

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BLASTOCYSTIS HOMINIS'İN IN VITRO KÜLTÜRÜ VE
ANTİPROTOZOAL İLAÇLARIN IN VITRO
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tezi Hazırlayan
Berna HAMAMCI

138082

Tezi Yöneten
Prof. Dr. İzzet ŞAHİN

T.C. KÜLTÜR VE TURİZM BAKANLIĞI
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Tıp Fakültesi
Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

138082

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 01-11-2 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Eylül 2003
KAYSERİ

Bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

06/10/2003

JÜRİ

Üye : Prof. Dr. İzzet ŞAHİN (Danışman)

Üye : Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ

Üye : Doç. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU

İmza
38

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 06.10.2003 tarih ve 299 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

11/11/2003...

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Saadet AYDOĞAN



TEŞEKKÜR

Çalışmalarında bilgi, eleştiri ve yardımlarıyla beni yönlendiren, sabır ve desteğini esirgemeyen değerli Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı ve tez yöneticim hocam Sayın Prof. Dr. İzzet ŞAHİN'e,

Çalışmamın her aşamasında gerek bilimsel, gerekse manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Süleyman YAZAR'a,

Tezimin her aşamasında sabır, manevi destek ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Network Sorumlusu Salih Murat GÜRBÜZ'e,

Çalışmamda uyumlu bir ortam sağlayarak her konuda bana destek olan ve tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım, Dr. Ozan Yaman, Dr. Şaban Yalçın, Biyolog Nimet Gözkenç, Dr. Funda Demirtaş, Ülkü Yılmaz, Ülfet Mercan, Biyolog Sevinç Şener ve Mehmet Kısır'a,

Tezimin istatistiksel değerlendirmesi aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Eylem İtir Ekinci'ye,

Çalışmalarımın her aşamasında ve en zor durumlarımda bana sabır gösteren, huzur veren ve yardımlarını esirgemeyen, annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

BLASTOCYSTIS HOMINIS'İN IN VITRO KÜLTÜRÜ VE ANTİPROTOZOAL İLAÇLARIN IN VITRO ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Blastocystis hominis özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde olmak üzere bütün dünyada yaygın olarak bulunan bir protozoondur. Potansiyel patojen olarak düşünülen bu protozoon, özellikle immun yetmezlik söz konusu olduğunda çeşitli gastro intestinal şikayetlere sebep olmaktadır.

Çalışmada, *B. hominis* üzerine in vitro ortamda, ornidazol, metronidazol, Trimethoprim-sülfametaksazol (TMP-SMX), azitromisin ve itrakonazol'un farklı konsantrasyonlardaki (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada kullanılan parazit izolatları, Erciyes Üniversitesi Parazitoloji Anabilim Dalına başvuran ve *B. hominis* saptanan hastalardan temin edilmiş ve Robinson besiyerine ekimleri yapılarak üretilmiştir. Daha sonra oluşturulan ana besiyerinde izolatların üretilmesine devam edilmiş ve son yoğunluğun mm³'de $1,1 \times 10^5$ olduğu saptanmıştır. Pasajlarda kullanılan 20 ml'lik vida kapaklı 85 tüp içerisindeki 6 ml Robinson besiyeri üzerine ana besiyerinde üretilen izolatların ekimleri yapılmıştır. İlaçlar Dimethyle sülfokside (DMSO) ve potassium fitalat içerisinde çözdürülerek 5 farklı konsantrasyonda (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) hazırlanmıştır. İlaç konsantrasyonlarından üçer seri, hazırlanan besiyeri içerisine her birinden 60 µl eklenmiştir. Thoma lamı kullanılarak 36, 48, 72, 168, 216. saatlerde ve üçer gün arayla iki kez kontrol edilerek parazit sayımları yapılmıştır.

Her bir konsantrasyonda ilaçların etkileri saatlere göre karşılaştırıldığında *B. hominis* üzerine en iyi sonuç veren ilaç konsantrasyonunun 100 µg/ml olduğu saptanmıştır. En etkili ilacın ornidazol olduğu ve bunu metronidazol, azitromisin, itrakonazol ve TMP-SMX'in izlediği gözlenmiştir. Ornidazol ile metronidazolün parazit üzerine etkileri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı buna karşın her iki ilacın etkileri ile diğer ilaçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğu saptanmıştır ($p < 0.05$, F: 6.528).

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis hominis*, Robinson besiyeri, In vitro kültür, Antiprotozoal ilaçlar.

IN VITRO CULTURE OF *BLASTOCYSTIS HOMINIS* AND INVESTIGATION OF IN VITRO EFFECTS OF ANTIPROTOZOAL DRUGS

ABSTRACT

Blastocystis hominis is a protozoon, with a worldwide distribution, especially in tropical and subtropical regions. *B. hominis*, as a protozoon, is considered to cause gastrointestinal symptoms especially in immune failure or disjunction.

In this study, in vitro effects of ornidazole, metranidazole, trimethoprim-sulphamethaxazole (TMP-SMX), azitromisine and itraconazole on *B. hominis* in various concentrations (100, 50, 25, 12,5 and 6 µg/ml) were investigated.

All the stool samples were collected from the patients with blastocystosis who applied the Parazitology Department of Erciyes University, and cultured in the Robinson's medium. Then the isolates were developed in the mother culture and it was determined to contain a 1.1×10^5 *B. hominis*/mm³. 85 screw tapped 20-ml tubes which contain 6 ml Robinson's medium each, were passed from mother culture. Then the drugs were prepared in 5 different concentrations (100, 50, 25, 12,5 and 6 µg/ml) by dissolving them in Dimethyl sulphoxide (DMSO) and potassium fitalate. Each concentration of the each drugs was added at a volume of 60 ml to the tubes, which were prepared in three series. The tubes were checked in every 36., 48., 72., 168 and 216. hour and after this period in every 3 days periodically and their haemocytometer counts were examined.

By comparing the effects of the drugs due to the hours, it is determined that the most effective drug concentration on *B. hominis* is 100 µg/ml. Moreover, in term of effectivity drugs were ornidazole, azitromisine, itraconazole and TMP-SMX, respectively. Comparing the effects of the drugs on parasite, ornidazole and metronidazole were significantly different from all other drugs whereas there was no significant difference between each other.

Key Words: *Blastocystis hominis*, Robinson's medium, In vitro culture, Antiprotozoal drugs.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK.....	I
KABUL ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. TAKSONOMİ.....	2
2.2. MORFOLOJİ.....	4
2.2.1. Formların Tanımlanması.....	5
2.2.1.1. In-vivo Ortamda Görülen Form.....	5
2.2.1.2. Taze Dışkı Formu.....	6
2.2.1.3. Kist Formu.....	6
2.2.1.4. Vakuolar Form.....	7
2.2.1.5. Granüler Form.....	8
2.2.1.6. Amoeboid Form.....	9
2.2.1.7. Diğer Formlar.....	10
2.2.2. Fonksiyonları Belirgin Olmayan Yapılar.....	10
2.2.2.1. Merkezi Vakuol.....	10
2.2.2.2. Mitokondrileri.....	12
2.2.2.3. Hücre Çekirdeği.....	13
2.2.2.4. Yüzey Kılıfı.....	14
2.3. HAYAT DÖNGÜSÜ.....	15
2.4. <i>BLASTOCYSTIS HOMİNİS</i> 'İN KÜLTÜRÜ.....	18
2.5. KLİNİK VE PATOGENEZ.....	19
2.6. TANI.....	22
2.6.1. Direkt Tanı Yöntemleri.....	22
2.6.2. Serolojik Yöntemler.....	23
2.6.3. Diğer Yöntemler.....	23

2.7. EPİDEMİYOLOJİ.....	24
2.8. TEDAVİ.....	25
2.8.1. Antiamibik İlaçlar.....	26
2.8.1.1. Metronidazole ve Diğer 5-Nitroimidazollar.....	26
2.8.1.2. Ornidazol ve Tinidazol.....	28
2.8.2. İmidazol Ve Triazol Türevli Antifungal İlaçlar.....	29
2.8.3. Azitromisin.....	30
2.8.4. Ko-Trimaksazol.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. DİREKT TANI YÖNTEMİ	34
3.2. ROBINSON BESİYERİ.....	35
3.3. İLAÇLARIN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI.....	39
3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	40
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	47
6. KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	

ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. <i>Blastocystis hominis</i> 'in Hayat Döngüsü	15
Şekil 2.2. <i>Blastocystis hominis</i> 'in Hayat Döngüsü	17
Şekil 2.3. Sülfonamidler ve trimetoprim'in etki yerleri.....	32
Şekil 4.1. 100 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.....	42
Şekil 4.2. 50 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.....	43
Şekil 4.3. 25 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.....	44
Şekil 4.4. 12,5 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.....	45
Şekil 4.5. 6 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.....	46
Tablo 4.1. 100 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların <i>B. hominis</i> üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması. (S1,2,3= Seri 1,2,3).....	41
Tablo 4.2. 50 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların <i>B. hominis</i> üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması. (S1,2,3= Seri 1,2,3).....	43
Tablo 4.3. 25 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların <i>B. hominis</i> üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması. (S1,2,3= Seri 1,2,3).....	44
Tablo 4.4. 12,5 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların <i>B. hominis</i> üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması. (S1,2,3= Seri 1,2,3).....	45
Tablo 4.5. 6 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların <i>B. hominis</i> üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması. (S1,2,3= Seri 1,2,3).....	46

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Blastocystis hominis, insanda gastro intestinal sisteme yerleşen; vakuolar, granüler, amoeboid, kist ve diğer formları bulunan bir protozoondur. Yaygınlık oranı, sosyo-kültürel, sosyo-ekonomik ve coğrafik koşullara bağlı olarak değişmekle birlikte, insan dışkısında en sık rastlanan parazitlerden birisidir.

B. hominis'e her yaş insanda rastlanıldığı gibi özellikle immün kompromize hastalarda daha sık görülmekte ve karın ağrısı, ishal, şişkinlik, gaz, kusma, kramp gibi semptomlara neden olmaktadır.

Bugüne kadar hastalığın tedavisinde değişik ilaçlar kullanılmış ve farklı sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada, potansiyel bir patojen olarak kabul edilen *B. hominis* tedavisinde kullanılan bazı ilaçların parazit üzerine in vitro etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TAKSONOMİ

Blastocystis hominis hakkında yapılan taksonomik çalışmalar az sayıdadır ve sistematikteki yeri hala tam olarak bilinmemektedir (1). *B. hominis*'in bundan 80 yıl önce keşfedildiği bilinmektedir. Bununla birlikte, bu organizmanın taksonomik konumu ile ilgili olarak geçmişte bir karmaşıklık yaşanmıştır (1). Eski bilim adamları, *B. hominis*'i sınıflandırmakta zorlanmışlar ve *B. hominis* için bir kamçılı kisti, maya, mantar ve hatta bitkisel materyal gibi tanımlamalar yapmışlardır (2,3). Morfolojik ve fizyolojik kriterleri dikkate alınarak, 1967 yılında organizmanın protozoa alt- kraliyet sınıfına yerleştirilmesi için deliller bulunmuştur (4). Ultra-strüktürel olarak protistlere benzetilmektedir, çünkü bir hücre duvarı yoktur, ancak bir ve birden fazla çekirdekleri, yumuşak ve pürüzlü endoplazmik retikulum, golgi kompleksi ve mitokondrileri vardır. Fizyolojik olarak anaerobik, oksijene duyarlı, fungal ortamda gelişmekte başarısız olup optimal olarak 37 °C'de ve nötr pH'da çoğalmakta ve amphoterisin gibi antifungal ilaçlar parazit üzerine etki etmemektedir. Bazı antiprotozoal ilaçların bu parazite karşı etkili olduğu gösterilmiştir (3-9).

B. hominis sonradan Sporozoa alt şubesi içinde ayrı bir alt takım olan Blastocystina (2) ve daha sonra subphylum Sarcodina içinde sınıflandırılmış olmakla beraber (10) son

zamanlarda bazı farklılıkların olduğu görülerek Sarcodina sınıfında yer alamayacağı sonucuna varılmıştır (11).

Small-subunit ribozomal ribonükleik asit (ssrRNA) sequencing teknikleri kullanılarak yapılan moleküler çalışmalarla çeşitli ökaryotlar ile parazitin ssrRNA geni sırasındaki benzerlikler analizi ile *B. hominis*'in ne *Saccharomyces* ile ne de herhangi bir Sarcodines (*Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Dictyostellium*) ya da Sporozoonlar (*Sarcocystis* ve *Toxoplasma*) ile monofiletik olarak yakından ilişkisi olmadığı gösterilmiştir (12). Bu veriler sonucunda; *B. hominis*'in mayalarla ilişkisinin olmadığı gibi Ciliate ve Apicomplexa içerisine de yerleştirilemeyeceği anlaşılmıştır (1,13).

Bazı araştırmacılar *Blastocystis*'in ssrRNA genlerini inceleyerek parazitin Stramenopiles içerisine yerleştirilebileceğini savunurken (1,13), Silberman (96), parazitin anaerobik olması ve mitokondrisindeki metabolik fonksiyonlarının belirgin olmaması ve aynı zamanda kamçı ve kamçı kıllarına sahip olmamasından dolayı Stramenopiles içerisine yerleştirilemeyeceğini savunmuştur (13). Hayat döngülerindeki bazı benzerliklerden dolayı parazitin Proteromonas'a yakın olabileceği düşünülmüş ancak, *B. hominis*'in tübüler kanallar, kamçı ve kamçı kıllarına sahip olmamasıyla Proteromonas'dan da ayrıldığı vurgulanmıştır (1,13).

B. hominis varyasyonları incelenmiştir (14,15). İnsan dışkısından izole edilmiş 10 stok *B. hominis*'in analiz edilmesi iki farklı organizma grubu olduğunu ortaya koymuştur. Bu iki grup immunolojik olarak ayırt edilebilir durumdadır ve stoklardan birinin DNA'ların da türetilen tesadüfi prob ile hibridizasyonu iki grubun DNA içeriklerinin de farklı olduğunu göstermiştir (15). Bu da insanlarda birden fazla *Blastocystis* türünün olabileceği ihtimalini ortaya koymaktadır. Ancak daha detaylı epidemiyolojik veri olmadan yeni bir türün varlığına işaret etmek uygun değildir. Bunun yerine bu iki grubun Trypanosomes için geliştirilen terminolojiye uyumlu bir şekilde birbirlerinin demesi olarak değerlendirilmeleri daha uygundur. Demes: aynı tür veya alt tür içerisinde belirli özellik veya özellik grubu açısından birbirlerinden farklı olan popülasyonlar olarak tanımlanmaktadır. Bu durumda, protein ve DNA kriteri demeslerin belirlenmesinde kullanılmaktadır (16).

Son zamanlarda *Blastocystis*'in moleküler çalışmalarında Elongation Faktör-1 (EF-1) geni, filogenetik bir marker olarak kullanılmış ve *B. hominis*'in fungal bir soydan gelmediği gibi *Trypanosoma*, *Euglena*, *Dictyostelium* ve diğer ökaryotlardan da ayrıldığı gösterilmiştir (17).

Cavalier-Smith (18) *B. hominis*'i; Sınıf: *Blastocystea*, Subphylum: *Opalinata*, Infrakingdom: *Heterokonta*, Subkingdom: *Chromobiota*, Kingdom: *Chromista* olarak sınıflandırmış ve *Blastocystis*'i *Chromistler*'deki ilk insan paraziti olarak tanımlamıştır.

Son zamanlarda yapılan ve en çok kabul gören sınıflandırma ise;

Alt bölüm :*Blastocysta*

Sınıf :*Blastocystea*

Takım :*Blastocystida*

Aile :*Blastocystidea*

Cins :*Blastocystis* şeklindedir (1,19,20).

2.2. MORFOLOJİ

B. hominis, insan dışkısında ilk kez 1912 yılında Brumpt tarafından bulunmuştur (19,21). *B. hominis*'in morfolojisi ile ilgili raporlarda; vakuolar, granüller, amoeboid ve daha az rastlanılan diğer bazı formlardan söz edilmektedir (3). Morfolojisindeki bu farklılıkların, organizmanın genel hücre biyolojisinde ve biyokimyasındaki farklılıkları yansıtmayı yansıtmadığı henüz bilinmemektedir.

B. hominis'in ışık mikroskopunda ki morfolojileri, geniş merkezi bir gövde (merkezi vakuol, iç gövde veya rezerv gövde olarak da adlandırılmaktadır) ve bunu çevreleyen sitoplazmadan oluşan küresel hücrelerdir. Aynı zamanda organizmayı çevreleyen kalın yapışkan bir kılıf ve birden fazla çekirdeğin bulunduğu belirlenmiştir. Hücre çapı genellikle 5-20 µm arasında değişmekle birlikte bazı raporlarda daha küçük formların bulunduğu söz edilmektedir. Bu küçük form kalın bir duvar ile kaplı durumdadır ve bu formun organizmanın dirençli dönemi olduğu düşünülmektedir. Bu formda vakuol yoktur, fakat glikojen ve lipid varlığından söz edilmektedir (16).

Tarayıcı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan araştırmalarda, *B. hominis*'in genellikle küresel veya oval bir Őekle sahip olduğu, aynı zamanda organizmanın içine doğru uzayan por ve boşlukların olduğu belirlenmiştir. Kültürden elde edilen organizmalarda ise iki tip dış yüzey fark edilmiştir. Birinci yüzey, kılıf veya kalıntıları Şeklinde çok przli bir yüzey, ikincisi ise sadece oluk ve porlara sahip düzgün bir yüzeydir. Hem przli hem de düzgün yüzeyli yapılara bakterilerin yapıştığı gözlenmiştir (16).

Konvansiyonel Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda organizmanın hem dış zarında hem de merkezi vakuol zarında porların mevcut olduğu bildirilmiştir (22). Ancak daha sonra zar formasyonları ve bileşenlerinin görüntülenmesi ile *B. hominis*'in dış hücre zarında porların olduğu fakat merkezi vakuolde rastlanılmadığı belirtilmiştir (16).

2.2.1. FORMLARIN TANIMLANMASI

2.2.1.1. In vivo Ortamda Görülen Form

Taşıyıcının bağırsağında var olduğu düşünülen *B. hominis*'in Őekli ile ilgili çok az bilgi vardır (23). Bilim adamları Şiddetli ishalleri bir hastanın dışkı ve kolonoskopi materyallerini mikroskopik olarak incelediklerinde olağan dışı hücelere rastladıklarını ve bu yapıların *B. hominis*'in trofozoiti olduğunu açıklamışlardır (24). Her iki çalışmada da elde edilen *B. hominis* hücreleri yumurta Şeklinde yuvarlak, ortalama 5 μm çapında ve plazma zarı olan, ancak yüzey kılıfı olmayan hücrelerdir. Sitoplazmada küçük vakuollar ve kabarcıkların yer aldığı hücre çekirdeğinin yoğunlaştırılmış kromatin Şeklinde olduğu ve bunların *B. hominis*'in diğer formlarında da bulunduğu bildirilmiştir (23).

B. hominis'in bu formunda bulunan mitokondri morfolojik olarak diğer formlardan farklılık göstermektedir. Mitokondrial matrix nispeten elektrolusent olup çok sayıda kristaya sahiptir. Krista, kese (23) veya lameller (24) Şeklinde tanımlanmaktadır. *B. hominis*'in diğer formları, sayıca daha az kristaya ve basit bir mitokondriye sahiptirler. Yapısındaki bu farklılığın önemi, farklı formlarda farklı biyokimyasal olayların geçtiğini düşündürmektedir.

2.2.1.2. Taze Dışkı Formu

Dışkı örnekleri ışık mikroskobunda incelendiğinde, *B. hominis*'in kültüre alınmadan önceki formunun (4-15 μm) kültüre alınan formundan (15-25 μm) daha küçük olduğu, bunun yanında bazı morfolojik farklılıkların da bulunduğu bildirilmiştir (3).

İnsan dışkı örneklerinde bulunan organizmalar kültüre alındığında hücrelerde görülen tek vakuoldan çok sayıda multivakuoller oluşmaktadır (24). Genellikle 0.5 μm kadar olan çok kalın bir yüzey kılıfı hücreleri sarmaktadır ve bakteriler bu fibriler matrise yapışmış veya içine doğru girmiştir. Geniş bir merkezi vakuolün bulunduğu vakuolar form, dışkı formunda çok nadir bulunmakta ve kültürdeki benzeri hücrelerden genellikle daha küçük bir boyuttadır (16).

2.2.1.3. Kist Formu

Vakuolar ve granüler formlar 1900'lü yıllardan beri tanımlanmış olmasına rağmen, kist formunun morfolojik farklılıkları ve hayat döngüsündeki rolleri son zamanlarda keşfedilmiştir (21,25-30). Bu gecikme kistin çok küçük (3-5 μm) ve dışkıdaki artefaktlarla kolayca karıştırılmasından kaynaklanmaktadır (1). Dışkıda ve aksenik kültürler içerisinde görülen kistler diğer protozoon kistlerindeki gibi kalın hücre duvarlı olup yoğun sitoplazmaya sahiptirler (21).

Kist formları dışkı örneklerinde daha sık rastlanmakta ve bu durumda organizmanın dış ortamda hayatta kalma şansı artmaktadır. Dışkıda görülen kistler, küresel, oval ve çok kenarlı bir kist duvarıyla korunmaktadır. Kistler, 3.7-10 μm arasında değişmektedir (21,24). Hücre içinde bir veya dört nükleus, glikojen ve lipid deposu olarak çok sayıda vakuol bulunmaktadır (25,26,29). Bu kistler genellikle serbest fibriler bir tabaka ile sarılıdır ve dışarıya olgun kist olarak atılırlar (29).

Hayvan dışkı örneklerinden izole edilen *Blastocystis* kistleri, *B. hominis*'in dışkıda bulunan kistleri ile karşılaştırıldığında morfolojik farklılıkların olduğu ortaya çıkarılmış ve hayvan kaynaklı kistlerin daha büyük (15 μm) olduğu belirlenmiştir (1).

B. hominis'in kist formlarının su içerisinde parçalanmadıkları ve oda sıcaklığında 19 gün yaşayabildikleri belirtilmektedir (1,27). Fakat aşırı sıcak ve soğuk koşullara ve dezenfektanlara karşı genellikle duyarlıdırlar (26).

B. hominis'in kist formu, dış ortamda hayatta kalma mekanizmasını temin eden ve aynı zamanda kişiler arasında geçişi sağlayan bir formudur. Hem vakuolar hem de granüler formlar çevre koşullarına duyarlıdır ve sıcaklık değişiminde, hipertonic ve hipotonik ortamlarda veya açık havada kolayca ölmektedirler (3,31).

B. hominis'in dışkıda görülen kistlerdeki morfolojik ayrılıkları in vitro ortamdaki formasyonlarıyla ayrılmakta ve kistler benzer granüler formlardan kalın osmofilik kist duvarının bulunmasıyla ayırt edilmektedir (32).

B. hominis'in dışkıda görülen kistleri in vitro ortamlarda gelişmesi incelendiğinde; 1 saat içerisinde tipik kist formları görülebilmektedir. Bununla birlikte, kistler yavaş yavaş 6 saat de kist duvarlarını kaybetmekte ve ince yüzey tabakası yerine geçmektedir. Bu kist duvarları parçalandığında 5 µm iken 9 saat sonunda 7-9 µm'ye kadar gelişmektedir. Bu hücrelerin gelişmesi yanında kistlerden çok sayıda küçük vakuolar yapılar meydana gelmektedir. Granüler formlar vakuolların içinde de görülmektedir. Santral vakuollar'ın birleşmesi ile sonuçta granüler formlar meydana gelmektedir. On iki saatte tipik vakuolar ve granüler formlar ortaya çıkmakta ve ikiye bölünerek çoğalmaktadır. Bölünmeden sonra parazit kist duvarı materyali ile etrafını çevirir ve 4 tane kız hücre bir araya gelerek bir kisti meydana getirmektedir (30).

2.2.1.4. Vakuolar Form

Vakuolar forma aynı zamanda "santral vakuolar" form da denilmektedir. Bu form, günümüze kadar tipik *Blastocystis* hücre formu olarak düşünülmüştür. Vakuolar hücreler genellikle küreseldir ve bu nedenle transmisyon elektron mikroskopunda yuvarlak bir profil göstermektedir (16). Hücrelerin büyüklükleri 2-200 µm arasında değişir, yaklaşık olarak 4-15 µm çapındadır (3,11). Ancak bu değerler izolattan izolata değişmektedir.

Vakuolar form büyük santral vakuolüyle karakteristiktir ve yaklaşık % 90'nını teşkil etmektedir. Geniş bir vakuolü çevreleyen ince periferik sitoplazma bandı şeklinde görülmektedir (1,16). Organizmayı çevreleyen hücre zarı, endositosizde bir fonksiyonu olan bazı çukurluklar veya pürüzler içermektedir (33). Organeller genellikle sitoplazmanın kalınlaşmış bölümlerinde toplanmaktadır ve bu bölümler hücrenin genellikle zıt kutuplarında yer almaktadır. Bu bölümler santral vakuol ya çıkıntı yapmakta ya da uzamaktadır ve bundan dolayı hücre düzensiz bir görünüm kazanmaktadır (3,34).

Merkezi vakuollar iki katlı zar ile kaplı ve içerisinin morfolojisi açısından önemli farklılıklar göstermektedir. İçerikleri genellikle ince granüller şeklinde olup dağılımları düzensizdir (34). Vakuollar, çok sayıda granüler formun oluşumunu sağlamakta; bu nedenle gerçek vakuol olmadığı, ancak granüler forma geçiş esnasında granüllerin gelişmesini sağlayan bir organel olduğu kabul edilmektedir (16).

Hücrelerin büyük bir kısmında 2 ya da 4 olmak üzere birden fazla hücre çekirdeği yer almaktadır (34,35). Hücre çekirdeğine yakın bir yerde morfolojik olarak basit bir özellikte golgi kompleksi bulunmaktadır. Ribozomlar sitoplazmada yer almaktadır ve ökaryotik hücreler boyutundadır. Endoplazmik retikulum kısa iplik şeklinde görülmektedir. Ayrıca bazı hücrelerin sitoplazmasında ve vakuollerinde lipid damlacıkları vardır (16). Bu form içerisinde mitokondriler de bulunmaktadır fakat sayıca ve morfolojik olarak farklılık arz etmektedir (34). Elektron opak ve matrix içerisinde basit yapılar olarak kristaller yer almaktadır.

2.2.1.5. Granüler Form

Granüler form, merkezi vakuolar içerikleri dışında, ince yapıları açısından vakuolar forma benzerlik göstermektedirler ve genellikle biraz daha büyüktürler (16). Granüler form vakuolar formdan oluşmaktadır ve bu dönüşüm farklı faktörlerin etkisiyle olmaktadır (11). Granüler form vakuolar formdan farklı olmakla birlikte birçok benzerlikleri paylaşmaktadır, pek çok granüller, periferik sitoplazmada ince bant ve çoğunlukla santral vakuol içermektedir (1). Granüler formun merkezi vakuolünde miyelin benzeri cisimcikler, küçük veziküller, kristal granüller ve lipid damlacıkları

bulunmaktadır (34). Lipid damlacıkları sitoplazmada da bulunmaktadır. Granüller hücrelerin sitoplazmasında yer alan küçük vakuoller ve veziküller de merkezi vakuoldeki granüllere benzer granüller içermektedir (16,34).

Sito-kimyasal çalışmalar, granüllerin büyük bir kısmının lipitlerden özellikle fosfo lipid ve yağ asitlerden oluştuğunu göstermiştir (34). Bunlar enerji depolama şeklini temsil etmektedirler. Bazı hücrelerde ise protein olarak bilinen küçük granüller bulunmaktadır (16). Granüllerin farklı morfolojiye sahip olmaları farklı bileşenlere sahip olduklarını yansıtmaktadır.

Vakuolar formdan granüler forma dönüşmeyi sağlayan çeşitli koşullar vardır.

Bunlar:

I- Kültür ortamında artan serum konsantrasyonları,

II- MEMS ortamına transferi,

III-Aksenisazyonda bazı antibiyotiklerin kullanılması, özellikle norflaksasin ve amfoterisin B'nin eklenmesi. Bunlar, vakuolar formun granüler forma dönüşümünün farklı koşullar altında gerçekleştiğini göstermektedir (16).

2.2.1.6. Amoeboid Form

B. hominis'in amoeboid formuna dışkı ve kültürler içerisinde çok az rastlanılmaktadır ve morfolojik tanımlamalarında birbiriyle uymayan raporlar vardır (3,16,34). Hücrenin yaklaşık 1/3' de merkezi bir cisim ve etrafını çevreleyen bir hücre duvarı yoktur. Amoeboid formlar, küçük olmakla birlikte yaklaşık olarak 2.6-7.8 μm çapında, düzensiz ve pseudopodlarının bulunmasıyla tanımlanmaktadır (34). Bu formun nükleer yapısı vakuol ve granüler formun aynıdır ve yoğun bir kromotin şeridi mevcuttur (16). Dunn (34) 1989'da bu formun golgi kompleksi, yüzey kılıfı ve mitokondrileri olmadığını bildirmiştir. Yalnız TEM ile yapılan çalışmalarda, pseudopod benzeri uzatmaların sitoplazma içerisinde bir santral vakuol'ün, çok sayıda golgi cisimlerin, endoplazmik retikulum'un ve mitokondri'lerin olduğu gösterilmiştir (1). Buradaki hücreler yüksek aktivite içermekte ve oluşumları için enerjiye ihtiyaç duymaktadırlar. Aynı zamanda lizozom benzeri organeller içermektedir ve komşu hücreleri dejenere etmektedir. Bu

formun, endositoziste görev aldığı belirtilmektedir (1). Amoeboid formlar vakuolar formlardan meydana gelmekte ve mitoz ile çoğaldığı belirtilmektedir (36).

Amoeboid formlardaki farklılıklar veya hayat döngüsü içerisindeki rolleri konusunda bilgiler yetersizdir. Amoeboid formlar; kist ve vakuolar formlar arasında bir yerde olduğu ve kistlenme için beslenmesini alan bakterilerin sağladığı belirtilmektedir (36).

2.2.1.7. Diğer Formlar

B. hominis'in dört formu da (kist, vakuolar, granüler ve amoeboid) bilinmektedir fakat intestinal sistemden izole edilen bunların dışında farklı formların olduğu belirtilmiştir (3, 24,25). Bu formlardan biri santral vakuollerini olmayan avakuolar formlardır. Kültür formları içerisindeki farklılıkları hücrelerin çok küçük (5µm) ve yüzey tabakalarının olmayışdır. Mitokondrileri de yoktur ve bu da morfolojilerindeki diğer bir farklılıktır (24,25). Kültürler içerisinde tanımlanamayabilir; çünkü hücrenin dejenere olmasıyla kalıntı halinde bulunan merkezi vakuol diğer hücre kalıntılarıyla karıştırılabilir.

Diğer bir form ise multivakuolar formdur ve dışkı materyalleri içerisinde tek olarak bulunmaz. Multivakuolar formların dışkı kistlerinin gelişmesinde rol aldığı belirtilmektedir. Çok az rastlanılan bu forma şizont formu da denilmektedir. Bu form vakuolar hücrelerden meydana gelmekte ve eşeysiz bir çoğalma sonucunda progeni ile dolmakta ve bu sonradan patlayarak progeni serbest hale geçmektedir (16). Ayrıca vakuolar formlar değişikliğe uğrayarak, santral vakuolün birleşmesiyle multivakuolar formlar meydana gelmektedir. In vitro kültürler içerisinde kaybolmakta ve sonradan vakuolar form olarak ortaya çıkmaktadır. Bu form, *B. hominis*'in hayat döngüsü içerisinde kısa süreli bir dönem olarak bilinmektedir.

2.2.2. FONKSİYONLARI BELİRGİN OLMAYAN YAPILAR

2.2.2.1. Merkezi Vakuol

Blastocystis'in merkezi vakuolü 1911 yılında Alexeieff tarafından açıklanmıştır (16). Bu yapıyı zarla kuşatılmış, kimyasal ve fonksiyonel olarak belirlenmiş içeriklere sahip

merkezi vakuol olarak tanımlamışlardır. Bazı yazarlar tarafından merkezi vakuolün metabolizma ve üremede bir rol oynadığı düşünülmüştür, fakat nükleik asit içerikleri gözlenememiştir (16).

B. hominis'te merkezi vakuolün depolamada herhangi bir rolü olmadığı ifade edilse de yapılan çalışmalarda bazı koşullar altında bazı materyallerin vakuolde birikip depolandığını gösterilmiştir (33,37). Vakuolar formun vakuolünde karbonhidrat ve lipidler bulunmaktadır (19). Lipidler genellikle granüler formda ve eski hücrelerde yer almaktadır. Bunun sonucunda merkezi vakuolün bazı metabolik ürünleri depolamada fonksiyonu olduğunu ortaya koymaktadır (16). Ancak bu konuda daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.

Vakuolar ve granüler formlarda endositoz olayı gerçekleşmektedir (33). Endositoz için elektron opak işaretleyici olan katyon ferritin, dış çevreden materyal alımını takip etmek için kullanılmış ve bu izleyici ferritin sitoplazma içerisindeki vakuollerde ve küçük veziküllerde gözlendiği ve sonunda merkezi vakuolde depolandığı tespit edilmiştir. Bu sitoplazmik yapıların içerdikleri materyalleri serbest bırakmak için merkezi vakuolde yapıştığı farz edilmiştir ve benzeri bir mekanizmanın merkezi vakuolde granüllerin birikiminde de rol oynadığı ileri sürülmüştür. Bunların doğruluğu tam olarak belirlenmemiştir; çünkü zardaki birleşmenin hızlı ve dinamik bir yapıya sahip olmasından dolayı tek başına elektron mikroskobunda gözlenememiştir (16).

Endositozis esnasında, materyalin dışarıdan içeriye doğru yüzey girintileri vasıtasıyla geçmesi bazı protistlerdeki ve diğer ökaryotik hücrelerinininkine de benzemektedir. Antikorlar, *B. hominis*'in yüzey girintilerine yapışmaktadır ve bu durumdaki kompozisyonları memeli hücrelerinininkine benzer veya aynıdır (33).

B. hominis'in merkezi vakuolünde endosimbiontların yer aldığı ve bunların bir zar ile çevrelenmiş basile benzer ve merkezi vakuolün zarına yakın yerlerde buldukları ileri sürülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalarda, zar ile çevrelenmiş sitoplazma'nın merkezi vakuole doğru uzantıları şeklinde olduğu ve bunun sitoplazmanın genel bir yapısı olduğunu açıklamışlardır. Kültür içerisinde sadece birkaç hücrenin endosimbiontları içerdiğini, aksenisazyonun ve antibiyotiklerin kullanılması bunların

frekanslarını artırmaktadır. Bu veriler merkezi vakuole doğru gelişen sitoplazmik köprü ve uzantıların varlığı uygun olmayan kültür koşulları altında, özellikle yüksek konsantrasyonlarda antibiyotik içeren kültürlerde arttığı ileri sürülmektedirler. Merkezi vakuolde de, vakuolü kompartımanlara bölmüş görünümü veren sitoplazmik kolların varlığı *B. hominis*'in bölündüğü veya ürediği şeklinde yanlış açıklamalara yol açmıştır (16).

Merkezi vakuolün gerçek tabiatı, içerikleri ve organizmanın biyolojisindeki fonksiyonları henüz tam bir açıklığa kavuşmamıştır. Merkezi vakuol bir depolama fonksiyonuna sahiptir fakat sindirim fonksiyonunun ve sadece atık veya depolama materyalleri için bir yer olup olmadığı henüz bilinmemektedir (16).

2.2.2.2. Mitokondrileri

B. hominis bir anaerob organizmadır (11) ve yaşamında mitokondri organelleri de mevcuttur (1). Genellikle profil olarak yuvarlak veya uzamış görünmelerine rağmen, mitokondriler bazı hücrelerde daha uzun, sinüzoidal ve nadiren de düzensiz bir profil olarak görülebilirler. Yaklaşık olarak 0.5-1 µm çapındadır ve küresel sitoplazmanın kenarında bulunmaktadırlar, ayrıca hücre çekirdeğinin yakınında bir yerde konsantrasyon eğilimi de vardır.

B. hominis'in mitokondrileri için TEM ile yapılan çalışmalar, mitokondrinin iki katlı bir zar ile çevrili olduğu ve ayrıca içinde kristallerin geliştiği iki katlı bir iç zarın varlığı belirlenmiştir. Bu klasik bir mitokondri'nin yapısıdır (10). Ribozomlar ve granüllü endoplazmik retikulum, mitokondri ile yakın temas halindedirler (16). Bazı mitokondriler de kristal ve osmofilik yapılar vardır (16,31) ve bu yapılar protein depolamasını, kristalize olmuş enzimleri ve bozulma aşamalarını temsil edebilirler. Hücre başına mitokondri sayısının henüz tam olarak belirlenmemesine rağmen, genç bir hücrede 2-4 adet ile büyük ve yaşlı hücrelerde yüzlerce mitokondri bulunabilmektedir (10).

Biyokimyasal analizler, enerji metabolizması ile ilgili olan birkaç tipik mitokondri enziminin *B. hominis*'de yer almadığını göstermiştir (10). Sitokrom oksidaz, katalaz,

peroksidaz, pürivat dehidrogenaz kompleksi, ketoglutarat dehidrogenaz kompleksi, isositrat dehidrogenaz, glutamat dehidrogenaz ve sitokrom oksidaz enzimleri *B. hominis*'de bulunmamaktadır (10). Bu enzimler, çoğu diğer organizmalarda yer alan ve mitokondrinin var olduğunu gösteren enzimler olarak düşünülmektedir. Daha ileri çalışmalarla kesin sonuçlar verilebileceği bildirilmektedir (16).

Anaerobik bir organizma olan *B. hominis*'de mitokondrinin varlığı, gerçek fonksiyonunu ve metabolik kabiliyetlerinin nasıl olduğu tam olarak belirlenmiş değildir. Yapılan çalışmalarda, birkaç anaerobik siliat protistlerinde, serbest yaşayan siliatlarda hydrogenesomlara sahip oldukları tespit edilmiş ve bunların morfolojik olarak mitokondriye benzediklerini belirtmişlerdir. Bütün organizmalar hydrogenesom'ları içine aldığı bilinmektedir. Hydrogenesomlar mitokondrilerden farklıdır; çünkü hydrogenesomların sitokromları, trikarboksil asit siklusu ve oksidatif fosforilasyonları mevcut değildir (1). Bundan yola çıkarak, *B. hominis*'inde mitokondri olarak düşünülen organellerinin gerçekte hydrogenesom olabileceği ihtimalini düşündürmektedir. İçerisinde indirgenmiş sodyum thioglycollate ile *B. hominis* hücrelerinin kültürü yapılmış, TEM ile yapılan çalışmalar sonucunda burada çoğu strüktürler içerisinde biçimini değiştiren mitokondriler görülmüş ve bunların *Trichomonas vaginalis*'in hydrogenesomlarını andırdığı belirtilmiştir (1).

2.2.2.3. Hücre Çekirdeği

B. hominis'in hücre çekirdeğinin yapısı, diğer organellerin yapısından daha az tartışmalıdır. Hem ışık hem de elektron mikroskobunda hücre çekirdeğinin genellikle bir kutbunda yoğun kromatin şeridinin yer aldığı görülebilmektedir. Bu yapı organizmanın tüm formlarında bulunmaktadır ve hücre bölünmesi ile herhangi bir ilişkisi yoktur (16). Nadiren hücre çekirdeği içerisinde ilave bir yoğun materyal noktası (spot) görülmektedir (24). Bu spot'a *B. hominis*'in in vivo formunda daha çok rastlanılmaktadır ve bunun çekirdek olduğunu belirtmişlerdir (23). Hücre çekirdeği şekilce küresel ve oval, yaklaşık 1 µm çapındadır, nükleer porlara sahip zar ile çevrelenmiştir ve en dışta nükleer bir kılıfı vardır. Perinükleer boşluk şişkin olabilir bu uygun olmayan sıcaklıklar veya ortam gibi stres koşulları altında görülmektedir.

Perinükleer boşluklar birkaç hücre çekirdeğinde daha sık rastlanılmakta ve bu nükleer bölünmenin o ortam içerisinde yer aldığını göstermektedir.

B. hominis'in nükleer bölünmenin yapılan freez fracture çalışması ile hücre çekirdeğinin fizyon ile bölünebildiği gösterilmiş ve bu TEM ile yapılan çalışmalarla desteklenmiştir, ancak kesin kanıtlar yoktur (16).

Hücre çekirdeği içerisinde DNA'nın varlığı spesifik boyaların kullanımı ile gösterilmiştir. RNA ise hücre çekirdeğinin etrafına yoğunlaşmaktadır (16).

2.2.2.4. Yüzey Kılıfı

İnsan dışkısından alınan tüm *B. hominis*'lere bakıldığında, yaklaşık olarak 0.25-0.5 µm genişliğinde ince bir fibriler tabaka şeklinde bir yüzey kılıfı bulunmaktadır. Bu kılıf genellikle vakuolar ve granüler formlarda görülmektedir. Kist formunun dış yüzeyini çevreleyen yapılarla benzemektedir (16, 29). Bununla beraber amoeboid formda yüzey kılıfının olup olmadığı tartışmalıdır (1).

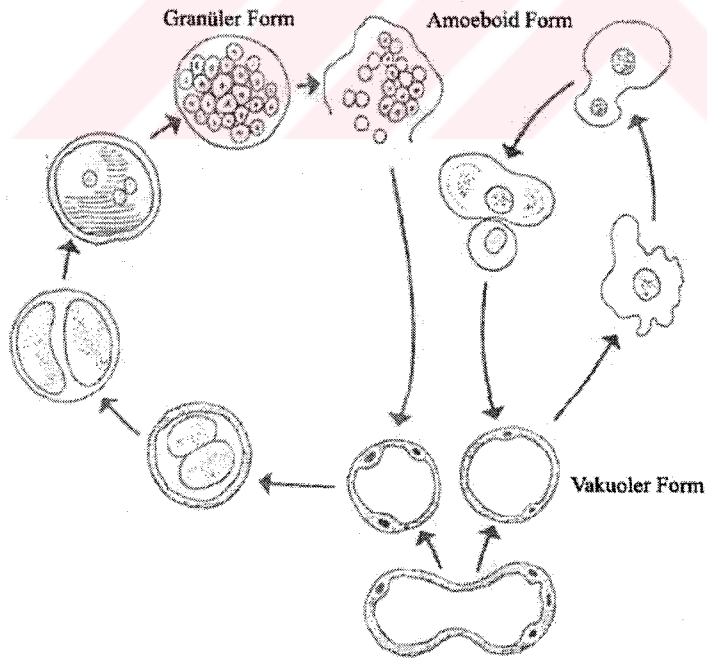
Yüzey kılıfı, kalınlık ve yoğunlukça isolatlar arasında farklılık göstermektedir. Kültür içerisinde yer alan hücrelerin sadece küçük bir kısmında yüzey kılıfı yoktur. Hatta kolonoskopi ile elde edilen hücrelerde ve ishaller hastalardan alınan örneklerdeki hücrelerin bir çoğunda yüzey kılıfı olmadığı belirtilmektedir (16). In vivo ortamda yüzey kılıfının rolü bilinmemekte fakat in vitro ortamda da yüzey kılıfının kaybolması, bu rolün kültürde organizmanın yaşamasını destekleyici bir faktör olmadığını göstermektedir.

Bakteriler genellikle yüzey kılıfı ile yakın temas halindedirler. Tarayıcı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan çalışmalarda bakterilerin *B. hominis*'in yüzeyine yapıştıkları gözlenmiştir (38). Bir çalışmada ise yüzeye yapışan bakterilerin elektron dansitelerini kaybettikleri görülmüş, bunda beslenme amaçlı tuzak mekanizması olabileceği düşünülmüştür (38). Yüzey kılıfı mekanik ve kimyasal bariyer fonksiyonları ile konak immun cevabına karşı bir koruma sağlamaktadır, bu diğer protozoonlardaki yüzey kılıflarının sahip olduğu fonksiyona benzemektedir (16). *B. hominis*'in yüzey

kılıfına bağlanan monoklonal antikorların (mAb) büyümeyi inhibe edemedikleri fakat plazma membran proteinine spesifik antikorların bağlanması ile hücreyi öldürdüğü gösterilmiştir (39).

2.3. HAYAT DÖNGÜSÜ

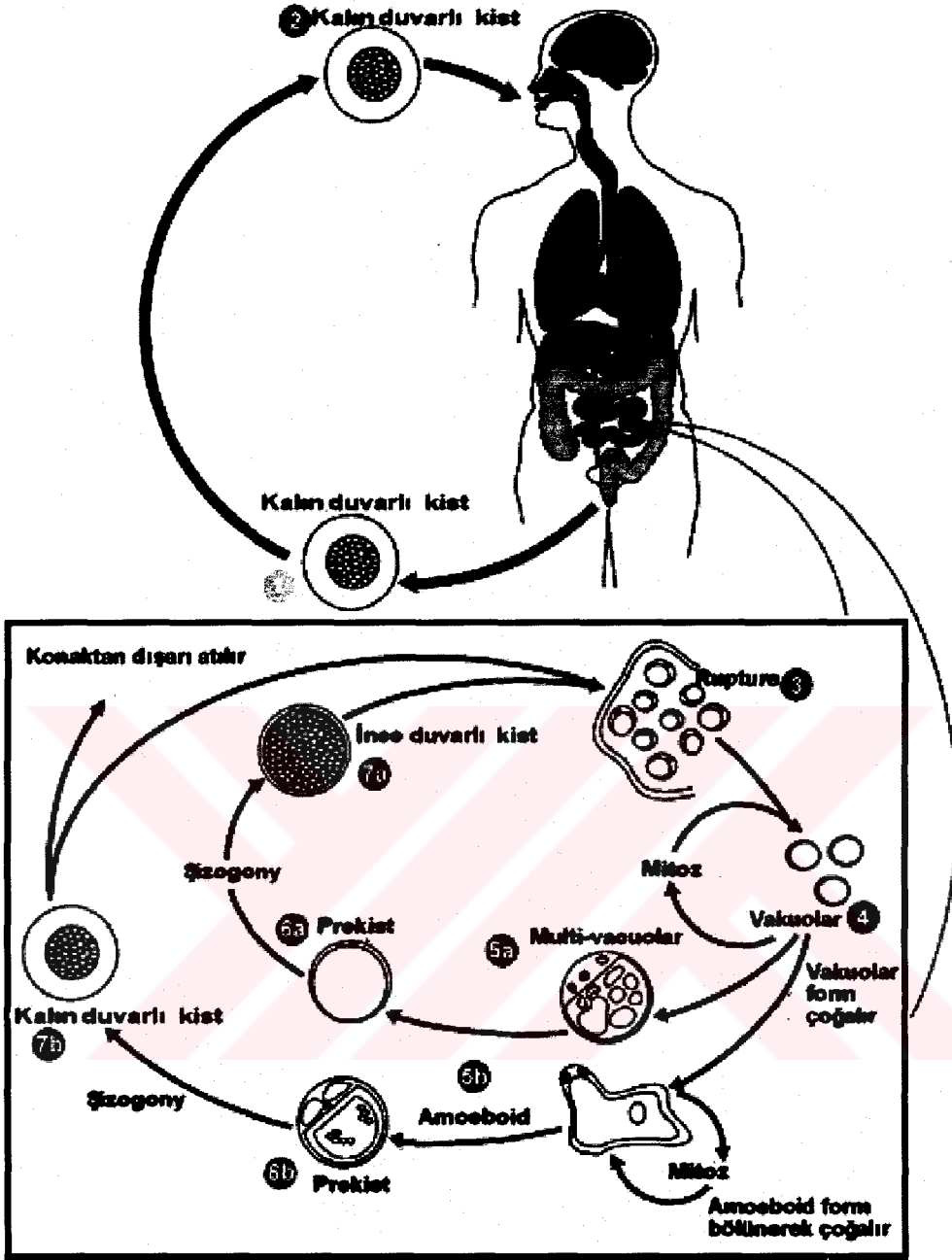
Bazı araştırmacılara göre şekil 1'de gösterildiği gibi, *B. hominis*'in hayat döngüsünde vakuolar, granüler, amoeboid olmak üzere üç evrim döneminin bulunduğu kabul edilmiştir (3,19). Vakuolar form ikiye bölünerek çoğalmaktadır. Vakuolar form gelişerek ya granüler forma ya da amoeboid forma transforme olmaktadır. Granüler form içinde vakuolar dışı hücreler meydana gelmekte; amoeboid form ise tomurcuklanarak vakuolar dışı hücreleri meydana getirmektedir. Vakuolar formun ikiye bölünmesinde *B. hominis* hücrelerinde çok sayıda çekirdek, mitokondri ve diğer organeller'in bulunmasından dolayı burada organellerin bölünmesine rastlanılmamıştır (16).



Şekil 2.1. *Blastocystis hominis*'in Hayat Döngüsü (19)

Diğer bir görüşe göre şekil 2'de olduğu gibi, *B. hominis*'in evriminde amoeboid, vakuolar, multivakuolar ve kalın ve ince duvarlı kist dönemlerinin bulunduğu kabul edilmektedir (36). Burada vakuolar form mitotik bölünme ile çoğalarak ya amoeboid ya da multivakuolar forma dönüşmektedir. Amoeboid form mitozla çoğalmakta bir kısım amoeboid formlarda prekistleri meydana getirmektedir. Multivakuolar formlardan da prekistler oluşmaktadır. Multivakuolar formlardan meydana gelmiş prekistler şizogoni ile ince duvarlı kistleri oluşturmaktadır. Bu ince duvarlı kistlerin otoenfeksiyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir (19,36). Amoeboid formdan oluşan prekistler ise şizogonik çoğalma ile kalın duvarlı kistleri meydana getirmektedir. Bu kalın duvarlı kistler konaktan dışarı dışkıyla atılırlar. Dışkıyla atılan kistler kontamine su ve besinlerle fekal-oral yolla bulaşarak hayat döngüsü bu şekilde devam etmektedir (19,36). Bu hayat döngüsü muhtemel hayat döngüsü olarak kabul edilmektedir.

Bununla birlikte *B. hominis*'in kültür ortamları içerisinde bulunan yaşam döngülerin de ise kist formları nadiren görülmektedir. Bunun yerine vakuolar formun kisti oluşturacak şekilde gelişmekte olduğu belirtilmektedir. Kültür koşullarında bazen vakuolar form multivakuolar forma dönüşmektedir. Granüler hücrenin vakuolar form içerisinde granüllerin oluşarak meydana geldiği belirtilmiştir (16). Bu organizmanın tek bir hayat döngüsünün olduğunun varsayılması zordur ve muhtemel yaşam döngülerinin olabileceği öngörülmektedir.



Şekil 2.2. *Blastocystis hominis*'in Hayat Döngüsü (36)

B. hominis muhtemel yaşam döngüsü. İnsan dışkısında bulunan klasik kist formu 6-40 μm arasında değişen büyüklüktedir (7a). Dışkıda bulunan kalın duvarlı kistler (7b) bu kistler dış ortamdan, muhtemelen kontamine su ve besinlerle fekal-oral yolla bulaşmasından sorumlu olan dönemdir (2). Sindirim kanalının epitel hücrelerini enfekte eder ve aseksüel olarak çoğalır (3, 4). Parazitin vakuoler formu multi-vakuolar (5a) ve ameboid (5b) formları meydana gelmektedir. Multivakuolar formlardanda prekistler gelişmektedir. (6a) buradan da ince duvarlı kistler oluşur (7a), otoenfeksiyondan sorumlu olduğu düşünülen ince duvarlı ameboid formlardan prekistler meydana gelir (6b), prekistlerden şizogonik çoğalma ile kalın duvarlı kistler oluşmaktadır (7b). Kalın duvarlı kistler dışkı ile dışarı atılır (1).

2.4. *BLASTOCYSTIS HOMINIS*' İN KÜLTÜRÜ

B. hominis'in in vitro kültürü, 1921'de %10' luk insan serumunun, 37°C de inkübasyonu ile elde edildiği ve üremenin genellikle tüpün O₂ içeriğinin az olduğu alt kısımlarda meydana geldiği bildirilmiştir. Kültür ortamında organizmaların üremelerinin, 48 saat boyunca nötr veya alkaliye yakın pH da, 37 °C de inkübasyon ile redüklendiğinde optimum düzeyde gerçekleştiği, 30°C de veya oda sıcaklığında herhangi bir üremenin olmadığı saptanmıştır (16).

B. hominis'in aksenizasyon çalışmalarında siproflaksasine, fosfomisin, imipenem, vankomisin, penisilin, gentamisin, eritromisin gibi antibiyotikler eklenerek iyi sonuçlar elde edilmektedir (14,40-42). Bununla birlikte *B. hominis* izolasyonlarında diferansiyel santrifüjden sonra antibiyotiklerin kullanılmasıyla da bakteri eliminasyonu gerçekleştirilmektedir (40,43). Günümüzde ise bu amaç için Ficol Metrizoik Asit solüsyonları kullanılmaktadır (40,42). Aslında *B. hominis*'in canlılığını koruması ve üreyebilmesi için bakteri ortamına ihtiyaç vardır. Monoksenik ve poliksenik kültürlerde bakteriler eklenmekte, aksenik kültürlerde ise bakteri eliminasyonunu sağlamak için aktif antibiyotikler, diferansiyel santrifüj yöntemi ve Ficol Metrizoik Asit solüsyonları kullanılmaktadır (42).

Aksenik kültürlerle yapılan çalışmalar, *B. hominis*'in karyotipik modeli (44), antijenik analizleri (14,15,45), enzimatik aktiviteleri (10,46), biyokimyasal kompozisyonları (47) ve biyolojisi hakkında bilgi vermektedir.

Kemoterapi ve moleküler çalışmalarda gereksinim duyulan çok fazla sayıda organizma için monofazik ve difazik kültür ortamlarına ihtiyaç vardır. Bu amaca yönelik olarak test edilen ortamlar; thiolycollate broth, tek başına veya katalaz, pirüvat ve at serumu eklenerek kullanılabilir, TYI- S-33 ortamı, M-199, M-1640, *Entamoeba histolytica* besiyerleri, minimal essential medium (MEM) ve %10 luk at serumu içeren Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM-HS) kullanılmaktadır (16,41,48,49). Kırksekiz saat boyunca ön redüksiyona tabi tutulmuş %10 at serumu içeren MEMS ve IMDM-HS *B. hominis*'in üretilmesinde en iyi ortam olarak kabul edilmektedir (1,16,48).

Yapılan yeni çalışmalar arasında *B. hominis*'in katı agar üzerinde kolonilerini oluşturarak kültürünün yapılması yer almaktadır. Agar yüzeyinde çoğaltılan *B. hominis* hücrelerinin kolayca kültürü yapılabilir. *B. hominis*'in agar yüzeyinde olması manipülasyon ve sayım için uygun bir yöntemdir (1,48). İnokulasyondan sonra *B. hominis* hücrelerinin boyutu 0,2 mm çapında ve soluk sarı rengi almakta ve koloniler bundan sonra kolayca sıvı besiyerine geçirilebilmektedir (1,48).

Katı ve yarı katı ortamlar üzerinde mikroorganizmaların koloniler oluşturarak çoğalabilme yeteneği genetik ve biyokimyasal çalışmalar için oldukça kullanışlıdır, çünkü klonal populasyonların vasıtasıyla analizi ve soyların devamı sağlanabilmektedir (1). Aynı zamanda *B. hominis*'in aksenik kültürünü yapmak, antijen elde etmek ve sitotoksik etkilerini araştırmak için uygulanmaktadır (39,50).

Bakterilerin aksine, *B. hominis* dondurularak kurutma ile muhafaza edilmektedir (3). Aynı zamanda %7.5 lik dimetilsülfoksit dondurularak koruma maddeleri kullanılarak soğutma yöntemi ile organizmanın kolaylıkla muhafaza edilmesi sağlanmaktadır. En iyi sonuçlar kontrollü ve yavaş soğutma ve daha sonra sıvı nitrojen içerisinde muhafaza etme ile elde edilmektedir. Bunu takiben gliserol ve dana serumu (FCS) eklenmesiyle de verimde %90 a varan bir artış gözlenebilmektedir (51). Bu işlemler stokların daha uzun süre korunmalarına, depolanmalarına ve diğer laboratuvarlara güvenli bir şekilde taşınmalarına imkan tanımaktadır. Bununla birlikte, referans materyal antijenik analiz için korunabilmekte ve böylelikle sürekli kültürün genetik seleksiyona yol açmaması sağlanmış olmaktadır (1,16).

2.5. KLİNİK VE PATOGENEZ

B. hominis'in insanlarda sebep olduğu hastalığa **Blastocystosis** denilmektedir. Blastocystosis ile ilgili soru onun patojen mi yoksa kommensal mi olduğudur.

Epidemiyolojik çalışmalar ile *B. hominis*'in patojen olduğunu ifade eden tanımlamalar genellikle eleştirilmiştir, çünkü semptomatik olsun ya da olmasın diğer tüm semptomların elimine edilmesi mümkün değildir. Özellikle ishalleri hastalarda ishallerin

sebeplerinin bilinmemesi organizmanın patojen olup olmadığına karar verilmesi zorlaştırmaktadır (16).

Günümüzde *B. hominis* ile yapılan araştırmaların büyük bir bölümünde parazitin patojenitesi tartışılmaktadır. Bazı yazarlar bulunan klinik belirtilerden bu parazitin sorumlu olmadığını savunurken (52-54), çok sayıda araştırmacıda etkenin en azından potansiyel bir patojen olduğu konusunda birleşmektedir (3,16,53,55-58).

Patojeniteyle ilgili; kontrol edilmemiş çalışmalar, tedavi çalışmalarının ve bazı vaka raporlarının, yeterli kanıtlar olmadan ve eleştirisiz bir şekilde patojenitenin kabul edilmesi önerilmektedir (59).

B. hominis'in yalnızca amip şeklinin rastlandığı nadir olgularda şiddetli ishal görülebildiği, immunokompramize kişilerde, özellikle AIDS hastalarında *B. hominis*'in uzun süren ve tekrarlayan ishallere yol açabildiği bildirilmektedir (1,16,59-64). Aynı zamanda *B. hominis* turist diyaresi etkenleri arsında da gösterilmektedir (61).

Blastocystosis'te insan infeksiyonlarıyla ilgili; ishal, karın ağrısı, huzursuzluk, şişkinlik, gaz, anoreksi, kramp, kusma, dehidratasyon, uykusuzluk, bulantı, iştahsızlık, kilo kaybı, yorgunluk, kaşıntı ve tenezmus gibi semptomlar görülmektedir (1,16,55,65). Aynı zamanda en sık karşılaşılan semptomların, karın ağrısı, gaz ve ishal olduğu belirtilmekte ancak ishalin ve diğer semptomların görülmediği bulgularda söz konusudur. Hastalarda ateş, döküntü, baş ağrısı, baş dönmesi gibi çeşitli spesifik ve non-spesifik rahatsızlıklar görülebilir.

Hastalar, semptomatik taşıyıcılar, asemptomatik taşıyıcılar, akut infeksiyonlular (iki haftadan az), kronik infeksiyonlular (semptomların iki haftadan daha uzun sürdüğü olgular), persistan blastocystosis'liler olarak sınıflandırılabilir (53,65).

B. hominis infeksiyonunda iki sendrom belirtilmiştir. Birincisi iritabil bağırsak rahatsızlığı, diğer non-inflamatuar bağırsak rahatsızlıklarıdır (1). İlk çalışmalarda iritabil bağırsak sendromlarında önemli olan *B. hominis* antijenlerine karşı oluşan IgG₂ antikor seviyelerinin yükseldiği, konak immun yanıtı da her şeyden önce karbonhidrat

antijenlerine karşı direk etki olduğu belirtilmektedir. Yapılan ikinci bir çalışmada, irritabil bağırsak sendromu olan hastalarda ki IgG oranının önemli olduğu gösterilmektedir. Non-irritabil bağırsak sendromu diğer gastrointestinal hastalıklarla birleşince, bu semptomlarda *B. hominis*'in rolünün tanımlanması zorlaşmaktadır.

Eğer *B. hominis*'de irritabil bağırsak sendromu içinde etiyolojik ajanlar tek başına bulunuyorsa, bunlar hemen hemen irritabil bağırsak sendromu hastalarında muhtemel olan mikrobiyal florayı yıkması nedeniyle *B. hominis* hastalarının iyileştirilmesinin şart olduğu belirtilmektedir (1).

Genç immunocomponentlerde fekal kistler, oral inokulasyonlara karşı hassas ve parazitler yaklaşık olarak açık infeksiyonlardan iki hafta sonra, post inokulasyondan iki gün içerisinde dışkıda görülebilir (66). İnfeksiyonlarda yaş faktörünün önemli olduğu, yetişkinlerden ziyade gençlerin infeksiyonlardan daha fazla etkilendiği bilinmektedir. Yetişkinlerde parazit çok yüksek oranda alındığı zaman infeksiyona karşı direnç sekiz haftada oluşabilmektedir. İnfekte olmuş hastalarda, ilgisizlik, duyarsızlık ve kilo kaybı görülmektedir (1). Lümen sıvısından aspire edilen *B. hominis* incelendiğinde, bunların *Entamoeba histolytica* gibi çekal kolonizasyona eğilimli olduğu, distal, ileum, çekum ve kolona yerleştiği gözlenmektedir (31). Yapılan nekroskopik çalışmalarda *B. hominis*'in, çekum ve kolonda ödeme neden olduğu, histolojik çekum ve kolon muayenesinde ise şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonları, ödemli yüzey propria ve mukoza erozyonu görülmüş ve bu durumdaki hastaların parazite karşı akut infeksiyona yol açtığı belirtilmiştir (1).

Blastocystosis'li hastaların dışkılarında mukus, eritrosit ve lökosit görülebilir (54,65). Hastalarda çok fazla parazitin bulunması gastrointestinal şikayetleri artırmakta ve spesifik semptomlar göstermektedir. *B. hominis*'in gastrointestinal sistemde yapmış olduğu patojenik etki ile, buna sebep olabilecek diğer ishal etkenleri karşılaştırılmaktadır. İshale sebep olan nedenlerin *B. hominis*'e bağlı olabileceği gibi, enterik virüsler, pseudomembranöz kolitler, postenfeksiyon disakkaridaz etkileri, immun sistemin baskılanmış olması gibi nedenlerinde ishale sebep olabileceği düşünülmektedir (53).

B. hominis'li hastalarla, *B. hominis* içermeyen ve semptomatik belirtileri olmayan hastaların sonuçları karşılaştırıldığında patojenitenin tartışmalı olduğu belirtilmektedir (53). Buna immunolojik çalışmalar yardımcı olacak ve tartışmaya cevap verebilecektir. Parazitin ilaçlarla elimine edilmesi ve semptomların sonradan kaybolması *B. hominis*'in patojen olduğunu göstermektedir, fakat sadece bunun kesin bir durum olarak kabul edilebilir olması elbette zordur (16).

2.6. TANI

Blastocystosis'in etiyolojik tanımında inceleme materyali dışkıdır (16,19,63). Taze dışkıdan hazırlanan fresh preparatların ışık mikroskopunda parazitin tipik şekillerinin görülmesiyle tanı konulduğu gibi, aynı zamanda tanıda kültür yöntemleri, serolojik yöntemler ve bazı kolonoskopi yöntemlerden de yararlanılmaktadır. Blastocystosis'in tanı yöntemleri;

2.6.1. DİREKT TANI YÖNTEMLERİ

Dışkı örneğinde (19,31,67)

-Makroskobik inceleme

-Mikroskobik inceleme

* Nativ-lugol bakı yöntemi

* Çoğlaştırma (konsantrasyon) yöntemleri

- Yüzdürme (Flotasyon)

- Çöktürme (Sedimentasyon)

●Formalin etil asetat

●Modifiye formalin etil asetat

●MİF

* Boyama yöntemleri (31,57,58)

- Demirli hematoksilin

- Trichrome

- Giemsa

Kültür yöntemleri

*** In vitro**

- Robinson besiyeri
- Dobell besiyeri
- Diamond besiyeri (TYI-S-33, TYSGM-9)
- M-199
- M-1640
- MEM (Minimal essential medium)
- IMDM-HS

*** In vivo**

- Fareye inokulasyon ile
- Hamstere inokulasyon ile
- Tavşana inokulasyon ile

2.6.2. SEROLOJİK YÖNTEMLER

*** Kanda antikor arama amaçlı;**

- ELİSA

*** Dışkıda antijen arama amaçlı;**

- ELİSA
- PCR

2.6.3. DİĞER YÖNTEMLER

* Kolonoskopi ile ileum ve çekum lümeninden alınan materyal veya muayenesinde *B. hominis*'in tanısı yapılabilir (16,31).

2.7. EPİDEMİYOLOJİ

B. hominis'in vakuolar ve amoeboid formları çevre şartları ve ortamdaki oksijen nedeniyle kısa bir süre içerisinde yaşamlarını kaybetmektedirler. Burada *B. hominis*'in bulaşmada rol oynayan infektif form kistlerdir. *B. hominis*'in dış ortama atılan kistleri, su ve besinlerle fekal-oral yolla bulaşmaktadır (16,19,35,58,60,67).

B. hominis bütün dünyada kozmopolit bir dağılım göstermektedir. Prevelansı gelişmiş ülkelerde %1.5-%10 arasında değişmektedir, gelişmekte olan ülkelerde ise %50 veya daha yüksek olabilmektedir.

Toplumda hem sanitasyon hem de temizlik noksanlığının olması *B. hominis*'in yayılmasını kolaylaştırmaktadır. Toplum içerisinde sosyo-ekonomik, sosyo-kültürel ve sosyo-medikal seviyelerinin düşük olması enfeksiyon için önemli bir faktördür (1,63, 68-71). İş yerlerinin artması da enfeksiyon riskini artırmaktadır (1).

B. hominis çocuk veya yetişkinlerde uzun süreli ishal şikayetleri olanlarda ve immun yetmezlikli hastalarda oldukça sık rastlanılmaktadır (16,58). Bulaşma aile bireyleri arasında ve okullarda daha sık gerçekleşmektedir (16).

B. hominis enfeksiyonları'nın oluşumunun hava koşulları ile ilgisi vardır ve sıcak havalarda, muson öncesi aylar esnasında oluşum daha yüksek olmaktadır. Enfeksiyonun sıcak, nemli yaz aylarında, soğuk kara kış aylarına oranla daha fazla görüldüğü belirtilmektedir (16).

B. hominis'in yaygınlığı hakkında yapılan çalışmalar, parazitoloji laboratuvarından alınan veriler kullanılmaktadır ve bu veriler semptomatik hastaları yansıtmaktadır. Bundan dolayı epidemiyolojik veriler *B. hominis* enfeksiyonuna yakalanmadaki risk faktörleri hakkında çok az bilgi vermektedir (16).

2.8. TEDAVİ

B. hominis ile infekte olmuş hastaların tedavi edilmesinin uygun olup olmadığı konusunda ve eğer tedavi edilecekse hangi ilacın kullanılması gerektiği tam olarak bilinmemektedir. Bunun sebebi hastalığı doktorların önemsiz görmesi, enfeksiyonun kendiliğinden geçmesi düşüncesi ve *B. hominis*'in bir patojen olduğu ispatlanmamış iken potansiyel toksik ilaçların kullanımına karşı isteksiz olmalarıdır. Fakat çoğunun inancına göre de, eğer semptomlar var ise hastalığın başka bir nedeni olmadığı açıkça belirlenmiş ise, tedavi teşvik edilmelidir.

Blastocystosis tedavisinde metronidazol (16,19) ya da Iodoquinol'un en etkili ilaçlar olduğunu belirtmektedir (16,35).

Yapılan çalışmalar genellikle parazitolojik iyileştirme, parazit sayısının azaltılması ve semptomların ortadan kaldırılması üzerinedir. İlaçların etkisinin ölçülmesinde bir standart getirilmesi gerekmektedir (16).

Tedavide başarılı oldukları rapor edilen diğer ilaçlar arasında emetin (72), furazolidon (73), ketakonazol (74), ornidazol, quinacrin, tinidazol (16,72), trimethoprim sülfametaksazol (75), entereviaform (3) ve ko-trimaksazol (16,76) yer almaktadır. Etkisi çok az olan ilaçlar arasında Iodoquinol ve chloroquin bulunmaktadır (72,77). Etkili olmadığı rapor edilen ilaçlar arasında paramomisin yer almaktadır (16,77).

B. hominis'e karşı ilaç denemelerinin yeterli seviyede yapılmadığı ve bunların kullanımının detaylı klinik denemeler ve daha ileri düzeyde deneysel çalışmalar yapıluncaya kadar ampirik kalacağı belirtilmektedir. Eğer dışkıdan *B. hominis*'in elimine edilmesi için bir ilaç terapisi gerekiyorsa, bu durumda ilk aşamada metronidazol veya diğer 5- nitroimidazol kullanılmalıdır. Eğer tedavide başarısızlıklar ile karşılaşırsa o zaman ise ko-trimaksazol, furazolidon ve quinacrin'in önerilmesi uygun olabilir (16).

B. hominis üzerine etkisini araştırdığımız ilaçlar hakkında aşağıda kısaca bilgi verilmiştir.

2.8.1. ANTIAMİBİK İLAÇLAR

Antiamibik ilaçlar kimyasal yapılarına göre yedi gruba ayrılır.

- 1- Emetin ve dehidroemetin
- 2- Klorokin fosfat
- 3- Halojenli 8-hidroksikinolinler
- 4- Antibiyotikler
- 5- Diloksanid furoat
- 6- Organik arsenik bileşikler.

Bu ilaçlar antiamibik etkilerinin yerine göre üçe ayrılırlar:

- 1- Doku Amibisidler: Sadece doku içinde (bağırsak duvarı, karaciğer ve dokular) yerleşmiş (invaziv) amipleri öldürürler; lümendekilere etkisizdirler. Bunlar emetin, dehidroemetin ve klorokindir. Klorokin sadece karaciğer dokusunda ki amibe etkilidir
- 2- Lümente Etkili Amibisidler: Esas olarak bağırsak lümenindeki amiplere ve bazıları ilave olarak kistlere etkilidirler. Bunlar, halojenli hidroksikinolinler, diloksanid furoat ve antibiyotikler (tetrasiklinler ve paromomisin)dir. Lümente ki amiplere etkili olan arsenik türevleri de bu grupta olmakla beraber toksisitelerinin fazlalığı nedeniyle yeni ilaçlar yanında değerlerini yitirmişlerdir (78).
- 3- Hem Doku Hem de Lümente Etkili Amibisidler: Bunlar arasında, metronidazol ve diğer 5-nitroimidazollar bulunur. Bu ilaçlar amoebiosis'in bütün şekillerinde kullanılırlar (78).

2.8.1.1. METRONİDAZOL VE DİĞER 5-NİTROİMİDAZOLLAR

Metronidazol, amibiyozis kolonik ve ekstrakolonik tüm doku şekillerinin tedavisinde en fazla kullanılan ilaçtır; ancak lümente ki kistlere ve amiplere fazla etkili olmadığından bir luminal amibisid ilaçla birlikte kullanılmalıdır. Anaerobik protozoonlar üzerinde öldürücü etki yapar. Ayrıca *Bacteroides fragilis*, *Hemophilus vaginalis* dahil anaerob bakterilere ve *Cytophaster fetus*'a karşı güçlü antibakteriyel etki gösterir.

Protozoonların (*B. hominis*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*, *Giardia intestinalis*) veya anaerob bakterilere bağlı infeksiyonların tedavisinde kullanılır (78).

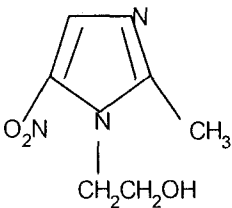
Metronidazole ve diğer nitroimidazolların bulunmasıyla amibiyozis ilaçla tedavisi nisbeten basitleşmiş ve kolaylaşmıştır. Ancak bu ilaçların kistler üzerine etkisi pek fazla olmadığından onlarla yapılan bir kürden sonra bir luminal amibisidin bir süre kullanılması gerekir. Bazı ağır durumlarda iki doku ambisid'in, aynı zamanda birlikte kullanılması gerekebilir (78).

Ağızdan alınan metronidazol'un ince bağırsakta tamamen absorbe edilmesi nedeniyle, kalın bağırsakta ki hastalıklı bölgeye nasıl eriştiği ilgi çekmiştir. Sıçanlarda ¹⁴C ile işaretli metronidazol kullanmak suretiyle yapılan deneyler, dolaşan kan içinde gelen ilacın kalın bağırsak mukozasında yüksek konsantrasyonda toplandığını oradan lumen içine salgılandığını göstermiştir. In vitro olarak 1-2 µg/ml konsantrasyonda ki metronidazol, amibi 24 saat içinde öldürür. Amibisid ve Trikomanasid etkisini; kısmen anaerob sonucunu intrasellüler ve NADH ve NADPH havuzunu boşaltmak suretiyle oluşturur. Bu olay metronidazol'ün çok düşük redoks potansiyeli nedeniyle anaerobik hücredeki elektron akış zincirinden elektronları kendine çekmesine bağlıdır. Sonuçta hücrenin üretimi bozulur. Diğer bir mekanizma, yukarıdaki olay sonucu, metronidazol'ün indirgenerek in vitro grubunu kaybetmesi ve böylece oluşan elektrofilik hidroksil amin türevi metabolitin DNA ya kovalent bağlanarak onun yapısını ve fonksiyonunu bozmasıdır. Bu mekanizmalar anaerobik bakterilerin öldürülmesinde de rol oynar (78).

Bağırsak amibiyozisi tedavisi için erişkinlerde günde üç kez 500-750 mg dozunda 10 gün süreyle verilebilir. Olguların yaklaşık %90 nında etkili olduğu görülmüştür. Bu durumda 2 g lık tek doz halinde 2-3 gün kullanılmasıyla da yeterli derecede de terapötik etki sağlanabilir. Çocuklarda günlük doz 35-50 mg hesabıyla belirlenir.

Metronidazol'ün açık formülü (79)

A5-nitroimidazol



Deney hayvanlarında karsinojen etki oluşturması ve insan vücut sıvılarından terapötik dozlarda bakterilerde mutajenik etki oluşturması nedeniyle metronidazol'un güvenilirliği uzun inceleme ve tartışmalara yol açmıştır. İnsanda karsinojen olduğu gösterilen direkt bir kanıt yoktur. Gebe kadınlarda Trikominyazis'in tedavisi için geniş ölçüde kullanılmış, fetüs de zararlı bir etkisi gözlenmemiştir. Ancak, mutajenik ve bundan kaynaklanan potansiyel teratojenik etkisi nedeniyle gebeliğin ilk üç ayında kullanılması tavsiye edilmez (78).

2.8.1.2. ORNİDAZOL VE TİNİDAZOL

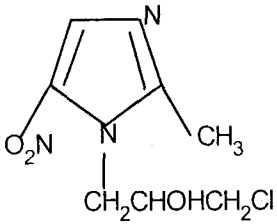
Metronidazol gibi nitroimidazol türevidir. İnvaziv nitelikte ki amibiyozis olgularında güçlü etki gösterirler. Kimyasal yapılarının özelliği nedeniyle metronidazole'den daha lipofiliktirler ve karaciğerde enzimatik inaktivasyonları daha yavaştır.

Mide bağırsak kanalından çabuk ve tam absorbe edilirler. Kanda aynı dozda ki metronidazolün yaptığına oranla daha yüksek konsantrasyon oluştururlar.

Kullanılış yerleri metronidazolla aynıdır. Ornidazol amibiyozis ve giardiyosis de erişkinleri ağızdan günde iki kez 500 mg dozunda verilir ve 5-10 gün devam edilir. Çocuk dozu, 1 yaşından küçüklerde erişkin dozunun $\frac{1}{4}$ 'ü, 1-6 yaş arasındakilere $\frac{1}{2}$ 'si, 7-12 yaş arası $\frac{3}{4}$ 'ü dür (78).

Ornidazol ve Tinidazol'un açık formülü (79)

A 5-nitroimidazol



2.8.2. İMİDAZOL VE TRIAZOL TÜREVLİ ANTİFUNGAL İLAÇLAR

Bunlar geniş spektrumlu fungistatik ilaçlardır. Cilt ve mukozaların mantar enfeksiyonları ile kronik mukokutanöz kandidiyozis tedavisinde diğer ilaçlara göre üstünlük gösterirler. Aynı zamanda bu ilaçlar sistemik mantar enfeksiyonlarına karşıda etkilidirler (78).

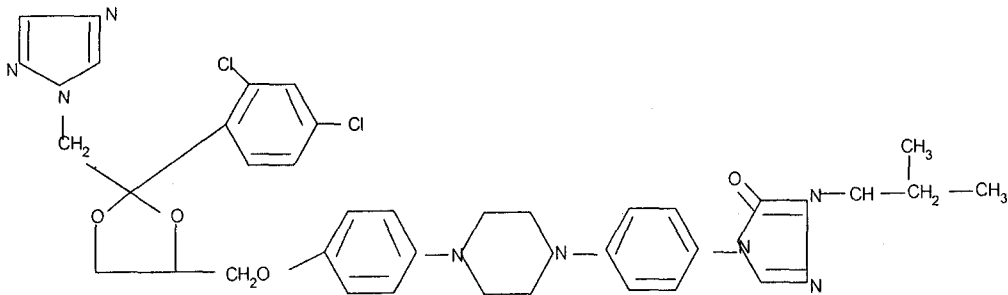
Triazol türevleri, sistemik verilişte imidazol türevlerine göre 3 noktada üstünlük gösterirler.

- Daha yavaş metabolize edildikleri için daha uzun etkilidirler ve doz aralıkları daha uzundur.
- İnsan hücrelerinde ki sterol sentezi üzerinde daha az etkilidirler; bu nedenle direkt toksik etkileri daha zayıftır.
- İmidazol türevli ilaçların sistemik verilişte yapabildikleri endokrin yan tesirleri göstermezler.

İmidazol ve triazol türevli antifungal ilaçlar, mantar hücrelerinin sitoplazma membranında ana sterol bileşiğinde olan ergosterol'un sentezini, 14-metillanosterol'un desmetilhidrolenosterola dönüşümü basamağında inhibe eder. Bu dönüşümü yapan 14 α -demetilaz enzimi, mikrozomal sitokrom P-450'ye bağımlıdır. İmidazol ve triazol türevi ilaçlar, sitokrom P-450'yi selektif olarak inhibe eder. Selektiflik triazol türevlerinde, imidazol türevlerinde olduğundan daha fazladır. İmidazollar ve triazollar maruz kalan mantar hücrelerinde 14 α -metilsteroller birikir ve bunlar membran fosfolipitlerinin asıl zincirlerinin normal düzenini ve membrana bağlı belirli enzimlerinin fonksiyonlarını bozarlar; sonuçta mantar hücrelerinin çoğalmaları inhibe edilir, ayrıca hücre membranının permeabilitesi bozulur (78).

İmidazol ve Triazol'ün açık formülü (79)

Asynthetic diaxolane triazol

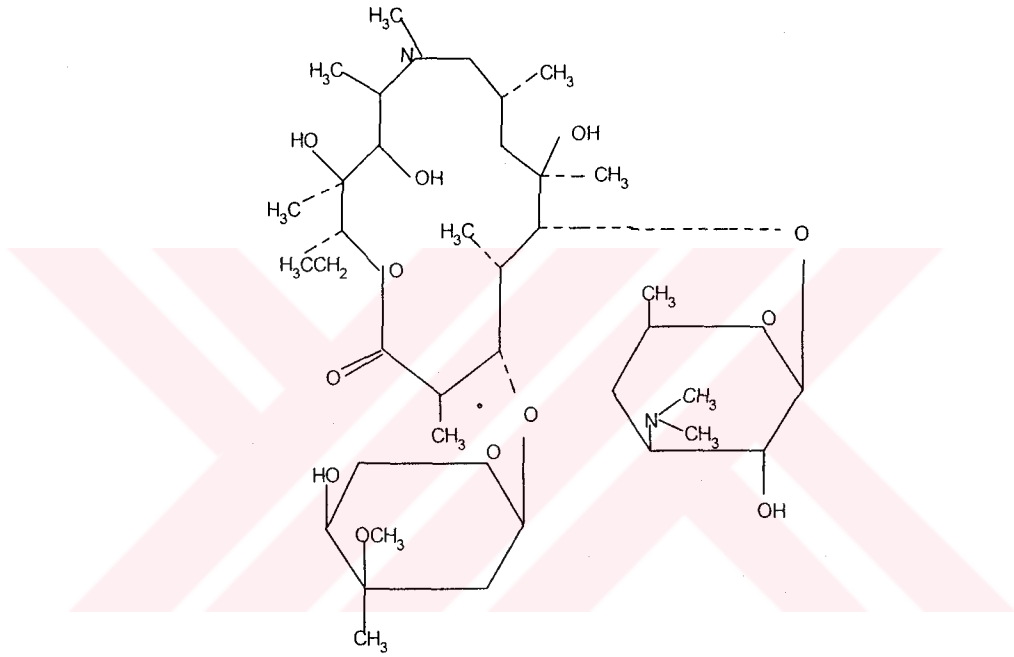


Triazol türevli ve lipofilik içerikli bir antifungal ilaçtır. %55 oranında absorbe edilir. Günde iki kez 100-200 mg kullanılır. Zayıf nefrotoksik etkisi vardır. Bazen hepatik transaminazların ve alkalın fosfatazın plazma düzeyini yükseltebilir.

2.8.3. AZİTROMİSİN

Azitromisin' nin açık formülü (79)

A 15- membered-ring azalid



Eritromisinin lakton halkasına metillenmiş azot sokulmak suretiyle türetilen yarı-sentetik eritromisindir; kimyaca aza-makrolid (azalid) bileşigidir ve 15 üyeli lakton halkası içerir.

Bakteri ribozomlarının 50S alt-birimlerine reversibl olarak bağlanarak aksöptör noktada ki yeni sentez edilen polipeptid zincirine transferini inhibe ederek peptid zincirinin uzamasını önler. Böylece bakteri hücresinde protein sentezini engeller (78).

Doğal direncin nedenlerinden biri, bakteri hücre çeperinin ilacın pasif difüzyonuna elverişli olmamasıdır. Etki yeri ribozomlara olduğu için sitoplazmaya girmesi gerekir.

E. coli gibi mikroorganizmaların duyarlı olmamasının sebebi ilacın, kalın olan hücre çeperi dış duvarını aşamamasıdır.

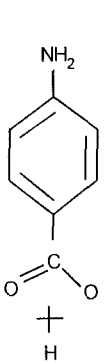
Ortamın pH'sının yükselmesi ilacın iyonizasyonunu azaltarak permabiliteyi ve etkisini artırır. Bazı Enterobacteriaceae türleri, makrolidleri yıkan bir esteraz salgılamaları nedeniyle direnç gösterirler. Direncin en sık görülen mekanizması, bakterinin metilaz salgılaması sonucu, ribozomların 50S alt-biriminin bir ögesi olan 23 S rRNA'nın adenin rezüdilerinin metillenmesidir; bu olay sonucunda afinitenin azalması makrolidlerin bakteriyel ribozomların 50S alt-birimi üzerindeki etki yerlerine bağlanmasını azaltır (78).

Oral biyoyararlanımı %40 kadardır, ancak besinler tarafından elimine edilir. Mide asitesine dayanıklıdır. Mutad dozu günde bir kez 250-500 mg'dır, üç gün verilir. Eritromisin ve klaritromisin aksine CYP3A4 enzimini inhibe etmez ve bu enzimin yıktığı ilaçlarla etkileşme göstermez (78).

2.8.4. KO-TRİMAKSAZOL (TMP-SMX)

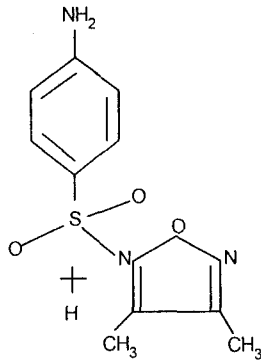
Ko-trimaksazol'un açık formülü(79)

A-sentetik di aminopirimidin

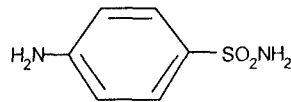


PABA

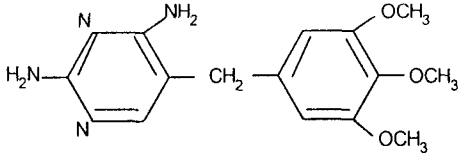
(Para amino benzoik asit)



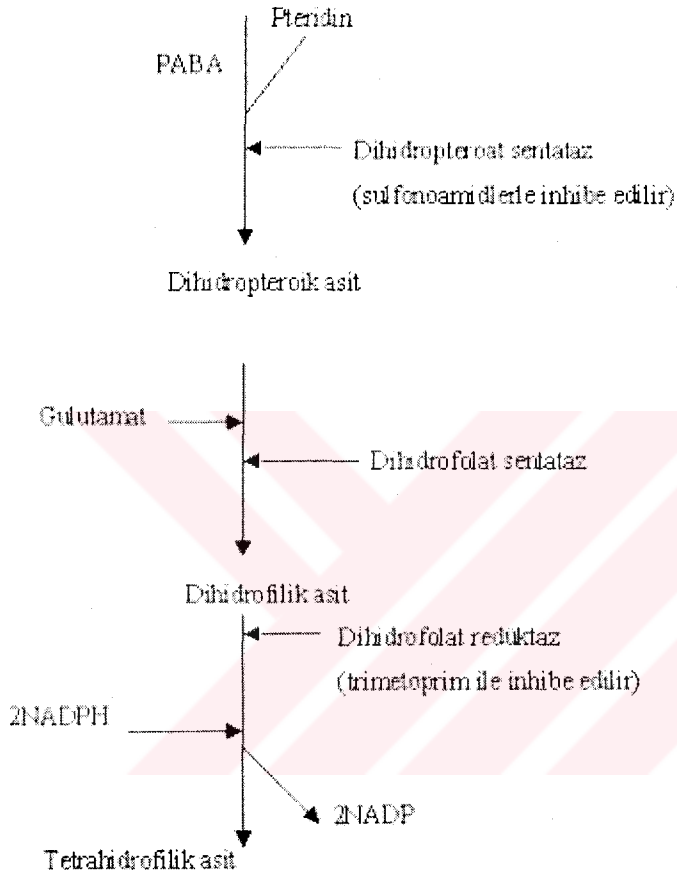
Sulfizaksazol



Sulfanilamid



Trimetoprim



Şekil 2.3. Sülfonamidler ve trimetoprim'in etki yerleri.

Bir sıtma ilacı olan pirimetamin yapıca benzeri bir antibakteriyel ilaç olan trimetoprim ile bir sulfonamid olan sulfametaksazol' un sabit oranlı kombinasyonu, ko-trimaksazol olarak adlandırılır. Bunlar bir kısım trimetoprim ve 5 kısım sulfametaksazol içerir. Miktarına göre tek ve çift olmak üzere iki türü vardır (78).

Sulfonamidlerin ve trimetoprim'in; duyarlı mikroorganizmalar hücrelerinde pürinlerin, timidin' in, metionin ve glisin'in sentezi için gerekli önemli ko-faktör prekürsörü olan tetrahidrofolik asit sentez yolunu iki yerde ardışık olarak bloke ederler. Sentez yolu üzerindeki ardışık inhibisyon, komponentlerin antibakteriyel etkinliklerinin potansiyalizasyonuna yol açar. Kombinasyonun sinerjistik etki gücü, komponentlerinin bireysel etki güçlerinin toplamından çok daha fazladır. Bu nedenle, her bir komponent tek başlarına genellikle bakteriyostatik etki gösterdikleri halde, 'trimetoprim+ sulfonamid' kombinasyonu duyarlı bakterilerin çoğuna karşı bakterisid etki gösterir (78).

In vitro ortamda veya vücut sıvılarında en yüksek sinerjistik etkileşme, trimetoprim/sulfametoksazol (TMP-SMX) konsantrasyon oranı 1:20 olduğunda elde edilir.

Etkinliğin belirlenmesinde trimetoprim'e duyarlılık daha önemlidir. Sulfonamid'lere rezistan olan, fakat trimetoprim'e az da olsa duyarlı olan mikroorganizmalar üzerinde de ko-trimaksazol sinerjistik etki gösterebilir.

Trimetoprim'e rezistans oluşmasında aşağıda ki mekanizmalar aracılık eder;

- Bu ilacın hedef enzimi olan dihidrofolat reduktazın indüklenmesi.
- Trimetoprime affinitesi düşük olan modifeye enzim sentez edilmesi.
- Bakteri hücre çeperinin trimetoprime permeabilitesinin azalması.

Mide bağırsak kanalında, tam olarak fakat değişik hızda absorbe edilir. Plazma proteinlerine trimetoprim %45 ve sulfametoksazol %66 oranında bağlanır (78).

Tedavi için kullanılan dozlar 6 veya 8 saatte bir uygulanmalıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan dışkı örnekleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalardan temin edilmiştir. Ağız kapaklı kaplara alınan dışkı örnekleri nativ-lugol yöntemiyle incelenmiş ve inceleme sonucu sadece *B. hominis* tanısı konmuş örneklerden Robinson besiyerine ekimleri yapılmıştır.

3.1. DİREK TANI YÖNTEMİ

Direk tanı yöntemlerinden nativ-lugol baki yöntemi prepratlarının hazırlanması dışkı incelemelerinde basit ve etkili bir yöntem olması nedeniyle başvurulmaktadır. Çalışmamızda da bu yöntemlerle parazit bakısı yapılmıştır.

Nativ Baki Yöntemi

Bir lam üzerine serum fizyolojik damlatılarak plastik baget yardımıyla alınan yaklaşık 2 mg dışkı konmuş ve karıştırılarak hazırlanmıştır.

Lugol Baki Yöntemi

Bu yöntemde parazitlerin iyot ile boyamalarını sağlamak için boya solüsyonu aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

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

Potasyum iyodür 100 ml distile su içerisinde çözdürülmüş ve üzerine 5 gr iyot kristalleri eklenmiştir. Hazırlanmış olan stok lugol solüsyonu kapaklı kahverengi bir cam şişe içerisine süzülmüştür. Kullanılmadan önce distile su ile bire bir sulandırılmıştır.

Nativ yönteminde anlatıldığı gibi serum fizyoloji yerine lugol solüsyonu ile hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda x40 büyütmede incelenmiştir.

3.2. ROBINSON BESİYERİ

Çalışmamızda kullanılan Robinson besiyeri, amiplerin üretilmesi için en sık kullanılan ksenik besiyeridir. Bu besiyeri katı ve sıvı olmak üzere 2 fazlı (difazik) bir besiyeridir ve amipler bu ortamda üretilirken *Esheria coli*'den faydalanılmaktadır.

Robinson besiyeri için kullanılan kimyasal maddeler:

Tuzlu Agar

Agar	1,5 gr
NaCl	0,7 gr
Distile su	100 ml

hazırlanmış olan tuzlu agardan vida kapaklı cam tüplere 5'er ml konulup, otoklavda 121 °C de 20 dakika steril edildikten sonra, tüpler 37 °C etüv içerisinde eğimli pozisyonda tutularak agarın katılaşması sağlanmıştır.

Eritromisin Solüsyonu

Eritromisin (Pediatrik süspansiyon)	20 ml
% 70' lik ethanol	80 ml

karıştırıldıktan sonra 37 °C etüvde 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra steril distile su ile % 0,5'lik olacak şekilde sulandırılmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

Bakto Pepton Çözeltisi (%20' lik)

Bakto pepton	2 gr
Distile su	10 ml

karışım otoklavda steril edilmiş ve +4 °C'de saklanmıştır.

Pirinç Unu

Pirinç unu, kullanılacak miktarda küçük paketlere bölünerek pastör fırınında 180 °C'de 1 saat steril edilerek oda ısısında saklanmıştır.

%40 NaOH çözeltisi

NaOH	4 gr
Distile su	10 ml

ilave edilip karıştırılmıştır.

Potasyum Fitalat Çözeltisi (0,05 M)

Potasyum fitalat	5,1 gr
%40' lık NaOH	2,5 ml
Distile su	47,5 ml

ilave edilip magnetik karıştırıcıda karıştırılmış ve karışımın pH'ı 6.3'e ayarlanarak otoklavda steril edilmiştir. 0,05 M solüsyon daha sonra steril distile su ile 1/10 sulandırılarak ve pH 6.5'e ayarlanmıştır.

Stok 'R' Besiyeri Solüsyonu (Escherichia coli üremesi için)

NaCl	25 gr
Sitrik asit monohidrat	10 gr
Potasyum dihidrojen fosfat	2,5 gr
Amonyum sülfat	5 gr
Magnezyum sülfat heptahidrat (7H ₂ O)	0,25 gr
%1'lik Laktik asit solüsyonu	20 ml
Distile su	500 ml

karıştırılarak +4 °C'de saklanmıştır.

Kullanım için

Stok R besiyeri solüsyonu	100 ml
%40 NaOH	7,5 ml
%0,04 Bromtimol mavisi solüsyonu	2,5 ml
Distile su	890 ml

ilave edilip karıştırıldıktan sonra solüsyon pH 7.0'a ayarlanarak otoklavda steril edilmiştir.

'BR' Solüsyonu (Bazal amip besiyeri)

Erciyes Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji ünitesinden temin edilen *Escherichia coli* suşunun ağzı kapaklı balon joje içerisinde hazırlanmış olan R besiyerine ekimi yapılarak 37 °C'de 48 saatte üretilmiş ve kullanmadan önce steril şartlarda pH'ı 7.3'e ayarlanmıştır.

Serum

Çalışmada, gönüllü insanlardan alınan serumlar 56 °C'lik su banyosunda inaktive edildikten sonra kullanılmıştır. İnaktive serumlar ağzı kapaklı steril tüplere konularak -20 °C'de saklanmıştır.

Besiyerine Ekim İşlemi

Tuzlu agar tüpü içine:

Pirinç unu	20 mg
BR besiyeri	3 ml
Eritromisin solüsyonu	8 damla
Dışkı (<i>B. hominis</i> saptanan)	~100 mg

Dışkı sulu ise 2 pastör pipeti dolusu (~100 mg), eğer şekilli ise steril serum fizyolojik ile pipetle alınacak şekilde sulandırıldıktan sonra ekimi yapılmış ve 37 °C'lik etüve konulmuştur. Bu besiyeri 24 saat sonra incelenerek, üreme olması durumunda iki günde bir pasajlar yapılmıştır.

Pasajlar İçin

Potasyum fitalat solüsyonu (1/10 sulandırılmış)	3 ml
BR besiyeri	1,5 ml
Serum	1,5 ml
Eritromisin	4 damla
Bakto pepton çözeltisi	4 damla
Pirinç unu	20 mg

konularak ilk izolasyon yapılan tüpten yeni hazırlanan tuzlu agar tüpü içine 2 pastör pipeti dolusu (pirinç ununun bol olduğu bölgeden) alınarak aktarılmıştır. 37 °C'lik etüve konularak pasajlar 2 günde bir yenilenmiştir. Üreme olup olmadığı ışık mikroskopunda x20 veya x40'luk objektiflerde incelenmiştir.

B. hominis'in Robinson Besiyerinde Çoğaltılması

B. hominis sayısı $5 \times 10^4/\text{mm}^3$ e ulaşıncaya kadar tüplerde üretime devam edilmiştir. Daha sonra bir mezürde ana besiyeri oluşturulmuş ve pasajlarla elde edilen izolatların üretilmesine bu besiyerinde devam edilmiştir.

Ana Besiyeri

1000 ml'lik steril mezür içerisine 300 ml tuzlu agar aktarılmıştır ve eğimli olacak şekilde 37 °C'lik etiv içerisine konulmuştur. Bunun içerisine, aşağıdaki solüsyonlar eklenmiştir (77).

Potassium fitalate	90 ml
R besiyeri	45 ml
Serum	45 ml
Pirinç unu	6 gr
Eritromisin	1800 µl
Bakto pepton çözeltisi	1800 µl

Ana besiyerinde yapılan kültürde parazitin üremesi günlük olarak takip edilerek, üremenin fazla olduğu 3. günde Thoma lamında sayılmış ve mm^3 'de 1.1×10^5 olduğu saptanmıştır. Buradan alınan 2 pastör pipeti (~6 ml) pasajlar için hazırlanan 20 ml'lik vida kapaklı 85 tüp içerisine konmuş olan 6 ml Robinson besiyerleri üzerine aktarılmıştır.

3.2. İLAÇLARIN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Çalışmada, *B. hominis* üzerine in vitro etkilerini araştırmak için ornidazol (Biteral 500 mg amp.), metronidazol (Nidazol 250 mg tab.), trimetoprim-sülfametaksazol (Bactrim tab.), azitromisin (Azitro 250 mg şurup), itrokonazol (Funit 100 mg cap.) preparatları kullanılmıştır.

İlaç Konsantrasyonlarının Hazırlanması

Test edilen ilaçların her birinden etken maddesi 10 mg olacak miktarları hesaplanarak tartılmıştır. Bu miktarlar 1 ml % 100'lük DMSO içerisinde çözdürülmüştür ve her bir çözelti besiyerinde kullanılan Potassium fitalate çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Böylece her bir ilacın 100 µg/ml lik konsantrasyonlarında 100'er ml'lik solüsyonları elde edilmiş oldu. Elde edilmiş olan her bir ilacın 100 µg/ml'lik konsantrasyondaki 100 ml içerinden 50 ml alınarak içlerinde 50 ml Potassium fitalate çözeltisi bulunan 4'er tüpe sırasıyla aktararak ilaçların 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml ve 6 µg/ml'lik çözeltileri elde edilmiştir. Elde edilen 100, 50, 25, 12,5 ve 6 µg/ml'lik her bir ilaç solüsyonunun parazit üzerine in vitro etkisi araştırılmıştır.

İlaç Konsantrasyonlarının Besiyerine Aktarılması

Toplam 5 ilaç denemesi ve kontroller için ana besiyerinden 85 tüpte bulunan Robinson besiyerine ekimi yapılmıştır. Her bir ilacın 5 farklı konsantrasyonu için 3'er adet besiyeri kullanılmıştır. Tüpler kalemlle işaretlenerek ekimden sonra üzerlerine her bir ilaç konsantrasyonundan daha önceki çalışmalar (77) göz önünde bulundurularak 60'ar µl eklenmiştir (5 µl ilaçlı solüsyon/ml besiyeri). 10 kontrol tüpüne ise 60'ar µl ilaçsız DMSO eklenerek inkübasyon için 37 °C'lik etüve konmuştur.

İlaçların Etkinliğinin Araştırılması

Toplam 85 besiyerindeki üreme 36, 48, 72, 168, 216. saatlerde ve bunda sonra üçer gün arayla iki kez kontrol edilerek ışık mikroskopunda Thoma lamı ile sayılarak mm³'deki parazit sayısı bulunmuş ve ilaçların çeşitli konsantrasyonlardaki etkisi değerlendirilmiştir.

3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel değerlendirmeler için SPSS 11.0 paket programında, gruplar arası farklar için varyans analizi, post hoc testi olarak LSD (Fisher's Least Significant Different Test) testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

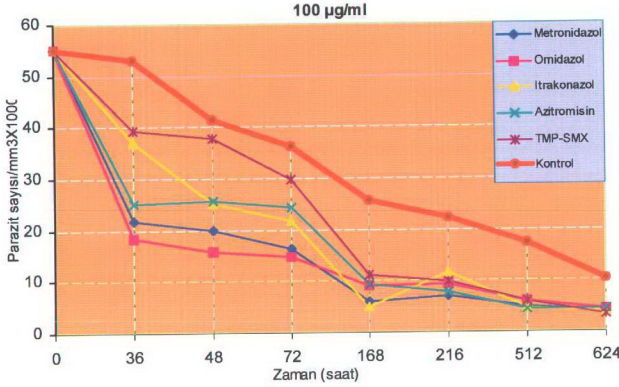
Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalına başvuran hastalardan izole edilen *B. hominis* üzerine in vitro ortamda ornidazol, metronidazol, TMP-SMX, azitromisin ve itrakonazol'un farklı konsantrasyonlardaki (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) etkileri araştırılmıştır. Bu ilaçların farklı konsantrasyondaki in vitro ortamdaki etkileri 36, 48, 72, 168, 216. saatlerde ve bundan sonra 3'er gün arayla iki kez kontrol edilerek sayımları yapılmıştır.

100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml konsantrasyonlardaki her bir ilacın denendiği besiyeri için söz konusu saatlerdeki üreme sonuçları ve istatistiksel yöntemlerle yapılan değerlendirmeler Tablo 1, 2, 3, 4, 5 ve Şekil 1, 2, 3, 4, 5 de gösterilmiştir.

İlaçların 100 µg/ml konsantrasyonlarının kullanılmasıyla *B. hominis* üzerine etkileri araştırılmış ve en etkin ilacın ornidazol olduğu saptanmıştır (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4.1. 100 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması (S1,2,3= Seri 1,2,3).

Saat	Metronidazol			Ornidazol			Itrakonazol			Azitromisin			TMP-SMX			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	23	25	17	12	18	25	35	39	37	21	17	37	38	35	45	53,1
48	24	21	15	11	15	21	40	14	21	23	24	30	38	34	41	41,3
72	16	19	14	12	15	17	25	20	20	23	22	28	22	30	37	36,2
168	7	8	3	9	11	7	5	4	6	7	8	13	12	12	9	25,5
216	7	8	6	7	12	9	15	8	12	7	6	10	9	11	9	22,3
512	6	4	5	5	8	5	6	1	7	4	3	6	5	9	4	17,2
624	6	4	2	3	7	3	4	1	7	3	3	7	5	4	1	10,3



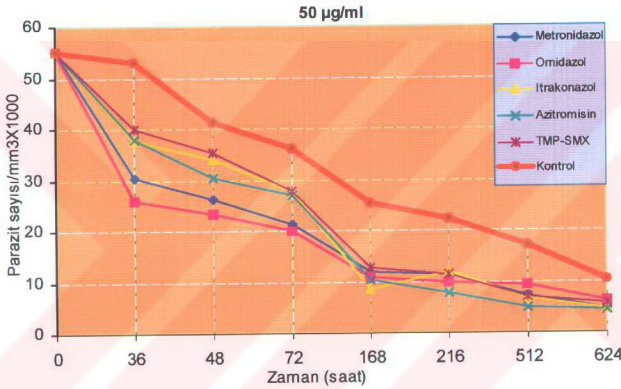
Şekil 4.1. 100 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.

100 µg/ml de kullanılan ilaçların etkileri saatlere göre karşılaştırıldığında; 36. saatte ornidazol, metronidazol ve azitromisin'nin diğerlerinden farklı olarak daha etkili olduğu gözlenmiş, bu ilaçlarla trimethoprim-sülfametaksazol (TMP-SMX) ve itrakonazol arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$, F: 6.528). 48. saatte, ornidazol ve metronidazol'ün daha etkili olduğu ve bunlarla TMP-SMX arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$, F: 4.028). 72. saatte ise ornidazol ve metronidazol'ün diğerlerinden daha etkili olduğu bulunurken, bu ilaçlarla TMP-SMX ve azitromisin arasında istatistiksel olarak farkın anlamlı olduğu ve aynı zamanda TMP-SMX ve itrakonazol arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$, F: 6.331). 168. saatte, metronidazol ile itrakonazol'ün etkili olduğu saptanırken, metronidazol ile TMP-SMX arasında, itrakonazol ile azitromisin ve TMP-SMX arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$, F: 3.664). Sonraki saatlerde ilaçların etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

İlaçlar 50 µg/ml konsantrasyonda kullanılarak *B. hominis* üzerine etkileri araştırılmıştır (Tablo 4.2, Şekil 4.2).

Tablo 4.2. 50 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması.

Saat	Metronidazol			Ornidazol			Itrakonazol			Azitromisin			TMP-SMX			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	33	32	26	23	28	27	40	38	35	45	29	40	51	30	39	53,1
48	28	27	24	23	24	23	36	37	29	41	21	29	44	26	36	41,3
72	17	26	21	25	20	15	30	30	23	30	27	24	30	26	27	36,2
168	12	11	13	15	10	8	8	9	9	8	9	14	10	13	15	25,5
216	12	10	12	15	9	6	11	13	12	6	6	11	11	11	12	22,3
512	13	4	5	15	9	4	5	6	9	4	3	8	7	8	6	17,2
624	6	4	4	8	8	3	1	7	6	5	2	6	6	8	3	10,3



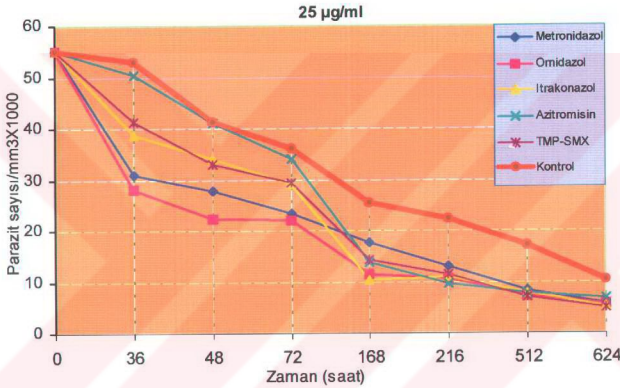
Şekil 4.2. 50 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.

50 µg/ml konsantrasyonda kullanılan ilaçların parazit üzerine etkileri kontrole göre kendi aralarında ve saatlere göre karşılaştırdığımızda, yine en etkili ilacın ornidazol olmasına rağmen, ilaçların etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

İlaçlar 25 µg/ml konsantrasyonda kullanılarak *B. hominis* üzerine etkileri araştırılmış ve ornidazol ve metronidazol'un daha etkili olduğu saptanmıştır (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

Tablo 4.3. 25 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması.

Saat	Metronidazol			Ornidazol			Itrakonazol			Azitromisin			TMP-SMX			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	32	34	27	29	31	24	40	30	46	47	54	50	34	32	58	53,1
48	25	31	27	26	27	20	32	25	45	42	40	41	40	37	22	41,3
72	20	30	20	23	22	21	24	27	36	27	37	38	35	32	21	36,2
168	21	19	13	10	16	8	7	9	15	14	13	14	11	15	17	25,5
216	12	15	12	10	14	8	12	9	12	11	6	12	9	10	15	22,3
512	7	10	8	8	10	4	7	6	10	8	4	11	6	4	11	17,2
624	5	2	8	8	7	2	5	2	9	4	5	11	6	3	6	10,3



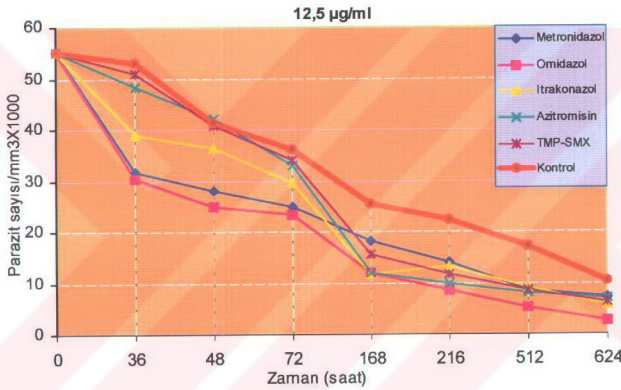
Şekil 4.3. 25 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.

25 µg/ml da kullanılan ilaçların etkileri saatlere göre araştırıldığında; 36. saatte, ornidazol, metronidazol daha etkili olduğu gözlenirken bu ilaçlarla en az etkili olan azitromisin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunduğu saptanmıştır ($p < 0,05$, $F: 3.745$). Sonraki saatlerde ilaçların etkileri arasında bazı farklılıklar olmasına rağmen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

12,5 µg/ml konsantrasyonda kullanıldığında, *B. hominis* üzerine ornidazol ve metronidazol'un daha etkili olduğu saptanmıştır (Tablo 4.4, Şekil 4.4).

Tablo 4.4. 12,5 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması.

Saat	Metronidazol			Ornidazol			Itrakonazol			Azitromisin			TMP-SMX			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	33	37	25	36	31	24	48	45	24	41	53	51	45	50	58	53,1
48	29	32	23	28	27	20	46	40	23	36	44	46	48	32	42	41,3
72	24	31	20	27	28	15	33	34	22	26	30	43	33	34	35	36,2
168	14	20	21	13	15	8	13	9	13	11	10	15	12	14	21	25,5
216	14	18	10	6	13	7	14	9	17	10	6	14	13	8	14	22,3
512	6	11	9	4	8	4	11	3	13	8	4	12	11	4	11	17,2
624	5	10	7	4	2	2	5	2	10	7	4	10	11	3	5	10,3



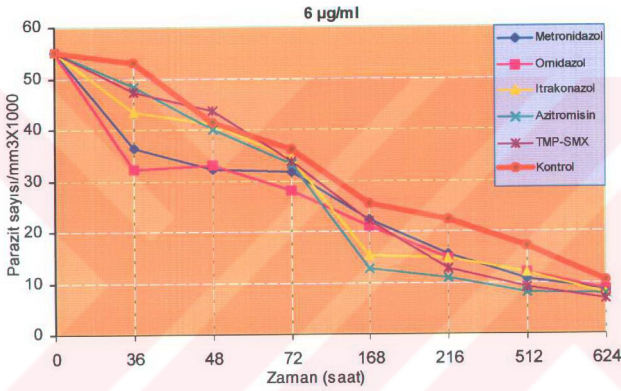
Şekil 4.4. 12,5 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.

12,5 µg/ml da kullanılan ilaçların etkileri saatlere göre karşılaştırıldığında; 36. saatte daha etkili olan ilaçların ornidazol ve metronidazol olduğu, bu ilaçlarla daha az etkili olan azitromisin ve TMP-SMX arasında bir fark olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$, F: 4.039). Sonraki saatlerde ilaçların etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

İlaçlar 6 µg/ml konsantrasyonda kullanılarak *B. hominis* üzerine etkileri araştırılmıştır ve burada en etkili ilacın ornidazol olduğu saptanmıştır (Tablo 4.5, Şekil 4.5).

Tablo 4.5. 6 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması.

Saat	Metronidazol			Ornidazol			Itrakonazol			Azitromisin			TMP-SMX			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	38	35	36	30	34	33	44	34	52	56	35	54	61	50	31	53,1
48	38	34	25	32	34	33	41	32	50	46	25	49	54	42	34	41,3
72	38	32	25	31	25	28	35	24	44	36	22	42	36	36	29	36,2
168	25	23	19	20	25	18	14	14	18	13	9	16	24	22	20	25,5
216	13	15	19	14	16	14	11	15	18	13	7	13	13	16	9	22,3
512	6	13	13	13	12	11	10	11	15	12	3	9	8	12	7	17,2
624	3	13	10	7	9	10	4	6	13	10	4	9	3	11	6	10,3



Şekil 4.5. 6 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı.

6 µg/ml da kullanılan ilaçların etkileri saatlere göre araştırıldığında 168. saatte ornidazol ve metronidazol'un diğerlerinden daha etkili olduğu ve istatistiksel olarak aralarında önemli bir farkın bulunduğu saptanmıştır ($p < 0.05$, $F: 6.572$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Blastocystis hominis üzerine yapılan araştırmaların büyük bir bölümünde parazitin patojenitesi tartışılmakta ve birçok araştırıcı etkenin patojen olduğunu savunmaktadır. *B. hominis*'in dağılış ve sıklığı üzerinde beslenme yetersizliği, coğrafik koşullar ve kötü hijyenik koşullar etkili olmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, semptomatik ve asemptomatik bireylerin %7,7- %60'ında *B. hominis*'e rastlanmıştır (57,58,65,80).

Semptomatik olgularda genellikle ishal, karın ağrısı, gaz, şişkinlik, mide ve bağırsak rahatsızlıkları ve iştahsızlık gibi belirtiler görülebilir. *B. hominis* özellikle immun sistemi baskılanmış kişilerde uzun süren ve tekrarlayan ishal nedenidir. *B. hominis*'e karşı in vitro ve in vivo ilaç denemeleri yapılmış ve bazı ilaçların etkili olduğu görülmüştür (72,75-77,81-85).

Zierdt ve ark. (81), in vitro ortamda antiprotozoal ilaçların *B. hominis*'e karşı etkisini ölçmek için %20'lik at veya insan serumu içeren bifazik Locke's solüsyonu içerisinde paraziti üretmişler ve kantitatif olmayan bu çalışmalarında, floroquin, chloroquin, entero-vioform, pentamidin isothionat, metronidazol, trimethoprim-sülfametaksazol, emetin HCl, diloksanid furoat, furazolidon ve paromomisin'nin etkisini araştırmışlardır. Çalışmada ilaçlar 3 grupta değerlendirilmiş; birinci grupta 72 saatte hücre sayısını 50-100 kat azaltan inhibitör ilaçların (emetin, metronidazol, furazilodon, trimethoprim-sülfametaksazol, Entero-vioform ve pentamidin); ikinci grupta aynı sürede hücre sayısını 5-50 kat düşüren orta derecede inhibitör ilaçların (iodoquinol ve chloroquin) ve

üçüncü grupta ise hücre sayısını 5 kattan daha az oranda azaltan non-inhibitör ilaçların (diloxanide furoate ve paromomycin sülfat) yer aldığı belirtilmiştir.

Dunn ve ark. (72), yaptıkları çalışmada *B. hominis*'i aksenik kültürler içerisinde üretmişler, yaşayan ve ölü organizmaları ayırt edebilmek ve parazitin ilaçlara hassasiyetini ölçebilmek için radyoaktif ³H-hypoxanthin, methyl-³H-thymidine ve methyl-¹⁴C-thymidine ile muamele etmişlerdir. ³H-hypoxanthin de içeren çalışmalarında, in vitro ortamda çeşitli ilaçların etkinliğini kalitatif olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmalarında 12 adet 5-nitroimidazol, suramin, albendazol, mebendazol, diloxanid froat, penicillin, streptomisin sülfat, mikanozol, azitromisin, estolat, griseofulvin, surphadiazin, sülfametaksazol, sülfanilamid, paromomisin sülfat ve imidokarb dipropionata'ı denemişler ve aktiviteye sahip olan karışımları metronidazol ile karşılaştırmışlardır. 12 adet 5-nitroimidazol içerikli ilacın sekiz tanesinin iyi aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda, stranidazol, S750400A, flunidazol ve ronidazol'un metronidazol'den daha etkili olduğunu saptamışlardır. Bir anti-fungal ilaç olan ketoconazol'un ise diğer anti-fungal ilaçlardan daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, emetin dihidroklorid ve furazolidon'un metronidazol ve diğer bileşiklerden 4-5 kat daha etkili; tedavide sıkça tavsiye edilen iodokuinol'un ise metronidazol'den 25 kat daha az etkili olduğu saptanmıştır. Çalışmada ilaçlar etki sırasına göre; emetin, satranidazol, furazolidon, quinacrin, metronidazol, ornidazol, tinidazol, trimethoprim, enterovioform, ketokonazol, amfoterisin ve iodoquinol olarak sıralanmıştır.

Yang ve ark. (82), aksenik kültürler içerisinde *B. hominis*'i çoğaltmışlar ve hemositometre içerisinde saymışlardır. Canlı ve ölü organizmaları ayırmak için eosin ve birilant cresyl blue boyalarını kullanmışlardır. Yirmi geleneksel Çin ilacının 10, 100, 500 ve 1000 µg/ml'lik farklı konsantrasyonlarda *B. hominis*'e karşı etkinliğini in vitro ortamda araştırmışlardır. Çalışmada *B. hominis*'e karşı en etkili ilaçların *Coptis chinensis* ve *Brucea javanica* olduğu, diğer ilaçlardan 13 tanesinin yarı etkili, 5 ilacın ise etkisiz olduğunu bulmuşlardır.

Yine in vitro ortamda ilaç denemeleri için Vdovenko ve ark. (77), yaptıkları çalışmada, *B. hominis*'i monofazik Robinson besiyerinde çoğaltmışlar ve hemositometre içerisinde ışık veya faz-kontrast mikroskopu kullanarak sayımlarını yapmışlardır. Robinson besiyerini kullanarak yaptıkları çalışmada farklı konsantrasyonlarda (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) antiprotozoal ilaçların *B. hominis* üzerine etkisini araştırmışlardır. Trimethoprim, sülfametaksazol, deacetyl-nitazoxanid, nitazoxanid, metronidazol, quinacrin, chloroquin, paromomisin sülfat ve tetrasiklin'in kullanıldığı çalışmada; trimethoprim, deacetyl-nitazoxanid, nitazoxanid, metronidazol, quinacrin ve tetrasiklin'in *B. hominis* üzerine etkili olduğu, sülfametaksazol ve chloroquine'in ise etkisiz olduğu saptanmıştır. Çalışmada aynı zamanda iki yeni antiprotozoal ilaç olan deacetyl-nitazoxanid ve nitazoxanid *B. hominis* üzerine etkili oldukları fakat nitazoxanid'nin deacetyl-nitazoxanid'den daha etkili olduğunu saptamışlardır.

Ok ve ark. (75), Celal Bayar Üniv. Tıp Fakültesi Parazitoloji laboratuvarına gelen hastaların dışkı örneklerini incelemişler ve diğer intestinal parazitlerle bakteriyel patojenler yönünden negatif olan fakat *B. hominis* pozitif olan semptomatik 53 hastada (38 çocuk, 15 yetişkin) TMP-SMX'in etkisini araştırmışlardır. Hastalara 7 gün süre ile TMP-SMX tedavisi verilmiş (çocuklarda 6 mg/kg TMP, 30 mg/kg SMX ve yetişkinler 320 mg TMP, 1600 mg SMX), yedi gün sonunda dışkı örnekleri incelenmiş ve 38 çocuğun 36 (%94,7)'sında ve 15 yetişkininde 14 (%93,3)'ünde *B. hominis* tedavisinde başarılı olduklarını belirtmişlerdir. 53 olgunun 39 (%73,6)'unda klinik semptomların ortadan kalktığını, 10 hastada (%18,9) semptomların azaldığını ve hastaların 1'inde hiçbir değişikliğin olmadığını; ayrıca 3 hastada (%5,7) *B. hominis*'in sebep olduğu semptomların aynen devam ettiğini saptamışlardır.

Endonezya ve Bangladesh'deki infekte göçmenlerle, Singapur ve Malezya'daki infekte bireylerde *B. hominis* izolatları üzerinde metronidazol'ün etkisi araştırılmıştır. Bangladesh ve Singapur'daki izolatların, metronidazol'ün en düşük konsantrasyonunda bile (0,01 mg/ml) öldükleri, Malezya izolatlarında 0,01 mg/ml konsantrasyonda dirençli iken, Endonezya izolatlarında 1 mg/ml konsantrasyonda %40 oranında canlılığın gözlemlendiğini saptamışlar ve *B. hominis*'in farklı izolatlarının, farklı direnç seviyelerinin olduğunu savunmuşlardır (83).

Nepali'deki Birleşmiş Milletler Barış gönüllüleri üzerinde yapılan bir araştırmada *B. hominis* ile infekte 248 hasta tinidazol, metronidazol, tetrasiklin ve ko-trimaksazol ile tedavi edilmiştir. Tinidazol veya metronidazol kullanımının *B. hominis*'e karşı pozitiflik oranını etkilemediğini, 56 kişinin kullandığı tetrasiklin'in *B. hominis* üzerine etkili olduğunu ve oranı %25'den %14'e düşürdüğünü saptamışlardır. Çalışmada, ko-trimaksazol kullanan 47 kişide ise sadece %2'sinde *B. hominis*'e rastladıklarını bildirmişlerdir (76).

1985 ve 1989 yılları arasında ishal, abdominal ağrı, bulantı, tenezmus, eozonofili, ateş gibi bulguları olan *B. hominis*'li 35 hasta metronidazol ile tedavi edilmiş ve 5 günlük ve 2 gr metronidazol tedavisi sonucunda 11 hastada semptomların kaybolduğu ve dışkı incelemesinde parazite rastlanılmadığını saptanmıştır (84).

1987'de yapılan bir çalışmada, *B. hominis* ile infekte ve aşırı gaz, ishal, abdominal kramp gibi en sık görülen gastro intestinal bulguları olan 103 hastaya oral metronidazol tedavisi uygulanmıştır. Bütün hastaların metronidazol tedavisine iyi cevap verdiği, 74 hastada bir iki ay sonra incelenen dışkı örneklerinde parazitin bulunamadığı bildirilmiştir (85).

Yaptığımız çalışmada, Robinson besiyeri kullanılarak in vitro ortamda ornidazol, metronidazol, azitromisin, itakonazol ve TMP-SMX'ün 5 farklı konsantrasyonda (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) *B. hominis* üzerine etkileri saatlere ve kontrollere göre karşılaştırıldığında, özellikle 100 µg/ml konsantrasyonunda ornidazol ve metronidazol'ün daha etkili olduğu ve diğer ilaçlarla aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu saptanmıştır ($p < 0,005$).

Dunn ve ark. (72), yaptıkları çalışmada, *B. hominis* üzerine en etkili ilaçlar arasında metronidazol ve ornidazol'ün yer aldığı fakat metronidazol'ün ornidazol'den daha etkili olduğunu bulmuşlardır. In vitro ortamda yapılan diğer çalışmalarda da metronidazol kullanılmış ve en etkili ilaçlar arasında sınıflandırılmıştır (77,81,82). Yaptığımız çalışmada da ornidazol ve metronidazol'ün etkili olduğu, fakat ornidazol'ün metronidazol'den daha etkili olduğu bulunmuştur.

B. hominis ile infekte ve semptomatik hastalarda tedavi amaçlı metronidazol kullanılmış ve çalışma sonucunda tedavide etkili olduğu gösterilmiştir (84,85). Diğer bir in vivo çalışmada metronidazol kullanımının parazitin pozitiflik oranını etkilemediği belirtilmiştir (76).

Vdovenko ve ark. (77), Dunn ve ark. (72); in vitro ortamda *B. hominis* üzerine TMP ve SMX'in etkilerini ayrı ayrı araştırmışlar; TMP'nin etkili, SMX'in ise etkisiz olduğunu bulmuşlardır.

Yaptığımız çalışmada, TMP-SMX'in *B. hominis* üzerine etkisi araştırılmış, diğer ilaçlarla karşılaştırıldığında bütün konsantrasyonlarda ve saatlere göre en etkisiz ilaç olduğu saptanmıştır.

Zierdt ve ark.'nın (81) yaptıkları çalışmada, TMP-SMX'in etkili olduğunu saptanmıştır. İn vivo ortamda yapılan çalışmalarda denenen TMP-SMX ayrı ayrı dozlarda uygulanmış ve *B. hominis* üzerine etkili olduğu belirtilmiştir (75,76).

Yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlar yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında bazı yönleriyle uyumlu olmakla birlikte bazı yönleriyle farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Bu farklılıkların, Hareesh ve arkadaşlarının (83) bulgularında olduğu gibi, farklı coğrafik bölgelerde bulunan *B. hominis*'in farklı izolatlarının olabileceği, bundan dolayı da ilaçlara karşı duyarlılığın değişebileceğinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; *B. hominis* üzerine çeşitli ilaçların in vitro etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, en etkili ilaçların ornidazol ve metronidazol olduğu ve bunları sırasıyla azitromisin, itrakonazol ve TMP-SMX'in izlediği saptanmıştır. In vitro etkileri araştırılan ve parazit üzerine etkili olarak bulunan bu ilaçların in vitro ve in vivo etkilerinin yapılacak başka çalışmalarla desteklenmesinin uygun olacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Tan KSW, Singh M, Yap EH. Recent advances in *Blastocystis hominis*: hot spots in terra incognita. Int. J. For Parazitol. 2002; 32(7): 789-804.
2. Zierdt CH. *Blastocystis hominis* an intestinal protozoon parasite of man. Public Health Laboratory 1978; 36: 147-161.
3. Zierdt CH. *Blastocystis hominis* past and future. Clin. Microbiol. Rev. 1991; 4: 61-79.
4. Zierdt CH, Rude WS. And Bull BS. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. American J. Clin. Pathol. 1967; 48: 495-501.
5. Zierdt CH. Studies of *Blastocystis hominis*. J. Protozool 1973; 20: 114-121.
6. Tan HK, Harrison M and Zierdt CH. Freeze-etch studies of the granular and vacuolated forms of *Blastocystis hominis*. Z. Parasitenkunde 1974; 44: 267-278.
7. Zierdt CH, Williams RL. *Blastocystis hominis*: axenic cultivation. Exp. Parasitol 1974; 36: 233-243.
8. Zierdt CH. Cytochrome free mitochondria of an anaerobic protozoan *Blastocystis hominis*. J. Protozool 1986; 33: 67-69.
9. Zierdt CH. *Blastocystis hominis*, a long-misunderstood intestinal parasite. Parasitol. Today 1988; 4: 15-17.

10. Zierdt CH, Donnelly CT, Muller J and Constantopoulos G. Biochemical and ultrastructural study of *Blastocystis hominis*. J. Clin. Microbiol. 1988; 26: 965-970.
11. Stenzel DJ and Boreham PFL. *Blastocystis hominis* revisited. Clin. Microbiol. Rev. 1996; 94: 563-584.
12. Johnson AM, Thanou A, Boreham PFL and Boverstock PR. *Blastocystis hominis*: phylogenetic affinities determined by rRNA sequence comparison. Exp. Parasitol 1989; 68: 283-288.
13. Silberman JD, Sogin ML, Leipe DD and Clark CG. Human parasite finds taxonomic home. Nature 1996; 380: 398.
14. Kukoschke Kg and Müller HE. SDS-PAGE and immunological analysis of different axenic *Blastocystis hominis* strains. J. Med. Microbiol. 1991; 35: 35-39.
15. Boreham PFL, Upcroft JA and Dunn LA. Protein and DNA evidence for two demes of *Blastocystis hominis* from humans. Int. J. Parasitol. 1992; 22: 49-53.
16. Boreham PFL and Stenzel DJ. *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology and epizootiology. Adv. Parasitol. 1993; 32: 1-70.
17. Nakamura Y, Hashimoto T, Yoshikawa H, Kamaishi T, Nakamura F, Okamoto K and Hasegawa M. Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* that contains cytochrome-free mitochondria, inferred from the protein phylogeny of elongation factor 1 alpha. Mol. Biochem. Parasitol. 1996; 77: 241-245.
18. Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life. Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 1998; 73: 203-266.
19. Garcia LS, Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology. In: Intestinal Protozoa Amebae. Third Edition American Society for Microbiology, Washington DC Press, 1997: 25-30.
20. Zierdt CH. Taxonomic status of *Blastocystis hominis*: Reply. Parazitol Today. 1993; 9:18.
21. Mehlhorn H. *Blastocystis hominis*, Brumpt, 1912: are there different stages or species?. Parasitol. Res. 1988; 74: 393-395.
22. Zierdt CH and Swan JC. Generation time and growth rate of the human intestinal parasite *Blastocystis hominis*. J. Protozool. 1981; 28: 483-485.
23. Zierdt CH and Tan H. Ultrastructure and light microscope appearance of *Blastocystis hominis* in patient with enteric disease. Z. parasitenkunde. 1976; 50: 277-283.
24. Stenzel DJ and Boreham PFL and McDougall R. Ultrastructure of *Blastocystis hominis* in human stool samples. Int. J. Parasitol. 1991; 21: 807-812.

25. Stenzel DJ and Boreham PFL. A cyst-like stage of *Blastocystis hominis*. *Int. J. Parasitol.* 1991; 21: 613-615.
26. Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan SW, Ng GC, Chen XQ and Yap EH. Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of *Blastocystis hominis* from human feces. *Parasitol. Res.* 1996; 82: 439-444.
27. Zaman V, Howe J and Ng ML. Ultrastructure of *Blastocystis hominis* cyst. *Parasitol. Res.* 1995; 81: 465-469.
28. Zaman V. The diagnosis of *Blastocystis hominis* cysts in human faeces. *J. Infect.* 1996; 33: 15-16.
29. Zaman V, Howe J and Ng ML. Variation in the cyst morphology of *Blastocystis hominis*. *Parasitol. Res.* 1997; 83:306-308.
30. Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan SW, Chen XQ and Yap EH. Development of *Blastocystis hominis* cysts vakuoler forms in vitro. *Parasitol. Res.* 1999; 85: 103-108.
31. Matsumoto Y, Yamada M and Yashida Y. Light microscopical appearance and ultrastructure of *Blastocystis hominis*, an intestinal parasite of man. *Zentralbl. Bacteriol. Microbiol. Hyg.* 1987; 264: 379-385.
32. Clark GC. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1997; 87: 79-83.
33. Stenzel DJ, Dunn LA and Boreham PFL. Endocytosis in cultures of *Blastocystis hominis*. *Int. J. Parasitol.* 1989; 19: 787-791.
34. Dunn LA, Boreham PFL and Stenzel DJ. Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. *Int. J. Parasitol.* 1989; 19: 43-56.
35. Zeibig EA. *Clinical Parasitology*. In: *Miscellaneous protozoa*. A Harcourt Health Sciences Company. Philadelphia. 1997: 112-114.
36. Singh M, Suresh K, Ho LC, Ng GC and Yap EH. Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Parasitol. Res.* 1995; 81: 446-450.
37. Yamada M, Yoshikawa H, Tegoshi T, Matsumoto Y, Yoshikawa T, Shiota T and Yoshida Y. Light microscopical study of *Blastocystis spp.* In monkeys and fowlus. *Parasitol. Res.* 1987; 73: 527-531.
38. Zaman V, Howe J and Ng ML. Observations on the surface of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 1997; 83:731-733.

39. Tan SW, Singh M, Ho LC, Howe J, Moe KT, Chen XQ, Ng GC and Yap EH. Survival of *Blastocystis hominis* clones after exposure to a cytotoxic monoclonal antibody. *Int. J. Parasitol.* 1997; 27: 947-954.
40. Kukoschke KG, Necker A and Müller HE. Detection of *Blastocystis hominis* by direct microscopy and culture. *European J. Clin. Microbiol and Inf. Dis.* 1990; 9: 305-307.
41. Ho LC, Singh M, Suresh G, Ng GC and Yap EH. Axenic culture of *Blastocystis hominis* in Iscove's modified Dulbecco's medium. *Parasitol. Res.* 1993; 79: 614-616.
42. Lanuza MD, Carbajal JA, Villar J and Borrás R. Description of an improved method for *Blastocystis hominis* culture and axenization. *Parasitol. Res.* 1997; 83: 60-63.
43. Teow WL, Ng GC, Chan PP, Chan YC, Yap EH, Zaman V and Singh M. A survey of *Blastocystis* in reptiles. *Parasitol. Res.* 1992; 78: 453-455.
44. Ho LC, Singh M, Suresh K, Ng GC and Yap EH. A study of the karyotypic patterns of *Blastocystis hominis* by pulsed-field gradient electrophoresis. *Parasitol Res.* 1994; 80: 620-622.
45. Müller H. Four serologically different groups within the species *Blastocystis hominis*. *Zentralbl. Bakteriologie.* 1994; 280: 403-408.
46. Mansour NS, Mikhail EM, El Masry EA, Sabry AG and Mohareb EW. Biochemical characterization of human isolates of *Blastocystis hominis*. *J. Med. Microbiol.* 1995; 42: 304-307.
47. Lanuza MD, Carbajal JA and Borrás R. Identification of surface coat carbohydrates in *Blastocystis hominis* by lectin probes. *Int. J. Parasitol.* 1996; 26: 527-532.
48. Tan KSW, Ng GC, Quek E, Howe J, Ramachandran NP, Yap EH and Singh M. *Blastocystis hominis*: a simplified, high-efficiency method for clonal growth on solid agar. *Exp. Parasitol.* 2000; 96: 9-15.
49. Tan SW, Singh M, Thang KT, Ho LC, Moe KT, Chen XQ, Ng GC and Yap EH. Clonal growth of *Blastocystis hominis* in soft agar with sodium thioglycollate. *Parasitol Res.* 1996; 82: 737-739.
50. Ng GC and Tan KSW. Colony growth as a step towards axenization of *Blastocystis* isolates. *Parasitol. Res.* 1999; 85: 678-679.
51. Suresh K, Init I, Reuel PA, Rajah S, Lokman H and Khairul Anuar A. Glycerol with fetal calf serum a better cryoprotectant for *Blastocystis hominis*. *Parasitol. Res.* 1998; 84: 321-322.

52. Müller RA and Minshew BH. *Blastocystis hominis*: an organism in search of a disease. Rev. Inf. Dis. 1988; 10: 930-938.
53. Doyle PW, Helgason MM, Mathias RG and Proctor EM. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis*. J. Clin. Microbiol. 1990; 28: 116-121.
54. Senay H and MacPherson D. *Blastocystis hominis*: epidemiology and natural history. J. Inf. Dis. 1990; 162: 987-990.
55. Koutsaulis AT, Valiquette L, Allard R and Soto J. *Blastocystis hominis*: A new pathogen in day-care centres? Canada Communicable Disease Report. 2001; 27(9): 76-89.
56. Jelinek T, Peyerl G, Loscher T, Von Sonnenburg F and Nothdurft HD. The role of *Blastocystis hominis* as a possible intestinal pathogen in travellers. J. Infect. 1997; 35: 63-66
57. Lee MJ. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. J. Clin. Microbiol. 1991; 29: 2089.
58. İnceboz T and Üner A. *Blastocystis hominis*' in Epidemiyolojisinin Araştırılması. T. Parasitol. Derg. 2001; 25(2): 135-138.
59. Editorials: *Blastocystis hominis*: commensal or pathogen?. Lancet. 1991; 337: 521-522.
60. Windsor JJ, Whiteside TM, Chalmers RM, Thomas AL and Joynson DHM. *Blastocystis hominis*: a common yet neglected human parasite. Brit. J. Biomed. Sci. 2001; 58: 129-130.
61. Ok ÜZ, Üner A, Korkmaz M. İmmun yetmezlikte önemi olan paraziter hastalıkları. In: Blastocystosis, Özcel MA eds. Türkiye Parazitoloji Yayını No:12, Bornova-İzmir, 1995: 43-49.
62. Brites C, Barberino MG, Bastos MA, Sampaio SaM and Silva N. *Blastocystis hominis* as a potential cause of diarrhea in AIDS patients: a report of six cases in Bahia. Brazil, Braz. J. Infect. Dis. 1997; 1: 91-94.
63. Cirioni O, Giacometti A, Drenaggi D, Ancarani F and Scalise G. Prevalance and clinical relevance of *Blastocystis hominis* in diverse patient cohorts. Eur. J. Epidemiol. 1999; 15: 389-393.
64. Tasova Y, Sahin B, Koltas S and Poydas S. *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. Acta. Med. Okayama. 2000; 54: 133-136.
65. Gödekmerdan A. Sağlık Ocağına Başvuran Hastalarda *Blastocystis hominis*'in Görülme Sıklığı ve Gastro-intestinal Şikayetlerle İlişkisi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 1995.
66. Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan SW, Ng GC, Chen XQ and Yap EH. Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. Parasitol. Res. 1997; 83: 319-325.

67. Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. In: *Blastocystis hominis* ve parazitliği. 1998; 85-86.
68. Borda CE, Rea MJ, Rosa JR and Maidana C. Intestinal parasitism in San Cayetano, Corrientes, Argentina. Bull. Pan. Am. Health Organ. 1996; 30: 227-233.
69. Wilairatana P, Radomyos P, Radomyos B, Phraevanich R, Plooksawasdi W, Chanthavanich P, Viravan C and Looaresuwan S. Intestinal Sarcocystosis in Thai laborers. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 1996; 27: 43-46.
70. Guignard S, Arienti H, Freyre L, Lujan H and Rubinstein H. Prevalence of enteroparasites in a residence for children in the Cordova Province. Argentina Eur. J. Epidemiol. 2000; 163: 287-293.
71. Taamsri p, Mungthin M, Rangsın R, Tongupprakarn B, Areekul W and Leelayoova S. Transmission of intestinal Blastocystosis related to the quality of drinking water. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 2000; 31: 112-117.
72. Dunn LA and Boreham PFL. The In vitro activity of drugs against *Blastocystis hominis*. J. Antimicrobial Chemotherapy. 1991; 27: 507-516.
73. El Masry NA, Bassily SB, Farid Z, Mansour NS, Sabry AG and Kilpatrick ME. *Blastocystis hominis* eradication therapy for a probable pathogen. American J. of Tropical Med. and Hygiene 1991; 45: 95-96.
74. Zaki M, Daoud AS, Augh RNH, Al- Ali F, Al- Mutairi G and Al- Salch Q. Clinical report of *Blastocystis hominis* infection in children. J. Trop. Med. and Hyg. 1991; 94: 118-122.
75. Ok ÜZ, Girginkardeş N, Balcioglu C, Ertan P, Pirildar T and Kilimcioğlu AA. Effect of Trimethoprim-Sulfamethaxazole in *Blastocystis hominis* Infection. The American J. Gastroenterol. 1999; 94(11): 3245-3247.
76. Schwartz E and Houston R. Effect of co-trimoxazole on stool recovery of *Blastocystis hominis*. Lancet. 1992; 339: 428-429.
77. Vdovenko AA and Williams JE. *Blastocystis hominis*: neutral red supravital staining and its application yo in-vitro drug sensitivity testing. Parasitol Res. 2000; 86: 573-581.
78. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe-Taş. Ankara, 2000: 238-326.
79. Finch RG, Greenwood D. Antibiotic and Chemotherapy. In: O'Grady F, Lambert HP (edt). Anti-infective agents and their use in therapy. New York, 1997: 350-489.
80. Koltaş İS, Özcan K, Tanrıverdi S, Poydaş S, Poydaş S and Başlamışlı F. The prevalence of *Blastocystis hominis* in immunosuppressed patients. Annals of Med. Sci. 1999; 8: 117-119.

81. Zierdt CH, Swan JC and Hosseini J. In-vitro response of *Blastocystis hominis* to antiprotozoal drugs. J. Protozool. 1983; 30(2): 332-334.
82. Yang LQ, Singh M, Yap EH, Ng GC, Xu HX and Sim KY. In-vitro response of *Blastocystis hominis* against traditional Chinese medicine. J. Ethnopharmacol. 1996; 55: 35-42.
83. Hareesh K, Suresh K, Anuar KA and Saminathan S. Isolate resistance of *Blastocystis hominis* to metronidazole. Trop. Med. and Int. Health. 1999;4: 274-277
84. Garavelli PL. The therapy of blastocystosis. J. Chemother. 1991; 1: 245-246.
85. Guirges SY and Al-Waili SN. *Blastocystis hominis*: Evidence of human pathogenicity and effectiveness of metronidazole therapy. Clin. and Exp. Pharmacology & Physiology. 1987; 14: 333-335.



ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Kayseri’de doğdu. İlk öğrenimini Ahmet Baldöktü ilkokulunda, orta ve lise öğrenimini Fevzi Çakmak Lisesin’de tamamladı. 1995 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde başlayıp 1999 yılında mezun oldu. Aynı yıl içinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. 2001 yılında Sağlık Bilimleri Enstitüsü’ne Araştırma görevlisi olarak atandı. Halen aynı bölümde görevine devam etmektedir.