin kullanabileceği bir port girişi – 5) Açma kapama tuşu – 6) Atık toplama kutusu



Şekil 3.2. QIAcube iç görünüşü ve parçaları.

- 1) Santrifüj kapağı - 2) Santrifüj -3) Karıştırıcı - 4) Kimyasalların bulunduğu kuyucuk
 5) Pipet uçları algılayıcısı - 6) Mikrosantrifüj tüpleri alanı – 7) Pipet uçlarının konulduğu alan - 8) Kirli pipet uçları ve tüplerin atıldığı alan – 9) Robot kolu

3.4.2. Real-Time PCR Uygulaması

Real-Time PCR uygulaması ‘Genesig Primer Desing Ltd Quantification of *Cyclospora cayatanensis* Heat shock protein 70 (HSP70) gene’ kiti (İngiltere) Qiagen Rotor Q Real-Time PCR cihazında yapılmıştır.



Şekil 3.3. Qiagen Rotor Gene Q Real-Time PCR cihazı.

3.4.2.1. Kit içeriği.

- *C.cayetanensis* specific primer/probe
- *C. cayetanensis* positive kontrol
- Internal ekstraksiyon kontrol DNA
- Internal ekstraksiyon kontrol primer/probe karışımı
- RNase/DNase free water



Şekil 3.4. Primer Design *C. cayetanensis* Real-Time PCR Tanı kiti.

3.4.2.2. Kitin saklanması

Kit -20 °C de saklanmıştır.

3.4.2.3. Deney esnasında kullanılan kimyasallar ve ekipmanlar

- Real-Time PCR Cihazı
- DNA ekstraksiyon kiti
- Mastermiks veya Mastermiks içerikleri
- Pipet ve pipet uçları
- Vorteks ve mikrosantrifüj cihazı
- İnce duvarlı 1.5 ml PCR reaksiyon tüpleri

3.4.3. Real-Time PCR çalışma prensipleri

Real-Time PCR nükleik asit çoğalmasıyla eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalin ölçülmesiyle, kısa sürede kantitatif sonuç verebilen bir PCR yöntemidir. Taqman sisteminde, 5' ve 3' uçlarından florokrom (floresans veren) maddelerle işaretli prob kullanılmaktadır. Probonun 5' ucunda raportör florokrom (6-carboxyfluorescein= 6-FAM), 3' ucunda ise baskılayıcı (quencher) florokrom (6-carboxy-tetramethyl-rhodamine=TAMRA) bulunmaktadır (89).

Prob, tek sarmal hale getirilen hedef molekül üzerinde, primerlerin bağlanma bölgesinin arasında kalan yere bağlanır. Proba hedef molekül arasındaki hibridizasyon devam ettiği sürece raportör florokrom maddenin sinyal oluşturması, 3' uçtaki baskılayıcı florokrom tarafından engellenmektedir. Primerlerin hedef nükleik asite bağlanmasını takiben başlatılan primer uzaması probun bağlandığı noktaya kadar geldiğinde, sentezin devam edebilmesi için Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3' nükleaz aktivitesini kullanarak probu 5' uçtan yıkmaya başlar. Böylece raportör florokrom serbest hale geçer ve sinyal oluşturur. Her siklusta üretilen ampikon miktarına paralel olarak sinyal şiddeti de artmaktadır (90).

Rotor Gene Q optik sistemi ışımayı ölçerek anında sonuç verebilmektedir. Tüpler açılmadan tanıya gidildiği için kontaminasyon riski düşüktür. Elektroforeze gerek kalmadan çoğalma esnasında sonuç alınabilmektedir (91).

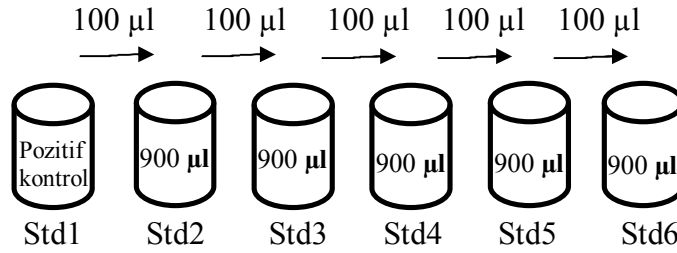
3.4.3.1. Real-Time PCR Çalışması

- 1) İlk olarak kit içeriğinden mastirmiks hazırlanmıştır. Bir örnek için 15 µl Mastirmiks hazırlanmıştır. Mastirmiksin hazırlanması için kullanılan malzemeler Tablo 3.3'de gösterilmiştir.
- 2) 0,2 ml'lik PCR tüplerinin herbirine 15 µl hazırladığımız örnekten dağıtılmıştır.
- 3) Mastirmiksleri dağıttıktan sonra her kuyucuğa dışkılarından elde ettiğimiz DNA izolatlarından 5 µl eklenmiştir.
- 4) Negatif kontrol için 15 µl mastermiks üzerine 5 µl RNase/DNase free water eklenmiştir.

Tablo 3.2. Mastırmıksın Hazırlanması.

MASTIRMİKSİN İÇERİĞİ	MİKTAR
2x Precision MasterMix	10 µl
C. cayetanensis Primer/Probe miks	1 µl
Internal ekstraksiyon kontrol primer/probe miks	1 µl
RNAse/DNAse free water	3 µl
Toplam miktar	15 µl

- 5) Standartlar için pozitif kontrolden seri dilüsyonlar ile beş standart elde edilmiştir. Standartların hazırlanışı;



- 2-6 arası tüplere 900 µl RNAse/DNAse free water koyulmuştur.
- Bir numaralı tüp olan pozitif kontrolden 100 µl ikinci tüpe oradan 100 µl ekliyoruz ve ardından vortekslenmiştir.
- İki numaralı tüpten üç numaralı tüpe geçerken pipet ucunu değiştirilmiş ve 100 µl alarak üç numaralı tüpe eklenmiş ve yeniden vortekslenmiştir.
- Altıncı tüpe kadar aynı işlemleri tekrarlanmış ve dilüsyon işlemimiz sonra ermiştir. Dilüsyon işleminden sonra standartlarımız içerisinde oluşan kopya DNA sayıları Tablo3.4'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Standartların Hazırlanışı.

STANDARTLAR	KOPYA SAYISI
Tüp 1 Pozitif Kontrol	2 x 100000 per µl
Tüp 2	2 x 10000 per µl
Tüp 3	2 x 1000 per µl
Tüp 4	2 x 100 per µl
Tüp 5	2 x 10 per µl
Tüp 6	2 x 1 per µl

- 6) 15 µl mastirmiks üzerine 5 µl standartlardan koyulmuştur. Sonuçta her tüpte toplam 20 µl mastirmiks-izolat karışımı koyulmuştur.

Amplifikasyon protokolü kit içeriğindeki bilgilere göre PCR cihazı ayarlanmıştır. Cihazın izleyeceği adımlar Tablo 3.5’de gösterilmiştir.

Tablo 3.4. Amplifikasyon Adımları.

	ADIMLAR	ZAMAN	SICAKLIK
50 Döngü	Enzim aktivasyonu	10 dakika	95 °C
	Denaturasyon	10 saniye	95 °C
	Bilgilerin toplanması	60 saniye	60 °C

Flourojenik bilgilerin toplanması için FAM ve VIC kanalları açıldı ve bilgilerin bu kanallarla toplanması sağlanmıştır.

Negatif Örneklerin Değerlendirilmesi:

Çalışma sonrasında, hasta örneklerinin değerlendirilmesinde kullanılan ölçüm kanalı (Örn: Green kanalı) grafiğindeki bir örneği negatif olarak değerlendirebilmek için, PCR eğrisinin, Threshold çizgisini kesmemiş olması bir başka deyişle, pozitiflik sınırının altında kalmış olması gerekmektedir. Ancak bir örneğin PCR eğrisinin, Threshold çizgisini kesmemiş olması, o örneğin gerçekten negatif olarak değerlendirilmesi için yeterli değildir.

Olası bir inhibisyon, kimyasal reaksiyon, tüp kirlilikleri, pipetleme hataları gibi aksaklıklardan kaynaklanabilen yanlış negatifliklerin önüne geçebilmek ve doğru sonuç vermek için, bu gibi durumlarda internal kontrol kanalındaki (Örn: Yellow) PCR eğrisinin Threshold çizgisini geçmiş olması, bir başka deyişle internal kontrolün pozitif olması gerekmektedir. Bu gibi bir durumda, örneğin herhangi bir inhibisyona maruz kalmadığı ve gerçek negatif olarak sonuçlandırıldığı yorumlanabilir.

Pozitif Örneklerin Değerlendirilmesi:

Çalışma sonrasında, hasta örneklerinin değerlendirilmesinde kullanılan ölçüm kanalı (Örn: Green kanalı) grafiğindeki bir örneği pozitif olarak değerlendirebilmek için, PCR eğrisinin, Threshold çizgisini kesmiş olması, bir başka deyişle, pozitiflik sınırının üzerine çıkmış olması gerekmektedir.

Bir örneğin pozitifliği (barındırdığı kopya sayısı) ne kadar fazla ise, internal kontrol'ün baskılanması o derece fazlalaşır. Bir başka deyişle; örneğin PCR eğrisi ile, o örneğin internal kontrol'ünün eğrisi ters orantılıdır.

4. BULGULAR

HIV pozitif olan gönüllü kişilerden toplam 91 dışkı örneği *C. cayetanensis* açısından Real-Time PCR ve Modifiye Ziehl-Neelsen boyama yöntemleriyle araştırılmıştır.

Çalışma grubuna ait klinik bilgileri yaş, cinsiyet, ek hastalık, CD4, HIV-RNA sayıları, dışkı şekilleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Hastalara ait bilgiler.

Materyal No	Cinsiyet	Yaş	Tam süresi (yıl)	Tedavi süresi (yıl)	Ek Hastalık	HIV-RNA Düzeyi (kopya/ml)	CD4 Düzeyi (uL)	Dışkı Şekilleri
1	E	49	11	11	Yok	<20	620	Gevşek
2	E	33	1	Yok	Yok	157000	580	Gevşek
3	E	30	1	5 Ay	Yok	<20	267	Şekilli
4	E	41	1	3 Ay	Yok	241	312	Şekilli
5	E	26	1	Yok	Yok	<20	560	Yumuşak
6	E	38	6 AY	Yok	Yok	563	725	Yumuşak
7	E	35	5	3 Yıl	Yok	<20	500	Yumuşak
8	E	30	3	3 Yıl	Yok	<20	20	Sulu
9	E	54	1	1 Yıl	Yok	47	440	Gevşek
10	E	46	2	Yok	Yok	<20	631	Yumuşak
11	E	46	1	Yok	Sifiliz	8290	260	Sulu
12	K	25	1	Yok	Anal Fistül ve Kolit	59	490	Şekilli
13	E	41	1	1 Yıl	Yok	560	375	Gevşek
14	E	27	1	Yok	Yok	<20	450	Yumuşak
15	E	28	1,5	Yok	Yok	<20	246	Yumuşak

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Tanı süresi (yıl)	Tedavi süresi (yıl)	Ek Hastalık	HIV-RNA Düzeyi (kopya/ml)	CD4 Düzeyi (/uL)	Dışkı Şekilleri
16	K	26	1	Yok	Yok	<20	520	Yumuşak
17	K	51	11	10	Yok	<20	544	Gevşek
18	E	37	10	4	Anti-HAV	<20	1016	Gevşek
19	E	42	4	4	Seboraid dermatit	350	358	Gevşek
20	E	48	10	9	AIDS	4327	28	Gevşek
21	E	28	2	1	Yok	<20	207	Gevşek
22	K	39	11	7	Yok	<20	1000	Gevşek
23	E	44	11	7	Yok	<20	2562	Gevşek
24	E	10	10	7	TBC	3540	190	Gevşek
25	E	44	4	4	Sifiliz, AIDS	<20	360	Gevşek
26	K	30	6	5	Yok	<20	692	Gevşek
27	E	56	2	1	Yok	<20	421	Gevşek
28	E	58	8	3	Yok	868	1078	Gevşek
29	E	30	1	1	Yok	56452	439	Gevşek
30	E	41	2	---	Yok	<20	520	Gevşek
31	E	37	3	2	Yok	<20	237	Gevşek
32	E	46	5	3	Yok	<20	470	Gevşek
34	E	50	3	3	Sifiliz	<20	315	Sulu
35	E	45	13	13	Yok	200	784	Sulu
36	K	41	11	11	Yok	851	249	Sulu
37	E	54	5	5	Yok	<20	887	Sulu
38	E	36	8	7	TBC	<20	785	Sulu
39	E	38	10	8	Yok	5240	89	Gevşek

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Tanı süresi (yıl)	Tedavi süresi (yıl)	Ek Hastalık	HIV-RNA Düzeyi (kopya/ml)	CD4 Düzeyi (/uL)	Dışkı Şekilleri
40	K	41	10	5	HCV(+)	408000	24	Gevşek
41	K	33	3	1	TBC	107170	403	Gevşek
42	E	28	1	1	Yok	6371	845	Şekilli
43	E	44	3	3	TBC	115	287	Gevşek
44	E	56	4	3	Yok	<20	636	Gevşek
45	E	82	5	4	Yok	<20	350	Gevşek
46	E	61	3	3	Sifiliz	<20	669	Gevşek
47	E	37	6	1	HBV(+)	872	470	Gevşek
48	E	45	1	---	Yok	<20	614	Gevşek
49	E	28	1	---	Toxoplazmoz, EBV(+), CMV(+)	<20	422	Gevşek
50	K	47	1	1	AIDS	<20	275	Gevşek
51	K	35	7	2	Yok	<20	456	Gevşek
52	E	34	7	7	Yok	129959	65	Gevşek
53	K	33	10	9	HBV(+)	<20	472	Gevşek
54	E	45	10	10	HBV(+)	<20	1932	Gevşek
55	E	36	4	2	EBV(+)	25250	401	Gevşek
56	E	75	12	12	Yok	<20	275	Gevşek
57	E	47	1	1	Toxoplazmoz	<20	128	Gevşek
58	K	32	1	1	Yok	<20	285	Gevşek

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Tanı süresi (yıl)	Tedavi süresi (yıl)	Ek Hastalık	HIV-RNA Düzeyi (kopya/ml)	CD4 Düzeyi (/uL)	Dışkı Şekilleri
59	E	44	1	--	Yok	<20	286	Gevşek
60	E	46	3	2	Yok	199	363	Gevşek
61	K	47	13	8	TBC	<20	736	Sulu
62	E	41	2	2	Yok	<20	609	Sulu
63	E	74	9	8	Yok	20	332	Sulu
64	E	68	5	4	Yok	85	1065	Sulu
65	E	45	9	7	AIDS	<20	259	Sulu
66	E	34	7	3	Yok	47	359	Sulu
67	K	36	5	---	Yok	<20	1146	Sulu
68	K	61	13	13	Yok	<20	390	Sulu
69	E	38	1	---	Yok	748	400	Sulu
70	E	23	1	1	Yok	<20	444	Yumuşak
71	E	30	6	6	HBV(+)	20065	289	Yumuşak
72	K	48	2	2	Yok	<20	280	Yumuşak
73	E	43	3	---	Yok	907	326	Yumuşak
74	E	22	1	1	TBC	66715	297	Gevşek
75	E	31	2	---	Yok	19900	522	Yumuşak
77	E	25	1	1	Yok	3102	748	Gevşek
79	K	57	2	1	Yok	<20	396	Yumuşak
80	E	59	1	1	Sifiliz/HBV(+)	<20	737	Yumuşak
81	K	45	1	---	Yok	<20	268	Sulu
85	K	30	9	6	Yok	23298	256	Şekli
86	E	27	2	1	Yok	7596	626	Şekli

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Tanı süresi (yıl)	Tedavi süresi (yıl)	Ek Hastalık	HIV-RNA Düzeyi (kopya/ml)	CD4 Düzeyi (/uL)	Dışkı Şekilleri
87	E	24	3	3	Yok	<20	645	Gevşek
88	E	47	3	3	Yok	<20	254	Gevşek
89	E	42	5	5	Yok	20	286	Yumuşak
90	K	32	5	4	Yok	<20	178	Gevşek
91	E	35	1	--	Yok	<20	620	Yumuşak
92	E	50	10	5	Yok	<20	992	Yumuşak
93	E	37	10	3	Yok	<20	580	Yumuşak
94	E	31	5	4	Yok	<20	610	Yumuşak
95	E	45	2	2	Sifiliz	430000	692	Sulu
96	K	60	12	2	Yok	<20	183	Gevşek
97	E	32	6	2	Yok	40	648	Yumuşak

Çalışmaya dahil edilen 91 HIV pozitif bireyin 70'ini (%76,9) erkek, 21'ini (%23,1) kadın bireyler oluşturmaktadır. Çalışma grubunun yaş aralığı 10 ile 82, ortalaması ise yaklaşık olarak 41'dir.

Tablo 4.2. Cinsiyete göre yaş dağılımı.

	10-30 yaş arası	31-50 yaş arası	51-82 yaş arası
Erkek (70)	16 (%17,6)	43 (%47,3)	11 (%12,1)
Kadın (21)	4 (%4,4)	13 (%14,3)	4 (%4,4)

Çalışma grubumuzda ayrıca altı hastada sifiliz, dört hastada AIDS, altı hastada tüberküloz, beş hastada HBV, iki hastada toxoplazmoz, iki hastada EBV, bir hastada HCV, bir hastada Anti-HAV, bir hastada Anal fistül ve kolit ve bir hastada Seboroid dermatid ek hastalık olarak belirtilmiştir. Erkek hastaların 20'sinde (%28,6) bir veya birden fazla ek hastalık varken, kadın hastaların altısında (%28,6) ek hastalık olduğu belirtilmiştir.

Toplanan 91 dışkı örneğinin makroskobisinde sulu dışkı 18 (%19,8) , gevşek dışkı 47 (%51,6), yumuşak dışkı 20 (%22) ve şekilli dışkı altı (%6,6) olarak kayıt edilmiştir.

Tablo 4.3. Cinsiyete göre dışkı şekilleri.

	Sulu	Gevşek	Yumuşak	Şekilli
Erkek (70)	13 (%14,3)	36 (%39,6)	17 (%18,7)	4 (%4,4)
Kadın (21)	5 (%5,5)	11 (%12,1)	3 (%3,3)	2 (%2,2)

CD4 sayıları 20 ile 2562 arasında değişmekte ve ortalaması yaklaşık 499 olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.4. CD4 sayıları ve dışkı şekillerine göre cinsiyet bilgileri.

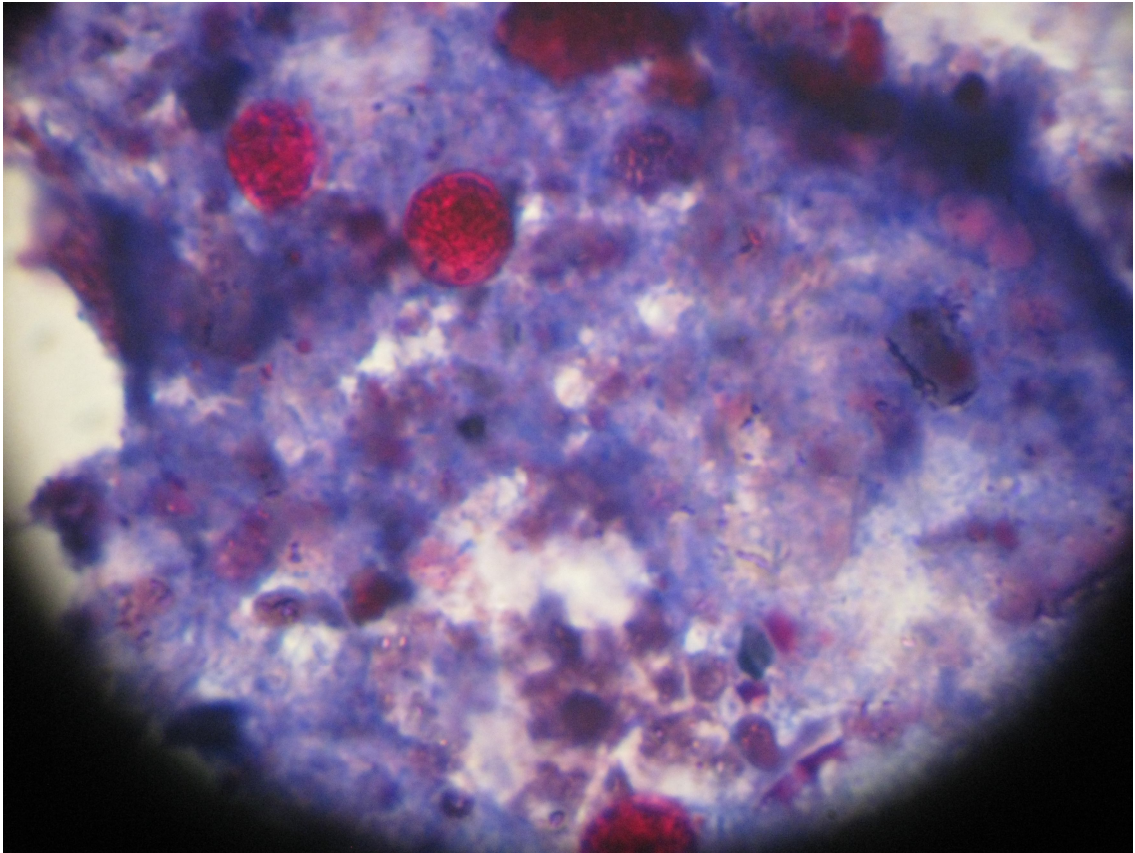
	<200 (9) E(6) / K(3)				200-349 (24) E(18) / K(6)				350-499 (21) E(15) / K(6)				>500 (37) E(31) / K(6)			
	S	G	Y	Ş	S	G	Y	Ş	S	G	Y	Ş	S	G	Y	Ş
ERKEK	1	5	0	0	4	8	4	2	2	11	2	0	6	12	11	2
KADIN	0	3	0	0	2	2	1	1	1	3	1	1	2	3	1	0

Real-Time PCR metoduyla pozitif tespit edilen iki hastamızda erkek bireyden oluşmaktadır. Yaşları 33 ve 44 ortalaması ise 38,5'tir. İki hastamızdan sadece 43 numaralı hastada ek hastalık olarak tüberküloz bulunmaktaydı. Pozitif bulunan hastalarımızın CD4 sayıları 287 ve 65 ortalamaları ise 176'dır. Real-Time PCR ile pozitiflik saptadığımız hastalarının dışkıları makroskobik olarak gevşek olarak bulunmuştur.

4.1.1. Mikroskobi sonuçlarımız

Dışkı örneklerinden hazırlanan preparatlar Modifiye Ziehl-Neelsen ile boyanmış ve oda ısısında muhafaza edilerek ışık mikroskopunda 100x'lik immersiyon objektifte incelenmiş ve mikrometrelik lamlarla boyutu ölçülerek *C. cayetanensis* ookistleri oldukları tespit edilmiştir.

C. cayetanensis mikroskobik inceleme ile sadece 52 numaralı hastanın gevşek dışkı örneğinde tespit edilmiştir. Tespit edilen *C. cayetanensis* ookistleri Canon marka dijital fotoğraf makinesi yardımıyla görüntülenmiştir.

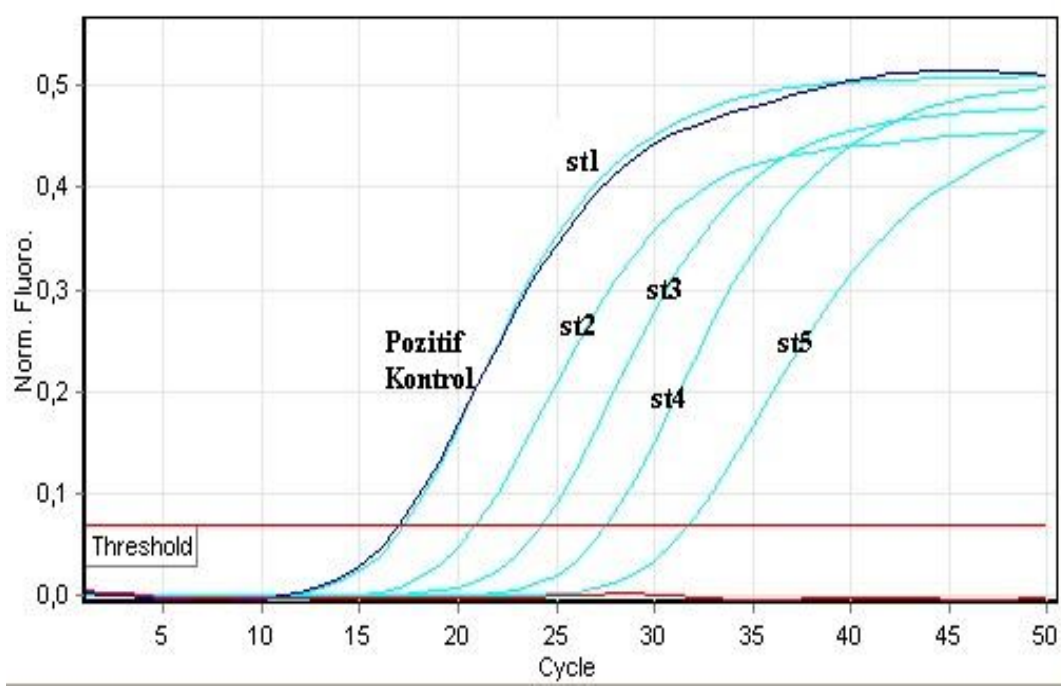


Şekil 4.1. 52 numaralı hastanın dışkısında tespit edilen *C. cayetanensis* ookistleri.

4.1.2. Real-Time PCR Sonuçları

Real-Time PCR ile pozitif, negatif ve standartlarımızın çalışmasını gösteren kantitatif raporumuz.

Şekil 4.2. A.Green Döngüsü İçin Standartlarımızın Kantitatif Sonuçları.



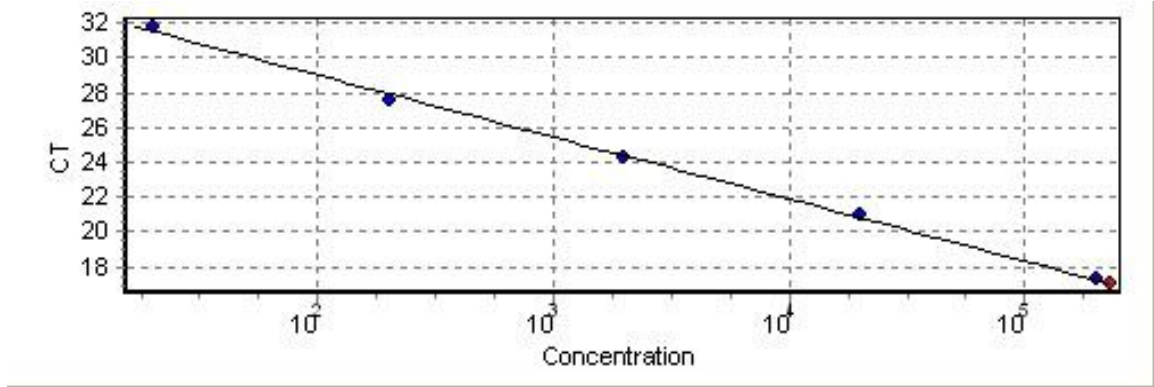
Çoğalmanın olmadığı veya görüntülenemeyecek kadar az olduğu bölüm Taban değer (Baseline) olarak adlandırılır. Genellikle 0-18 siklus olmakla beraber araştırmacının yaptığı çalışmaya göre manuel olarak da ayarlanabilir.

Eksponansiyel faz logaritmik çoğalmanın gözleendiği kısımdır. Bu bölümde türe özgü spesifik primer-probe eşleşmeleriyle çoğalma ve okuma olmaktadır. Reaksiyonda ürünler yavaş yavaş kullanılmaya buna bağlı olarak, ortamdaki reaksiyon yavaşlamaya başlar. Reaksiyon için gerekli ürünlerin bittiği faz ise plato fazı olarak isimlendirilir.

Floresans okuma sürekli olduğundan eğrilerin düz şekilde olmasını beklemekteyiz. Bazen bu eğrilerde kırılmalar, yükselme alçalma gibi dalgalanmaların olması kontaminasyon ve/veya türe özgü olmayan primer probe bağlanması yada primer dimer oluşumu olabileceği düşünülmelidir.

Çalışmaya başlamadan önce yapılan standartların, pozitif ve negatif kontrolün eğrileri yukarıdaki gibidir.

Şekil 4.3. Standartlar Eğrisi.



Standartlar eğrisi kullanıcının oluşturduğu standart sayısı oranında hesaplanır. Bir tane olabileceği gibi çalışmayı yapanın tercihine göre birden fazla da olabilmektedir. Standartların düzgün çalışıp çalışmaması yapılan çalışmanın kalitesini göstermektedir. Real-Time PCR işleminden sonra standartların oranları yüzde olarak verilmektedir.

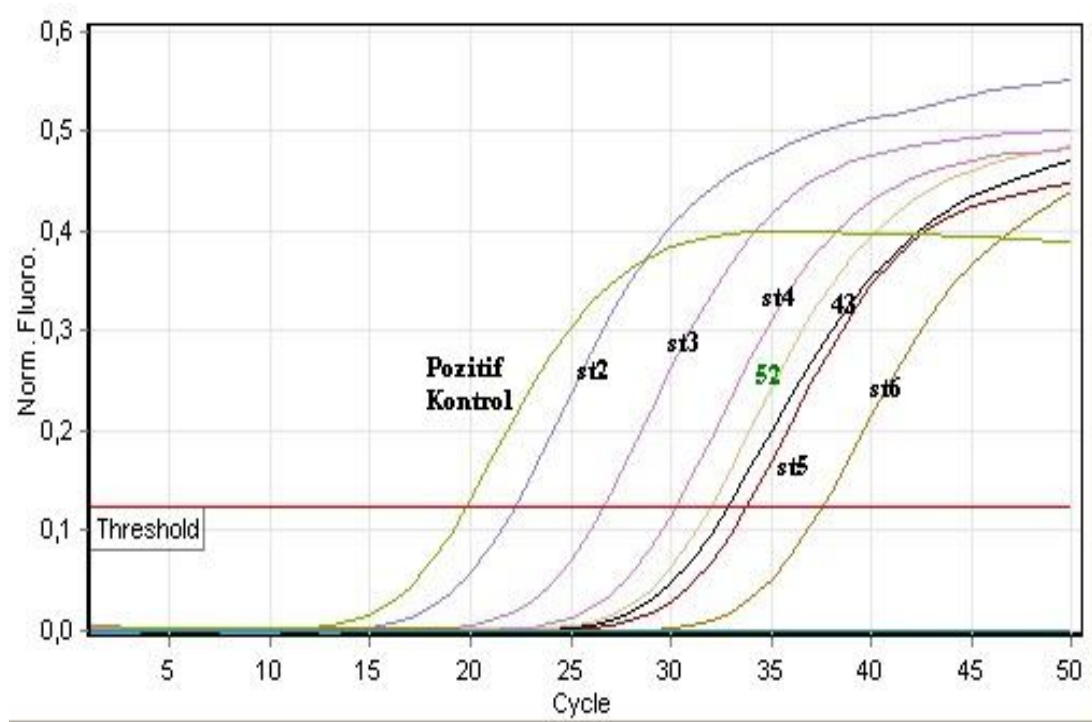
Tablo 4.5. Sonuçların Kantitatif Değerlendirilmesi.

No.	Renk	İsim	Tipi	Ct	Hesaplanmış Kons. (copies/ul)	Hesaplanan Kons. (copies/ul)
1	■	st1	Standard	17,30	200.000	193.715
2	■	st2	Standard	20,93	20.000	18.544
3	■	st3	Standard	24,27	2.000	2.140
4	■	st4	Standard	27,59	200	249
5	■	st5	Standard	31,76	20	17
6	■	Pozitif kontrol	Positive Control	17,03		231.073
7	■	Negatif kontrol	Negative Control			

Tabloda verilen Ct değeri ürünün çoğalmaya başladığı ve eşik değeri geçtiği döngü sayısını ifade etmektedir. Real-Time PCR ile yapılan çalışmada elde edilen veriler içerisinde bize önemli olan diğer bir fayda da kopya sayılarını görebiliyor olmamızdır. Bu sayede örnekteki parazit yükünü tespit etmiş olmaktadır. Özellikle ölümcül seyreden paraziter hastalıklarda ve/veya tedavi sonucunda ilaca yanıt alınıp

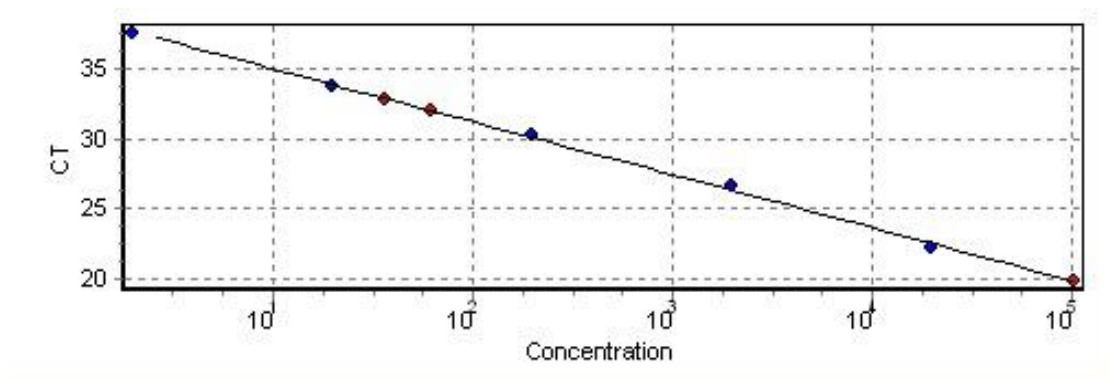
alınmadığının tespiti için parazitemi yükü klinisyenler açısından oldukça değerli bir veridir.

Şekil 4.4. *C. cayetanensis* saptanan Real-Time PCR Çalışması Siklus Eğrileri.



Şekilde görülen 52 ve 43 numaralı hastalara ait eğriler pozitif hasta olarak değerlendirilmektedir.

Şekil 4.5. *C.cayetanensis* saptanan çalışmanın standart eğrileri.



52 ve 43 numaralı hastalara ait kırmızı ile işaretlenmiş yerler standartlar eğrisi tablosunda standart eğri çizgisinin üzerinde bulunmaktadır.

Tablo 4.6. *C. cayetanensis* saptanan çalışmanın kantitatif sonuçları.

No.	Renk	İsim	Tip	Ct	Hesaplanmış Kons. (copies/ul)	Hesaplanan Kons. (copies/ul)
11	■	43	Sample	32,86		37
13	■	52	Sample	32,00		63
17	■	st2	Standard	22,20	20.000	24.297
18	■	st3	Standard	26,65	2.000	1.626
19	■	st4	Standard	30,26	200	180
20	■	st5	Standard	33,80	20	21
21	■	st6	Standard	37,56	2	2
22	■	Pozitif kontrol	Positive Control	19,81		103.633
23	■	Negatif kontrol	Negative Control			

Tabloda çalışılan ve pozitif olarak tespit ettiğimiz örnekler ile standart ve pozitif ile negatif kontrollerimizin kantitatif raporu bulunmaktadır. 43 numaralı örnekte 37 ve 52 numaralı örnekte 63 kopya tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

C. cayetanensis'in insanda hastalık yaptığı 1979 yılında Ashford tarafından ortaya çıkarılmıştır. Doksanlı yılların ortasında Kuzey Amerika kıtasında salgınlar yapmaya başlamasıyla önemli bir paraziter hastalık olmuştur.

Bu arada kalan yıllarda *C. cayetanensis* iyi tanınmıyor olması, dönemin popüler paraziti *Cryptosporidium spp.* ile aynı boyalarla boyanması, morfolojik açıdan büyüklükleri ve oluşturdukları hastalık tabloları nedeniyle *Cryptosporidium spp.* ile karıştırılmasına veya rutin incelemelerde atlanmasına neden olduğu düşünülebilir. Bu dönemde bulunan parazitler için bazı araştırmacılar bunların *Cryptosporidium spp.* olmadığını yeni bir parazit olduğunu bildirmişlerdir. Hoge ve ark. (92) 1993 yılında 964 hastadan 108'in de, Bendall ve ark. (93) da aynı yıl koksidan benzeri organizmaların uzun süren, şiddetli diyarelere sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Cyclosporiasis tanısı için genellikle Modifiye Ziehl-Neelsen veya Kinyoun aside dirençli boyama yöntemlerinden biri kullanılmaktadır (70). Her iki boyama yöntemiyle de ookistlerin yapısı pembe, kırmızı veya renksiz olarak görülebilmektedir. Ayrıca Safranin boyama yöntemi de kullanılabilir. Galvan-Diaz ve ark. (94) tarafından yapılan araştırmada Safranin boyama ile modifiye aside dirençli Ziehl-Neelsen boyama yöntemleri karşılaştırılmıştır. Safranin boyamada duyarlılık %98, özgüllük ise %100 iken, Modifiye Ziehl-Neelsen boyama yönteminde duyarlılık %98, özgüllük ise %90 olarak tespit edilmiştir. Eberhard ve ark (95) ise her iki boyamanın da kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Özgüllük açısından safranin boyamanın avantaj sağlamasına rağmen literatürlerde aside dirençli bir boyama yönteminin (Kinyoun veya Ziehl-Neelsen) tercih edildiği görülmektedir.

Jones ve ark. (96) 2004 yılında yaptıkları bir araştırmada Amerika Birleşik Devletlerinde 39 laboratuvarında 492650 dışkı incelendiğini bunlardan 35544 tanesinin *C. cayetanensis* şüpheli olduğunu, yine bunlardan 29 tanesinin pozitif olarak bulunduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar FoodNet adlı bir laboratuvar izleme sisteminden aldıkları verilerde rapor edilen 142 *C. cayetanensis* olgusunun %69'unun aside dirençli boyama (Kinyoun veya Ziehl-Neelsen) ile, %15.5'inin lugollü, %9.9'unun direkt preparatlarda, %7 sinin floresan mikroskopuyla, %2.1'inin Safranin boyama ile tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Ülkemiz son yıllarda cyclosporiasis için endemik ülkeler arasında gösterilmesine rağmen tespit edilen *C. cayetanensis* sayısı düşüktür. Mundaca ve ark. (79) 2008 yılında PCR metodu ile direkt mikroskopi sonuçlarını karşılaştırmış ve PCR metodunun 2.2 kat daha iyi olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Aynı zamanda kullanışlı ve yararlı bir teknik olduğunu da belirtmişlerdir. Lalonde ve Gajadhar (97) ise mikroskobik çalışmaların floresan mikroskobu ve modifiye aside dirençli boya uygulamalarında *C. cayetanensis* için deneyimli mikroskobistlere ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Özellikle kontamine olmuş besinlerde mikroskobinin tür tayini için sporlanmayı beklemek zorunda olması PCR metodunun ise derhal hızlı ve güvenilir sonuçlar vermesi nedeniyle *C. cayetanensis* tanısı için daha uygundur.

Ayrıca salgınlarda bulaş sebebinin *C. cayetanensis* olabileceği ve cyclosporiasisin bulaş yollarının bulunması açısından PCR metodu sık kullanılmıştır. Pieniazek ve ark. (98) ise moleküler tekniklerin sporadik ve kümeleşen cyclosporiasis olgularında kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Shield ve Olson (99) 2003 yılında çevresel örneklerden *C. cayetanensis*'i PCR metodu ile göstermişlerdir. Sturbaum ve ark. (100) mikroskopi ve PCR metodu ile ilk kez *C. cayetanensis*'in kontamine sulardan insana geçebileceğini göstermişlerdir.

Hove ve ark. (101) seyahat sonrası diyareye yakalanan hastalarda yaptıkları moleküler araştırmalarla intestinal parazitlerin araştırmasını yapmışlar ve Real-Time PCR yönteminin parazitler için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Blans ve ark. (58) da Endonezya'da yaşanan bir salgında Real-Time PCR metodunu kullanarak *C. cayetanensis* tanısında 0.5 ookiste kadar tanı koyabildiklerini açıklamışlardır. Real-Time PCR ile pozitif olarak buldukları hastaların bir çoğunda mikroskobik olarak negative sonuç aldıklarını bildirmişlerdir. Varma ve ark. (77) da Real-Time PCR sonuçlarının mikroskobik sonuçlara göre daha güvenilir olduğunu belirtmişlerdir.

Steele ve ark. (102) 2003 yılında hastalığı tespit etmek kadar ne ile ve nasıl bulaştığınının gösterilmesi için hazırladıkları bir çalışma düzeneğinde literatürlerde salgın sebebi olarak gösterilen ahududu, fesleğen ve mesclun cinsi marul örneklerini PCR metodu ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda fesleğende en az 10, ahudududa 40 ve mesclun cinsi marulda ise 400 ookiste kadar *C. cayetanensis* tespit edilebileceğini göstermişlerdir.

Tüm dünyada diyarelere neden olan *C. cayetanensis* için daha çok çocuk hastalarda, endemik bölgelere seyahat edenlerde ve HIV/AIDS hastalarında görüldüğü bildirilmektedir. Çalışmamızda bu gruplar içinde ülkemizde en az incelenmiş olan HIV pozitif bireylerde *C. cayetanensis*'in araştırılması amaçlanmıştır.

Pape ve ark. (86) 1994 yılında 804 HIV pozitif diyareli hasta incelemişler ve %11'inde *C. cayetanensis* bulmuşlardır. Kaminsky ve ark. 2007 (49) yılında Honduras'da 56 AIDS hastasında iki *C. cayetanensis* olgusu tespit etmişlerdir.

Chacin-Bonilla ve ark. 2006 yılında (50) 103 HIV pozitif hastayı 76'sı diyareli ve 29 tanesi diyaresi bulunmayan olmak üzere iki gruba ayırmışlar ve dışkılarından hazırladıkları preparatları Ziehl-Neelsen boyama yöntemiyle boyamışlardır. Diyaresi bulunanlarda beş, bulunmayanlarda ise bir kişide *C. cayetanensis* tespit etmişler.

Saksinisampant ve ark. (103) 2009 yılında Tayland'ta 90 HIV/AIDS kişide *C. cayetanensis* tespit etmişlerdir. Escobedo ve Nunez (104) 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada 67 AIDS ve 136 HIV negatif iki grupta Ziehl-Neelsen boyama metodu ile koproparazitolojik bir araştırma yapmışlardır. Araştırma sonucunda AIDS olan iki (%3) hastada *C. cayetanensis* tespit edilmiştir. HIV negatif olan grupta ise *C. cayetanensis*'e rastlanmamıştır.

Chacin-Bonilla ve ark. (33) 2001 yılında diyareli 71 AIDS ve 132 çocuk hastada Ziehl-Neelsen boyama metodu ile yaptıkları çalışmada ise AIDS hastalarında yedi (%9.8), çocuk hastalarda yedi (%5.3) *C. cayetanensis* saptamışlardır.

Brandonisio ve ark. (105) HIV pozitif 154 hastada 1999 yılında İtalya'da yapılan bir çalışmada *C. cayetanensis* varlığına rastlanmamıştır. Masucci ve ark. (106) 2008 yılında immunsistemi sağlıklı bir kadında hem Ziehl-Neelsen boyama ile mikroskopik hem de PCR metodunu kullanarak ilk kez cyclosporiasis vakasını bildirmişlerdir. Yine Masucci ve ark. (107) 2012 yılında Mayıs 2006-Aralık 2008 yılları arasında 5351 hastanın dışkısında 594 parazite rastlamışlar. 594 parazit içinden yedi tanesini de *C. cayetanensis* oluşturmaktadır. Clarke ve ark. (108) 1996 yılında İngiltere'de (UK) Ziehl-Neelsen boyama metodu ile 5374 hastadan dört tanesinde (%0.07) cyclosporiasis olgusu bildirmişlerdir.

Almanya'da 2002 yılında bir lokantada belli bir zaman aralığında 26 klinik vaka ortaya çıkmış ve bunlardan sekiz tanesi laboratuvarında cyclosporiasis tanısı almıştır. Bunun bir salgın olduğu hemen ortaya çıkarılmış ve yapılan çalışmada Döller ve ark. (20) salgının salatadan kaynaklandığı bildirmişlerdir.

Ülkemizdeki vakalar 2000’li yılların başında artmıştır. Yazar ve ark. (109) 2004 yılında Türkiye’den toplam altı olgunun bulunduğunu bildirmişlerdir. Ülkemizde tanınmaya başlanmasıyla rutin çalışmalarda da cyclosporiasis olguları artmaya başlamıştır. Değirmenci ve ark. (62) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji laboratuvarında 2007 yılında inceledikleri 3925 dışkıının 75 (%1,91) tane cyclosporiasis vakası tespit etmişlerdir. Aksoy ve Tuncay (61) 2007 yılında Dokuz Eylül Üniversitesinde koksidianlar üzerine ishalleri 554 hastanın dışkılarını Kinyoun boyama yöntemiyle incelemiş ve sadece iki hastada *C. cayetanensis* varlığını bildirmişlerdir. 2008 yılında Arslan ve ark. (63) Kars’ta 2-6 yaş arası 138 çocukta bir cyclosporiasis vakası bildirmişlerdir. Cyclosporiasis olgularına ait epidemiyolojik verilerin ülkemizde ve Avrupa’da artmasıyla *C. cayetanensis* tanınmaya başlanmış ve sayısında artışlar ortaya çıkmıştır. Buna rağmen teşhisindeki zorluklar nedeniyle, bu parazit sıklıkla gözden kaçabilmektedir (68).

Gözden kaçmasının bir sebebi de *C. cayetanensis* immunsupresse hastalarda olduğu kadar immunkompetant hastalarda da görülmesidir (110,111). Ülkemizde Sancak ve ark. (60) Ankara’da beş hastada, Çiçek ve ark. (68) Diyarbakır’da diyareli iki hastada, 2010 yılında Eskişehir’de (66) bir hamilede ve 2012 yılında Avni ve ark. (112) Van’da iki hastada cyclosporiasis olgusu tespit etmişlerdir.

Cyclosporiasis’te mevsimsel özellikler dikkat çekicidir (5). Çalışmamızda Real-Time PCR ile pozitif tespit ettiğimiz iki hastanın örnekleri de Ağustos ayında alınmıştır. Omar M.A. (29) 1998 yılında yaptığı bir çalışmada Kuzey Amerika’da tespit edilen vakaların en yüksek Eylül ayında, Turgay ve ark. (72) İzmir ve çevresinde yaz ve sonbahar mevsimlerinde, Özdamar ve ark. (67) İstanbul’da 2006-2009 yılları arasında kurak ve sıcak yaz aylarında olduğunu göstermişlerdir.

Zhou ve ark. (113) Çin’de yaptıkları çalışmada cyclosporiasis vakalarının en yüksek Temmuz, Kasım ve Ağustos aylarında, Bern ve ark. (114) Guetamala’da yaptıkları çalışmada ise Mayıs, Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında tespit edildiğini göstermişlerdir. Ancak literatürlerde yalnızca Turgay ve ark. (72) 2012 yılında yaptıkları çalışmalarında en yüksek pozitifliklerinin kış ve ilkbaharda ortaya çıktığını belirtmişlerdir. *C. cayetanensis* sporlanma ihtiyacı olan bir parazittir ve bunun için en uygun mevsimler ilkbahar sonu yaz ve sonbahar başlarıdır. Ancak ticareti yapılan besinlerin özellikle seralarda kontamine su ile sulanması ve ortamlarının sporulasyona uygun olması sebepleriyle *C. cayetanensis* her mevsim görülebilmektedir.

Yaptığımız çalışmada, aynı zamanda cinsiyet olarak anlamlı bir fark olup olmadığını da incelenmiştir. Pozitif olarak tespit ettiğimiz hastalardan ikisinde erkekti. Erdoğan ve ark. (115) İzmir bölgesinde yaptıkları cyclosporiasis araştırmasında kadınlarda 19, erkeklerde ise 13 cyclosporiasis vakası tespit etmişlerdir. Koumans ve ark. (84) tespit ettikleri 24 cyclosporiasis vakasından 13'ü kadın, dokuzu erkektir. Massoud ve ark. (116) 2012 yılında Mısır'da tespit ettikleri 12 diyareli, altısı asemptomatik olan 18 kişinin cinsiyetleri 13'ü erkek beşi kadın olarak bildirilmiştir. Hastalık cinsiyet açısından kadın erkek arasında anlamlı bir farka sahip değildir.

Çalışmamızdaki pozitif hastaların yaşları 34 ve 44'tür. Venezuela'da yapılan çalışmada tespit edilen cyclosporiasis vakalarının daha çok 15 ve altında etkili olduğu bildirilmiştir (33). Yetişkin HIV pozitiflerde 71 hastadan yedisinde de çocuklarda ise 132'sinden yedisinde *C. cayetanensis* tespit etmişlerdir. Alakpa ve ark. (46) tespit ettikleri 11 cyclosporiasis vakasının yaşlarının 21-50 arasında değiştiğini bunların yedi tanesinin de HIV pozitif hastalar olduğunu göstermişlerdir. Görüldüğü gibi hastalık yaş grupları arasında da anlamlı bir farka sahip değildir.

Fransa'da 2007 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) HIV'in sınıflandırılması ile ilgili açıklamada bulunmuştur. HIV ile ilişkili belirtiler asemptomatik, hafif semptomlar, gelişmiş (ileri) semptomlar ve şiddetli semptomlar olmak üzere dörde ayrılmıştır. DSÖ'nün bu açıklamasına göre HIV pozitif bireyler %CD4+ miktarlarına göre 11 aylıktan küçük, 12-35 aylık, 35-59 aylık ve beş yaşından büyük olmak üzere dört sınıfa ayrılmıştır (117).

Bizim hastalarımızın CD4+ sayıları 287 ve 65'tir. Bu sınıflandırmaya göre hastalarımız şiddetli ve ileri semptomlar içeren grupta yer almaktadır.

Gupta ve ark. (118) 2008 yılında Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada 113 HIV pozitif kişiyi 34'ü diyareli ve 79'u diyaresi bulunmayan olarak iki gruba ayrılmış, 113 HIV negatif kişi de kontrol grubu olarak çalışma grubuna alınmıştır. Koksidian tespit edilen HIV pozitif hastalarda CD4 ortalaması 186,3 olarak bildirilmiştir. Kulkarni ve ark. (119) yine Hindistanda 2009 yılında tespit ettikleri cyclosporiasisli bir HIV pozitif hastada CD4 sayısını <200 olarak bildirmişlerdir. Velasquez ve ark. (120) Arjantin'de HIV pozitif cyclosporiasisli kronik ishali bulunan hastalarda CD4 sayısını yaklaşık olarak 100 olduğunu tespit etmişlerdir. Kurniawan ve ark. (52) tespit ettikleri 12 cyclosporiasisli hastanın 10 tanesinin CD4 sayılarının 200 den düşük olduğunu göstermişlerdir. Tania ve ark. (121) ise 1997 yılında tespit ettikleri asemptomatik

cyclosporiasisli bir hastada, CD4 sayısını 414 olarak bulmuşlardır. Assefa ve ark. (122) HIV/AIDS hastalarında yaptıkları CD4 sayılarının değerlendirilmesinde CD4 sayısının 200 ve altında olan hastalarda parazitlerin bulunmasının CD4 sayısına değil, diyare oluşturmasıyla ilgili olduğu belirtilmiştir. Nitekim diyaresi bulunmayan HIV pozitif hastalar parazit rastlanma oranı daha fazla bulunmuştur. Bu sebeple HIV/AIDS hastalarında, diyareli olan ve olmayanların da rutin olarak *C. cayetanensis* açısından araştırılmasının, hastalığın klinik tablo oluşturmadan önce tespiti ve tedavisine yarar sağlamaktadır.

Dışkı şekillerine göre inceleme yaptığımızda, her iki pozitif hastamızda gevşek dışkısı olduğu tespit edilmiştir. CD4 sayısının düşmesi fırsatçı patojenlerden biri olan *C. cayetanensis*'in çoğalması için önemlidir. Gonçalves ve ark. (123) tespit ettikleri HIV pozitif 17 cyclosporiasis vakasında CD4 sayısının 73-295 arasında olduğunu bildirmişlerdir. *C. cayetanensis* bulduğumuz hastaların gerek CD4 sayılarının düşüklüğü gerekse diyarelerinin bulunması nedeniyle yukarıdaki kriterlere uymaktadır. Bu çalışmada bulduran cyclosporiasis vakalarının da benzer aralıklara olduğu dikkat çekicidir. HIV pozitif veya bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde CD4 sayısında düşüklüğü ve diyarenin varlığı cyclosporiasis'in erken belirtisi olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

R.V. Tauxe (124) 1998 yılında *C. cayetanensis*'in besinsel salgınlara neden olabilecek patojen mikroorganizmalar arasında yer vermiştir. Ülkemizde ilk cyclosporiasis vakası 1998 yılında HIV pozitif bir hastada ortaya çıkmıştır (11). 2007 yılına kadar sporadik olarak görülen cyclosporiasis, 2007 yılında İzmir'de su kaynaklı bir salgına neden olmuş ve Aksoy ve ark. (125) 191 hastada 15 cryptosporidiosis, yedi hastada ise cyclosporiasis olgusu bildirmişlerdir. Dünyada 2007 yılına kadar kadar ortaya çıkan su kaynaklı cyclosporiasis salgınları toplam altı tanedir (126).

Çalışmamız sınırlı sayıda bireyle yapılmış olduğundan dolayı pozitiflik yüzdelerimiz düşük olduğu düşünülmektedir. Hastalardan üç kez üst üste dışkı alınamamış olması, polikliniğe kayıtlı hasta sayısının sınırlı olması, ve kısıtlı maddi kaynağa sahip olunması sebebiyle pozitiflik oranlarımızın düşük olduğu düşünülmektedir. Ancak ülkemizde cyclosporiasis için HIV pozitif bireylerde hem mikroskopik konvansiyonel yöntemlerin hem de Real-Time PCR metodunun kullanılması açısından ilk kez bir çalışma yapılmış olması nedeniyle kıymetlidir.

Sonuç olarak; *C. cayetanensis* su ile kontamine olmuş besinlerle insanlara bulaşabilmektedir. Bundan dolayı tanıda hızlı, güvenilir bir yöntem kullanılması önemlidir. Klinik örneklerde morfolojik benzerliklerden, çevresel örneklerde ise ookistlerin izolasyon şansının az olmasından dolayı moleküler teknikler özellikle özgüllüğün ve duyarlılığın artmasıyla tanıda daha çok tercih edilen bir yöntem olarak tercih edilebilmektedir.

Sanitasyon koşullarının iyileştirilmesi, gıda kontrolünün artması ve özellikle çiğ yenen besinlerde hijyenin sağlanması cyclosporiasis salgınlarının ortaya çıkmasının önüne geçecektir.

Ülkemiz cyclosporiasis için endemik bir ülke sayıldığından, klinik vakalarda özellikle bağışıklığı baskılanmış ve uzun süreli ishali bulunan hastalarda mutlaka akla gelmelidir. Sadece bağışıklığı baskılanmış değil aynı zamanda bağışıklığı sağlıklı kişilerde, çocuklarda, yurt dışı hikayesi bulunan hastalarda tekrarlayan veya uzun süreli diyare ve karın ağrısı şikayetlerinin mevcudiyetinde cyclosporiasis açısından laboratuvaradan istek yapılması uygun olacaktır. Ülkemizde hem bağışıklık sistemi sağlıklı hem de bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda cyclosporiasis açısından yapılacak büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalar desteklenmelidir. Laboratuvarda *C. cayetanensis* tanısı için; daha hızlı, etkili ve duyarlı olduğu çalışmamızda ve literatürlerde görülen PCR metodunun, mikroskopik yöntemler ile birlikte tercih edilmesi uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Özcel MA. (editör) *Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları*. İzmir Türkiye: Meta Basım. Türkiye. 2007.
2. Saygı G. *Paraziter Hastalıklar ve Parazitler*. Es Form Ofset Ltd.Şti. 2009.
3. Garcia LS. ve Bruckner DA. *Diagnostic Medical Parasitology* 3.ed. Washington. DC. USA: ASM Press Washington DC. 1997
4. Marshall M.M, Naumovitz D, Ortega Y. ve ark. Waterborne protozoan pathogens. *Clin Microbiol. Rew.* 1997; **10(1)**: 67-85.
5. Yazar S, Yalçın Ş, Şahin İ. *Cyclospora cayetanensis*. *Türk. Parazitol. Derg.* 2003; **27(1)**: 56-63.
6. Ghimire T.R. and Sherchan J.B. Human infection of *Cyclospora cayetanensis*: A Review on its Medico-biological and epidemiological pattern in global scenario. *J. N. Health. Res. Council.* 2006; **4(2)**: 25-37.
7. Rosemary Soave. *Cyclospora: An Overview*. *Clin Infect. Dis.* 1996; **23**: 429-37.
8. Uysalcı M. ve Kuman H.A. *Cyclospora cayetanensis*. *Türk. Parazitol. Derg.* 2001; **25(2)**: 183-190.
9. Ralph Lainson. The genus *Cyclospora* (Apicomplexa: Eimeriidae), with a description of *Cyclospora schneideri* n. sp. in the snake *Anilius scytale scytale* (Aniliidae) from Amazonian Brazil – A Review. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. Rio de Janeiro*, 2005; **100(2)**: 103-10.
10. Chacin-Bonilla L. Epidemiology of *Cyclospora cayetanensis*: A review focusing in endemic areas. *Acta tropica* 2010; **115**: 181-193.

11. Koç A.N, Aygen B, Şahin İ. ve ark. *Cyclospora* sp. Associated with Diarrhea in a Patient with AIDS in Turkey. *Tr. J. Med. Sci.* 1998; **28**: 577-8.
12. Ortega Y.R. ve Sanchez R. Update on *Cyclospora cayetanensis*, a Food-borne and waterborne parasite. *Clin Microbiol Rew.* 2010; **23(1)**: 218-34.
13. Ortega Y.R, Sterling C.R, Gilman R.H. ve ark. *Cyclospora* species – A new protozoan pathogen of humans. *N. Engl. J. Med.* 1993; **328**: 1308-12.
14. Shlim D.R. *Cyclospora cayetanensis*. *Clin. Lab. Med.* 2002; **22**: 927-36.
15. Herwaldt L.B. *Cyclospora cayetanensis*: A Review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. *Clin. Infect. Dis.* 2000; **31**: 1040-57.
16. Ortega YR, Gilman RH, SterlingCR. ve ark. A new coccidian parasite (Apicomplexa:Eimeriidae) from human. *J. Parasitol.* 1994; **80(4)**: 625-9.
17. Akısü Ç. ve Korkmaz M.(Editörler) *Tıbbi Parazitolojide Tedavi*. İzmir. Türkiye: Meta Basım. İzmir. 2005
18. Herwaldt LB, Ackers ML, and *Cyclospora* working group. An outbreak in 1996 of cyclosporiasis associated with imported raspberries. *N. Eng. J. Med.* 1997; **336**: 1548-56
19. Eberhard. M.L, Silva A.J, Lilley B.G. ve ark. Morphologic and molecular characterization of new *Cyclospora* species from ethiopian monkeys: *C. cercopithecisp.n.*, *C. colobi sp.n.*, and *C. papionis sp.n.* *Emerg. Infect. Dis.* 1999; **5(5)**: 651-8.
20. Doller P.C, Dietrich K, Filipp N. ve ark. Cyclosporiasis outbreak in Germany Associated with consumption of salad. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; **8(9)**: 992-4.
21. Shields J.M ve Olson B.H. *Cyclospora cayetanensis*: a review of an emerging parasitic coccidian. *Int. J. Parasitol.* 2003; **33**: 371-91.

22. Mansfield L.S. ve Gajadhar A.A. *Cyclospora cayetanensis*, a food-and waterborne coccidian parasite. *Vet. Parasitol.* 2004; **126**: 73-90.
23. <http://www.cdc.gov/parasites/cyclosporiasis/>
24. http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=11745&page=93#p2000fa0c9960093001
25. Eberhard M.L. ve Arrowood M.J. *Cyclospora spp.* *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2002; **15**: 519-22.
26. <http://www.cdc.gov/parasites/cyclosporiasis/biology.html>
27. Karanja R. M, Gatei W, Wamae J. Cyclosporiasis: an emerging public health concern around the world and in Africa. *African Health Sci.* 2007; **7(2)**: 62-7.
28. http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Frames/AF/Cyclosporiasis/body_Cyclosporiasis_sporul.htm
29. Omar M. Amin. Seasonal prevalence and host relationships of *Cyclospora cayetanensis* in North America during 1996. *Parasitol Int.* 1998; **47**: 53-8.
30. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of cyclosporiasis- Northern Virginia-Washington, D.C-Baltimore, Maryland, metropolitan area, 1997, *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 1997; **46**: 689-92
31. Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of cyclosporiasis - United States, 1997. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 1997; **46**: 541-2
32. Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for laboratory-confirmed sporadic cases of cyclosporiasis United States, 1997-2008. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2011; **60(2)**: 1-13.

33. Chacin-Bonilla L, Estevez J, Monsalve F. Ve ark. *Cyclospora cayetanensis* infections among diarrheal patients from Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2001; **65**: 351-4.
34. Easow JM, Mukhopadhyay C, Wilson G. ve ark. Emerging oppurtinistic protozoa and intestinal pathogenic protozoal infestation profile in children of western Nepal. (Abstract) *Nepal. Med. Coll. J.* 2005; **7(2)**: 134-7.
35. Hoge CW, Echeverria P, Rajah R. ve ark. Prevalence of *Cyclospora* species and other enteric pathognes among children less than 5 years of age in Nepal. *J. Clin. Microbiol.* 1995; **33(11)**: 3058-60.
36. Al Braiken F.A, Amin A, Beeching N.J. ve ark. Detection of *Cryptosporidium* amongst diarrhoeic and asymptomatic children in Jeddah, Saudi Arabia. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2003; **97(5)**: 1-5.
37. Nunez F.A, Gonzalez O.M, Gonzales I. ve ark. Intestinal Coccidia in cuban pediatric patients with diarrhea. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 2003: **98(4)**; 539-42.
38. Silva M.I, Valdes L.A, Padron B. *Cyclospora cayetanensis*. Presentacion de 20 casos.(Abstract) *Rev Cubana Pediatr* 2002; **74(2)**: 178-81.
39. Tumwine J.K, Kekitiinwa A, Nabukeera N. ve ark. *Cryptosporidium parvum* in children with diarrhea in Mulago hospital, Kampala, Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2003; **68(6)**: 710-5.
40. Gatei W, Wamae C.N, Mbae C. ve ark. Cryptosporidiosis: Prevalence, Genotype analysis, and symptoms associated with infections in children in Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; **75(1)**: 78-82.
41. Cegielski J.P, Ortega Y.R, McKee S. ve ark. *Cryptosporidium*, Enterocytozoon, and *Cyclospora* infections in pediatric and adult patients with diarrhea in Tanzania. *Clin. Infect. Dis.* 1999; **28**: 314-21.

42. Mandomando I.M, Eusebio V.M, Ruiz J. Ve ark. Etiology of diarrhea in Children younger than 5 years of age admitted in a rural hospital of southern Mozambique. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007; **76(3)**: 522-7.
43. Bern C, Hernandez B, Beatriz M. ve ark. Epidemiologic Studies of *Cyclospora cayetanensis* in Guatemala. *Emerg. Infect. Dis.* 1999; **5(6)**: 766-74.
44. Alva B.S. Ciclosporiosis: una parasitosis emergente(I) Aspectos clinicos y epidemiologicos.(Abstract) *Rev. Gastroenterol. Peru.* 2005; **25**: 328-35.
45. Wang K.X, Li C.P, Wang T. ve ark. *Cyclospore cayetanensis* in Anhui, China. *World. J. Gastroenterol.* 2002; **8(6)**: 1144-8.
46. Alakpa G.E, Clarke S.C, Fagbenro-Beyioku A.F. *Cyclospora cayetanensis* infection in Lagos, Nigeria. *Euro. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2003; **9**: 731-3.
47. Pratdesaba R.A, Gonzalez M, Piedrasanta E. ve ark. *Cyclospora cayetanensis* in three populations at risk in Guatemala. *J. Clin. Microbiol.* 2001; **39(8)**: 2951-3.
48. Kaminsky R.G. *Cyclospora cayetanensis*: New intestinal Apicomplexa. *Rev. Biblo.*(Abstract) 1997; **65(3)**: 68-72.
49. Kaminsky R.G, Stovall M.E, Mayer M.L. ve ark. Intestinal microsporidiosis in AIDS patients from Honduras.(Abstract) *Rev. Med. Hondur.* 2007; **75**: 116-23.
50. Chacin-Bonilla L. Panunzio A.P. Monsalve-Castillo F.M. ve ark. Microsporidiosis in Venezuela: Prevalence of intestinal microsporidiosis and its contribution to diarrhea in a group of human immunodeficiency virus-infected patients from Zulia state. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; **74(3)**: 482-6.
51. Capo de Paz V, Bringuez M.B, Viamonte B.V. ve ark. Diagnostico de coccidias y microsporas en muestras de heces diarreicas de pacientes cubanos seropositivos al VIH: primer reporte de microsporas en Cuba.(Abstract) *Rev. Cubana Med. Trop.* 2003; **55(1)**: 14-8.

52. Kurniawan A, Karyadi T, Dwintasari S.W. ve ark. Intestinal parasitic infections in HIV/AIDS patients presenting with diarrhoea in Jakarta, Indonesia. *Trans. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2009; **103**: 892-8.
53. Rull Gurvinder. Cyclosporiasis. www.patient.co.uk/print/3028 04.09.2012.
54. Būget E, Būyūkbaba-Boral Ő, Kırkoyun-Uysal H. Tūkiye'de ilk Kez Belirlenen *Cyclospora cayetanensis* etkenli diyare olgusu. *Türk Mikrobiyol. Cem Derg.* 2002; **30**: 162-5
55. Yazar S, Yaman O, Demirtaş F. ve ark. *Cyclospora cayetanensis* associated with diarrhea in a patient with idiopathic compensated hepatic cirrhosis. *Acta-Gastro-Enterologica Belgica*, 2002; **LXV**: 241-4.
56. Türk M, Türker M, Ak M. ve ark. Cyclosporiasis associated with diarrhoea in an immunocompetent patient in Turkey. *J. Med. Microbiol.* 2004; **53**: 255-7.
57. Kılbaş Z.G, Yenicesu M, Araz E. ve ark. Renal Transplantlı bir hastada *Cyclospora cayetanensis* enfeksiyonu. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Derg.* 2009; **66(1)** :25-7
58. Kuru Ő, Araz E, İnci A. ve ark. Co-infection of *Giardia intestinalis* and *Cyclospora cayetanensis* in a Immunocompetent Patient with Prolonged Diarrhea: Case Report. *J. Microbiol* 2006; **44(3)** : 360-2.
59. Turgay N, Yolasığmaz A, Üner A. Yurtdışı hikayesi olan bir cyclosporiasis olgusu. *Türk Parasitol. Derg.* 2006; **30(2)**: 83-5.
60. Sancak B, Akyon Y, Ergüven S. *Cyclospora* infection in five immunocompetent patients in a Turkish university hospital. *J. Med. Microbiol.* 2006; **55**: 459-62.
61. Aksoy Ü. ve Tuncay S. Diyareli hastalarda intestinal koksidiyaların araştırılması. *Mikrobiyol. Būlt.* 2007; **41**: 127-31.

62. Değirmenci A, Sevil N, Güneş K. ve ark. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde parazitoloji laboratuvarında 2005 yılı boyunca saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parasitol Derg.* 2007; **31(2)**: 133-5.
63. Arslan M.Ö, Sarı B, Kulu B. ve ark. Kars Doğum ve Çocuk Bakımevi Hastanesine gastrointestinal yakınmalarla başvuran çocuklarda bağırsak parazitlerinin yaygınlığı. *Türkiye Parasitol Derg.* 2008; **32(3)**: 253-6.
64. Yazar S, Mıstık S, Yaman O. ve ark. Kayseri’de *Cyclospora cayetanensis* kaynaklı üç ishal olgusu. *Türkiye Parsitol. Derg.* 2009; **33(1)**: 85-8.
65. Taşbakan M, Yolasığmaz A, Pullukçu H. ve ark. Nadir bir gastroenterit etkeni: *Cyclospora*. *Türkiye Parasitol. Derg.* 2010; **34(2)**: 95-7.
66. Doğan N. ve Sağlık İ. Uzamış ishalleri bir kadında *Cyclospora cayetanensis* ve *Cryptosporidium parvum* koenfeksiyonu. *Mikrobiyol. Bul.* 2010; **44**: 155-9.
67. Özdamar M, Hakko E, Turkoğlu S. High occurrence of cyclosporiasis in Istanbul, Turkey, during a dry and warm summer. *Parasites & Vectors* 2010; **3**: 39.
68. Çiçek M, Uçmak F, Özekinci T. *Cyclospora cayetanensis*’in neden olduğu iki diyare olgusu. *Mikrobiyol. Bul.* 2011; **45(3)**: 553-7.
69. Cengiz ZT, Akbayram S, Çiçek M. ve ark. Van Yöresinde İnsanlarda *Cyclospora cayetanensis*’in Prevalansı. *17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu Kongre kitapçığı 4-10 Eylül 2011*; 237.
70. Karaman Ü, Daldal N, Özer A. ve ark. İnsanlarda *Cyclospora*’nın Malatya Bölgesindeki Epidemiyolojisi. *17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu Kongre kitapçığı 4-10 Eylül 2011*; 236.

71. Dağcı H, Erdoğan DD, Kurt Ö. Ve ark. İzmir ve İlçelerinde *Cryptosporidium* spp. ve *Cyclospora cayetanensis*'in Görülme Sıklığının Araştırılması. *17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu Kongre kitapçığı 4-10 Eylül 2011*; 235.
72. Turgay N, Ünver-Yolasıgımaz A, Oyur T. ve ark. İzmir ve çevresinde bir yılda (Mayıs 2009-Nisan 2010) saptanan bağırsak parazitlerinin aylara göre dağılımı- Asid Fast ve Modifiye Trichrome Boyama Sonuçları. *Türk. Parazitol. Derg.* 2012; **36**: 71-4.
73. Çiçek M, Palancı Y, Ceylan A. ve ark. Evaluation of demographic, clinic and treatment features of patients and a cross-sectional survey of cyclosporiasis in patients with diarrhea in Southeastern Turkey. *African. J. Microbiol. Research.* 2012; **6(12)**: 2949-55.
74. Korkmaz M. ve Ok ZÜ. (editörler) *Parazitolojide Laboratuvar*. İzmir. Türkiye: Meta Basım, İzmir. 2011.
75. Özcel MA, Tanyüksel M, Eren H. (editörler) *Moleküler Parazitoloji*. İzmir. Türkiye: Meta Basım, İzmir. 2009.
76. Relman D.A, Schmidt T.M, Gajadhar A. ve ark. Molecular phylogenetic analysis of *Cyclospora*, the human intestinal pathogen, suggest that it is closely related to *Eimeria* species. *J. Infect. Dis.* 1996; **173**: 440-5.
77. Varma M, Hester J.D, Schaefer F.W. ve ark. Detection of *Cyclospora cayetanensis* using a quantitative real-time PCR assay. *J Microbiol. Met.* 2003; **53**: 27-36.
78. Adam R.D, Ortega Y.N, Gilman R.H. ve ark. Intervening Transcribed spacer region 1 variability in *Cyclospora cayetanensis*. *J. Clin. Microbiol.* 2000; **38(6)**: 2339-43.

79. Mundaca C.C, Torres-Slimming P.A, Araujo-Castillo R.V. ve ark. Use of PCR to improve diagnostic yield in an outbreak of cyclosporiasis in Lima, Peru. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 2008; **102**: 712-7.
80. Soave R, Herwaldt B.L, Relman D. A. *Cyclospora*. *Emerg. Infect. Dis.* 1998; **12(1)**: 1-12.
81. Zar F.A, El-Bayoumi E, Yungbluth M.M. Histologic prof of acalculous cholecystitis due to *Cyclospora cayetanensis*. *Clin Infect. Dis.* 2001; **33**: 140-1.
82. Ortega Y.R, Nagle R, Gilman R.H. ve ark. Pathologic and clinical findings in patients with *Cyclosporiasis* and a description of intracellular parasite life-cycle stages. *J. Infect. Dis.* 1997; **176**: 1584-9.
83. Connor B.A, Reidy J, Soave R. Cyclosporiasis: Clinical and histopathologic correlates. *Clin. Infect. Dis.* 1999; **28**: 1216-22.
84. Koumans E.H.A, Katz D.J, Malecki J.M. ve ark. An outbreak of cyclosporiasis in Florida in 1995: A harbinger of multistate outbreaks in 1996 and 1997. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; **59(2)**: 235-42.
85. Torres-Slimming P.A, Mundaca C.C, Moran M. ve ark. Outbreak of Cyclosporiasis at a naval base in Lima, Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; **75(3)**: 546-8.
86. Pape J.W, Verdier R.I, Boney M. ve ark. *Cyclospora* Infection in adults infected with HIV clinical manifestations, treatment, and prophylaxis. *Ann. Intern. Med.* 1994; **121**: 654-7.
87. Verdier R.I, Fitzgerald D.W, Johnson W.D. ve ark. Trimethoprim-sulfamethoxazole compared with ciprofloksasin for treatment and proflaxis of *Isoospora belli* and *Cyclospora cayetanensis* infection in HIV-infected patients. *Ann. Intern. Med.* 2000; **132(11)**: 885-8.

88. Diaz E, Mondragon J, Ramirez E. Epidemiology and control of intestinal parasites with Nitazoxanide in children in Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2003; **68(4)**: 384-5.
89. Holland PM., Abramson RD., Watson R. ve ark. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991; **88**: 7276-80.
90. Livak K.J., Flood SJA., Marmaro J., ve ark. Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. *Gen. Res.*, 1995; **4**: 357-62
91. Morris T., Robertson B., Gallagher M. Rapid reverse transcription-PCR detection of hepatitis C virus RNA in serum by using the TaqMan fluorogenic detection system. *J. Clin. Microbiol.*, 1996; **34**: 2933-6
92. Hoge C.W, Shlim D.R, Rajah R. ve ark. Epidemiology of diarrhoeal illness associated with coccidian-like organism among travellers and foreign residents in Nepal. (Abstract) *Lancet*. 1993; **341(8854)**: 1175-9.
93. Bendall R.P, Lucas S, Moody A. ve ark. Diarrhoea associated with cyanobacterium-like bodies: a new coccidian enteritis of man.(Abstract) *Lancet* 1993; **341(8845)**: 590-2.
94. Galvan-Diaz A.L, Herrera-Jaramillo V, Santos-Rodriguez Z.M ve ark. Modified Ziehl-Neelsen and modified Safranin staining for diagnosing *Cyclospora cayetanensis*. (Abstract) *Rev. Salud Publica*. 2008; **10(3)**: 488-93.
95. Eberhard M.L, Nace K.E, Freeman A.R. ve ark. *Cyclospora cayetanensis* infections in Haiti: A common occurrence in the absence of watery diarrhea. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999; **60(4)**: 584-6.
96. Jones L.J, Lopez A, Wahlquist S.P. ve ark. Survey of Clinical Laboratory Practices for Parasitic Diseases. *CID*. 2004; **38 (Suppl 3)**: 198-202.

97. Lalonde L.F. ve Gajadhar A.A. Highly sensitive and specific PCR Assay for Reliable Detection of *Cyclospora cayetanensis* oocysts. *App. Enviro. Microbiol.* 2008; **74(14)**: 4354-8.
98. Pieniazek N.J, Slemenda S.B, Silva A.J. ve ark. PCR confirmation of infection with *Cyclospora cayetanensis*. *Emerg. Infect. Dis.* 1996; **2(4)**: 357-8.
99. Shields J.M ve Olson B.H. PCR-Restriction fragment length polymorphism method for detection of *Cyclospora cayetanensis* in environmental waters without microscopic confirmation. *App. Environmental Microbiol.* 2003; **69(8)**: 4662-9.
100. Sturbaum G.D, Ortega Y.R, Gilman R.H. ve ark. Detection of *Cyclospora cayetanensis* in wastewater. *App. Enviroment Microbiol.* 1998; **64(6)**: 2284-6.
101. Hove R.J, Esbroeck M, Vervoort T. ve ark. Molecular diagnostics of intestinal parasites in returning travellers. *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.* 2009; **28**: 1045-53.
102. Steele M, Unger S, Odumeru J. Sensitivity of PCR detection of *Cyclospora cayetanensis* in raspberries, basil, and mesclun lettuce. *J. Microbiol. Met.* 2003; **54**: 277-80.
103. Saksirisampant W, Prownebon J, Saksirisampant P. ve ark. Intestinal parasitic infections: prevalences in HIV/AIDS patients in a Thai AIDS-care centre. (Abstract) *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2009; **103(7)**: 573-81.
104. Escobedo A.A ve Nunez F.A. Prevalence of intestinal parasites in Cuban acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) patients. *Acta Tropica* 1999; **72**: 125-30.
105. Brandonisio O, Maggi P, Panaro M.A. ve ark. Intestinal protozoa in HIV-infected patients in Apulia, South Italy. *Epidemiol. Infect.* 1999; **123**: 457-62.

106. Masucci L, Graffeo R, Siciliano M. ve ark. First Italian case of cyclosporiasis in an immunocompetent woman: local acquired infection. *N. Microbiol.* 2008; **31**: 281-4.
107. Masucci L, Graffeo R, Bani S. ve ark. Intestinal parasites isolated in a large teaching hospital, Italy, 1 May 2006 to 31 December 2008. *Euro Surveill*, 2011; **16(24)**: 19819.
108. Clarke S.C ve McIntyre M. The incidence of *Cyclospora cayetanensis* in stool samples submitted to a district general hospital. *Epidemiol. Infect.* 1996; **117**: 189-93.
109. Yazar S, Yalçın Ş, Şahin I. Human cyclosporiasis in Turkey. *World J. Gastroenterol.* 2004; **10(12)**: 1844-7.
110. Ooi W.W, Zimmerman S.K, Needham C.A. *Cyclospora* Species as a gastrointestinal pathogen in Immunocompetent Hosts. *J. Clin. Microbiol.* 1995; **33(5)**: 1267-9.
111. Naito T, Mizue S, Misawa S. ve ark. *Cyclospora* infection in an Immunocompetent patient in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2009; **62**: 57-8.
112. Kaya A, Okur M, Sal E. ve ark. *Cyclospora cayetanensis* in two children living in the east of Turkey. *Wuc. J. Med. Sci.* 2012; **1(1)**: 9-11.
113. Zhou Y, Lv B, Wang Q. ve ark. Prevalence and Molecular Characterization of *Cyclospora cayetanensis*, Henan, China. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; **17(10)**: 1887-90.
114. Bern C, Hernandez B, Lopez M.B. ve ark. The Contrasting Epidemiology of *Cyclospora* and *Cryptosporidium* among outpatients in Guatemala. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2000; **63(5,6)**: 231-5.

115. Erdoğan D.D, Kurt Ö, Mandıracıoğlu A. ve ark. Prevalence and associated factors of *Cryptosporidium* spp. and *Cyclospora cayetanensis* in İzmir Province, Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2012; **18 (Suppl-A)**: A105-A110.
116. Massoud N.M, Said D.E, El-Salamouny A.R. Prevalence of *Cyclospora cayetanensis* among symptomatic and asymptomatic immune-competent children less than five years of age in Alexandria, Egypt. *Alex. J. Med.* 2012.
117. WHO. WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children. 2007.
118. Gupta S, Narang S, Nunavath. ve ark. Chronic diarrhoea in HIV patients: Prevalence of coccidian parasites. *Indian J. Med. Microbiol.* 2008; **26(2)**: 172-5.
119. Kulkarni S.V, Kairon R, Sane S.S. ve ark. Opportunistic parasitic infections in HIV/AIDS patients presenting with diarrhoea by the level of immunosuppression. *Indian J. Med. Res.* 2009; **130**: 63-6.
120. Velasquez JN, Carnevale S, Cabrera M. ve ark. *Cyclospora cayetanensis* in patients with AIDS and chronic diarrhea. *Acta Gastroenterol Latinoam(Abstract)*. 2004; **34(3)**: 133-7.
121. Schubach T.M, Neves E.S, Leite A.C. ve ark. *Cyclospora cayetanensis* in an asymptomatic patient infected with HIV and HTLV-1. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 1997; **91**: 175.
122. Assefa S, Erko B, Medhin G. ve ark. Intestinal parasitic in relation to HIV/AIDS status, diarrhea and CD4 T-cell count. *BMC Infectious Diseases*, 2009; **9**: 155.

123. Gonçalves E.M.N, Uemura I.H, Castilho V.L.P. ve ark. Retrospektif study of occurrence of *Cyclospora cayetanensis* at Clinical Hospital of the University of Sao Paulo Medical School, SP. *Revista de Sociedade Brasileira de Med. Trop.* 2005; **38(4)**: 326-30.
124. Robert V Tauxe. Strategies for surveillance and prevention. *Lancet*, 1998; **10 (suppl IV)**: 352
125. Aksoy U, Akisu C, Şahin S. ve ark. First reported outbreak of cyclosporiasis with *Cyclospora* co-infection in Turkey. *Euro Surveill.* 2007; **12(7)**: 3142.
126. Karanis P, Kourenti C, Smith H. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt.(Abstract) *J. Water Health.* 2007; **5(1)**: 1-38.

HAM VERİLER

FORMLAR

Tarih:

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

Bu Şekillildiğiniz çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı ‘‘HIV (+) Bireylerin Dışkı Örneklerinde *Cyclospora cayetanensis* Varlığının Çeşitli Yöntemlerle Araştırılması’’dır.

Bu araştırmanın amacı, HIV (+) bireylerde fırsatçı patojen olarak hastalık yapan ve ishale neden olan *Cyclospora cayetanensis*’in ülkemizdeki HIV (+) hastalardaki durumunu ortaya koymaktır. Bu konuda ülkemize ait yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bunun için çeşitli yöntemler kullanarak etkenin varlığını saptamayı amaçladık. Bu çalışmayla sadece konvansiyonel değil aynı zamanda moleküler yöntemlerle *Cyclospora cayetanensis* tanısının konulması ve tanıda kullanılan yöntemler arasında karşılaştırma yapmaktır. Bu çalışmada sizden sadece dışkı örnekleri alınacaktır. Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 100 olarak planlanmıştır.

Bu çalışmada sizin için herhangi bir risk söz konusu değildir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için 0537 522 73 98 no.lu telefondan ya da 32308 dahili no.dan Bio. Semih ALTIPARMAK’a başvurabilirsiniz.

Bu çalışmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır; ayrıca, bu çalışma kapsamında yapılacak testler için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. Bu araştırma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmektedir.

Bu çalışmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada çalışmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir.

Çalışmaya Şekillilme Onayı:

Yukarıda yer alan ve çalışmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları çalıştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya Şekillilmeyi isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanıdı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu çalışmaya ilişkin bana yapılan Şekillilim davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan çalıştırıcının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 195

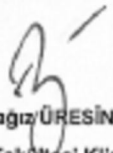
Tarih : 25.01.2012

Konu : Prof. Dr. Ali ÖNER hk,

Sayın Prof. Dr. Ali ÖNER
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi : Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının 19/10/2011 gün ve 1132 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Yüksek Lisans Öğrencisi Semih ALTIPARMAK'ın yürüteceği 2012/64-811 dosya numaralı "HIV pozitif bireylerin dışkılarında Cyclospora Ceytanensis varlığının çeşitli yöntemlerle araştırılması" başlıklı tez çalışması kurulumuzun 13.01.2012 tarihli 01 sayılı toplantısında etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.
Bilgilerinizi rica ederim.


Prof. Dr. A. Yağcı ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	28/12/2011		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	HASTA KARTI(GÖNÜLLÜKLERİ)	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
	Diğer:	<input type="checkbox"/>				
KARAR BELGELERİ	Karar No:81	Tarih: 13/01/2012				
	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Ali ÖNER 'ın soruşturulduğunda ve Yüksek Lisans Öğrencisi Semih ALTIPARMAK'ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşımlar ve yöntemleri dikkate alınarak incelendi, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıda katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verildiği ve...					

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI: 19.08.2011 tarihli, 29190 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik
 İAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: Prof. Dr. A. Yağcı ÖRESİN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kararı	Cimiyet		Araştırma ile ilgili *		Katılım **		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. A. Yağcı ÖRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Borçin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı Yardımcısı)	E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Ahmet GÖL	Renatojoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMERÖĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İstanbul Tıp Fakültesi	E	K	E	H	E	H	KATILMAZ
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Pınar SAİP	Onkoloji	İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü	E	K	E	H	E	H	
Dr. Muhtar ÇOKAR	Dermatoloji	İstanbul İnan Kıymağrı Sağlık Bilimleri Vakfı	E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Ayşen BULUT	Halk Sağlığı	Emekli	E	K	E	H	E	H	
Doç. Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hast. 1. Dahiliye Kliniği	E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Emekli	E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	İ.Ü. Eczacılık Fakültesi	E	K	E	H	E	H	
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	İstanbul Üniversitesi	E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Demir TIRYAKI	Dişhekimliği	Emekli	E	K	E	H	E	H	
İ. Karim AKMAN	İİBF İktisat bakanı	Özet (Ekonomist)	E	K	E	H	E	H	
Dr. Sevdâ ÖZEL	Dişhekimliği	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Dişhekimliği	E	K	E	H	E	H	

* Araştırma ile ilgili
 ** Toplantıda bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucuna bildirmektedir. Klinik ilaç araştırmaları projeleri için, etik kurulun onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5.nı maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli izin alınması gerekmektedir.

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"HIV pozitif bireylerin dışkılarında Cyclospora Cayetanensis varlığının çeşitli yöntemlerle araştırılması"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ali ÖNER			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz : araştırma				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	SEMİH	Soyadı	ALTIPARMAK
Doğ.Yeri	EMİNÖNÜ	Doğ.Tar.	20.05.1987
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	54643074058
Email	Biosemihaltiparmak@gmail.com	Tel	0537 522 73 98

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Yük.Lis.	İ.Ü. Sağlık Bilimleri Ens. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.	2013
Ön Lisans	Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Lab. ve Vet. Sağlık	2010
Lisans	Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Y.D.A Gaziosmanpaşa Merkez Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Laborant	İstanbul Tıp Fakültesi	2010-2012

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Orta	Orta	Orta		İstanbul Üniversitesi Yabancı Dil Sınavı : 65

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	85.210		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Ofis Programları	Çok İyi

Yayımları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Vaka: Ekmekci Ö.Ö, Tahmaz M, Altıparmak S. ve ark. Kronik Steroid Kullanan Immunsuprese Hastada Strongyloidoza Bağlı Loeffler Sendromu. *Türk Parazitol. Derg.*(Yayın aşamasında) Kabul T: Ocak 2013

Ulusal Kongrelerde Poster Sunumları:

Babür C, Usluca S, Mungan M, Beyhan YE, Altıparmak S., Özkan AT. Ocak 2006-Temmuz 2012 Dönemleri Arasında Kist Hidatik Ön Tanısıyla Başvuran Olgularda Immünserolojik Yöntem Sonuçlarının Değerlendirilmesi. 6. Ulusal Hidatidoloji Kongresi Program ve Özet Kitabı 12-15 Eylül 2012 s.107.

Uluslararası Şekillilimli Çalıştaylar:

- 1) 11-15 Nisan 2011-ESCMID Postgraduate Technical Workshop Basic Parasiyotology 11-15 April 2011, Ankara, Turkey. Çalıştay

Ulusal Kongre, Simpozyum ve Toplantılar:

- 1) 18 Mart 2011 - Leishmaniasis; Buzdağının Büyüklüğünün Farkında mıyız? Toplantısı.
- 2) 4-10 Eylül 2011 - 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu.
- 3) 1 Ekim 2011 - Marmara Bölgesi Sonbahar Simpozyumu 'Gündemdeki İnfeksiyonlar-Gündemdeki Antibiyotikler'
- 4) 12-15 Eylül 2012 - Uluslararası Şekillilimli 6. Ulusal Hidatidoloji Kongresi.

Ulusal Şekillilimli Çalıştaylar:

- 1) 14-18 Kasım 2011 - T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı 'Bildirimi Zorunlu Paraziter Hastalıklar Uygulamalı Eğitimi' Çalıştayı.

- 2) 01-05 Ekim 2012 ve 05-09 Ekim 2012 Dönemlerinde - Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 'Su Mikrobiyolojisi Uygulamalı Laboratuvar Eğitim Programı.' Çalıştayları
- 3) 13-16 Kasım 2012 - Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 'Uygulamalı Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Eğitimi' Çalıştayı.
- 4) 26-30 Kasım 2012 ve 3-7 Aralık 2012 – Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 'Gıda ve Su Kaynaklı Enfeksiyon Etkenleri Eğitimi' Çalıştayları.
- 5) 10-14 Aralık 2012 - Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 'Bildirimi Zorunlu Parazit Hastalıkları Uygulamalı Eğitimi' Çalıştayı

Sertifikalarım:

- 29.06.2002 - T.C. İstanbul İli Gaziosmanpaşa İlçesi Özel Modem Bilgisayar Kursu

Özel İlgi Alanları (Hobileri):