



Mikrosporidialar ve Mikrosporidiosis

Microsporidia and Microsporidiosis

Süleyman Yazar¹, Özgür Kuru², Berna Hamamcı¹, Ülfet Çetinkaya¹, Ülkü Karaman³, Salih Kuk¹

¹Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

²Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Parazitoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Ordu Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu, Hemşirelik Bölümü, Ordu, Türkiye

ÖZET

Mikrosporidialar, zorunlu hücre içi parazitlerdir ve konak hücresi dışında metabolik aktivasyon göstermemektedirler. Ökaryotik hücrelerdir, fakat bazı tipik ökaryotik özellikler eksiktir. Şimdiye kadar tanımlanmış 144 cins içinde 1200'den fazla türü vardır. Mikrosporidiaların en çok bilinen evresi küçük ve oldukça dirençli olan sporlarıdır. Boyutları türe göre farklılık gösterir ama genellikle 1-10 µm arasındadır. Mikrosporidiaların hayatları üç fazda incelenebilir; enfektif veya çevresel faz, proliferatif veya üreme fazı ve sporogonik faz. Mikrosporidiaların tanısında ışık mikroskobu, Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM), İmmüno Floresan tekniği (IFA) ve Moleküler yöntemler gibi değişik metotlar kullanılmaktadır. Klinik semptomlar, enfeksiyonun lokalizasyonu ve konağın immün durumu ile yakından ilişkilidir. İnsanlarda görülen mikrosporidiosis önemli ve hızlı gelişen fırsatçı bir hastalıktır özellikle de AIDS'li immunocompromise hastalarda daha ciddi seyretmektedir. Mikrosporidiosis'in tedavisi genellikle ilaç ve destek tedavi ile sağlanmaktadır. Enfeksiyona ve türüne bağlı olarak farklı ilaçlar kullanılmaktadır. Tedavide en yaygın olarak albendazol ve fumagilin kullanıldığı belirtilmektedir. (*Türkiye Parazit Derg 2013; 37: 123-34*)

Anahtar Sözcükler: Mikrosporidia, mikrosporidiosis, tanı yöntemleri, klinik

Geliş Tarihi: 02.01.2013

Kabul Tarihi: 19.02.2013

ABSTRACT

All microsporidia are obligate parasites and have no active stages outside their host cells. Microsporidia lack some typical eukaryotic characteristics. There are now over 1200 species identified in 144 genera. The most familiar stage of microsporidia is the small, highly resistant spore, the size of which differs according to the species and is often 1–10 µm. The general life cycle pattern of the microsporidia can be divided into three phases: the infective or environmental phase, the proliferative phase, and the sporogony or spore-forming phase. There are several methods for diagnosing microsporidia: light microscopic, transmission electron microscopy (TEM), immunofluorescence assays (IFA) and molecular methods. The clinical course of microsporidiosis depends on the immune status of the host and site of infection. Microsporidia can cause infections such as diarrhoea, keratitis, myositis, bronchitis and bronchiolitis. Human microsporidiosis represents an important and rapidly emerging opportunistic disease, occurring mainly, but not exclusively, in severely immunocompromised patients with AIDS. The treatment of microsporidiosis is generally achieved with medications and supportive care. Depending on the site of infection and the microsporidia species involved, different medications are utilized. The most commonly used medications for microsporidiosis include albendazole and fumagillin. (*Türkiye Parazit Derg 2013; 37: 123-34*)

Key Words: Microsporidia, microsporidiosis, diagnosis methods, clinic

Received: 02.01.2013

Accepted: 19.02.2013

Bu çalışma 1-7 Kasım 2009 tarihlerinde Adana'da gerçekleştirilen XVI. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde sunulmuştur.

This study was presented at the XVI. National Parasitology Congress in Adana, 1-7 November-2009.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr. Süleyman Yazar, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye Tel: +90 352 437 49 37 E-posta: syazar@erciyes.edu.tr

doi:10.5152/tpd.2013.28

GİRİŞ

Mikrosporidialar, spor oluşturan zorunlu hücre içi parazitlerdir (1). Ökaryotik hücre olarak tanımlanmalarıyla birlikte bazı tipik ökaryotik özelliklerden yoksundurlar. Ribozom (70S), ribozomal alt ünite (30S ve 50S) ve rRNA bölge (16S ve 23S) özellikleri ve mitokondri, peroksizom ve tipik bir golgi aygıtına sahip olmamaları ile prokaryotik organizmalara benzerlerken, zarla çevrili bir çekirdek, intrasitoplazmik membran sistemi ve mitotik iğciklerle gerçekleşen kromozomal bölünme özellikleriyle de ökaryotik organizma olarak değerlendirilmektedirler (2, 3).

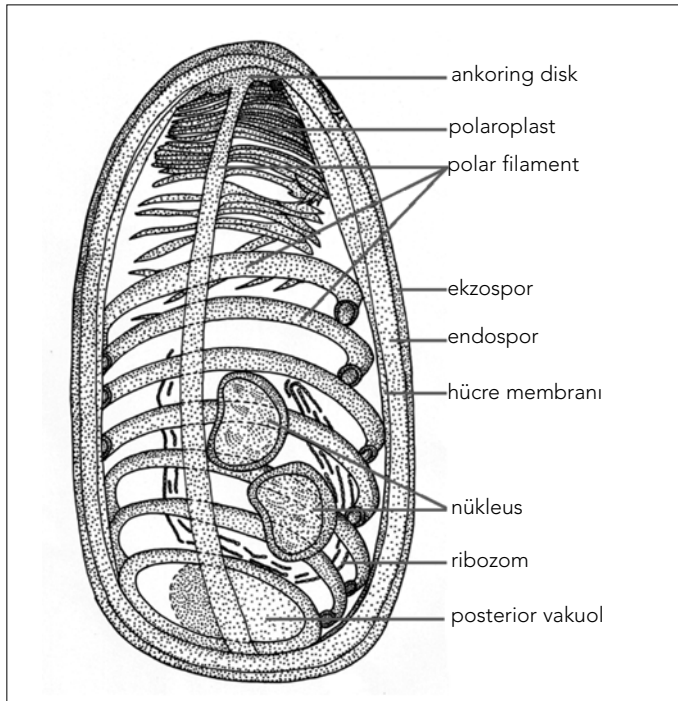
Bugüne kadar 144 cinsine bağlı 1200 den fazla türü tanımlanan bu protozoonlar hem omurgalı hem de omurgasız canlılarda enfeksiyon oluşturabilmektedirler. Bu nedenle tarih boyunca ipek böcekçiliği, bal arıcılığı ve ticari balıkçılık sektörlerinde ciddi ekonomik sorunlara yol açarken kemiriciler, tavşanlar, kürk hayvanları ve primatlarda da önemli bir enfeksiyon ajanı olarak bildirilmişlerdir. Bununla birlikte bu organizmalar, çekirge gibi böceklerin biyolojik kontrollerinde de yararlı bir şekilde kullanılabilirler (1, 3, 4).

Morfolojik Özellikleri

Spor Morfolojisi

Mikrosporidiaların en tipik gelişimsel evresi, polar filament taşıyan spor dönemidir. Spor, muhtevasını konak hücre içine enjekte edebilme mekanizmasına sahip olan enfektif dönemdir ve konak hücre dışında uzun zaman yaşayabilen tek evrim dönemidir. Boyutları 1-20 µm'dir. Memelileri enfekte eden sporlar daha küçük boyutlardadır (1-3 µm). Oval, küresel, çubuk veya armut şeklinde olabilirler (1, 3).

Spor üç genel yapıya sahiptir (5). Bunlar; spor duvarı, sporoplazma ve ekstrüzyon aygıtıdır (Şekil 1).



Şekil 1. Spor morfolojisi (Orjinal)

Spor Duvarı

Çevresel direnç sağlayan spor duvarı, elektron mikroskopisi ile gözlenebilen üç tabakadan oluşmuştur. Bunlar; Ekzospor: Elektron-yoğun olan en dıştaki, glikoprotein yapısındaki tabakadır. Endospor: Elektron-fakir ve temel birleşeni kitin olan tabakadır. Ekzospora bir köprü ile bağlanmıştır. Endospor tabakasının anterior ucu sporun en ince kısmıdır ve polar tüpün dışarı çıkması esnasında parçalanır. Hücre membranı: Yaklaşık 7 nm kalınlığında olan ve sitoplazmayı kuşatan en içteki tabakadır (1, 3, 5).

Sporoplazma

Spor sitoplazması bir veya iki çekirdekli nükleus, prokaryotik boyda ribozomlar, karakteristik bir şekilde konumlanmış endoplazmik retikulum içerir. Çekirdek ökaryotik tiptedir. Mitokondri, peroksizom ve tipik bir golgi aygıtına da sahip deşillerdir (1, 3, 5).

Ekstrüzyon Aparatı

Ekstrüzyon aparatı; sporun anterior ucundaki ankoring (çapa şeklinde) diske mantar şeklinde bağlanan uzun polar filament, polaroplast adı verilen atipik bir golgi cisimciği ve posterior vaküolden oluşmaktadır.

Spor oluşumu öncesi evrim dönemleri

Meront, sporont ve sporoblast mikrosporidiaların diğer evrim dönemleridir. Merontlar, büyük merkezi bir veya iki çekirdeğe sahip, bir plazma membranı ile kuşatılmış, yuvarlak veya hafif oval şekilli hücrelerdir. Stoplazma homojen olarak granüllüdür ve çok sayıda serbest ribozom ile az gelişmiş bir endoplazmik retikuluma sahiptir. Merontlar ikili veya daha fazla füzyonla çoğalarak sporontlara dönüşmektedir. Sporontlar ise sporoblasta dönüşür. Mikrosporidian gelişiminin tüm evreleri mitokondriden yoksundur (6, 7).

Sınıflandırma

Mikrosporidialar ilk olarak 1857'de Nageli tarafından *Nosema bombycis* olarak adlandırılmış; 1882 yılında Balbiani, mikrosporidia adı altında ayrı bir grup olarak sınıflandırmış; 1976 yılında Sprague, *Mikrospora* şubesi altında toplamış; 1980'de ise Protista alemi ve protozoa altalemi altında sınıflandırılmıştır (1, 4). Edling ve arkadaşları, alfa ve beta tubülin genlerinin dizi analizleri sonucunda mantarlara daha yakın olduklarını belirlemiş, fakat sınıflandırılması tam olarak aydınlatılamamıştır (8).

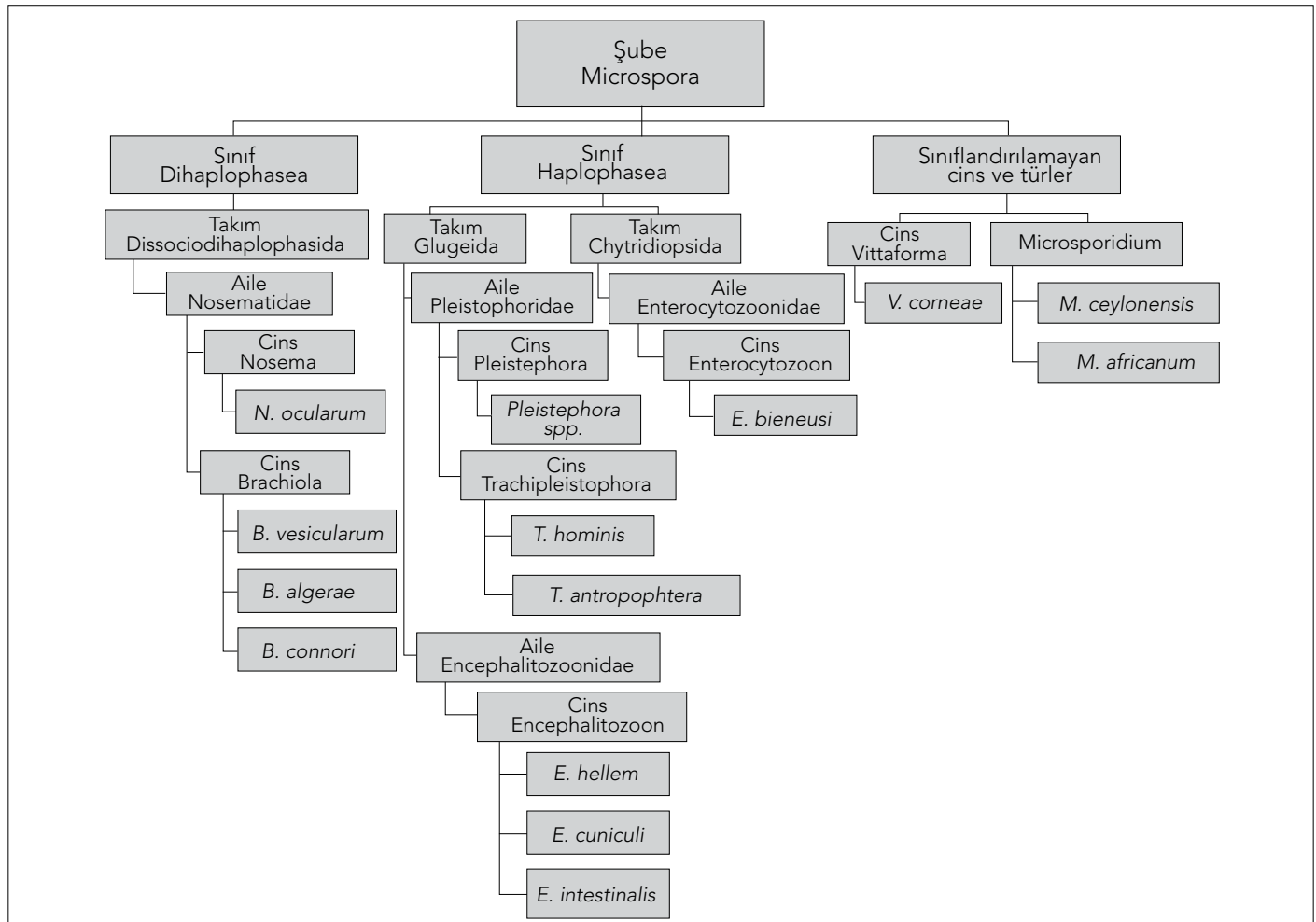
Mikrosporidiaların sınıflandırılmasındaki esas kriterler arasında; doğal konak ilişkileri, spor veya diğer gelişme dönemlerinin büyüklüğü, tek veya iki nükleusa sahip olması, spor içindeki polar filament helozon sayısı ve organizmanın konak hücre stoplazması ile ilişkisi yer almaktadır. İnsanlarda enfeksiyon oluşturan türlerin morfolojik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir (8, 9).

Microsporidium, tam belirgin olmayan mikrosporidia türleri için kullanılan ortak bir terimdir. Bu grup içerisinde insanı enfekte eden iki tür bulunmaktadır; *M. ceylonensis* ve *M. ceylonensis* sporları 3.5 x 1.5 µm boyutlarındadır ve polar tüpteki sarmal sayısı da 9'dur. *M. africanum* sporları ise 4.5-5 x 2.5-3 µm boyutlarındadır ve polar tüpteki sarmal sayısı da 11-13'tür (1, 10).

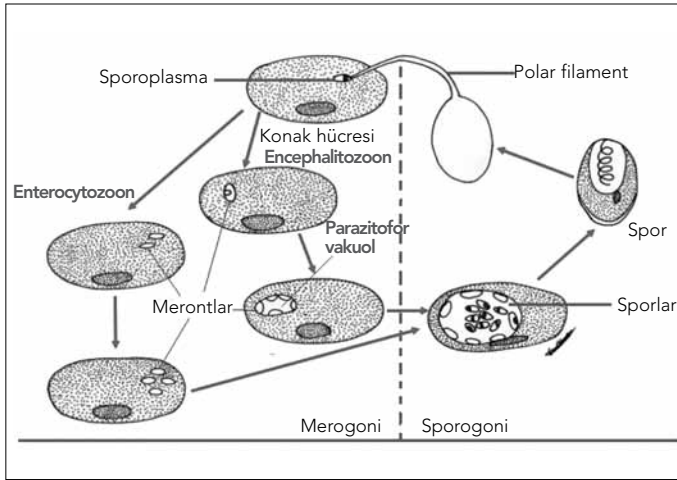
İnsanlarda enfeksiyon oluşturan 7 cinsine bağlı 14 tür tanımlanmıştır. Bu türlerin sınıflandırılması Şekil 2'de verilmiştir (1, 11).

Tablo 1. İnsanda enfeksiyon oluşturan mikrosporidia türlerinin taksonomik özellikleri (1, 8-10)

Tür	Çekirdek yapısı	Gelişim yeri	Spor boyutu (µm)	Polar tüp sarmal sayısı
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	Tek parçalı	Parazitoforoz vakuol içinde	2,5-3,2x1,2-1,6	4-7
<i>Encephalitozoon hellem</i>	Tek parçalı	Parazitoforoz vakuol içinde	2-2,5x1-1,5	6-8
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	Tek parçalı	Parazitoforoz vakuol içinde	2,2x1,2	5-7
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	Tek parçalı	Konak hücre sitoplazması ile direkt temas halinde	1,5x0,5	4-6
<i>Pleistophora</i> sp.	Tek parçalı	Sporofor vezikül	2,8x3,4	9-12
<i>Trachipleistophora hominis</i>	Tek parçalı	Sporofor vezikül	5,2x2,4	11
<i>Trachipleistophora anthropophthera</i>	Tek parçalı	Sporofor vezikül	Tip I sporofor vezikül sporlar; 3,7x2 Tip II sporofor vezikül içindeki sporlar 2,5x1,4	4-5
<i>Vittaforma corneae</i>	İki parçalı	Konak hücre endoplazmik retikulumu ile çevrelenmiş	3,8x1,2	5-7
<i>Nosema ocularum</i>	İki parçalı	Konak hücre sitoplazması ile direkt temas halinde	5x3	9-12
<i>Brachiola</i> sp.	İki parçalı	Konak hücre sitoplazması ile direkt temas halinde	2,5-2,9x1,9-2	7-10



Şekil 2. İnsandan izole edilen mikrosporidia türlerinin sınıflandırılması



Şekil 3. Spor morfolojisi (Orjinal)

Hayat Döngüsü

Mikrosporidia türleri, omurgalı ve omurgasız konakları enfekte edebilen zorunlu hücre içi parazitidir. Hatta bu protozoonlar başka parazitlerle aynı hücreyi enfekte edebilmektedirler. Bilinen bir vektör veya ara konakları ve hücre dışında herhangi bir metabolik aktivasyonları yoktur (11, 12). Mikrosporidia sporlarının insanlara nasıl bulaştığı hala tam olarak açıklanamamıştır.

Enfektif sporlar; solunum, seksüel yolla (*E. hellem*), kontamine yiyecekler, su ve direkt temas ile bulaşabilmektedir. *Vittaforma*, *Enterocytozoon* ve *Encephalitozoon* genusu içerisinde yeralan türlerin sporlarının su kaynaklı olduğu ve su ile bulaşabileceği belirtilmektedir. Enfekte hayvanlarla direkt temas yoluyla hastalığın geçişi önemlidir fakat bu geçiş şekli nadir olarak görülmektedir. Hayvanlarda enfeksiyonun bulaşma şekli olarak transplasental (*Encephalitozoon* spp.) geçişin olduğu gösterilmiş fakat insanlarda bu yolla enfeksiyonun bulaş şekli henüz gösterilememiştir. İnsanları enfekte eden birçok mikrosporidia türünün hayvanları da enfekte edebilmesi zoonotik geçiş olasılığını kuvvetlendirmektedir (12).

Uygun şartlar altında ve uygun konakta bulaşma yoluna bağlı olarak sporların konak hücreye girişyle enfeksiyon başlamaktadır. Mikrosporidiaların hayatı 3 fazda gerçekleşmektedir (Şekil 3).

1-Faz I- Enfektif /Çevresel faz: Hayatın ekstrasellüler fazıdır. Çevre şartlarına dirençli olan ve uzun süre enfekte kalabilen sporlar direkt temas veya ağız yoluyla alınmaktadır. Sporlar, çeşitli fiziksel ve kimyasal değişiklikler (uygun pH, sıcaklık, nem, iyon konsantrasyonları, sindirim enzimleri, basınç gibi) ve diğer bazı uyarıların etkisiyle konak enterositlerine girer ve burada sporun çimlenmesi aktifleşir. Primer enfeksiyonun lokalizasyonunun bulaş yoluna bağlı olduğu, tipik olarak gastrointestinal ve solunum sistemi epitel hücrelerinde olduğu bildirilmektedir. Uygun şartlar altında (uygun K^+ ve Ca^{++} iyon konsantrasyonunda) spor uygun konak tarafından alındıktan sonra helezon şeklindeki polar tüp düzleşir ve iç içe katlanmış gibi duran bu yapı dışarı doğru uzanır ve konak hücresi içerisine sporoplazma boşaltılması ile hücre enfekte olur. Konak hücre içerisinde, sporlardan serbest kalan sporoplazmalar dış yüzleriyle yoğun görünüşü ile tanımlanan sporontları geliştirmek için merontlar oluşur (5, 11, 13).

2-Faz II- Proliferatif Faz/ Üreme fazı: Mikrosporidiaların hayat döngüsünün bir parçası olan ve intrasellüler gelişiminin gerçekleştiği ilk fazdır. Bu faz, spor şekillenmesine bağlı olarak parazit sporoplazmasının büyüüp geliştiği ve bölünerek çoğaldığı fazdır. Parazitin gelişimi genus ve aileye göre değişmektedir. Proliferatif faz, merogoni ve sporogoni olmak üzere iki önemli aşamada gerçekleşir. Bu iki aşama da, nükleer kılıfın bozulmadan parazit nükleusunun bölünmesidir (6). Karyokinesiz sonucunda, yuvarlaklaşmış çok çekirdekli plasmoidal formlar (*E. bienensis*) veya kurdele benzeri çok çekirdekli hücreler (*E. intestinalis*) oluşur ve bu olay sitokinezden önce defalarca gerçekleşebilir (11). Sporoplazmanın uygun bir konağa girmesiyle oluşan merontlar, yuvarlak düzensiz veya sitoplazmalarındaki ufak farklılıklarla birlikte yapısal olarak basit ve tek katlı hücre zarına sahip hücrelerdir. Bunlar defalarca ikiye (*Encephalitozoon*, *Nosema*, *Vittaforma* genusu) veya daha fazla sayıya (*Enterocytozoon*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora* genusu) bölünerek çoğalırlar ve tek bir hücre içerisinde yaklaşık 50-100 meront oluşur (6, 13). Bu merontlar, enterosit, makrofaj, mezenkim hücreleri gibi farklı hücrelerde ve besinleri bu konak hücrelerden absorbe ederek gelişimlerine devam ederler (6). Merontlar, konak hücre sitoplazmasıyla direkt temas halinde (*Nosema*, *Enterocytozoon* genusu), konak orjinli oluşan parazitifer vakuol içinde (*Encephalitozoon* genusu), parazit tarafından salgılanan sporifer vakuol içinde (*Pleistophora*, *Trachipleistophora* genusu) veya da konağın endoplazmik retikulumuyla (*Endoreticularis*, *Vittaforma* genusu) çevrilerek gelişir (5).

3-Faz III- Sporogonik Faz: Sporların oluşumu organizma aracılığıyla gerçekleşir. Sporogoni, elektronca yoğun bir yüzey örtüsü ve merontların ince bir zarla çevrilerek sporontların oluşumu ile başlar (5). Sporontlar daha sonra olgun sporların plazma membranının dışındaki ekzospore tabakasını oluşturacaklardır (6). Sporontlar, ikiye bölünme ya da çoklu füzyon ile çoğalıp, sporoblastları oluşturur. Oval şekilli sporoblastların olgunlaşmasıyla olgun sporlar meydana gelir (11). Sporlar konak hücresini tamamen doldurduğu zaman plazma membran patlar ve sporlar çevreye dağılır. Bu sporlar ya konak içerisinde yeni bölgelere taşınarak çevredeki diğer hücreleri enfekte edebilir ya da yeni konakları enfekte edebilmek için idrarla veya dışkı ile dışarı atılabilirler (6, 12, 13).

Mikrosporidiaların Hücreye Giriş Mekanizmaları:

Sporların enfektif sporoplazmasının hassas bir konağa transferi bir seri kompleks aktiviteler sonucu oluşurken, spor çimlenmesinin aktivasyonu için de çevre şartlarının uygun olması gerekmektedir. Sporun geçirgenliğinde ve polar filamentin ters dönüşünde etkili olan bu çevresel değişiklikler fiziksel veya kimyasal olabilir (5, 14). Mikrosporidia enfeksiyonlarının çoğu konağın sindirim sisteminde sporların kimyasal uyarılarına (pH, sindirim enzimleri, iyon konsantrasyonları vb.) bağlı olarak başlamaktadır (5).

Aktive olan spor, sporoplazmanın kısa zamanda bölünerek yıkılmasına neden olmaktadır. Spor içinde ozmotik basıncın anormal artması posterior vakuolu genişletir ve bu değişim polar tüpün ters dönüşünü tetikler. Sporoplazma, 15-500 ms hızında polar tüpe doğru yönelerek tüple birleşir ve birkaç saniye sonra tüpten ayrılmasıyla hücre invazyonu gerçekleşir. Bu olaylar sporoplazma içerisindeki karbonhidrat oranına ve özellikle de trehaloz enzimi-

nin aracılık ettiği trehalozun glikoz ve diğer metabolitlere dönüşümüne bağlı olduğu düşünülmektedir (15, 13). Mikrosporidialar hücre içerisine deneysel olarak gösterilmiş iki yol ile giriş yapmaktadır;

1-Aktif invazyon:

Başlangıçta, polar tüp konak hücre plazma membranına penetre olmak ve hipodermik iğne şeklinde konak hücre sitoplazmasına sporoplazmalarını enjekte etmektedir. Sporoplazmanın polar tüpten lümeneye doğru geçişi 5-30 sn'de gerçekleşmektedir (6). *E. bienewisi* polar tüp yardımıyla konak hücre plazma membranını delerek sitoplazma kaybı olmadan hücre içerisine penetre olmaktadır (6). İnvazyon süreci sonunda mikrosporidia sporu direkt konak hücrenin sitoplazmasında veya da bir vakuol içinde gelişimine devam etmektedir.

2-Endositosiz:

Mikrosporidia sporlarının çoğu, polar tüp açılması olmadan internalizasyonla sitoplazmaya girer. Aktin-bağımlı fagositozun aracılığıyla sporların hücre içerisine girişi sitokalazim-D tarafından inhibe edilebilir. Konak hücre tarafından spor endositoz yolu ile hücre içine alınır ve spor fagozomla çevrilir. İçerisinde mikrosporidia sporlarını içeren fagozomlar önce endozomal daha sonra lizozomal kompartmanlara dönüşür ve sporlar hızlıca yıkılır fakat bazı sporoplazmaların olgunlaşan lizozomlardan kaçır ve polar tüp salınması yoluyla konak hücre sitoplazmasını enfekte eder (16).

Epidemiyoloji

Mikrosporidialar bütün dünyada fırsatçı patojenler olarak kabul görmeye başlamış ve Arjantin, Avustralya, Botswana, Brezilya, Kanada, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Hindistan, İtalya, Japonya, Hollanda, Yeni Zelanda, İspanya, Sri Lanka, İsveç, İsviçre, Uganda, Tayland, Birleşik Krallık, Amerika Birleşik Devletleri ve Zambiya gibi birçok gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde mikrosporidiosis vakaları bildirilmiştir (1).

Ülkemizde yapılan sınırlı sayıda çalışmada Karaman (11) değişik hasta gruplarından oluşan 2665 kişinin %8.5'inde; Atambay ve arkadaşları (17) immün sistemi sağlam ve sindirim sistemi yakınmaları nedeniyle hastaneye başvuran 781 kişinin %6.5'inde; Karaman ve arkadaşları (18), kanser tanısı almış 320 kişinin %10.9'unda ve sağlıklı bireylerden oluşan 320 kişilik kontrol grubunun %5.6'sında; Türk (19) ishal şikayeti olan 225 hastanın %9.8'inde; Yazar ve arkadaşları (20) kanserli bir hastada, Büğet ve arkadaşları (21) ise bir AIDS hastasında *Microsporidia* spp. bildirmişlerdir.

Mikrosporidialarda Tanı Yöntemleri

Tanı için dışkı ya da duodenal drenaj örnekleri taze materyal şeklinde veya %5-10 formolde laboratuvara gönderilebilir. Ayrıca taze dokular serum fizyolojik içinde ya da antibiyotikli besiyeri içinde saklanabilir. Fakat hücre kültürü ya da moleküler inceleme için taze materyalin olması gerekmektedir. Sistemik enfeksiyonlarda örnek olarak idrarın kullanılması önerilmektedir. Yine diğer vücut sıvıları (balgam, bronkoalveolar lavaj, nazal akıntı veya beyin omurilik sıvısı) konjunktiva sürüntüsü, kornea kazıntısı veya doku örneği de incelenebilir (1, 22). Kas ve karaciğer gibi biyopsi örnekleriyle tanı konulabilirse de, biyopsi örneği için en uygun bölge ince bağırsaklardır (23). Kronik ishali ve CD4+ sayısı 100

mm³'ün altındaki hastalarda mikrosporidial enfeksiyonların öncelikle düşünülmesi ve araştırılması önerilmektedir (23).

Dışkı örneklerinin ışık ve floresan mikroskopu ile incelenmesi

Işık mikroskopu tanıda etkili olmasına karşın cins ve tür düzeyinde ayırım yapılmasını sağlamamaktadır. Mikrosporidialar, hücre içinde veya dışında oval reflektif cisimcikler olarak görülebilirler. Gram boyama ile gram pozitif boyanan parazit sporları maya hücrelerine benzer bir görünüm sergilerler. Ancak pembemsi-kırmızı renkte boyanması ve tomurcuklanma göstermemesi ile mayalardan ayrılırlar. Kesin ayırım için %1'lik aside dirençli boyama ya da Weber'in modifiye trikrom boyama yöntemi ile tanının doğrulanması gerekmektedir (4, 24, 25).

a) Modifiye Trikrom Boyası (Weber'in Trikrom Boyası, Kromotrop 2R boyası)

Bu boya ile boyanan preparatlar ışık mikroskopunda incelendiğinde; mikrosporidia spor duvarı parlak pembe renge boyanırken (Resim 1), *E. bienewisi* 0,8 ila 1,4 µm, *B. algerae*, *Encephalitozoon* spp., *V. corneae* ve *Nosema* spp. türleri 1.5-4 µm boyutlarında görülmektedir (4, 26). Araştırmacılar, bu yöntemin mikrosporidiaların rutin tanısında kullanılabileceğini bildirmişlerdir (27).

Ryan ve arkadaşları (28) bu boyama yönteminin bir basamağında kullanılan fast green yerine aniline blue kullanmışlar ve bu yöntem ile parazitlerin daha iyi boyandığını bildirmişlerdir (Resim 2A, B).

b) Floresans boyalar

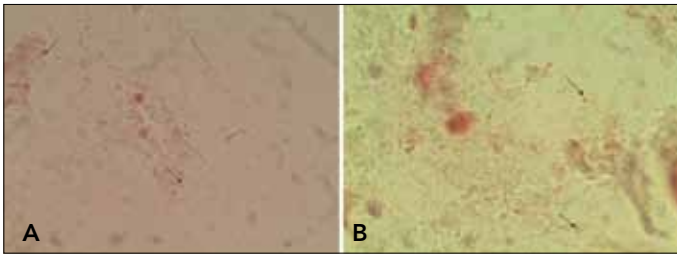
Mikrosporidia sporlarının boyanması için kullanılan başlıca floresan boyalar, kalkoflor beyazı, Fungi flor ve Uvitex 2B'dir. Bu boyalardan Uvitex 2B ve kalkoflor beyazı spor duvarı endospor tabakasındaki kitine bağlanarak mavi-beyaz floresans verir. Kitin içeren diğer mikroorganizmalar, özellikle de mantar sporları bu boyalar ile boyandıklarından dolayı ayırıcı tanı önemlidir (29). Tuli ve arkadaşları (30) mikrosporidiaların teşhisinde 4,6 diamidin-2- fenilindol (DAPI) ve kalkoflor beyazı boyasının birlikte kullanıldığı bir yöntemin, spesifitesini %97, sensitivitesini ise %98.5 olarak saptamışlardır. Miller ve Smekova (31) isimli araştırmacılar ise oolong tea extract (OTE) boyasının tanıda başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Araştırmacılar tanıda floresan boyaların kullanılmasının hızlı ve kolay olması nedeniyle avantajlarının olduğunu ayrıca MTS ile paralel boyanmasının da tanıda duyarlılığın arttığını bildirmişlerdir (32, 33) (Resim 3).

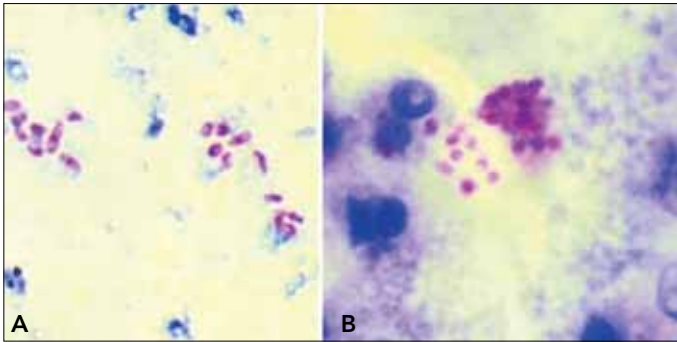
Diğer taraftan mikrosporidiaların canlılık testi, için kalkoflor M2R ve Sytox green boyaları kullanılabilir. Canlı sporlar kalkoflor M2R boyası ile 395-415 nm dalga boyunda turkuaz-mavisî renkte oval şekilli görülürken ölü sporlar beyaz-sarı renkte gözlenmektedir. Sytox green ile boyamada ise canlı sporlar görüntü vermezken ölü sporların içerisine boya rahatlıkla girebilmekte ve 470-490nm dalga boyunda parlak sarı-yeşil renkte floresans vermektedir (34).

c) Warthin-Starry (WS) boyası

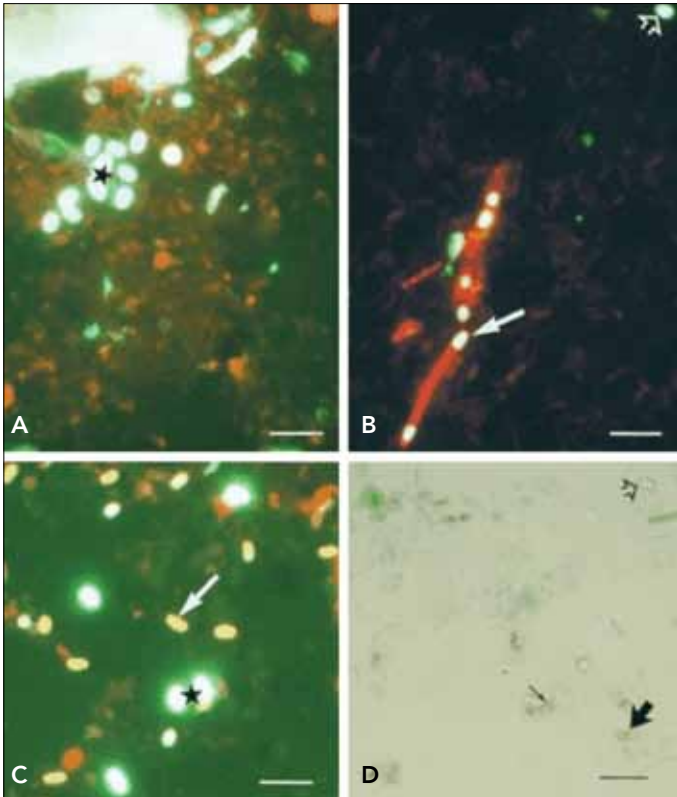
Bu boyama yöntemi *E. bienewisi* ve *Encephalitozoon* türlerinin tanısında kullanılabilen ve duyarlılığı oldukça yüksek bir tanı yöntemidir. Bu yöntem sonuçlarının elektron mikroskopu (EM) sonuçlarıyla %100 uyum gösterdiği tespit edilmiştir (35).



Resim 1. Mikrosporidia sporlarının modifiye trikrom boyama ile 1000X büyütmedeki görüntüsü (Orjinal)



Resim 2A, B. Mikrosporidia sporlarının modifiye trikrom boyama yönteminde fast gren yerine aniline blue kullanılması ve 1000X büyütmedeki görüntüsü (25)



Resim 3. Calcofluor ve MTS ile boyanan sporlar

A: (★), mavimsi parlak görülenler kalkoflor beyazı ile boyanmış sporlar
B: (☉) tek olan spor, (→) kırmızı boyanmış olanların içinde olanlar bakterileri
C: (★) sporlar (→) sarımsı boyananlarda sporlar
D: MTS ile boyanmış boş spor (☉), (→) ve (→) normal sporlar (31, 32).

Histolojik İncelemeler

Sürüntülerde Uvitex 2B veya kalkoflor beyazı boyama yöntemi, kesitlerde ise kalkoflor beyazı boyama yöntemi, modifiye trikrom boyama yöntemi, Giemsa boyama yöntemi, Masson'nun trikrom boyama yöntemi, akridin oranj, Gomori'nin methenamin gümüş boyama yönteminin kullanılabileceği araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (24).

Serolojik tanı

Mikrosporidiaların tanısında enzim bağlı immünosorbent yöntemi (ELISA), Western Blot, indirekt fluoresan antikor testi (IFAT), immün fluoresan ve immünoperoksidaz yöntemlerinin kullanılabileceği bildirilmiştir (24, 29).

Seroepidemiyolojik çalışmalarda kullanılan bu testler ile mikrosporidialara karşı tespit edilen antikorların, yeni bir enfeksiyon, latent bir enfeksiyon, çapraz reaksiyon veya poliklonal B hücre aktivasyon olup olmadığının gösterilmesinde güçlükler bulunduğu belirtilmiştir (36). Yapılan bir çalışmada, *E. bienensii*'nin tanısında monoklonal antikor testinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve IFAT'a göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (37). Monoklonal antikorların kullanıldığı immunofluoresan antikor testleri ile dışkıda *E. intestinalis* ve *E. bienensii*'e ait sporlar belirlenebilmektedir. Bu yöntemin duyarlılığı %100'e yakın, özgüllüğü ise bilinen diğer yöntemlerden daha yüksektir. Monoklonal antikorlar örnekte bulunan sporların spor duvarındaki proteinlere bağlanmakta ve fluoresan mikroskopunda sporlar parlak yeşil röfle vermektedir (Resim 4, 5).

Flow sitometri yöntemi

Flow sitometri (FCM) kullanılarak mikrosporidiaların tanısı yapılabilmektedir (38). Franzen ve arkadaşları (38) kültürü yapılmış olan mikrosporidiaları FCM yöntemi ile tespit etmişler ve bu yöntemin kullanım kolaylığı ve yüksek bir duyarlılığa sahip olması nedeniyle araştırmalarda kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

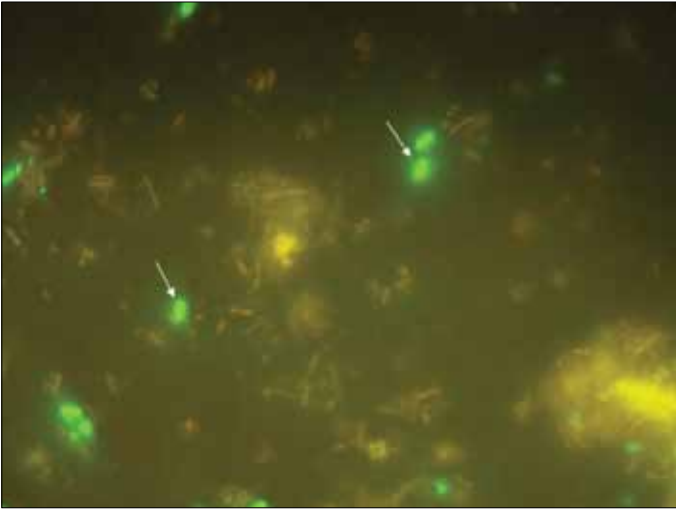
Mikrosporidiaların tanısında TEM yönteminin, özgüllüğü yüksek olup duyarlılığı düşüktür. Ayrıca yorucu ve uzun zaman gerektirmektedir. TEM ile parazitin polar filamentleri tespit edilebilmektedir. Günümüzde TEM, moleküler yöntemlerin uygulanmadığı laboratuvarlarda halen tanılamada kullanılan ve tür tayininde altın standart kabul edilen bir yöntemdir (22). TEM ile sporların yapısal özellikleri incelenerek, parazitin cins ve tür düzeyinde ayrımı yapılabilmektedir. Ancak *E. cuniculi* ve *E. hellem*'in TEM ile tanısı oldukça zordur (22, 24).

Hücre Kültürü

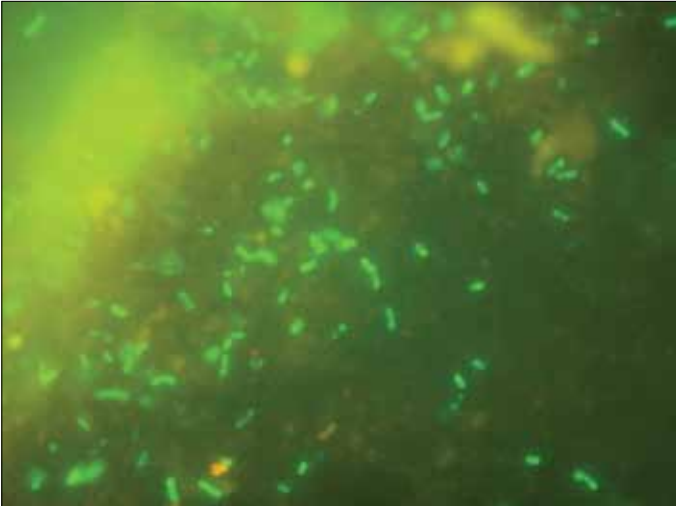
İnsanları enfekte eden türlerin hepsi olmasa da bir kısmının kültürleri yapılabilmektedir (*N. corneum*, *E. hellem*, *E. cuniculi*, *E. intestinalis*, *T. hominis* ve *V. corneae*) (22). Ancak *E. bienensii*'nin uzun süreli kültürü yapılamamaktadır (39).

Mikrosporidiaların Tanısında Moleküler Yöntemler

Rutin klinik laboratuvarlarında mikrosporidiaların tanısı amacıyla halen mikroskopi temelli yöntemler uygulanmasına rağmen son on yıldır araştırma laboratuvarlarında teşhis amacıyla moleküler yöntemlerin kullanılması ivme kazanmıştır. Moleküler yöntemlerin başarısı, klinik örneklerden nükleik asitlerin ekstraksiyonu için kullanılan yöntemlerle çok yakından ilişkilidir (40).



Resim 4. *E.intestinalis* sporlarının immunofluoresan antikor yöntemi ile fluoressan mikroskopunda x1000 büyütme ve 450-490 nm'deki görüntüsü (Orjinal)



Resim 5. *E.bienusi* sporlarının immunofluoresan antikor yöntemi ile fluoressan mikroskopunda x1000 büyütme ve 450-490 nm'deki görüntüsü (Orjinal)

Mikrosporidiaların moleküler teşhisi amacıyla doku biopsileri, korneal kazıntı örnekleri, düodenal aspiratlar, idrar örnekleri ve in-vitro kültür örnekleri kullanılabilir (1).

Bu örneklerden nükleik asit ekstraksiyonu için ticari kitler (Qiagen (Santa Clara, Calif, ABD) veya Promega (Madison, Wis, ABD) kullanılabilir gibi klasik ekstraksiyon yöntemi olan fenol-kloroform ve etil alkol presipitasyon yöntemi de uygulanabilir. Ayrıca formalinle fiske edilmiş parafine gömülmüş biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu için ticari kitler bulunmaktadır (DexPAT, Taker Biochemical, Berkeley, Calif, ABD) (40).

Genellikle dışkıdan DNA izolasyonu oldukça zordur ve değişkenlik göstermektedir. Mekanik olarak sporların parçalanmasına ve daha zor bir ekstraksiyon şartlarına gerek duyulmaktadır. Başarılı bir ekstraksiyon için %0,5 sodyum hipoklorit, kitinaz, litikaz, guanidin tiyosiyanat, %10 formaldehit veya 1M potasyum hidroksit, dithiotreitol, heksadeksiltrimetilamonyum bromit kullanımı veya

örneklerin kaynatılması ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Dışkının moleküler yöntemler içerisinde kullanımının diğer bir zorluğu sıklıkla polimeraz enzim inhibitörleri içermesinden dolayıdır. İnhibitörlerin uzaklaştırılması için basit olarak örneklerin dilüsyonu veya guanidin tiyosiyanat ile muamele çeşitli otörler tarafından tavsiye edilmektedir (40, 41). Bunlardan başka denatürantların, şelat yapıcı ajanların ve serbest radikal bağlayıcıların emdirilmiş olduğu FTA filtre metodunda mikrosporidia sporlarının ekstraksiyonu için oldukça etkili olduğu belirtilmektedir (42).

Ökaryotik organizmalarla karşılaştırıldığında mikrosporidialar oldukça küçük genoma sahiptir. Değişken alanlı jel elektroforezi (Pulsed-field gel electrophoresis) çalışmaları haploid genom boyutlarının ortalama 5,3 ile 19,5 Mb arasında olduğunu göstermiştir. Mikrosporidia rRNA gen bölgesi, genler arası transkripsiyonu yapılmayan ara bölge ile ayrılan 16S SSU rRNA ve 23S LSU rRNA genlerinden oluşmaktadır. Mikrosporidiaların PCR temelli teşhisinde bu gen bölgelerinden (SSU rRNA, LSU rRNA, α ve β -tubulin, polar tube protein, polar tube protein 55 precursor, ribosomal protein L27a, dihydrofolate reductase, serine hydrxymethyltransferase, aminopeptidase, thymidylate synthase, internal transcribed spacer ve actin gen bölgesi) hazırlanmış primerler kullanılmaktadır (1). Mikrosporidia GenBank sekans verilerinin (yaklaşık 6000) çoğunluğu korunmuş ve değişken bölgeler içeren rRNA genlerine aittir (40). Bundan dolayı mikrosporidiaların teşhisi amacıyla kullanılan PCR temelli yöntemlerinde bu gen bölgelerinden hazırlanan primerler çoğunlukla tercih edilmektedir. İnsanlarda sıklıkla enfeksiyon oluşturan beş mikrosporidia türünün (*E. bienusi*, *E. intestinalis*, *E. cuniculi*, *E. hellem* ve *V. cornea*) ve diğer mikrosporidiaların tanısında SSU rRNA hedef gen bölgesinden hazırlanmış tür spesifik ve jenerik primer çiftleri başarıyla kullanılmaktadır (1).

Aynı şekilde *E. bienusi* ve *Encephalitozoon* spp. tanısı amacıyla rRNA bölgesinden hazırlanan primer ve problemlerin kullanıldığı multipleks real-time PCR yönteminin %100 sensitivite ve spesifiteye sahip olduğuna dair yayınlar bulunmaktadır. Bu yöntemin dışkıda 10^2 spor/mL saptayabilme duyarlılığına sahip olduğu bildirilmektedir (40, 41).

Ayrıca mikrosporidia türlerinin tanısında 16S rRNA gen bölgesi hedef alınarak tasarlanmış fluoressan işaretli problemlerin örnek içerisindeki uygun nükleik asit dizisine bağlanması esasına dayalı in situ hibridizasyon (FISH) temelli tekniklerde moleküler tanı kullanılmaktadır. Mikrosporidiaların dört türüne (*E. bienusi*, *E. intestinalis*, *E. cuniculi*, ve *E. hellem*) özgü hazırlanmış oligonükleotit problemlerle yapılan bir multipleks fluoressan in situ hibridizasyon çalışmasında, sporları boyamaya yönelik kromotrop-2R ve kalkoflor beyazı M2R boyalarının kullanıldığı mikroskopik tanıya göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (43). Formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş klinik örneklerden mikrosporidiaların teşhisinde rutinde kullanılan histokimyasal boyalara göre daha başarılı olduğu gösterilmesine rağmen birçok aşamasının olması, prob hibridizasyonu için bir gece beklenmesi, epi-fluoressan bir mikroskop gerektirmesi, duyarlılığının PCR'dan daha düşük olması bu tekniğin rutin kullanımını kısıtlamaktadır (40).

Son zamanlarda popüler olan mikroarray teknolojisi mikrosporidiaların tanısı amaçlı geliştirilmiştir. Wang ve arkadaşları insanda en sık enfeksiyon oluşturan dört türe karşı spesifik oligonükleotit-

ler kullanarak bu yöntemin aynı anda dört türü ve miks enfeksiyonları yüksek bir duyarlılıkta (10^2 spor/100 µl dışkı örneği) saptayabileceğini göstermişlerdir. Oldukça pahalı bir teknik olması ve gelişmiş bir merkez gerektirmesinden dolayı şuan rutin kullanıma geçmesi uzak görülmektedir (44).

Mikrosporidiaların filogenetik analizinde ITS (Internal Transcribed Spacer) gen bölgesine göre hazırlanmış primerlere dayalı DNA sekans analizleri sıklıkla kullanılmaktadır. İnsan ve hayvanlardan izole edilen *E. bienewisi*'nin ITS gen bölgesi sekans analizleri sonucu olarak 70'den fazla genotip olduğu gösterilmiştir. Bu genotipler içerisinde genotip A ve B genellikle antropotik potansiyele sahipken, genotip K (aynı zamanda genotip IV, BEB5 ve Peru2), D ve E zoonotik potansiyele sahiptir. Genotiplendirme analizleri yapılarak zoonotik ve antropotik geçişin gösterilmesi, enfeksiyonun sıklıkla görüldüğü bölgelerde kontrol stratejilerinin belirlenmesi açısından büyük önem arz etmektedir (45, 46). Tanıda kullanılan tür-spesifik primer çiftleri Tablo 2'de sunulmuştur (46-55).

Sonuç olarak duyarlılığının, özgüllüğünün yüksek olması, hızlı ve doğru sonuç verme ve tedavi açısından önemli olan aynı anda birden fazla türün tespitine olanak sağlama açısından bakıldığında, moleküler yöntemler mikrosporidiaların tanısına değer kazandırmaktadır.

KLİNİK

Mikrosporidialar genellikle HIV pozitif, organ transplant alıcıları, kanserli hastalar gibi immun yetmezlikli bireyler ile çocuklar, turistler, kontakt lens kullananlar ve yaşlılarda fırsatçı enfeksiyonlara neden olmaktadır (1, 6). Klinik semptomlar, enfeksiyonun lokalizasyonu ve konağın immün durumu ile yakından ilişkilidir (9). İnsana yerleşen mikrosporidia türleri ve bunlara bağlı olarak oluşan klinik bulgular Tablo 3'te özetlenmiştir. (1, 6).

Gastrointestinal Tutulum

Sindirim sistemi enfeksiyonlarında en sık izole edilen türler *E. bienewisi*, *E. intestinalis* ve *E. cuniculi* olarak bildirilmektedir (7, 57). Mikrosporidia kaynaklı intestinal enfeksiyonlar AIDS'li kişilerde sık görülen bir durumdur ve enfeksiyonların çoğunda etken *E. bienewisi*'dir. En belirgin semptomları kronik ishal, anoreksi ve kilo kaybı şeklinde gözlenmektedir (1). Encephalitozoon türlerinin klinik belirtileri *E. bienewisi*'ye benzer şekilde ishal, kilo kaybı ve malabsorpsiyondur (1).

Oküler Tutulum

Oküler mikrosporidiosis keratokonjonktivit ve stromal keratit olmak üzere iki klinik tablo şeklinde karşımıza çıkmaktadır (6, 8). Keratokonjonktivit form: Genellikle immün yetmezlikli hastalarda ve kontakt lens kullanıcılarında görülmektedir. Etken sıklıkla Encephalitozoon türleridir. Enfeksiyon gözde yabancı cisim hissi,

Tablo 2. Mikrosporidiaların tanısında kullanılan tür-spesifik primer çiftleri

Amplifiye olan tür	Primer çifti sekansı (5'-3')	Primer ismi	Referans
<i>E. bienewisi</i>	GAA ACT TGT CCA CTC CTT ACG CCA TGC ACC ACT CCT GCC ATT	EBIEF1 EBIER1	46
<i>E. bienewisi</i>	CAC CAG GTT GAT TCT GCC TGA C ACT CAG GTG TTA TAC TCA CGT C	V1 EB450	47
<i>E. bienewisi</i>	CAC CAG GTT GAT TCT GCC TGA C CAG CAT CCA CCA TAG ACA C	V1 Mic3	48
<i>E. bienewisi</i>	TCA GTT TTG GGT GTG GTA TCG G GCT ACC CAT ACA CAC ATC ATT C	Eb.gc Eb.gt	49
<i>E. bienewisi</i>	GCC TGA CGT AGA TGC TAG TC ATG GTT CTC CAA CTG AAA CC	2 2	50
<i>E. intestinalis</i>	CAC CAG GTT GAT TCT GCC TGA C CTC GCT CCT TTA CAC TCG AA	V1 SI500	51
<i>E. intestinalis</i>	TTT CGA GTG TAA AGG AGT CGA CCG TCC TCG TTC TCC TGC	SINTF1 SINTR	52
<i>E. intestinalis</i>	GGG GGT AGG AGT GTT TTT G CAG CAG GCT CCC TCG CCA TC	3 3	50
<i>E. hellem</i>	TGA GAA GTA AGA TGT TTA GCA GTA AAA ACA CTC TCA CAC TCA	EHEL-F EHEL-R	53
<i>E. cuniculi</i>	ATG AGA AGT GAT GTG GTG TGC G TGC CAT GCA CTC ACA GGC ATC	ECUN-F ECUN-R	53
<i>V. cornea</i>	TGA GAC GTG AAG ATG AGT ATC TCC CTG CCC ACT GTC TCC AAT	NCORF1 NCORR1	CDC'den Norman Pieniazek'e ait (yayınlanmamış)
<i>Anncaliia (Brachiola) algerae</i>	ACT CCG GTA ACG TGT GAT GTG TAC AAA GCA TGA TCC CAG TCT	NALGf2 NALGR1	54
<i>Anncaliia (Brachiola) algerae</i>	GCC GTT TCC GAA GTT GG ATA TCG ACG GGA CTC TCA CC	NAGf NAG178r	55

Tablo 3. İnsana yerleşen mikrosporidia türleri ve bunlara bağlı olarak oluşan klinik bulgular

Türler	Klinik Bulgular
<i>E. bienewisi</i>	Enterit, diyare, kolanjit, kolesistit, pnomoni, bronşit, sinüzit, rinit
<i>E. intestinalis</i>	Enterit, diyare, ince bağırsak perforasyonu, kolanjit, kolesistit, nefrit, bronşit, sinüzit, rinit, keratokonjonktivit, dissemine enfeksiyon
<i>E. hellem</i>	Sinüzit, rinit, keratokonjonktivit, dissemine enfeksiyon, nefrit, üretrit, prostatit, ureterit, sistit, pnomoni
<i>E. cuniculi</i>	Sinüzit, rinit, keratokonjonktivit, dissemine enfeksiyon, hepatit, peritonit, ensefalit, intestinal enfeksiyon, üriner sistem enfeksiyonları
<i>T. hominis</i>	Miyozit, sinüzit, rinit, keratokonjonktivit
<i>T. anthropophthera</i>	Ensefalit, miyozit, dissemine enfeksiyon
<i>Pleistophora</i> spp.	Miyozit
<i>V. corneae</i>	Keratit, üriner enfeksiyonlar
<i>N. ocularum</i>	Keratokonjonktivit
<i>B. connori</i>	Dissemine enfeksiyon
<i>B. vesicularum</i>	Miyozit
<i>B. algerae</i>	Keratokonjonktivit
<i>M. africanum</i>	Korneal ülser
<i>M. ceylonensis</i>	Korneal ülser

aşırı gözyaşı, göz ağrısı, azalan görme keskinliği ve fotofobi gibi klinik belirtiler göstermektedir (6, 8). Stromal keratit form: Daha çok immün sağlıklı bireylerde görülmekte olup etken genellikle *Nosema* ve *Microsporidium* türleridir. Sinsice başlar ve rekürren stromal infiltrasyon ve üveitin geliştiği progresif herpes diskiform keratitini taklit eder (6, 8).

Hepatobilyer Tutulum

Etken genellikle Encephalitozoon türleridir. İlk olarak, hepatit gelişen iki AIDS'li hastanın otopsileri sonrasında etken olarak bildirilmiştir. Bunun yanında birçok HIV pozitif hastanın non-parankimal karaciğer hücrelerinde, *E. bienewisi* ve *E. intestinalis* tespit edilmiş fakat hastalarda tipik hepatit klinik bulguları oluşturmamıştır (7, 11). Mikrosporidialar AIDS'li hastalarda kolanjite neden olan etkenler arasında nadir olarak görülmektedir. Fakat son zamanlarda bu kanı mikrosporidialar için gelişen tanı yöntemlerine bağlı olarak değişmeye başlamıştır.

Sistemik Mikrosporidia Enfeksiyonları

İnsanda enfeksiyon oluşturan üç Encephalitozoon türü sistemik enfeksiyonlara yol açabilmektedir. *Trachipleistophora*, *Pleistophora* ve *Brachiola* genusunda bazı türlerinde sistemik enfeksiyonlara yol açabildiği bildirilmektedir. Bu türlerin oluşturduğu enfeksiyonlar özellikle CD4+ hücre sayısı <50 hücre/ μ L olan şiddetli immün yetmezlikli hastalarda sistemik enfeksiyonlara dönüşme eğilimindedir. *E. bienewisi* tarafından oluşturulan enfeksiyonlar ise genellikle bağırsak epitel hücrelerinde ve hepatobilyer bölgede sınırlanmıştır (1).

Nadir Görülen Diğer Mikrosporidia Enfeksiyonları

Mikrosporidia türlerinin ayrıca serebral tutulumu, pulmoner enfeksiyonlara, üriner enfeksiyonlara, sinüzit, miyozit, peritonit, pankreatit, prostatit, dil ülserleri, kemik ve deri tutulumuna da neden olduğu bildirilmiştir (1, 6, 7).

İmmünite

Mikrosporidiosis'e bağlı immün yanıt, konak ve parazitin türüne göre oluşmaktadır (19). İmmunocompetent bireylerde mikrosporidia'ya karşı IgM ve IgG antikorları gelişmekte ve yaşam boyu devam etmektedir. İmmünespresif bireylerde ise antikor yanıtı deşışkendir (15, 58).

AIDS ve organ transplantasyonu olan immünespresif bireyler, mikrosporidiosis'e oldukça duyarlı olup özellikle bu tür hastalarda hücresel bağışıklık, mikrosporidiosis'den korunmada önemli bir faktördür. CD4+ ve CD8+ hücreleri enfeksiyona karşı dirençte önemli olup, CD8+ T hücreleri hücre içi enfeksiyonlarda önemli rol oynamakta ve parazit replikasyonunu kontrol etmektedir. *E. cuniculi* enfeksiyonlarında CD8+ T lenfositlerinin konağın korunmasında ve uzun süreli bir immün yanıtın oluşmasında önemli rol oynadığı bildirilmektedir (58).

Farelerde yapılan çalışmalarda IFN- α ve IL-12 eksikliğinin yüksek bir mortaliteye sahip olduğu bu nedenle, immün yanıtın oluşmasında önemli olduğu bildirilmiştir. IL-12, hücresel immün yanıtın başlaması ve düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir regülatör sitokindir. IL-12 yokluğunda Th2 yanıtın Th1 sitokinlere bağlı olarak herhangi bir inhibisyon yokken antikor üretiminin azaldığı belirtilmektedir (15).

TEDAVİ

Mikrosporidial enfeksiyonların tedavisi intrasellüler olmaları ve sporlarının doğal direnci nedeniyle oldukça zordur. İnsanda görülen mikrosporidia enfeksiyonlarının çoğu enteriktir. Genellikle *E. bienewisi*'nin *E. intestinalis*'ten daha yaygın olduğu fakat *E. intestinalis*'in tedaviye daha fazla duyarlı olduğu belirtilmektedir (6). Mikrosporidia tedavisinde genel olarak, albendazol, fumagillin, metronidazol, itrakonazol, trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX), atovakuon, furazolidon, nitazoksanid gibi ilaçlar kullanılmaktadır.

HIV ile enfekte hastalarda, özellikle *E. intestinalis* ve *E. bienewisi*'nin etken olduğu gastrointestinal tutulumlarda hastalığın progresif, sıklıkla fatal ve tedavisinin imkansız olduğu düşünülürken albendazol kullanımı ile mikrosporidiozis insidansında belirgin bir azalmanın olduğu belirtilmektedir. Benzimidazol türevi olan ve tubulinlere bağlanıp hücresel bölünmeyi durdurarak etki gösteren albendazol, günümüzde tedavide en çok ümit veren anti-mikrosporidial ajan olarak kabul edilmektedir (6, 7).

Fumagillin (3x20 mg/gün) veya TNP-470'in *E. bienewisi* enfeksiyonlarındaki hastaların tedavisinde daha etkili olduğu belirtilmektedir (59, 60). Fumagillin, başta *Entamoeba histolytica* olmak üzere in-vitro amoebisidal etkinliğinin olduğu belirtilirken son zamanlarda ilacın anti-mikrosporidial etkinliğinin de olduğu saptanmış ve tedavide kullanılmaya başlanmıştır. Prufiyeye fumagillin insanlar için toksik olduğu belirtilmesine rağmen, *E. bienewisi* ile enfekte dört hastaya uygulanmış ve bu hastaların tedavi edildiği, fakat ilaç tedavisi yarıda bırakıldığı zaman trombositopeniye neden olduğu belirtilmektedir (6).

Anti-mikrosporidial aktivitesine sahip olan talidomidin tümör nekrozis faktörünü düşürdüğü göz önüne alınarak, enterik mikrosporidial enfeksiyonu süresince diyaresi olan HIV pozitif hastalarda etkili olabileceği bildirilmiştir. Özellikle *E. bienewisi*'ye bağlı enfeksiyonlara karşı tedavide kullanılması önerilmiştir (6).

E. cuniculi ile enfekte hücre kültürleri üzerinde albendazolün direkt etkisi çalışılmış, parazitin proliferatif dönemlerinin geliştiği fakat çekirdeklerinin olmadığı görülmüştür. Bunun nedeninin albendazolün mikrotübüllerin polimerizasyonu durdurması olduğu rapor edilmektedir (60).

E. bienewisi'nin aksine, *E. intestinalis*'in albendazol ile yapılan tedaviye daha duyarlı olduğu görülmüştür. *E. bienewisi* konak hücre sitoplazmasında direkt olarak çoğalmasına rağmen, bir parazitoforoza vakuol içerisinde farklılaşan mikrosporidial türlerinin albendazole karşı çok fazla hassas olabileceği görülmüştür (61). Albendazol, *E. bienewisi* intestinal enfeksiyonunda sınırlı etki göstermekte, enfeksiyonu ortadan kaldıramamakta fakat diyareyi hafifletmektedir. Buna karşın *E. intestinalis* vakalarında enfeksiyonun ve semptomların ortadan kaldırılmasında etkisinin fazla olduğu bildirilmiştir (61).

Albendazol, fumagillin, 5 fluorourasil, siprofloksasin, oksibendazol ve propamidin izetionat'ın hücre kültürlerinde *E. cuniculi*'nin gelişimini inhibe ettiği saptanmış; ayrıca, klorokin, peflosin, azitromisin, rifambutin ve tiabendazolün ise yüksek konsantrasyonlarda etkili olduğu bildirilmiştir (62).

Keratokonjunktivit Tedavisi

Mikrosporidial stromal keratit vakalarında cerrahi yöntemler kullanılmış; ancak tedavi etkinliğinin sınırlı olduğu belirtilmiştir. Bilinen çeşitli antimikrobiyal, lubrikant ve antiinflamatuvar ajanlar mikrosporidia ile enfekte oküler tedavide kullanılmaktadır. Itrakonazolün, *Encephalitozoon* spp. ile kornea tutulumunda kısmen etkili olduğu belirtilmiştir (63). TMP-SMX'ün, mikrosporidial ishallerde sınırlı etkiye sahip olmasına rağmen oküler tutulumda topikal kullanımın fayda sağlamadığı gösterilmiştir (64).

Yüzeysel keratokonjunktivit tedavisinde; topikal propamidin izetionat ve topikal itrakonazol ile birlikte sistemik oral triazol, flukonazol, tiabendazol ve albendazol kullanılmışsa da son zamanlar

da en ümit verici ilacın topikal fumagillin olduğu kabul edilmektedir. Keratokonjunktivitli iki AIDS'li hastada topikal fumagillin uygulanmış ve sınırlı bir bölgede enfeksiyonun azaldığı belirtilmiştir (6).

Sistemik Enfeksiyonlarda tedavi

İntestinal, üriner sistem, nazal mukoza ve oküler tutulumun bulunduğu bir sistemik mikrosporidiozis vakasında albendazolün etkili olduğu bildirilmiştir. Albendazol dışında; fumagillin, benomil, toltrazuril'inde etkili olduğu belirtilmektedir. *E. bienewisi* ile enfekte olan ve diseminasyon gelişen HIV pozitif bir hastada parazit, dışkı, deudonal biyopsi, nazal mukoza ve balgamda transmisyon elektron mikroskopisi kullanılarak tespit edilmiş ve albendazole ile tedavi edilmesi sonrasında ilerleyen semptomların kaybolduğu ayrıca parazitin eradikasyonunu sağlandığı belirtilmiştir (65).

Korunma ve Kontrol

İnsan mikrosporidia enfeksiyonlarının kaynağı tam olarak tanımlanamamıştır. Son zamanlarda, insan-insan, hayvan-insan olarak bulaşmanın olduğu gösterilmiştir. Tam olarak açıklanamamakla birlikte, insanlara vektör veya ara konaklar vasıtasıyla da geçişin olabileceği bildirilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla, *E. intestinalis*'in lağım suları ile, *E. bienewisi*'nin yer altı ve içme suları ile, *V. corneae*'nin ise içme suları yoluyla bulaşabileceği doğrulanmıştır. Mikrosporidiaların sporları; dış ortama oldukça dayanıklı ve suda uzun süre canlı kalabilmektedirler. Ayrıca çok küçük oldukları için su filtrelerinden de geçebilmektedirler (6, 25). Çevrede nem ve sıcaklığa bağlı; aylarca hatta yıllarca canlı kalabilmekte, hastane ortamında (22°C) sporlar en az bir ay yaşayabilmektedir. Bu nedenle korunma ve kontrol yöntemlerini şu şekilde sıralanabilir;

Fekal-oral yolla bulaşma söz konusu ise; kişisel hijyene, özellikle el temizliğine önem verilmelidir. Çeşitli vücut sıvılarında enfektif sporlar bulunabileceğinden özellikle hastanelerde bu duruma dikkat edilmelidir. Konjunktivit ve diğer göz enfeksiyonları açısından kirli ellerle gözlere dokunulmamalıdır. Ayrıca evde hazırlanan lens solüsyonları kullanılmamalıdır.

Yeterli konsantrasyonda; dezenfektanlarla 30 dakikada, kaynatılarak 5 dakikada, 120 °C'de otoklavda sporlar canlılığını yitirmektedir. Sporların bulunabileceği yerlerin en az 30 dakika dezenfektanlarla (%70 Etanol, %0.3-1 Formaldehit, %1 Hidrojen Peroksit, %1 NaOH) temizlenmesi, enfekte maddelerin kaynatılması veya 120 °C'de 10 dakika otoklavlanmasının etkili olduğu bildirilmiştir. Dondurmak dezenfeksiyonda etkili değildir. Bütün bunlara rağmen etkili korunma stratejilerinin geliştirilmesi sınırlı olmaktadır (11, 65).

SONUÇ

Mikrosporidialar omurgalı ve omurgasız geniş yelpazede konak seçiciliği gösteren, mikrospora şubesi içerisinde yer alan, küçük, spor oluşturan, zorunlu hücre içi parazitidir. Bulaşma kişiden kişiye direkt olduğu gibi, su, süt, yiyecek, homoseksüel ilişki, yüzme havuzu suları, hayvan ve vektörler aracılığıyla da gerçekleşmektedir. Klinik semptomlar, enfeksiyonun lokalizasyonu ve konağın immun yanıtına göre değişmektedir. Diyareden, sistemik enfeksiyonlara kadar çok farklı kliniğe sebep olan bu parazitin sporları dezenfektanlarla 30 dakikada, kaynatılarak 5 dakikada öldüğü gibi, 120 °C'de otoklavlanarak da canlılığını yitirmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Hakem değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları

Fikir - S.Y., Ö.K.; Tasarım - S.Y., S.K.; Denetleme - S.Y.; Kaynaklar - Ü.Ç.; Malzemeler - Ü.Ç., Ü.K.; Veri toplanması ve/veya işlemesi - Ü.Ç., B.H.; Analiz ve/veya yorum - S.S., S.K.; Literatür taraması - Ü.Ç., B.H.; Yazıyı yazan - Ü.Ç., B.H.; Eleştirel inceleme - S.S., Ö.K.; Diğer - S.Y., Ü.Ç.

Conflict of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions

Concept - S.Y., Ö.K.; Design - S.Y., S.K.; Supervision - S.Y.; Funding - Ü.Ç.; Materials - Ü.Ç., Ü.K.; Data Collection and/or Processing - Ü.Ç., B.H.; Analysis and/or Interpretation - S.S., S.K.; Literature Review - Ü.Ç., B.H.; Writing - Ü.Ç., B.H.; Critical Review - Ü.Ç., B.H.; Other - S.Y., Ü.Ç.

KAYNAKLAR

1. Franzen C, Muller A. Molecular techniques for detection, species differentiation, and phylogenetic analysis of microsporidia. *Clin Mic Rev* 1999; 12: 243-85.
2. Keeling PJ, Fast NM. Microsporidia: biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Ann Rev Microbiol* 2002; 56: 93-116. [\[CrossRef\]](#)
3. Didier ES, Weiss LM. Microsporidiosis: current status. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19: 485-92. [\[CrossRef\]](#)
4. Weber R, Bryan RT, Schwartz DA, Owen RL. Human Microsporidian infections. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7: 426-61.
5. Keohane EM, Weiss LM. The structure, Function and Composition of the Microsporidian Polar Tube. Wittner M, Weiss LM editors. *The Microsporidia and Microsporidiosis*. Washington: AMS pres; 1999.p.196-224.
6. Curry A, Beeching NJ, Gilbert JD, Scott G, Rowland PL, Currie BJ. Trachipleistophora hominis infection in the myocardium and skeletal muscle of a patient with AIDS. *J Infect* 2005; 51: 139-44. [\[CrossRef\]](#)
7. OK ÜZ, Limoncu ME. Microsporidiosis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, editors. *Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları*. İzmir: Meta basım; 2007.p.397-410.
8. Joseph J, Vemuganti GK, Sharma S. Microsporidia: emerging ocular pathogens. *Indian J Med Microbiol* 2005; 23: 80-91. [\[CrossRef\]](#)
9. Didier Es, Stowall ME, Green LC, Brindley PJ, Sestak K, Didier PJ. Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission. *Veter Parasitol* 2004; 126: 145-66. [\[CrossRef\]](#)
10. Curry A. Microsporidiosis. Cox FEG, Wakelin D, Gillespie SH, Despommier DD, editors. *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections; Parasitology*. Washington: ASM pres; 2005.p.529-55.
11. Karaman Ü. İnsanlarda microsporidia'ların epidemiyolojisi (malatya ili örneği), doktora tezi, Malatya, 2007.
12. Dunn AM, Smith JE. Microsporidian life cycles and diversity: the relationship between virulence and transmission. *Microbes Infect* 2001; 3: 381-8. [\[CrossRef\]](#)
13. Franzen C. Microsporidia: how can they invade other cells? *Trends in Parasitology* 2004; 20: 275-9. [\[CrossRef\]](#)
14. Franzen C. How do Microsporidia invade cells?. *Folia Parasitologica* 2005; 52: 36-40.
15. Aksoy Ü, Usluca S. Microsporidiosis ve immunolojisi. Özcel MA, İnci A, Tuğay N, Köroğlu E, editors. *Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji*. İzmir: Meta basım; 2007.p.102-20.
16. Franzen C, Müller A, Hartmann P, Salzberger B. Cell Invasion and intracellular fate of Encephalitozoon cuniculi (Microsporidia). *Parasitology* 2005; 130: 285-92. [\[CrossRef\]](#)
17. Atambay M, Karaman Ü, Daldal N, Çolak C. İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Parazitoloji Laboratuvarına Gelen Erişkin Hastalarda Microsporidium Görülme Sıklığı. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2008; 32: 113-5.
18. Karaman Ü, Atambay M, Daldal N, Çolak C. Kanser Tanısı Almış Hastalarda Microsporidium Görülme Sıklığı. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2008; 32: 109-12.
19. Türk S. İshalli Olgularda Microsporidia Sıklığının Farklı Boyama Yöntemleriyle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2010.
20. Yazar S, Eser B, Yalçın Ş, Şahin İ, Koç N. Acase of Pulmonary Microsporidiasis in an Acute Myeloblastic Leukemia (AML)- M3 Patient. *Yosei Med J* 2003; 44: 146-9.
21. Büğet E, Büyükbaba-Boral Ö, Kırkoyun-Uysal H, Nazlıcan Ö, Öğüt T, Şengür G. Türkiye'de bir AIDS hastasında ilk mikrosporidiaz ve solunum sistemini tutan ilk kriptosporidiaz olgusu. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2000; 30: 166-70.
22. Sancak B, Akyön Y. Microsporidia: Genel özellikleri, infeksiyonları ve laboratuvar tanısı. *Microbiol Bül* 2005; 39: 513-22.
23. Daldal N, Alkan MZ. Isosporiosis, sarcocystosis, microsporidiosis. Özcel MA, editor. *İmmun Yetmezlikte Önemi Artan Parazit Hastalıkları*. İzmir; Türkiye Parazitoloj Derg Yay: 1995.p.51-67.
24. Franzen C, Müller A. Microsporidiosis: human diseases and diagnosis. *Micro Infect* 2001; 3: 389-400. [\[CrossRef\]](#)
25. Garcia LS. *Diagnostic Medical Parasitology*. Washington, USA ASM Press.p.33-46.
26. Kokoskin E, Gyorkos TW, Camus A, Cedilotte L, Purtil T, Ward B. Modified Technique for efficient detection of microsporidia. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1074-5.
27. Carter PL, MacPherso DW, McKenzie RA. Modified Technique to recover microsporidian spores in sodium acetate-acetic acid-formalin-fixed fecal samples by light microscopy and correlation with transmission electron microscopy. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2670-3.
28. Ryan NJ, Sutherland G, Coughlan K, Globan M, Doultree J, Marshall J, et al. A new trichrome ble stain for detection of microsporidian species in urine, stool and nasopharyngeal specimens. *J clin microbiol* 1993; 31: 3264-9.
29. Karaca Ö, Rota S. İnsan microsporidian infeksiyonları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1996; 26: 142-50.
30. Tuli L, Singh DK, Gulati AK, Sundar S, Mohapatra TM. A multiattribute utility evaluation of different methods for the detection of enteric protozoa causing diarrhea in AIDS patients. *BMC Microbiol* 2010; 10: 11. [\[CrossRef\]](#)
31. Miller AA, Simakova AV. Use of the OTE-staining method for ultrathin sections on the example of microsporidia (Protozoa: Microsporidia). *Tsitologiya* 2009; 51: 741-7.
32. Chioralia G, Trammer T, Kampen H, Seitz H. Relevant criteria for detecting microsporidia in stool specimens. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2279-83.
33. Joseph J, Murthy S, Garg P, Sharma S. Use of different stains for microscopic evaluation of corneal scrapings for diagnosis of microsporidian keratitis. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 583-5. [\[CrossRef\]](#)
34. Green LC, LeBlanc PJ, Didier ES. Discrimination between viable and dead Encephalitozoon cuniculi (microsporidian) spores by dual staining with sytox green and calcofluor white M2R. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3811-4.
35. Field AS, Marriott DJ, Hing MC. The Warthin-Starry stain in the diagnosis of small intestinal microsporidiosis in HIV-infected patients. *Folia Parasitol (Praha)* 1993; 40: 261-6.

36. Mathis A, Weber R, Deplazes P. Zoonotic potential of the microsporidia. *Clin Microbiol* 2005; 18: 423-45. [\[CrossRef\]](#)
37. Accoceberry I, Thellier M, Desportes-Livage I, Achbarou A, Biligui S, Danis M, et al. Production of monoclonal antibodies directed against the *Microsporidium Enterocytozoon bienewsi*. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 4107-12.
38. Franzen C, Müller A, Hartmann P, Salzberger B. Quantitation of Microsporidia in cultured cell by flow cytometry. *Cytometry A* 2004; 60: 107-14. [\[CrossRef\]](#)
39. Didier ES, Didier PJ, Friedberg DN, Stenson SM, Orenstein JM, Yee RW, et al. Isolation and characterization of a new human microsporidian, *Encephalitozoon hellem* (n.sp.), from three AIDS patients with keratoconjunctivitis. *J Infect Dis* 1991; 163: 617-21. [\[CrossRef\]](#)
40. Ghosh K, Weiss LM. Molecular diagnostic tests for microsporidia. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2009; 2009: 926521.
41. Monteiro L, Bonnemaïson D, Vekris A, Petry KG, Bonnet J, Vidal R, et al. Complex polysaccharides as PCR inhibitors in feces: *helicobacter pylori* model. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 995-8.
42. Subrungruan I, Mungthi M, Chavalitshewinkoon-Petmit P, Rangsi R, Naaglor T, Leelayoova S. Evaluation of DNA extraction and PCR methods for detection of *Enterocytozoon bienewsi* in stool specimens. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3490-4. [\[CrossRef\]](#)
43. Graczyk TK, Johansson MA, Tamang L, Visvesvara GS, Moura LS, DaSilva AJ, et al. Retrospective species identification of microsporidian spores in diarrheic fecal samples from human immunodeficiency virus/AIDS patients by multiplexed fluorescence in situ hybridization. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1255-60. [\[CrossRef\]](#)
44. Wang Z, Orlandi PA, Stenger DA. Simultaneous detection of four human pathogenic microsporidian species from clinical samples by oligonucleotide microarray. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4121-8. [\[CrossRef\]](#)
45. Breton J, Bart-Delabesse E, Biligui S, Carbone A, Seiller X, Okome-Nkoumou M, et al. New highly divergent rRNA sequence among bio-diverse genotypes of *Enterocytozoon bienewsi* strains isolated from humans in Gabon and Cameroon. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2580-9. [\[CrossRef\]](#)
46. Santin M, Cortés Vecino JA, Fayer R. *Enterocytozoon bienewsi* genotypes in dogs in Bogota, Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79: 215-7.
47. Da Silva AJ, Schwartz DA, Visvesvara GS, Moura H, Slemenda SB, Pieniazek NJ. Sensitive PCR diagnosis of infections by *Enterocytozoon bienewsi* (microsporidia) using primers based on the region coding for small-subunit rRNA. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 986-7.
48. Zhu X, Wittner M, Tanowitz HB, Kotler D, Cali A, Weiss LM. Small subunit rRNA sequence of *Enterocytozoon bienewsi* and its potential diagnostic role with use of the polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1993; 168: 1570-5. [\[CrossRef\]](#)
49. Carville A, Mansfield K, Widmer G, Lackner A, Kotler D, Wiest P, et al. Development and application of genetic probes for detection of *Enterocytozoon bienewsi* in formalin-fixed stools and in intestinal biopsyspecimens from infected patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4: 405-8.
50. Velasquez JN, Carnevale S, Guarnera EA, Labbe JH, Chertcoff A, Cabrera MG, et al. Detection of the microsporidian parasite *Enterocytozoon bienewsi* in specimens from patients with AIDS by PCR. *J Clin Microbiol* 1996; 43: 3230-2.
51. David F, Schuitema AR, Sarfati C, Liquory O, Hartskeerl RA, Derouin F, et al. Detection and species identification of intestinal microsporidia by polymerase chain reaction in duodenal biopsies from human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* 1996; 174: 874-7. [\[CrossRef\]](#)
52. Weiss LM, Zhu X, Cali A, Tanowitz HB, Wittner M. Utility of microsporidian rRNA in diagnosis and phylogeny: a review. *Folia Parasitol* 1994; 41: 81-90.
53. Da Silva AJ, Slemenda SB, Visvesvara GS, Schwartz DA, Wilcox CM, Wallace S, et al. Detection of *Septata intestinalis* (microsporidia) cali et al. 1993 using polymerase chain reaction primers targeting the small subunit ribosomal RNA coding region. *Mol Diagn* 1997; 2: 47-52. [\[CrossRef\]](#)
54. Visvesvara GS, Leitch GJ, Da Silva AJ, Croppo GP, Moura H, Wallace S, et al. Polyclonal and monoclonal antibody and PCR-amplified small-subunit rRNA identification of a microsporidian, *Encephalitozoon hellem*, isolated from an AIDS patient with disseminated infection. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2760-8.
55. Visvesvara GS, Belloso M, Moura H, Da Silva AJ, Moura IN, Leitch GJ, et al. Isolation of *Nosema algerae* from the cornea of an immunocompetent patient. *J Eukaryot Microbiol* 1999; 46: 10S.
56. Cali A, Takvorian PM, Lewin S, Rendel M, Sian CS, Wittner M, et al. *Brachiola vesicularum*, n. g., n. sp., a new microsporidium associated with AIDS and myositis. *J Eukaryot Microbiol* 1998; 45: 240-51. [\[CrossRef\]](#)
57. Saigal K, Sharma A, Sehgal R, Sharma P, Malla N, Khurana S. Intestinal microsporidiosis in India: A two year study. *Parasitol Int* 2013; 62: 53-6. [\[CrossRef\]](#)
58. Valencakova A, Halanova M. Immune response to *Encephalitozoon* infection review. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2012; 35: 1-7. [\[CrossRef\]](#)
59. Didier PJ, Phillips JN, Kuebler DJ, Nasr M, Brindley PJ, Stoval I ME, et al. Antimicrosporidial activities of fumagillin, TNP-470, Ovalicin and ovalicin derivatives in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2146-55. [\[CrossRef\]](#)
60. Molina JM, Oksenhendler E, Beauvais B, Sarfati C, Jaccard A, Derouin F, et al. Disseminated microsporidiosis due to *Septata intestinalis* in patients with AIDS: Clinical features and response to albendazole therapy. *J Infect Dis* 1995; 171: 245-9. [\[CrossRef\]](#)
61. Gross U. Treatment of Microsporidiosis Including Albendazole. *Parasitol Res* 2003; 90: 14-8.
62. Beauvais B, Sarfati C, Challier S, Derouin F. In vitro model to assess effect of antimicrobial agents on *Encephalitozoon cuniculi*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2440-8.
63. Yee RW, Tio FO, Martinez JA, Held KS, Shadduck JA, Didier ES. Resolution of microsporidial epithelial keratopathy in a patient with AIDS. *Ophthalmology* 1991; 98: 196-201. [\[CrossRef\]](#)
64. Metcalfe TW, Doran RM, Rowlands PL, Curry A, Lacey CJ. Microsporidial Keratoconjunctivitis in a patient with AIDS. *Br J Ophthalmol* 1992; 76: 177-8. [\[CrossRef\]](#)
65. Rabaud C, Georges E, Guedenet JC, Allamagny E, May T, Canton P. Disseminated infestation of *E. bienewsi* in an HIV-infected Patient. *Pathol Biol (Paris)* 1999; 47: 576-8.