

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İSHALLİ HASTALARDA İNTESTİNAL COCCIDIAN
PARAZİTLERİN KOPRO-PARAZİTOLOJİK
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Tezi Hazırlayan
Hanife TEMEL

Tezi Yöneten
Prof.Dr.İzzet ŞAHİN

Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Şubat 2011
KAYSERİ

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

**İSHALLİ HASTALARDA İNTESTİNAL COCCIDIAN
PARAZİTLERİN KOPRO-PARAZİTOLOJİK
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Hanife TEMEL**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.İzzet ŞAHİN**

**Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından
TSY-08-558 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Şubat 2011
KAYSERİ**

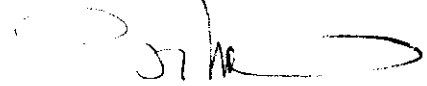
Prof. Dr. İzzet ŞAHİN danışmanlığında **Hanife TEMEL** tarafından hazırlanan “**İshalli Hastalarda İntestinal Coccidian Parazitlerin Kopro-parazitolojik Yöntemlerle Araştırılması**” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Parazitoloji** Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

25 / 02 / 2011

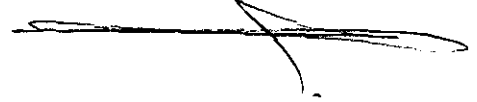
JÜRİ

Üye : Prof. Dr. İzzet ŞAHİN

İmza



Üye : Prof. Dr. Süleyman YAZAR



Üye : Prof. Dr. Abdullah İNCİ



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında bilgi, eleştiri ve yardımlarıyla beni yönlendiren, sabır ve desteğini esirgemeyen değerli hocam, Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İzzet ŞAHİN'e,

Çalışmamın her aşamasında gerek bilimsel gerekse manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen hocalarım, Sayın Prof. Dr. Süleyman YAZAR, anabilim dalımız öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Salih KUK ve Araştırma Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Eser KILIÇ'a,

Çalışmamda uyumlu bir ortam sağlayarak her konuda bana destek olan ve tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım biyolog Niğmet GÖZKENÇ, Serpil ATEŞ, Berna HAMAMCI ve Arş. Gör. Ülfet ÇETİNKAYA'ya,

Çalışmalarımın her aşamasında manevi desteklerini her an hissettiğim sevgili eşim Murat TEMEL ile sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

İSHALLİ HASTALARDA İNTESTİNAL COCCIDIAN PARAZİTLERİN KOPRO-PARAZİTOLOJİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Genellikle intestinal parazit olan coccidia türleri bütün omurgalı ve omurgasız hayvanları enfekte ederler. Tüm üyeleri insan ve hayvanlarda parazit olarak yaşayan coccidia grubunun tür sayısının çok olması, sağlık ve ekonomik bakımdan önemli olmaları nedeniyle bilim adamlarının bu konuya ilgi duymasına neden olmuştur.

Bu çalışmanın amacı; fiksatifli boyama yöntemleri kullanılmadan sadece nativ-lugol yöntemi ile incelenen dışkı numunelerinde gözden kaçabilen veya başka yapılarla karıştırılabilen intestinal coccidian parazitlerin doğru tanısını sağlamak ve saptanma oranını arttırmaktır.

Bu çalışmada; Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı koproloji laboratuvarına dışkıda parazit bakışı için başvuran 350 ishali hastanın dışkı numuneleri kullanılmıştır. Alınan örneklerden hazırlanan preparatlardan bir tanesi direkt inceleme yöntemlerinden nativ-lugol yöntemiyle, diğeri ise boyama yöntemlerinden Kinyoun's asit-fast yöntemiyle incelenmiştir. Ayrıca örnekler formol-etil asetat çöktürme yöntemi uygulanarak; bir kısmı nativ-lugol yöntemiyle, bir kısmı ise Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle incelenmiştir. Direkt nativ-lugol ve sedimantasyon sonrası nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların 2'sinde (%0,57) *Cyclospora* spp.'ye ait ookistler görülmüştür. Direkt Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle boyanan preparatların 2'sinde (%0,57) *Cyclospora* spp., 1'inde ise *Cryptosporidium* spp. olmak üzere toplam 3 hastada coccidian ookist görülürken (%0,86), sedimantasyon sonrası Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle boyanan preparatların 2'sinde *Cyclospora* spp., 2'sinde *Cryptosporidium* spp. görülmüştür. Hiçbir tanı yöntemiyle *Isospora* spp.'ye rastlanmamıştır.

Sedimantasyon öncesi ile sedimantasyon sonrası nativ-lugol ve Kinyoun's asit-fast yöntemleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bununla birlikte formol etil-asetat çoklaştırma yönteminin ookistlerin görülme sıklığını arttırdığı, Kinyoun's asit-fast boyama yönteminin de spesifik tanı amacıyla kullanılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Intestinal coccidian parazitler, Kopro-parazitolojik yöntemler, Diyare

INVESTIGATION OF INTESTINAL COCCIDIAN PARASITES IN DIARRHAETIC PATIENTS WITH COPRO-PARASITOLOGIC METHODS

ABSTRACT

Coccidian species that are generally intestinal parasites can infect all types of vertebrate and invertebrate animals. There are number of coccidian species living in the human and animals. Therefore scientists became interested in coccidia species due to health and economical important.

Because coccidia overlooked using the only native-lugol method without fixed stained method the aim of this study was to ensure the correct diagnosis and increase the rate of detection of intestinal coccidia parasites.

In this study, 350 stool samples with diarrhea which is obtained from patients admitted to Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Parasitology laboratory of coprology were used.

Samples were investigated with two different methods: one sample was investigated with native-lugol method and the other one was investigated with Kinyoun's acid-fast method. In addition, all samples were concentrated with formol-ethyl acetate concentration method, after then sediment was investigated with either native-lugol or Kinyoun's acid-fast method. Total of 2 (0,57%) oocysts of *Cyclospora* spp. were detected before and after sedimentation using native-lugol method.

Total of 3 coccidian oocyst were detected (0, 86%) in all samples; *Cyclospora* spp., was seen in two (0,57%) preparations and *Cryptosporidium* spp. was detected in one preparations using direct Kinyoun's acid-fast stained method. However, 2 *Cyclospora* spp and also 2 *Cryptosporidium* spp were detected after sedimentation using Kinyoun's acid-fast method. There is no *Isospora* spp was detected with any of technique.

Native-lugol and Kinyoun's acid-fast techniques was found to be statistically different after and before sedimentation ($p < 0,05$). In addition, it has been seen that formol-ethyl acetate method was increased the detection frequency of oocyst and it is better to use Kinyoun's acid-fast technique for the specific diagnosis.

Keywords: Intestinal coccidian parasites, Copro-parasitologic methods, Diarrhae

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
KISALTMALAR	IX
TABLO LİSTESİ	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SPP	3
2.1.1. TARİHÇE	4
2.1.2. TAKSONOMİ	5
2.1.3. MORFOLOJİ	6
2.1.4. YAŞAM DÖNGÜSÜ	8
2.1.4.1. Ekskistasyon	8
2.1.4.2. Merogoni	8
2.1.4.3. Gametogoni	8
2.1.4.4. Fertilizasyon	8
2.1.4.5. Ookist duvar oluşumu	8
2.1.4.6. Sporogoni	9
2.1.5. PATOGENEZ	9
2.1.6. KLİNİK	11
2.1.7. İMMÜNİTE	12
2.1.7.1. Hücresel İmmünite	12
2.1.7.2. Humoral İmmünite	13

	<u>Sayfa no</u>
2.1.8. EPİDEMİYOLOJİ	13
2.1.8.1. Risk Faktörleri	13
2.1.8.2. Bulaş Yolları.....	13
2.1.8.3. Mevsimsel Dağılım	13
2.1.8.4. Ülkemizdeki Yayılışı	14
2.1.8.5. Dünyadaki Yayılışı	14
2.1.9. TANI.....	15
2.1.10. TEDAVİ	19
2.1.11. KORUNMA	20
2.2. <i>CYCLOSPORA</i> SPP.....	22
2.2.1. Tarihçe.....	22
2.2.2. Taksonomi	23
2.2.3. Morfoloji.....	23
2.2.4. Yaşam Döngüsü	26
2.2.5. Patogenez.....	28
2.2.6. Klinik.....	28
2.2.7. İmmünite.....	29
2.2.8. Epidemiyoloji.....	30
2.2.9. Tanı	30
2.2.10. Tedavi	31
2.2.11. Korunma	31
2.3. <i>ISOSPORA</i> SP.	32
2.3.1. Tarihçe.....	32
2.3.2. Taksonomi	32
2.3.3. Morfoloji.....	32
2.3.4. Yaşam Döngüsü	33
2.3.5. Patogenez.....	35
2.3.6. Klinik.....	35
2.3.7. İmmünite.....	35

VIII

	<u>Sayfa no</u>
2.3.8. Epidemiyoloji	36
2.3.9. Tanı	36
2.3.10. Tedavi	37
2.3.11. Korunma	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI.....	39
3.2. NATİV-LUGOL YÖNTEMİ	39
3.2.1. Nativ Bakı Yöntemi.....	39
3.2.2. Lugol Bakı Yöntemi	40
3.3. MODİFİYE FORMOL-ETİL ASETAT SEDİMANASYON YÖNTEMİ.....	40
3.4. KİNYOUN'S ASİT-FAST BOYAMA YÖNTEMİ	41
3.5. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	42
4. BULGULAR	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	49
6. KAYNAKLAR	56
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

18S rRNA	: 18 S ribozomal RNA
AIDS	: Acured immun deficiency syndrome
CD4 T hücreleri	: Sitotoksik T hücreleri
COWP proteini	: <i>Cryptosporidium</i> Oocyst Wall Proteini (<i>Cryptosporidium</i> ookisti duvar proteini)
DNA	: Deoksiribonükleik asid
EIA	: Enzim immunoassay
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Enzime-Bağlı-İmmün Analiz)
HIV	: Human immun deficiency virus
IFA	: İmmüno Floresan Antikor Yöntemi
IL-12	: İnterlökin-12
INF- γ	: İnterferon gamma
K ₂ Cr ₂ O ₇	: Potasyum di kromat
MAF	: Modifiye asit fast
NTZ	: Nitazoksanid
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PgE2	: Prostaglandin E2
RFLP Uzunluk Polimorfizmi)	: Restriction Fragment Length Polymorphism (Rekstriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi)
SAF	: Sodyum asetat-asetik asit formol
TNF- α	: Tümör nekroz faktör alfa
TRAP	: Thrombospondinrelated adhesive proteini
μ m	: Mikrometre

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. <i>Cyclospora</i> , <i>Cryptosporidium</i> ve <i>Isospora</i> 'nın morfolojik olarak karşılaştırılması	25
Tablo 4.1. Farklı yöntemlerle parazit görülme oranları	44
Şekil 2.1. <i>Cryptosporidium</i> ookisti	6
Şekil 2.2. <i>Cryptosporidium</i> 'un yaşam döngüsü.....	9
Şekil 2.3. <i>Cyclospora cayetanensis</i> 'in yaşam döngüsü.....	27
Şekil 2.4. <i>Isospora belli</i> 'nin yaşam döngüsü.....	34
Şekil 2.5. Kinyoun's asit-fast yöntemi ile boyanmış <i>Isospora belli</i> ookisti.....	37
Şekil 3.1. Çalışma şeması.....	39
Şekil 3.2. Modifiye formol-etil asetat sedimantasyon yöntemi	41
Şekil 4.1. <i>Cyclospora cayetanensis</i> ookistinin nativ yöntemiyle hazırlanan preparatta X400 büyütmedeki görüntüsü.....	44
Şekil 4.2. <i>Cyclospora cayetanensis</i> ookistinin lugol yöntemiyle hazırlanan preparatta X400 büyütmedeki görüntüsü.....	45
Şekil 4.3. Dışkıların direkt Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle ve sedimantasyon sonrası Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle intestinal coccidia açısından mikroskopik değerlendirme sonuçları	46
Şekil 4.4. <i>Cyclospora cayetanensis</i> ookistlerinin Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle hazırlanan preparatta X1000 büyütmedeki görüntüsü.....	46
Şekil 4.5. <i>Cyclospora cayetanensis</i> 'in floresan mikroskopta 380-420 nm dalga boyunda X1000 büyütmedeki otofluoresan görüntüsü.....	47
Şekil 4.6. <i>Cryptosporidium parvum</i> ookistinin Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle hazırlanan preparatta X1000 büyütmedeki görüntüsü	47
Şekil 4.7. <i>Cryptosporidium parvum</i> ookistlerinin Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle hazırlanan preparatta X1000 büyütmedeki görüntüsü.....	48

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Genellikle intestinal parazit olan coccidia türleri bütün omurgalı ve omurgasızları enfekte etmekte olup oluşturduğu hastalığa coccidiosis adı verilmektedir (1). Coccidiosis, bağışıklık mekanizması normal olanlarda kısa süreli, koleraya benzer bir seyir izlemektedir. Bol ve çok sulu bir ishal, karında kramplar, bulantı, kusma, iştahsızlık, başağrısı ve hafif ateş vardır. Bağışıklığı baskılanmış olanlarda, özellikle AIDS'lilerde (acquired immune deficiency syndrome) uzun süren, ağır ve zaman zaman ölümcül ishalleri neden olmaktadır.

Coccidiosis'de tanı, klinik ve histopatolojik bulgular ile dışkı örneğinin parazitolojik incelemesinde etkenin görülmesi esasına dayanmaktadır. Dışkının fiksatifli boyama yöntemleri kullanılmadan sadece native-lugol preparatlarının mikroskopik incelenmesinde intestinal coccidian parazitler kolayca gözden kaçabilmekte ve bazı maya türleri ve başka yapılarla karıştırılabilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada dışkının nativ-lügol ve formol etil-asetat çöktürme yöntemi ile incelenmesinin yanı sıra, Kinyoun's asit-fast boyama yöntemi de uygulanmıştır. Kinyoun's asit-fast boyama yöntemi intestinal coccidian parazitlerin içyapılarını boyayarak morfolojik özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Bu özelliklerden yararlanılarak türlerin spesifik identifikasyonu yapılabilmektedir.

Bu çalışmada; parazitin saptanma oranını artıracak ve saptanan parazitlerin doğru ayırımını sağlayacak çoklaştırma ve boyama yöntemleri kullanılarak bu yöntemlerin, intestinal coccidian parazitlerin doğru tanımlanması bakımından önemleri ortaya konmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Apicomplexa şubesinde bulunan organizmalar; tek hücrelidir ve kutup halkaları, rhoptri, mikronem ve genellikle konik şekildeki mikrotübüller ve mikroporlardan oluşan tipik bir apikal komplekse sahiptir. Coccidia; Protozoa âleminin dört büyük şubesinden biri olan Apicomplexa içerisinde bulunan bir sınıftır. Coccidiosis; Eimeridae ailesinde bulunan türlerin hayvan ve insanlarda meydana getirdiği enfeksiyon için kullanılmaktadır.

Tüm yaşam döngüsünü omurgalıların gastrointestinal sisteminde geçiren coccidia cinsleri; *Eimeria*, *Isospora*, *Cyclospora* ve *Cryptosporidium*'dur. İnsanlarda enfeksiyon oluşturan cinsler ise *Isospora*, *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Toxoplasma* ve *Sarcocystis*'tir (2).

2.1. CRYPTOSPORIDIUM SPP.

Cryptosporidium cinsi protozoonlar omurgalıların sindirim ve solunum yollarını kaplayan epitel hücrelerinin mikrovillus bölgesine yerleşerek, bir zoonoz olan cryptosporidiosis'e neden olan coccidian parazitlerdir (3).

Tüm dünyada yaygın olarak görülen parazit; memelileri, kanatlıları, balıkları ve sürüngenleri de içine alan 200'ü aşkın canlı türünde enfeksiyona neden olmaktadır (4).

Hastalıkta, etkilenen organa ve konağın bağışıklık sistemine bağlı olarak değişik tipte klinik tablo ile karşılaşabilmek mümkün olsa da, en yaygın bulgu bol ookist atılımı ile karakterize sulu, çoğunlukla mukus içeren, homojen, fosforumsu sarı renkte ishaldir (5).

İmmun sistemi sağlam olanlarda hastalık yaklaşık 2 haftada kendini sınırlayan ishal ile karakterize olup, nadir olarak abdominal kramplar, bulantı, ateş ve kilo kaybı gözlenmektedir. AIDS'li bireyler başta olmak üzere bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ise, günde 20 litreye varabilen kolera benzeri ishale neden olup, yaşamı tehdit eden bir tablo oluşturabilmektedir (6).

2.1.1. Tarihçe

Cryptosporidium spp. ilk kez Clarke tarafından 1895 yılında fare mide epiteli üzerinde görülmüş ve spor kümeleri olarak tanımlanmıştır (3).

Tyzzler 1907 yılında farelerin mide mukozasında bulunan *Cryptosporidium muris*'i (*C. muris*), 1912'de ise farenin sadece ince barsağında gelişim dönemi geçiren, *C. muris*'ten daha küçük olan ve bugün memeli cryptosporidiosisinin en önemli sebebi olarak tanımlanan *Cryptosporidium parvum*'u (*C. parvum*) yeni bir tür olarak bildirmiştir (7).

Cryptosporidium; cins ismi, önceden bilinen coccidian parazitlerin aksine ookistlerinin içindeki sporozoitleri çevreleyen sporokistlerinin yokluğu anlamına gelmektedir (Yunanca "kruptos" gizli anlamına gelir).

İnsanda ilk olgu 1976 yılında bildirilmiştir (8, 9). 1976-1983 yılları arasında genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış az sayıda hastada ve AIDS'li hastalarda *Cryptosporidium* enfeksiyonları saptanmış ve şiddetli enterite neden olmasının yanında solunum yolları, karaciğer ve safra yollarını da tutabildiği belirlenmiştir (10, 11).

Sonraki yıllarda yapılan araştırmalarda hayvan bakıcılarında, turistlerde (12) ve immunolojik problemi olmayan kişilerde de (13) bu enfeksiyona rastlandığı bildirilmiştir. 1993'te Amerika Birleşik Devletlerinin (ABD) Milwaukee ve Wisconsin eyaletlerinde 400.000'den fazla kişiyi etkileyen büyük bir *Cryptosporidium* salgını ortaya çıktıktan sonra bu konuya olan ilgi daha da artmıştır (14).

2.1.2. Taksonomi

Günümüze kadar, morfolojileri, konak özgüllükleri, izole edildikleri konağın özellikleri, konakta yerleşim yerleri ve yaygın olarak kullanılan yöntemler ile belirlenen moleküler özelliklerine göre Levine, Upton ve Current isimli bilim adamları tarafından *Cryptosporidium* cinsine ait 20 tür tanımlanmıştır.

Zoonotik karakterde olan *C. parvum* ile anthroponotik karakterde olan *C. hominis* insan cryptosporidiosisine en sık neden olan etkenler olmasına rağmen *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. muris*, *C. suis*'in de insanda enfeksiyon oluşturduğu bildirilmiştir. *C. parvum* türünün taksonomideki yeri aşağıda verildiği gibidir (15).

Alem : Animalia
 Alt alem : Protozoa
 Filum : Apicomplexa
 Sınıf : Sporozoa
 Altsınıf : Coccidia
 Takım : Eucoccidiida
 Alttakım : Eimeriorina
 Aile : Cryptosporidiidae
 Cins : *Cryptosporidium*
 Tür : *C. parvum*

Son yıllarda yapılan çalışmalarla farklı konaklardan izole edilen *Cryptosporidium* türlerinin, ookist duvarı ve sporozoit antijenleri karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve türler arasındaki farklılıklar gösterilmiştir (16).

Bu çalışmalarda hayvanlardan, özellikle sığırlardan elde edilen izolatların, insanlardan izole edilen *Cryptosporidium* türlerinden açıkça ayrıldığı belirtilmiştir (17-19).

Son yıllarda yapılan PCR-RFLP gen sekans [e.g. 18S rDNA, cryptosporidial ookistlerin duvar proteinleri (COWP), trombospodin ile ilgili bağlanma proteini (TRAP)] ve filogenetik analizler, *C. parvum*'un insan ve hayvan izolatları arasındaki farklılıkları doğrulamıştır ve bugün insan tipi Tip 1, hayvan tipi Tip 2 olarak tanımlanmaktadır (20, 21). Bunlardan insan genotipinin (genotip 1; genotip H; anthroponotik genotip) sadece insanlarda bulunduğu, sığır genotipinin (genotip 2, genotip C, zoonotik) ise sığır,

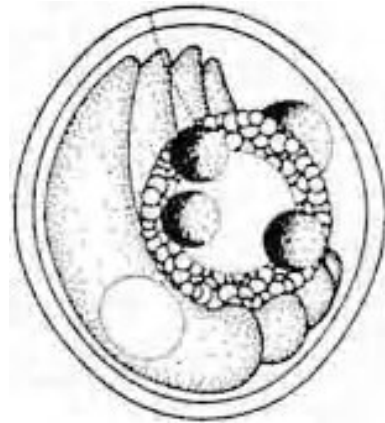
koyun, geyik, insanlar ve nadiren domuz ve farelerde enfeksiyona yol açabileceği saptanmıştır (22).

2.1.3. Morfoloji

Cryptosporidium ookistleri 4-6 μm çapında ve genellikle kalın duvarlı yapıda olup, içlerinde dört sporozoit bulunmaktadır. Diğer coccidian parazitlerden farklı olarak ookistlerinin içindeki sporozoitleri çevreleyen sporokistleri yoktur ve sporozoitler çıplaktır.

Enfektif form olan ookistlerin %80'i çevresel koşullara dirençli, kalın duvarlı ve çift cidarlı iken, yaklaşık %20'si ince cidarlıdır. Dış ortama dirençsiz, yalnızca tek bir zarla çevrili olan bu ince cidarlı ookistler otoenfeksiyondan sorumludurlar. (23, 24). Otoenfeksiyonun oluşması ve konak içinde ookistlerin olgunlaşması coccidialar için genellikle karakteristiktir.

Sporlanmış ookistlerin her birinde bulunan 4 sporozoite ek olarak çeşitli küçük tanecikler ve zara bağlı yuvarlak ya da oval şekilli kürecikler bulunur (Şekil 2.1) (25, 26). Mikropil ve polar granül gibi bazı coccidian ooksitlerinde gözlenen diğer yapısal özellikler *Cryptosporidium* ookistlerinde bulunmaz. Ookistlerin duvarı renksiz ve düzgündür (27).



Şekil 2.1. *Cryptosporidium* ookisti (28)

Ön uçları sivri, arka uçları yuvarlak, yarım ay biçiminde olan sporozoit formları $4,9 \times 1,2$ μm büyüklüğündedir. Sporozoitler, konak hücreye invazyonu sağlayan rhoptri, mikronem ve yoğun granüller içeren, apikal kompleks diye adlandırılan bir organelle sahiptir. Hareketli sporozoitler ince bağırsak epitel hücrelerinin yüzey reseptörlerine parazitlerin bazı bağları ile bağlanırlar ve bu bağlanma sonrası parazitler aktin polimerizasyonuna neden olarak ince bağırsak epitel hücre membranında bir çıkıntı oluştururlar. Bu membran sporozoiti sarar ve epitel hücresinin mikrovillus tabakasında parazitifer vakuölü meydana getirir (29).

Trofozoitler, $2,0-2,5$ μm çapında olup yuvarlak ya da oval şekildedir (30). Trofozoitlerde, $1,0-1,3$ μm çapında büyük bir nükleolus bulunmasına rağmen sporozoitlerde ve merozoitlerde bulunan apikal kompleksin bulunmamasından dolayı, sporozoitlerin ve tip I merozoitlerin merontlara geçiş dönemleri olarak kabul edilirler.

Nükleusun bölünmesi ile tek nükleuslu trofozoitler, çok nükleuslu (6-8 nükleus) merontları (şizont) oluştururlar. Fiziksel olarak farklı olan 2 tip meront yaklaşık olarak $4-5$ μm çapındadır. Tip I merontlar 6-8 merozoit oluştururlar. Tip I merontlardan gelişen, Tip II merontlar 4 merozoit oluştururlar ve Tip I meronttaki merozoitlere benzerler. Bu merozoitler yaklaşık olarak $1-5$ μm boyutlarında, ön ve arka uçları yuvarlak yarım ay görünümündedirler. Bunlar tek bir vesiküler nükleus, endoplazmik retikulum ve çeşitli tanımlanmamış granüller içerirler.

Mikrogametositler yani erkek gametositler nadir olarak bulunurlar ve kısa ömürlüdürler. İnce yapısı incelendiğinde mikrogametositlerin erken dönemde birçok yoğun nükleus parçaları, ribozomlar, endoplazmik retikulum ve membrana bağlı vakuoller içerdikleri görülmektedir. Yoğun ve sferik nükleus, tanecikli sitoplazma kitlesinin merkezinden uzak bölümde yer almıştır. Bir mikrogametositin, $4-5$ μm boyutlarında olabilen 14-16 kadar mikrogamet gelişir. Olgun mikrogametler çift katlı bir dış membran ile kuşatılmıştır ve şişkin duran apikal uçlar nedeniyle takoz görünümündedir. Nükleus mikrogametinin büyük bir bölümünü işgal etmekte ve nükleus yanında bir mitokondri bulunmaktadır.

Makrogametlerin çok genç formları trofozoitlerden ayırt edilemez. Makrogamet küresel bir yapıdadır. Tek bir nükleus ve endoplazmik retikulum içerirler. Etrafları çift katlı bir membranla kuşatılmıştır. Makrogametler $3,2-5,0$ μm çapında olup, bunların

olgunlaşmasıyla birlikte hücrede polisakkaritlerin ve yoğun görünümlü taneciklerin sayısı da artar (31).

2.1.4. Yaşam Döngüsü

Cryptosporidium türleri, aseksüel (şizogoni, merogoni) ve seksüel (gametogoni, sporogoni) döllenme şekillerinin değişimi ile karakterize yaşam döngüsünü tek bir konakta (monoksen) tamamlar (32).

C.parvum'un yaşam döngüsünün genel özellikleri, memelileri enfekte eden *Eimeria* ve *Isoospora* gibi diğer coccidian parazitlerin yaşam döngüleri ile benzerlikler göstermektedir (33). Buna göre başlıca 6 gelişim evresi bulunmaktadır:

2.1.4.1. Ekskistasyon

Bu parazitin gelişimi enfekte konağın dışkı ile atılan ookistlerin ağızdan alınması ile başlar ve tamamı aynı konak içinde devam eder. Sporozoitler, sıcaklık ve safra tuzları dahil çok sayıda faktörün etkisiyle bağırsakta kistten çıkarlar (ekskistasyon) ve bağırsak lümenine dökülürler (34).

2.1.4.2. Merogoni

Serbest kalan sporozoitler konağın bağırsak epitel hücreleri (enterosit) içine girmektedirler. Bu hücrelerin mikrovillus bölgesinde parazitofor vakuoller içinde yuvarlaklaşarak tek çekirdekli trofozoitlere (tek nükleuslu merontlara) dönüşmekte ve daha sonra eşeysiz olarak (merogoni) çoğalarak Tip 1 merontları oluşturmaktadırlar. Bunlardan meydana gelen merozoitler yeni konak hücrelerini istila ederek eşeysiz çoğalma ile tekrar Tip 1 merontları (Tip 1 meront döngüsü) veya Tip 2 merontları oluşturmaktadırlar (30).

2.1.4.3. Gametogoni

Tip 2 merontlardan meydana gelen merozoitler yeni konak hücrelere invaze olarak mikrogamont veya makrogamontun oluştuğu eşeyli üremeyi (gametogoni) başlatır (35).

2.1.4.4. Fertilizasyon

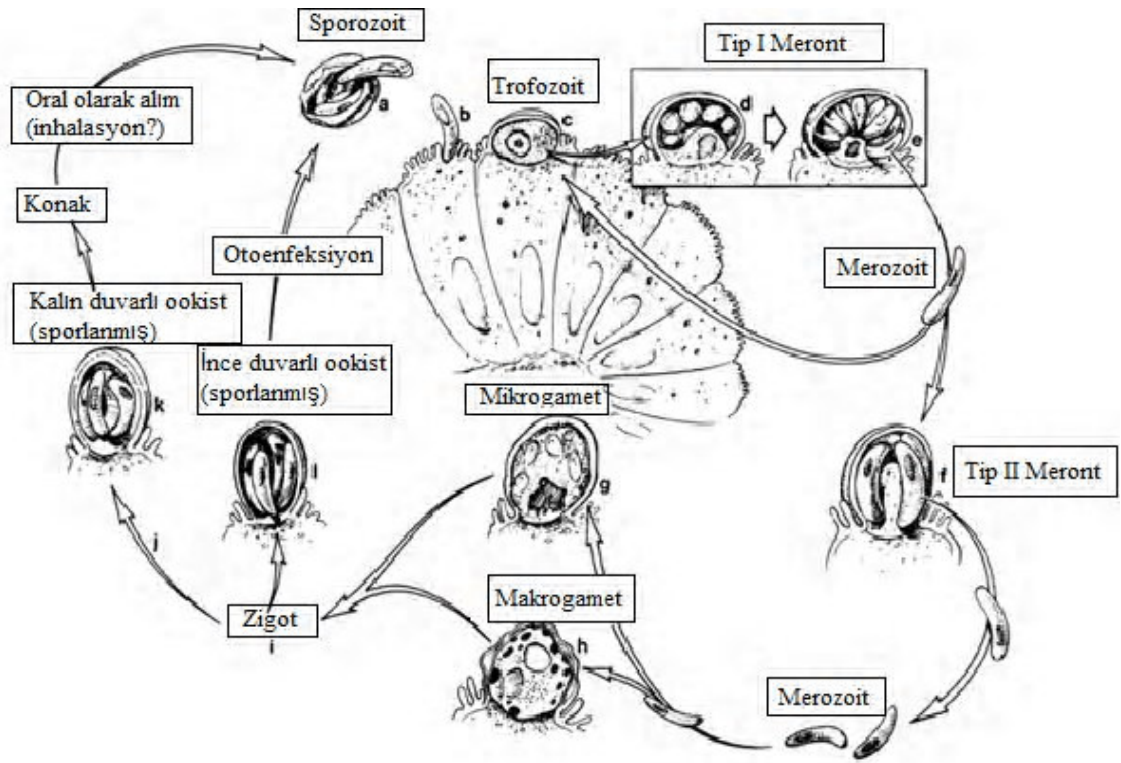
Kamçısız fakat hareketli mikrogamet makrogameti döller ve zigot meydana gelir (3).

2.1.4.5. Ookist Oluşumu

Zigot duvarının kalınlaşması ile olgunlaşmamış ookistler oluşur (3).

2.1.4.6. Sporogoni

Bu olgunlaşmamış ookistlerin gelişmesiyle oluşan olgun ookistler içerisinde sporlanma ile enfektif 4 adet sporozoit oluşmaktadır (10). Dışkı ile atılan, kalın duvarlı ookistlerin yeni bir konak tarafından sindirim yolu ile alınması sonucu enfeksiyon başlar. İnce duvarlı ookistler oto enfeksiyondan sorumludur. Konak hücreden ayrılmalarından hemen sonra içlerindeki sporozoitlerin serbestleşip diğer enterositlere girmesiyle yeni bir yaşam döngüsü başlatırlar (Şekil 2.2) (23).



Şekil 2.2. *Cryptosporidium*'un yaşam döngüsü (3).

2.1.5. Patogenez

Bu parazitozda tüm sindirim sistemi etkilenir fakat en çok etkilenen kısım jejunumdur (36). İmmun sistemi sağlam kişilerde temelde ince barsağın son kısımlarında ve proksimal kolonda yerleşir. İmmun sistemi baskılanmış kişilerde ise mide, duodenum, kolon, safra kanalları ve solunum sisteminde yerleşerek enfeksiyona neden olabileceği bildirilmiştir (37, 38).

Cryptosporidiosiste patogenez, parazitin anatomik yerleşimiyle paralellik göstermektedir. Bununla birlikte patogenezde konak-parazit etkileşimi ve buna bağlı invazyonun kritik rol oynadığı düşünülmektedir. Etkenin tutunma ve invazyonunda birçok faktörün rol oynadığı bildirilmiştir. Tutunma sırasındaki konak-parazit etkileşimi, invazyon ve parazitofor vakuolün oluşumu, birçok parazit ligandı ve konak reseptörü aracılığıyla meydana gelmektedir. Konak parazit etkileşiminde rol oynayan, parazite ait birçok yüzey ve/veya apikal kompleks proteini (CSL, GP900, p23/27, TRAP-C1, GP15, CP60/15, cp47, gp40/45 ve gp15/Cp17) bilinmektedir (39). Sporozoit spesifik lektin adherans faktörün, bağırsak yüzeyine tutunmada rolü olduğu bildirilmektedir. Sporozoitin tutunmasıyla epitel mukoza hücrelerinden sitokin salınımı gerçekleşmekte, fagositler aktive olmaktadır. Aktive olan bu hücreler bağırsaktan su ve klorid sekresyonunu arttıran, hatta absorpsiyonunu engelleyen histamin, serotonin, adenozin, prostaglandinler, lökotrienler, trombosit aktive edici faktör gibi faktörlerin salınımını sağlamaktadır. Sodyum emilim bozukluğunun, hem villus yüzeyinin azalması, hem de inflamatuvar hücrelerden salınan prostaglandin E2 (PGE2) aracılığıyla meydana gelen inhibisyona bağlı olduğu bildirilmiştir (40).

Bağırsak tutulumunda histolojik değişiklikler nonspesifiktir ve villus atrofi, kriptlerin boyunda uzama, lamina proprianın inflamatuvar hücrelerle infiltrasyonu şeklindedir. Ağır enfeksiyonda villus atrofi, kriptlerin boyunda uzama, belirgin lenfosit, plazma hücresi, hatta nötrofil infiltrasyonu, ekstraintestinal tutulum görülmektedir (41). Bu morfolojik değişikliklerin şiddeti, etkenin sayısı ile ilişkilidir. Villuslar sıklıkla kısa, küt, normalden daha geniş ve birleşmiş durumdadır. Kriptler ise uzamış ve hiperplastiktir. Villus ve kriptlerdeki bu yapısal değişiklikler alttaki lamina propriadaki lenfoid hücreler, makrofajlar ve nötrofillerle inflamatuvar infiltrasyona eşlik edebilmektedir. Emilim ve sindirim fonksiyonlarının bozulması sonucu bağırsak mikroflorası artmakta ve bağırsak duvarında ozmotik basınç artışı, bağırsak lümenine sıvı geçişi meydana gelmektedir (3). Hücre içi bağlantı kompleksleri aracılığıyla düzenlenen transport defektleri bağırsak epitelinin bariyer fonksiyonlarının bozulması sonucu ishale katkıda bulunmaktadır (42). Villus yüzeyinin kaybı sonucu sodyum emilim bozukluğu meydana gelmekte, klorid sekresyon artışı ve bağırsak geçirgenliğinin artışı da ishale neden olmaktadır. İshalin prostoglandinler aracılığıyla uyarıldığı ve siklooksijenaz inhibitörleri ile kontrol edildiği düşünülmektedir. Prostoglandin üretimi tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) tarafından uyarılmaktadır (41).

İnce bağırsak villuslarını kaplayan ve emilimi sağlayan enterositler, etkene ait sporozoit ve merozoitler tarafından istila edilmekte ve hücre ölümüyle sonuçlanan hasarlanma meydana gelmektedir (42). Bağırsak epitel hücrelerinin farklılaşması ve gelişmesi sırasında apoptozisin, hücrelerin villus yüzeyine doğru hareketinde düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir. *C. parvum*'un, parazitin çoğalması ve gelişmesini artırmak için epitel hücrelerindeki apoptozisi önlediği ve konağın inflamatuvar yanıtını sınırladığı düşünülmektedir. Enfekte epitel hücrelerinin apoptozis ile uzaklaştırılmasının konak epitel bariyer bütünlüğünün korunmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir (43).

2.1.6. Klinik

Cryptosporidium'un bağışıklık sistemi sağlam kişilerde genellikle terminal jejunum ve ileumda, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ise akciğerler, özofagus, mide, karaciğer, pankreas, safra kesesi, apendix, duodenum, kolon, rektum ve orta kulakta bulunabildiği ve yerleştiği organlara göre klinik belirtilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir (32, 37).

Cryptosporidiosis, intestinal, respiratuvar, hepatobilier ve pankreatik cryptosporidiosis olmak üzere dört farklı klinik tablo ile karşımıza çıkabilir (44).

İnsanlarda hastalığın şiddetini belirleyen en önemli kriter, hastanın immunolojik durumudur. Bağışıklığı sağlam olan hastalarda, hastalık ya asemptomatik ya da kısa süreli enfeksiyon şeklinde gelişirken bağışıklığı baskılanmış hastalarda ölümle sonuçlanabilen kronik ishal ile seyretmektedir (45).

Noninflamatuvar özellikteki diyare karakteristik olarak bol ve sulu olup mukus içerebilmekte; ancak dışkıda kan ve lökosit nadiren bulunmaktadır.

Bu tabloya eşlik eden klinik belirtiler bulantı, kusma, karın ağrısı, kilo kaybı, 39 °C altında ateştir. Nadiren kas ağrıları, halsizlik, baş ağrısı ve iştahsızlık gibi belirtiler gözlenmiştir (10).

Hastalığın şiddeti kişiden kişiye değişebilmekte ve sıklıkla atılan ookist miktarı ile paralellik göstermektedir. Klinik semptomların şiddeti ve süresini etkileyen faktörler; konağın yaşı, bağışıklık sisteminin durumu, enfeksiyonun yerleşim yeri, anneden geçen antikörlerin varlığı veya daha önceden enfeksiyonla karşılaşılması ve enfektif dozun miktarıdır (39).

İnsanlarda *Cryptosporidium* enfeksiyonunun kuluçka süresi 2-14 gün arasında değişmektedir. Bağışıklık sistemi sağlam bireylerde diyare genellikle 3-12 gün arasında kendiliğinden geçerken, özellikle AIDS, kızamık gibi viral hastalıklarda, lösemi, gamaglobulinemiler, insüline bağımlı diabet, böbrek yetmezliği, karaciğer transplantasyonu ve kanser tedavisi gören hastalarda semptomlar şiddetlidir. Bu hastalarda ishal 2 aydan uzun sürmekte, tüm enfeksiyon süresince dışkı ile ookist atılımı, şiddetli dehidratasyon, kilo kaybı ve malnutrisyon görülmektedir (23, 26). Bağışık direncin aşırı düştüğü durumlarda sıvı kaybının bir erişkinde günde 10 litreye (8), 14 aylık bir çocukta günde 5 litreye kadar yükselebildiği bildirilmiştir (46).

2.1.7. İmmunite

Cryptosporidium enfeksiyonuna karşı konağın direnci ve immunité; epitelial ve subepitelial hücreler tarafından düzenlenen doğuştan ve edinilmiş immün yanıtta oluşmaktadır (38).

2.1.7.1. Hücresel İmmunite

Cryptosporidiosisün önlenmesinde ve/veya iyileşmesinde sitotoksik T hücreleri (CD₄ T lenfositleri) ve gamma interferonun (IFN- γ) önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (42).

Cryptosporidiosisün kontrolünde önemli rolü olan CD₄ sayısı, HIV ile enfekte hastalardan akut sınırlı enfeksiyona sahip olanlarda CD₄ sayısı > 180 hücre/mm³, kronik enfeksiyonda < 100 hücre/mm³, fulminant enfeksiyonlularda ise < 50 hücre/mm³ olduğu bildirilmiştir (47).

Enfeksiyona karşı oluşan ilk immün yanıt, T-lenfosit artışı sonucu ortaya çıkan bağırsak enflamasyonudur. Ayrıca interlökin-12 (IL-12), interlökin-8, IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinlerin artışı da görülmektedir (48). IFN- γ 'nın bağırsaklardan salınımı, ookist atılımının kontrolünde rol oynamaktadır. IFN- γ tedavisinin bağırsak epitel hücrelerini aktive ettiği ve enfeksiyonda kısmi iyileşme sağladığı bildirilmektedir. IL-12'nin IFN- γ üretimini uyaran önemli bir faktör olduğu ve inaktivasyonunun kronik enfeksiyona neden olduğu bildirilmektedir (41).

2.1.7.2. Humoral İmmunite

Cryptosporidium ile enfekte insanlarda parazite karşı antikorlar üretilmektedir. *Cryptosporidium* re-enfeksiyonundan korunmada spesifik antikorların başlıca rol oynadığı düşünülmektedir (39). Hastalığı geçirmiş, iyileşmiş immünitesi sağlam kişiler re-enfeksiyona dirençlidir. Enfeksiyonda önce immunglobin M (IgM), sonra immunglobin G (IgG) antikor yanıtı oluşmakta, IgG düzeyi birkaç ay içinde azalarak yıllarca pozitif kalabilmektedir. Ayrıca immunglobin A (IgA) ve immunglobin E (IgE) antikorları da artış göstermektedir (48).

Sonuç olarak; akut ve kronik cryptosporidiosis kontrolünde özellikle CD₄ lenfositlere bağımlı sistemik hücresel bağışıklığın önemli olduğu (49) humoral bağışık yanıtın ise cryptosporidiosisden korunmada rol oynadığı bildirilmektedir (50).

2.1.8. Epidemiyoloji

2.1.8.1. Risk faktörleri

Düşük sayıda ookistin enfeksiyonu oluşturma yeteneğine sahip olması, ookistlerin uzun süre dış ortamda canlı kalması ve birçok dezenfektana karşı dirençli olması, konaktan atıldığında ookistlerin enfektif özellikte olması, enfektif olan ookistlerle kişiden kişiye bulaşın söz konusu olabilmesi, bazı genotipler için hayvanların rezervuar olması, veteriner hekimlik ve laboratuvar çalışmaları gibi mesleki faktörler, 0-4 yaş arası ve 60 yaş üstü olma gibi yaş faktörü ve son olarak konağın bağışıklık sisteminin baskılanmış olması cryptosporidiosis epidemiyolojisini belirleyen faktörlerdir. Ayrıca, homoseksüel ilişkinin hastalığın bulaşmasında önemli bir yeri olduğu bildirilmektedir (47, 51, 52).

2.1.8.2. Bulaş Kaynakları ve Bulaşma Yolları

Cryptosporidiosisde bulaş kaynakları arasında; enfekte hayvan ve insan dışkısı, enfekte insan ve hayvan dışkısıyla kontamine olmuş içme ve kullanma suları, sebze ve meyveler ve çiğ süt sayılabilir. Hastalık bu kaynaklardan ağız yoluyla bulaşır (53, 54).

2.1.8.3. Mevsimsel Dağılım

Cryptosporidium enfeksiyonunun mevsimsel özellik gösterebildiği, sıcak ve nemli aylarda daha yaygın görüldüğü bildirilmiştir (41). Şiddetli yağışların içme suyu olarak kullanılan yüzey sularını kontamine etmesi bulaşta önemli rol oynamaktadır (55).

Türkiye’de ise enfeksiyonun bahar aylarında yükseldiği, Eylül ve Ekim aylarında pik yaptığı belirtilmektedir (56).

2.1.8.4. Ülkemizdeki Yayılışı

Türkiye’de yapılan çalışmalarda ise, insanlarda *Cryptosporidiosis* prevalansının %0 - 35,5 olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde kemoterapi gören ishallerde %17 (57); hemodiyaliz, böbrek transplantasyonu ve çocuk onkoloji olgularının oluşturduğu üç hasta grubunda ortalama %25,9 (58-60), kronik böbrek yetmezliklilerde %19.1 oranında (61) *cryptosporidiosis* saptanmıştır.

İstanbul’da yapılan bir araştırmada, 5 yaşın altındaki diyareli 73 çocuğun yalnızca birinde (62); Ankara’da ise 50 çocuğun 7’sinde (%3,5) (63); *Cryptosporidium* oökitleri saptanırken, Antalya’da diyareli çocuklarda %0,97 (64); Eskişehir’de ise diyareli çocuklarda %3,6 oranında *Cryptosporidium* oökitleri saptanmıştır (56).

Bağışıklık sistemi baskılanmış 18 olgunun 11’inde (%38,8) *Cryptosporidium* oökitlerinin saptandığı bir araştırmada, bu grup içerisinde yer alan 7 AIDS olgusunun tamamı *cryptosporidiosis* tanısı almıştır (65).

2.1.8.5. Dünyadaki Yayılışı

Cryptosporidium enfeksiyonları gelişmekte olan ülkelerde daha sık olmak üzere, Antartika dışında, tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir.

Cryptosporidium oökitlerinin laboratuvar tanısının gelişmesi, halk sağlığı çalışanlarının bu hastalığa karşı daha bilinçli olması ve hastalığın bildirimini düzenli şekilde yapılması nedeniyle 1989-1994 yılları arasında *cryptosporidiosis* olgularının sayısında artış görülmüştür. 1996 yılından sonra AIDS hastalığı için alınan koruyucu önlemlerdeki artış nedeniyle olguların sayısında azalma görülmüştür (55).

Asya, Afrika, Latin Amerika gibi gelişmekte olan bölgelerde yapılan 43 çalışma ve Avrupa, Kuzey Amerika, Avustralya gibi endüstrileşmiş ülkelerde yapılan 35 çalışma sonucunda ishalleri, bağışıklık sistemi sağlam 130.000 hasta değerlendirilmiş ve gelişmekte olan ülkelerde %6.1, gelişmiş ülkelerde ise %2.1 oranında *Cryptosporidium* enfeksiyonu bildirilmiştir. Gelişmekte olan ülkelerde yapılan 9, gelişmiş ülkelerde yapılan 13 çalışma sonucu toplam 1.500 ishal yakınması olan HIV pozitif hastada *Cryptosporidium* enfeksiyonu oranının gelişmekte olan ülkelerde %24, gelişmiş ülkelerde ise %14 olduğu bildirilmiştir (51).

Diyare başta olmak üzere semptomatik hastalar araştırıldığında; İngiltere’de %5,0 (66), Brezilya’da %8,0 (67), Finlandiya’da %9,1 (68), Hindistan’da %13,1 (69), Gana’da %12,9 (70), Bangladeş’te farklı iki çalışmada %4,3 (71) ve %3,0 (72), Kosta Rika’da %4,3 (73), Nepal’de diyareli turistlerde %5,0 (74), Zaire’de %30,0 (75) oranında cryptosporidiosis saptandığı bildirilmiştir. Ayrıca ABD’de yapılan araştırmalar sonucu AIDS hastalarının %3,6’sına, çocuk grubu AIDS’lilerin %5,1’ine cryptosporidiosis tanısı konduğu bildirilmiştir (76).

Portekiz’de AIDS hastalarında sırasıyla *C. parvum*, *C. hominis*, *C. felis* ve *C. meleagridis* türleri saptanmıştır. Salgınlar değerlendirildiğinde *C. hominis*’in seyahat etmekle, *C. parvum*’un ise çiftlik hayvanlarına temasla ilişkili olduğu düşünülmüştür (52).

Cryptosporidiosis’e bağlı salgınların İngiltere’de Ayrshire, Sheffield ve Thanet adasında, ABD’de New Mexico, Oregon ve Wisconsin’de içme suyu ile yine ABD’de Los Angeles ile İngiltere’de Doncaster’da ise yüzme havuzları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. İngilteredeki salgınlar ile ilgili yapılan bir derlemede, 1992-2003 tarihleri arasında su kaynaklı 89 salgının %69’una *Cryptosporidium*’un neden olduğu bildirilmiş ve toplam 62 cryptosporidiosis salgınının 21’inde belediye suyundan, 6’sında özel ambalajlı sulardan ve 32’sinde ise yüzme havuzundan kaynaklandığı saptanmıştır (77).

Günümüzde güvenli olmayan içme sularının kitlesel yok edici etkisinin anlaşılmasıyla *C. parvum* CDC tarafından biyoterörizm ajanları listesine alınmıştır (78).

2.1.9. Tanı

Etkenin ilk tanımlandığı zamanlarda cryptosporidiosis tanısı bağırsak biyopsilerinde *C. parvum*’un çeşitli evrelerinin gösterilmesi ile konmuş, parazitlerin hücre içi-sitoplazma dışı olarak yerleştiği ortaya çıkmıştır. Ancak dışkı, balgam ve safra örneklerinde *C. parvum* ookistlerini saptamaya yönelik birçok yöntemin geliştirilmesinden sonra invaziv, pahalı ve uzun sürede sonuç alınan biyopsi yöntemleri zamanla terk edilmiştir (3).

Cryptosporidium enfeksiyonlarına tanı koymak amacı ile dışkı, balgam ve safra örneklerinde *Cryptosporidium* ookistlerini ortaya çıkaran çok sayıda yöntem geliştirilmiştir (79-81).

Tanı amacı ile materyaller taze olarak incelenebildiği gibi, %10 formol veya sodyum asetat-asetik asit-formol (SAF) içinde tespit edildikten sonra da incelenebilmektedir. Canlı parazitin laboratuvar çalışanlarını enfekte etme riskinin bulunması nedeniyle fikse edilmiş örneğin asit-fast boya yöntemleri ile incelenmesi daha uygundur.

Ookistler canlı tutulmak amacı ile %2-3'lük potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) solüsyonunda saklanabilmektedir (3). Dışkı ile atılan ookist sayısı değişkenlik gösterebilmektedir (82). Bu nedenle *Cryptosporidium* araştırılırken, farklı günlerde en az üç dışkı örneğinin incelenmesi önerilmiştir (83).

Parazitoloji laboratuvarına gelen tüm dışkılarda *Cryptosporidium* aranması genelde önerilmemektedir, ancak bazı araştırmacılar tüm diyareli hastalarda, bazıları tüm bağışıklığı baskılanmış hastalarda, bazıları ise yalnızca semptomatik olup bağışıklığı baskılanmış ve diğer risk gruplarındaki hastalarda *Cryptosporidium*'a yönelik araştırmaların yapılmasını önermektedir (15).

Ookistlerin çoğaltılması amacı ile çeşitli yüzdürme ve çöktürme yöntemleri kullanılmaktadır. Bu çoğaltırma yöntemlerinin en önemli avantajı direkt yaymadan hazırlanan kalıcı boyalı preparatlarda gözden kaçabilecek seyrek olarak bulunan ookistleri ortaya çıkarmasıdır (84).

Etkenin klinik örnekler ve su kaynaklarında saptanabilmesi için yüzdürmede Sheather'in şeker solüsyonu, çinko sülfat (özgül ağırlığı 1,18-1,20) veya doymuş tuzlu su (özgül ağırlığı 1,27), çöktürmede ise formol-eter veya formol-etil asetat kullanılmaktadır (3).

Bazı araştırmacılar bu yöntemler arasında önemli bir fark bulamazken, bazıları formol-eter çöktürme yöntemini daha yararlı bulmuşlar (82), bazıları ise araştırmalarında Sheather'in yüzdürme yöntemini tercih etmişlerdir (85). Bir araştırmada, ticari adı FPC olan tek kullanımlık iki kısımdan oluşan özel tüp sistemi ile santrifüj yöntemini daha etkili ve güvenli bulunmuştur (86). Çöktürme yöntemi uygulanırken, ookistlerin küçüklüğü göz önüne alınarak en az 500 X g'de ve en az 10 dakika santrifüj uygulanması önerilmektedir.

Parazitoloji laboratuvarlarında enfeksiyonun tanısında en çok kullanılan boyama yöntemleri asit-fast ve floresan boyama yöntemleri olarak bildirilmektedir (15).

Asit-fast boyalar sıcak veya soğuk yöntemlerle uygulanabilmekte; ayrıca dimetil sülfoksitle birlikte hazırlanan, hızlı sonuç veren bir modifikasyonundan da yararlanılmaktadır (80). Ookistleri mantarlardan ayırt etmek amacıyla en sık kullanılan, güvenilir, spesifik ve tanısai değeri yüksek olan yöntem asit-fast boyama yöntemidir (87). Bu yöntem ile ookistler pembe veya kırmızı renkte, mayalar ve dışkı artıkları ise yeşil veya mavi renkte boyanmaktadır. İrritan madde içermesi nedeniyle havalandırma sisteminin yeterli olmadığı laboratuvarlarda modifiye asit-fast sıcak boyama yerine Kinyoun's asit-fast yöntemi tavsiye edilmektedir (41). Cryptosporidiosis tanısında en sık olarak kullanılan floresan boyalar ise auramine, auramine-rhodamine ve acridine orange boyalarıdır.

Doku kesitlerinde *Cryptosporidium*'a özgül monoklonal antikorların kullanımı ve immun floresan yöntemlerle *Cryptosporidium* ookistlerinin saptanabildiği, ancak hücre içindeki parazitlerin monoklonal antikorlarla etkileşmediği (88), bu parazite özgül monoklonal veya poliklonal antikorların kullanıldığı floresan tekniği ile dışkıda ookist aranmasının ise, duyarlı ve özgül sonuçlar verdiği bildirilmiştir (89, 90).

Dışkıda ELISA, direkt immun floresan yöntemi, immunokromatografik yöntemler aracılığı ile *Cryptosporidium* antijenlerini arayan yöntemler de geliştirilmiştir (91, 92). Cryptosporidiosis tanısı için Modifiye asit-fast (MAF) yöntemi ile monoklonal antikorlu immunfloresan antikor yöntemi (IFA) karşılaştırıldığında, MAF yöntemine göre IFA yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %97 bulunmuş; IFA, MAF yöntemine oranla daha az zaman alan, ancak daha pahalı bir yöntem olarak nitelendirilmiştir (93). *Cryptosporidium* enfeksiyonlarına tanı koymak amacı ile 296 dışkı örneğinin IFA ve antijen arayan bir enzim immün assay (EIA) ile incelendiği bir araştırmada, EIA'nın duyarlılığı %93, özgüllüğü ise %99 olarak hesaplanmıştır (91). Karşılaştırmalı bir araştırmada ticari olarak piyasada bulunan dışkıda antijen arayan EIA kitlerinin duyarlılıkları %98-99, özgüllükleri ise %100 olarak bildirilmiştir (92). Cryptosporidiosis tanısında serumda antikor arayan yöntemlerin kullanımında dikkatli olunması önerilmektedir. Enfekte fare ileum kesitlerinin antijen olarak kullanıldığı IFA yöntemi ile bağışıklığı normal 12 bireyde diğer yöntemlerle önceden kanıtlanmış enfeksiyonun iyileşmesinden 60-90 gün sonra serokonversiyon gösterilmiştir. Aynı

yöntemle AIDS'li ve uzun süreden beri cryptosporidiosisi olan beş hastada da özgül antikor saptanırken, yine uzun süredir cryptosporidiosisi olan ve hipogamaglobulinemili iki hastada antikorların varlığı gösterilememiştir (94).

Sonike edilmiş ookist antijeninin kullanıldığı ELISA ile özgül anti-*Cryptosporidium* IgG ve IgM antikorları araştırılmış, yöntemin duyarlılığının ve özgüllüğünün %95 olarak saptandığı bildirilmiştir (95). Yine ELISA ile çocuklarda enfeksiyon sonrası serumda *Cryptosporidium*'a karşı belirgin olarak yükselmiş IgG, IgA, IgM titreleri saptanmıştır (96). Tayland'daki bir öksüzler evinde cryptosporidiosisli 16 çocuğun 15'inin ve aktif *Cryptosporidium* enfeksiyonu saptanamayan 19 çocuğun 17'sinin serumunda ELISA ile *Cryptosporidium*'a özgül antikorlar saptanırken, aynı yöntemle ABD'nin Denver şehrindeki bir bakım evinde 18 çocuğun yalnızca birinin serumunda antikor bulunabilmiştir (97). ELISA ile Peru ve Venezüella'da sırası ile %19,8 ve %15,5 oranlarında bir arada anti- *Cryptosporidium* IgM ve IgG yüksekliği saptanırken, her iki ülkede bulunan IgG pozitiflik oranı %64 olarak bildirilmiştir (98).

Son yıllarda cryptosporidiosis tanısı için yapılan moleküler çalışmalar *Cryptosporidium*'un taksonomisine ve türlerinin ayırımına önemli katkılar sağlamıştır (99). PCR, klinik örnekler ve çevresel kaynaklardan *Cryptosporidium* türlerinin saptanması amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (30). Bu yöntem parazit DNA'sının saptanması temeline dayanmaktadır. Yöntemin duyarlılığı dışkıının mikroskopik olarak değerlendirilmesine oranla oldukça yüksektir (41). Donmuş, kötü koşullarda saklanmış veya içerisinde çok az etken bulunan örnekler için en uygun tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir (100). Tür ayırımı yapılmasına da olanak sağladığı için özellikle salgınlarda etkili olan türün belirlenebilmesi mümkün olabilmektedir (30). Hızlı ve duyarlılığı yüksek bir yöntem olmasına karşın bazı kısıtlılıkları da mevcuttur. Özellikle laboratuvar kaynaklı kontaminasyonlara bağlı yalancı pozitif sonuçlar verebilmektedir. DNA izolasyonu için uygun bir ekstraksiyon yönteminin uygulanması gerekmektedir. Yaygın olarak kullanılan fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ve dışkıda yer alan safra tuzları, bilirubin, kompleks polisakkaritler gibi komponentler PCR yöntemini inhibe edebilmektedir. Bu nedenle inhibitör özelliği gösteren bu yapıların ortadan kaldırılması gerekmektedir. Son yıllarda gerek PCR teknolojilerinin gelişmesi, gerekse klinik örneklerdeki tüm inhibitörleri ortadan kaldıran DNA izolasyon kitlerinin üretilmesi, PCR'ın bu kısıtlayıcı faktörlerinin ortadan kaldırılmasını sağlamıştır (101). Günümüzde

izole edilen etkenin türü, canlılığı ve enfektivitesinin saptanması için geliştirilmiş farklı PCR yöntemleri mevcuttur. Bunlar arasında en sık kullanılan PCR yöntemi ile üretilen uzun bir genom parçasını uygun enzimlerle parçaladıktan sonra, ayrılan kısımların jelde yürütülerek hangi gen bölgesinin daha uzun olduğunu belirleyip etkenin genetik analizinin yapılabilmesini sağlayan PCR-RFLP yöntemidir (102). Ayrıca PCR ile uzun bir baz bölgesinin üretilip takiben o bölge içindeki küçük belli alanlara yönelik primerler eklenerek tekrar PCR ile o kısımların üretildiği, klasik PCR'a göre 4-5 kat daha etkili olan nested-PCR (103), üretilen hedef DNA miktarını, dolayısıyla ortamdaki etken miktarını belirleyebilen özel işaretli hibridizasyon problemleri kullanılarak yapılan Real-Time PCR (104), özel TaqMan problemlerinin kullanıldığı ve Real-Time PCR'a benzeyen TaqMan PCR (101) ve özellikle izolatların ayırımında kullanılan arbitrary primed PCR (AP-PCR) gibi moleküler yöntemler de kullanılmaktadır (105).

2.1.10. Tedavi

Bağışıklığı sağlam ve geçici olarak baskılanmış bireylerde enfeksiyon genellikle hafif seyretmekte ve tedavi uygulanmasına gerek kalmadan 1-2 hafta içinde kendiliğinden iyileşmektedir. Ancak bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve özellikle AIDS'te ağır seyredebilmektedir (37). Cryptosporidiosis tedavisi, destek tedavisi, anti-cryptosporidial tedavi ve anti-retroviral tedavi olmak üzere üç aşamalıdır.

Destek tedavisini oluşturan parenteral beslenme ve rehidrasyon, tedavinin en önemli basamağını teşkil etmektedir. Cryptosporidiosisli hastalarda diyarenin azaltılmasıyla hastaların yaşam kalitelerinin artacağı ve ayrıca besinlerin bağırsakta daha uzun süre kalmasıyla emilimin artabileceği bildirilmiştir (44). Bu yüzden destek tedavisinde antimotiliter ajanlar da kullanılmaktadır.

Bugüne kadar cryptosporidiosis tedavisinde birçok ilaç kullanılmasına rağmen tam anlamıyla etkin bir anticryptosporidial ajan bulunamamıştır. Bunun nedeni olarak ise parazitin intrasellüler-ekstrasitoplazmik yerleşim göstermesine bağlı olarak tedavide kullanılan bu ilaçların parazite ulaşamadığı düşünülmektedir.

Spiramisin, azitromisin, roksitromisin ve klaritromisin gibi makrolid grubu antibiyotikler cryptosporidiosis tedavisinde kullanılmaktadır. Geniş spektrumlu antibakteriyel etkiye sahip olan spiramisin 1980'li yıllarda cryptosporidiosis tedavisinde başlangıçta umut vermiş, ancak sonradan kontrollü çalışmalarda önemli bir etki saptanamamıştır.

Son zamanlarda cryptosporidiosisli bağıışıklığı baskılanmış olgularda en çok kullanılan ilaçlardan biri azitromisindir (37). Uzun süreli düşük doz azitromisinin AIDS ve kronik cryptosporidiosisli olgularda önemli klinik ve parazitolojik düzelme sağladığı bildirilmiştir (106). Azitromisin tek başına kullanılmasının yanında bazı olgularda paromomisin ile birlikte kullanılmış ve bu kombinasyonun ookist atılımını önemli ölçüde, klinik belirtileri kısmen azalttığı görülmüştür (107). Bunun yanında roksitromisin ile yapılan iki çalışmada dört hafta boyunca günde iki kez 300 mg olarak kullanılmış ve cryptosporidiosisli AIDS olgularında yüksek oranda başarılı olduğu bildirilmiştir (108). Klaritromisin, yapılan çalışmalarda profilaktik ilaç olarak kullanılmış ve birbirinden farklı sonuçlar bildirilmiştir (109). Makrolid grubu antibiyotiklerin dışında paromomisin, diklazuril, letrazuril gibi ilaçlar da cryptosporidiosis tedavisinde kullanılmıştır.

Protozoa, helmint ve bakterilere karşı etkili olan, geniş spektrumlu thiazolid grubu nitazoksanid (NTZ) cryptosporidiosis tedavisinde denenmiş, üç gün boyunca günde iki kez 100 mg nitazoksanid tedavisi ile HIV negatif çocukların %56'sında klinik ve parazitolojik düzelme sağlanırken, HIV pozitif çocuklarda bu ilaç etkisiz kalmıştır (110).

2.1.11. Korunma

Cryptosporidium ookistleri canlılıklarını uzun süre dış ortamlarda devam ettirirler. Bu nedenle *Cryptosporidium* enfeksiyonlarını kontrol altına almak için çevreden ookistlerin elimine edilmesi gerekmektedir. Ookistler çevre koşullarına ve dezenfeksiyona oldukça dirençlidir. Ookistleri -20°C'de 72 saat dondurmak, 45° - 55°C'de 20 dakika ısıtmak enfektivitelerini azaltır veya yok eder (26).

Dezenfeksiyon işleminde süre, çözeltinin konsantrasyonu ve içeriği önemlidir. Ookistlerin dezenfeksiyonunda en çok önerilen, sodyum hipokloridin %0.08'lik çözeltisidir. Amonyanın %5'lik çözeltisinde ve +4°C'de 18 saatlik bir uygulama ile ookistlerin infektivitesi tamamen yok olur (111). *Cryptosporidium*'a yakalanmaktan kaçınmak için dikkat edilmesi gereken hususlar şunlardır (112).

- İçme sularına kanalizasyon sularının karışması engellenmelidir.
- Çiftlik hayvanları, içme suyu kaynaklarından uzak tutulmalıdır.
- Suların dezenfeksiyonu yapılırken dezenfektanların kombinasyonları şeklinde kullanılmalıdır.
- Tuvaletten sonra, çocuk bezi değiştirdikten sonra veya dışkı materyali ile her ne şekilde olursa olsun eller kirlendiğinde ellerin çok iyi yıkanması gerekir.
- Ağız ve ellerin dışkıyla temasını sağlayacak temaslardan kaçınılmalıdır.
- Çiftlik hayvanlarıyla çalışanların eldiven kullanması veya iş bitince ellerini iyice yıkaması gerekmektedir.
- Temizliğinden kesin olarak emin olunmayan, evsel atıkların atıldığı nehir ve göllerde yüzülmemelidir.
- Tüm sebze ve meyveler yenmeden önce iyice yıkanmalıdır.
- Pastörize edilmemiş içecekler ve yiyecekler tüketilmemelidir.
- Gıdaların pastörizasyonunda ısı ve zaman parametrelerine dikkat edilmelidir.
- Seyahat sırasında işlenmemiş ya da tam olarak filtre edilmemiş yüzey suları içilmemelidir.
- Damıtılmamış veya pastörize edilmemiş şişe suları kullanılmamalıdır. Şişe sularının sağlık kuruluşlarınca onaylanmış olanları tercih edilmelidir.
- İçme sularını arıtmak için polikarbon filtre kullanılmalıdır. Filtrenin tıkanmaması için belli periyotlarla bakımı yaptırılmalıdır.
- Kaynak sularının dezenfektanı için UV ve gamma ışını uygulanmalıdır.
- Çeşme suyunda dezenfeksiyon işleminde klor yerine ondan daha etkili ozon gibi dezenfektanlar kullanılmalıdır.
- Gıda sektöründe çalışanlar düzenli sağlık kontrolünden geçmelidir.
- Hastane, kreş, yurt gibi bulaşma riskinin olduğu yerlerde gerekli hijyen kurallarına mutlaka uyulmalıdır.

2.2 CYCLOSPORA CAYETANENSIS

2.2.1. Tarihçe

Cyclospora cayetanensis olarak bilinen intestinal protozoonun kısa bir tarihçesi vardır. İlk vakalar, Papua Yeni Gine’de Ashford (113) tarafından 1977, 1978, 1979 yıllarında rapor edilmiştir. Bu üç vakadan sadece ikisinde hastalık semptomları olduğu ve dışkılarında çok az sayıda parazitin bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca organizmanın ookistlerinin dışkı ile atıldıklarında olgunlaşmamış olduğu, tür tanımı için sporlanmanın gerekli olması nedeniyle bir vakada 8 gün diğerinde 11 gün geçmesi gerektiğini bildirmektedir. Sporlanmanın çok gecikmesi nedeniyle Ashford dışkı örneklerini atmıştır. Dışkı örnekleri incelenirken görülen sporsuz ookistlerin kolaylıkla fungal yapılar olarak değerlendirilebileceği, bu yüzden de bu organizmaların gözden kaçabileceği belirtilmiştir. Ashford her ne kadar organizmanın *C. parvum* ve *Isospora belli* gibi coccidian bir parazit olduğunu doğru tahmin etse de, cinsinden emin olamamış çünkü sporlanmış ookistin içindeki iki sporokistin kaç sporozoit taşıdığını tesbit edememiştir. Bu organizmanın *Isospora*’nın bir türü olduğuna dair tahmini yanlış çıkmıştır. Ashford’un 1979’da ki bu makalesi on yıl kadar gözden kaçmış ve bu süre içerisinde parazitin sınıflandırılması yapılamamıştır.

1980’li yıllarda organizma Ashford’un makalesinden habersiz kişiler tarafından dışkı örneklerinde yeniden keşfedilmiştir (114, 115). Birkaç istisna dışında 1990’lı yıllara kadar da organizma hakkında daha fazla bilgi yayınlanmamıştır. 1986’da Soave ve ark. (114) tarafından yayınlanan bir makalede; Haiti ve Meksika’ya yolculuk edenlerde 4 enfeksiyon vakasından kısaca bahsedilmiş ve bu kişilerde bulunan organizmaların coccidiaları andıran fakat sporlanmayan aynı zamanda fungal yapılara da benzeyen organizmalar olduğu bildirilmiştir. Naranjo ve ark. (115) Peru’da 1985, 1987 ve 1988 yıllarında özellikle *C. parvum* üzerine odaklandıkları çalışmaları sırasında toplam 3 dışkı örneğinde *C. muris*’e benzettikleri ve tanımlanmamış bir kamçılı kisti olabileceğini düşündükleri, *Cryptosporidium*’un büyük türlerine benzeyen organizmalar gördüklerini 1989 yılında rapor etmişlerdir. Ashford tarafından bulunan organizma, 1990’lı yılların başında, hakkında yayınlanan makale sayısı arttıkça belirsizlikten kurtulmaya başlamıştır. Seyahat edenler ve AIDS’li birçok hastada 1980’li yılların sonlarından başlamak üzere çok sayıda enfeksiyon vakası teşhis eden Long ve ark. (116, 117), içinde sporokistler görüldüğü için organizmayı bir coccidian ookiste ve elektron

mikroskopuyla fotosentez yapan organelleri andırdığı için cyanobakterilere benzetmişlerdir. 1991 yılında yaptıkları yayınlarında organizmayı cyanobacterium like ya da coccidian like body (CLB) olarak isimlendirmişlerdir ve organizma yıllarca bu isimle adlandırılmıştır (117).

Ortega ve ark. (118); 1993 yılında Peru'da yaptıkları çalışmada sporlanmış bir ookistin içinde herbiri iki sporozoit taşıyan iki sporokist olduğunu göstermişlerdir. Sporlanmış bu ookistlerin şekilleri *Cyclospora* cinsindeki türlere benzetilmiştir. Bu cinsin üyeleri 1881 yılında Schneider tarafından isimlendirilse de ilk olarak 1870 yılında Eimer tarafından tarif edilmiştir 1990'lı yıllara kadar da sadece hayvanları enfekte eden türleri kapsamıştır. 1994 yılında Ortega ve ark. (119) bu organizmayı *Cyclospora cayetanensis* olarak isimlendirmişlerdir. Türün adı olan cayetanensis'i ise çalışmalarını yaptıkları Peru üniversitesinden esinlenerek koymuşlardır. (Universidad Peruana Cayetano Heredia). 1995 yılında Nepal'de yapılan plasebo kontrollü çift kör çalışmada Trimethoprim-sülfametoksazol'un cyclosporiasis'e etkili olduğu gösterilmiştir (120). 1996 yılında ABD ve Kanada'da farklı bölgelerde ortaya çıkan ve Guatemala ahududusuyla ilişkili olan salgın ile *Cyclospora*'nın yiyeceklerle geçebildiği gösterilmiştir (121). Ayrıca 1996 yılında küçük ribozomal RNA genlerinin subünitlerinin filogenetik analizi *C. cayetanensis*'in coccidianın *Eimeria* grubu ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (122). Türkiye'de ise 90'lı yılların sonuna kadar insanlarda cyclosporiasis ile ilgili veri yokken, 1998 yılından sonra sporadik olgular halinde kayıtlara geçmiştir.

2.2.2. Taksonomi

Enfeksiyon etkeni, coccidian bir protozoon olan *C. cayetanensis*'dir. Taksonomik olarak *Cryptosporidium*, *Isospora*, *Toxoplasma* ve *Sarcocystis* gibi Apicomplexa şubesinde yer alan *Cyclospora*, Sporozoasida sınıfı, Coccidiasina alt sınıfı, Eimeriorina alttakımı ve Eimeriidae ailesi içinde yer almaktadır (119).

2.2.3. Morfoloji

Cyclospora sporozoitleri kutup halkası, konoid, roptri birleşiminden oluşan apikal komplekse ve mikronem içeren coccidian sporozoitlerin tipik yapılarına sahiptir.

Cyclospora ookistleri ortalama 8-10 µm çapında ve küresel yapıdadır; 113 nm kalınlığında çift katlı duvarı bulunmaktadır. Her ookist ortalama 4x6 µm büyüklüğünde sferik-ovoid iki sporokist içermektedir. Bu sporokistler üzerinde stieda ve substieda cisimciği olarak adlandırılan yapılar tanımlanmıştır (119).

Cyclospora, *Cryptosporidium* ve *Isospora* türleri gibi aside dirençli boyalar ile boyanabilirken, yapısındaki sporozoit ve sporokistlerin sayısı, büyüklüğü ve şekli ile diğer coccidian parazitlerden morfolojik olarak farklıdır (Tablo 2.1).

Cyclospora'nın her ookistinde iki sporokist ve her sporokistinde iki sporozoit bulunmaktadır. Dışkı ile atıldıklarında olgunlaşmamış olan *C. cayetanensis* ookistlerinin laboratuvar koşullarında 22-32 °C'de 7 ile 13 gün içerisinde sporlanmalarını tamamladıkları bildirilmiştir.

Parazitler konaktan dışkıyla ookist formunda dışarı atılmaktadır. Taze dışkı örneklerinde görülen ookistler genellikle sporlanmamış, nadiren, kısmen sporlanmış olduklarından olgun ookist yapısı saptanamamaktadır. Işık mikroskopisi ile taze dışkının direkt incelenmesinde organizma miktarı, her sahada sayılamayacak kadar çok olabildiği gibi, seyrek miktarda da olabilmektedir. Parazitin ookistleri ultraviyole (UV) mikroskop ile incelendiğinde otofluoresans göstermektedirler. Sporokist içinde bulunan sporozoitlerde, bir zar ile sınırlı bir çekirdek ve mikronemler bulunmaktadır (123).

C. cayetanensis ookistlerini kodlayan küçük subunit rRNA saflaştırılmış, amplifiye edilmiş ve dizini yapılmıştır. Relman ve arkadaşları (122) tarafından yapılan filogenetik çalışmalar *Cyclospora*'ların *Eimeria* cinsi parazitlerle yakın ilişkide olduğunu göstermiştir.

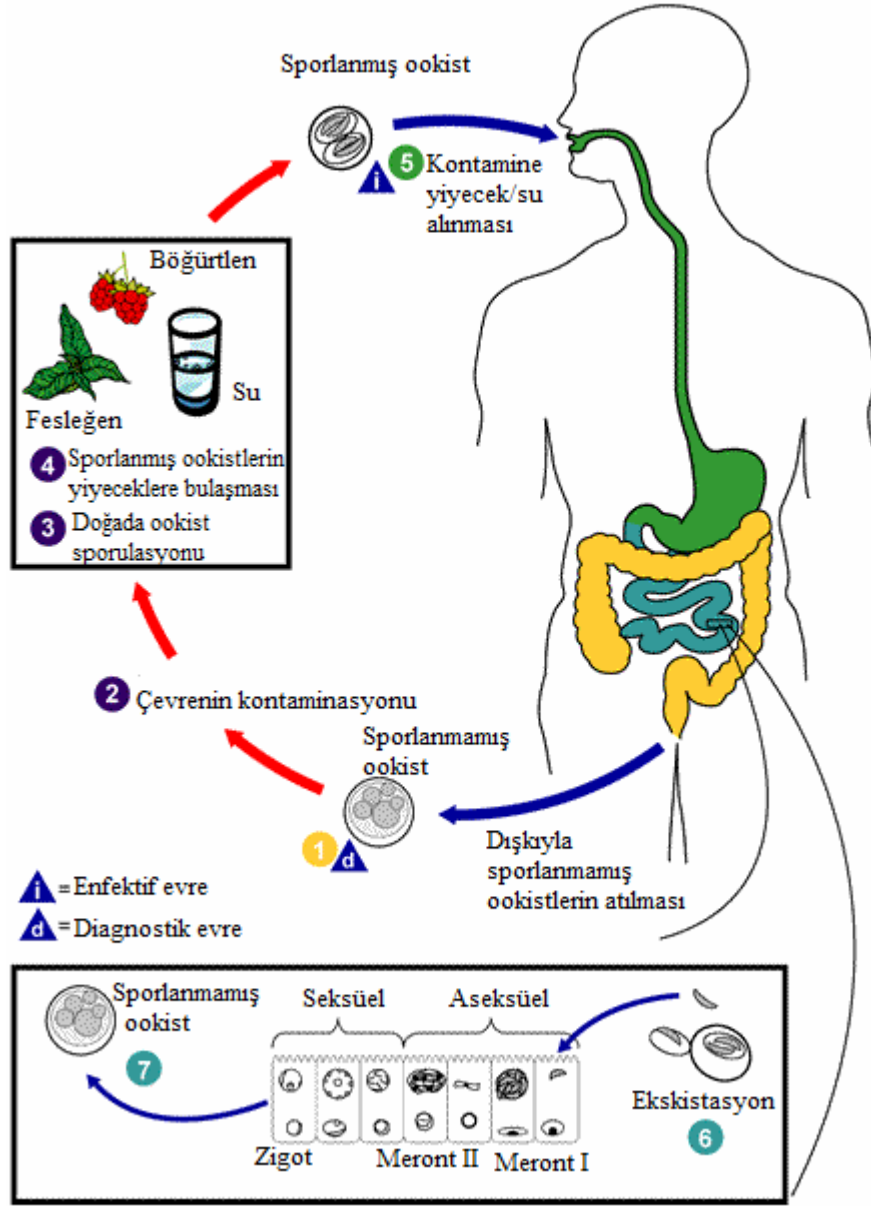
Cyclospora'nın 18S rDNA'sı amplifiye edilerek polimeraz zincir reaksiyonu geliştirilmiştir ve insan dışkılarında *Cyclospora* ookistlerinin tanınmasında faydalı olabileceği düşünülmüştür (124).

Tablo 2.1. *Cyclospora*, *Cryptosporidium* ve *Isospora*'nın morfolojik olarak karşılaştırılması (119)

	<i>Cyclospora</i>	<i>Isospora</i>	<i>Cryptosporidium</i>
Büyüklik	8-10	10-19x20-33	4-6
Şekli	Sferik-ovoid	Elipsoid (Oval)	Sferik
Ookist	İki adet oval sporokist, herbirinde 2 sporozoit	İki adet sferik sporokist, herbirinde 4 sporozoit	Sferik, 4 sporozoit
Ookist büyüklüğü (µm)	8-10	20-23	4-5
Taze dışkıda ookistlerin Enfektivitesi	Dış ortamda Sporlanması gerekir	Dış ortamda Sporlanması gerekir	Enfektif
Hücre içi büyüklüğü (µm)	4-16	3-15	2-5
Hücre içi evreleri	Trofozoit, şizont, Merozoit	Trofozoit, şizont, merozoit, gametosit	Trofozoit, şizont, merozoit, gametosit
Enterositlerde hücre içi yerleşimi	Sitoplazma içi	Sitoplazma içi	Hücre içi, sitoplazma dışı
UV ışıktaki görünümü	Mavi	Otofluoresan verir	Otofluoresan değil
Asit fast boyada görünümü	Değişkenlik gösterir	Sporoblastlar koyu Kırmızı	Koyu kırmızı
Fluoresans boyada (Auramine)	Zayıf	Değişken	İyi görünüm, güçlü, parlak sarı disk şeklinde
Cryptosporidium'a karşı monoklonal antikor ile fluoresan	Negatif	Negatif	Pozitif

2.2.4. Yaşam Döngüsü

Cyclospora'nın *Cryptosporidium*'a benzer monoksenik bir yaşam döngüsü vardır. Rezervuar konağı olup olmadığı bilinmemektedir. Aynı konakta hem eşeyli hem de eşeysiz üreme gerçekleşir ama bu evreler hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Ookist; makroçevre koşullarına dirençli, yeni konağa bulaşmayı sağlayan evrim dönemidir. Sporlanma makroçevre sıcaklığına bağlı olarak yaklaşık bir hafta içinde gerçekleşir. İnsan, içinde sporozoitler oluşmuş olgun ookistleri kontamine yiyecek - içeceklerle ağızdan alarak veya bulaşık parmakları ağızına sokarak parazitoza yakalanır. Sporozoitler ince bağırsakta epitel hücrelerini istila ederek, bu hücrelerin lumene bakan yönündeki parazitoforik vaküolde yerleşir, olgunlaşır ve önce eşeysiz sonra da eşeyli olarak çoğalır. Sonuçta tip I ve tip II merontlar oluşur (**Şekil 2.3**). Bunlardan birincisinde 8-12, ikincisinde 4 merozoit oluşur. Sporlanmamış ookistler konak dışısıyla dışarı atılır ve dış ortamda olgunlaşır. Bunların insan tarafından alınmasıyla döngü tekrarlar (36).



Şekil 2.3. *Cyclospora cayetanensis*'in yaşam döngüsü (125)

(1). Taze dışkı ile atılan ookistler enfektif değildir; (2). Dış ortamda 22 °C ile 32 °C sıcaklıkta birkaç gün veya 1 haftada sporlanma evresini tamamlamakta ve ookist içinde 2 sporozoit içeren iki sporokist oluşmaktadır; (3). Yiyecekler ve su enfeksiyonun bulaşmasında rol oynamaktadır; (4). Sporlanmış ookistler kontamine yiyecek ve sular ile, ağız yoluyla alınmaktadır; (5). Gastrointestinal sistemde ookistler ekskiste olarak sporozoitler serbest hale gelmektedir. Serbestleşen sporozoitler ince bağırsak epitel hücrelerine yerleşmektedir; (6). Hücre içerisinde aseksüel çoğalmakta ve seksüel gelişimini tamamlayarak dışkı ile atılan olgun ookistler oluşmaktadır; (7). Yiyeceklerin ve suyun nasıl kontamine olduğu halen tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.2.5. Patogenez

Kontrollü patojenik ön çalışmalarda dışkısında *Cyclospora* ookistleri bulunan ve ishaller hastalardan alınan jejunum biyopsilerinde kript hiperplazisi, villuslarda atrofi ve düzleşme gibi patolojik bulgular tespit edilmiştir.

Cyclospora'nın neden olduğu ishalin enterositlerin fonksiyon bozukluğuna mı, yoksa salgılanan toksinlere mi bağlı olduğu tam olarak bilinmemektedir. Diğer coccidian parazitler de sindirim kanalında kistten çıkarak ince bağırsak epitel hücrelerine girmekte ve hastalık oluşturmaktadır. *Cyclospora* enfeksiyonlarında fekal lökosit ve eritrositlerin bulunmaması, öncelikle bu parazitin ishal oluşturmada invaziv davranmadığı şeklinde açıklanmıştır. Bazı *Cyclospora* enfeksiyonlarında görülen azalmış D-ksiloz absorpsiyonu, bu enfeksiyonun proksimal ince bağırsak ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Yapılan endoskopik çalışmalarda, distal duodenumda hafif veya belirgin düzeyde bir eritemin varlığı ortaya konmuştur. Lamina propria akut yangı ve yüzey epitelde düzensizlik görülmüştür (126). Yapılan bir çalışmada 9 enfekte hastanın 5'inde lamina propiada plazma hücre sayısı artmıştır. İnce bağırsağın histolojik yapısı bozulmakta, duodenal ve jejunal biyopsilerde değişik düzeylerde jejunal villusların düzleşmesi, villus atrofisi, kript hiperplazisi bulguları ve vasküler dilatasyon bulguları görülmektedir (126, 167).

Cyclospora tanısında biyopsi materyalinin rutin hematoksilen ve eosin boyaları ile boyanmasının yeterli olup olmadığı tartışılmakla birlikte, jejunum aspirasyonları ve biyopsi örneklerinde paraziti saptamanın mümkün olduğu bildirilmektedir (128). Elektron mikroskopunda jejunal epitelial hücrelerin sitoplazmasında parazitin farklı gelişme şekillerinin varlığı gösterilebilmiştir (129). Cyclosporiosisin ince bağırsaklarda enfekte bölgelerdeki enflamatuar değişikliklerle bağlantılı olduğu bildirilmiştir (167).

2.2.6. Klinik

Enfeksiyonun klinik tablosu endemik bölgelerde yaşayan bireylerle, bu bölgelere yolculuk yapan veya endemik olmayan bölgede yaşayan bireyler arasında farklılıklar gösterir. Cyclosporiosis asemptomatik, semptomatik tekrarlayan enfeksiyonlar ve enfeksiyon sonrası kronik otoimmün komplikasyonlar şeklinde gözlenebilir. Endemik bölgede yaşayanlarda, özellikle de erişkinlerde asemptomatik enfeksiyonlar daha sık görülmektedir (130).

Cyclospora'nın neden olduğu hastalığın belirtileri, erişkin hastaların %68'inde aniden ve %32'sinde yavaş yavaş meydana gelmekte ve ilk zamanlarda gribal enfeksiyon benzeri bulgular ortaya çıkabilmektedir (131, 132). *Cyclospora* enfeksiyonlarında klinik belirtiler konağın yaşına, bağışıklık sistemine ve enfeksiyon dozuna bağlı olarak değişebilir.

Semptomatik enfeksiyonlarda, kuluçka dönemi ortalama bir hafta (1 ile 11 gün) olarak belirtilmektedir (133). Cyclosporiosis'in, en karakteristik belirtisi; uzamış, sık tekrarlayan, sıklıkla kilo kaybı ile ilişkili günde yaklaşık altı kez sulu ishal olarak bildirilmiştir. Bazı hastalarda ise üst gastrointestinal sistem bulguları ön plandadır (134, 167).

İshal bazen yerini kabızlığa bırakabilmektedir. Hastalarda halsizlik, iştahsızlık, kas ağrıları, abdominal kramplar, hafiften şiddetliye değişebilen bulantı sık görülmektedir. Bazı hastalarda hazımsızlık, daha az sıklıkla eklem ağrıları ve gece terlemeleri bulunmaktadır. Enfeksiyonun ortalama süresi bağışıklığı sağlam kişilerde 7 hafta olarak tahmin edilirken (135), bağışıklığı baskılanmışlarda daha uzun ve şiddetli seyretmekte (131), arada relapslar görülebilmekte ve hastada dehidratasyon ile kilo kaybına sebep olabilmektedir (132).

Elde edilen klinik bulgular diğer coccidian parazit enfeksiyonlarından ayırım için yeterli görülmemektedir. AIDS olgularında *Cyclospora* enfeksiyonunun bağırsak dışı tutulumları daha yaygın olarak görülmektedir. Son zamanlarda cyclosporiosis enfeksiyonunu takiben safra yolları tutulumu (134), akalkuloz kolesistit (136), reaktif artrit sendromu (Reiter sendromu) (126) ve Guillain-Barre Sendromu (137) gibi kronik otoimmün klinik komplikasyonların görüldüğü bildirilmiştir.

2.2.7. İmmunite

Yapılan araştırmalar sonucunda; *Cyclospora* spp. ile enfekte hastaların organizmaya karşı antikor oluşturduğu fakat, oluşan bu antikorların uzun süreli koruyuculuk sağlamadığı, hastalığın durdurulmasında ve yeniden bulaşmasının engellenmesinde etkili olmadığı bildirilmiştir (117).

2.2.8. Epidemiyoloji

Cyclosporiosis her yaşta görülür. Gelişmekte olan ülkelerde genç çocuklarda, Nepal, Endonezya gibi ülkelerle Güney ile Orta Amerika memleketlerinde ve ayrıca da gelişmekte olan ülkelere seyahat edenler arasında çoğunlukla erişkinlerde saptanmıştır. Amerika'da ve İngiltere'de yabancı ülkelere seyahat hikayesi olmayanlarda sporadik olgular halinde görülmüştür. Son yıllarda Amerika'da, yiyecek sektöründe çalışanlarda özellikle Guatemala'dan ithal edilen ahududular (frambuaz) ve fesleğen ile ilgili olarak patlama şeklinde olgular görülmüştür. Fakat bulaşma mekanizması kesinlik kazanmamıştır. En önemli kaynak olarak parazitin enfektif dönemi ile bulaşık su suçlanmıştır. Fakat kesin olan nokta bulaşmanın indirekt oluşudur yani otoenfeksiyon ve kişiden kişiye bulaşma olasılığı yoktur. Çünkü sporulasyon dış ortamda olmaktadır.

Bu parazitozun epidemiyolojisinde mevsimsel yağmurların ve içme sularının kalitesinin rolü vardır. 1990 yılında Amerika'da Chicago Hastanesi personeli arasında görülen küçük çaplı bir epidemide 11 personelde bu parazitoz saptanmış ve kaynak olarak personelin yatakhaneinde kullanılan su gösterilmiştir. Benzer şekilde 1994 yılında Nepal'de bulunan 14 İngiliz birliğinin 12'sinde, 1995-1998 arasında Amerika'da 1465 olguda saptanan (978'i laboratuvarca kanıtlanmış) cyclosporiosis patlaması da su ve Guatemala'dan ithal edilen ahududulara bağlanmıştır. İthal edilen atom marullara ve fesleğene bağlı epidemiler de bildirilmiştir (36).

Ülkemizde bildirilmiş ilk cyclosporiosis vakası 1998 yılında Kayseri'de AIDS'li bir hastanın kronik ishal etyolojisi araştırılırken saptanmıştır (138).

2.2.9. Tanı

Akut dönemde hasta dışkıyla oldukça bol sayıda ookist atar. Daha sonra ise sayı değişkenlik kazanır. Ookist direkt preparatta refraktil olmayan, yuvarlak yapılar olarak tanımlanır. Bunlar, kriptosporidium ookistlerine (4-6µm) benzer ama onların yaklaşık 2 misli büyüklüktedir. Taze preparat iyot eriyiği içinde hazırlanır, ookist içindeki globülünler kahverenginde görülür. İnceleme ultraviyole ışığında yapılırsa kistin mavimsi-yeşil daireler halinde görüldüğü bildirilmiştir. Asit-fast boyama değişken sonuç vermesine karşın modifiye karbol fuksin boyama ile iyi sonuç alınır. Floresan mikroskopunda ookistler tipik yeşil-mavi otofluoresan verirler. Jejunum biyopsisinde aseptüel evrim evreleri ışık ve elektron mikroskopunda görülebilir. %2.5 potasyum dikromat içinde, oda sıcaklığında bekletilen dışkı örneğindeki ookistler yaklaşık 7-15

günde sporlanır, içinde iki sporokist gelişir; bunların içinde oluşan sporozoitler kolaylıkla görülemeyebilir.

Su veya yiyeceklerde ookistleri saptamak zordur. Enfeksiyonda temel olarak ince bağırsak etkilenir. Endojen dönemler, enterositlerin 'brush border' denilen kısmının altında ve intrasellüler olarak saptanabilir. Jejunal biyopsi örneklerinde ve muhtemelen diğer dokularda, ışık ve elektron mikroskobu ile yapılan histopatolojik incelemede bağırsak villuslarının kısalması ve genişlemesi, yaygın ödem, karma yangısal hücre infiltrasyonu ve vasküler genişlemeyle birlikte reaktif hiperemi ve kapiller tıkanma vardır. Tamda PCR ve benzeri yöntemlerin kullanılması oldukça yenidir. Bu yöntemlerle parazitin şüpheli ahududularda saptandığı bildirilmiştir (36).

2.2.10. Tedavi

Enfeksiyon genellikle kendini sınırlamaktadır. Tedavide oral rehidratasyon ve uygun destek tedavisi önerilmektedir. Şimdiye kadar *Cyclospora* tedavisinde trimetoprim-sulfamethoxazol (TMP-SMX), tetrasiklin, metranidazol, paromomisin, diloksanid furoat, norfloksasin, kinakrin, nalidiksik asit gibi ilaçlar kullanılmıştır. Peru Haiti ve Nepal'de yapılan birçok çalışmada, TMP-SMX'in seçilecek ilk ilaç olduğu bağışıklık sistemi sağlam bireylerde günde iki kez 800 mg SMX-160 mg TPM (çocuklarda günde iki kez 5 mg/kg TPM-25 mg/kg SMX) ile 7 günlük tedavi süresi sonunda hem belirtilerin ortadan kalktığı, hem de ookist atılımının durduğu saptanırken, bağışıklık sistemi baskılanmışlarda ise aynı doz TMP-SMX'un 10 gün uygulanması ve sonrasında aynı doz ile haftada üç kez tedaviye devam edilmesi önerilmektedir (130, 139, 140). Cyclosporiasis'in tedavisinde; metranidazol, albendazol, azitromisin, norfloksasin ile tetrasiklin, doksisisiklin ve pirimetamin başarısız bulunmuştur (131). Özellikle sufra grubu ilaçlara alerjisi veya intoleransı olanlar için cyclosporiasis olgularında alternatif ilaç olarak ciprofloksacin önerilmiştir.

2.2.11. Korunma

Halen parazit kaynağı tam bilinmediğinden rezervuar konakla ilgili bir önlem önerilemez. Bulaşma tamamen ağızdan olur. Bu nedenle, korunma olağan hijyenik önlemlerle sınırlanabilir. Kaynatılmamış şüpheli sulardan kaçınmak, yıkanmamış meyve, salata, pişmemiş sebze yememek ve endemik yörelerde çok dikkatli olmak gerekir. Parazitin ookistlerinin klora, bilinen kimyasallara ve dezenfektanlara dirençli

olması ve enfeksiyon dozunun düşük oluşu, bu parazit ve yol açtığı parazitozla savaşta zorluk oluşturmaktadır.

2.3. ISOSPORA SP.

İsosporiosisi, *Isospora belli*'nin neden olduğu nadir olarak görülen bir bağırsak enfeksiyonudur.

2.3.1. Tarihçe

İnce bağırsak epitelinde çoğalıp enterokolit yapan bir sporozoondur. İlk kez birinci dünya savaşı'nda (1915) askeri personelde tanımlanmıştır (141).

2.3.2. Taksonomi

İnsan isosporiosisi, *Isospora* cinsinin gerçek bir üyesi olan *Isospora belli* tarafından oluşturulur (142).

İnsanlarda bildirilen diğer bir *Isospora* türü de *I.natalensis*'dir. Fakat bu parazit hakkında çok az şey bilinmektedir.

Isospora belli türü, Apicomplexa şubesi içinde Sporozoa sınıfında, Eimeriorina alttakımında, Eimeriidae ailesi, *Isospora* cinsi içinde yer alır (143).

2.3.3. Morfoloji

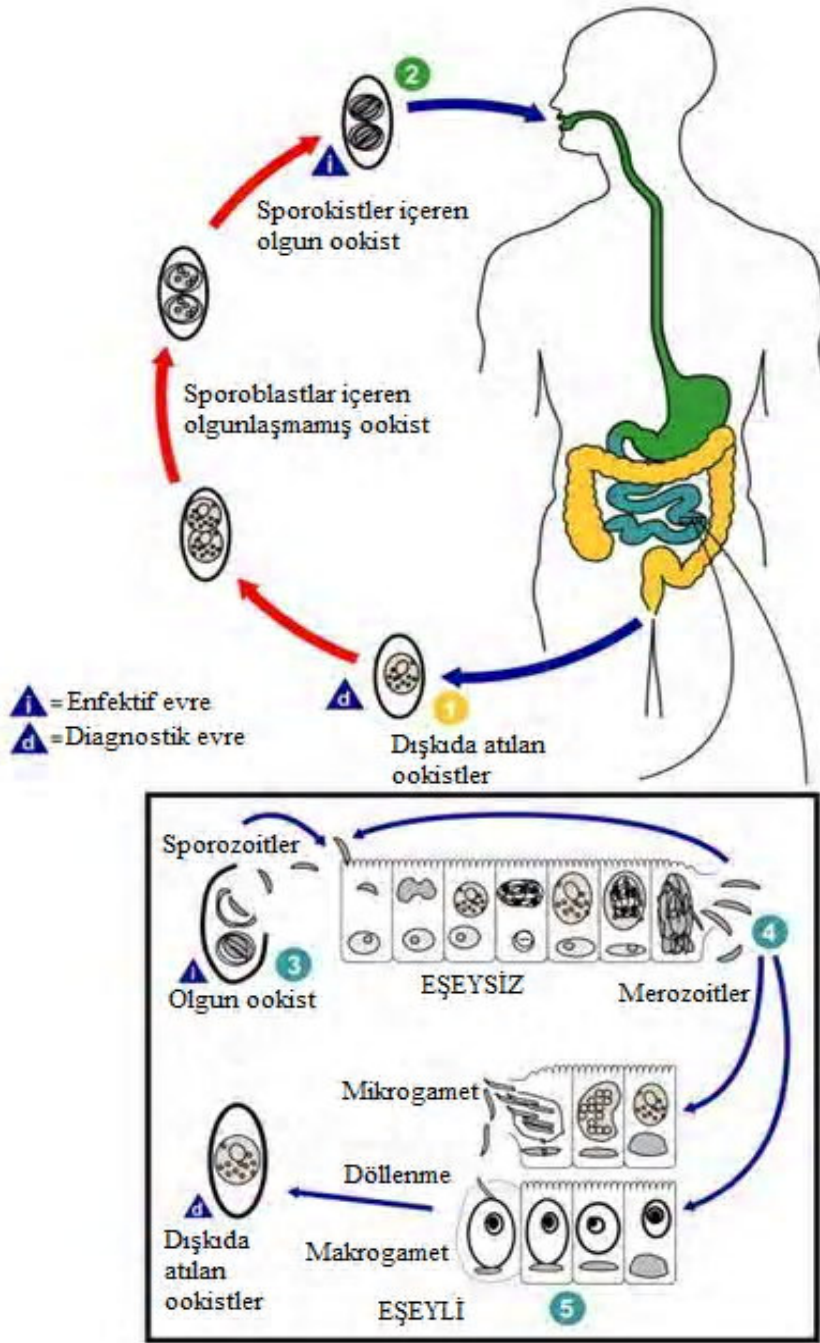
Intrasellüler bir parazit olan *Isospora belli*'nin yaşamı insanın ince bağırsak epitel hücrelerinde geçer. Yerleşim yeri duodenumun distal kısmı ile jejunumun proksimal bölgesidir; fakat diğer kısımlarda da yerleşebilir. Parazit enterositlerde birbirini izleyen eşeyli(sporogonik) ve eşeysiz (şizogonik) olarak çoğalır. En iyi tanınan evrim dönemleri orak şeklindeki merozoit, ookist, sporokist ve sporozoit evreleridir.

Ookist formu uzun, yumurta görünümünde, 20-33 X 10-19 µm boyutundadır. Çeperi düz ince ve renksiz olup, iki tabakadan meydana gelmiştir. Bu tabakalardan içteki tabaka zarımsı iken, dış tabaka serttir ve sıvıları geçirmez. Dışkıda görülen ookist olgunlaşmamıştır; içinde yuvarlak tek bir sporoblast bulunur. Beklemiş örneklerde ve dış çevrede olgunlaşan ookist içinde iki sporoblast gelişir. Bunlar çevrelerine kist duvarı salgıladıktan sonra sporokist adını alırlar.

Sporokistler 12-14 X 7-9 μm boyutundadır. Bunların her birinin içinde 4 sporozoit oluşur. Sporozoitin bir ucu yuvarlak, diğer ucu ise sivridir; görünümü muz veya hilale benzer; 9-10 X 1,5-2 μm boyutundadır. Ookist parçalanmadıkça dış ortamda serbest sporokist görülmez (36).

2.3.4. Yaşam Döngüsü

I. belli tek konaklı bir parazittir ve insan bilinen tek rezervuardır. Isosporiosis olgun sporüle ookistlerle kontamine su veya gıdaların sindirim yolundan alınması ile insana bulaşır. Homoseksüeller arasında sıklıkla görülen bir diğer bulaşma yolu ise anüs çevresine oral temastır (141). İnsanda ince bağırsakta açılan ookistlerden açığa çıkan sporozoitlerin her biri epitel hücrelerini istila eder. Hücre içinde olgunlaşan parazit şizogoni ile çoğalır. Enfekte hücrelerin bir süre olgunlaşmasıyla eşeyli üreme gerçekleşir. Sonuçta ookist oluşur; bunların konak dışı ile dışarı atılması, dışarıda olgunlaşması ve yeniden insan tarafından ağızdan alınmasıyla döngü tamamlanmış ve yenisi başlamış olur (Şekil 2.4) (36).



Şekil 2.4. *Isospora belli*'nin yaşam döngüsü (144)

2.3.5. Patogenez

İsosporiosis ile ilgili başlıca histolojik anormaliler; villus atrofi, kript hiperplazisi ve lamina propiada eozinofil, nötrofil, lenfosit ve plazma hücreleri infiltrasyonudur. Bu değişimleri meydana getiren mekanizma henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, parazit invazyonunun sonucu hücre bozulması, hücresel inflamasyon veya mast hücrelerinden salınan protein ve oksidanlardan kaynaklandığı düşünülmektedir (40).

2.3.6. Klinik

İsosporiosisde klinik tablo konağın immün sistemine bağlı olarak seyreder. İmmün sistemi normal bireylerde hastalık; giardiosis, cryptosporidiosis, cyclosporiosis ve ETEC infeksiyonları gibi diğer non-inflamatuvar bağırsak enfeksiyonlarından ayırt edilemez. Bir haftalık inkübasyon sonrası hastalarda 2-3 hafta süren sulu ve kansız diyare gelişir. Beraberinde karın ağrısı, iştahsızlık, kilo kaybı, abdominal kramplar görülür. Ateş yok veya düşük düzeydedir. Ookist atılımı iyileşmeden sonra birkaç hafta daha devam eder. Bağışıklık sistemi normal bireylerde kronik inatçı diyare nadiren aralıklı olarak yıllarca devam edebilir (141). Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, dehidratasyon, debilitasyon sonucu öldürücü olabilir.

2.3.7. İmmünite

Isospora belli'nin immün mekanizması hakkında sınırlı miktarda bilgi bulunmaktadır. Benzer parazitlerle yapılan diğer çalışmalarla enfeksiyonun ortadan kalkması için gerekli olan bir takım temel elementler değerlendirmeye alınmıştır.

Muhtemelen *I. belli* enfeksiyonu, re-enfeksiyon olma ihtimaline karşı aynı immünite derecesinde uyarı verir. Bu durum domuz yavrularından elde edilen *I. suis* enfeksiyonunda olduğu gibi re-enfeksiyona karşı aynı derecede direnç gösterir.

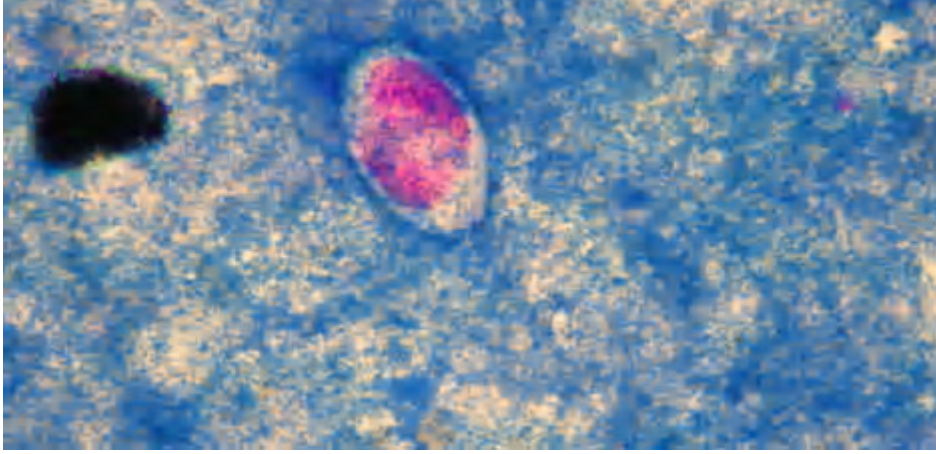
Kolostral parazite-özgül antikorlar domuz yavrularını *I. suis* enfeksiyonuna karşı koruyamazlar. Muhtemelen CD₄ T hücreleri, bu immünite mekanizmasında rol alırlar. Aynı zamanda *I. belli* enfeksiyonu AIDS hastalarında immün bağışıklığı olan hastalara göre daha şiddetli seyreder. *I. belli*'ye benzer yaşam döngüsüne sahip, akraba *Eimeria* cinsine karşı oluşan immünite, kemirgenlerde ve tavuklarda ayrıntılı olarak çalışılmıştır. En önemli immünite özelliği olarakta CD₄αβTCR T hücrelerinin bu mekanizmada etkin olduğu ve IFN-γ üretiminde Th1 hücreleri aracılığı ile etkiye sahip olduğu görülmüştür. Sekretuar IgA da dahil parazitik spesifik antikorlar *Eimeria* enfeksiyonu esnasında oluşuyor ise de tedavide etkin rolesahip oldukları söylenemez (145).

2.3.8. Epidemiyoloji

Isospora belli enfeksiyonunun kozmopolit bir dağılımı vardır fakat tropikal ve subtropikal iklim kuşağında; özellikle Haiti, Meksika, Brezilya, El-salvador, tropikal Afrika, Orta Doğu ve Güneydoğu Asya gibi bölgelerdeki yaygınlığı daha fazladır. (146). Bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ve AIDS'lilerde sık görülür ve kronik sürgünle seyreder. Kuluçka süresi 6-7 gündür. Parazitozun kaynağı bu paraziti vücudunda bulunduran ve dışkılarıyla etrafa ookist atan insanlardır. Her ne kadar direkt ağız-anüs veya perineum temasıyla veya homoseksüel ilişki ile bulaşma olabileceği bildirilmişse de bunun olanaklı olmadığı söylenebilir. Çünkü dışkıdaki ookistler olgunlaşmamış olduğundan otoenfeksiyonun veya kişiden kişiye direkt bulaşmanın söz konusu olmaması gerekir. Ookistlerin dış çevre koşullarına çok dirençli oldukları bildirilmiştir.

2.3.9. Tanı

İsosporiosis olgularında tanı dışkıda ookistlerin görülmesiyle konur. Ayrıca çeşitli konsantrasyon yöntemleri ile hazırlanan preparatlar, çeşitli modifiye asit boyama yöntemleri (Şekil 2.5), auramin-rhodamin boyama veya ısı ile uygulanan safranin-metilen mavisi boyama yöntemleri ile boyanarak incelenebilirler. Ookist çeperlerinin inceliği sebebiyle direkt bakıda parazitin gözden kaçabilme ihtimali vardır. Bu yüzden preparatların bayanarak incelenmesi özellikle önerilmektedir. Polivinil alkol (PVA) fiksatifinde bekletilen dışkı örneklerinde de ookistlerin çok zor belirlendiği bildirilmektedir. UV ile fluoresan mikroskopta 330-380 nm UV filtre ile incelendiğinde *I. belli* ookistleri mavi renkte otofluoresan verir. Bu yöntemin tanıda duyarlı ve hızlı olduğu bildirilmektedir. *I. belli* ookistlerinin az sayıda ve aralıklarla atılması nedeni ile çok sayıda dışkı örneğinin incelenmesi önerilmektedir (147, 148).



Şekil 2.5. Kinyoun'ın asit-fast yöntemi ile boyanmış *Isospora belli* ookisti

2.3.10. Tedavi

İsosporiasisın tedavisi için kullanılan birçok ajan vardır. Protozoal dihidrofolat redüktaz/timidilat sentaz inhibitörleri (TMP veya primetamin) ile sülfanamidlerin (SMX, sülfadiazin veya sülfadoxin) kombinasyonlarının tedavide etkili olduğu kanıtlanmıştır. TMP-SMX tedavisi en çok kullanılan tedavi şeklidir (149).

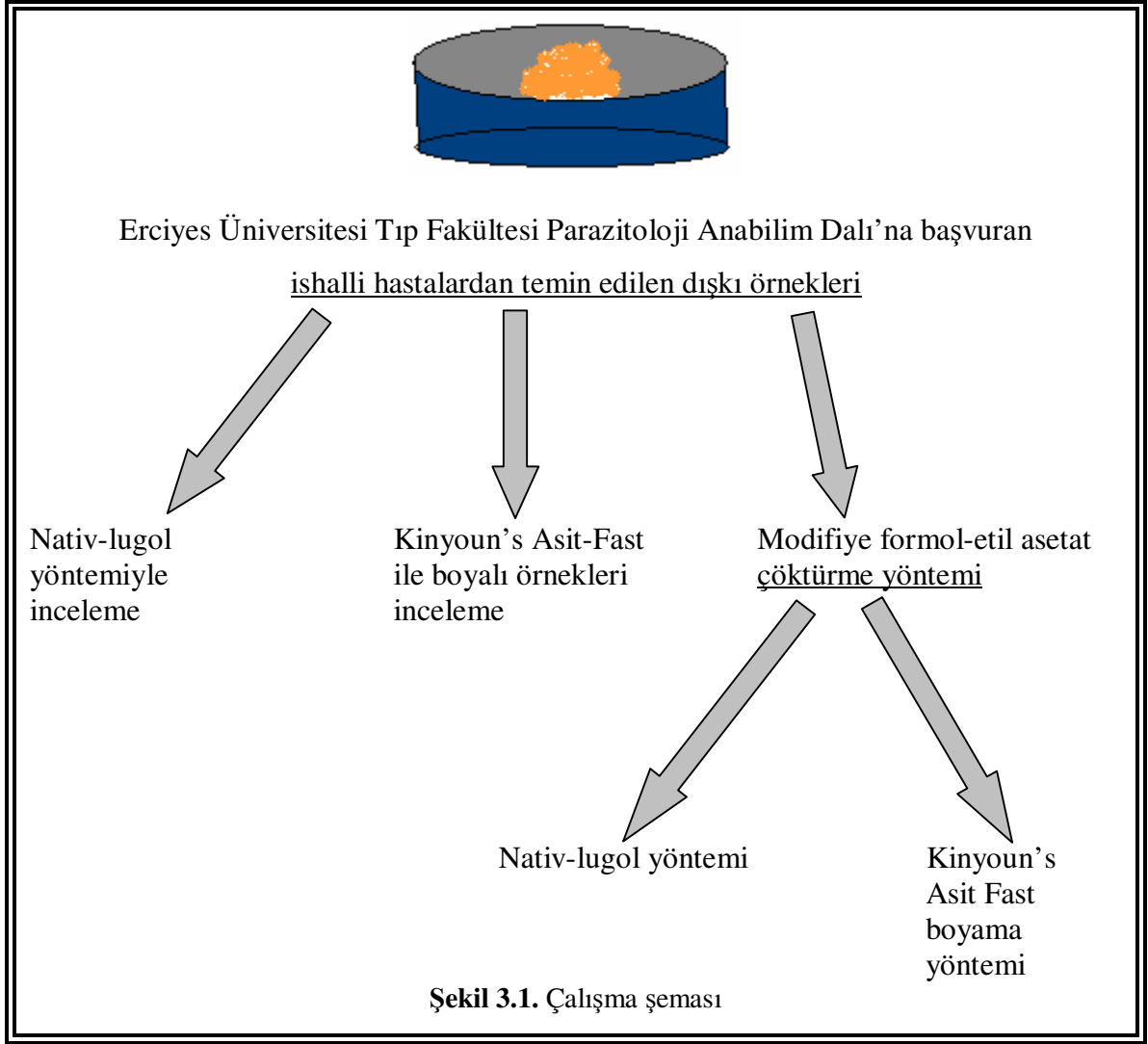
2.3.11. Korunma

Temizlik kurallarına uymak, çiğ yenen sebzelerin iyi yıkanarak yenmesi, şüpheli suların kaynatılarak içilmesi önerilir (143). İçme suyu işleme ünitelerinde filtrasyon ve dezenfektasyon işlemlerinin *Isospora* türleri üzerinde ne derece etkili oldukları bilinmemektedir. Fakat ookistlerin koliform bakterilere oranla daha dirençli oldukları belirtilmiştir (150).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Çalışmada kullanılan dışkı örnekleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran ishallerli hastalardan temin edildi. Çalışmanın birinci basamağında ağzı kapaklı plastik kaplara alınan dışkı örnekleri nativ-lugol yöntemiyle incelendikten sonra Kinyoun's Asit-Fast boyama yöntemiyle boyandı. Çalışmanın ikinci basamağında aynı dışkı örneklerine önce modifiye formol-etil asetat çöktürme yöntemi uygulandı, sedimentten hazırlanan preparatlar nativ-lugol yöntemi ile mikroskopta incelendi ve daha sonra Kinyoun's Asit-Fast boyama yöntemiyle boyandı.



3.2. NATİV-LUGOL YÖNTEMİ

Dışkının parazitolojik açıdan değerlendirilmesinde direkt tanı yöntemlerinden nativ-lugol yöntemi kullanılmıştır.

3.2.1. Nativ Bakı Yöntemi

Bir lam üzerine bir damla serum fizyolojik damlatılıp, üzerine plastik baget yardımıyla yaklaşık 2 mg dışkı konu ve homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra üzerine lamel kapatılarak preparat hazırlandı. Hazırlanan preparatlar X400 büyütmede ışık mikroskobu ile incelendi.

3.2.2. Lugol Bakı Yöntemi

Bu yöntemde parazitlerin boyanmasını sağlamak amacıyla lugol solüsyonu kullanıldı. Lugol solüsyonu aşağıdaki şekilde hazırlandı.

Kullanılan maddeler

Potasyum iyodür	10 gr
İyot kristalleri	5 gr
Distile su	100 ml

Hazırlanışı

100 ml distile su içerisinde 10 gr potasyum iyodür çözdürüldü ve üzerine 5 gr iyot kristalleri eklendi. Bu şekilde hazırlanmış olan lugol solüsyon ağzı kapaklı, kahverengi bir cam şişeye süzülerek stok lugol solüsyonu hazırlandı. Kullanılmadan önce distile su ile 1/1 oranında sulandırıldı.

Nativ yöntemde anlatıldığı gibi serum fizyolojik yerine, lugol solüsyonu damlatılarak hazırlanan preparatlar X400 büyütmede ışık mikroskobu ile incelendi.

3.3. MODİFİYE FORMOL-ETİL ASETAT SEDİMENTASYON YÖNTEMİ

Dışkı numunelerinde parazitlerin kist, trofozoit ve yumurtaları az sayıda bulunabilir. Bu durumda bu yapılar gözden kaçabilir ve sonuç negatif olarak verilebilir. Bu sakıncayı en aza indirmek için dışkılarına modifiye formol-etil asetat sedimantasyon yöntemi uygulandı.

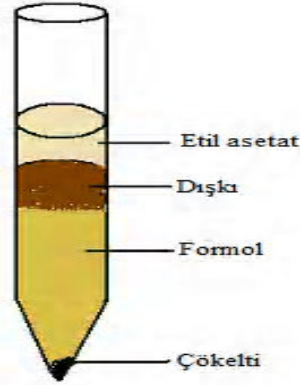
Kullanılan maddeler

- %10'luk Formol
- %0,85'lik Salin solüsyonu (serum fizyolojik)
- Etil asetat veya eter

Yöntem

- Bir falkon tüpüne 10 ml, %10'luk formolden konulup, üzerine yaklaşık 5-6 ml (daha koyu kıvamlı ise 1,5-2 mg) dışkı eklendi. Dışkı formolde ezildikten sonra fiksasyonun tam olarak gerçekleşmesi için 30 dakika beklendi.
- Süspansiyon iki tabakalı gazlı bezden diğer bir kaba süzülüp, buradan da 15 ml'lik konik santrifüj tüpüne aktarıldı.

- Süspansiyona 3 ml etil asetat eklenip, tüpün ağzı başparmağımızla sıkıca kapatılarak, 30 saniye çalkalandı. Gazın oluşturduğu basıncı azaltmak için arada başparmak gevşetilerek gaz çıkışı sağlandı.
- Süspansiyon 500 g'de 2-3 dakika santrifüj edildi. Tüp santrifüjden çıkarıldığında 4 tabaka gözlemlendi. En üstte etil asetat tabakası, altında tüpün duvarlarına yapışan dışkı artığı tabakası, onun altında formol tabakası, en dipte ise çökelti görüldü. Bir pipet yardımıyla tüpün yüzündeki artıklar üstteki süspansiyonla karıştırılıp döküldü.
- Dipteki çökeltiden pipet yardımıyla birkaç damla alınıp nativ-lugol yöntemi ile incelendi ve yayma preparat yapıldı.
- Preparat metanolle fikse edildikten sonra Kinyoun's asit-fast boya ile boyandı.



Şekil 3.2. Modifiye formol-etil asetat sedimentasyon yöntemi

3.4 KİNYOUN'S ASİT-FAST BOYAMA YÖNTEMİ

Kullanılacak maddeler

- Bazik fuksin
- %95'lik Etil alkol
- Fenol kristalleri
- Konsantre sülfürik asit
- Potasyum hidroksit
- Metilen mavisi
- Saf metanol

Hazırlanacak solüsyonlar

1. Kinyoun's karbol-fuksin:

- a. 4 gr fuksini 20 ml %95'lik etil alkol içinde eritildi.
- b. Fenol kristalleri 56 °C'lik su banyosunda eritildi. 8 ml erimiş fenol ile fuksin-alkol solüsyonu 100 ml distile suya ilave edilip 1 gün beklendi.
- c. Solüsyon süzülüp ve kullanılacağı zamana kadar saklandı.

2. %1 sülfürik asit:

- a. 1 ml sülfürik asit dikkatli ve yavaş bir şekilde 99 ml distile suya eklendi.
- b. Solüsyon gereksinin duyulana dek saklandı.

3. Loeffler'in alkali metilen mavisini

- a. 0,3 gr metilen mavisini 30 ml etil alkolde eritildi.
- b. 100 ml %0,01 potasyum hidroksit solüsyonu eklendi ve solüsyon gereksinin duyulana kadar saklandı.

Yöntem

- Taze dışkı örneğinden veya konsantrasyon sonrası elde edilen sedimentten yaymalar hazırlanıp kurumaya bırakıldı.
- Yaymalar saf metanol içinde 1 dakika tutularak fikse edildi ve kurumaya bırakıldı.
- Kurumuş olan lamalar Kinyoun's karbol-fuksin içeren şalede 5 dakika tutularak boyandı.
- Lamalar %50'lik alkole batırılıp çalkalandı ve ardından musluk suyunda yıkandı.
- Lamalar daha sonra dekolarizan ajan olarak %1 sülfürik asit içeren şalede 2 dakika bekletildi ve sonra musluk suyunda yıkandı.
- Daha sonra Loeffler'in alkali metilen mavisini içeren şalede 1 dakika tutulan lamalar musluk suyu ile yıkanıp kurumaya bırakıldı.
- Lamalar X1000 büyütme ile ışık mikroskopunda incelendi.

3.5 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin istatistiksel analizi için Pearson ki-kare testi kullanılmış ve $p < 0,05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran 350 ishaller hastadan alınan dışkı numuneleri, nativ-lugol yöntemi, formol-etil asetat sedimantasyon yöntemi ve Kinyoun's asit-fast boyama yöntemi kullanılarak intestinal coccidialar açısından değerlendirilmiştir. Birinci aşamada dışkıları nativ-lugol yöntemiyle incelenip, Kinyoun's asit-fast boyama yöntemi ile boyanmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. İkinci aşamada aynı dışkıları formol etil-asetat sedimantasyon yöntemi uygulanmış, nativ-lugol yöntemiyle incelenmiş, Kinyoun's asit-fast boyama yöntemi ile boyanmıştır. İntestinal coccidia görülen preparatlar kaydedilmiştir.

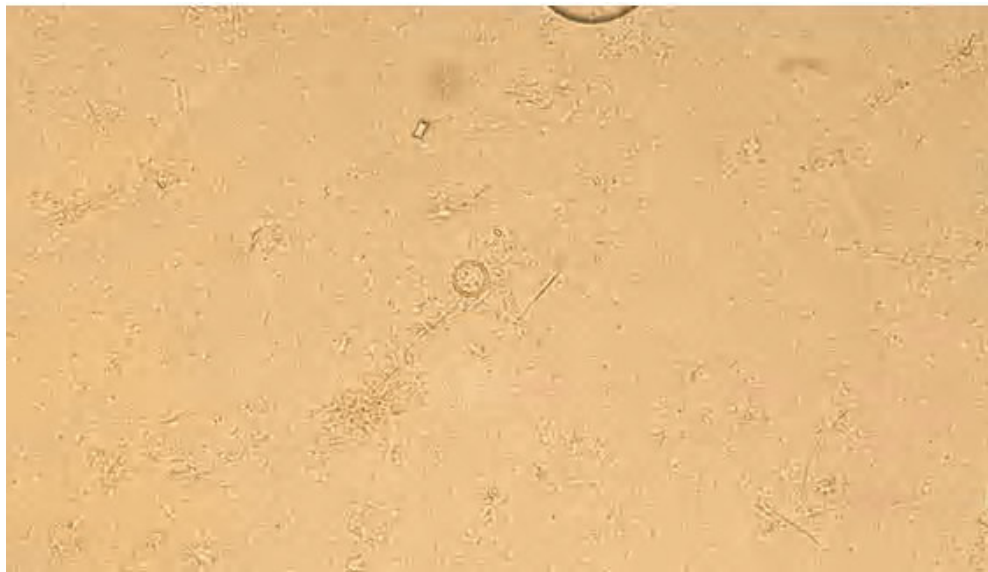
Direkt nativ-lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların ikisinde (%0,57) *Cyclospora cayetanensis*'e ait ookistler saptanırken, sedimantasyon sonrası nativ lugol yöntemiyle hazırlanan preparatların yine ikisinde (%0,57) *Cyclospora cayetanensis*'e ait ookistler görülmüştür. Direkt Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle boyanan preparatların ikisinde *Cyclospora cayetanensis*, birinde *Cryptosporidium* spp. olmak üzere üç dışkıda (0,86) ookist görülürken, sedimantasyon sonrası Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle boyanan preparatların ikisinde *Cyclospora cayetanensis*, ikisinde *Cryptosporidium* spp. olmak üzere toplam dört dışkıda (1,14) ookistler görülmüştür. *Isospora* sp.' ye rastlanamamıştır.

Sedimentasyon öncesi nativ-lugol ile sedimentasyon sonrası nativ-lugol ve sedimentasyon öncesi Kinyoun's asit-fast boyama ile sedimentasyon sonrası Kinyoun's asit-fast boyama yöntemleri ile parazit görülmesi arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuş ($p < 0,001$) olup, elde edilen bulgular Tablo 4.1'de verilmiştir.

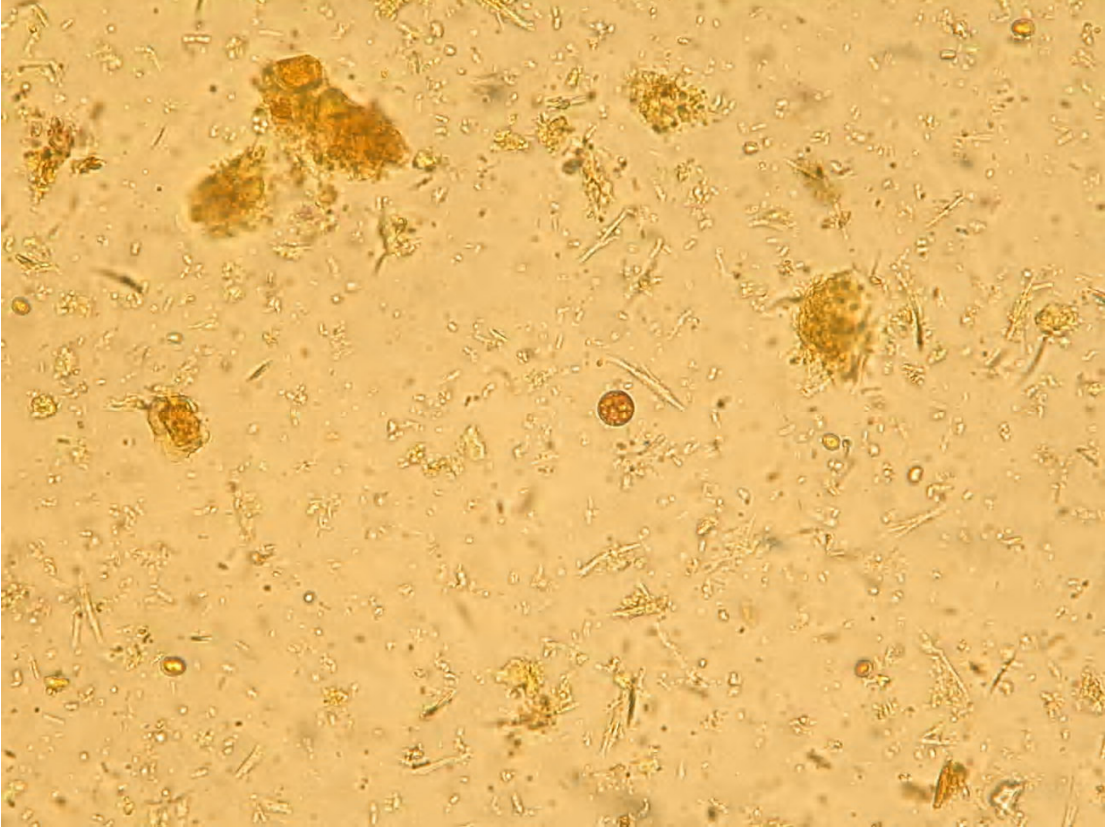
Tablo 4.1. Farklı yöntemlerle parazit görülme oranları

Yöntem		İncelenen dışkı sayısı	Pozitif dışkı sayısı	X ²	p
Nativ-lugol	Direkt nativ-lugol	350	2 (0,57)	350,000	0.000
	Sedimentasyon sonrası nativ-lugol	350	2 (0,57)		
Asit – fast	Direkt asit-fast boyama	350	3 (0,86)	261,744	0.000
	Sedimentasyon sonrası asit-fast boyama	350	4 (1,14)		

Hastalardan alınan dışkı numunelerinden direkt nativ-lugol yöntemiyle preparatlar hazırlanmış bu preparatların mikroskopik değerlendirilmesinde iki dışkıda intestinal coccidian parazitlere ait ookistler bulunmuştur. Aynı dışkıları formol etil-asetat sedimentasyon yöntemi uygulanmış, sedimentten hazırlanan preparatların mikroskopik değerlendirmesinde ise yine iki dışkıda ookistler görülmüştür (Şekil 4.1, 4.2).

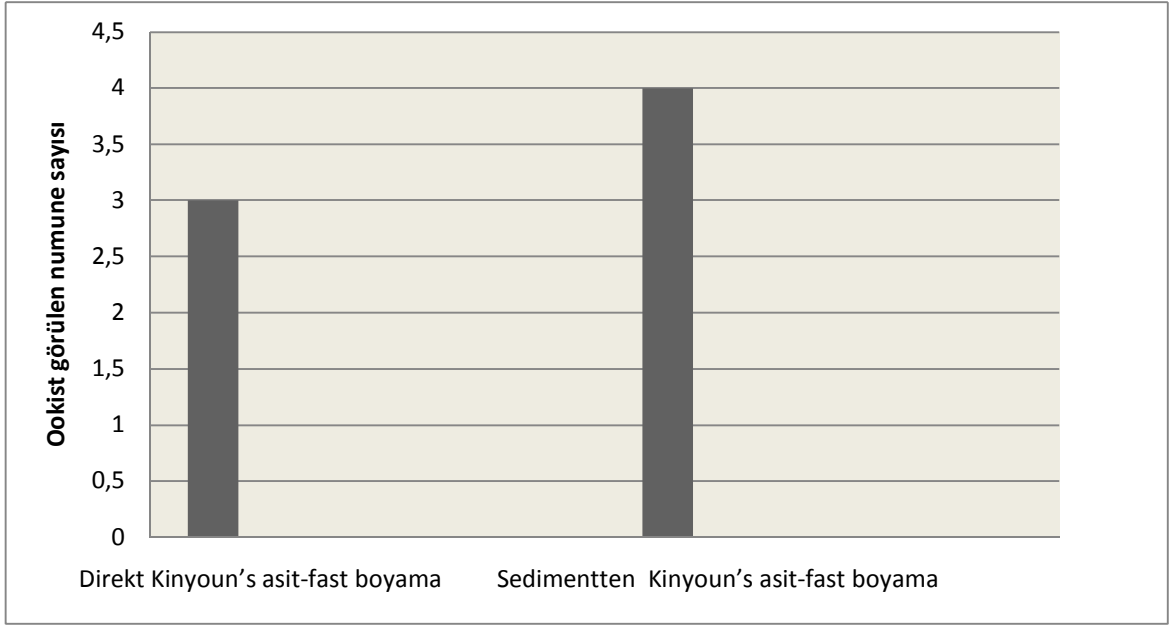


Şekil 4.1. *Cyclospora cayentanensis* ookistinin nativ yöntemiyle hazırlanan preparatta X400 büyütmedeki görüntüsü

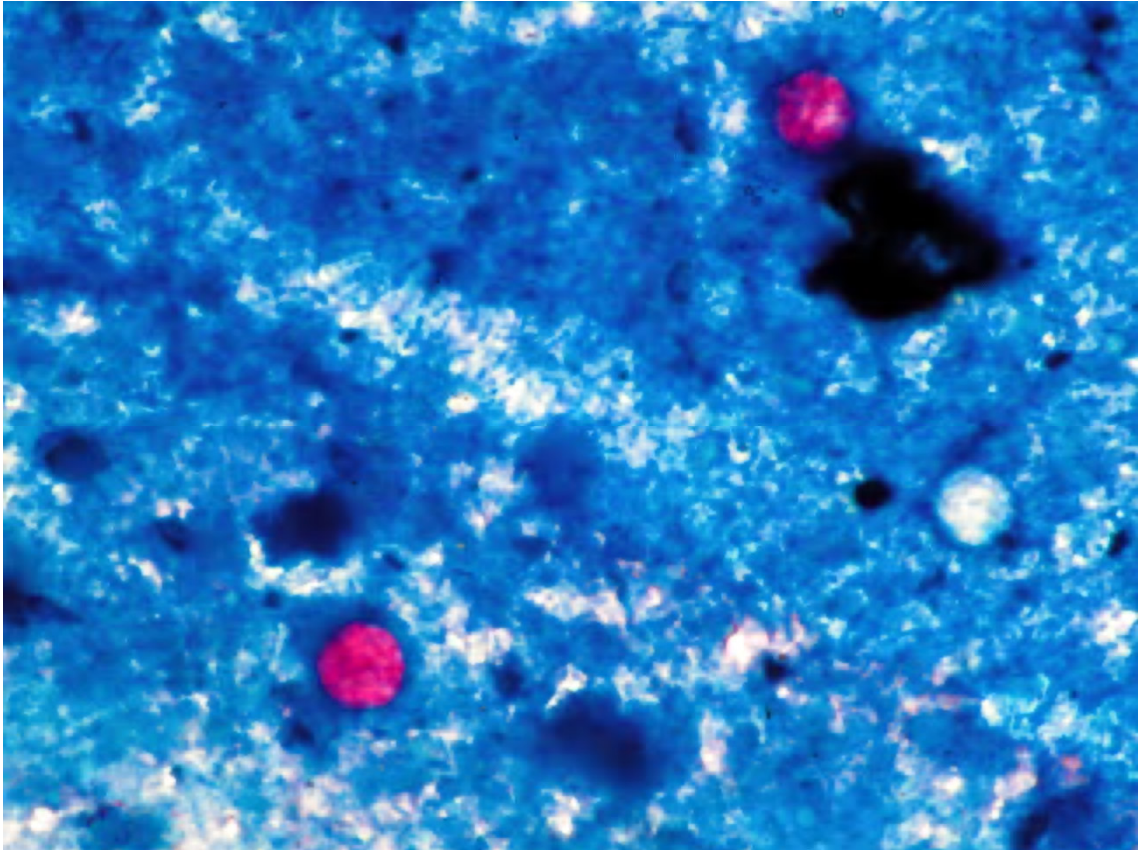


Şekil 4.2. *Cyclospora cayetanensis* ookistinin lugol yöntemiyle hazırlanan preparatta X400 büyütmedeki görüntüsü

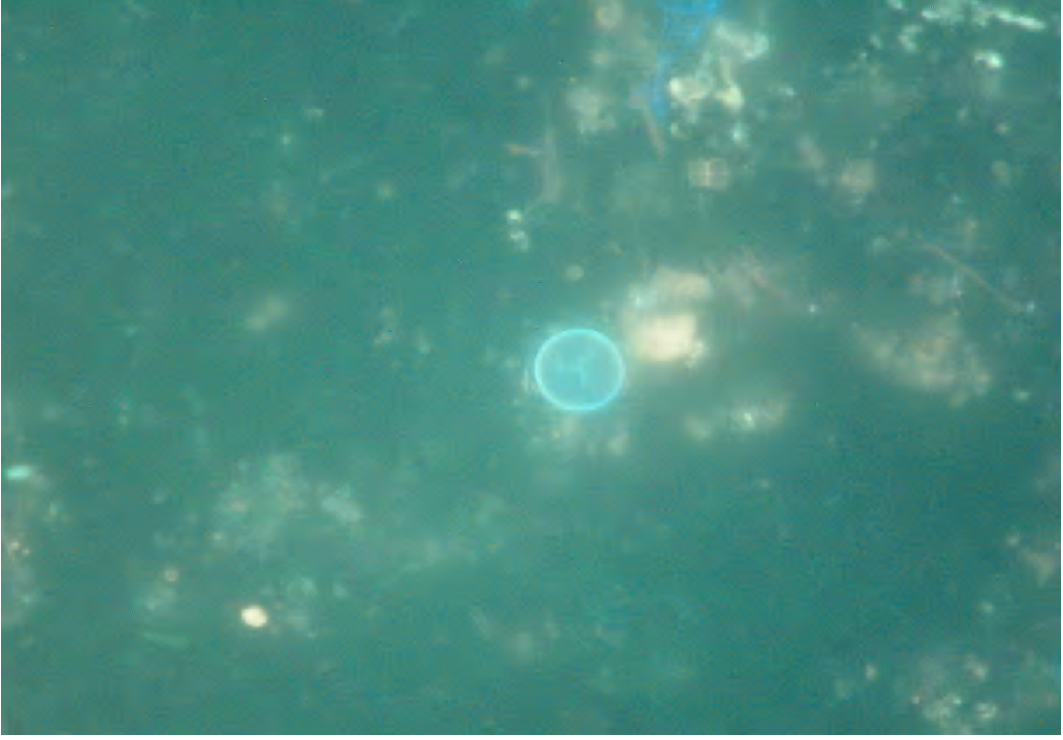
Direkt nativ-lugol yöntemiyle incelenen dışkı numunelerinden preparatlar yapılmış ve Kinyoun's asit-fast boyama yöntemi ile boyanmıştır. Boyama sonucunda yapılan mikroskopik değerlendirmede üç numunede ookist görülmüştür. Aynı numunelere formol etil-asetat sedimantasyon yöntemi uygulanmış, oluşan sedimentten preparatlar yapıp Kinyoun's asit-fast boyama yöntemi ile boyanmıştır. Yapılan mikroskopik incelemede numunelerin ikisinde *Cyclospora cayetanensis*'e, ikisinde ise *Cryptosporidium* sp.'ye ait olmak üzere toplam dört numunede ookist saptanmıştır (Şekil 4.4, 4.6, 4.7).



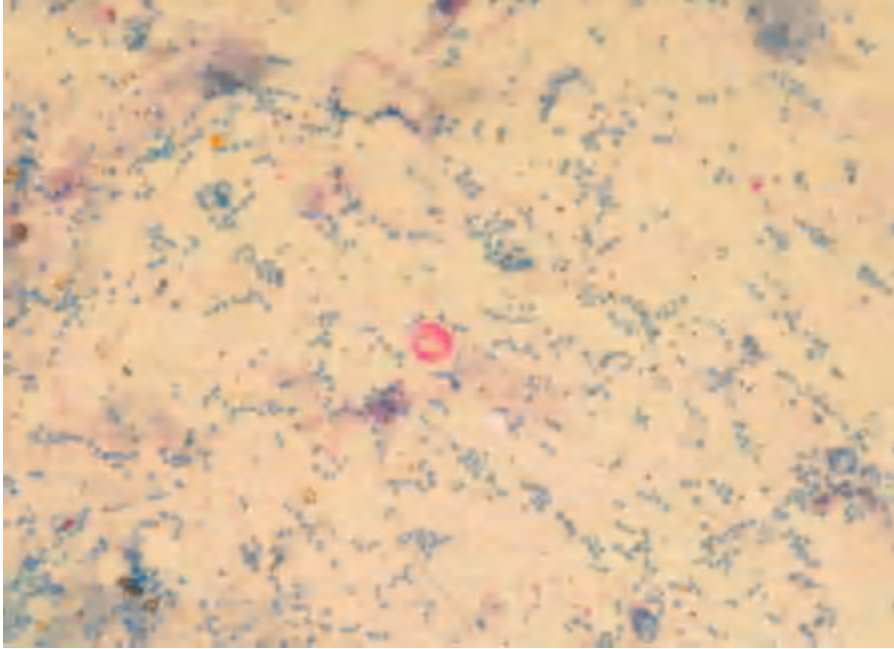
Şekil 4.3. Dışkıların direkt Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle ve sedimentasyon sonrası Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle intestinal coccidia açısından mikroskopik değerlendirme sonuçları



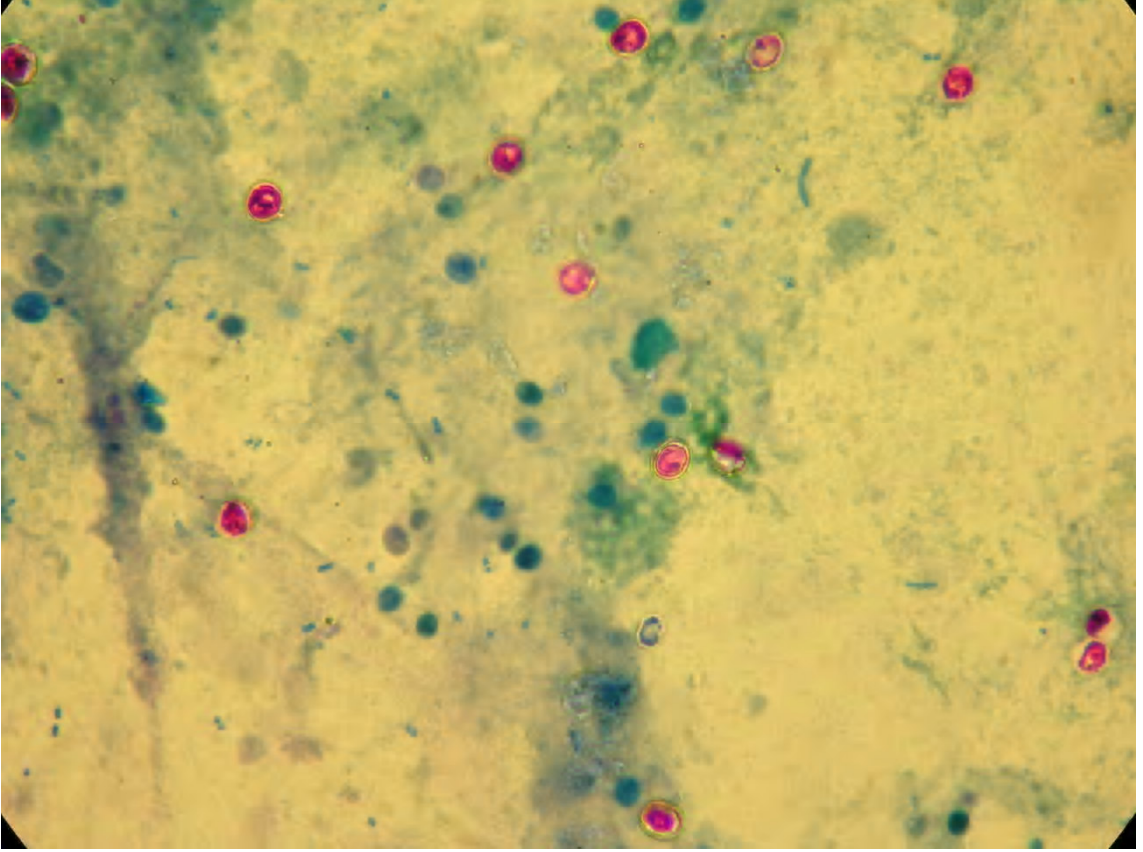
Şekil 4.4. *Cyclospora cayentanensis* ookistlerinin Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle hazırlanan preparatta X1000 büyütmedeki görüntüsü



Şekil 4.5. *Cyclospora cayetanensis*'in fluoresan milroskopta 380-420 nm dalga boyunda, X1000 büyütmedeki otofluoresan görüntüsü



Şekil 4.6. *Cryptosporidium parvum* ookistinin Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle hazırlanan preparatta X1000 büyütmedeki görüntüsü



Şekil 4.7. *Cryptosporidium parvum* ookistlerinin Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle hazırlanan preparatta X1000 büyütmedeki görüntüsü

Çalışmanın istatistiksel analizi yapılırken: direkt nativ-lugol yöntemiyle sedimantasyon sonrası nativ-lugol yönteminin sonuçları kendi aralarında Pearson ki-kare testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak alınmıştır. p: 0,000 bulunmuş ve $p < 0,05$ olduğu için iki yöntem arasında intestinal coccidiaların saptanması açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Direkt Kinyoun's asit-fast boyama yöntemiyle sedimantasyon sonrası Kinyoun's asit-fast boyama yönteminin sonuçları kendi aralarında Pearson ki-kare testi kullanılarak değerlendirilmiştir. p:0.000 olduğu için iki yöntem arasında intestinal coccidiaların saptanması açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bulaş yolları, kliniği, enfeksiyon için risk grupları açısından benzer özellikler gösteren *C. parvum*, *C. cayetanensis* ve *I. belli* tüm dünyada giderek daha fazla ilgi çeken etkenler olarak görülmektedir.

Hem immune sağlıklı hem de immun yetmezlikli kişilerde gastrointestinal sistemde veya değişik organlarda çeşitli yakınmalara neden olabilen bu parazitler dışkıının çoklaştırma yöntemleriyle yoğunlaştırılması, özel boyama yöntemleriyle boyanması ve PCR tekniklerinin kullanılması sonucunda tanınabilmektedir. Söz konusu yöntemler için değişik materyaller kullanılabilir olsa da, yapılan çalışmalar hastalığın teşhisinde yararlanılabilecek en ideal yöntemin dışkı taraması olduğunu göstermiştir (151).

Cryptosporidium spp. insanlar ve hayvanlarda ishale neden olan önemli bir patojendir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde, yetersiz beslenme koşullarında, çocuklarda, yaşlılarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde daha sık görülmekte, son yıllarda özellikle AIDS hastalarında önemli fırsatçı enfeksiyon etkenleri arasında kabul edilmektedir (152). Değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda, immün sistemi baskılanmış olan ishallerde *Cryptosporidium* pozitiflik oranının %11-21.2 arasında dağılım gösterdiği belirtilmiştir (153). Bu konuda yapılmış epidemiyolojik çalışmalarda özellikle cryptosporidiosisin bulaş yolları ve kliniğine yönelik verilerin değerlendirildiği

görülmektedir. Cinsiyetin enfeksiyonun görülmesi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalar incelendiğinde cinsiyet farkı ile enfeksiyon görülmesi arasında ilişki saptanmadığı belirlenmiştir (154, 155). Alver ve Töre (156), Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesine başvuran 8183 hastanın dışkı örneklerinin incelenmesinde ikisi kadın, ikisi erkek olmak üzere dört hastada *Cryptosporidium* oookistleri saptamışlardır. Elde edilen verilere göre cinsiyet farkı bu araştırma sonuçlarına göre anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Bu çalışmada ise 350 ishali hastadan biri kadın biri erkek olmak üzere toplam iki hastada *Cryptosporidium* oookistleri görülmüş olup *Cryptosporidium* pozitifliği açısından cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Ülkemizde *Cryptosporidium*'un tanısına yönelik çalışmalar gözden geçirildiğinde; bu konuda yapılan çalışmaların büyük kısmının spesifik boyama yöntemleri kullanılarak yapılan, tanı amaçlı çalışmalar olduğu görülmektedir. Enfeksiyonun bulaş yolları ve risk faktörlerine ait çalışmalar son derece kısıtlıdır. İshali dışkı örneklerinin Kinyoun's asit-fast boya yöntemi ile değerlendirilmesi sonucunda Fındık ve ark. %1.6 (157), Özçelik ve ark. %11.8 (158), İnceboz ve ark. %0,4 (159), Çeliksöz ve ark. %19.8 (160), Atambay ve ark. %1.6 (161), Doğançı ve ark. %4 (162), Börekçi ve ark. %3,1 (163) oranlarında *Cryptosporidium* oookistleri saptandığını bildirmişlerdir.

Tamer ve ark (164); Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi hematoloji-onkoloji servisinde yatan lösemi ve lenfoma tanısı almış ve ishali olan toplam 89 çocukta cryptosporidiosis prevalansını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, ELISA ile çalışmaya alınan 89 hastanın 11'i (%12,35), Kinyoun's asit-fast boyama ile 7'si (%7,86) cryptosporidiosis tanısı almıştır. Araştırmacılar bu analizler sonucunda malignitesi olan çocukların cryptosporidiosis yönünden değerlendirilmesinde asit-fast boyama teknikleri yanında özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek ELISA testinin kullanılmasının gerekli olduğu kanısına varmışlardır.

Ülçay ve ark (165) Gülhane Askeri Tıp Akademisine başvuran, immün yetmezliği olup, 10 günden uzun süren ishali bulunan 36 hasta ile immün yetmezlikli, ishali olmayan 44 hastada gastroenterit etkeni olabilecek bağırsak protozoonlarının tespiti için hangi laboratuvar yöntemlerinden yararlanılması gerektiğini belirlemeye çalışmışlardır. MAF yöntemi ile ishali olan bir (%2,8) hastada *Cryptosporidium* spp. kisti saptanırken, ishali olmayan hastalarda *Cryptosporidium* spp. kisti ve diğer araştırılan protozoonlar saptanamamıştır. Serolojik yöntemlerden DFA ile ishali olan bir (%2,8) olguda

Cryptosporidium spp, ve iki olguda (%5) hem *Cryptosporidium* hem de *G. intestinalis* kistleri gösterilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Blastocystis hominis* ve *Entamoeba histolytica* gibi protozoonların immun yetmezlikli hastalarda uzamış ishallerin sorumlusu olabileceğini ve tanıda nativ-lugol yöntemi ile dışkıda etken saptanamamış ise, *Cryptosporidium* spp.'nin tanısı için DFA veya MAF yöntemlerinin kullanılmasının uygun olacağını, sonucuna varmışlardır.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada; kanser kemoterapisi gören yetişkin hastalarda *Cryptosporidium* pozitifliği %16.9 olarak bulunmuştur (166). Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda Ok ve arkadaşları (59); %30.4 gibi bir oranda *Cryptosporidium* ookisti tespit etmişlerdir. Bu hastalarda, muhtemelen immün direncin düşmesine bağlı olarak cryptosporidiosis prevalansının arttığı, immün sistemi baskılanmış olan kişilerde gastrointestinal yakınmaların ortaya çıkması durumunda *Cryptosporidium* ookistlerinin araştırılmasının gerektiği bildirilmiştir.

Bazı ülkelerde, hastalarda *Cryptosporidium* aranması rutin laboratuvar tahlilleri arasına girmesine ve çok boyutlu yöntemler uygulanmasına rağmen ülkemizde *Cryptosporidium* tanısı için özel tanı yöntemleri uygulanmamaktadır. Akut ishal etkeninin belirlenmesinde mikroskopik incelemenin önemi büyüktür. Uygulanmasının kolay ve ucuz olması da önemini arttırmaktadır. Karbol fuksin boyama yöntemi; kolay uygulanması, ucuz olması ve ookistlerin rahat görülmesi açısından avantajlı bulunmuştur. Fakat boyamadan kısa bir süre sonra ookistlerin çeperlerinin büzülmesinden dolayı, preparatın hemen değerlendirilmesi gerekir. Modifiye asit-fast tekniği; rahat uygulanması, preparatların değerlendirme öncesi bekletilebilmesi, ucuz olması, ookistlerin içyapısını ayrıntılı gösterebilmesi ve kalıcı olması nedeni yararlı bulunmuştur.

Cyclospora cayatanensis, kontamine suların ve gıdaların sindirim yolundan alınması ile insanlara bulaşan yakın zamanlarda tanımlanan patojen bir protozoondur. *C. cayatanensis* etkenli diyarelerin bir günlük kırıklık, düşük ateş ile günde yedi kez olabilen ani, sulu mukussuz ve kansız diyare ile seyrettiği ve immün sistemi normal bireylerde 3-4 günde kendi kendine iyileşebileceği bildirilmektedir. Ancak immün sistemi baskılananlarda, AIDS'lilerde ve tropikal ülkelere seyahat edenlerde diyarenin daha uzun sürdüğü bildirilmektedir (167, 168). Son yıllarda tanınmaya başlayan

Cyclospora infeksiyonları dışkıının çoklaştırma yöntemleriyle yoğunlaştırılması ve özel boyama yöntemleri ile boyanması sonucunda tanınabilmektedir. Ayırıcı tanıda ookistlerin otofloresans verme özelliğinden de yararlanılabilmektedir. Sporadik görülen bir infeksiyon olarak bilinen cyclosporiosis; hastayı laboratuvara yönlendiren kliniklerde öncelikle düşünülmemekte ve bu nedenle tanısı laboratuvaradan istenmemektedir. Bu ise çoklaştırma sonrası özel boyama yöntemlerinin rutin olarak uygulanmadığı laboratuvarlarda cyclosporiosisin atlanmasına yol açabilmektedir.

Ülkemizdeki ilk olgu 1997 yılının şubat ayında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Koç ve arkadaşları tarafından (138) AIDS'li bir hastanın kronik ishal etiyolojisi araştırılırken saptanmıştır. Büğet ve ark (169); 2001 yılında İstanbul'da Akut miyeloblastik lösemi tanısı konmuş olan 7 yaşındaki erkek hastada *Cyclospora* ookistleri bulmuşlardır. Daha sonra farklı bölgelerden değişik araştırmacılar tarafından olgu bildirimleri olmuştur (170-172). Kılbaş ve ark (173); Ankara'da, altı yıl önce böbrek nakli yapılan ve sürekli takrolimus, azotioprin, prednizolon tedavisi alan ve üç hafta süre ile devam eden sulu ishal, karın ağrısı, halsizlik ve kilo kaybı şikâyetleri ile nefroloji kliniğine başvuran 50 yaşındaki bir erkek hastanın Kinyoun's asit-fast ile boyanmış dışkı örneklerinde *Cyclospora* ookistlerine rastlamışlardır. Bu çalışmalar sonrasında özellikle immün sistemi baskılanmış hastalar başta olmak üzere nedeni açıklanamayan kronik ishallerde bu organizmanın düşünülerek spesifik tanı yöntemlerinin uygulanması gerektiği bildirilmiştir.

Hastalığın genellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde görülmesine rağmen immün sistemi sağlam kişilerde de görüldüğü vakalar da bildirilmiştir. Turgay ve ark (171); 2006 yılında yelkenli bir tekne ile Yunan adaları gezisi yapan ve ishal, karın ağrısı, bulantı kusma şikâyetleri ile başvuran 64 yaşındaki erkek olguda, nativ-lugol, etil asetat çöktürme yöntemi, Kinyoun's asit-fast boyama ve Trichrome boyama yöntemlerini uygulayarak *Cyclospora* ookistleri tespit etmişlerdir ve tanıyı doğrulamak için dışkı örneklerini flüoresan mikroskopunda 365 nm dalga boyunda incelemişlerdir. Oğuztürk ve ark (172); Malatya da gerçekleştirdikleri bir araştırmada ishalleri 54 hastanın sadece birinde *Cyclospora* ookistleri tespit etmişlerdir. Bu hastanın nativ-lugol ve trikrom boya ile incelenen preparatlarında sonuç negatif bulunurken Kinyoun's asit-fast boyama yöntemi ile boyanan preparatlarda *Cyclospora* ookistleri görülmüştür.

2010 yılının ocak ayında Eskişehir’de bildirilen bir olguya göre (174); 28 yaşında karasal iklimde ve yolculuk öyküsü olmadan yaşayan gebe bir kadında *C. cayetanensis* ve *C. parvum* ookistleri bulunmuştur. Hastanın dışkı örneğinin incelenmesinde nativ-lugol, modifiye asit-fast ve carbol fuksin boyama yöntemleri kullanılmıştır. Hastanın bağışıklık durumunun değerlendirilmesi için yapılan tüm immünglobulin ve lenfosit altgrup değerleri normal sınırlar içinde bulunmuştur. Hepatik ven trombozu, karaciğer yetmezliği ve doğum sonrası dönemde gelişen Budd-Chiari Sendromu tanısı konulan hastaya 15 gün süreyle Trimetoprim-sulfametoksazol tedavisi uygulanmış ve ookist sayısı azalmıştır. Gebeliğin bağışıklık üzerine etkisi dikkate alındığında *C. cayetanensis* ve *C. parvum*’un gebe kadınlarda uzun süreli diyarelerde akla getirilmesi gereken önemli bir etken olduğu bildirilmiştir.

Yazar ve arkadaşlarının (175) 2009 yılında bildirdiği üç olgudan birincisinde; birkaç haftadır mide bulantısı ve hafif ishal şikayeti olan, herhangi bir yurt dışı seyahati olmayan, 34 yaşındaki bayan hastada nativ-lugol ve Kinyoun's asit-fast boyama yöntemleri ile incelenen dışkı örneklerinde *C. cayetanensis* ookistleri görülmüştür. Hastanın yapılan fizik muayenesinde herhangi bir patolojik bulgu tespit edilememiş ve CBS ve biyokimyasal tetkiklerinin normal olduğu görülmüştür. Dışkısında *C. cayetanensis* ookistleri görülen, mide yakınmaları olan ve sulu dışkılama şikayeti ile gelen 18 yaşındaki ikinci bayan hastanın bu yakınmalardan dört hafta önce ahududu ve böğürtlen yediği anlaşılmıştır. Yurt dışı seyahat hikayesi olmayan hastanın yapılan fizik muayenede herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamış ve CBS ile biyokimyasal tetkiklerinde anormal durum saptanmamıştır. Üçüncü olguda ise karın ağrısı, zayıflama (4-5 kg), halsizlik ve kansız-mukussuz ve sık (günde 9-10 kez) ishal şikayeti ile gelen, yurt dışı seyahat hikayesi olmayan 26 yaşındaki bayan hastada *C. cayetanensis* ookistleri saptanmıştır.

Tram ve ark (176); 2008 yılında Vietnam’ın Hanoi bölgesinde ishalleri dışkı örneklerinin yanı sıra bitki ve marketlerden elde edilen su örneklerinde *Cyclospora* ookistlerinin prevalansını belirlemek için yaptıkları bir araştırma da; market suyu ve bitki örneklerinde %11,8 oranında çiftlik örneklerinde ise %8,4 oranında *Cyclospora* ookistleri bulunmuştur. Naito ve arkadaşlarının bildirdikleri bir olguda (177); Vietnam’ı ziyaret etmiş, ateş ve iki haftadan daha uzun süren sulu ishali bulunan 42 yaşındaki Fransız erkek hastanın dışkı örnekleri UV floresan mikroskobu kullanılarak incelenmiş ve

Cyclospora spp. tanısı konmuştur. Çalışmada; bağışıklığı sağlam hastalarda uzun süreli ishallerde *Cyclospora* spp.'nin düşünülmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Peru'da çocuklar üzerinde yapılan bir araştırmada; 5836 dışkı örneğinin 63'ünde *Cyclospora cayetanensis* ookistleri bulunmuştur. Pozitif bulunan hastalardan %32'sinin cyclosporiosis'e ait semptomları taşıdığı bildirilmiştir (130). Haiti'de AIDS hastalarında %10 oranında *C. cayetanensis* enfeksiyonuna rastlanırken, Lima'da ishallerde 126 AIDS hastasının birinde *C. cayetanensis* saptandığı bildirilmiştir (178).

Isoospora belli enfeksiyonunun kozmopolit bir dağılımı olmasına rağmen tropikal ve subtropikal iklim kuşağında; özellikle Haiti, Meksika, Brezilya, El-salvador, tropikal Afrika, Orta Doğu ve Güneydoğu Asya gibi bölgelerde daha yaygın olduğu bildirilmiştir (146).

Hindistan'ın Maharashtra bölgesinde, iki aydır ishal şikâyeti bulunan, 35 yaşında, erkek, HIV pozitif bir hastanın dışkı incelemesinde bol miktarda *Isoospora belli*'ye ait ookistler gözlemlenmiştir. Kötü sanitasyon veya çevre koşullarında yaşamayan hastaya trimetoprim-sulfamethoxazole tedavisi başlanmıştır. Ancak hastanın bir aylık tedavi sonrası öldüğü bildirilmiştir (179). Ebrahimzadeh ve Bottone (180); 54 yaşında HIV pozitif, homoseksüel bir erkekte *I. belli* saptamışlar, metranidazol dahil birçok kemoterapik ajan kullanılmasına rağmen enfeksiyonun 10 aydan fazla sürdüğü bildirilmiştir. Hastanın primethamine (75 mg/qid) ve sulfadiazine (4 mg/qid) 8 hafta kullanılması ile tamamen iyileştiği ve 16 hafta inceleme sonucu dışkısında ookiste rastlanmadığı bildirilmiştir. Verdier ve ark. (181); Haiti'deki Port-au-Prince kliniğinde 252 AIDS'li ve kronik ishallerde olanların ancak 22'sinde *I. belli* saptamışlardır.

Yurdumuzda bildirilen izosporiyaz olguları az sayıda olmakla birlikte, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde bulunabileceğini göstermektedir. Bu nedenle inatçı diyaresi olan bireylerin, immun statüsü de göz önüne alınarak sık aralıklarla ve mutlaka özel boyama yöntemlerinin uygulanarak dışkı incelemelerinin yapılması gerekmektedir. Ülkemizde ilk vaka 1958 yılında Kuntz ve arkadaşları (182) tarafından bildirilmiştir. Bu araştırmacılar 349 askerin dışkı örneklerini incelerken bu paraziti görmüşlerdir. Daha sonra Töreci ve Büget (183) 1976 yılında, 7 ve 12 yaşlarındaki iki çocukta bu parazitin ookistlerini görmüşlerdir.

Kayseri’de 2006 yılında, Kasım 2001 yılında böbrek nakli yapılmış olan bir erkek hastanın Mart 2005 yılında bu parazitoza yakalanmış olduğu belirlenmiştir. Karın ağrısı, halsizlik, bulantı, kusma ve 15 gündür süregelen kansız, sulu ishalden yakınan hastanın dışkıında modifiye asit-fast boyama ile *I. belli* ookistleri görülmüş; bir haftalık TMP-SMX tedavisinden sonra da iyileşmiştir (184). Köksal ve arkadaşları (185); 1999-2009 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi’ne başvuran şüpheli bağırsak parazit enfeksiyonu olan hastalardan 27.664 dışkı örneğini, nativ-lugol ve formalin-etil asetat konsantrasyon yöntemi ile bağırsak parazitleri yönünden incemiş ve bu inceleme sonucunda bir hastada *Isospora belli* ookistleri saptamışlardır.

Sonuç olarak; her yaş grubundan ishallerle ilişkili olgular ile immün sistemi baskılanmış hastalara ait dışkı örneklerinin *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. ve *Isospora* spp. açısından da spesifik tanı yöntemleri ile değerlendirilmeleri gerektiğini düşünmekteyiz. Sözkonusu bu parazitlerin saptanmasında Kinyoun’s asit-fast boya yöntemi referans bir tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir. Bu yöntemin yanı sıra; maliyeti yüksek olmasına rağmen tanıda sensitivitesi ve spesifitesi yüksek olan ELISA testinin ve hem daha duyarlı olan, hem de etkenin tür ayrımının yapılmasına olanak veren PCR gibi moleküler tanı yöntemlerinin de kullanılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Ülkemizde daha önce bu olguların sporadik olarak bildirilmesi; enfeksiyonun hekimler tarafından düşünülmemesi, laboratuarlarda spesifik tanı yöntemlerinin uygulanmaması ve deneyimli mikroskopistlerin bulunmamasına bağlanmıştır. Laboratuvar ve klinik çalışanlarının konu hakkında bilgilendirilmesi ve eğitilmesinin tanı açısından çok önemli olduğunu düşünmekteyiz. Bulaş kaynaklarının ve risk faktörlerinin belirlenmesi, korunma ve kontrol yöntemlerinin titizlikle uygulanması; ayrıca toplumun bu hastalıklar konusunda bilgilendirilmesi gerektiği kanaatindeyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Dinçer Ş. Coccidiosis: Tanım, Tarihçe, Taksonomi. Dinçer Ş (ed). Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği 2001; 17: 266-267.
2. Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology. 5th ed. Washington, D.C. ASM Press; 2007: 57.
3. Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis. Clin Microbiol Rev. 1991; 4: 325-358.
4. Miller DL, Ligett A, Radi ZA, Branch LO. Gastrointestinal cryptosporidiosis in a puppy. Vet. Parasitol. 2003; 115: 199-204.
5. Dubey JP, Speer CA, Fayer R. Cryptosporidiosis of man and animals. Boston CRC Press, 1990.
6. Dirim D, Turgay N, Alkan MZ. Bir Cryptosporidiosis olgusunun Kinyoun Asit-Fast boyası ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile takibi. Türkiye Parazitol. Derg. 2003; 27 (4): 237-239.
7. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. Clinical Microbiology Reviews 2004; 17: 172–197.
8. Meisel JL, Perera DR, Meligro C, Rubin CE. Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. Gastroenterology 1976; 70: 1156-1160.
9. Nime FA, Burek JD, Page DL, Holscher MA, Yardley JH. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. Gastroenterology 1976; 70: 592-598.

10. Soave R, Weikel CS. *Cryptosporidium* and other protozoa including *Isospora*, *Sarcocystis*, *Balantidium coli* and *Blastocystis*. Principles and practice of infectious diseases. 3rd Edition Ed. Mandell GL, Douglas RG, Jr, Bennett J.E. Churchill Livingstone Inc. New York 1990; 2122-2130.
11. Tumwine JK, Kekitiinwa A, Bakeera-Kitaka S, et al. Cryptosporidiosis and microsporidiosis in ugandan children with persistent diarrhea with and without concurrent infection with the human immunodeficiency virus. *Am J Trop Med Hyg.* 2005; 73: 921-5.
12. Jokipii L, Pohjola S, Valle SL, Jokipii AM. Cryptosporidiosis associated with traveling and giardiasis. *Gastroenterology* 1985; 89: 838-842.
13. Wolfson JS, Richter JM, Waldron MA, et al. Cryptosporidiosis in immunocompetent patients. *N Engl J Med.* 1985; 312: 1278-1282.
14. Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med.* 1994; 331:161-167.
15. Casemore DP, Armstrong M, Sands RL. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J Clin Pathol.* 1985; 38: 1337-1341.
16. Nina JMS, McDonald V, Dyson DA, et al. Analysis of oocyst wall and sporozoite antigens from three *Cryptosporidium* species. *Infect immun.* 1992; 60: 1509-1513.
17. Nichols GL, McLauchlin J. And Samuel D. A technique for typing *Cryptosporidium* isolates. *J Protozool*, 38, Suppl, 1991; 237-240.
18. Ortega YR, Sheehy RR, et al. Restriction fragment length polymorphism analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates of bovine and human origin. *J Protozool*, 38, Supple, 1991; 40-41.
19. Awad-El-Kariem, FM, Robinson HA, et al. Differentiation between human and animal strains of *Cryptosporidium parvum* using isoenzyme typing. *Parasitology* 1995; 110: 129-32.
20. Peng MM, Xiao L, et al. Genetic polymorphisms among *Cryptosporidium parvum* isolates: evidence of two distinct human transmission cycles. *Emerg Infect Dis*, 1997; 3: 567-573.
21. Morgan UM, Xiao L, et al. Variation in *Cryptosporidium*: towards a taxonomic revision of the genus. *Int J Parasitol*, 1999; 29: 1733-51.
22. Morgan-Ryan UM, Fall A, Ward L, et al. *Cryptosporidium hominis* n. sp (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from Homo sapiens. *J Eukaryotic Microbiol.* 2002; 49: 433-440.
23. Ramirez NE, Ward LA, Sreevatsan S. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes Infect*, 2004; 6(8): 773-85.

24. Ok ÜZ, Balcıoğlu İC. *Cryptosporidiosis*. In Özcel MA(ed), Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını 2007; No 22, ss: 363-382.
25. Yücel A. *Cryptosporidium* spp ve parazitliği. Töreci K (ed). Ülkemizde yeterince incelenmeyen enterik patojenler. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Basımevi 1989; s: 89-102.
26. Unat EK, Yücel A, Aklaş K, Samastı M. Unat'ın Tıp Parazitolojisi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları 1995; No:15 s 481-680.
27. Şimşir H. *Cryptosporidium parvum* Genotiplerinin İshalli Çocuklarda Çeşitli Yöntemlerle Tanımlanması Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2006.
28. Upton SJ and WL Current. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. J. Parasitol. 1985; 71(5): 625- 629.
29. Elliot DA, Coleman DJ, Lane MA, et al. *Cryptosporidium parvum* infection requires host cell Actinopolymerazation. Infect Immun. 2001; 69(9): 5940-42.
30. Sears CL, Kirckpatrick BD. Cryptosporidiosis and isosporiosis. In: Principles and Practice of Clinical Parasitology. John Wiley & Sons Ltd.Pres. 2001; p. 139-164.
31. Fayer R, Ungar BLP. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. Microbiol. Rev. 1986; 50: 458-483.
32. Fayer R, Speer A, Dubey JP. The general biology of *Cryptosporidium*. In: *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. Fayer R (ed). CRC Press-US, 1997; 1-41.
33. Current WL, and Reese NC. A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. J Protozool, 1986; 33: 98-108.
34. Sundermann CA, Lindsay DS, and Blagburn BL. In vitro excystation of *Cryptosporidium baileyi* from chickens. J Protozool, 1987; 34: 28-30.
35. Starling CR, Arrowood MJ. Cryptosporidia. Parasitic Protozoa. Academic Pres. 1993; 6 (65):159-224.
36. Saygı G. Paraziter Hastalıklar ve Parazitler. 2009; s: 156-166.
37. Kosek M, Alcantara C, Lima AAM, Guerrant RL. Cryptosporidiosis: an update. Lancet, 2001; 1: 262-269.
38. Leav BA, Mackam, Ward HD. *Cryptosporidium* species: new insights and old challenges. Clin Infect Dis, 2003; 36(7): 903-8.
39. Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. Microbes and Infection. 2002; 4: 1047–1058.
40. Goodgame RW. Understanding intestinal spore-forming protozoa: Cryptosporidia, Microsporidia, Isospora, and Cyclospora. Ann Intern Med. 1996; 124 (4): 429-41.
41. Mandel GL, Bennett JE, Dolin R. Cryptosporidiosis (*Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, and other species). In: White AC, editor. Principles and

- Practice of Infectious Diseases. Philadelphia, Churchill Livingstone Inc. 2005; p: 3215-3228.
42. Clark DP. New Insights into Human Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999; 12 (4): 554–563.
 43. Sasahara T, Maruyama H, Aoki M, et al. Apoptosis of intestinal crypt epithelium after *Cryptosporidium parvum* infection. *J Infect Chemother*. 2003; 9: 278–281.
 44. Griffiths J.K. Human cryptosporidiosis. Epidemiology, transmission, clinical disease, treatment and diagnosis. *Adv Parasitol*. 1998; 40: 37-85.
 45. Navin TR, Juranek DD. Cryptosporidiosis: clinical, epidemiologic, and parasitologic review *Rev. Infect. Dis*. 1984; 6: 313.
 46. Miller RA, Holmberg RE Jr, Clausen CR. Life- threatening diarrhea caused by *Cryptosporidium* in a child undergoing therapy for acute lymphocytic leukemia. *J Pediatr*. 1983; 103: 256-259.
 47. White AC. Cryptosporidiosis (*Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, other species). In: Principles and practice of infectious diseases. Mandell GL, Douglas RG Jr. Bennett JE (eds). Churchill Livingstone Inc New York: 2005; 3215-28.
 48. McDonald V. Host cell-mediated responses to infection with *Cryptosporidium*. *Parasite Immunol*. 2000; 22: 597-604.
 49. Theodos RCA. Innate and cell-mediated immune responses to *Cryptosporidium parvum*. In: Advances in Parasitology, opportunistic protozoa in humans. Baker JR, Muller R, Rollinson D (eds). Academic Press-US. Vol. 1998; 40: 87-119.
 50. McDonald V, Bancroft GJ. Immunology of intracellular parasitism. In: Chemical Immunology and Allergy. Liew FY, Cox FEG (eds). Karger, Basel, 1998; 70: 103-123.
 51. Dillingham RA, Lima AA, Guerrant RL. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes and Infection*. 2002; 4: 1059–1066.
 52. Joachim A. Human Cryptosporidiosis: An Update With Special Emphasis on the Situation in Europe. *J. Vet. Med*. 2004; 51: 251–259.
 53. Korkmaz M. Sporozoanlarla oluşan diyareler. II. Ulusal Tropikal Hastalıklar Kongresi. Şanlıurfa 25-29 Eylül 2000.
 54. Döşkaya M, Dayangaç N, Kuman HA. *Cryptosporidium parvum*. *T Parazitol Derg*, 2003; 27(1): 64-70.
 55. Inungu JN, Morse AA, Gordon C. Risk Factors, Seasonality, and Trends of Cryptosporidiosis Among Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2000; 62 (3): 384–387.
 56. Doğan N, Akgün Y. İshalli olgularda *Cryptosporidium* oksitlerinin araştırılması. *Türkiye Parazitol. Derg*. 1998; 22 (3): 243-246.

57. Tanyüksel M, Gun H, Doğancı L. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. in patients with neoplasia and diarrhea. Scand J Infect Dis. 1995; 27(1): 69-70.
58. Ok ÜZ, Kavaklı K, Çetingül N ve ark. Kemoterapi uygulanan tümörlü çocuklarda bağırsak parazitlerinin sıklığı. Türkiye Parazitol Derg. 1995; 19(3): 385-391.
59. Ok ÜZ, Korkmaz M, Ok GE ve ark. Kronik böbrek yetmezliğinde cryptosporidiosis ve blastocystosis. Türkiye Parazitol Derg. 1996; 20(1): 41-49.
60. Ok ÜZ, Cirit M, Üner A ve ark. Cryptosporidiosis and blastocystosis in renal transplant recipients. Nephron, 1997; 75: 171-174.
61. Dökmetaş İ, Bakır M, Elaldı N, Dökmetaş S. Kronik böbrek yetmezliği olan ishelli hastalarda *Cryptosporidium* araştırılması. Türkiye Parazitol Derg. 1998; 22(2): 125-128.
62. Mülazımoğlu L, Vahabođlu H, Görgün Ö ve ark. Beş yaş altı çocuklarda *Cryptosporidium* sıklığı. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 1993; 23: 113-115.
63. Akyön Y, Ergüven S, Arıkan S, Yurdakök K, Günalp A. *Cryptosporidium parvum* prevalence in a group of Turkish children. Turk J Pediatr. 1999; 41(2): 189-96.
64. Ögünç D, Çolak D, Tuncer D ve ark. Akut ishelli 0-6 yaş grubu çocuk dışkılarında enteropatojenlerin aranması. Türkiye Parazitol Derg. 2000; 24(3): 268-273.
65. Arıkan S, Ergüven S, Akyon Y, Günalp A. Cryptosporidiosis in immunocompromised patients in a Turkish university hospital. Acta Microbiol Immunol. Hung. 1999; 46 (1): 33-40.
66. Hunt DA, Shannon R, Palmer SR, Jephcott AE. Cryptosporidiosis in an urban community. Br Med J. 1984; 289: 814-816.
67. Weikel CS, Johnston LI, DeSouse MA, Guerrant RI. Cryptosporidiosis in Northeastern Brazil: association with sporadic diarrhea. J Infect Dis. 1985; 151: 963-965.
68. Jokipii L, Pohjola S, Jokipii A. *Cryptosporidium*: A frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms. Lancet. 1983; 358-360.
69. Mathan MM, Venkatesan S, George R, Mathew M, Mathan VJ. *Cryptosporidium* and diarrhea in Southern Indian child. Lancet. 1985; 1172-1175.
70. Addy PAK, Aikens-Bekoe P. Cryptosporidiosis in diarrheal children in Kumasi, Ghana. Lancet 1986; 735.
71. Shadid NS, Rahaman ASHM, Anderson BC, Mata LJ, Sanyal SC. Cryptosporidiosis in Bangladesh. Br Med J. 1985; 290: 114-115.
72. Rahman M, Shahid NS, Rahman H, et al. Cryptosporidiosis: a cause of diarrhea in Bangladesh. Am J Trop Med Hyg. 1990; 42: 127-130.
73. Mata L, Bolanos H, Pezarro D, Vives M. Cryptosporidiosis in children from some highland Costa Rica rural and urban areas. Am J Trop Med Hyg. 1984; 33: 24-29.

74. Taylor DN, Houston R, Shlim DR, et al. Etiology of diarrhea among travelers and foreign residents in Nepal. *JAMA* 1988; 260: 1245-1248.
75. Colebunders R, Lusakumuni K, Nelson AM, et al. Persistent diarrhea in Zairian AIDS patients: an endoscopic and histological study. *Gut*. 1988; 29: 1687-1691.
76. Navin TR, Hardy AM. Cryptosporidiosis in patients with AIDS. *J Infect Dis*. 1987; 155: 150.
77. Smith A, Reacher M, Smerdon W, et al. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-2003. *Epidemiol Infect*. 2006; 134(6): 1141-9.
78. Çeber K, Aslan G, Otağ F ve ark. Mersin İlinde İçme Suyu, Kullanma Suyu, Atık Su ve Deniz Sularında *Cryptosporidium* spp. Ookistlerinin Araştırılması. *Türkiye Parazitol. Derg.* 2005; 29 (4): 224-228.
79. Baxby D, Blundell N, Hart CA. Cryptosporidiosis. *Br Med J*. 1984; 289: 1148.
80. Brondson MA. Rapid dimethyl sulfoxide-modified acid-fast stain of *Cryptosporidium* oocysts in stool specimens. *J Clin Microbiol*. 1984; 19: 952-953.
81. Garcia LS, Brewer TC, Bruckner DA. Fluorescent detection of *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens by using monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol*. 1987; 25: 119-121.
82. Garcia LS, Bruckner DA, Brewer TC, Shimizu RY. Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *J Clin Microbiol*. 1983; 18: 185-190.
83. Conolly GM, Dryden MS, Shanson DC, Gazzard BG. Cryptosporidial diarrhoea in AIDS and its treatment. *Gut*. 1988; 29: 593-597.
84. Garcia LS, Bruckner DA. Intestinal protozoa: Coccidia and Microsporidia. *Diagnostic Medical Parasitology*. Washington DC, ASM Press. 1997; p. 59-63.
85. Reese NC, Current WL, Ernst JV, Bailey WS. Cryptosporidiosis of man and calf: a case report and results of experimental infections in mice and rats. *Am J Trop Med Hyg*. 1982; 31: 226-229.
86. Zierdt WS. Concentration and identification of *Cryptosporidium* spp. by use of a parasite concentrator. *J Clin Microbiol*. 1984; 20: 860-861.
87. Casemore DP. Laboratory methods for diagnosing Cryptosporidiosis. *J.Clin. Pathol*. 1991; 44: 445-451.
88. Loose JH, Sedergran DJ, Cooper HS. Identification of *Cryptosporidium* in paraffin-embedded tissue sections with the use of a monoclonal antibody. *Am J Clin Pathol*. 1989; 91: 206-209.

89. Arrowood MJ, Sterling CR. Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-based methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. *J Clin Microbiol.* 1989; 27: 1490-1495.
90. Garcia LS, Shum AC, Bruckner DA. Evaluation of a new monoclonal antibody combination reagent for direct fluorescence detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens. *J Clin Microbiol.* 1992; 30: 3255-3257.
91. Rosenblatt JE, Sloan LM. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* spp. in stool specimens. *J Clin Microbiol.* 1993; 31: 1468-1471.
92. Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. *Clin Microbiol.* 1997; 35(6): 1526-9.
93. Alles AJ, Waldron MA, Sierra LS, Mattia AR. Prospective comparison of direct immunofluorescence and conventional staining methods for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in human fecal specimens. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 1632-1634.
94. Campbell PN, Current WL. Demonstration of serum antibodies to *Cryptosporidium* spp. In normal and immunodeficient humans with confirmed infections. *J Clin Microbiol.* 1983; 18: 165-169.
95. Ungar BLP, Soave R, Fayer R, Nash TE. Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunocompromised persons. *J Infect Dis.* 1986; 153: 570-578.
96. Laxer MA, Alcantara AK, Javato-Laxer M, et al. Immune response to cryptosporidiosis in Philippine children. *Am J Trop Med Hyg.* 1990; 42: 131-139.
97. Janoff EN, Mead PS, Mead JR, et al. Endemic *Cryptosporidium* and *Giardia lamblia* infection in a Thai orphanage. *Am J Trop Med Hyg.* 1990; 43: 248-256.
98. Ungar BLP, Gilman RH, Lanata CF, Perez-Schael I. Seroepidemiology of *Cryptosporidium* infection in two Latin American populations. *J Infect Dis.* 1988; 157: 551-556.
99. Xiao L, Ryan UM. Cryptosporidiosis: an update in molecular epidemiology. *Curr Opin Infect Dis.* 2004; 17(5): 483-90.
100. Gasser RB, O'Donoghue P. Isolation, propagation and characterisation of *Cryptosporidium*. *Int. J. Parasitol.* 1999; 29: 1379-1413.
101. Carey CM, Lee H, Trevors JT. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Res.* 2004; 38: 818-862.

102. Wu Z, Nagano I, Boonmars T, Takahashi Y. Further Evidence That Genotype I and Genotype II of *Cryptosporidium parvum* Are Distinct Tropical Medicine and Health. 2004; 32 (1): 5-14.
103. Balatbat AB, Jordan GW, Tang YJ, Silva J. Detection of *Cryptosporidium parvum* DNA in Human Feces by Nested PCR. Journal of Clinical Microbiology. 1996; 34 (7): 1769–1772.
104. Limor JR, Lal AA, Xiao L. Detection and differentiation of *Cryptosporidium* parasites that are pathogenic for humans by Real-Time PCR. J. Clin. Microbiol. 2002; 40 (7): 2335-2338.
105. Awad-El-Kar EM, Robinson HA, Petry F, et al. Differentiation between human and animal isolates of *Cryptosporidium parvum* using molecular and biological markers. Parasitol. Res. 1998; 84: 297-301.
106. Diaz PJA, Marino CA, Garcia RJF, et al. Eradication of AIDS-related gastric cryptosporidiosis with azithromycin. Eur J Int Med. 1999; 10: 220.
107. Smith NH, Cron S, Valdez LM, Chappell CL, White AC Jr. 1998. Combination drug therapy for cryptosporidiosis in AIDS. J Infect Dis. 1998; 178: 900.
108. Uip DE, Lima AL, Amato VS, et al. Roxithromycin treatment for diarrhea caused by *Cryptosporidium* spp. in patients with AIDS. J Antimicrob Chemother. 1998; 41 (Suppl B): 93.
109. Fichtenbaum CJ, Zackin R, Feinberg J, Benson G, Griffiths JK. Rifabutin but not clarithromycin prevents cryptosporidiosis in persons with advanced HIV infection. AIDS, 2000; 14(18): 2889-93.
110. Amadi B, Mwiya M, Musuku J, et al. Effect of nitazoxanide on morbidity and mortality in Zambian children with cryptosporidiosis: a randomised controlled trial. Lancet 2002; 360 (9343): 1375.
111. Teipari, S. *Cryptosporidium*, notes on epidemiology and pathogenesis, Parasitology Today, 1985; 33: 24-29.
112. Robertson LJ, Paton CA, Campbell AT, et al. Giardia cysts and *Cryptosporidium* oocysts at sewage treatment Works Scotland, UK. Wat. Res. 2000; 34 (8), 2310- 2322.
113. Ashford RW. Occurrence of an undescribed coccidian in man in Papua New Guinea, Ann Trop Med Parasitol, 1979; 73: 497-500.
114. Soave R, Dubey JP, Ramos LJ, Tummings M. A new intestinal pathogen? Clin Res, 1986; 34: 533.
115. Narango J, Sterling C, Gilman R. *Cryptosporidium muris* like objects from fecal samples of Peruvians, 38. Amerikan Tropikal Tıp ve Hijyen Kong. Kitapçığı, 1989; s: 97.

116. Long EG, Ebrahimzadeh A, White EH, Swisher B, Callaway CS. Alga associated with diarrhea in patients with acquired immunodeficiency syndrome and in travelers, *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1101-1104.
117. Long EG, White EH, Carmichael WW. Morphologic and staining characteristics of a cyanobacterium like organism associated with diarrhea, *J Infect Dis*, 1991;164: 199-202.
118. Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH, Cama VA, Diaz F. Cyclospora species: a new protozoan pathogen of humans, *N Engl J Med*, 1993; 328: 1308-1312.
119. Ortega YR, Gilman RH and Sterling CR. A new coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae) from humans. *J Parasitol*, 1994; 80: 625-9.
120. Hoge CW, Shlim DR, Ghimire M. Placebo-controlled trial of cotrimoxazole for cyclospora infections among travellers and foreign residents in Nepal, *Lancet*, 1995; 345: 691-693.
121. Herwaldt BL, Ackers M-L. An outbreak in 1996 of cyclosporiasis associated with imported raspberries, *N Engl J Med*, 1997; 336: 1548-1556.
122. Relman DA, Schmidt TS, Gajadhar A, et al. Molecular phylogenetic analysis of *Cyclospora*, the human intestinal pathogen, suggests that it is closely related with *Eimeria* species. *J Infect Dis*, 1996; 173: 440-445.
123. Ortega YR, Sterling CR and Gilman RH. *Cyclospora cayetanensis*. *Adv Parasitol*, 1998; 40: 399-418.
124. Yoder K, Sethabutr O, Relman DA. PCR-Based detection of the intestinal pathogen *Cyclospora*. In *PCR Protocols for Emerging Infectious Diseases* (DH Persing, Ed), Washington, Dc: ASM Pres, 1996; pp. 169-175.
125. www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Cyclosporiasis.htm
126. Connor BA, Johnson E, Soave R. Reiter syndrome following protracted symptoms of *Cyclospora* infection. *Emerg Infect Dis*, 2001; 7: 453-454.
127. Ortega YR, Nagle R, Gilman RH, et al. Pathologic and clinical findings in patients with cyclosporiasis and a description of intracellular parasite life-cycle stage. *J Infect Dis*, 1997; 176:1584-1589.
128. Nhieu JT, Nin F, Fleury-Feith J, et al. Identification of intracellular stages of *Cyclospora* species by light microscopy of thick sections using hematoxylin. *Hum Pathol*, 1996; 27: 1107-1109.
129. Sun T, Ilardi CF, Asnis D, et al. Light and electron microscopic identification of *Cyclospora* species in the small intestine. Evidence of the presence of asexual life cycle in human host. *Am J Clin Pathol*, 1996; 105: 216-220.

130. Madico G, McDonald J, Gilman RH, Cabrera L, Sterling CR. Epidemiology and treatment of *Cyclospora* infections in Peruvian children. *Clin Infect Dis*, 1997; 24: 977-981.
131. Wurtz RM. *Cyclospora*: a newly identified intestinal pathogen of humans. *Clin Infect Dis*, 1994; 18: 620-623.
132. Soave R, Herwaldt BL, Relman DA. *Cyclospora*. *Infect Dis North Am*, 1998; 12: 1-12.
133. Herwaldt BL. *Cyclospora cayetanensis*: A review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s, *Clin Infect Dis*, 2000; 31: 1040-1057.
134. Sifuentes-Osornio J, Porrás Cortes G, Bendall RP et al. *Cyclospora cayetanensis* infection in patients with and without AIDS: biliary disease as another clinical manifestation. *Clin Infect Dis*, 1995; 21: 1092-97.
135. Hoge CW, Shlim DR, Rajah R, et al. Epidemiology of diarrheal illness associated with coccidian-like organism among travellers and foreign resident in Nepal. *Lancet*, 1993; 341: 1175-79.
136. Zar FA, El-Bayoumi E, Yungbluth MM. Histological proof of acalculous cholecystitis due to *Cyclospora cayetanensis*. *Clin Infect Dis*. 2001; 33: 140-141.
137. Richardson RF Jr, Remler BF, Katirji B, Murad MH. Guillian-Barre syndrome after *Cyclospora* infection. *Muscle Nerve*, 1998; 21 (5): 669-71.
138. Koç AN, Aygen B, Şahin İ, Kayabaş Ü. *Cyclospora sp.* Associated with diarrhea in a patient with AIDS in Turkey, *T J Med Sci*, 1998; 28: 557-558.
139. Hoge CW, Echeverria P, Rajah R, et al. Prevalence of *Cyclospora* species and other enteric pathogens among children less than 5 years of age in Nepal. *J Clin Microbiol*, 1995; 33: 3058-60.
140. Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, et al. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *Clin Infect Dis*, 2001; 32: 331-350.
141. Keystone JS, Kozarsky P. *Isospora belli*, *Sarcocystis* Species, *Blastocystis hominis* and *Cyclospora*. “Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*”, Churchill-Livingstone, Philadelphia, 2000; p, 2919.
142. Wenyon CM. Coccidiosis of cats and dogs and the status of the *Isospora* of man. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1923; 17: 231-288.
143. Kuman HA, Altıntaş N. “*Isospora belli*” Protozoon Hastalıkları, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 1996; s: 142-144.
144. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTLM/Cystoisosporiasis.htm>
145. McDonald V and Kelly MP. Intestinal coccidia. In: Cox FEG, Wakelin D, Gillespie SH, Despoismier DD (eds), *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections; Parasitology*. 13 nd ed Washington, ASM press, 2005; 399-421.

146. Sorvillo FJ, Lieb LE, Seidel J, Kerndt P, Turner J & Ash LR. Epidemiology of isosporiosis among persons with acquired immunodeficiency syndrome in Los Angeles County. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1995; 53: 656–659.
147. Berlin OGW, Contreas CN Sowerby TM. Detection of *Isoospora* in the stools of AIDS patients using a new rapid autofluorescence technique. *AIDS* 1996; 10: 422.
148. Garcia LS. *Practical Guide to Diagnostic Parasitology*, ASM, Washington DC, 1999; p: 214.
149. Comin CE & Santucci M. Submicroscopic profile of *Isoospora belli* enteritis in a patient with acquired immune deficiency syndrome. *Ultrastruct. Pathol.* 1994; 18: 473–482.
150. AWWA Research Foundation. Drinking Water Inspectorate Fact Sheet-*Isoospora belli*, 1997; 13(1). <http://www.awwarf.com/mewprojects/pathegeons/Isoospor.html>, 19.08.2001.
151. Emre Z, Alabay M, Düzgün A, Çerçi H. Comparison of staining and concentration techniques for detection of *Cryptosporidium* oocysts in cattle fecal specimens. *T J Vet Animal Sci.* 1997; 21: 293-296.
152. Public Health Laboratory Service Study Group. Cryptosporidiosis in England and Wales; prevalence and clinical and epidemiological features. *Br. Med J.* 1990; 300: 774-777.
153. Över U, Söyletir G. İshalle Seyreden Hastalıklarda Kryptosporidiyumun Rolü *Flora*, 1997; 2: 98-104.
154. Pereira MGC, Atwill ER, Barbosa AP, Silva SAE, García-Zapata MTA. Intra- Familial and Extra-Familial Risk Factors Associated with *Cryptosporidium parvum* Infection Among Children Hospitalized for Diarrhea in Goiania, Goias, Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002; 66 (6): 787–793.
155. Gatei W, Wamae CN, Mbae C, et al. Cryptosporidiosis: Prevalence, Genotype Analysis, and Symptoms Associated with Infections in Children in Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006; 75 (1): 78–82.
156. Alver O, Töre O. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesindeki Bağırsak Parazit Olgularının Prevalansı ve Dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2006; 30 (4): 296-301.
157. Fındık D, Karabayraktar A. Gaita örneklerinde *Cryptosporidium* ookistlerinin araştırılması. *Türkiye Parazitol. Derg.* 1994; 18 (4): 415-419.
158. Özçelik S, Dökmetaş S, Sümer Z, İçağasıoğlu D, Dökmetaş İ. Gastroenteritlerde *Cryptosporidium* görülme sıklığı. *Türkiye Parazitol Derg.* 1996; 20 (3): 333-337.
159. İnceboz T, Sarı B, Orhan V. Gastrointestinal şikâyetleri olan olgularda *Cryptosporidium* araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg.* 2002; 26: 149-150.
160. Çeliksöz A, Çelik S. Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde gastroenteritli ve malnütrisyonlu hastalarda *Cryptosporidium* spp. Araştırması *Türkiye. Parazitol. Derg.* 2003; 27 (2): 85-88.

161. Atambay M, Daldal N, Çelik T. Malatya'da İshalli Dışkılarda *Cryptosporidium* spp. Araştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg. 2003; 27 (1): 12-14.
162. Doğancı T, Araz E, Ensari A, Tanyüksel M, Doğancı L. Detection of *Cryptosporidium parvum* infection in childhood using various techniques. Med Sci Monitor. 2002; 8 (12): 223-226.
163. Börekçi G, Otağ F, Emektaş G. Mersin'de bir gecekondulu mahallesinde yaşayan ailelerde *Cryptosporidium* prevalansı. İnfek Derg. 2005; 15 (1): 19-41.
164. Tamer GS, Balıkçı E, Erbay A. Lösemi ve Lenfoma Tanısı Alan Çocuklarda *Cryptosporidiosis* Prevalansı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2008; 32 (3): 192 – 197.
165. Ülçay A, Görenek L, Coşkun Ö ve ark. İmmün Yetmezlikli Hastalarda İntestinal Protozoonların Tanısı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2008; 32 (4): 328 – 333.
166. Tanyüksel M, Haznedaroğlu T, Gün T. Neoplastik hastalarda *Cryptosporidium* spp. araştırılması. T. Parazitoloj Derg. 1995; 19(1), 56-63.
167. Ortega YR, Roxas CR, Gilman RH, et al. Isolation of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru, Am J Trop Med Hyg 1997; 57: 683.
168. Fleming CA, Caron D, Gunn JE, Barry MA. A foodborne outbreak of *Cyclospora cayetanensis* at a wedding: Clinical features and risk factors of illness, Arch Intern Med 1998; 158: 1121.
169. Büğet E, Boral ÖB, Uysal HK ve ark. Türkiye'de İlk Kez Belirlenen *Cyclospora cayetanensis* Etkenli Diyare Olgusu. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2001; 30: 162-165.
170. Yazar S, Yalçın Ş, Şahin İ. *Cyclospora cayetanensis*. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2003; 27(1): 56-63.
171. Turgay N, Yolasığmaz A, Üner A. Yurtdışı Seyahat Hikâyesi Olan Bir *Cyclosporiasis* Olgusu Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2006; 30 (2): 83-85.
172. Oğuztürk H, Turtay MG, Ertan C ve ark. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalına Başvuran İshalli Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Değerlendirilmesi. Konuralp Tıp Dergisi 2010; 2(1): 8-11.
173. Kılbaş ZG, Yenicesu M, Araz E, Tanyüksel M. Renal Transplantlı Bir Hastada *Cyclospora cayetanensis* Enfeksiyonu. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2009; 66 (1): 25-27.
174. Doğan N, Sağlık I. *Cyclospora cayetanensis* and *Cryptosporidium parvum* coinfection in a pregnant woman with prolonged diarrhoea. Mikrobiyol Bul. 2010 Jan; 44(1): 155-9.

175. Yazar S, Mıstık S, Yaman O ve ark. Kayseri'de *Cyclospora cayetanensis* Kaynaklı Üç İshal Olgusu. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2009; 33(1): 085-088.
176. Tram NT, Hoang LM, Cam PD, et al. Cyclospora spp. in herbs and water samples collected from markets and farms in Hanoi, Vietnam. Trop Med Int Health. 2008 Nov;13(11):1415-20. Epub 2008 Oct 6.
177. Naito T, Mizue S, Misawa S, et al. Cyclospora infection in an immunocompetent patient in Japan. Jpn J Infect Dis. 2009 Jan;62(1):57-8.
178. Pape JW, Verdier RI, Boncy M, Boncy J, Johnson WD Jr. Cyclospora infection in adults infected with HIV clinical manifestations, treatment and prophylaxis. Annals Int Med, 1994; 121: 654-657.
179. Mudholkar VG, Namey RD. Heavy infestation of Isospora belli causing severe watery diarrhea. Indian J Pathol Microbiol. 2010 Oct-Dec; 53(4): 824-5.
180. Ebrahimzadeh A, Bottone EJ. "Persistent Diarrhea caused by *Isospora belli*: Therapeutic Response to Pyrimethamine and Sulfadiazine", Clinical Studies, 26: 87-89. Dinçer Ş (ed). Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği 1996; 17: 266-267.
181. Verdier RI, Fitzgerald DW, Pape JW, Johnson WD Jr. "Trimethoprim-sulfamethaxazole compared with ciprofloxacin for treatment and prophylaxis of *Isospora belli* and *Cyclospora cayetanensis* infection in HIV-infected patients. A randomised, controlled trial" Annals of Internal Medicine, 132 (11):885-8. Dinçer Ş (ed). Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği 2000; 17: 266-267.
182. Kuntz RE, Lawless DK, Langbehn HR. Intestinal protozoa and helminths in the peoples of western (Anatolia) Turkey. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1958; 7(3):298-301.
183. Töreci K, Büget E. Yurdumuzda ilk defa rastladığımız iki isosporiasis belli vakası. İstanbul Tıp Fak Mecm. 1976; 39: 568-580.
184. Yazar S, Tokgöz B, Yaman O Şahin İ. Renal Transplantlı Bir Hastada Isospora belli Enfeksiyonu. Türkiye Parazitol Derg. 2006; 30(1): 22-24.
185. Köksal F, Başlantı I, Samastı M. A Retrospective Evaluation of the Prevalence of Intestinal Parasites in Istanbul, Turkey. Türkiye Parazitol Derg. 2010; 34(3): 166-171.

KLİNİK ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ETİK KURUL DEĞERLENDİRME FORMU

ETİK KURULUN ADI	: KAYSERİ 1 NOLU ETİK KURULU
AÇIK ADRES	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Melikgazi/KAYSERİ
TELEFON	: 0 352 437 49 10 - 11
FAKS	: 0 352 437 52 85
E-POSTA	: byancar@erciyes.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	İshalli Hastalarda İntestinal Coccidian Parazitlerin Kopro-parazitolojik Yöntemlerle Araştırılması			
	ARIŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU				
	EUDRACT NUMARASI				
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. İzzet Şahin			
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Parazitoloji			
	KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI				
	KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI				
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı			
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ				
	BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	Kayseri 1 Nolu Etik Kurulu			
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ				
	UZMANLIK TEZİ/ AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ	<input checked="" type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI	<input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
FAZ 2		<input type="checkbox"/>			
FAZ 3		<input type="checkbox"/>			
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
BE/BY		<input type="checkbox"/>			
DiĞER		<input type="checkbox"/>		Diğeri ise belirtiniz	
İLAÇ DIŞI ARAŞTIRMA		<input type="checkbox"/>		Belirtiniz	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ	<input checked="" type="checkbox"/>	ÇOKMERKEZ	<input type="checkbox"/>	
	ULUSAL	<input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	<input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğeri <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŐURÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğeri <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŐ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğeri <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğeri <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DiĞER BELGELER	BELGE ADI	Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	
	SIGORTA	
	HASTA KARTI/GÜNÜKLERİ	
	ILAN	
	YILLIK BİLDİRİM	
	SONUÇ RAPORU	
	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ	
	DiĞER	


Bahri YANCAR
Fakülte Şefi

Karar No : 2009/125

Karar Tarihi : 05.11.2009

KARAR BİLGİLERİ

Fakültemiz Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. İzzet Şahin'in sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına ve kurumumuz kararının başvuru sahibine ve dekanlık makamına arzına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.

ETİK KURUL BİLGİLERİ

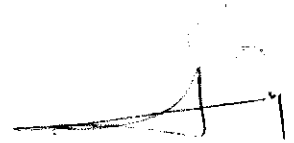
ÇALIŞMA ESASI

Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kulavuzu, ve Etik Kurul SOP

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI : Prof. Dr. Kader KÖSE

ETİK KURUL ÜYELERİ

Ünvanı / Adı Soyadı Ek Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Kader KÖSE	Biyokimya	E.Ü. Tıp Fak.	E K X	E H X	E X K	
Prof. Dr. Duran ARSLAN	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E X K	E K X	E X K	
Prof. Dr. Nazan DOLU	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E K X	E K X	E X K	
Doç. Dr. İrfan ÖZYAZGAN	Plastik ve Rek. Cer.	E.Ü. Tıp Fak.	E X K	E K X	E X K	
Doç. Dr. Polat DURUKAN	Acil Tıp	E.Ü. Tıp Fak.	E X K	E K X	E X K	
Yrd. Doç. Dr. H.Basri ULUSOY	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E X K	E K X	E K X	
Yrd. Doç. Dr. Gülay YILDIRIM	Deontoloji	C.Ü. Tıp Fak.	E K X	E K X	E K X	
Öğr. Gör. Dr. Ahmet ÖZTÜRK	Tıp Bilişimi ve Biyostatistik	E.Ü. Tıp Fak.	E X K	E K X	E X K	
Ecz. Dilşad KÜÇÜKKEMAH	Eczacı	E.Ü. Tıp Fak.	E K X	E K X	E X K	
Av. Zübeyde ÇELEBİ	Avukat	E.Ü.	E K X	E K X	E X K	
Sevtap KOÇER			E K X	E K X	E X K	



Bahri YANCAR
Fakülte Şefi

ÖZGEÇMİŞ

Hanife TEMEL. 1980 yılında Kayseri’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kayseri’de tamamladıktan sonra 1999 yılında Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi biyoloji bölümünde lisans öğrenimine başladı. 2004 yılında bu bölümden mezun oldu. 2005 yılında E.Ü. Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında sözleşmeli personel olarak göreve başladı. 2006 yılında E.Ü. Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.