

**KANSER HASTALARINDA İFA TEKNİĞİ İLE
MICROSPORIDIUM SPP.'NİN SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

DERYA GÜL SAĞCI

CÜSBE

SİVAS

2017



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

**KANSER HASTALARINDA İFA TEKNİĞİ İLE
MICROSPORIDIUM SPP.'NİN SIKLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

DERYA GÜL SAĞCI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
PARAZİTOLOJİ ANA BİLİM DALI**

SİVAS-2017

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

**KANSER HASTALARINDA İFA TEKNİĞİ İLE
MICROSPORIDIUM SPP.'NİN SIKLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

DERYA GÜL SAĞCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. SERPİL DEĞERLİ**

SİVAS-2017

“Kanser Hastalarında IFA Tekniği İle *Microsporidium* spp.’nin Sıklığının Araştırılması” adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Parazitoloji** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan _____
Üye _____
Üye _____
Üye _____
Üye _____
(Danışman)

ONAY

Bu tez çalışması, tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalında lisansüstü eğitimim boyunca, desteğini her zaman yanımda hissettiğim çalışmalarına büyük bir özveri ile katkıda bulunan bununla birlikte yaşadığım sağlık problemlerimde anlayışını, manevi desteğini esirgemeyen tez danışmanım aynı zamanda Anabilim Dalı başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Serpil Değerli'ye,

Akademik bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarına önemli katkıları bulunan Ordu Üniversitesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ülkü Karaman'a,

Tezimin istatistik değerlendirmelerini yapmamda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar'a

Tezimin örnek toplama aşamasında beni yalnız bırakmayan bana yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Eda Erdiş'e, Ezgi Şahinler'e, Mübeccel Topçu'ya,

Tez çalışmamda bilgilerini benimle paylaşan bölümümüzün doktora öğrencisi olan Necati Özpınar'a

Lisansüstü eğitimim boyunca benden bilgi ve desteklerini esirgemeyen bölüm hocalarımızdan Prof. Dr. Semra Özçelik ve Prof. Dr. Zübeyda Akın Polat'a,

Büyük bir fedakârlık ve anlayışla her konuda olduğu gibi yüksek lisans eğitimim boyunca da beni destekleyen ve her an yanımda olan yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

ÖZET

KANSER HASTALARINDA IFA TEKNİĞİ İLE *MICROSPORIDIUM* SPP.'NİN SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Derya Gül SAĞCI
Yüksek Lisans Tezi
Parazitoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Serpil DEĞERLİ
2017, 91 sayfa

Microsporidia'lar birçok omurgalı ve omurgasız konağı enfekte edebilen zorunlu hücre içi patojenlerdir. İmmün sistemi sağlam kişilerde kendini sınırlayan ishale neden olabilirken, immün sistemi baskılanmış hastalarda kronik ishal, kilo kaybı ve ölüme neden olabilmektedir. Kanser hastalarında uygulanan tedavi hücrel immünitede yetersizliğe neden olmakta, bu durum *Microsporidia* türleri ile enfekte olasılığını artırmaktadır.

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi Radyasyon ve Tıbbi Onkoloji Bilim Dallarına başvuran kemoterapi alan hastalarda *Microsporidium* türlerinin indirekt floresan antikor tekniği ve Weber'in modifiye trikrom boyama yöntemi ile sıklığını belirlemek amaçlanmıştır.

Çalışmada, polikliniğe başvuran kemoterapi alan 100 kanserli hastadan ve sağlık sorunu olmayan 100 kişiden alınan dışkı örneklerinde *Microsporidium* spp.'nin sıklığı iki yöntem kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre immün sistemi baskılanmış bireyler olarak kemoterapi alan 100 hastadan Modifiye trikrom boyama kullanılarak 13'ünde (%13,0) *Microsporidium* spp. görülürken kontrol grubunda bulunan 100 kişinin ise 5'inde (%5,0) pozitiflik gözlemlenmiş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). IFA testi ile 100 kanserli bireyin 18'inde (%18,0), kontrol grubunu oluşturan 50 kişiden ise 6'sında (%12,0) *Enterocytozoon bieneusi* pozitifliği saptanmış olup her iki gruptaki bireylerin IFA tekniği ile *E. bieneusi* görülme durumu açısından aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur ($p>0,05$). Ayrıca 100 kanserli bireyin 16'sında (%16,0) ve kontrol grubumunu oluşturan 50 bireyin 3'ünde (%6,0) ise *Encephalitazoon intestinalis*

saptanmış olup her iki gruptaki kişiler arasında *E. intestinalis* görülme durumu arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Buna rağmen hasta grubunda *E. bienewsi* ve *E. intestinalis* pozitifliğinin daha fazla olduğu saptanmıştır.

Kanser tipi, hastalık süreci ve kan nakli gibi nedenler ile *E. bienewsi* ve *E. intestinalis* görülme durumu arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). MT ile tespit edilen *Microsporidium* pozitifliğinin hastalık süresi ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Bu çalışma ile ilimizde ilk kez bu parazitlerin IFAT ve MT ile kanser hastalarında görülme durumlarına ilişkin bilgiler ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Microsporidium* spp., *Enterocytozoon bienewsi*, *Encephalitazoon intestinalis*, Kanser, IFAT, Trikróm

ABSTRACT

INVESTIGATION FREQUENCY OF *MICROSPORIDIA* SPP. WITH METHOD OF IFAT AT CANCER PATIENTS

Derya Gül SAĞCI
Master's Thesis
Department of Parasitology
Advisor: Prof. Dr. Serpil DEĞERLI
2017, 91 Pages

Microsporidia spp. which can infect vertebra and invertebrate organisms are pathogens inside the cells. While immune system causes diarrhea in those who are well and healthy, it causes chronic diarrhea, weight lost an even death in those who has compressed immune system. By causing inadequacy in cellular immune, chemotherapy treatment applied to cancer patients can increase the infection possibility in *Microsporidia*.

The aim of this study is determine the frequency of *Microsporidium* spp. with the indirect fluoesant antibody technique and Weber's Modified Trichrome painting methods in the patients who receive chemotherapy treatment at radiation and medical oncology science fields of Sivas Cumhuriyet University Health Services Application and Research Hospital.

In the study, the frequency of *Microsporidium* spp. has been researched in the excreta sample of 100 patients applying clinic and suffering cancer and that of 100 people who are well and healthy.

According to results obtained from the study, by using Modified Trichrome painting method, *Microsporidium* spp. has been observed in the 13 % of the patients who receive chemotherapy treatment, while this percentage is just 5 % positive in the control group. This difference is regarded as significant statistically ($p < 0,05$). *Enterocytozoon bieneusi* positiveness has been noticed 18 % of cancer patients and 12 % of individuals in the control group (6 in 50) with IFA test. The difference is regarded as insignificant statistically from point of *E. bieneusi* case in individuals of both groups with IFA technique ($p > 0,05$). In addition, *Encephalitozoon intestinalis*

has been determined 16 in 100 cancer patients (16 %) and 3 in 50 in control group (6%) The difference between these two groups has been considered as insignificant statistically ($p>0,05$). However, *E. bienersi* and *E. intestinalis* positiveness has been observed more in patients.

Because of type of cancer, the illness period and blood transfusion, the difference between *E. bienersi* the case of seen of *E. intestinalis* have been considered as insignificant statistically ($p>0,05$).

Thanks to this study, for the first time parasites some information is revealed IFAT and cancer patients.

Keywords: *Microsporidium* spp., *Enterocytozoon bienersi*, *Encephalitazoon intestinalis*, Cancer, IFAT, Trichrome

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
YÖNERGE	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe.....	2
2.2. Sınıflandırma.....	3
2.3. Morfoloji.....	3
2.3.1. Merontların Morfolojisi.....	4
2.3.2. Sporontların Morfolojisi.....	6
2.3.3. Sporoblastların Morfolojisi.....	7
2.3.4. Spor Morfolojisi.....	8
2.3.4.1. Çekirdek.....	10
2.3.4.2. Spor Duvarı.....	10
2.3.4.3. Polar Filament.....	11
2.3.4.4. Polaroplast.....	12
2.4. Yaşam Döngüsü.....	14
2.4.1. Faz I-Enfektif (Çevresel) Faz.....	15

2.4.1.1. Microsporidian Parazitlerin Hücreye Giriş Mekanizmaları	15
2.4.2. Faz II- Proliferatif (Üreme) Faz	18
2.4.3. Faz III-Sporogonik Faz	19
2.4.4. <i>Enterocytozoon bienersi</i> 'nin Morfolojisi ve Yaşam Döngüsü	20
2.4.5. <i>Encephalitozoon intestinalis</i> 'in Morfolojisi ve Yaşam Döngüsü	21
2.5. EPİDEMİYOLOJİ	22
2.6. BULAŞMA	24
2.6.1. Zoonotik Bulaş	25
2.6.2. İnsandan İnsana Bulaş	25
2.6.3. Su Yolu ile Bulaş	25
2.6.4. Besinler Aracılığı ile Bulaş	26
2.6.5. Transplasental Bulaş	26
2.6.6. Cinsel Yol ile Bulaş	26
2.6.7. Vektörel Bulaş	26
2.7. İNSANLARDA MICROSPORIDIOSIS'İN YERLEŞTİĞİ ORGANLAR, PATOJENİTE VE KLİNİK	27
2.7.1. Göz ve Oküler Yerleşim	27
2.7.2. Solunum Sistemi Yerleşimi	27
2.7.3. Genitoüriner Sistem Yerleşimi	28
2.7.4. Sindirim ve Safra Sistemi Yerleşimi	28
2.7.5. Merkezi Sinir Sistemi Tutulumu	29
2.7.6. Diğer Dokularda Yerleşim	29
2.8. LOKAL VE GENEL KLİNİK BELİRTİLER	29
2.8.1. <i>Enterocytozoon bienersi</i>	29
2.8.2. <i>Encephalitozoon</i> Türleri	30
2.9. TANI	30
2.9.1. Işık ve Floresan Mikroskopisi Yöntemleri	31
2.9.1.1. Modifiye Trikrom boyaları	32
2.9.1.2. Floresan Boyaları	34
2.9.1.3. Giemsa boyası	36
2.9.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)	36
2.9.3. Hücre Kültürü	36
2.9.4. Seroloji	37
2.9.5. Moleküler Teknikler	37
2.9.6. Monoklonal antikorların kullanıldığı Immün Floresan Antikor (IFA-MAbs) Yöntemi	37
2.10. TEDAVİ	38
2.11. KORUNMA	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. IFA-MAbs	40

3.2. Modifiye Trikrom Boyama.....	40
4. BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA.....	54
6. KAYNAKLAR.....	59
EKLER.....	64
EK 1.....	64
İZİN.....	66
EK 2. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı Kurul Kararı.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	69

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: <i>Microsporidia</i> 'ların Sınıflandırması.....	3
Tablo 2: İnsanlarda Enfeksiyon Oluşturan Türlerin Morfolojik Özellikleri.....	13
Tablo 3: <i>Microsporidia</i> Türlerinde Tanı Yapabilmek İçin Uygulanan Boyama Yöntemleri Ve Özellikleri.....	32
Tablo 4: Gruplardaki Hasta Bireylerin Yaş Dağılımları.....	43
Tablo 5: Gruplardaki Hasta Bireylerin Mesleki Durumları.....	43
Tablo 6: Kanserli Hastalarla, Kontrol Grubunun Mt Boyama İle <i>Microsporidium</i> Türlerinin Görülme Durumu.....	44
Tablo 7: Gruplarda İFA Tekniği İle <i>E. bienewsi</i> 'nin Görülme Durumu.....	45
Tablo 8: Gruplarda İFA Tekniği İle <i>E. intestinalis</i> 'in Görülme Durumu.....	46
Tablo 9: MT Boyama İle Görülen <i>Microsporidium</i> Pozitifliğinin Kanser Tipleri ile Arasında Yapılan Karşılaştırması.....	47
Tablo 10: İFA Tekniği İle Pozitifliği Saptanan <i>E. bienewsi</i> 'nin Kanser Tipleri İle Arasında Yapılan Karşılaştırması.....	47
Tablo 11: İFA Tekniği İle Pozitifliği Saptanan <i>E. intestinalis</i> 'in Kanser Tipleri İle Arasında Yapılan Karşılaştırması.....	48
Tablo 12: Mt Boyama İle Görülen <i>Microsporidium</i> Pozitifliğinin Hastalık Süresi İle Arasında Yapılan Karşılaştırması.....	49
Tablo 13: İfa Tekniği İle Pozitifliği Saptanan <i>E. bienewsi</i> 'nin Hastalık Süresi İle Arasında Yapılan Karşılaştırması...	49
Tablo 14: İfa Tekniği İle Pozitifliği Saptanan <i>E. intestinalis</i> 'in Kanser Tipleri İle Arasında Yapılan Karşılaştırması.....	50
Tablo 15: Mt Boyama İle Görülen <i>Microsporidium</i> Pozitifliğinin	

Kan Nakli Olanlar İle Arasında Yapılan Karşılaştırması.....	50
Tablo 16: IFA Tekniği İle Pozitifliği Saptanan <i>E. bieneusi</i> 'nin Kan Nakli Olanlar İle Arasında Yapılan Karşılaştırması.....	51
Tablo 17: IFA Tekniği İle Pozitifliği Saptanan <i>E. intestinalis</i> 'in Kan Nakli Olanlar İle Arasında Yapılan Karşılaştırması....	51
Tablo 18: Kanserli Hastalarla, Kontrol Grubunun Mt Boyama İle <i>Cryptosporidium</i> Görölme Durumu.....	52
Tablo 19: Kanserli Hastalarla, Kontrol Grubunun Mt Boyama İle <i>Cyclospora</i> Görölme Durumu Sonuçlarının Dağılımı.....	53



ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Meront yapısı.....	5
Şekil 2: Çok çekirdekli plazmodial safha.....	5
Şekil 3: Meront.....	6
Şekil 4: Sporont yapısı.....	6
Şekil 5: Sporont.....	7
Şekil 6: Sporoblast yapısı.....	7
Şekil 7: Sporoblast.....	8
Şekil 8: Bir sporun enine kesiti.....	8
Şekil 9: Serbest sporlar.....	9
Şekil 10: Spor morfolojisi.....	9
Şekil 11: Diplokaryon çekirdek.....	10
Şekil 12: Sporun duvar yapısı.....	11
Şekil 13: Polar filamentin enine kesiti.....	11
Şekil 14: Spor anteriörde polaroplast yapısı.....	12
Şekil 15: Microsporidian parazitlerin genel yaşam döngüsü.....	14
Şekil 16: Sporun konak hücreyi enfekte etmesi.....	15
Şekil 17: Spor germinasyonu esnasında polar filamentin ters dönmesi.....	16
Şekil 18: <i>Microsporidia</i> 'nın konak hücre içine girmesi.....	17
Şekil 19: Merogoni oluşumu.....	19
Şekil 20: Sporogoni evresi.....	20
Şekil 21: <i>E. bienewisi</i> 'nin yaşam döngüsü.....	21
Şekil 22: <i>E. intestinalis</i> 'in yaşam döngüsü.....	22
Şekil 23: <i>Microsporidia</i> ve insan enfeksiyonları arasındaki su-besin ilişkisi.....	24
Şekil 24: Horizontal ve vertikal bulaşma yolları.....	27
Şekil 25: <i>Microsporidia</i> sporlarının modifiye trikrom boyama ile görüntüsü.....	33
Şekil 26: <i>Encephalitozoon</i> spp. anilin mavisi ile boyama görüntüsü.....	33

Şekil 27: Kalkoflor ve MT ile boyanan sporlar.....	35
Şekil 28: Lam boyama istasyonu ile Weber'in Trikrom Boyama protokolü uygulaması.....	42
Şekil 29: Modifiye trikrom boyama yöntemi ile tespit edilen <i>Microsporidia</i> sporları.....	45
Şekil 30: IFA-MAbs ile pozitif tespit edilen <i>E.intestinalis</i> sporları.....	46
Şekil 31: Modifiye trikrom boyama yöntemi ile tespit edilen <i>Cryptosporidium</i> spp.	52
Şekil 32: Modifiye trikrom boyama yöntemi ile tespit edilen <i>Cyclospora</i> spp.	53



KISALTMALAR DİZİNİ

<i>E. intestinalis</i>	<i>Encephalitozoon intestinalis</i>
<i>E. bieneusi</i>	<i>Enterocytozoon bieneusi</i>
<i>N. bombycis</i>	<i>Nosema bombycis</i>
<i>E. cuniculi</i>	<i>Encephalitozoon cuniculi</i>
<i>N. corneum</i>	<i>Nosema corneum</i>
<i>N. connori</i>	<i>Nosema connori</i>
<i>N. ocularum</i>	<i>Nosema ocularum</i>
<i>E. hellem</i>	<i>Encephalitozoon hellem</i>
<i>V. cornea</i>	<i>Vittaforma corneae</i>
HIV	Human Immunodeficiency Virus
AIDS	Acquired Immüno Deficiency Syndrom
BAL	Bronkoalveolar Lavaj
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TEM	Transmission Elektron Mikroskobu
MT	Modifiye Trikrom Boyama
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
IFAT	İndirekt Floresan Antikor Testi
AO	Akridin Oranj Boyama
CF	Kalkoflor Boyama
PBS	Phosphate Buffered Saline
SSU rRNA	Small subunit ribosomal ribonucleic acid
sn	Saniye
µm	Mikrometre
GAA	Glasial Asetik Asit
HCl	Hidroklorik asit
°C	Selsius derecesi
%	Yüzde
S	Sayı
G	Gram
M	Mikro

μm	Mikrometre
mL	Mililitre
N	Normal
sn	Saniye
μm	Mikrometre
mm	milimetre
χ^2 Testi	Khi-kare Testi



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Microsporidiosis; *Microspora* şubesinde bulunan, omurgalı ve omurgasız geniş konak seçiciliği gösteren ve zorunlu hücre içi parazit olup birçok *Microsporidium* türlerinin oluşturduğu hastalık grubudur (Sprague ve ark., 1998). *Microsporidium*'lar böceklerde, balıklarda, kemirgenlerde ve memelilerde hastalığa sebebiyet verebilmektedir. Bunun sonucu olarak, balıkçılık ve ipek üreticiliği gibi alanlarda sorunlara neden olabilirken, çekirge gibi böceklerin biyolojik kontrollerinde ise faydalı olabilmektedir. İnsanlarda enfeksiyona sebep olan 7 cins bildirilmiştir. Bunlar: *Enterocytozoon*, *Encephalitozoon*, *Nosema*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora*, *Vittaforma* ve *Brachiola*'dır (Bryan ve ark., 1997).

İnsanlarda bulaş yolları fekal-oral, oral-oral, bulaşlı yiyecek, içecek ve solunum yolları ile gerçekleşmektedir (Didier ve ark., 2004).

Microsporidiosis'in belirtileri, hastanın immün sisteminin durumuna ve yayılma bölgesine göre farklı şekillerde seyretmektedir. En sık gastrointestinal ve safra yolları tutulumu gözlemlenmektedir. *Microsporidia*'ların neden olduğu bağırsak enfeksiyonları çoğunlukla HIV ile enfekte olan hastalarda görülmekte ve bu enfeksiyonların etkeni *E. bienersi*'dir.

Microsporidia'ların laboratuvar tanısında biyopsi materyalleri, dışkı, idrar, safra, bronko-alveoler lavaj ya da nazal sıvılar değerlendirilebilmektedir. Sporların büyüklüğü bakteri boyutunda olduğundan dolayı rutin laboratuvar tanısında kolaylıkla gözden kaçmaktadır (Weber ve ark., 1994). *Microsporidia* tanısı için ışık ve floresans mikroskobu, histopatolojik incelemeler, serolojik yöntemler, hücre kültürü, elektron mikroskobu, PZR, akım sitometrisi kullanılmaktadır. Günümüzde Microsporidiosis tanısını yapabilmek için sadece bir tanı yöntemi uygulamak yerine birden fazla tanı yönteminin yapılması gerektiği bildirilmektedir. Boyutlarının küçük olması, hücre içi yerleşimleri ve zor boyanmaları nedeniyle, geleneksel yöntemlerle tanısının konulması zor olan bu fırsatçı patojenlerin sebep oldukları enfeksiyonun tanısı için çalışmamızda iki yöntem uygulanmış olup bunlar; İndirekt Floresan Antikor Tekniği ve Weber'in Modifiye trikrom boyama yöntemidir.

Çalışmamızda Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesinde tedavi gören kanser hastalarında ve sağlıklı bireylerde *Microsporidium* spp.'nin sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

İlk olarak Nageli tarafından 1857 yılında ipek böceklerinde ekonomik zarara neden olan, *Nosema bombycis* olarak adlandırılan *Microsporidia*'lar, Schizomycetes'ler arasına yer almışlardır. 1882 yılında Balbiani tarafından *Microsporidia* şubesi olarak tanımlanmıştır. Morfolojik yapısı, spor ve gelişme aşamalarında çekirdeğin hali, konak-parazit münasebeti ve polar tüpteki sarmal sayılarına göre 1977 yılında sınıflara ayrılmıştır (Weber ark., 1994). *Microsporidia*'lar 1980 yılında, Protista alemi ve protozoa alt alemi altında toplanmıştır. Parazit, 1986 da ise diplokaryon olup olmaması, mayoz bölünmesi ve sporofaz organeline göre sınıflama yapılmıştır. Ancak bu durum filogenetik analizi bakımında faydalı görülmemiş ve sporunun yapısal özelliklerine ve gelişme aşamalarına göre 1986 yılında yeniden sınıflara ayrılmıştır. 2000'li yıllarda yapılan çalışmalarda alfa ve beta tubilin genlerinin dizi analizi yapılmış ve bu parazitlerin protozoonlardan çok mantarlarla daha yakın oldukları belirtilmiştir (Aksoy ve ark., 2007).

Orestein ve arkadaşları tarafından *E. intestinalis*, *E. cunuculi*'ye benzer olarak tanımlanmıştır (Orestein 1991). Cali ve arkadaşları ise 1993 yılında bu paraziti yeni bir cins olarak tanımlamış ve vakuol içerisinde parazitler septa ile ayrıldığı için *Septata intestinalis* olarak adlandırılmıştır (Cali ve ark., 1993). Hartskeerl ve arkadaşları ise antijenik özellikleri ve moleküler düzeylerindeki benzerlik nedeniyle *Encephalitozoon* cinsine dahil etmiş ve *E. intestinalis* olarak adlandırmışlardır (Hartskeerl ve ark., 1995).

2.2. Sınıflandırma

Microspora şubesinde 144 cins ve 1000'den fazla tür bulunmaktadır. (Wittner ve Weis, 1999).

Microsporidia türleri doğal konağına ve morfolojik farklılıklarına (mikroorganizmanın büyüklüğü, monokaryon/dikaryon çekirdek yapısı, polar filament kıvrım sayısı, vb) göre sınıflara ayrılır (Didier, 2005).

Tablo 1. *Microsporidia*'ların sınıflandırması

Şube	Sınıf	Takım	Aile	Cins	Tür
Microspora	Dihaplophasea	Dissociodihaplophasea	Nosematidae	<i>Nosema</i>	<i>N. connori</i>
					<i>N. algerae</i>
	<i>N. oculorum</i>				
	<i>Brachiola</i>	<i>B. vesiculorum</i>			
		Haplophasea	Glugeida	Pleishophoridae	<i>Pleistophora</i>
	<i>Trachipleistophora</i>				<i>T. hominis</i>
	Encephalitozoonidae			<i>Encephalitozoon</i>	<i>E. hellem</i>
					<i>E. cuniculi</i>
					<i>E. intestinalis</i>
	Chytridiopsida	Enterocytozoonidae	<i>Enterocytozoon</i>	<i>E. bienusi</i>	
Sınıflandırılmayan	Sınıflandırılmayan	Sınıflandırılmayan	<i>Vittaforma</i>	<i>V. corneae</i>	
			Sınıflandırılmayan	<i>M. ceylonensis</i>	
				<i>M. africanum</i>	

<http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Microsporidiosis.htm> 2005.

2.3. Morfoloji

Microsporidia 'lar yalnızca hücre içinde aktivasyon gösteren, spor oluşturan, zorunlu ökaryotik parazitlerdir. Çekirdekleri zarla kaplıdır ve ikiye bölünerek çoğalırlar.

Konak hücrede çoğalma özellikleri türlere göre farklılık göstermektedir. *Encephalitozoon* türleri parazitofor vakuolda çoğalırken, *E. bienusi*, *Vittaforma* spp., *N. connori*, *N. oculorum* gelişimi esnasında konak hücre sitoplazması ile bağlantılıdır (Franzen ve Müller, 1999).

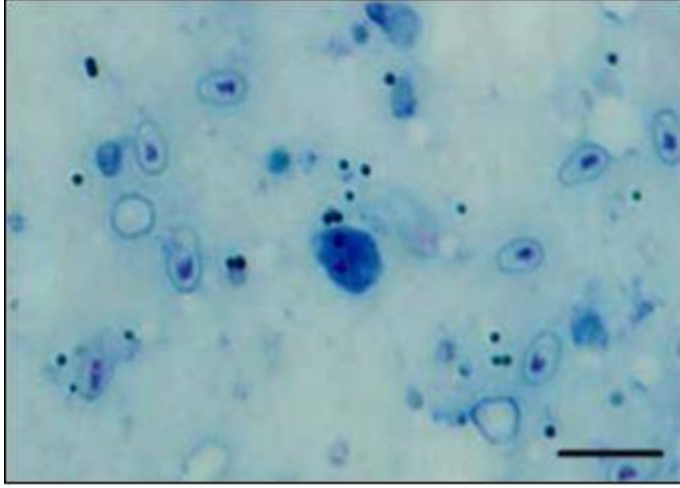
Olgun *E. bienusi*'nin sporları oval şekildedir. Spor boyutları ise 1-1.6 µm uzunluğunda, 0.7-1 µm genişliğine ve iki sıralı 5-7 kıvrımlı polar tüp

bulundurmaktadır. Sporları spor duvarı sporoplazma ve ekstrüzyon aygıtı olmak üzere üç genel yapıdan oluşmaktadır (Keohane ve Weiss, 1999).

E. intestinalis'in diğer Microsporidian parazitlerde olduğu gibi konak hücre dışında aktif formu bulunmamaktadır. Spor oluşturan, tek hücreye sahip zorunlu hücre içi parazittir. Ökaryotik hücre olarak tanımlanmalarına rağmen bazı ökaryotik hücrelere ait karakteristik özellikleri taşımamaktadırlar. Ribozom (70S), ribozomal alt ünite(30S ve 50S) ve rRNA bölge (16S ve 23S) özellikleri; mitokondri, peroksizom ve tipik bir golgi cisimciği bulundurmalarıyla prokaryotik organizmalara benzerken, zarla kaplanmış çekirdekleri, intrasitoplazmik membran sistemi ayrıca mitotik iplikçiklerle gerçekleşen kromozomal bölünmeye sahip olmaları ile de ökaryotik olarak değerlendirilmektedir (Keeling ve Fast, 2002)

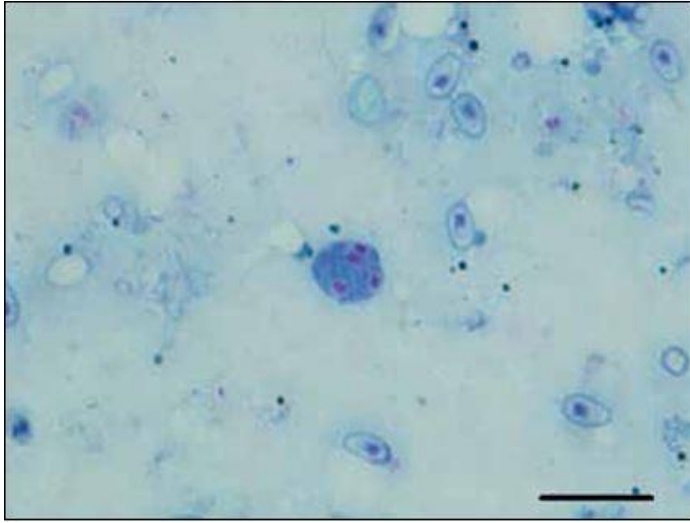
2.3.1 Merontların morfolojisi

İlk üreme fazı olan merogoni ile sporoplazma konak hücrede merontları oluşturur. Meront, merogonial üremedeki ana hücredir. Merontun şekli, büyüklüğü, bulundurduğu çekirdek yapısı karakterizasyonda türler arası karşılaştırma yaparken kullanılır. Merontu ışık mikroskopunda incelerken diğer hayat safhaları olan sporont veya sporoblasttan ayırt etmek zordur. Fakat giemsa gibi basit boyama yöntemleri uygulandığında merontlar sade hücre membranına sahip olması nedeni ile daha fazla boyayı hücre içine geçirir ve koyu boyanırlar. Böylece büyük çekirdekleri kolaylıkla saptanabilirler (Şekil 1) (Yaman ve ark.). Merontların yapısal özellikleri büyük merkezi çekirdekli, yuvarlak bir şekil almış ya da hafif oval şekilli hücre zarı ile çevrilmiş olan yapılardır. Sitoplazma homojen olarak granüllü ve fazla sayıda serbest ribozoma ve çok gelişmemiş yapıda olan endoplazmik retikuluma sahiptir (Curry, 2002).



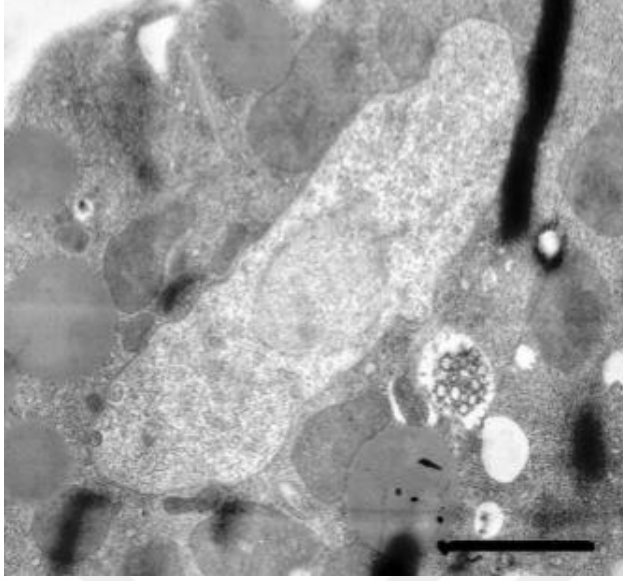
Şekil 1. Meront, bar: 10µm

Meront sporoplazma veya merositiden meydana gelir. Meront vejetatif bir üreme ile çoğalmasını gerçekleştirir ve bu üreme şekli merogoni olarak adlandırılır. Merogonial üremede çok çekirdekli bir safha olan merogonial plasmodiumlar önemli rol oynar (Şekil 2) (Yaman ve ark., 2014).



Şekil 2. Çok çekirdekli plazmodial safha, bar: 10µm

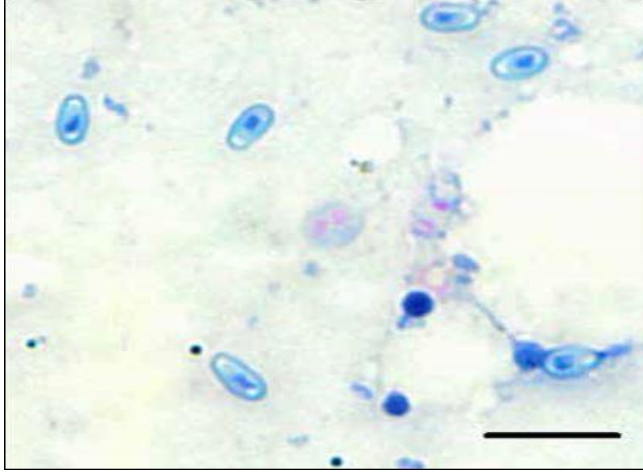
TEM ile yapılan incelemelerde çift katlı zara sahip olan çekirdek sitoplazmadan ayırt edilebilmektedir (Şekil 3). Bu durum meront yapısının monokaryon veya diplokaryon olduğunun saptamasında önemlidir (Yaman ve ark., 2014).



Şekil 3. Meront (TEM), bar: 500 nm

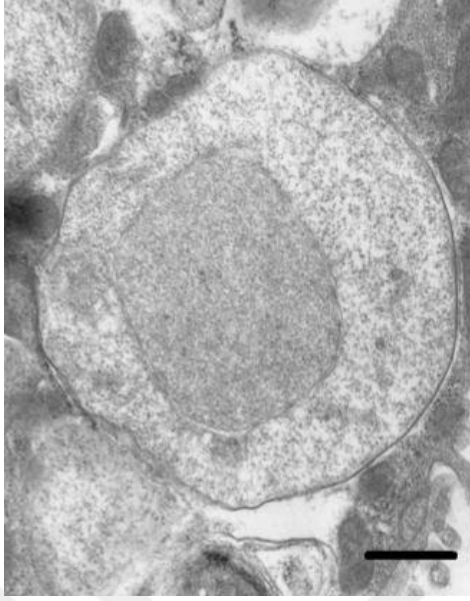
2.3.2 Sporontların Morfolojisi

Merontlar daha sonra sporontlara dönüşürler ve sporontların oluşumu sırasında iki önemli değişiklik gerçekleşmektedir. Bu değişikliklerden ilk meydana gelen granüllü endoplazmik retikulumun fazlalaşmasıdır. İkincisi olarak ise hücre zarının genişliği ve karmaşıklığının dışarıdan elektronca yoğun materyal eklenmesiyle artmasıdır. (Curry, 2005).



Şekil 4. Sporont, bar: 10µm (Yaman ve ark., 2014).

Sporontların sitoplazmalarında çekirdeklerinin çevresinde yoğun bir şekilde endoplazmik retikulum kesecikleri bulunur (Şekil 5). Golgi cisimciği meronta göre daha belirgindir (Yaman ve ark., 2014).

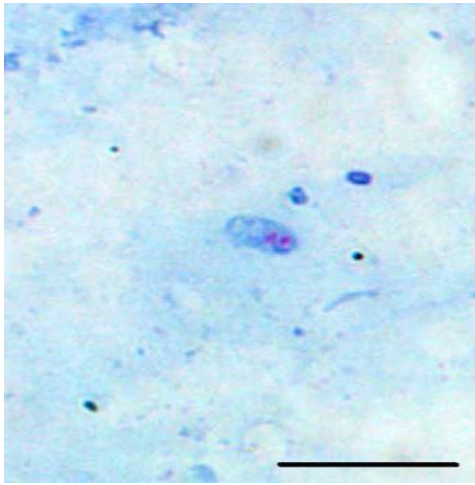


Şekil 5. Sporont (TEM), bar: 500 nm

Sporontların morfolojileri karakterizasyonda türler arası karşılaştırma yaparken kullanılmaktadır. Sporontları çevreleyen kalın hücre duvarı sahip olmaları nedeni ile merontlardan ayrılırlar (Yaman ve ark., 2014).

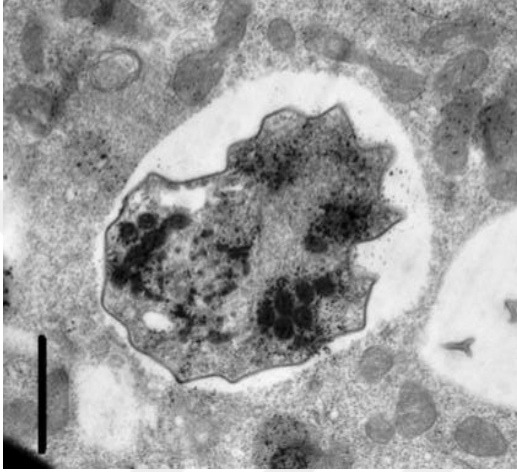
2.3.3. Sporoblast Morfolojisi

Sporontlar sporogonial üremede sporogoninin son bölünme safhası olan sporoblastları oluştururlar (Şekil 6). Sporoblast yuvarlak, oval, tüp şeklinde ya da düzenli bir hücre şekline sahip olmayıp, bölünme gerçekleştirip gerçekleştirmeyeceği, büyüklükleri ve çekirdek sayısı tanı koyarken önemli rol oynar (Yaman ve ark., 2014).



Şekil 6. Sporoblast, bar: 10µm

Sporoblastı çevreleyen kalın duvar daha fazla yoğunlaşmaya ve kalınlaşmaya başladıktan sonra sporun yapısında bulunan fırlatma aparatı bu aşamada gelişmeye başlar. Çoğunlukla sporun sahip olduğu organeller bu safhada meydana gelir. Özellikle mikrosporlar için karakteristik olan polar filament oluşumuna ait ilk bulguların gözlenmesi bu safhanın sporoblast olduğunu saptamada önemlilik arz eder (Şekil 7) (Yaman ve ark., 2014).



Şekil 7. Sporoblast (TEM), bar: 500 nm

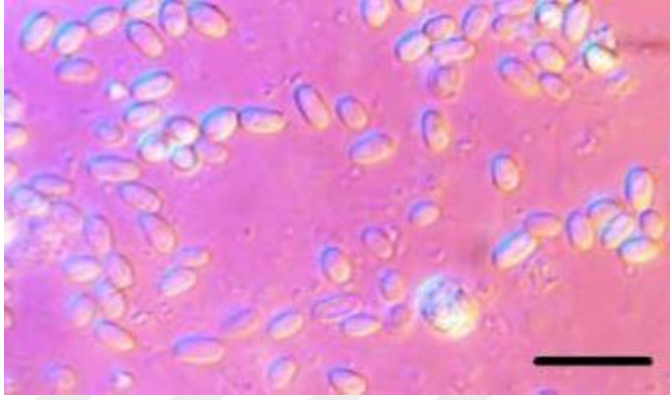
2.3.4. Spor Morfolojisi

Olgunlaşan sporoblastlardan sporlar meydana gelir (Şekil 8). *Microsporidium* türlerinde spor safhası TEM ile yapılan incelemelerde en önemli safha olup taksonomik bakımdan önem arz eden yapılar bu safhada gözlemlenir.



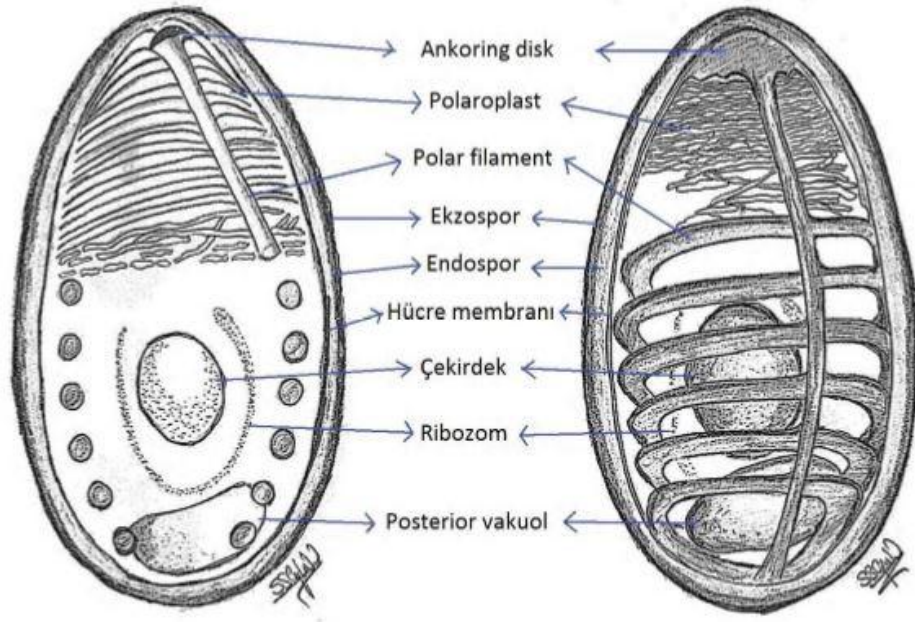
Şekil 8. Bir sporun enine kesiti, bar: 1µm

Spor, gelişimin en son safhasıdır (Şekil 9). Kalın bir hücre duvarına sahiptir (Yaman ve ark., 2014). Spor yapısı *Microsporidium* türlerinin en karakteristik gelişim dönemi olup polar filament bulundurur (Şekil 10). Spor, parazitin içeriğinin konak hücre içerisine enjekte edebilme sistemine sahip olan hastalık yapıcı dönemdir. Bununla birlikte spor morfolojisi, konak hücre dışında en uzun yaşayabilen evrim aşamasıdır. Sporların büyüklüğü 1- 10 μm 'dir. Memelileri enfekte eden sporlar daha küçük büyüklüktedir (1-3 μm). Şekilleri oval, küresel, çubuk ve armuta benzer şekilde olabilir (Joseph ve ark., 2005).



Şekil 9. Serbest sporlar, bar: 10 μm

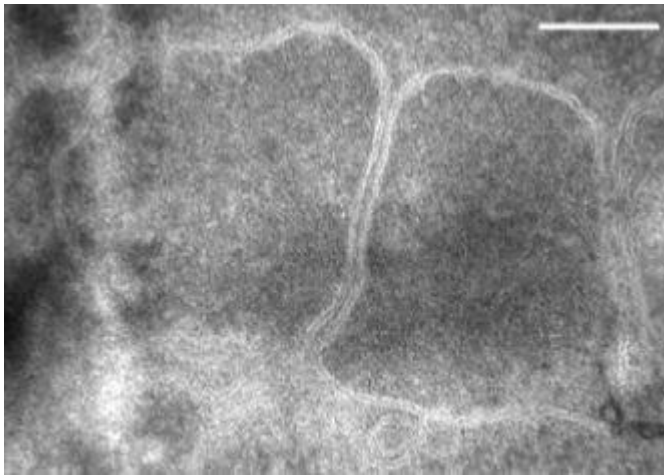
Sporların yapısı TEM ile incelendiğinde çekirdek, spor duvarı, polar filament, polaroplast, spor kesesi gibi yapıları ayrıntılı olarak gözlemlenebilmektedir (Yaman ve ark., 2014).



Şekil 10. Spor morfolojisi

2.3.4.1. Çekirdek

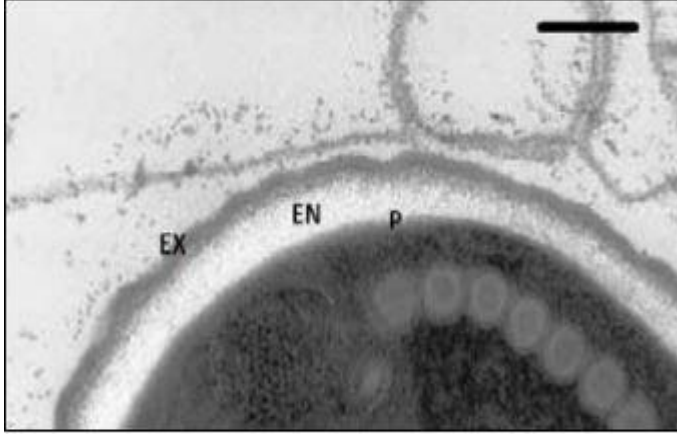
Spor yapısı TEM ile incelendiğinde ilk olarak sporun çekirdek yapısı belirlenmelidir. *Microsporidia* türlerinin çekirdekleri izole veya birleşmiş bir halde bulunur. Sporlar tek ya da iki çekirdeğe sahiptir. Sporun tek ya da iki çekirdeğe sahip olduğunu belirleyebilmek için çekirdek zarının net bir şekilde saptanması ve çift zarlı çekirdeğin gösterilmesi ile mümkündür (Şekil 11). Bu yapıların belirlenemediği durumlarda kofullar veya polaroplast kıvrımlarının çevrelediği kısımlar çekirdek olarak düşünülebilir (Yaman ve ark., 2014).



Şekil 11. Diplokaryon çekirdek, bar: 50 nm

2.3.4.2. Spor duvarı

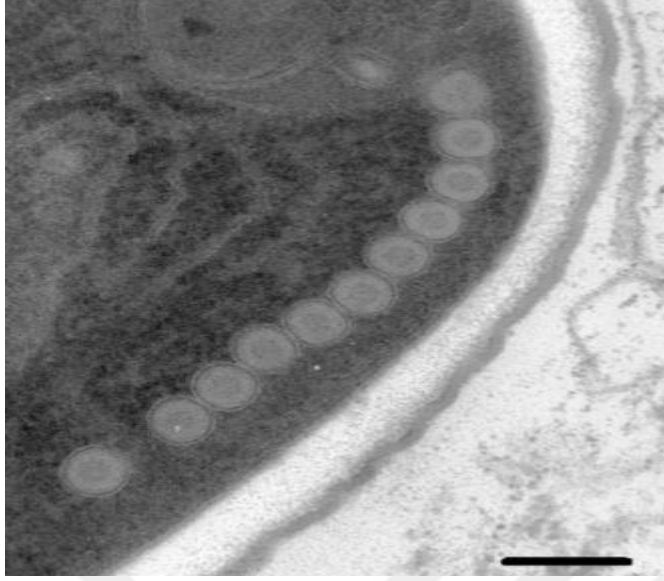
Microsporidia türlerinin sahip olduğu spor duvarı elektron mikroskobu ile gözlemlenebilir ve genel olarak 3 tabakadan meydana gelen yapıdır. Bunlardan birincisi (en içteki) plazma membranıdır. Bu tabaka sitoplazmayı sarar ve ortalama 7 nm kalınlığındadır. Plazma membranının spor duvarının bir yapısı olarak kabul edilmeği durumlarda spor duvarının iki tabakadan meydana geldiği ifade edilir. İkinci tabaka (ortadaki tabaka) ise endospor tabakası olup kitinsi yapıdadır. Bu tabaka ekzospora ile bir köprü aracılığı ile ilişki kurmaktadır. Sporun en ince bölümü bu tabakanın anterior ucudur ve bu kısım polar tüp dışarı çıkarken parçalanmaktadır. Elektron mikroskobu incelemelerinde bu yapı kalın, boş bir alan olarak gözükmemektedir. Üçüncü tabaka (en dıştaki tabaka) ekzospor olarak adlandırılır. Ekzospor cinsten cinse değişen ve taksonomik açıdan önemli yapılar bulundurur (Şekil 12) (Yaman ve ark., 2014).



Şekil 12. Sporun Duvar yapısı, bar: 250 nm

2.3.4.3. Polar Filament

Polar filament yapısı *Microsporidia* türlerine özgü olup spor içerisindeki kıvrım sayısı ve kıvrımın açısı taksonomik bakımdan önem taşır. TEM ile yapılan incelemelerde sporun enine kesitinde polar filamentler farklı tabakalardan meydana gelen enine halkalar halinde görülmektedir. İlk halkadan son halkaya doğru gidildikçe halkaların çapı aynı ise bu polar filament izofilar olarak adlandırılır (Şekil 13). Son kısımda bulunan halkalardan bazılarının çapı önceki halkalardan daha küçük yapıda ise bu polar filamentde anizofilar olarak adlandırılır (Yaman ve ark., 2014).

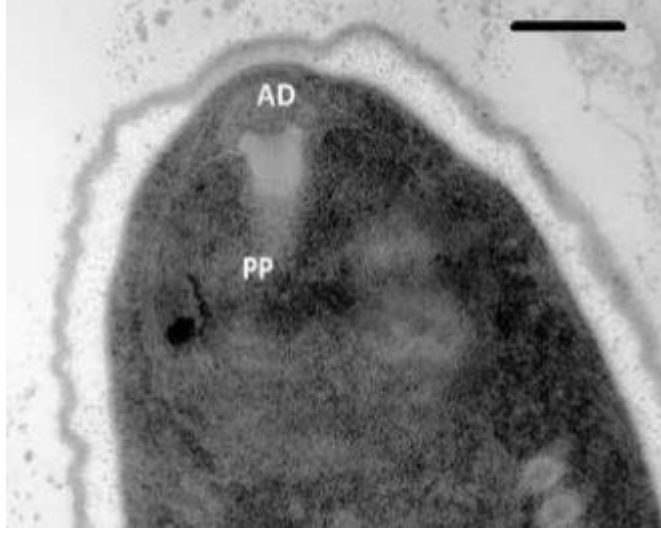


Şekil 13. Polar filamentin enine kesiti, bar: 250 nm

Taksonomik karşılaştırma yaparken polar filamentlerin kalınlığı da kullanılmaktadır. Sporum başlangıç halkası dışında kalan polar filament halkalarını sayarak türe ait polar filamentin kaç halkaya sahip olduğu saptanır. Polar filament ön tarafta manubrial kısım olarak adlandırılan tüpün diğer kısmından ve az ya da çok kıvrımlı bölge olan posterior kısmına oranla daha kalın düz bir bölgeye sahiptir. Polar filamentin anterior kısmında şemsiyeye benzeyen ve “anchoring disc” olarak adlandırılan bir yapıya bağlanır (Yaman ve ark., 2014).

2.3.4.4. Polaroplast

Polaroplastın yapısı sadece elektron mikroskobu kullanılarak incelenebilmektedir. Polaroplast birbirine yakın veya dağınık halde bulunan membran bölgeleriyle karakteristik bir lamelli yapı görünümündedirler. Bazı cinslerde polaroplastların yapısal olarak farklı oldukları görülmektedir. Birkaç cins dışında çoğu *Microsporidia* cinsleri genel olarak anterior ve posterior bölgeler olmak üzere iki kısımdan oluşur ve mikroskopta incelendiğinde üst üste dizilmiş lameller halinde gözlemlenen polaroplastlar bulundurur (Şekil 14) (Yaman ve ark., 2014).



Şekil 14. Spor anteriorde polaroplast yapısı, bar: 500 nm

Lameller arasında bulunan genişliklerde farklılıklar görülebilmektedir. Genellikle posterior kısım daha geniştir. Bazılarında ise posterior kısmındaki lameller düzenli olarak bulunmazlar ve çember ve ya tüp biçimindedirler. *Microsporidia* 'ların bazı cinslerinde polaroplastlar 3 farklı kısımdan oluşabilmektedir. Spor yapısında en son oluşan yapı polaroplasttır ve spor incelenirken spor duvarı özellikle endospor bariz olarak ayırt edilemiyorsa yani endospor yapısına sahip değilse sporun yapısı olgunlaşmamıştır ve bundan dolayı polaroplastın tam gelişmediği düşünülmelidir. Polaroplastın posterior bölgesinde genellikle ışık mikroskobu ile gözlemlenebilen posterior vakuol bulunmaktadır (Yaman ve ark., 2014).

Tablo 2. İnsanlarda enfeksiyon oluşturan türlerin morfolojik özellikleri (Joseph ve ark., 2005).

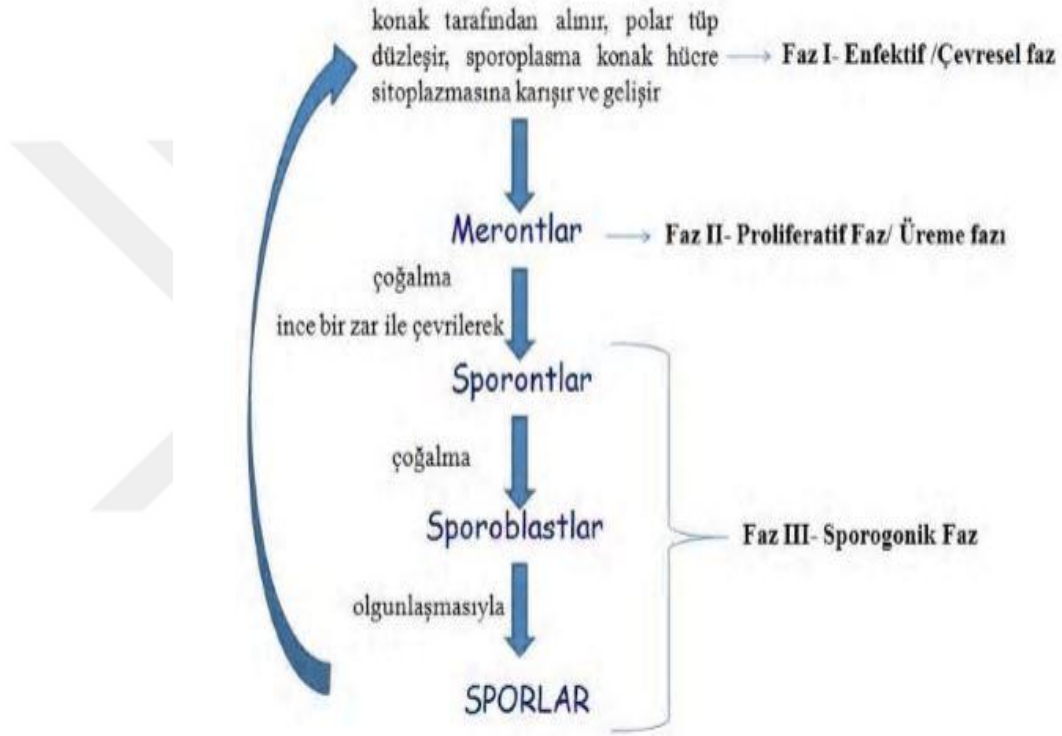
Tür	Çekirdek yapısı	Gelişim yeri	Spor boyutu (µm)	Polar tüp sarmal sayısı
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	Tek parçalı	Parazitoforoz vakuol içinde	2.5-3.2 x 1.2-1.6	4-7
<i>Encephalitozoon hellem</i>	Tek parçalı	Parazitoforoz vakuol içinde	2-2.5 x 1-1.5	6-8
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	Tek parçalı	Parazitoforoz vakuol içinde	2.2 x 1.2	5-7
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	Tek parçalı	Konak hücre sitoplazması ile direkt temas halinde	1.5 x 0.5	4-6
<i>Pleistophora</i> sp.	Tek parçalı	Sporofor vezikül	2.8 x 3.4	9-12
<i>Trachipleistophora hominis</i>	Tek parçalı	Sporofor vezikül	5.2 x 2.4	11
<i>Trachipleistophora anthropophthera</i>	Tek parçalı	Sporofor vezikül	Tip I sporofor vezikül içindeki sporlar; 3.7 x 2 Tip II sporofor vezikül içindeki sporlar 2.5 x 1.4	4-5
<i>Vittaforma corneae</i>	İki parçalı	Konak hücre endoplazmik retikulum ile çevrelenmiş	3.8 x 1.2	5-7
<i>Nosema ocularum</i>	İki parçalı	Konak hücre sitoplazması ile direkt temas halinde	5 x 3	9-12
<i>Brachiola</i> sp.	İki parçalı	Konak hücre sitoplazması ile direkt temas halinde	2.5-2.9 x 1.9-2	7-10
<i>Microsporidium ceylonensis</i>			3.5 x 1.5	9
<i>Microsporidium africanum</i>			4.5-5 x 2.5-3	11-13

2.4. Yaşam Döngüsü

Microsporidia türleri, omurgalı ve omurgasız konakları enfekte edebilen ve konak hücresi dışında aktif evreleri bulunmayan zorunlu hücre içi parazitlerdir. Bu protozoonlar başka parazitlerle enfekte olmuş bir hücreyi enfekte edebilme yeteneğine sahiptirler. *Microsporidia* 'ların yaşam döngülerinde vektör ya da arakonakları ve hücre dışında gerçekleştirebildikleri metabolik faaliyetleri bulunmamaktadır (Karaman, 2007).

Microsporidia 'ların konak hücreyi enfekte edebilmesi için uygun konak ve uygun koşulların oluşması gerekir. Bu koşullar altında konak hücreye nüfuz eden parazitin polar tüpü, sporun ön kısmına doğru gelir ve konak hücreye sporoplazmasını boşaltır ve böylece hücre enfekte olur (Franzen, 2004).

Microsporidian parazitlerin yaşam döngüsü Enfektif (Çevresel) faz, Proliferatif (Üreme) faz ve Sporogonik faz olmak üzere 3 fazdan meydana gelmektedir (Şekil 15).

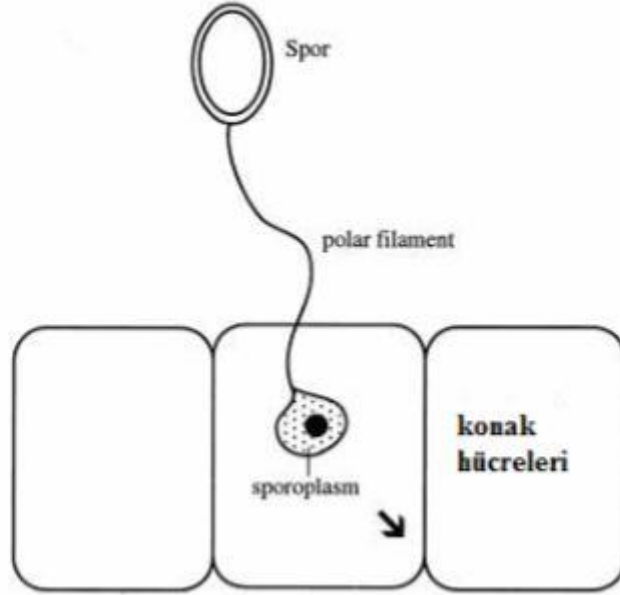


Şekil 15. Microsporidian parazitlerin genel yaşam döngüsü

2.4.1 Faz I-Enfektif (Çevresel) Faz

Sporun çevreye atıldığı ve enfeksiyonun meydana geldiği evredir. Sporlar konak hücreye solunum veya ağız yoluyla alınırlar. Konak hücreye giriş yapan sporların helezon şeklindeki polar tüpleri düz bir hale gelir, tüpün iç kısmı dış kısmından geçerek konak hücrede özellikle enterositlerin içine girer. Polar tüp bütünüyle düzleştikten sonra sporda bulunan sporoplasma kısmı tüpün içinden

geçer ve konak hücrenin sitoplazmasına katılır ve olgunlaşmaya başlar (Şekil 16) (Franzen ve Müller, 2004).



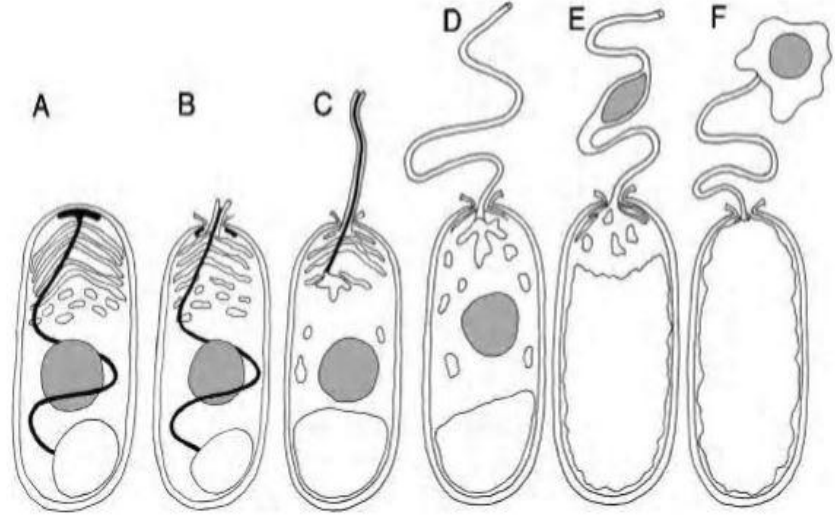
Şekil 16: Sporun konak hücreyi enfekte etmesi

2.4.1.1. Microsporidian Parazitlerin Hücreye Giriş Mekanizmaları

Microsporidia 'lar hücre içerisine deneysel olarak açıklanmış iki yol ile giriş yapmaktadır; Aktif invazyon ve endositoz.

Aktif invazyon

Spor yapılarında uygun pH, sıcaklık, nem, iyon yoğunluğu, sindirim enzimleri gibi meydana gelebilecek fiziksel veya kimyasal değişiklikler ile birtakım uyarıcılarla karşılaştığında, spor içeriğinin ozmotik basıncı ekstrem derece artar, posterior vakuol genişler ve bunun sonucu polar tüp ters dönmek için harekete geçmektedir. Polar tüpün iç kesimi dış kesiminin içinden geçerek ilerler ve konak hücrenin hücre zarına nüfuz ederek hipodermik iğne modelinde konak hücrenin sitoplazmasına sporoplazmasını aktarmaktadır. Tüpün içerisinden geçen sporoplazma konak hücrenin sitoplazmasına geçer ve böylelikle konak hücre enfeksiyon etkeni ile bulaşmış olur (Şekil 17). Polar tüpten lümeneye doğru sporoplazmanın geçişi bir dakikadan daha az sürede meydana gelmektedir (Didier ve Weiss 2006).

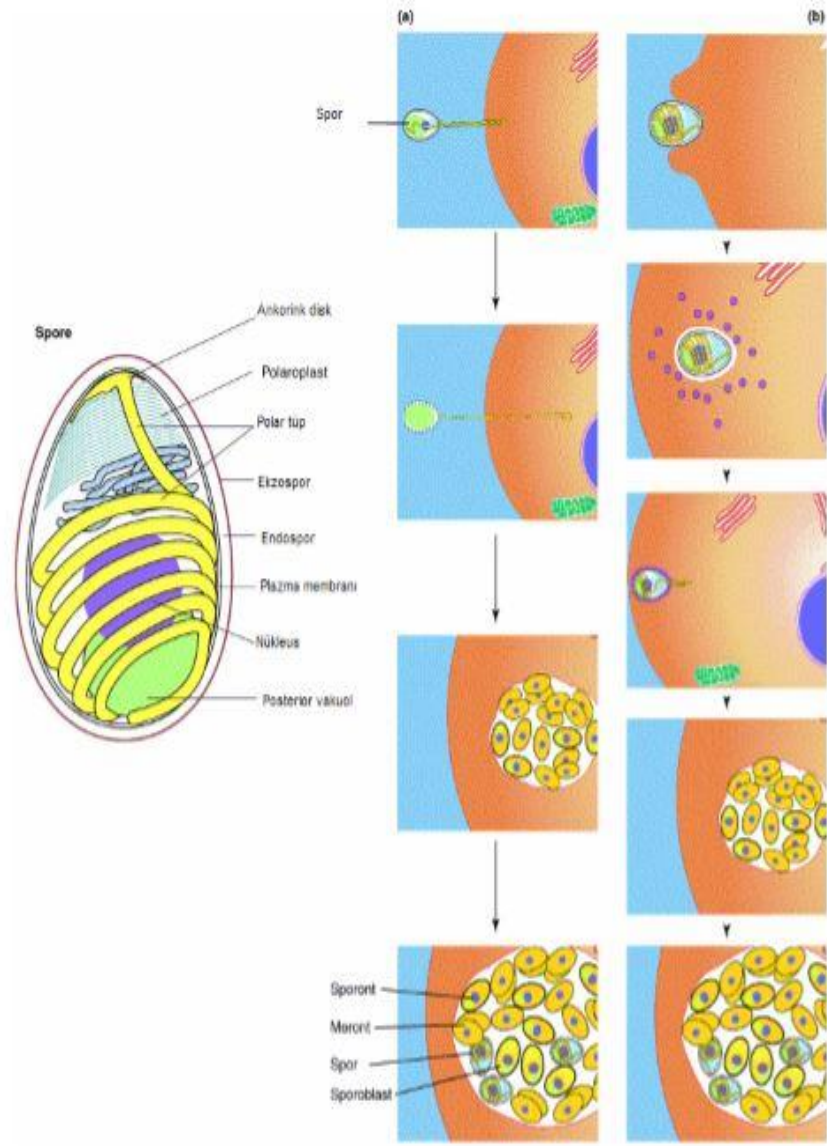


Şekil 17. Spor germinasyonu esnasında polar filamentin ters dönmesi.

A-Olgun spor. **B**-Ankoring disk parçalanır ve polar filament ters dönmeye başlar. **C**-Polar filament ters dönmeye devam eder. **D**-Polar filament tamamen ters döner ve sporoplasma polar filament içine doğru zorlanır. **E**-Sporoplasma polar filament içine geçer. **F**-Sporoplasma konak hücre sitoplazmasına geçer (Keeling ve Fast, 2002).

Endositoz

Microsporidian sporların birçoğu polar tüpün açılmasına gerek kalmadan içselleşerek sitoplazmanın içerisine geçer. Endositoz ile sporlar konak hücrenin içine alınırlar ve fagositoz ile hücreye alınan sporların çevresini saran kese yapılı bir organel olan fagozom ile sporlar çevrilir. Microsporidian sporlarını bulunduran fagozom organelleri sırası ile endozomal ve lizozomal kompartmanları oluştururlar (Keeling ve Fast, 2002).



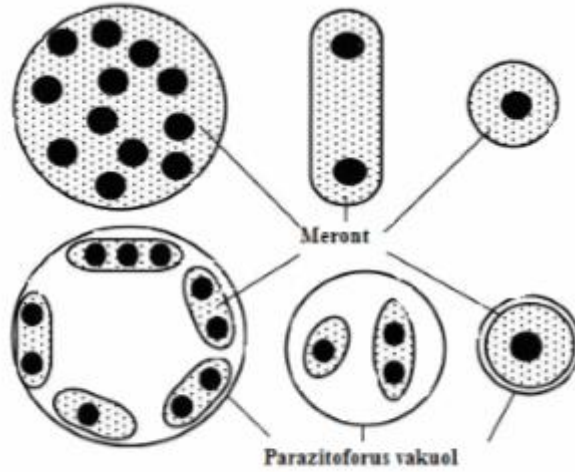
Şekil 18. *Microsporidia* 'nın konak hücre içine girmesi
a.Aktif yayılım **b.**Endositoz (Franzen, 2004).

2.4.2. Faz II- Proliferatif (Üreme) Faz

Yaşam döngüsünde çoğalmanın meydana geldiği fazdır. Bu faz sporoplazma yapısının konak hücrenin sitoplazmasına girmesi ve daha sonra merontlara dönüşmesi ile başlar. Üreme fazı merogoni ve sporogoni olarak iki stratejik basamakta gerçekleşir (Curry, Beeching ve ark., 2005). Merontlar sporoplazmanın uygun bir konağa girmesi ile oluşurlar. Merontlar basit, tek katlı zarla çevrilmiş yapıda olan hücrelerdir. Bu hücreler defalarca ikiye ya da daha çok sayıya bölünerek çoğalırlar ve tek bir hücre içerisinde yaklaşık olarak 50-100 meront oluşur (Franzen, 2004). Oluşan merontlar, enterosit, makrofaj, mezenkim hücreleri gibi farklı hücrelere yerleşirler. Ayrıca gelişimlerine devam etmek için besinlerini bu konak hücrelerden absorbe ederek sağlarlar (Curry, Beeching ve ark., 2005).

Meront hücreleri parazitin türüne göre konak hücrede farklı şekillerde gelişim gösterebilirler;

- a) Konak hücre sitoplazmasıyla direkt bağlantı halinde (*Nosema*, *Enterocytozoon* genusları bu şekilde gelişimini devam ettirmektedirler),
- b) Konak orjinli oluşan parazitoforoz vakuol içinde (*Encephalitozoon* genusu bu şekilde gelişimini devam ettirmektedir),
- c) Parazit tarafından salgılanan sporoforoz vakuol içinde (*Pleistophora*, *Trachipleistophora* genusları bu şekilde gelişimini devam ettirmektedirler)
- d) Konağın endoplazmik retikulumuyla çevrilerek (*Endoreticularis*, *Vittaforma* genusları bu şekilde gelişimini devam ettirmektedirler) (Şekil 19) (Bigliardi, Sacchi, 2001).



Şekil 19. Merogoni oluşumu

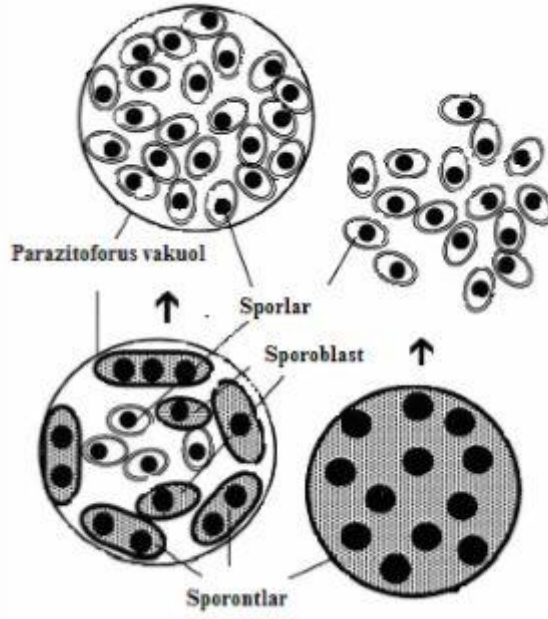
2.4.3. Faz III-Sporogonik Faz

Sporogoni fazında merontlardan çevre şartlarına oldukça dirençli, uzun süre enfektif kalabilen sporlar oluşur. Sporontlardan oluşan sporoblastlar ikiye bölünme veya çoklu füzyon ile çoğalırlar. Şekilleri oval olan sporoblastlardan olgun sporlar oluşur.

Sporogoni, merogoni gibi Microsporidian parazitin türüne göre farklılık göstermektedir;

- a) *Enterocytozoon* türlerinin evreleri konak hücrenin sitoplazmasıyla direkt temas ile,
- b) *Encephalitozoon* ve *Septata* türlerinde konak orjinli oluşan parazitoforoz vakuol içinde,
- c) *Pleistophora* türünde ise parazitin oluşturduğu ince bir membran ile konak sitoplazmasından paraziti ayıran sporoforus vesikül içinde gelişir (Chup ve ark., 1993).

Sürekli çoğalan sporlar konak hücrelerini tamamen doldurduklarında konak hücrenin hücre zarını patlatır ve etrafa yayılırlar (Şekil 20). Serbest kalan sporlar konak içinde başka bölgelere göç ederek konağın diğer hücrelerini enfekte ederler veya başka konakları enfekte etmek için idrar, dışkı gibi materyallerle etrafa salınırlar (Didier ve ark., 2004).



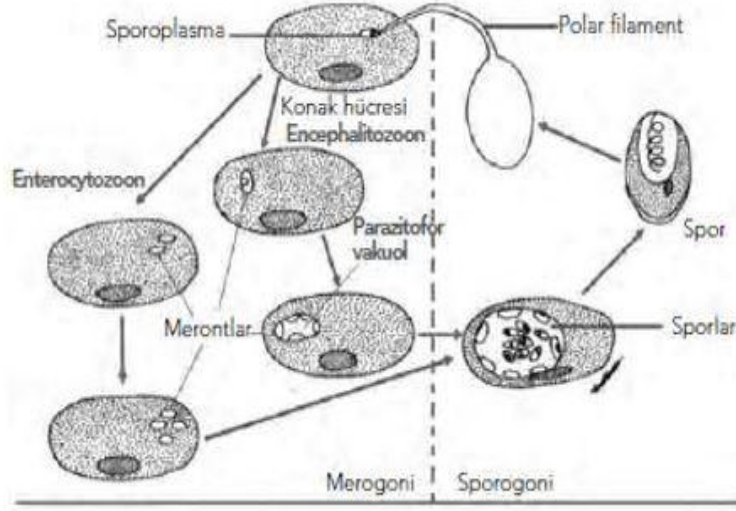
Şekil 20. Sporogoni evresi

2.4.4. *Enterocytozoon bieneusi*'nin Morfolojisi ve Yaşam Döngüsü

Enterocytozoon bieneusi'nin oluşum evrelerinin tamamı konak hücre sitoplazması ile direkt temas ederek gerçekleşir ve sporofor veya pansporoblastik zar oluşmamaktadır. Bu türe mahsus olarak gelişmenin erken dönemlerinde uzunlamasına olan çekirdek bölünme ve sporogoni evrelerinde yuvarlak bir hale gelir ve 6 µm büyüklüğünde çok fazla çekirdek meydana gelir. *E. bieneusi* türüne özgü sitoplazma polar tüp ve elektron yoğun disklerle sahiptir. Olgun spor oval şekilde olup 1-1,6 µm uzunluğunda, 0,7-1 µm genişliğinde iki sıralı 5-7 kıvrımlı polar tüp bulundurur (Weber ve ark., 1994).

Bulaşlı olan sporlar polar tüpleri ile konaklarının intestinal enterosit hücrelerinin sitoplazmalarına sporoplazmasını aktarırlar. Bu hücreler tek nükleus bölünmesi geçirirler. Proliferatif yapıda olan bu hücreler sitoplazma bölünmelerinin sonlanması sonucu hücre sitoplazması ile bağlantıları sonlanmaktadır. Sporoplazmaları, çekirdekten ve sitoplazmadan oluşmaktadır. Sporoplazmaların yapılarının çoğunluğu ribozomlardan oluşmaktadır. Polar tüpten ayrılan sporoplazmaların yapılarında plazma membranı bulunur. Sporoplazmalar 24-48 saat aralığında konak hücrelere ulaşırlar ve burada bölünerek sayılarını çoğaltırlar. Sporogoni sonucu meront hücreleri ince bir

membran ile kaplanarak sporontlar meydana gelir (Keohane ve Weiss, 1999). İkiye bölünerek veya çoklu füzyon ile sporontlardan sporoblastlar ortaya çıkar. Sporoblastlar oval bir şekle sahiptirler. Sporoblast yapılarının olgunlaşması sonucu olgun sporlar oluşur. Sporlar sürekli çoğalarak konak hücreyi bütünüyle doldurduklarında hücre zarı patlar ve sporlar etrafa yayılırlar (Grop, 2003).

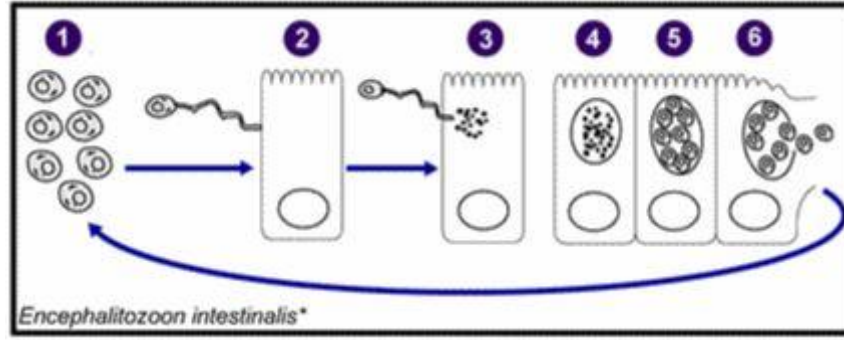


Şekil 21. *E. bieneusi*'nin Yaşam Döngüsü (Yazar ve ark., 2013).

2.4.5. *Encephalitozoon intestinalis*'in Morfolojisi ve Yaşam Döngüsü

Encephalitozoon intestinalis gelişme dönemini ince bağırsakta tamamlamakta ve spor yapıları fibroblastlar, makrofajlar, lamina propriada endotel hücrelerinde ayrıca eritrosit sitoplazmasında gözlemlenmektedirler (Cali ve ark., 1991).

Hücrel uzama ile meront yapıları çoğalır ve nükleuslar arasında sitoplazmik invaginasyon gerçekleştirirler. Sporlar füzyon ile bölünürler. Diğer *Encephalitozoon* türleri gibi *E. intestinalis* konak orjinli parazitofor vakuol içinde sitoplazmada bulunur. Üreme hücreleri bir, iki ya da dört çekirdeğe sahiptir. Organizmanın gelişmesi esnasında parazitten salınan fibrillerin bir madde ile çevrilmesi karakteristik olarak tabir edilmektedir. Polabroblast yapısı bir septumlu veya balpeteği görünümüne sahip olup, tübül uzantı 1,2 µm büyüklüğündedir. Olgunlaşmış sporların yapıları ise 2,0-1,2 µm boyutlarında olup, tek sırada 4-5 kıvrımlı polar tüp bulundurlar. (Weber ve ark., 1994).



Şekil 22. *E.intestinalis*'in yaşam döngüsü (Didier ve ark., 2004).

1-*E.intestinalis*'in bulaşlı dönemi olan sporlar. 2-Spor polar tüpü aracılığı ile konak hücreye dayanır. 3-Spor enfektif dönemi olan sporoplasmayı polar tüp ile konak hücrenin sitoplazmasına aktarır. 4-Hücre içinde sporoplasma merogoni ile çoğalır. Çoğalma konak aracılığıyla meydana getirilen parazitoforoz vakuolde meydana gelir. 5-Olgun sporlar ortaya çıkar. 6-Plazma membranı parçalanarak sporlar ya konak içerisinde farklı bölgelere göç ederek etraftaki diğer hücreleri enfekte eder veya farklı konakları enfekte edebilmek için idrar, dışkı gibi vücut materyalleriyle dış ortama atılır.

2.5.EPİDEMİYOLOJİ

Microsporidian parazitlerin tanısı 100 yıldan daha fazla zamandır yapılmaktadır. Louis Pasteur 1865-1870 yıllarında yaptığı çalışmalarda ipek böceklerinde sorunlara neden olan *N. bombycis*'i tespit etmiştir. Bu parazitlere ait memelilerde görülen ilk enfeksiyon 1922 yılında bildirilmiştir. İnsanlarda görülen ilk enfeksiyon ise 1927 yılında bildirilmiştir (Magarinos, 1927). İlk kez 1959 yılında Matsubayashi ve arkadaşları çiftlik hayvanlarıyla temas öyküsü olan Japon bir çocukta göstermişlerdir. Baş ağrısı, nöbet ve ateş şikayetleri olan bu hastanın beyin omirilik sıvısının incelenmesi ile etkenin *Encephalitozoon* cinsi Microsporidian bir parazit olduğu belirtilmiştir (Matsubayashi ve ark., 1959). Margileth ve arkadaşları 1973 yılında timik aplazi tanısı alan 4 aylık bir bebeğin tüm organlarında otopsi sonucu *Nosemma connori* saptamışlardır. (Margileth ve ark., 1973). Başka bir olgu ise 11 yaşında kornea tutulumu olan çocukta etken olarak yine *Nosema* gösterilmiştir (Aston ve Wirashina, 1973).

HIV ile enfekte olmuş bireylerde ilk Microsporidian bulaşlı olgu bildirisi 1985 yılında yapılmıştır. (Desportes ve ark., 1985). Daha sonraları HIV ile enfekte olmuş bireylerde 400'den fazla bildirilen Microsporidiosis olgusu ile

fırsatçı bir patojen olduğu belirtilmiştir (Keeling ve Fast, 2002). Yapılan çalışmalarda AIDS salgınlarından önce 10 sporodik olgu bildirilirken, AIDS salgınlarından sonra hastalarda görülen kronik diyare olgularının yarısında etkenin Microsporidiosis olduğu belirlenmiştir. Microsporidiosis olgu bildirimini tropik ve az gelişmiş bölgelerden yapılmaktadır (Vangool ve ark., 1995). Almanya, Amerika, Arjantin, Avustralya, Brezilya, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Hindistan, İspanya, İsveç, İtalya, Kanada, Sri Lanka, Tayland, Uganda, Zambiya gibi pek çok ülkeden olgular sunulmuştur (Özcel ve ark., 2007).

Uganda'da üç günden fazla ishal şikayeti olan çocuklarda yapılan incelemelerde PCR yöntemi uygulanarak %17,4 oranında *E. bienersi*'i saptanmıştır. Bununla birlikte yağmurlu mevsimlerde Microsporidian parazit prevalansında artma olduğu belirtilmiştir (Tumwine ve ark., 2002).

Çek Cumhuriyetinde *Enterocytozoon* ve *Encephalitozoon* prevalansının araştırıldığı koprodiagnostik ve moleküler çalışmalarda 9 kişide *E. bienersi* pozitifliği saptanmıştır (Sak ve ark., 2011).

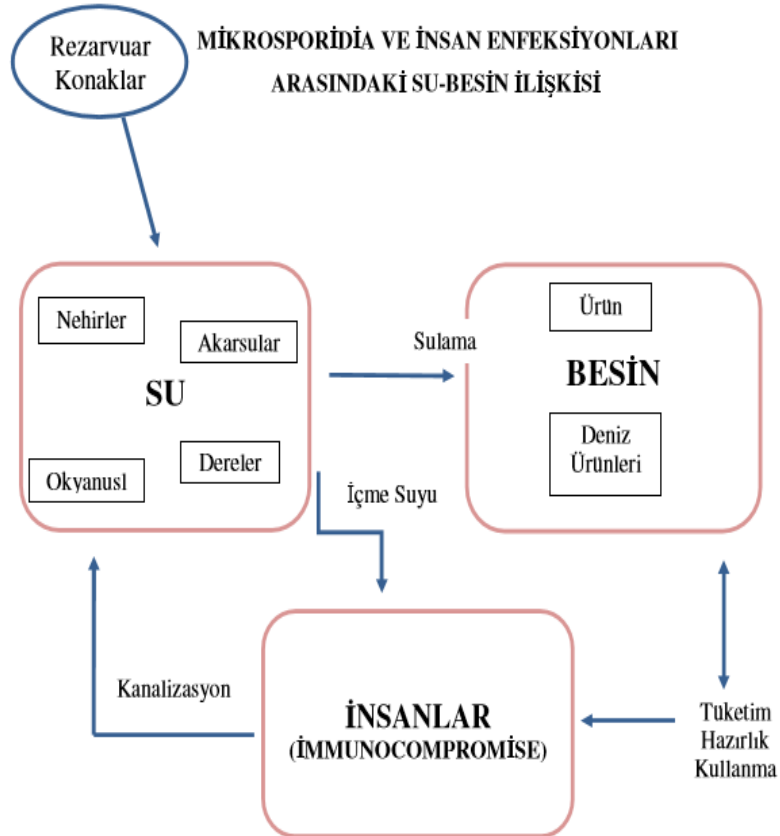
Microsporidiosis olgusu organ nakli yapılan hastalarda hayati önem arzeden patojenlerden biri olarak kabul edilmektedir. İspanya da HIV (-) olan ve böbrek nakli yapılan 2 kişide *E. bienersi* genotip D tespit edilmiş ve dirençli ishal ve etiyolojisi bilinmeyen kronik ateş gibi farklı semptomların olduğu durumlarda bu parazitin araştırılması gerektiği ifade edilmiştir (Galvan ve ark., 2011).

Microsporidiosis ile ilgili çalışmalar ülkemizde de yapılmaktadır. AIDS'li bir hastada uzun süre diyare şikayeti sonrasında dışkı incelemesi sonucu *Cryptosporidium* ookistleri ile birlikte *Microsporidium* sporları gözlemlenmiştir. (Büget ve ark., 2000).

Yazar ve arkadaşlarının bildirdiklerine göre kemoterapi gören akut myeloblastik lösemi hastasının BAL örneğinde *Microsporidium* sporları tespit edilmiştir. (Yazar ve ark., 2003)

2.6. BULAŞMA

Microsporidian parazitlerin enfektif olan formu sporlarıdır. Sporların duvarları protein ve kitinden oluştuğu için olabildiğince dirençli yapıdadırlar. Parazitin bulaş kaynakları ve bulaşma yolları tam anlamıyla açıklanamamasına karşı; dışkı, idrar ve solunum yolu sekresyonlarında bulunabilen bu organizma için, enfekte olan insan ya da hayvanların enfeksiyon kaynağı olarak görev yapar. Parazitin bulaşı kişiden kişiye, yiyecek ve içeceklerle, cinsel temasla, toplu kullanım alanları olan hamam, havuz gibi ortamlarla ve hayvanlar aracılığı ile gerçekleşebilmektedir. İnsana bulaşan *Microsporidia* parazitlerinin neden olduğu klinik sendromlar değerlendirildiğinde bulaş yolunun; göz, ağız ya da solunum yolu ile olduğu in-vivo deneylerle kanıtlanmıştır (Didier ve ark., 2004).



Şekil 23. *Microsporidia* ve insan enfeksiyonları arasındaki su-besin ilişkisi (Cali ve ark., 2005).

2.6.1. Zoonotik Bulaş

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda Microsporidian parazitlerin hayvandan insana bulaşması ile ilgili kesin veri bulunmamaktadır. *E.bieneusi* ve *E. intestinalis*'in sporları kedi, köpek, keçi domuz, sığır, tavşan gibi evcil ve çiftlik hayvanlarında gözlemlenmiştir. Ayrıca *E. bieneusi* sporları yabani memeli hayvanlarda, endüstriyel kümes hayvanlarında ve kentsel güvercinler gibi kuşların dışkılarında görülmüştür (Desportes-Livage ve Darty 2005).

Yapılan gen dizi analizleriyle ilgili çalışmalarda benzer suşların insanlarda ve hayvanlarda saptanması zoonotik bulaşın gerçekleştiğini açıklamaktadır. Zoonotik bulaşmada köpeklerin dışkılarındaki sporların solunum yolu ile ya da oral yolla alınması sonucu parazitin bulaşabileceği bildirilmektedir. Dış ortam koşullarına karşı oldukça dirençli olan sporlar sudan çıktıktan sonra kuraklığa karşı dayanıklıdır. Bundan dolayı sporlarla bulaşlı olan su, yiyecek ya da solunum ile dolaylı olarak zoonotik bulaşın gerçekleşebileceği iddia edilmektedir (Didier ve ark., 2004).

2.6.2. İnsandan İnsana Bulaş

Bulaşmanın insandan insana olabileceği dikkate alınmalıdır. Microsporidian parazitlerin bulaşması ile ilgili olarak laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda, hayvandan hayvana bulaşma yollarının insandan insana bulaşma yolları ile benzerlik göstereceği savunulmaktadır. Microsporidian parazitlerin sporları dışkı, idrar, ve solunum yolu ile etrafa dağılmaktadır. Böylelikle insandan insana bulaşın büyük olasılıkla fekal-oral yol ile ya da sporların solunum ile etrafı kontamine ederek bulaşması iddia edilebilir (Didier ve ark., 2004).

2.6.3. Su Yolu ile Bulaş

Bağırsakta bulunan Microsporidian parazitlerinin spor yapıları, su kaynaklarında saptanmıştır. Sporlar dış ortam koşullarına karşı olabildiğince dirençlidirler, bundan dolayı canlılıklarını uzun süre boyunca suda devam ettirebilirler. Bilindiği gibi spor yapıları oldukça küçük olmaları nedeniyle su filtrelerinden kolaylıkla geçerler. Microsporidian parazitlerle enfekte olmuş

hayvanın idrarı ya da dışkısı ile dış ortama atılan parazit sularda kontaminasyon oluşturur. Bu sebepten dolayı parazitin insana su yolu ile bulaşması düşünülmektedir (Didier ve ark., 2004).

2.6.4. Besinler Aracılığı ile Bulaş

HIV ile enfekte bireylerde yapılan araştırmalarda iyi pişmemiş et yiyenlerde Microsporidiosis'in bir tehdit olduğu tespit edilmiştir. Parazit ile bulaşlı suların sulamada kullanılması sonucu besinler aracılığı ile bulaşın gerçekleşebileceği dūřünülmektedir. Buna ek olarak spor yapıları birtakım bitkilerde de tespit edilmiştir (Didier ve ark., 2004).

2.6.5. Transplental Bulaş

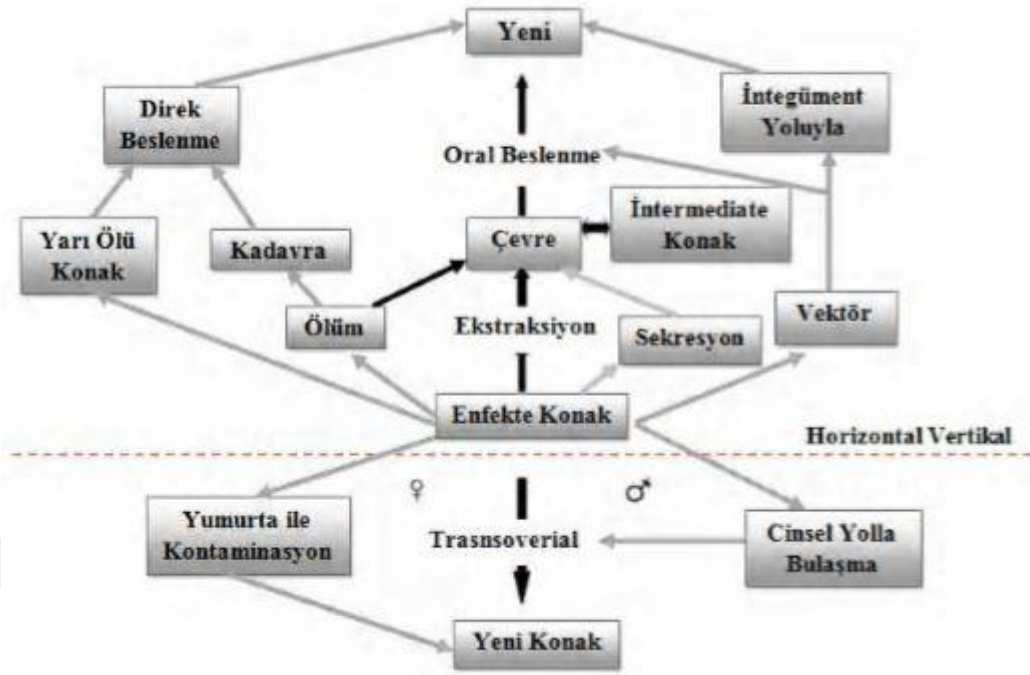
Hayvanlarda yapılan araştırmalar sonucu *Encephalitozoon* türlerinin plesanta aracılığı ile bulaşının olabileceği açıklanmıştır. Buna ek olarak anneden bebeğe plesanta aracılığı ile geçişin kemirgenlerde, tavşanlarda, etoburlarda ve primatlarda vertikal transmisyon ile gerçekleşebileceği açıklanmıştır. Günümüze kadar konjenital olarak edinilmiş insan enfeksiyonu saptanmamıştır (Didier ve ark., 2004).

2.6.6. Cinsel Yol ile Bulaş

Microsporidian parazitlerle meydana gelen enfeksiyonlarda enfeksiyona neden olan risk etmenleri arasında homoseksüellikte bulunmaktadır. İsvেç'de homoseksüeller üzerinde yapılan bir araştırma sonucu %33'ünde anti-*Encephalitozoon cuniculi* antikoru saptanmış ve insanlar arası bulaşmada katkı sağlayacağı belirtilmiştir (Bergquist ve ark., 1984). AIDS hastalarının üretra ya da prostat apsesi bulunanların idrar ve prostat salgılarında *Microsporidia* sporları gözlemlenmiş olup böylelikle cinsel yol ile transmisyon ihtimalini tetikleyeceği bildirilmiştir (Birthistle ve ark., 1996).

2.6.7. Vektörel Bulaş

Microsporidia enfeksiyonlarının vektör aracılığı ile bulaşmasına dair veriler bulunmamaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda *Mikrosporidium* ile enfekte olan HIV ile enfekte bireylerde bal arısı ya da yaban arısı ile sokulmanın vektör aracılığıyla bulaşta rol alabilecek risk etmenleri arasında gösterilmektedir (Didier ve ark., 2004).



Şekil 24. Horizontal ve Vertikal bulaşma yolları (Abe ve ark., 2009).

2.7. İNSANLARDA MICROSPORIDIOSIS'İN YERLEŞTİĞİ ORGANLAR, PATOJENİTE VE KLİNİK

2.7.1. Göz ve Oküler Yerleşim

Microsporidium türlerinden olan *E. hellem* ve *E. cuniculi* AIDS'li bireylerin gözlerinde en fazla gözlemlenen türler olarak saptanmıştır (Rosberger ve ark., 1993). Tipik *Microsporidium* sporları bu bireylerde oküler biyopside kornea ve konjonktiva epitelinde tespit edilmiştir. *V. corneum* immün sistemi baskılanmış bireylerde sık olarak rastlanır ve diğer *Microsporidium* türlerine göre derin ve kornea stromasına kadar ilerleyen enfeksiyonlar oluşturmaktadır (Joseph ve ark., 2006).

2.7.2. Solunum Sistemi Yerleşimi

Solunum sistemi yerleşiminde enfeksiyona neden olan en sık gözlemlenen *Encephalitazoon* cinsi *Microsporidium* 'lardır. Alt solunum sistemi tutulumları genel olarak sinüzit ile eş zamanlı oluşmaktadır. *E. hellem* ile enfekte olan AIDS'li bir hastada akciğer semptomları tespit edilmiş; bronşit, bronşiolit ve eroziv trakeit belirlenen hastanın balgam örneğinde sporlar bulunmuştur (Weber ve ark., 1993). Bronşiolit ve pnömonisi olan farklı bir AIDS hastasında

sporlar, bronş, alveoller, maksiller sinüs epiteli ile kronik dil ülserinde tespit edilmiştir (Schottelius ve Gonçalves da Costa, 2000).

2.7.3. Genitoüriner Sistem Yerleşimi

Üriner sistemde *Microsporidiosis Encephalitozoon* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara sık rastlanmaktadır. Hem AIDS'li hemde *Encephalitozoon* enfeksiyonlu bireylerde çoğunlukla solunum sistemi, göz ve genitoüriner sistem yerleşimi görülmektedir (Weber ve ark., 1994). AIDS'li bir hastanın *E. hellem* ile enfekte olması sonucu otopsisini ile şiddetli üriner sistem enfeksiyonundan dolayı böbreklerde kronik yapı bozulması, granülomatöz interstisyel nefrit, lenfosit ve plazma hücrelerinde artma, nötrofil ve histositlerde azalma tespit edilmiştir (Schwartz ve ark., 1992). Eğer böbreklerde enfeksiyon varsa, sporlar altüriner sisteme idrar ile birlikte taşınarak alt üriner sisteme geçebilir ve nekrotizan üretrit, sistit veya üretrite neden olabilmektedir. Sporlar üretra hücrelerinden, mesane yüzeyinden, makrofajlardan ve üreteral mukozadan ayrıştırılabilirler.

Prostat apseleri genital sistemde sık olarak tespit edilmekte ve sporlar nekrotik apse materyali, granülasyon dokusu ve prostat bezleri hücrelerinde görülmektedir.

2.7.4 Sindirim ve Safra Sistemi Yerleşimi

Yapılan bazı araştırmalarla AIDS'li bireylerde oluşan idiyopatik diyarelerin %50'sinin nedeninin *Microsporidium*'lar olduğu açıklanmıştır. En fazla rastlanan etkenler *E. bienensi*, *E. intestinalis* ve *E. cuniculi*'dir. *E. bienensi* ince bağırsak yerleşimlidir ve enterit ve ülser neden olmaktadır. *Encephalitozoon*'lar bölgesel olup, sporlar lamina propria epitelinden izole edilebilmektedirler (Schwartz ve ark., 1995; Weiss, 2001). *Encephalitozoon*'ların neden olduğu enfeksiyonlarda uygulanan endoskopi ve biyopsi metaryalindeki dokuda ülser rastlanmamaktadır. Sporlar lamina propriada endotelial hücrelerde tespit edilmektedir. Seyrek olarak kalın bağırsak tutulumuna neden olmaktadır (Hewan-Lowe ve ark., 1997)

E. bienensi genel olarak safra sistemi tutulumuna yol açabilmektedir. Enfeksiyon parankim dışı karaciğer hücrelerinde, safra kanalı epitelinde, az

görülmele birlikte safra kesesinde de bulunabilmektedir. AIDS'li bir hastada granülomatöz hepatit tespit edilmiştir (Bryan ve ark., 1993).

2.7.5. Merkezi Sinir Sistemi Tutulumu

İmmün sistem yetmezliği olan iki çocuğun merkezi sinir sisteminde *E. cuniculi* enfeksiyonu saptanmıştır (Berqisit ve ark., 1984). AIDS'li iki hastada yapılan otopsi sonucunda serebrumda enfeksiyon görülmüştür. Lezyon derinde olmakla birlikte serebral bölgede nekroz bulunmaktadır. Sporlar nekrotik alanda makrofajlar içinde ve astrositlerde tespit edilmiştir. Ayrıca HIV ile enfekte olan bir bireyde *E. cuniculi*'nin neden olduğu ensefalit olgusu saptanmıştır (Deplazes ve ark., 1996).

2.7.6. Diğer Dokularda Yerleşim

Bir olguda peritonda 20 cm boyutunda nekroz, granülomatöz olmayan enflamasyon ve *Microsporidia* sporları bulunduran omentum kitlesi bildirilmiştir. Ayrıca bir AIDS hastasının dilindeki ülserde sporlar tespit edilmiş, iki erkek AIDS hastasında da kemikte ağrılı, radyolojik olarak yitik lezyon gözlemlenmiştir. Bunlara ek olarak iskelet ve kas sisteminin tutulabileceği bildirilmiştir (Cali ve ark., 2005).

2.8. LOKAL VE GENEL KLİNİK BELİRTİLER

2.8.1. *Enterocytozoon bieneusi*

E. bieneusi özellikle CD4 hücreleri 50-100 hücre/mm³ altında olan HIV ile enfekte olan bireylerde diyare, anoreksi ve safra sistemi hastalıklarına neden olabilmektedir (Eeftnick Schattenkerk ve ark., 1991). Bireylerde karın ağrısı, kusma, bulantı, ateş gibi şikayetler olabilmekle birlikte dışkı incelemelerinde kan ve lökositte rastlanmamaktadır.

Safra sisteminin tutulmasıyla kolesistit ve kolanjit meydana gelebilmektedir. Bu durumdan dolayı genel olarak üst karın ağrısı olmaktadır. Yapılan ultrasonografik ya da endoskopik araştırmalarda kanallarda genişleme, safra kesesi duvarında düzensizlik, incelme, distansiyon, papiller stenoz gibi belirtiler varolmaktadır (Beangerie ve ark., 1992).

Solunum sistemi tutulumları öksürük, dispne ve wheezinge neden olmaktadır. Radyografide minimal infiltrasyon, az derecede efüzyon tespit edilmekle birlikte bronkoalveoler lavaj sıvısında ya da biyopsi sonucunda

sporlara rastlanmaktadır. Başka bir olguda ise bu enfeksiyon rinosinüzit ile beraber tespit edilmiştir (Hartskeerl ve ark., 1995).

2.8.2. *Encephalitozoon* Türleri

E. intestinalis diyare ve safra sistemi enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Akut kolitle devam eden olgular tespit edilmiştir. Sık bir şekilde karşılaşılabilmekte ve özellikle böbrek tutulmasına yol açabilmektedir. Bundan dolayı lökositüri ve dizüri saptanmaktadır. Sık olarak karşılaşılmassa da pürülan üretrit, sinüzit, prostatit ve keratokonjunktivite neden olmaktadır.

E. hellem ve *E. cuniculi* gözlerde yabancı cisim hissi, kuruluk, bulanık görme, ağrı, fotofobi gibi keratokonjunktivite sebep olabilmektedir. Genel olarak tek taraflı olmakla birlikte kornea ülserine çok fazla rastlanmamaktadır (Didier ve ark., 1991). AIDS'li bireylerde ise bronşiolit, nefrit, üretrit, sinüzit, sistit, prostatit peritonit ve hepatit tespit edilen diğer enfeksiyonlardır.

2.9. TANI

Microsporidia'ların tanısı 100 yıldan fazla zamandır yapılmaktadır. Louis Pasteur 1895-1870 yıllarında ipek böceklerinde enfeksiyona neden olan *N. bombycis*'i tespit etmiştir. İlk memeli enfeksiyonu tanısı 1922 yılında, ilk insan enfeksiyonu ise 1927'de bildirilmiştir (Magarinos, 1927). Matsubayashi ve arkadaşları tarafından 1959 yılında 9 yaşında Japon bir çocukta ilk kez gösterilmiştir (Matsubayashi ve ark., 1959).

İnsanlarda tespit edilen *Microsporidia* türlerinin büyüklüğü 1-5 µm arasında olabilmektedir. Vücutta sindirim, dolaşım, solunum, santral sinir sistemi, genitoüriner, bağışıklık ve endokrin sistemlerde doku ve organlara, göze, ve kaslara yerleşerek enfeksiyona neden olmalarından dolayı; tanı koyabilmek için dışkı, çeşitli vücut sıvıları, mukoza ve doku örnekleri değerlendirilmektedir (Korkmaz ve Ok., 2011).

Laboratuvarda yapılan çalışmalarda *Microsporidium*'ların tanısı bazı nedenlerden dolayı kolay olmamaktadır;

- Tanı için tespit edilecek yapıların çok küçük olmaları nedeni ile ışık mikroskopunda görülmeleri kolay değildir.

- Parazitin iç yapısının incelenmesi için uygulanan genel tanı yöntemleri yeterli değildir.
 - Yapılan serolojik testlerde aktif enfeksiyonu görmek mümkün değildir.
 - Tanı koymada etkili olan doku kültürü, moleküler yöntemler ve özel boyama yöntemlerini uygulayabilmek için özel laboratuvar ortamları gerekmektedir.
- Microsporidia* türlerinin neden olduğu enfeksiyonun varlığının anlaşılabilmesi için;
- Sporların vücut sekresyonlarında ya da çıkıntılarında saptanması,
 - Parazitin gelişim safhalarının doku biyopsisinde ya da otopside bulunması ve tespit edilmesi,
 - Hasta serumlarında antikorların bulunması,
 - Uygulanan hücre kültürü çalışmalarında gelişim dönemlerinin görülmesi gerekmektedir (Özcel ve ark., 2007).

2.9.1. Işık ve Floresan Mikroskopisi Yöntemleri

Microsporidian parazitlerinin tanısının yapılmasında kullanılan ışık ve floresan mikroskopları cins ve tür ayrımı yapmak için yeterli değildir. Buna ek olarak parazitin iç yapısının incelenmesi bu yöntemlerle mümkün değildir ve tecrübeli kişiler tarafından incelenmelidir.

Floresan boyaları (Kalkoflor beyaz 2MR, acridin oranj ve Uvitex 2B), Giemsa boyası, Asit Fast-Trikrom boyası ve Weber'in Trikrom Boyası (WTS) en fazla tercih edilen boyalar arasında bulunmaktadır (Tablo 3) (Weber ve ark., 1994).

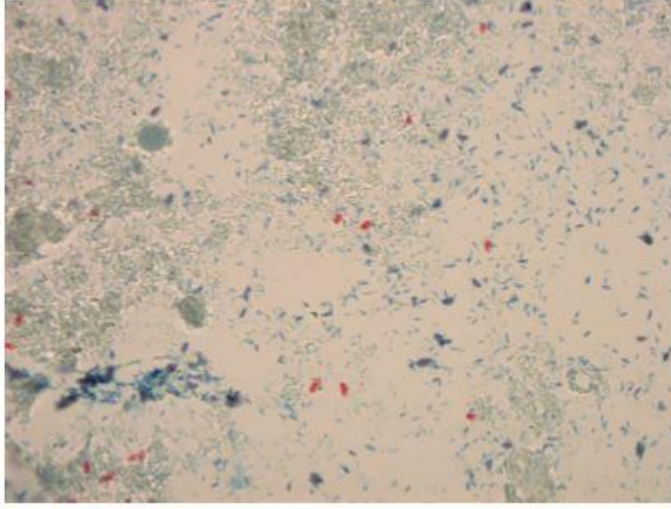
Tablo 3. *Microsporidia* türlerinde tanı yapabilmek için uygulanan boyama yöntemleri ve özellikleri (Weber ve ark., 1994).

Boyama Teknikleri	Örnekler	Özellikleri	Açıklamalar
Floresan	Dışkı, Vücut sıvıları, Doku biyopsileri	Kitin spor duvarı parlak Floresan verir.	Hızlı ve hassas bir teknik gerekmektedir. Biyopsi örneklerini boyamada kullanışlıdır. Hassas, fakat spesifik değildir.
Chromotrope ve Modifiye Chromotrope	Dışkı, Vücut sıvıları, Doku biyopsileri	Spor duvarı pembe-kırmızı boyanır, zemin mavi veya yeşil boyanır.	Zaman alıcı bir boyama yöntemidir. Modifiye boyalar kullanılarak boya süresi kısaltılabilir. Güvenilir ve yapılması kolaydır.
Giemsa	Vücut sıvıları, Doku biyopsileri	Açık mavi boyanır.	Yorumu zordur çünkü diğer fekal elementlerle karıştırılabilir.
Gram	Vücut sıvıları	Gram variable	Yorumu zordur çünkü diğer fekal elementlerle karıştırılabilir.
Modifiye Gram	Doku biyopsileri	Mavi veya soluk kırmızı, zemin kahverengi yeşil	Hassas olup, standardize edilmemiştir. Deneyimli patoloğlar gereklidir.
Warthin Starry	Doku biyopsileri		Zaman alıcıdır ve yorumlanması zordur.

2.9.1.1 Modifiye Trikrom boyaları

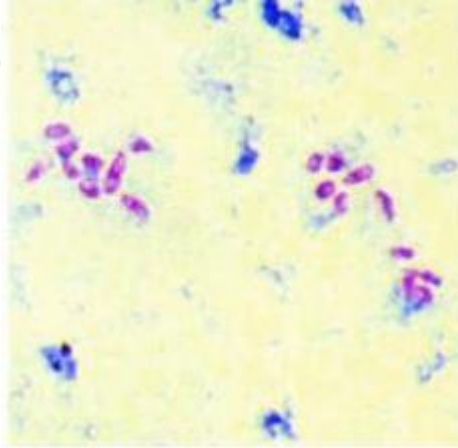
Weber'in Trikrom boyası

Modifiye trikrom boyama yönteminin prensibi, *Microsporidia* sporlarına boyanın çok zor girmesine dayanmaktadır (Korkmaz ve Ok., 2011). Dışkı örneklerinin boyanması ile uygulanan yöntemdir. Boyama sonucunda spor duvarı parlak pembe renk ile boyanır ve spor yapısının içi ise şeffaf veya yatay köşegen çizgi biçiminde gözlemlenmektedir (Şekil 25). Preperat zemini de yeşil ya da mavi olarak boyanmaktadır. Bu boyama yönteminin hassasiyeti ve özgün olup olmadığı net olarak bilinmemekle birlikte bakterilerden ayrıştırabilecek diyagonal ve ekvatorial çizgiler bulunduğundan diğer boyama tekniklerine göre daha faydalı olduğu belirtilmiştir (Garcia, 2007).



Şekil 25. *Microsporidia* sporlarının modifiye trikrom boyama ile 100X büyütmedeki görüntüsü

Ryan ve ark. ise boyayı hazırlarken fast green yerine anilin mavisi kullanmışlar ve bu yöntem ile parazitlerin daha iyi boyandığını saptanmışlardır (Şekil 26) (Garcia, 2002).



Şekil 26. *Encephalitozoon* spp. anilin mavisi ile boyama görüntüsü (Garcia, 2002).

Acid Fast-Trikrom boyası

Cryptosporidium parvum ve *Microsporidia* türlerinin tanısının yapılabilmesi için Reisner ve ark. Asitfast-trikrom boyama yöntemini geliştirmişlerdir. Bu boyama yöntemi uygulandığında *Microsporidia* sporların koyu kırmızı renkte, zeminin ise mavimsi bir renkte boyandığı gözlemlenir (Reisner, Spring, 2000).

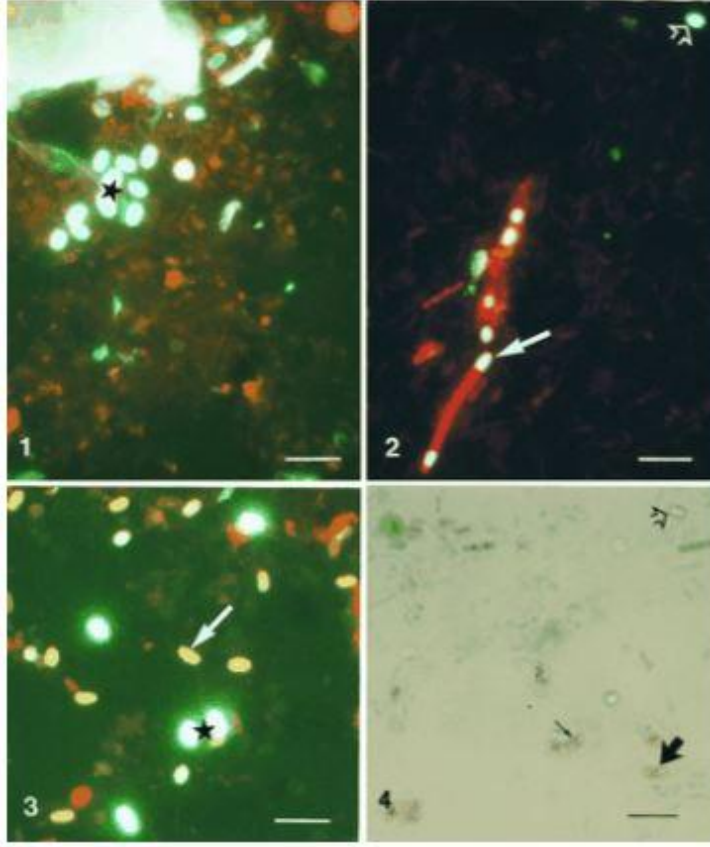
2.9.1.2 Floresan Boyaları

Microsporidian parazitlerin sporlarının tanısının koyulabilmesi için uygulanan floresan boyalar Kalkoflor beyaz 2MR, acridin oranj ve Uvitex 2B'dir. Hızlı ve pratik olması nedeni ile floresan boyama yöntemi diğer boyama yöntemlerine göre daha kullanışlı olmasına karşın hassasiyeti yüksek değildir. Hassasiyetini artırmak için örneklerin diğer boyama yöntemleri ve özellikle MTS ile eş zamanlı boyanarak değerlendirilmeleri gerekmektedir (Karaca, Rota, 1996).

Kalkoflor beyaz 2MR

Kalkoflor ile boyanan örnekler floresan mikroskopu altında 395-415 nm dalga boyuna sahip filtre ile incelenmektedir. Boya, spor duvarının endospor tabakasındaki kitine bağlanmakta ve sporun, mavi-beyaz floresan vermesini sağlamaktadır. Yöntemin duyarlılığı yüksek olmasına rağmen kitin bulunduran başka mikroorganizmaları özellikle de mantar sporlarını da boyadığından dolayı hassasiyeti düşüktür. Ancak *Microsporidia* sporlarının mantarlardan daha küçük olması, tomurcuklanma yapmamaları nedeni ile mantarlardan ayrıştırılabilirler. Bu boyama ile spor morfolojisi anlaşılmasına karşın iç yapısının görülmemesi boyanın dezavantajlarından biridir (Karaca, Rota, 1996).

Kalkoflor boyama yöntemi parazitlerin boyamasını sağlamakla birlikte *Microsporidia* sporlarının canlılık testi için de kullanılır. Canlı olan sporlar Kalkoflor ile 395-415 nm dalga boyunda tukuaz-mavi renkte, ölü olan sporlar ise beyaz-sarı renkte boyanmaktadır.



Şekil 27. Kalkoflor ve MT ile boyanan sporlar
1: Mavimsi parlak olarak görülenler Kalkoflor ile boyanmış sporlar,
2: Tek olan spor, kırmızı olarak boyananlar ise içinde bakteri olanlar
3: Yeşil ve sarı renkte boyanan spor yapıları,
4: MTS ile boyanmış boş ve normal sporlar (Chioralia ve ark., 1998).

Uvitex 2B

Uvitex 2B yöntemin ise Kalkoflor boyama yönteminin presibi gibi boya spor duvarının endospor tabakasındaki kitin ile bağlanarak mavi–beyaz floresan vermektedir. Yine bu yöntem ile kitin içeren diğer mikroorganizmalar ve özellikle mantar sporları da boyanmaktadır (DeGirolami ve ark., 1995).

Akridin Oranj

Bu boyama yöntemi ile boyanan preparatlarda sporlar turuncu floresan renk vermektedir. Ancak zeminde turuncu renk verdiği için dolayı sporları zeminden ve diğer dışkı artıklarından ayırt etmek kolay değildir. Bu boyama yönteminde de sporlar ile mantarlar karıştırılmaktadır (Joseph ve ark., 2006).

2.9.1.3. Giemsa boyası

Microsporidia türlerinin tanısı yapılırken ilk olarak kolay bir yöntem olan giemsa boyama yöntemi uygulanabilir. Giemsa boyama yöntemi uygulandığında spor yapıları açık mavi olarak boyanmaktadır. Bu boyama yöntemi ile dışkı, vücut sıvıları, sitolojik örnekler ve intestinal biyopsi örnekleri boyanabilmektedir. Fakat dışkı boyaması yapıldığında dışkıda bulunan artık maddelerden dolayı spor yapılarını ayırt etmek kolay değildir. Dışkı boyaması yapılırken tanıyı kolaylaştırabilmek için dışkılar filtrelerden geçirilebilir ya da çoklaştırma yöntemleri uygulanarak artık maddeler uzaklaştırılabilir. Diğer inceleme örneklerinde fazla miktarda artık madde bulunmadığından spor yapılarını ayırt etmek daha kolaydır (Garcia, 2007).

2.9.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

Biyopsi ya da otopsi ile alınan doku örnekleri TEM ile incelendiklerinde parazitin tüm evreleri görülürken, vücut sıvılarında ve dışkıda sadece spor yapıları tespit edilebilmektedir. *Microsporidia* türlerinin morfolojik özelliklerine göre yapılan cins ve tür ayrımı TEM ile yapılan incelemelerde tayin edilebilmektedir. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde meront, sporont, sporun polar tübüldeki sarmal yapısı, sıra sayısı ve bunlara ek olarak diğer iç yapıyı oluşturan tipik özellikler kesin olarak olmasa da gözlemlenebilmektedir. İnvaziv yöntemler uygulamadan, TEM ile incelenen dışkı örneklerinde ve vücut sıvılarında sporların tespitinde çok başarılı olunmamıştır (Weber ve ark., 1994).

Pahalı olması, vücut sıvıları ve dışkı incelemelerinde kullanıldığında hassas olmaması, biyopsi yapabilmek için invazif işlemlere gerek duyulması ve örneklerin hazırlanma aşamalarının ve incelenmesinin yorucu olması nedeni ile TEM kullanılmasında sorunlar yaşanmaktadır.

2.9.3. Hücre Kültürü

Maymun böbrek hücreleri ve insan akciğer fibroblast kültürlerinden kültür teknikleri kullanılarak izole edilen *E. intestinalis*, *E. hellem*, *E. cuniculi* ve *Nosema* türleri kültürde üretilmişlerdir. *E. bieneusi*'nin in vitro olarak kültürü yapılmıştır. Enfekte hücre kültürlerinde *Microsporidia* türlerini göstermek 3-10 hafta sürebilmektedir. Bundan dolayı hücre kültürlerinden

Microsporidia türlerini izole etmek güç ve zaman alıcıdır ve tanı koymada uygulanan rutin laboratuvar teknikleri arasında önerilmemektedir (Özcel ve ark., 2007).

2.9.4. Seroloji

Microsporidia türlerine karşı antikorları tespit etmek için uygulanan serolojik yöntemler immün floresan, immün peroksidaz, ELISA, ve western blot yöntemleridir. Yapılan çalışmalarda yaşamlarını tropikal bölgelerde sürdürenler ve tropik hastalığa sahip bireylerde *E. cuniculi*'ye karşı seropozitivitenin arttığı belirtilmiştir. Sıtmalı hastalarda *E. cuniculi*'ye %4,7 oranında saptanırken, schistosomiasisli hastalarda ise %9,1 oranında seropozitivite tespit edilmiştir (Özcel ve ark., 2007).

2.9.5. Moleküler Teknikler

Microsporidial genom karakteri küçük subünit ribozomal RNA (SSU-rRNA) üzerinde yoğunlaşmaktadır. SSU-rRNA gen dizilimi 1987 yılında Vossbrinck ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Bu gen tipi ökaryot SSU-rRNA geninden çok kısadır ve aynı dizilime sahip değildir. *E. intestinalis*, *E. hellem*, *E. cuniculi* ve *E. bienewisi*'nin SSU-rRNA gen dizilimleri yayınlanmıştır.

Moleküler yöntemler olarak SDS-PAGE, western blot, southern blot ve son yıllarda PCR kullanılmaktadır. Moleküler yöntemlerle TEM ile belirlenen taksonomik sınıflama arasında bazı farklılıklar görülmüştür. Örneğin önceden *Septata intestinalis* olarak adlandırılan organizma *E. intestinalis* olarak adlandırılmaktadır (Özcel ve ark., 2007).

2.9.6. Monoklonal antikorların kullanıldığı Immün Floresan Antikor (IFA-MAbs) Yöntemi

Bazı *Microsporidia* türlerine karşı monoklonal ve poliklonal antikorlar geliştirilmiştir. Türe özgü yüzey molekülleri veya polar tübül yapısını tanıyan floresan işaretli monoklonal antikorlar tanıda kullanılmaktadır. Monoklonal antikorlar örnekte bulunan sporların spor duvarındaki proteinlere bağlanmakta ve floresan mikroskopunda sporlar parlak yeşil röfle vermektedir. Fakat bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri ile ilgili bazı çelişkiler bulunmaktadır (Alfa ve ark., 2002).

2.10. TEDAVİ

Microsporidial enfeksiyonların tedavisinde metronidazol, itrakonazol, oktreodil, primakin, azitromisin ve kinakrin gibi ajanlar denenmiş ancak faydalı olmamıştır.

Diyare ve kilo kaybı olan bazı hastalarda albendazol kullanılmış, fakat tedavi yapıldıktan sonra klinik olarak düzelme olsa bile dışkı örneklerinde spor atılımının devam ettiği görülmüştür.

E. bienersi'nin neden olduğu diyareli üç bireyde 20 gün boyunca oral yolla 100 mg furazolidon kullanılmış, uzun süre dışkı örneklerinde spor görülmezken, enfeksiyonun bir olguda 12 gün sonra tekrar ettiği saptanmıştır.

Enterocytozoon ve *Encephalitazoon* türlerinin tedavisinde albendazol olabildiğince başarılıdır. Diyareli birçok bireyde ilaç iki haftadan üç aya kadar uzun süreli, ikiye bölünme ile 400 mg kullanılmıştır. Sinüzit, keratokonjunktivit, bronşit ve üretrit olgularında fayda sağlayan albendazolün etki mekanizması, mikrotübüller içindeki tübülün polimerazı baskılayarak, hücre bölünmesi ve beslenmesini bozma yolu ile olduğu bildirilmiştir. Son zamanlarda ise fumagillin tedavide başarılıdır (Özcel ve ark., 2007).

2.11. KORUNMA

Microsporidial enfeksiyonların bulaşında insan vücut salgılarının ve çıkartılarının rolü bilinirken, hayvanların rolü tam olarak bilinmemektedir. Sporların çevrede olabileceği unutulmamalıdır. Korunma yöntemleri çok değildir ve ayrıca hala Microsporidial enfeksiyonlar için aşı gelişmemiştir. Bundan dolayı:

- El temizliğine önem verilmelidir. Etraftan ele bulaşan sporların yanı sıra balgam ve idrarla atılan sporlarla kontamine olan ellerin göze sürülmesi ile oküler Microsporidiosis'in görülebileceği unutulmamalıdır.
- Dışkı, balgam, idrar gibi çıkıntılarının etrafı kirletmesi önlenmelidir.
- Yiyecekler iyi temizlenmeli ve pişirilmelidir.
- Temiz içme suları tüketilmeli gerekirse sular kaynatılmalıdır.
- Evde hazırlanan lens solüsyonları tercih edilmemelidir.
- Bulaş riski olan kişilere albendazol kullanmaları önerilmelidir (Özcel ve ark., 2007).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

I. Etik onay: Bu çalışmanın, Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2015-08/02 no' lu ve 28.08.2015 tarihli kararı ile etik onayı alınmıştır.

II. Araştırmanın yapıldığı yer, evren ve örneklem: Çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi Radyasyon ve Tıbbi Onkoloji Bilim Dallarına başvuran kemoterapi gören, 22-82 yaş aralığında, anket formunu anlayıp yanıtlayabilecek ve çalışmaya katılmayı onaylayan hastalar üzerinde yapılmış ve örneklem sayısı 100 kemoterapi alan kanser hastasıdır.

Sağlık sorunu olmayan 100 kişiden ise kontrol grubu oluşturulmuştur.

III. Anket çalışması: Araştırmanın amacına uygun olarak anket formu uygulanmıştır (Ek-1). Anket uygulaması yapılmadan önce çalışmanın evrenini oluşturan hastalarla tek tek görüşülerek çalışma içeriği hakkında bilgi verilmiştir. Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalara onam formları okutulmuş; çalışmaya katılmayı kabul ettiklerine dair imzalar alınmıştır. Onayı alınan her hastaya sosyo-demografik özellikleri ve hastalık süreçleri ile ilgili sorular yöneltilmiştir.

IV. *Microsporidium* spp.'nin Modifiye Trikrom boyama ve IFA Tekniği ile incelenmesi

• **Dışkı örneklerinin toplanması:** Onayı alınan ve anket sorularını cevaplandıran hastalardan dışkı örnekleri alınmıştır. Alınan dışkı örnekleri günlük olarak Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalına getirilmiştir. Getirilen dışkı örneklerine ilk aşamada Modifiye trikrom boyama yöntemi uygulanmak üzere laboratuvarında boyama protokolü uygulanmıştır. Daha sonra kit çalışmasında kullanılmak üzere kalan dışkı örneklerine %10' luk formalin eklenerek muhafaza edilmiştir.

• **Çalışmanın gerçekleştirildiği yer:** Araştırmanın laboratuvar çalışmaları Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

• **IFAT Çalışma prosedürü:** Çalışmada, Bordier Affinity marka ticari kitleler kullanılmıştır. *Microsporidia* türlerinden *E. bienewisi* ve *E. intestinalis* varlığı

araştırılmıştır. IFA tekniğinin aşamaları IFA-MAbs'in yöntem kısmında detaylı bir şekilde verilmiştir.

• **Trikrom Boyama yöntemi:** Weber'in trikrom boya serisi laboratuvarında hazırlanıp dışkı yayılan preparatlara boyama protokolü uygulanmıştır. Modifiye trikrom boyasının hazırlanması ve boyama protokolü Modifiye trikrom boyama başlığının altında ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

V. İstatistiksel Analiz: Çalışmamızda elde edilen veriler SPSS (Ver:22,0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmelerinde 2x2 düzenlerde khi-kare testi, çok gözlü düzenlerde khi-kare testi, çok gözlü düzenlerde khi-kare testi varsayımları yerine getirelemediğinde khi-kare exact testlerinden monte curlo yöntemi kullanıldı ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alındı.

3.1. IFA-MAbs

İndirekt immünofloresan antikor testi ile bağırsak *Microsporidia* türlerinden *E. bienewisi* ve *E. intestinalis*'in monoklonal antikorlar olan anti-*Enterocytozoon bienewisi* ve anti-*Encephalitozoon intestinalis* kitleri ile (Bordier Affinity Products, Switzerland) spesifik tanısı konulmuş olup, hazır kit için üretici firmanın önerdiği prosedür uygulanmıştır.

Yöntem

1. Dışkı PBS (Fosfat tamponlu tuz çözeltisi) ile seyreltilmiştir. (1 hacim dışkı + 2 hacim PBS). Dışkılar 50 µm (en iyi) veya 100 µm'lik filtre yardımıyla filtre edilmiştir.
2. Test edilecek 2 µm'lik dışkı numune süspansiyonu kuyucuklu lama milropipet yardımı ile konulmuştur ve bir saat boyunca 37 °C de ki etüvde kurutulmuştur.
3. Lamlar metanol ile tespit edilerek kurumaya bırakılmıştır.
4. Tespit edilen lamlar aseton içerisinde -20 °C de 20 dk bekletilmiş ve aseton içerisinde çıkarılan lamlar havada kurutulmuştur.
5. Kuyucuklu lam üzerindeki herbir kuyucuğa PBS damlatılmış ve oda ısısında 5 dakika bekledikten sonra numunelerin üzerindeki PBS pipet ile aspire edilmiştir.
6. Kuyucukların her birine 20 µm monoklonal antikor ilave edildikten sonra nemli bir ortamda oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir.

7. Lamlar PBS ile 3 kez yıkandıktan sonra kuyuların kenarlarından PBS aspire edilmiştir.
8. Her kuyucuğa 20 µm kullanıma hazır konjugat ilave edilmiştir. Karanlık, nemli bir ortamda oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir.
9. Konjugatı aspire ederek lamlar PBS ile yıkanmıştır.
10. Lamlardan tampon boşaltılmıştır. Lamların altı ve dikkatli bir şekilde numunelerin etrafı antijene dokunmadan kurulanmıştır.
11. Her bir örneğin üzerine 1 damla gliserol, mounting medium ya da gliserol+PBS çözeltisi ilave edilip hava kabarcığı oluşmasından sakınarak kuyuların üzerine lamel (24 x 60 mm) yerleştirilmiştir.
12. Uygun floresan ve immersiyon objektifi (x 100) bulunan bir floresan mikroskopuyla gözlem yapılmıştır. Lamlar karanlıkta +4 °C'de birkaç gün stabildir.

3.2. Modifiye Trikrom Boyama (Weber'in Trikrom Boyası, Chromotrope 2R boyası)

Chromotrope 2R Boya Solüsyonun Hazırlanışı

- Chromotrope 2R 6.0 g
- Fast green 0.15 g
- Fosfotungustik Asit Hidrat 0.7 g

Karışıma 3 mL glasiyal asetik asit eklenerek havanın içerisinde ezilerek karıştırılmış ve 30 dk oda ısısında bekletilmiştir. Karışım üzerine 100 mL'ye tamamlanacak şekilde distile su eklenmiş ve homojen bir karışım elde edilene kadar karıştırılmıştır.

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

Solüsyon oda sıcaklığında saklanmıştır.

Asit Alkol'ün Hazırlanışı

- 900 mL saf etanol üzerine 100 mL distile su eklenerek %90'lık etil alkol hazırlanmıştır.
- 995.5 mL % 90'lık etil alkolden alınmış ve 4.5 mL glasiyal asetik asit ile karıştırılarak asit alkol hazırlanmıştır.
- Solüsyon oda sıcaklığında saklanmıştır.

Yöntem

1. Hazırlanan boya serisi, lam boyama istasyonunda boyama protokolündeki sıralamaya göre şalelere yerleştirilmiştir.
 2. Dışkı örneklerinden sulu boya fırçası yardımı ile yayma yapılmıştır ve yaymalar havada kurutulmuştur.
 3. Preparatlar saf metil alkol ile dolu olan şaleye konulmuştur ve oda ısısında 5-10 dk inkübe edilmiştir.
 4. Örneklerden fazla alkol uzaklaştırılmış ve preparat havada kurutulduktan sonra 1 dk musluk suyunda bekletilmiştir.
 5. Preparatlar chromotrope 2R boyası içerisinde 90 dk oda ısısında inkübe edilmiştir.
 5. Preparatlar asit alkol içerisinde 8-10 sn bekletilmiştir.
 6. Preparatlar %95'lik metanol içerisinde 10 sn bekletilmiştir.
 7. Preparatlar %95'lik metanol içerisinde 5 dk bekletilmiştir.
 8. Preparatlar %100'lük metanol içerisinde 5 dk bekletilmiştir.
 9. Preparatlar %100'lük metanol içerisinde 5 dk bekletilmiştir.
 10. Preparatlar ksilen içerisinde 5 dk bekletilmiştir.
 11. Preparatlar ikinci bir ksilende 5 dk daha bekletilmiştir.
- Ksilen içerisinde çıkarıldıktan lamalar kurutulmuş ve immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskopunda X100'lik büyütmede incelenmiştir.



Şekil 28. Lam boyama istasyonu ile Weber'in Trikrom Boyama protokolü uygulaması

4. BULGULAR

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesinde tedavi gören 100 kanserli hasta ve herhangi bir hastalığı olmayan 100 sağlam bireyden dışkı örnekleri toplanarak ve hasta grubu ile kontrol grupları sonuçları karşılaştırılarak anlamlı bir farklılık olup olmadığı MT boyama ve IFAT yöntemiyle araştırılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının bazı demografik özellikleri aşağıdaki tablolarda ve metinde sunulmuştur.

Gruplardaki hasta bireylerin cinsiyet yönünden dağılımına göre 100 bireyden 46'sının (%46) kadın, 54 (%54) kişinin ise erkek olduğu anket sonucu belirlenmiştir.

Tablo 4. Gruplardaki hasta bireylerin yaş dağılımları

Yaş Grupları	S	%
18-28 yaş	2	2,0
29-39 yaş	7	7,0
40-50 yaş	19	19,0
51+ yaş	72	72,0
Toplam	100	100,0

Çalışmada deney grubunu oluşturan kemoterapi alan bireylerin yaşları min 22 max 82 olup ağırlıklı yaş değerleri 57,73 olarak belirlenmiştir.

Tablo 5. Gruplardaki hasta bireylerin mesleki durumları

Meslekler	Sayı	%
Ev hanımı	40	40,0
İşçi	5	5,0
Memur	3	3,0
Serbest Meslek	11	11,0
Emekli	41	41,0
Toplam	100	100,0

Deney grubundaki bireylerin çoğunluğunu ev hanımları ve emekliler oluştururken farklı meslek gruplarına sahip bireylerde bulunmaktadır.

Kemoterapi sürecinde olan 100 bireyimizden 19'unun (%19) akciğer, 13'ünün (%13) kolon, 29'unun (%29) meme, 3'ünün (%3) prostat, 12'sinin (%12) birden fazla organında kanserli hücrelerin olduğu ve 24 (%24) kişinin ise diğer grubundaki kanser tiplerine sahip oldukları anket sonucu belirlenmiştir. Diğer grubunda bulunan kanser tipleri ise şunlardır: beyin, mide, pankreas, böbrek, kemik, rahim, over, karaciğer, yumuşak doku, mesane, cilt, nazofarenks kanserleridir.

Tablo 6. Kanserli hastalarla, Kontrol grubunun MT Boyama ile *Microsporidium* türlerinin görülme durumu sonuçlarının dağılımı

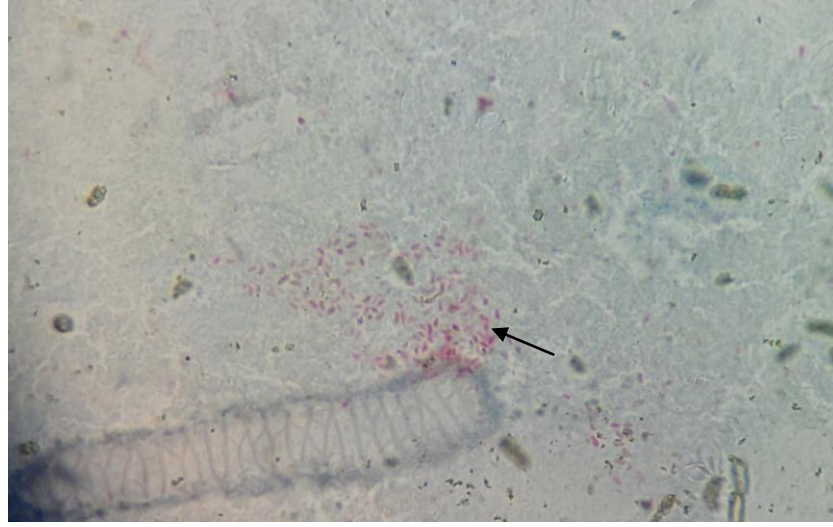
Gruplar		MT Boyama ile <i>Microsporidium</i> spp. görülme durumu		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Hasta	S	87	13	100
	%	87,0	13,0	100,0
Kontrol	S	95	5	100
	%	95,0	5,0	100,0
Toplam	S	182	18	200
	%	91,0	9,0	100,0

$X^2=3,90$

$p=0,048$

$p<0,05$ önemli

Tabloda 6'da görüldüğü gibi dışkı örneklerinin MT Boyama ile boyanıp ışık mikroskopunda incelenmesi sonucunda kanserli bireylerin 13'ünde (%13), sağlıklı bireylerinden oluşan kontrol grubunun 5'inde (%5) *Microsporidium* pozitifliği görülmüş her iki gruptaki bireylerde *Microsporidium* türlerinin görülme durumu açısından aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 29. Modifiye trikrom boyama yöntemi ile tespit edilen *Microsporidia* sporları (x100)

Tablo 7. Gruplarda IFA tekniği ile *E. bienewsi*'nin görülme durumu

Gruplar		<i>Enterocytozoon bienewsi</i> 'nin IFA Tekniği ile Görülme Durumu		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Hasta	S	82	18	100
	%	82,0	18,0	100,0
Kontrol	S	44	6	50
	%	88,0	12,0	100,0
Toplam	S	126	24	150
	%	84,0	16,0	100,0

$X^2=0,89$

$p=0,345$

$p>0,05$ önemsiz

Çalışmamızda IFA testi ile 100 kanserli bireyin 18'inde (%18,0), kontrol grubunu oluşturan 50 bireyden ise 6'sında (%12,0) *E. bienewsi* pozitifliği saptanmış olup, her iki gruptaki bireylerin IFA tekniği ile *E. bienewsi* inceleme görülme durumu açısından aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur ($p>0,05$). Buna rağmen hasta grubunda *E. bienewsi* pozitifliğinin daha fazla olduğu saptanmıştır.

Tablo 8. Gruplarda IFA tekniği ile *E. intestinalis*'in görülme durumu

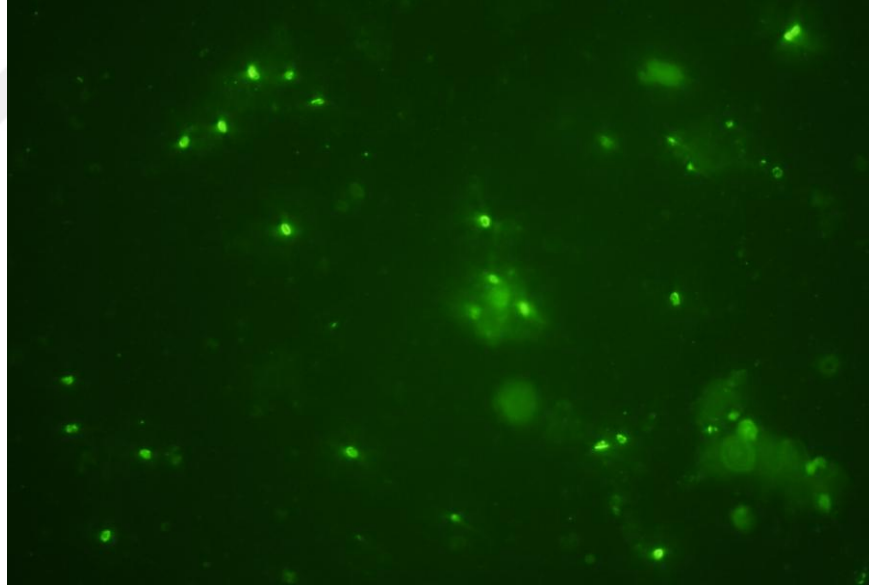
Gruplar		<i>Encephalitozoon intestinalis</i> 'in IFA Tekniği ile Grlme Durumu		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Hasta	S	84	16	100
	%	84,0	16,0	100,0
Kontrol	S	47	3	50
	%	94,0	6,0	100,0
Toplam	S	131	19	150
	%	87,3	12,7	100,0

$X^2=3,01$

$p=0,089$

$p>0,05$ nemsiz

Tablo 8 de görüldüğü gibi 100 kanserli bireyin 16'sında (%16,0) ve kontrol grubunu oluşturan 50 bireyden 3'nde (% 6,0) ise *E. intestinalis* saptanmış olup her iki gruptaki bireylerin IFA tekniği ile *E. intestinalis* görülme durumu açısından arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur ($p>0,05$). Buna rağmen hasta grubunda *E. intestinalis* pozitifliğinin daha fazla olduğu görülmektedir.



şekil 30. IFA-MAbs ile pozitif tespit edilen *E.intestinalis* sporları (x100)

Çalışmaya dahil edilen bireylerde yapılan anket sonucunda *Microsporidium* türlerinin görülmesi durumu ile düzenli el yıkama alışkanlığı ve içme sularında dezenfeksiyona verilen önemle ilgili yapılan karşılaştırma sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Tablo 9. MT boyama ile görülen *Microsporidium* pozitifliğinin kanser tipleri ile arasında yapılan karşılaştırması

Kanser tipleri		MT Boyama İle <i>Microsporidium</i> Pozitifliği		Toplam
		Negatif	Pozitif	
Akciğer	S	17	2	19
	%	89,5	10,5	100,0
Kolon	S	9	4	13
	%	69,2	30,8	100,0
Meme	S	24	5	29
	%	82,8	17,2	100,0
Prostat	S	3	0	3
	%	100,0	0,0	100,0
Mix	S	12	0	12
	%	100,0	0,0	100,0
Diğer	S	22	2	24
	%	91,7	8,3	100,0
Toplam	S	87	13	100
	%	87,0	13,0	100,0

$X^2=5,63$ $p=0,292$ $p>0,05$ önemsiz

Tablo 9'da görüldüğü gibi MT ile tespit edilen *Microsporidium* pozitifliğinin kanser tipleri ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 10. IFA tekniği ile pozitifliği saptanan *Enterocytozoon bieneusi*'nin kanser tipleri ile arasında yapılan karşılaştırması

Kanser Tipleri		IFA Tekniği ile <i>Enterocytozoon bieneusi</i> Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Akciğer	S	15	4	19
	%	78,9	21,1	100,0
Kolon	S	11	2	13
	%	84,6	15,4	100,0
Meme	S	23	6	29
	%	79,3	20,7	100,0
Prostat	S	3	0	3
	%	100,0	0,0	100,0
Mix	S	11	1	12
	%	91,7	8,3	100,0
Diğer	S	19	5	24
	%	79,2	20,8	100,0
Total	S	82	18	100
	%	82,0	18,0	100,0

$X^2=1,41$ $p=0,954$ $p>0,05$ önemsiz

Tablo 10’da görüldüğü gibi IFA tekniği ile tespit edilen *Enterocytozoon bieneusi* pozitifliğinin kanser tipleri ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 11. IFA Tekniği ile Pozitifliği saptanan *E. intestinalis*’in kanser tipleri ile arasında yapılan karşılaştırması

Kanser Tipleri		IFA Tekniği ile <i>Encephalitozoon intestinalis</i> Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Akciğer	S	16	3	19
	%	84,2	15,8	100,0
Kolon	S	11	2	13
	%	84,6	15,4	100,0
Meme	S	26	3	29
	%	89,7	10,3	100,0
Prostat	S	3	0	3
	%	100,0	0,0	100,0
Mix	S	12	0	12
	%	100,0	0,0	100,0
Diğer	S	16	8	24
	%	66,7	33,3	100,0
Total	S	84	16	100
	%	84,0	16,0	100,0

$X^2=7,41$

$p=0,155$

$p>0,05$ önemsiz

Tablo 11’de görüldüğü gibi IFA tekniği ile tespit edilen *Encephalitozoon intestinalis* pozitifliğinin kanser tipleri ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 12. MT boyama İle görülen *Microsporidium* pozitifliğinin hastalık süresi ile arasında yapılan karşılaştırması

Hastalık Süreleri		MT Boyama İle <i>Microsporidium</i> Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
1-3 yıl	S	63	10	73
	%	86,3	13,7	100,0
4-6 yıl	S	18	0	18
	%	100,0	0,0	100,0
7-9 yıl	S	4	3	7
	%	57,1	42,9	100,0
10 + yıl	S	2	0	2
	%	100,0	0,0	100,0
Toplam	S	87	13	100
	%	87,0	13,0	100,0

$X^2=7,39$ $p=0,041$ $p<0,05$ önemli

Tablo 12’de görüldüğü gibi MT ile tespit edilen *Microsporidium* pozitifliğinin hastalık süresi ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 13. IFA tekniği ile pozitifliği saptanan *Enterocytozoon bieneusi*’nin hastalık süresi ile arasında yapılan karşılaştırması

Hastalık Süreleri		IFA Tekniği ile <i>Enterocytozoon bieneusi</i> Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
1-3 yıl	S	61	12	73
	%	83,6	16,4	100,0
4-6 yıl	S	16	2	18
	%	88,9	11,1	100,0
7-9 yıl	S	4	3	7
	%	57,1	42,9	100,0
10 + yıl	S	1	1	2
	%	50,0	50,0	100,0
Toplam	S	82	18	100
	%	82,0	18,0	100,0

$X^2=5,10$ $p=0,124$ $p>0,05$ önemsiz

Tablo 13’de görüldüğü gibi IFA tekniği ile tespit edilen *Enterocytozoon bieneusi* pozitifliğinin hastalık süresi ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 14. IFA tekniği ile pozitifliği saptanan *Encephalitozoon intestinalis*’in kanser tipleri ile arasında yapılan karşılaştırması

Hastalık Süreleri		IFA Tekniği ile <i>Encephalitozoon intestinalis</i> Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
1-3 yıl	S	61	12	73
	%	83,6	16,4	100,0
4-6 yıl	S	15	3	18
	%	83,3	16,7	100,0
7-9 yıl	S	6	1	7
	%	85,7	14,3	100,0
10 + yıl	S	2	0	2
	%	100,0	0,0	100,0
Toplam	S	84	16	100
	%	84,0	16,0	100,0

$X^2=0,39$ $p=0,994$ $p>0,05$ önemsiz

Tablo 14’de görüldüğü gibi IFA tekniği ile tespit edilen *Encephalitozoon intestinalis* pozitifliğinin hastalık süresi ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 15. MT boyama ile görülen *Microsporidium* pozitifliğinin kan nakli olanlar ile arasında yapılan karşılaştırması

Kan Nakli Durumu		MT Boyama İle <i>Microsporidium</i> Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Kan nakli olanlar	S	29	2	31
	%	93,5	6,5	100,0
Kan nakli olmayanlar	S	58	11	69
	%	84,1	15,9	100,0
Toplam	S	87	13	100
	%	87,0	13,0	100,0

$X^2=1,70$ $p=0,192$ $p>0,05$ önemsiz

Tablo 15’de görüldüğü gibi MT ile tespit edilen *Microsporidium* pozitifliğinin kan nakli olanlar ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 16. IFA tekniği ile pozitifliği saptanan *Enterocytozoon bieneusi*’nin kan nakli olanlar ile arasında yapılan karşılaştırması

Kan Nakli Durumu		IFA Tekniği ile <i>Enterocytozoon bieneusi</i> Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Kan nakli olanlar	S	25	6	31
	%	80,6%	19,4%	100,0%
Kan nakli olmayanlar	S	57	12	69
	%	82,6%	17,4%	100,0%
Toplam	S	82	18	100
	%	82,0%	18,0%	100,0%

$X^2=0,05$ $p=0,813$ $p>0,05$ önemsiz

Tablo 16’da görüldüğü gibi IFA tekniği ile tespit edilen *Enterocytozoon bieneusi* pozitifliğinin kan nakli olanlar ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 17. IFA tekniği ile pozitifliği saptanan *Encephalitozoon intestinalis*’in kan nakli olanlar ile arasında yapılan karşılaştırması

Kan Nakli Durumu		IFA Tekniği ile <i>Enterocytozoon bieneusi</i> Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Kan nakli olanlar	S	27	4	31
	%	87,1	12,9	100,0%
Kan nakli olmayanlar	S	57	12	69
	%	82,6	17,4	100,0
Toplam	S	84	16	100
	%	84,0	16,0	100,0

$X^2=0,32$ $p=0,572$ $p>0,05$ önemsiz

Tablo 17’de görüldüğü gibi IFA tekniği ile tespit edilen *Encephalitozoon intestinalis* pozitifliğinin kan nakli olanlar ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

		Negatif	Pozitif	Toplam
Hasta	S	87	13	100
	%	87,0	13,0	100,0
Kontrol	S	94	6	100
	%	94,0	6,0	100,0
Toplam	S	181	19	200
	%	90,5	9,5	100,0

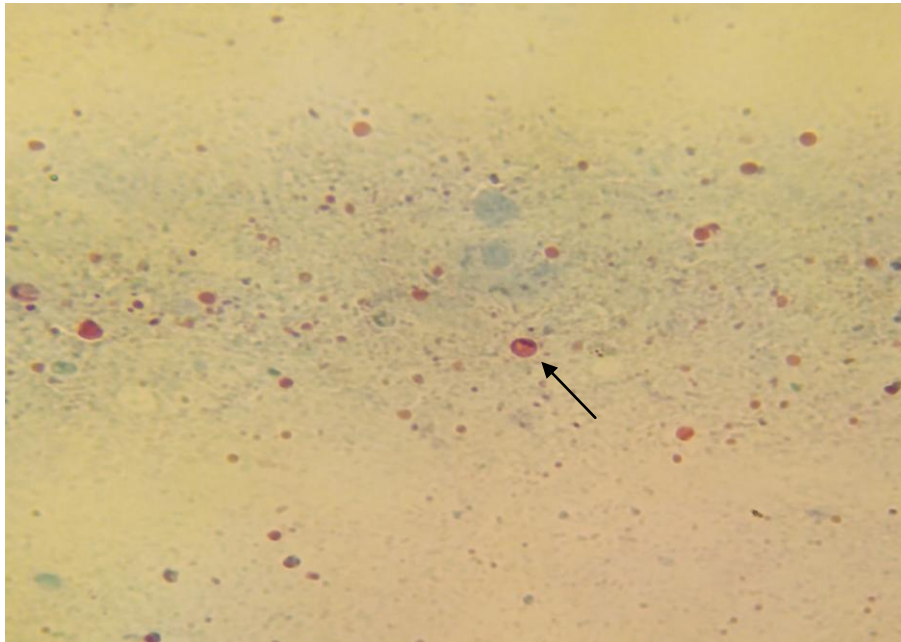
Çalışmada MT boyama yöntemi ile boyanmış preparatlar incelenirken *Cryptosporidium spp.* ve *Cyclospora spp.* türleri gözlemlenmiştir. Bu parazitlerin görülme durumları ve ışık mikrobundaki görüntüleri aşağıda verilmiştir.

$X^2=2,85$

$p=0,091$

$p>0,05$ önemsiz

Tablo 18. Kanserli hastalarla, Kontrol grubunun MT Boyama ile *Cryptosporidium* görülme durumu sonuçlarının dağılımı



Şekil 31. Modifiye trikrom boyama yöntemi ile tespit edilen *Cryptosporidium* spp.



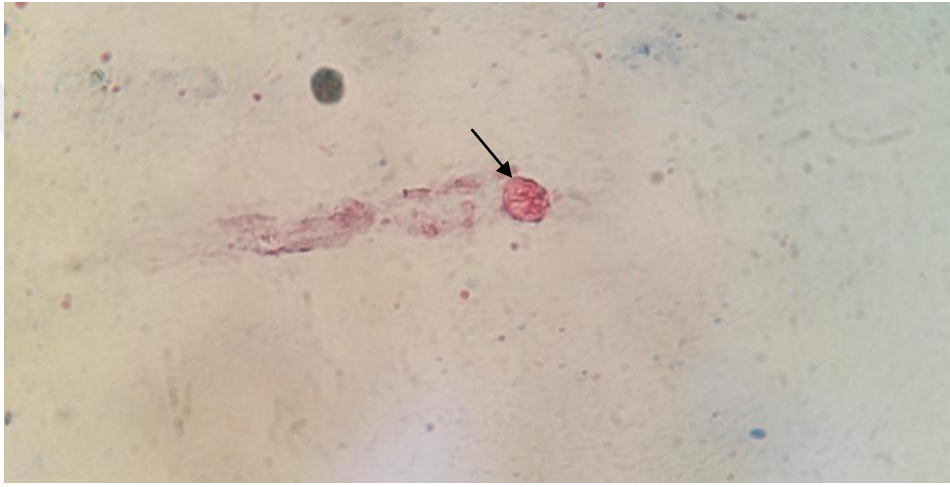
Tablo 19. Kanserli hastalarla, Kontrol grubunun MT Boyama ile *Cyclospora* görülme durumu sonuçlarının dağılımı

Gruplar		MT Boyama ile <i>Cyclospora</i> spp. Pozitifliği		
		Negatif	Pozitif	Toplam
Hasta	S	95	5	100
	%	95,0	5,0	100,0
Kontrol	S	97	3	100
	%	94,0	3,0	100,0
Toplam	S	192	8	200
	%	96,0	4,0	100,0

$X^2=0,52$

$p=0,470$

$p>0,05$ önemsiz



Şekil 32. Modifiye trikrom boyama yöntemi ile tespit edilen *Cyclospora* spp.

5.TARTIŞMA

Microsporidian parazitler zorunlu hücre içi parazittirler. Ökaryotik hücre olmalarına rağmen ökaryotlara ait bazı karakteristik özellikleri bulunmamaktadır. Klinik belirtiler enfeksiyonun yerleşim yeri ve konağın immün durumu ile bağlantılı olarak farklılık göstermektedir. İnsanlarda görülen Microsporidiosis önemli ve hızlı gelişen fırsatçı bir hastalıktır özellikle de AIDS’li immün baskın bireylerde daha ciddi seyretmektedir. *Microsporidia* ’ların tanısında ışık mikroskobu, TEM, IFA tekniği ve moleküler yöntemler gibi değişik metodlar kullanılabilir (Yazar ve ark., 2015).

Tür düzeyinde *Microsporidium*’ların saptanması tedavi için önemlidir. Mevcut tekniklerden, MT boyama yöntemi türler arasında ayırım yapamazken, PCR ise referans bir laboratuvar ve deneyimli teknik personel gerektirir. IFA testi, sık görülen *Microsporidium* türleri arasında ayırım yapabilen diğer bir tekniktir. Ancak, dünya genelinde bu tekniğin etkinliği konusunda yapılmış çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu nedenle çalışmamızda, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesinde kemoterapi alan kanserli hastalarda ve sağlık sorunu olmayan bireylerde *Microsporidium* türlerinin tanısında kullanılan modifiye trikrom boyama yöntemi ile ve en yaygın türleri olan *E. bienewisi* ve *E. intestinalis* varlığı IFA tekniği ile araştırıldı. İmmün sistemi baskılanmış bireyler olarak kemoterapi alan 100 hastadan MT boyama kullanılarak 13’ünde (%13,0) *Microsporidium* spp. görülürken kontrol grubunda bulunan 100 bireyde ise 5’inde (%5,0) pozitiflik gözlemlenmiş olup aralarındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). IFA testi ile 100 kanserli bireyin 18’inde (%18,0), kontrol grubunu oluşturan 50 bireyden ise 6’sında (%12,0) *E. bienewisi* pozitifliği saptanmış olup her iki gruptaki bireylerin IFA tekniği ile *E. bienewisi* inceleme sonucunda farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca 100 kanserli bireyin 16’sında (%16,0) ve kontrol grubunu oluşturan 50 bireyden 3’ünde (% 6,0) ise *E. intestinalis* saptanmış olup her iki gruptaki bireylerin IFA tekniği ile *E. intestinalis* inceleme sonucunda farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0,05$). Buna rağmen, hasta grubunda *E. bienewisi* ve *E. intestinalis* pozitifliğinin daha fazla olduğu görülmektedir. Çalışmaya alınan kanser hastaları başlıca; akciğer, kolon, meme, prostat kanserlerinden oluşmaktaydı. Hasta grubunu 46 kadın (%46,0), 54 (%54,0) erkek birey oluşturmaktadır. Aynı hasta grubunun yaş durumları değerlendirildiğinde 22 ile 82 değerleri arasında olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmaya alınan 100 kanserli hastanın meslek durumları

değerlendirildiğinde 40'nın ev hanımı, 5'inin işçi, 3'ünün memur, 11'inin serbest meslek, 41'inin ise emekli olduğu saptanmıştır. Hastalarımızın 31'ine kan nakli yapılırken, hiçbirisine organ nakli yapılmadığı belirlenmiştir. Hastaların kanser tanısı aldıkları süre farklılık göstermekle birlikte, hastalık süreleri 1-6 yıl arasında olanlar çoğunluğu oluşturmaktadır ve MT ile tespit edilen *Microsporidium* pozitifliğinin hastalık süresi ile kıyaslaması yapıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Ghoshal ve arkadaşları 200 immün baskın bireyden (MT boyama kullanılarak 19 *Microsporidium*'lu ve 181 *Microsporidium*'suz) alınan dışkı numunelerini PCR-RFLP ve IFA teknikleri ile türlerin saptanması için test etmişlerdir. Duyarlılık, özgüllük, tanısal doğruluk, pozitif ve negatif prediktif değerler standart formüller kullanılarak hesaplamışlar ve üç test arasındaki uyumu değerlendirmek için Kappa istatistikleri kullanmışlardır. 200 immün baskın bireyde PCR ve IFA yöntemleri ile sırasıyla 21 ve 20 hastada *Microsporidium* saptamışlardır. IFA testi ve PCR, *Microsporidium*'larla enfekte tüm hastalarda *E. bienersi* türünü saptamışlardır. MT boyama altın standart olarak düşünüldüğünde IFA yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %100 ve %99.4 olarak tespit etmişler. PCR altın standart olarak düşünüldüğünde ise IFA yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %100 ve %95.2 olarak bulmuşlardır. MT boyama ve PCR ile yüksek test uyumunun yanısıra IFA yönteminin tanısal doğruluğu %99.5 çıkmıştır. Sonuç olarak, türlere özgü monoklonal antikora dayalı immünofloresan antikor tekniğini, son derece duyarlı ve özgül bir teknik olduğunu çalışmalarında belirlemişler ve *E. bienersi*, IFA tekniği kullanılarak saptanan en yaygın tür olarak saptamışlardır. Tür düzeyinde *Microsporidium*'ların saptanmasının, enfekte hastalara uygun tedavinin verilmesi açısından zorunlu olduğunu ve bu nedenle klinik laboratuvarında, immün baskın bireylerde enfekte eden en yaygın *Microsporidium* türlerinin saptanmasında ve aralarında ayırım yapılmasında IFA tekniğine yer verilmesi gerektiğini savunmuşlardır (Ghoshal ve ark., 2016).

Türk ve arkadaşları Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran ishalleri hastalardan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilen dışkı örneklerinde üç farklı boyama yöntemi kullanarak *Microsporidia* sıklığını araştırmış ve bu yöntemlerin karşılaştırmasını

yapmışlardır. Çalışmada, 225 ishali hastaya ait dışkı örnekleri MT, CF, ve AO yöntemleriyle boyanarak *Microsporidia* açısından incelemiştir. Araştırmada, ishali hastaların %9.8 (22/225)'inde *Microsporidia* varlığı saptanmış; bu oranın çocuk yaş grubunda %9.5 (8/84), erişkinlerde %9.9 (14/141) olduğu belirlenmiştir. Erişkin-çocuk yaş grupları ve kadın-erkek cinsiyetleri arasında *Microsporidia* görülmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Boyama yöntemlerinin karşılaştırmasında MTS yöntemi referans alındığında, AO yönteminin duyarlılık, özgüllük ve tutarlılık oranları sırasıyla %100, %91.6 ve %92 olarak saptanmış; bu değerler CF yöntemi için sırasıyla %95.4, %99.5 ve %99.1 olarak belirlenmiştir. CF boyama ile MTS arasında çok güçlü ve anlamlı bir korelasyon saptanırken, AO ile korelasyon güçlü ve anlamlı olarak izlenmiştir. AO yönteminde boyalı preparatın zemininin de turuncu renge boyanması ve boya artıklarının ortamda yoğun bulunması yorumlamada güçlü oluşturmuş, hızlı ve pratik bir yöntem olmasına rağmen pozitif prediktif değeri düşük (%56.4) olarak saptanmıştır. Çalışmalarında, ishali olguların dışkı örneklerinin *Microsporidia* açısından da araştırılması gerektiği kanısına varmışlar ve rutin laboratuvarlarda MTS yöntemiyle birlikte CF boyama yönteminin kullanılmasının, *Microsporidia* tanısında duyarlılığı ve güvenilirliği artıracaklarını düşünmektedirler (Türk ve ark., 2010).

Microsporidiosis'in insanlardaki prevalansı ile ilgili yapılan çalışma sayısı ülkemizde oldukça azdır. Karaman ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada kanser tanısı almış hastalarda *Microsporidium* spp.'nin prevalansının belirlenmesi amaçlanmış olup 320 hastadan alınan dışkı örnekleri nativ-lugol, sedimentasyon yöntemleriyle incelenmiş ve modifiye trikrom, kalkoflor boyaları ile de değerlendirilmiştir. Kanser tanısı almamış 320 hasta ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada hasta grubunda %10,9, kontrol grubunda ise %5,6 oranında *Microsporidium*'a rastlanılmıştır. Kontrol ve hasta grubunun karşılaştırılmasında *Microsporidium* görülmesi bakımından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Karaman ve ark., 2008)

Alfa ve arkadaşlarının yaptığı iki aylık çalışma sürecinde *E. bienensis*, *E. intestinalis* için spesifik monoklonal probler kullanılarak IFA testi

uygulamışlardır. HIV'li 61 erişkin birey ve 71 sağlıklı çocuğu çalışmalarına dahil etmişler. Dışkılarını inceledikleri HIV ile enfekte olan 61 bireyin 8'inde (%13,1) *Microsporidia* saptamışlardır. Tek bir tür olarak *E. bienewsi* tespit etmişlerdir. 71 sağlıklı çocukta ise *Microsporidia*'ya rastlamamışlardır. Altın standart IFAT duyarlılığı ve özgünlüğü olarak kullanılan PCR, ile karşılaştırıldığında %100 olarak belirlemişler. Ayrıca, IFAT ile türlerin tanımlanmasının PCR'dan daha hızlı ve ucuz olduğunu savunmuşlardır. Bu sonuçlarına dayanarak, gelişmekte olan ülkelerde *Microsporidia* saptaması için IFAT'ın uygun olduğunu ileri sürmüşlerdir (Alfa Cisse ve ark., 2002). Ancak Massachusetts'de yapılan başka bir çalışmada sırasıyla primer ve sekonder PCR referans standart alınarak IFA tekniğinin duyarlılığı %87, ancak özgüllüğü %100 olarak bildirilmiştir (Singh ve ark., 2005).

Malezya'da Al-Mekhlafi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Microsporidian sporları için önce Weberin modifiye trikrom ile boyama yapmışlar ve boyanan 50 pozitif 50 negatif dışkı örneklerinde IFA-MAb kullanarak inceleme yapmışlardır. İnceledikleri 100 örnekten IFA-mAb tarafından tanımlanan Mikrosporidial sporlar için *E. bienewsi* 42 (% 75), *E. intestinalis* 7 (% 12,5) ve 7 (% 12,5) si karışık enfeksiyonlar olarak saptamışlar ve *Microsporidium* sporlarının saptanmasında IFA tekniğinin duyarlılığının daha yüksek (%98), ancak özgüllüğü daha düşük (%86) bildirilmiştir (Al-Mekhlafi ve arkadaşları, 2011).

Matos ve arkadaşlarının Portekiz'de yaptıkları bir çalışmada IFA tekniği immün yetmezlik sendromu (AIDS) hastalarının dışkılarında *Microsporidium*'ların sporlarının saptanmasında mükemmel bir duyarlılık gösterdiğini açıklayarak, aynı numuneler üzerindeki MT boyamasının sonuçlarıyla daha büyük korelasyonlara sahip olduğunu belirtmişlerdir (Matos ve ark., 2002).

Bu ve benzeri çalışmalara dayanarak son derece duyarlı ve özgül monoklonal antikor bazlı IFA testi klinik laboratuvarlarda *Microsporidium* sporlarının saptanması için umut verici bir teknik olabilir.

Son zamanlarda Çetinkaya ve arkadaşları IFA yöntemiyle kemik iliği nakli yapılan hastalarda *E. intestinalis* (%25.5), *E. bienewsi* (%4) ve karma enfeksiyon (%9.5) saptamışlardır (Çetinkaya ve ark., 2015).

Hamamcı ve arkadaşları IFA yöntemiyle kemoterapi görmekte olan kanser hastaları üzerinde yapılan başka bir çalışmada hastaların %46.2'sinde *E. intestinalis*, %9.7'sinde *E. bienersi* saptamışlardır (Hamamcı ve ark., 2015).

Şıvgın ve arkadaşlarının sundukları olguda önceden akut myelomonositik lösemi (M4) tanısı almış 50 yaşındaki erkek hastada Temmuz 2009'da allojenik hematopoietik kök hücre nakli yapılmış ve nakil öncesi dönemde, tam kan sayımı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, koagülasyon parametreleri ve diğer ölçümler normal bulunmuş. Naklin 14. gününde karında huzursuzluk, bulantı ve yorgunluk gibi şikayetlerle birlikte sulu diare ortaya çıkmış. Dışkı incelemesinde kanama bulgusu olmayan hastada, tür-özgün IFA metodu ile nadir bir patojen olan *E.intestinalis* saptamışlardır (Şıvgın ve ark., 2013). Böylelikle, IFA tekniğinde kullanılan türlere özgü monoklonal antikolar, immün baskın bireyleri enfekte eden yaygın *Microsporidium* türlerini saptamaktadır. IFA tekniği *Microsporidium* türlerini yaklaşık olarak 2 saat 30 dakikada saptamakta olup, PCR'ye (yaklaşık 5 saat) kıyasla daha az zaman almaktadır. Ayrıca PCR'ye dayalı tanı referans laboratuvar, teknik uzmanlık ve standardizasyon gerektirmektedir. Buna karşılık IFA tekniği ise kite dayalı bir saptama yöntemi olup, spor duvarının parlak floresanı eğitilmiş olmayan gözler için bile saptamayı kolaylaştırır (Accoceberry ve ark., 1999). Monoklonal antikolar son derece türe özgü olup, bu durum diğer türler, patojenler ve fekal debrisle çapraz reaksiyon olasılığını ortadan kaldırır. Bu nedenle IFA tekniği, enfekte hastalara uygun tedavinin uygulanmasını kolaylaştırabilecek potansiyel bir tür saptama tekniği olabilir.

Sonuç olarak, yapılan çalışmalar gereğince türlere özgü monoklonal antikora dayalı immünofloresan antikor tekniği, son derece duyarlı ve özgül bir tekniktir. *E. bienersi*, IFA tekniği kullanılarak saptanan en yaygın tür olmuştur. Tür düzeyinde *Microsporidium*'ların saptanması, enfekte hastalara uygun tedavinin verilmesi açısından zorunludur. Bu nedenle klinik laboratuvarında, immünokompromize hastaları enfekte eden en yaygın *Microsporidium* türlerinin saptanmasında ve aralarında ayırım yapılmasında IFA tekniğine yer verilebilir.

Bu çalışma ile Sivas ilinde *Microsporidium* türlerinin kanser hastalarında prevalansı ilk kez belirlenmiş olup dünya ve ülke literatürüne katkı sağlaması umut edilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abe N, Kimata I, Iseki M. (2009). Molecular evidence of *Enterocytozoon bieneusi* in Japan. *J Vet Med Sci.*, 71:217-219.
- Accoceberry I, Thellier M, Desportes-Livage I, Achbarou A, Biligui S, Danis M, Datry A (1999). Production of monoclonal antibodies directed against the microsporidium *Enterocytozoon bieneusi*. *J Clin Microbiol*, 37(12):4107–4112
- Alfa Cisse O, Ouattara A, Thellier M, Accoceberry I, Biligui S, Minta D, Doumbo O, Desportes-Livage I, Thera MA, Danis M, Datry A (2002). Evaluation of an immunofluorescent antibody test using monoclonal antibodies directed against *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon intestinalis* for diagnosis of intestinal microsporidiosis in Bamako (Mali). *J Clin Microbiol*, 40(5):1715–1718
- Alfa Cisse O, Ouattara A, Thellier M, Accoceberry I, Biligui S, Minta D, Doumbo O, Desportes-Livage I, Thera MA, Danis M, Datry A. (2002). Evaluation of an immunofluorescent-antibody test using monoclonal antibodies directed against *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon intestinalis* for diagnosis of intestinal microsporidiosis in Bamako (Mali). *J Clin Microbiol*, 40:1715-1718.
- Al-Mekhlafi MA, Fatmah MS, Anisah N, Azlin M, Al-Mekhlafi HM, Norhayati M (2011). Species identification of intestinal microsporidia using immunofluorescence antibody assays. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 42(1):19–24
- Aksoy Ü, Usluca S. Microsporidiosis ve immünolojisi. Özcel MA, İnci A, Tugay N, Köroğlu E (ed), *Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji*. Meta Basım, İzmir. 2007;102-120
- Aston N, Wirashina PA. (1973). *Encephalitozoonosis* (nosematosis) of the cornea. *Br J Ophthalmol*, 57: 669-74.
- Bergquist R, Morfeldt-Mansson L, Pehrson PO, Petrini B, Wasserman J. (1984). Antibody against *Encephalitozoon cuniculi* in Swedish homosexual men. *Scand J Infect Dis.*, 1984;16:389-391.
- Birthing K, Moore P, Hay P. (1996). Microsporidia: a new sexually transmissible cause of urethritis. *Genitourinary medicine*, 72:445.
- Bryan RT, Schwartz DA, Weber R. (1997). Microsporidiosis in patients who are not infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*, 24:534-535.
- Büget E, Büyükbaba Boral Ö, Kırkoyun Uysal H, Nazlıcan Ö, Ögüt T, Şengür G. (2000). Türkiye’de bir AIDS hastasında ilk Mikrosporidiaz ve solunum sistemi tutan ilk Kriptosporidiaz olgusu. *Türk Mikrobiyol Cem Dergisi*, 30: 166-70.
- Cali A, Kotler DP, Orenstein JM. (1993). *Septata intestinalis*, n. g., n. Sp., an intestinal microsporidian associated with chronic diarrhea and dissemination in AIDS patients. *J Eukaryot Microbiol*, 40:101-112.
- Cali A, Meisler DM, Lowder CY, Lembal L, Ayers L, Takvorian PM, Rutherford I, Long-worth DL, McMahon J, Bryan RT. (1991). Corneal microsporidiosis: characterization and identification. *J. Protozool*, 38: 215-7.

- Cali A, Weiss LM, Takvorian PM. (2005). A review of the development of who two types of human skeletal muscle infections from microsporidia associated with pathology in invertebrates and cold-blooded vertebrates. *Folia Parasitol*, 52(1-2): 21-61.
- Cannings EU, Hollister WS. (1987). Mikrosporidia of mammals-widespread pathogenes or opportunistic curiosities? *Parasitol. Tuda*, 9:267-73.
- Cetinkaya U, Hamamci B, Kaynar L, Kuk S, Sahin I, Yazar S (2015). Investigation of the presence of *Encephalitozoon intestinalis* and *Enterocytozoon bieneusi* in bone marrow transplant patients by IFA-MAbs method. *Mikrobiyol Bul.*, 49(3):432-438.
- Chioralia G, Trammer T, Kampen H, Seitz H. (1998). Relevant criteria for detecting microspordia in stool specimens *J Clin Microbiol*, 36 (8), 2279-83.
- Chup GL, Alroy J, Adelman LS, Bren JC, Skolnik PR. (1993). Myositis due to *Pleistophora* (microsporidia) in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis.*, 16:15.
- Curry A, Beeching NJ, Gilbert JD, Scott G, Rowaland PL, Currie BJ. (2005). *Trachipleistophora hominis* infection in the myocardium and skeletal muscle of a patient with AIDS. *J Infect*, 51: 139-44.
- Curry A. Microsporidiosis. In: Cox FEG, Wakelin D, Gillespie SH, Despommier DD (eds). *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections; Parasitology*. 10 nd edn. ASM pres, Washington, D.C. 2005;529-555.
- DeGirolami PC, Ezratty CR, Desai G, McCullough A, Asmuth D, Wanke C, Federman M. (1995). Diagnosis of intestinal microsporidiosis by examination of stool and duodenal aspirate with Weber's modified trichrome and Uvitex 2B strains. *J Clin Microbiol.*, 33:805-810
- Desportes-Livage I, Le Charpentier Y, Galian A, Bernard F, Cochand-priollet B, Lavergne A, Ravisse P, Modiglian R. (1985). Occurrence of a new microsporidian: *Enterocytozoon bieneusi* ng, nsp, in the enterocytes of a human patient with AIDS. *J Parasitol*, 32: 250-4.
- Didier Es, Stowall ME, Green LC, Brindley PJ. (2004). Et. al.: Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission. *Veter Parasitol.*, 126,145-166.
- Didier ES (2005). Microsporidiosis: an emerging and opportunistic infection in humans and animals. *Acta Trop*, 94: 61-76.
- Franzen C. (2004). Microsporidia: how can they invade other cells? *Trends in Parasitology*, 20(6), 275-279.
- Galvan AL, Sanchez AM, Valentin MA, Henriques-Gil N, Izquierdo F, Fenoy S, del Aguila C. (2011). First cases of microsporidiosis in transplant recipients in Spain and review of the literature. *J Clin Microbiol.*, 49:1301-1306.
- Garcia LS. (2007). *Diagnostic Medical Parasitology*. Fifth Edition. ASM Press, Washington, USA, 33-46.
- Garcia LS. (2002). Laboratory identification of the microsporidia. *J Clin Microbiol.*, 40:1892-1901.

Ghoshal U., Khanduja S., Pant P., Ghosha U.C (2016). Evaluation of Immunofluorescence antibody assay for the detection of *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon intestinalis*, 115:3709–3713.

Grob U. (2003). Treatment of microsporidiosis including albendazole. *Parasitol. Res.*, 90:1418.

Hamamci B, Cetinkaya U, Berk V, Kaynar L, Kuk S, Yazar S (2015). Prevalence of *Encephalitozoon intestinalis* and *Enterocytozoon bieneusi* in cancer patients under chemotherapy. *Mikrobiyol Bul*, 49(1):105–113.

Hewan-Love K, Furlong B, Sim M. (1997). Co-infection with *Giardia lamblia* and *Enterocytozoon bieneusi* in a patient with AIDS and Chronic Diarrhes. *Arch Pathol Lab Med*, 121:417-22.

Joseph, Sridhar MS, Murthy S, Sharma S. (2006). Clinical and microbiological profile of microsporidia Ikeratoconjunctivitis in southern India. *Ophthalmology*, 1113(4):531-7.

Joseph J, Vemuganti GK, Sharma S. (2005). Microsporidia: emerging ocular pathogens. *Indian J Med Microbiol.*, 23:80-91.

Karaca Ö, Rota S. (1996). İnsan microsporidial infeksiyonları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.*, 26:142-150.

Karaman Ü. (2007). İnsanlarda microsporidia'ların epidemiyolojisi (malatya ili örneği), doktora tezi, Malatya.

Karaman Ü, Atambay M, Daldal N, Çolak C. (2008). Kanser Tanısı Almış Hastalarda *Microsporidium* Görülme Sıklığı. *Türkiye Parazitol Derg.*, 32:109-112.

Korkmaz, M., Ok, Ü. (2011). Parazitolojide Laboratuvar. *Türkiye Parazitoloji Derneği*, 23: 365-368.

Keeling PJ, Fast NM. (2002). Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Ann Rev Microbiol.*, 56: 93–116.

Keohane EM, Weiss LM. (1999). The structure, function, and composition of the microsporidian polar tube. In: M. Wittner and L.M. Weiss (Eds.), *The Microsporidia and Microsporidiosis*. AMS Press, Washington, D.C., 196–224.

Magarinos Torres C (1927). Adffinites de l'Encephalitozoon chagasi, agent etilogique d'une menigo-encephalomyelite congenitale avec myocardite e myosite chez l'homme. *Comptes reudus des seances de le-a Soiciete de Biologie*, 1787-1789.

Matos O, Lobo ML, Goncalves L, Antunes F (2002). Diagnostic use of 3 techniques for identification of microsporidian spores among AIDS patients in Portugal. *Scand J Infect Dis.*, 34(8):591–593.

Matsubayashi H. Koike T, Mikata T, Hagiwara S. (1959). A case of *Encephalitozoon* like body infection in man. *Arch Pathol*, 67:181-7.

<http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Microsporidiosis.htm>

- Franzen C, Müller A. (1999). Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia. *Clin Microbiol Rev.*, 12:243-85.
- Orenstein JM. (1991). Microsporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *J Protozool.*, 77:843-864.
- Özcel, M. A., Özbel, Y., Ak, M. (2007). Özcel'in tıbbi parazit hastalıkları, *Türkiye Parazitoloji Derneği*, 22:397-409.
- Reisner BS, Spring J. (2000). Evaluation of combined Acid-Fast-trichrome stain for detection of microsporidia and *Cryptosporidium parvum*. *Arch Pathol Lab Med.*, 124:777-779.
- Sak B, Brady D, Pelikanova M, Kvetonova D, Rost M, Kostka M, Tolarova V, Huzova Z, Kvac M. (2011). Unapparent microsporidial infection among immunocompetent humans in the Czech Republic. *J Clin Microbiol.*, 49:1064-1070.
- Singh I, Sheoran AS, Zhang Q, Carville A, Tzipori S (2005). Sensitivity and specificity of a monoclonal antibody-based fluorescence assay for detecting *Enterocytozoon bieneusi* spores in feces of simian immunodeficiency virus-infected macaques. *Clin Diagn Lab Immunol.*, 12(10):1141–1144.
- Sprague V, Becnel JJ, Hazard EI. (1992). Taxonomy of phylum Microsporidia. *Crit Rev Microbiol*, 18, 285-395.
- Schotellius J, Gonçalves da Costa SC. (2000). Microsporidia and acquired immunodeficiency syndrome. *Inst. Oswaldo. Cruz, Rio de Janeiro*, 95:133-9.
- Schwartz DA, Bryan RT, Hewan-Lowe KW, Visvesvara GS, Weber R, Cali A, Angritt P. Disseminated microsporidiosis and acquired immunodeficiency syndrome: autopsy evidence for respiratory acquisition. *Arch Pathol Lab Med*, 116: 660-8,1992
- Şıvgın S, Eser B, Kaynar L, Kurnaz F, Şıvgın H, Yazar S, Çetin M, Ünal A. (2013). Allojenik Hematopoietik Kök Hücre Nakli Alıcısında Albendazol Tedavisi Sırasında Gelişen Hepatotoksisite ile Komplike Olmuş Nadir Bir Diare Etkeni: *Encephalitozoon Intestinalis* *Türk J Haematol.*, 30(2):204–208.
- Tumwine JK, Kekitiinwa A, Nabukeera N, Akiyoshi DE, Buckholt MA, Tzipori S. (2002). *Enterocytozoon bieneusi* among children with diarrhea attending Mulago Hospital in Uganda. *Am J Trop Med Hyg.*, 67:299-303.
- Türk S., Doğurman Al F., Karaman Ü., Kuştimur S. (2012). İshalli Olgularda *Microsporidia* Sıklığının Farklı Boyama Yöntemleriyle Araştırılması, 46(1):85-92.
- Vangool T, Luderhoof E, Nathoo KJ. (1995). High prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* infections among HIV-positive individuals with persistent diarrhea in Harare, Zimbabwe. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 89:478-80.
- Vavra J, Larsson JTR. (1999). Structure of the microsporidia. In: *The Microsporidia and Microsporidiosis*. Withern and Weiss (eds), American Society for Microbiol, Washington DC, 7-84.

Weber R., Bryan RT, Schwartz DA, Owen RL. (1994). Human Microsporidial infections. *Clin Microbiol Rev.*, 7(4), 426-61.

Weber R, Kuster H, Visvesvara GS, Bryan RT, Schwartz DA, Luethy R. (1993). Disseminated microsporidiosis due to *E. hellem*: pulmonary colonization, microhematuria, and mild conjunctivitis in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis*, 17:415-19.

Wittern M, Weiss LM (1999). *The Microsporidia and Microsporidiosis*. American Society for Microbiol, Washington DC, 1-55.

Yaman M., Algi G., Güner B. G. (2015). Microsporidia Karakterizasyonunda Morfolojik ve Ultrastrüktürel Özellikler *Turkiye Parazitol Derg.*, 39:52-9.

Yazar S, Eser B, Yalcin S, Sahin I, Koc AN. (2003). A case of pulmonary Microsporidiasis in a acute myeloblastic leukemia (AML)- M3 patient. *Yonsei Med J*, 44(1):146-9.

Yazar S, Kuru O, Hamamcı B, Cetinkaya U, Karaman U, Kuk S. (2013). Microsporidia and microsporidiosis. *Turkiye Parazitol Dergisi*, 37:123-134.

Yazar S., Kuru Ö., Hamamcı B., Çetinkaya Ü., Karaman Ü., Kuk S. (2015). Mikrosporidialar ve Mikrosporidiyozis. *Turkiye Parazitoloji Dergisi*, 39:52-9.

EK 1

ANKET FORMU

KANSER TEDAVİSİ ALAN HASTALARDA *MİKROSPORİDİUM SPP.*

Bu araştırma; Kanser tedavisi alan hastalarda *Microsporidium spp.*'nin sıklığını belirlemek amacıyla yapılmaktadır. Anket sorularına vereceğiniz cevaplar durumun tam olarak ortaya konulmasına katkı verecektir. Görüşlerinizi bizimle paylaştığınız için teşekkür ederiz.

1. Yaş
2. Cinsiyet Kadın () Erkek ()
3. Mesleğinizi belirtir misiniz?

Ev Hanımı() İşçi() Memur() Serbest Meslek () Emekli() Diğer()

4. Medeni durumunuz nedir? Evli () Bekar ()

5. Düzenli el yıkama alışkanlığınız var mı? Evet () Hayır ()

6. İçme sularında dezenfeksiyona önem veriyor musunuz? Evet () Hayır ()

7. Size organ nakli yapıldı mı? Evet () Hayır ()

8. Cevabınız evet ise hangi organ nakli olduğunuzu ve zamanını belirtir misiniz?

.....
.....

9. Size kan nakli yapıldı mı? Evet () Hayır ()

10. Cevabınız evet ise ne zaman kan/kan ürünü nakli olduğunuzu belirtir misiniz?

.....
.....

11.Kanser tipiniz nedir?

.....
.....

12.Hastalık süreniz nedir?

.....
.....



KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kanser Hastalarında IFAT Yöntemi İle Microsporidium spp.'nin Sağlıkta Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ	Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fakültesi Ek Derslik Binası (Acil Karşısı), Klinik Araştırmalar Etik Kurulu TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 258 00 25
	FAXS	0 346 258 00 24
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Serpil Değerli			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Parazitoloji Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	VARSA İDARE SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alabilir)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözetimsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input checked="" type="checkbox"/>				
Dijer ise belirtiniz:					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Çalınkin
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, başkanın yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kanser Hastalarında IFAT Yöntemi İle <i>Microsporidium</i> spp.'nin Sıklığını Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Yerleşim Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLAR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DİĞER İZLENİLEN BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRMELERİ	<input type="checkbox"/>				
	Diğer:	<input type="checkbox"/>				
KARAR BELGELERİ	Karar No: 2015-0802	Tarih: 20.08.2015				
	Yakında bilgileri verilen katılımcıların ile ilgili belgeleri araştırması/uygulanması gerekli, uygun, yapılabilecek ve yönetilebilir olduğu düşünülmüş ve uygun bulunmuş olup araştırması/uygulanması hakkında olumsuzluk bildirilen durumlarda gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ilişkin karar etik kurul toplantısında kabul edilmiştir.					
Bağ ve Biyolojik Örneklerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yürürlükte bulunan yönetmelikler için Türkiye Sağlık ve Tıbbi Araştırma Kurumu'nun ilgili alanlarına gönderilmiştir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Bağ ve Biyolojik Örneklerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yürürlükte bulunan Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI/ ADI/ SOYADI:	Prof. Dr. Emin Yener Gültekin

Unvanı/Adı/Soyadı	Ünvanlık Alan	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlgili		Katılım *	İmza	
Prof. Dr. Emin Yener Gültekin	Onkoloji	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Karapınar Karadağ	Genel Cerrahi	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hülya Tokur	Patolojoloji	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Doç. Dr. Ayşe Demirelhan Çınarlar	Biyofizik	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayman Engin	Enfeksiyon Hastalıkları	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fatih Bolat	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Yrd. Doç. Dr. Zeynep Çınar	Biyostatistik	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Top. Tıp ve Etik	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altan	Tıbbi Farmakoloji	Çankırıyağzı Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:

Not: Etik raporu başkaları, imzalarını yer almış olduğu her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kanser Hastalarında IFAT Yöntemi İle Aficroparilum spp.'nin Sıklığının Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Yrd. Doç. Dr. Ali Şahin	Ramazanlı	Çankaya Hastanesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>Ali Şahin</i>
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Adil İskender	Sivas Halk Sağlığı Müdürlüğü	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>Levent Sağlam</i>
Uzm. Dr. İlhamiyin Seygin	Özkoç	Sivas Devlet Hastanesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>İlhamiyin Seygin</i>
Çğr. Gör. Engin Dağlı	Arslan	Çankaya Hastanesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>Engin Dağlı</i>
Öğret. M. Ali Avcı	Sivas Öğretmeni	Sivas Akademi Hastanesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>M. Ali Avcı</i>

*Tezlerinde Bulunmaz



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı Derya Gül SAĞCI
Doğum Yeri ve Tarihi Sivas-1991
Medeni Hali Bekar
Yabancı Dil İngilizce
İletişim Adresi Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, 58140-Sivas
E-posta Adresi deryagulsagci@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise Sivas Lisesi, 2009
Lisans Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2014
Yüksek Lisans Cumhuriyet Üniversitesi Parazitoloji Anabilim Dalı, 2017
Cumhuriyet Üniversitesi İş Sağlığı ve Güvenliği Tezsiz Yüksek Lisans, 2015
Ünvan Biyolog

Staj

Sivas numune hastahanesi laboratuvarlarında 40 iş günü, 7/06/2011-19/08/2011

Kurs ve Sertifika Bildirisi

Milli Eğitim Bakanlığı Çıraklık ve Yaygın Eğitim Genel Müdürlüğü Diksiyon Kursu, 2010

Hitit Üniversitesi Tıbbi ve Veteriner Önemi Olan Eklembacaklılar Eğitimi, 2014

Microsoft Geleceğini Tasarla Programı Temel Bilgisayar Okuryazarlığı ve Office Programları Eğitim Belgesi, 2014

Gazi Üniversitesi - 1st International Blastocystis Symposium, 2015

İş Sağlığı ve Güvenliği Paneli, 2015

Mevlana Değişim Programı-Uluslararası Saraybosna Üniversitesi, 2015-2016.