

**TEKİRDAĞ'DA İNSANLARDA *Giardia*  
spp. VARLIĞININ MİKROSKOBİK  
YÖNTEM ve PCR ARACILIĞIYLA  
TAKİBİ**

**Şadiye KAPLAN KÜÇÜK**

**Yüksek Lisans Tezi  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Doç. Dr. Sırrı KAR**

**2013**

**T.C.**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEKİRDAĞ'DA İNSANLARDA *Giardia* spp. VARLIĞININ  
MİKROSKOBİK YÖNTEM ve PCR ARACILIĞIYLA TAKİBİ**

**Şadiye KAPLAN KÜÇÜK**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Doç. Dr. Sırrı KAR**

**TEKİRDAĞ-2013**

**Her hakkı saklıdır**

Doç. Dr. Sırrı KAR danışmanlığında, Şadiye KAPLAN KÜÇÜK tarafından hazırlanan “Tekirdağ’da İnsanlarda *Giardia* spp. Varlığının Mikroskopik Yöntem ve PCR Aracılığıyla Takibi” isimli bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı: Doç.Dr.Handan ÇETİNKAYA

*İmza :*

Üye: Doç.Dr.Sırrı KAR

*İmza:*

Üye: Doç.Dr.Rıfat BİRCAN

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### TEKİRDAĞ'DA İNSANLARDA *Giardia* spp. VARLIĞININ MİKROSKOBİK YÖNTEM ve PCR ARACILIĞIYLA TAKİBİ

Şadiye KAPLAN KÜÇÜK

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sırrı KAR

Giardiosis, tüm dünyada ve Türkiye’de, insanlarda ve hayvanlarda görülen zoonotik bir protozoon hastalığıdır. Hastalığın klinik karakteri subklinikten, şiddetli ishal ile karakterize akut forma kadar değişir. Etkeni *Giardia* cinsinde yer alan kamçılı protozoonlardır. Başlıca bağırsaklarda etkili olan parazitin doğadaki döngüsü temel olarak fekal oral bulaşma esasına dayanır. Dışkı ile atılan kist formları, değişen çevresel koşullara oldukça dirençli olduğundan ve özellikle sulu ortamda uzun süre canlı kalabildiğinden, hastalığa genelde yaygın olarak rastlanır.

Bu tezde, 01.01.2011- 31.12.2011 tarihleri arasında Tekirdağ Devlet Hastanesine özellikle sindirim sistemi şikayeti ile başvuran 573 hastadan gaita numuneleri alınmış ve söz konusu süreçte hastaya ve gaita numunelerine yönelik temel parametreler kaydedilmiştir. Takibinde numuneler natif muayene ve doymuş çinko sülfat flotasyon tekniği kullanılarak, mikroskop altında *Giardia* spp. kistleri yönünden incelenmiştir. Bu numunelerden, kist yönünden pozitif olanlar ve hastalığın subklinik formuna sahip olabileceği düşünülen örneklerden 90’ı seçilmiş ve DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Takibinde *Giardia duodenalis* spesifik,  $\beta$ -giardin gen bölgesine yönelik primerler kullanılarak nested PCR yapılmış ve ürünler *HaeIII* enzimi ile kesilerek poliakrilamid jel elektroforez-PAGE’de yürütülmüştür.

Sonuç olarak, natif muayenede 21 (%3,66), doymuş çinko sülfat flotasyonu ile 26 (%4,54), nested PCR ile 27 (%4,71) pozitif elde edilmiştir. Sınırlayıcı enzim parça uzunluk çeşitliliği-RFLP verilerine göre, pozitif örneklerin 15’inin (%55,56) assemblage A, 2’sinin (%7,41) assemblage B ve 10’unun (%37,03) assemblage B ve assemblage E miks olduğu anlaşılmıştır. Kaydedilen verilerle sonuçlar karşılaştırıldığında, Tekirdağ’da insan giardiosisinin belli bir önem taşıdığı ve hastalığın zoonotik dinamiğinin bölgede önemli bir role sahip olabileceği görülmüştür. Yine bu tez çalışmasıyla, dünyada ilk defa insanlarda bu derecede yoğun assemblage E bildirim yapılmakta olup, ilgili olguların belirgin klinik öneme sahip olması, söz konusu türe yönelik daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiğini göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Giardia*, assemblage, PCR, RFLP, insan, Tekirdağ

2013, 66 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### INVESTIGATION OF *Giardia* spp. EXISTENCE BY USING MICROSCOPIC METHOD and PCR IN HUMAN IN TEKIRDAG

Sadiye KAPLAN KUCUK

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sırrı KAR

Giardiasis is a zoonotic protozoan disease, which is seen worldwide, including in Turkey. Clinical feature of the disease varies from subclinical infection to overt, acute form characterised with severe diarrhea. The agent is flagellated protozoan in *Giardia* genus. Natural life cycle of the parasite, which especially affects the small intestine, is based on primarily faecal-oral transmission route. The disease is prevalent because the cyst form, excreted with faeces, is highly resistant to different environmental conditions, and can survive for a long period especially in water.

In this study, single stool samples were collected from the 573 patients who applied to the public hospital especially with complaints of gastrointestinal symptoms, between 01 January 2011-31 December 2011, in Tekirdag, and in this period, all the information were recorded, about the faeces specimen and the patients. Subsequently, the samples were examined using wet-mount and saturated zinc sulfate centrifugal flotation method, and the slides were screened for the cysts of *Giardia* spp. under light microscope. Of the total specimen, 90 samples, which were either cyst positive or negative but obtained from the patients who were suspected of having subclinical form of the disease, were selected and DNA extraction was performed. After that, nested PCR was conducted using *Giardia duodenalis* specific primers targeted to DNA sequences of  $\beta$ -giardin gene region, and the yields of the PCR were restricted with endonuclease *Hae*III and run on polyacrylamide gel electrophoresis-PAGE.

As a result, 21 (3.66%), 26 (4.54%) and 27 (4.71%) positive were detected in the wet-mount, saturated zinc sulfate centrifugal flotation, and nested PCR methods respectively. According to the restriction fragment length polymorphism-RFLP, it was observed that out of the positive samples, 15 (55.56%) were assemblage A, 2 were (7.41%) assemblage B, and 10 (37.03%) were mix of assemblage B and assemblage E. It was evaluated that human giardiasis has a certain importance in Tekirdag, and zoonotic cycle of the disease should have an important role in the region. In this thesis, assemblage E infection, at this high prevalence level in humans, is reported first here, and serious clinical features of the related cases pointed to the need for more detailed studies on this assemblage.

**Keywords:** *Giardia*, assemblage, PCR, RFLP, human, Tekirdag

**2013, 66 pages**

## TEŞEKKÜR

Bu tez için çalışmaya danışman hocamla konuyu tespit ettikten hemen sonra başladım ve bir yıl süre ile tez materyallerini topladım. Örneklerin bir yıl süreyle çinko sülfat flotasyonunu yapmak ciddi anlamda zor bir süreçti; cam tüplerin az olması ve sürekli tüplerin yeniden yıkanıp arındırılması prosedürleri gayet yorucuydu. İşte bu zor günlerde, çalışmamın başından sonuna kadar her aşamasında yardımcı olan, benimle birebir çalışan, her konuda desteğini esirgemeyen, çok yorulduğumuz zaman enerji versin diye fındık fıstıkla besleyen çok sevgili yüksek lisans arkadaşım, kardeşim sevgili Nesrin Bahadır'a;

Tezimin oluşması, geliştirilmesi de dahil her aşamasında yanımda olan, meydana gelen aksaklıklara rağmen desteğini ve güvenini her zaman hissettiğim çok sayın danışman hocam Doç. Dr. Sırrı Kar'a;

Tez çalışmalarım esnasında çocuklarım ve evime daha az vakit ayırabildiğimden bu süre zarfında bazen benden sitemlerini sakınmayan, fakat her şeye rağmen öncelikle anlayışını ve her türlü desteğini esirgemeyen bir tanem, eşim Nurettin Küçük'e;

Bu tezin ortaya çıkması için gereken numunelerin toplanması aşamasında bana çok yardımcı olan "Tekirdağ Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda" çalışan sevgili mesai arkadaşlarım Canan Altıbağ, Sebahat Paşa, Rukiye Eğri, Yıldız Elma, Yelda Özpehlivan, Gülşen Demir Çevik ve Dilek Ertekin'e ve ayrıca Mikrobiyoloji Laboratuvarı Şefleri Dr. Aslıhan Uzun ve Dr. Erdal Oğuz Kaya'ya;

Her türlü desteğini bizden esirgemeyen Marmara Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Prof.Dr. Ayşen Gargılı'ya;

Yardım istediğimiz her konuda bizim için vakit harcamaktan kaçınmayan sayın hocam Doç. Dr. Rıfat Bircan'a ve güleryüzleri ve her konuda destekleri için Biyoloji Bölümünün çok değerli hocalarına ve araştırma görevlisi Levent Can'a;

Teşekkürü bir borç bilirim.

## **Yüksek Lisans**

Mezun olalı olmuş 12 yıl  
Bi gayret dedim, başladım  
Namık Kemal Üniversitesi  
Biyoloji bölümüne  
Çok zor geldi önce, bilgiler eski  
Power-point bilmem, çeviri yapmamışım  
Yokmuş insanoğlunun yapamayacağı  
Deyip, verdim gazı kendime  
Başlarda tutuk, çekingen  
Sesim titrer sunum yaparken  
Yaşım alsa da başımı  
Bitmiyor işte heyecan  
Zaman geçtikçe daha iyi oldu  
Unutamam, hocalarımın ilgi ve anlayışını  
Yermediler hiçbir zaman ne beni ne başkalarını  
Bir dönem daha var önümde  
Asıl stresli bu dedikleri tez yazımı  
Ama bulmuşum melek gibi hocaları  
Hele de danışmanım Doç.Dr. Sırrı Kar'ı  
Düşünmem mi hiç  
İleride doktoradır hayırlısı  
Bir bitirebilsem tezim yüksek lisansı.

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

$\mu$ l	Mikrolitre
A	Adenin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIDS	Acquired immunodeficiency syndrome
Beslenme eksik.	Beslenme eksikliği
<i>bg</i>	Beta giardin
bp	Base pair (baz çifti)
C	Sitozin
CWP	Kist duvar proteini
DAPI	4,6-diamidino -2-phenylindole
dATP	Deoksiadenozin trifosfat
dCTP	Deoksisitidin trifosfat
DFA	Direct fluorescent antikor tekniği
dGTP	Deoksiguanozin trifosfat
dH <sub>2</sub> O	Distile su
dk.	Dakika
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleikasit trifosfat
dTTP	Deoksitimidin trifosfat
EDTA	Etilendaimintetraasetik asit



<i>ef-1</i>	Elongation faktör 1
EIA	Enzyme immunoassay
ESV	Enkistasyon-spesifik veziküller
EtBr	Etidyum bromit
G	Guanin
g	Gravity
Gastroöz.	Gastroözefageal
<i>gdh</i>	Glutamat dehidrogenaz
gr	Gram
HCl	Hidroklorik asit
HIV	Human immunodeficiency virus
Ig	İmmunglobulin
<i>IGS</i>	İntergenomik rRNA spacerregion
<i>ITS</i>	İntergenomik rRNA spacer
$K_2Cr_2O_7$	Potasyum dikromat
KCl	Potasyum klorür
kDA	Kilodalton
M	Molar
Mah.	Mahalle
mg	Miligram
$MgCl_2$	Magnezyum klorür

ml	Mililitre
mM	Milimolar
°C	Derece selsius
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis
PCR	Polimerase chain reaction
PI	Propidium iodide
rDNA	Ribozomal deoksiribonükleik asit
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
rpm	Revolution per minute
spp	Türler
<i>ssu-rRNA</i>	The small subunit ribosomal RNA
T	Timin
TBE	Tris borat EDTA
<i>tpi</i>	Trioz fosfat izomeraz
WHO	World Health Organisation
ZnSO <sub>4</sub>	Çinko sülfat

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
İÇİNDEKİLER .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	5
2.1. Tarihçe .....	5
2.2. <i>Giardia</i> spp.'nin Sınıflandırmadaki Yeri .....	6
2.3. Morfoloji .....	9
2.4. Yaşam Döngüsü .....	12
2.5. Patoloji ve İmmunoloji .....	16
2.6. Klinik .....	18
2.7. Epidemiyoloji .....	21
2.8. Zoonotik Önem .....	23
2.9. Tanı .....	24
2.9.1 İndirekt tanı yöntemleri .....	25
2.9.2. Direkt tanı yöntemleri .....	25
2.9.2.1. Dışkıda etken tanısı .....	25
2.9.2.2. Duodenal sıvıda etken tanısı .....	27
2.10. Tedavi .....	27
2.11. Korunma ve Kontrol .....	28
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	30
3.1. Materyal .....	30
3.1.1. Kullanılan cihazlar .....	30
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler .....	31
3.1.3. Kullanılan çözeltiler .....	32
3.1.3.1. Doymuş çinko sülfat çözeltisi .....	32
3.1.3.2. Nested PCR çözeltileri .....	32
3.1.3.3. Agaroz jel elektroforez çözeltileri .....	32

3.1.3.4. RFLP çözeltileri .....	33
3.1.3.5. PAGE çözeltileri .....	33
3.1.4. Kullanılan primerler .....	34
3.1.5. Kullanılan restriksiyon enzimi .....	35
3.1.6. Hasta grubu .....	35
3.2. Yöntem .....	35
3.2.1. Numunelerin toplanması .....	35
3.2.2. Numunelerin natif muayenesi .....	35
3.2.3. Doymuş çinko sülfat flotasyonu .....	36
3.2.4 DNA ekstraksiyonu .....	36
3.2.5. Nested PCR .....	36
3.2.6. Agaroz jel elektroforezi .....	37
3.2.7. RFLP .....	37
3.2.8. PAGE .....	38
3.2.9. İstatistiksel analizler .....	38
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>39</b>
4.1. Hasta Grubuna ve Genel Gaita Tetkikine Yönelik Veriler .....	39
4.2. Mikroskopik Muayene Sonuçları .....	39
4.3. Nested PCR Sonuçları .....	40
4.4. RFLP Sonuçları .....	42
4.5. Pozitif Örneklerin Çeşitli Parametrelerle İlişkisi .....	44
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>53</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>60</b>
ÖZGEÇMİŞ .....	67

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Giardia intestinalis</i> 'in yaşam döngüsü.....	13
Şekil 4.1. Dışkıının natif mikroskopik muayenesinde görülen <i>Giardia</i> spp. kistleri (x40) .....	40
Şekil 4.2. Nested PCR işleminde pozitif çıkan numunelere ait PCR ürünlerinin (511 bp) %2'lik jel elektroforez görüntüsü. Numunelere ait protokol numaraları kuyucukların üst bölümlerinde verilmiştir.....	41
Şekil 4.3. <i>HaeIII</i> enzimi ile kesilen 13 örneğe ait restriksiyon ürünlerinin PAGE (%12) görüntüsü. Örnek numarası ve çıkan assemblage çeşidi kuyucukların üst kısımlarında verilmiştir .....	43
Şekil 4.4. <i>HaeIII</i> enzimi ile kesilen 14 örneğe ait restriksiyon ürünlerinin PAGE (%12) görüntüsü. Örnek numarası ve çıkan assemblage çeşidi kuyucukların üst kısımlarında verilmiştir. ....	44
Şekil 4.5. Assemblage ve dışkı tipi arasındaki ilişkinin bar grafik analizi. ....	45
Şekil 4.6. Assemblage ve klinik tanı arasındaki ilişkinin bar grafik analizi .....	46
Şekil 4.7. Assemblage, klinik ve dışkı tipi arasındaki ilişkinin bar grafik analizi .....	47
Şekil 4.8. Assemblage, klinik ve dışkı tipi arasındaki ilişkinin dilimli grafik analizi .....	47

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>Giardia</i> cinsi içerisinde varlığı kesinleşmiş veya yaygın kabul edilen türler, bağlı alt gruplar ve öncelikli konakları.....	7
Çizelge 3.1. PCR aşamasında kullanılan primerler ve ilgili bilgiler.....	34
Çizelge 3.2. Yapılan ilk PCR’de kullanılan ısıl döngü koşulları.....	37
Çizelge 3.3. RFLP reaksiyon koşulları.....	37
Çizelge 3.4. Poliakrilamid dikey jel elektroforez malzemeleri.....	38
Çizelge 4.1. Nested PCR ve çinko sülfat flotasyon yöntemlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması.....	42
Çizelge 4.2. Çinko sülfat flotasyon yöntemi ile natif muayeneden elde edilen sonuçların karşılaştırılması.....	42
Çizelge 4.3. Nested PCR ile incelenen 90 numuneye yönelik klinik, gaita tetkiki, mikroskopik muayene ve nested PCR-RFLP tetkiki sonuçları.....	48

## 1. GİRİŞ

Protozoonlar, tek hücreli canlılar olup metazoada birçok hücrenin sistemli çalışması ile gerçekleştirilen süreçler, bu canlılarda tek bir hücre tarafından meydana getirilir (Saygı 2002; Ortega 2006). Protozoonların büyük bir kısmı doğada serbest olarak yaşamını sürdürürken, bazıları insan ve hayvanların parazitidir. Söz konusu parazitlik, türe göre monoksen veya heteroksen olabilmekte, birçok doku ve organ çeşidi enfeksiyondan etkilenebilmekte, oluşan klinik tablo akut, subakut, kronik, subklinik, ılımlı veya yüksek mortaliteyle seyredabilmektedir (Karaer ve Dumanlı 2010).

İster parazit olsun, isterse serbest yaşasın bir protozoonun vücudu, dıştan içe doğru üç temel kısımdan oluşur. Bunlar; plazma zarı, sitoplazma ve çekirdektir. Sitoplazma, plazma zarının hemen altında, hiyalini görünümde ve yumurta akı kıvamında olan ektoplazma ile, ektoplazma ve çekirdek zarı arasında kalan, granüler yapıdaki endoplazmadan oluşur. Söz konusu iki bölümün ayrımı bazı protozoonlarda net olarak seçilirken, bazılarında, özellikle de ışık mikroskopu koşullarında oldukça zordur (Saygı 2002). Endoplazma, beslenme ve çoğalma fonksiyonlarını yerine getirirken, ektoplazmanın fonksiyonları hareket, besinin alınması ve vücudun korunmasıdır (Yaşarol 1984). Protozoonun türüne göre, sitoplazma içerisinde farklı büyüklüğe, şekle ve konuma sahip en az bir çekirdek bulunur. Çekirdek, canlının hayati fonksiyonlarını yöneten ana üs konumunda olup, barındırdığı karyoplazmanın miktarına göre veziküler ve kompakt olmak üzere iki çeşit çekirdek ile karşılaşılır (Saygı 2002). Birçok protozoon türü, membrana bağlı tek bir nükleusa sahiptir. Öte yandan, bazı türlerde çekirdek sayısı birden fazladır. Örneğin, *Giardia* spp.'de transkripsiyonel olarak birbirinin kopyası olan iki aktif nükleus vardır. Yine, çoğu protozoon türü, hareket için özelleşmiş en az bir çeşit organelle sahiptir. Kamçı, dalgalı zar, silyum, pseudopod bunlardan başlıcalarıdır (Despommier ve ark. 2000).

Parazit protozoonların çoğu konakta intraselüler, bazıları ise interselüler yerleşim gösterirler ki üreme alanı ve konak çeşidi konusunda genellikle zorunlu bir parazitlik çeşidine sahiptirler. Bakterilerin aksine, zorunlu parazit olan protozoon türleri konak dışında üreyemezler. O nedenle de, gıda kontaminasyonlarının belirlenmesinde, bazı parazit türlerinden yararlanılır. Çünkü, söz konusu parazitlerin varlığı, gıdanın mutlak suretle enfekte konak veya konağa ait enfekte materyal ile kontamine olduğunu gösterir. Bu noktada karşılaşılan en büyük problem, az sayıda etkenin saptanmasındaki güçlüklerdir. Adı geçen problemin üstesinden gelebilmek adına, etkili bir izolasyon ve moleküler teknikler esasına

dayalı tanı teknikleri geliştirilmiştir. Ancak yine de, her organizma için geçerli olan bazı kısıtlayıcı faktörler hala bulunmaktadır (Ortega 2006).

Protozoonların konaktan konağa geçişinde doğrudan temas, kontamine su ve diğer gıdaların tüketilmesi ve artropodlarla nakil en önemli yollardır. Özellikle dışkı ile saçılan protozoon kist veya ookistlerinin yayılışında kontamine akarsu, kaynak suları, kıyı suları ve diğer sulu alanlar büyük önem taşır. Sıcaklık, doğrudan güneş ışığı ve kurumaya genelde duyarlı olan bu parazit formları, sulu veya nemli, özellikle de loş ortamlarda uzun süre canlılıklarını muhafaza edebilmektedirler; ilgili direnç süresi kimi türlerde aylarla ifade edilmektedir. Söz konusu suların doğrudan tüketimde veya temizlik vs. amaçlı kullanımı bulaşmaya neden olabildiği gibi, bu sularda yaşayan kimi canlıların tüketilmesi de aynı sonucu doğurabilmektedir (Giangaspero ve ark. 2007). Protozoonların bir artropod vektör ile bulaşması çok sık karşılaşılan bir durum olup, bu noktada sıtma hastalığı en bilindik örnekler arasındadır. Öte yandan, protozoonlarda bulaşma veya biyolojik süreçlerinde izledikleri yol belli konaklar üzerinden basit monoksen veya heteroksen olabile de, bazı türlerde fakültatif heteroksenlik durumu da söz konusudur. Bu türler, alternatifli yollar izleyebilme yetilerinden ötürü diğer türlerden ayrılırlar. Gruba verilebilecek en iyi örnek birçok omurgalıyı ve insanı arakonak, kediyi de hem ara hem de son konak olarak kullanabilen *Toxoplasma gondii*'dir. Gıda aracılığı ile bulaşan protozoonların birçoğu fekal-oral yolu takip eden monoksen biyolojiye sahip ve sindirim sistemi veya ilişkili organlarda etkili olan parazitlerdir. Birçoğu gastroenteritisi işaret eden klinik bulgulara yol açar. Öte yandan, *T. gondii* gibi bazı türler, bulaşmada fekal-oral yolu kullansa da, bulaşma sonrası süreç tamamen beklenenin dışına kayar (Ortega 2006).

Protozoonların önemini belirtirken, öncelikle serbest yaşayan yaklaşık 50 bin protozoon türünün ekositemin vazgeçilmez üyelerinden olduğunu vurgulamak gerekir. Diğer taraftan protozoonlar hayata dair bazı sırları öğrenmek ve çözmek için de ideal canlılardır. Yine, parazit protozoonların konakları ile ilişkilerindeki özelliklere bağlı olarak, aynı protozoon türlerinin bulunduğu konakların akrabalık derecelerinin saptanmasında rolleri vardır. Okyanus ve deniz sularında yaşamlarını sürdüren bazı protozoonlara (Foraminifera, Radiolaria, Heliozoa) ait fosillerden yararlanarak o yerin jeolojik zaman devirleri hakkında bilgi edinilebilmektedir (Karaer ve Dumanlı 2010). Öte yandan, insanlarda veya hayvanlarda etkili olan ve ciddi hastalık tablosuna yol açan çok sayıda protozoon bulunmaktadır. Örneğin, insanları enfekte edebilen yaklaşık 340 parazit protozoon türü bilinmekte olup, dünyanın gelişmekte olan bölgelerinde ikamet eden 3 milyar insan şu anda enfektedir. Bu grup



hastalıklarda, yaygınlık, morbitite ve mortalite yönünden özellikle enterik protozoonlar önemli bir yere sahiptirler (Stark ve ark. 2009).

Özellikle gelişmemiş ülkelerdeki çocuklar için beslenme güçlükleri büyüyen bir problem olarak varlığını korumaktadır. Bu problemin güncelliğini sürdürmesi, çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği yaratan çeşitli enfeksiyonlarla başa çıkma zorunluluğunu daha net biçimde göz önüne getirmektedir. İlgili konuda önerilecek yöntemleri hayata geçirerek, doğruluğu saptanmış olanlarını bölgesel ya da toplumsal birer politika haline getirebilme gerekliliği, gelecek kuşaklara karşı kaçınılmaz bir ödev konumundadır. Bu zorunluluğun gereklerini yerine getirirken, sorunları ortaya koymaya başladığımızda, çocuklarda büyüme-gelişme geriliğine yol açan hastalıklarla savaşımın en başta geldiği görülür. Çocuklarında yaygın olarak gelişme geriliği bulunan uluslar, eğitimde ve sporda başarılı olamamakta, üretimde, ekonomide, teknolojinin uygulanmasında yetersiz kalmakta ve sonuçta da az gelişmiş toplumlar arasında yer almaktadırlar. Konuya parazitolojik yönden yaklaştığımızda ise karşımıza ilk olarak *Giardia* cinsi ve yol açtığı hastalık tabloları çıkmaktadır (Ak ve ark. 2007).

*Giardia intestinalis* (syn. *G. lamblia* ya da *G. duodenalis*) insan ve hayvanlarda ishale neden olan bir protozoon olup, bazı bölgelerde insanlarda görülen su kaynaklı salgınların en yaygın nedenidir (Flanagan 1992; Sulaiman ve Cama 2006; Ali ve Nozaki 2007; Turgay 2009). İnsanlardaki giardiosisin en önemli kaynağı insan gaitası ile kontamine olmuş yüzey sularıdır. Hastalığın antropozoonoz veya zooantroponoz özellik taşıyıp taşımadığı ile ilgili bilgi ve ayrıca hastalığa asal kaynaklık eden omurgalı grubu henüz tam kesinlik kazanmış değildir (Weese ve ark. 2011). Son birkaç yıldır bilim insanları, *Giardia*'nın insan-hayvan-çevre arası geçiş ve kaynaklık dinamiği üzerine titizlikle eğilmişlerdir (Giangaspero ve ark. 2007). Şu anda ikna edici küçük kanıtların gösterdiğine göre, ev hayvanları insan giardiosisinde önemli bir rol oynamaktadır. Çiftlik hayvanlarının veya diğer evcil hayvanların önemli bir kaynak olabileceği yönünde bildirimler yoğunlaşmıştır. Parazitin zoonotik karakterini anlamak adına *G. intestinalis* alt tür ve tiplerinin (assemblage) iyi bilinmesi gerekmektedir. Farklı konaklara özgü çeşitli türleri vardır ve birçok tip tek bir konağa özgüdür. Çocuklarda ve köpeklerde *Giardia*'nın benzer assemblage izolasyonu rapor edilmiştir; fakat evcil hayvandan insana iletimin açık kanıtları eksiktir. Bu noktada, özellikle kedi ve köpeklerin üzerinde titizlikle durulması gerektiği vurgulanmaktadır (Weese ve ark. 2011).

Bu tez çalışmasında, Tekirdağ ilinde, insanlarda giardiosis yaygınlığının ve yılıçi dağılımının ortaya konması, hastalığa neden olan *G. intestinalis*'in assemblage düzeyinde belirlenmesi ve söz konusu alt tiplerin medikal açıdan öne çıkan, tanımlayıcı özelliklerinin saptanması amaçlanmıştır. Böylelikle, zoonotik bir karaktere sahip olan giardiosisin ildeki durumu çeşitli yönleriyle irdelenecek ve elde edilen verilerden, olası mücadele programlarının şekillendirilmesinde yararlanılacaktır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Tarihçe

Protozoolojinin tarihi, mikroskobun gözle görülmeyen canlıların araştırılmasında kullanılmasıyla başlar. Bu incelemeleri başlatan, kişisel merakı nedeniyle Antony van Leeuwenhoek olmuştur (1632-1723). Hollandalı bilim adamı Leeuwenhoek, bir kumaş tüccarının yanında tezgahtar olarak çalışırken yağmur damlasını, kendi dışkısını, diş kirini ve daha pek çok materyali kendi yaptığı basit mikroskop düzeneğinde incelemiş, gözlemlerini hem yazı hem de çizimleriyle kağıda dökmüştür. Bununla da yetinmeyen araştırmacı, bulgularını dönemin en tanınmış bilim kuruluşu olan Londra'daki Royal Society'ye bildirmiştir (Saygı 2002).

*Giardia*, ilk olarak mikroskop altında kendi ishali dışkısını muayene eden Leeuwenhoek tarafından 1681 yılında tanımlanmış (Conboy 1997; Sulaiman ve Cama 2006; Thompson 2009) ve protozoon hakkındaki ayrıntılı bilgiler ise 1859'da Lambl'dan gelmiştir (Flanagan 1992). Başlangıçta *Cercomonas* cinsinde olduğu düşünülmüş olan etken, *Cercomonas intestinalis* olarak adlandırılmıştır. Grassi 1879'da, Lambl'ın tanımlamasından habersiz olarak, kemirgenlerde etkili olan bir türü *Dimorphus muris* olarak isimlendirmiştir. Kunstler 1882 ve 1883'te, kurbağa yavrusunda benzer bir etkeni belirlemiş ve cins adı olarak *Giardia* terimini kullanmıştır. Blanchard 1888'de insanlarda etkili olan türü *Lambliia intestinalis*, 1902'de de Stiles aynı türü *Giardia duodenalis* olarak adlandırmıştır. Daha sonra Kofoid ve Christiansen 1915'te ilgili tür için *Giardia lamblia* ismini önermiş olup, 1920'de de *Giardia enterica* adından bahsedilmiştir (Weese ve ark. 2011).

İlk tanımlandığı dönemden bugüne çok sayıda *Giardia* türünden söz edilmiş olup, kırktan fazla tür adı konak bazında önerilmiştir. Öte yandan, cinse ait tür sayısı ve farklılığı ile ilgili tartışmalar devam etmektedir (Weese ve ark. 2011). Tür adı önermelerinde temel olarak etkenin konağı, biyolojisi ve morfolojisi dikkate alınmıştır. Örneğin, *G. muris* ve *G. lamblia* arasında ayırım yapmak için morfolojik kriterler kullanılmış ve insan için *G. lamblia* ismi böylece kabul görmüştür. Filice 1952'de *Giardia* ile ilgili detaylı bir açıklama yayınlamış ve median cisimciğin morfolojisi temelinde kullanılan 3 tür ismi önermiştir. Bunlar; *G. duodenalis*, *G. muris* ve *G. agilis*'tir. *G. lamblia* tür adı 1970'lerde yaygın olarak kabul görmüştür. *G. duodenalis* adı 1980'lerde, *G. intestinalis* adı ise 1990'larda ön plana çıkmıştır (Adam 2001). Uzun geçmişine rağmen *Giardia* türlerinin patojenitesi ve akrabalıkları ile bilgilerimiz çoğunlukla her türün kendi konağı ile sınırlıdır (Thompson 2009).

Leeuwenhoek'un *Giardia*'yı ilk kez açıklamasını takip eden yıllar boyunca, etkenin hastalığa sebep olan bir parazit mi, yoksa kommensal bir parazit mi olduğu tartışması da devam etmiştir. Dobell ve Miller 1920'lerde giardiosisin malabsorpsiyonla ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Bundan 30 yıl sonra Rendtorff kistlerin oral inokülasyonunu takiben insanlarda belli derecelerde enfeksiyonların geliştiğini gözlemlemiştir. Artık günümüzde, insanlarda *Giardia* enfeksiyonunun klinik önemi ve özellikle çocuklardaki giardiosisin etkisi konusunda herhangi bir şüphe bulunmamaktadır (Thompson 2009).

## 2.2. *Giardia* spp.'nin Sınıflandırmadaki Yeri

*Giardia* türleri Zoomastigophora sınıfı, Diplomonadida dizisi, Hexamitidae ailesinde yer alan çift çekirdekli, kamçılı protozoonlardır (Ali ve Nozaki 2007). Parazitin sınıflandırma basamakları kısaca şu şekildedir (Karaer ve Dumanlı 2010):

Protista (Eukaryota) Alemi

Metamonada Kökü

Diplomonadea (Trepomonodea) Sınıfı

Diplomonadida Dizisi

Hexamitidae Ailesi

*Giardia* Soyu

*Giardia* spp. için uygun bir sınıflandırma süreci bazı nedenlerden dolayı zor olmuştur. Bunlar; (i) Organizmanın aseksüel yapısı çiftleşme deneylerine izin vermez. Aynı grup içindeki klonal organizmalarda tür tayini için iyi tanımlanmış kriterler yoktur; olanların da geçerliliği tartışmalıdır. (ii) Önceleri, etkenin enfekte ettiği konağın çeşidi tür tanımlamalarında esas kabul edilmiştir; o nedenle de olası tür sayısı abartılmıştır. Takip eden dönemde, ışık mikroskobu aracılığıyla tespit edilen morfolojik farklılıklara bakılarak yapılan tür tanımlarında ise olasılıkla soylar, türler ve izolatlar arasındaki farklılıklar hafife alınmıştır. (iii) Bir konaktan diğerine yapılan çapraz enfeksiyon denemeleri genellikle başarısızlıkla sonuçlanmıştır. (iv) İzolatların ayrılmasında kullanılan mevcut araçlar, moleküler ve elektron mikroskopik tekniklerin kullanımına kadar yetersiz olmuştur (Adam 2001).

**Çizelge 2.1.** *Giardia* cinsi içerisinde varlığı kesinleşmiş veya yaygın kabul edilen türler, bağlı alt gruplar ve öncelikli konakları (Cacció ve ark. 2005; Lebbad 2010; Feng ve Xiao 2011)

Tür	Primer Konak
<i>G. duodenalis</i> Davaine, 1875	
Assemblage A ( <i>G. duodenalis</i> sensu stricto*)	
Tip I	İnsan, birçok hayvan grubu (zoonoz)
Tip II	İnsan, birçok hayvan grubu (zoonoz)
Tip III	Hayvanlarda
Assemblage B ( <i>G. enterica</i> *)	
Tip III	İnsan, çinçilya, köpek, kunduz, rat vs. (zoonoz)
Tip IV	İnsan, bazı hayvanlar (zoonoz)
Assemblage C ( <i>G. canis</i> *)	Köpek, çakal, kurt, kedi
Assemblage D ( <i>G. canis</i> *)	Köpek, çakal, kurt, kedi
Assemblage E ( <i>G. bovis</i> *)	Ruminant, domuz
Assemblage F ( <i>G. cati</i> *)	Kedi; fare, sıçan
Assemblage G ( <i>G. simondi</i> *)	Fare, sıçan; kedi
Assemblage H	Deniz memelileri, deniz kuşları
<i>G. agilis</i> Kunstler, 1882	Amfibi
<i>G. muris</i> Benson, 1908	Kemirgen
<i>G. microti</i> Benson, 1908	Misk sıçanı, tarla faresi
<i>G. psittaci</i> Erlandsen and Bemrick, 1987	Kuş
<i>G. ardeae</i> Noller, 1920	Kuş
<i>G. varani</i> Lavier, 1923	Kertenkele

\*İlgili genotiplerle ilgili olarak önerilen isimler

Bugüne kadar *Giardia* cinsine bağlı 41 türden bahsedilmiştir. Ancak, çeşitli morfolojik ve biyolojik özelliklerine göre adlandırılmış ve genel kabul görmüş 6-7 tür bulunmaktadır (Çizelge 2.1) (Monis ve ark. 2003; Thompson 2004; Feng ve Xiao 2011; Weese ve ark. 2011). Moleküler biyoloji sayesinde *Giardia* karakterizasyonu adına önemli aşamalar kaydedilmiş, cins içinde daha önce tanımlanan genetik farklılıkların analizleri, taksonomisi ve hastalık epidemiyolojisine dair önemli konular aydınlığa kavuşturulmuştur (Cacció ve ark. 2005).

Filice tarafından 1952'de ortaya konan sınıflandırma yöntemine göre *Giardia* türleri median cisimlerin şekline, protozoonun biçimine ve büyüklüğüne göre sınıflandırılabilir (Flanagan 1992; Ak ve ark. 2007). Bu kriterlere göre 3 türden söz edilir:

i- *G. agilis*: Amphibilerde görülür. Trofozoit uzun ve dar, 20x4.5 µm ebatlarında olup, median cisimleri uzun, hatta gözyaşı şeklinde ve vücudun uzun eksenine paralel uzanmaktadır (Ak ve ark. 2007; Karaer ve Kar 2010).

ii- *G. muris*: Kemirgen, kuş ve bazı sürüngenlerde görülür. 10x7 µm ebatlarındadır ve daha çok armuta benzer. Median cisimi iki küçük yuvarlak şeklinde olup merkezdedirler (Ak ve ark. 2007; Karaer ve Kar 2010).

iii-*G. duodenalis*: Büyüklüğü konağı olan memelinin türüne göre değişiklik gösterebilmektedir. Median cisim çift, bazen tektir; parazitin vücudunda enine seyreder ve pençe şeklindedir (Ak ve ark. 2007; Karaer ve Kar 2010).

Yapılan birçok çalışma *G. duodenalis*'in bir tür kompleksi olduğunu ortaya koymuştur (Monis ve ark. 2003; Cacció ve Ryan 2008). *Giardia* spp. için genotiplendirme tekniklerinin büyük çoğunluğunda *ssu-rRNA*, β-giardin (*bg*), glutamat dehidrogenaz (*gdh*), elongation faktör 1-α (*ef-1*), trioz fosfat izomeraz (*tpi*), GLORF-C4 (C4) genleri ve son zamanlarda da intergenomik rRNA spacerregion (*IGS*)'un analizinden yararlanmıştır (Cacció ve Ryan 2008). Yapılan moleküler ve antijenik analizler, *G. duodenalis*'in genotipik ve fenotipik olarak farklı, ancak morfolojik olarak benzer, en az yedi alt türünün (A-G) olduğunu ortaya koymuştur (Monis ve ark. 2003; Thompson 2004; Weese ve ark. 2011). Bunlardan A ve B tipinin insanlarda (Giangaspero ve ark. 2007), C ve D tipinin köpeklerde, kedilerde, çakallarda ve kurtlarda, E tipinin ineklerde, koyunlarda, domuzlarda, mandalarda, F ve G tiplerinin ise kedi ve farelerde görüldüğü bildirilmiştir (Cacció ve ark. 2005). Alt tiplerin neden olduğu hastalık karakterleri arasında kesinleşmiş bir ayrımın olmadığı, ancak, insanlardaki persiste enfeksiyonlardan B tipinin, aralıklı ishal olgularından ise A tipinin daha çok izole edildiği bildirilmiştir. Öte yandan, tipler arası bazı önemli farklılıklar, ayrı tür olarak adlandırılmaları gerektiği düşüncesini de doğurmuştur. Bu noktada önerilen isimler; A tipi için *G. duodenalis*, B tipi için *G. enterica*, C ve D tipleri için *G. canis*, E tipi için *G. bovis*, F tipi için *G. felis* ve G tipi için *G. simondi*'dir (Lebbad 2010). Yine, son zamanlarda yapılan bir çalışmada (Lasec-Nesselquist ve ark. 2010) deniz canlılarında etkili olan yeni bir assemblage varlığı ortaya konmuş ve buna da assemblage H denmiştir.

Kist ve trofozoit morfolojisindeki çeşitlilik, *G. duodenalis* izolatlarının ayırımında moleküler teknikleri bir noktada zorunlu kılmaktadır. Son on yıl içinde, DNA amplifikasyon tekniklerinin yaygınlaşmasıyla da birlikte, moleküler tekniklere özellikle insanlarda görülen

giardiosis olgularına kaynaklık edebilecek hayvanların belirlenmesi noktasında başvurulmuştur (Cacció ve ark. 2009).

A tipinin AI ve AII, B tipinin ise BIII ve BIV olmak üzere ikişer alt izolat grubundan daha söz edilmektedir. Bunlardan AII ve BIV'ün insanlara spesifik olduğu, AI'in ise yaygın olarak görülen, hem insanlarda hem de hayvanlarda (evcil hayvanlar, kedi, köpek, kunduz, kobay, slow loris) rastlanan çok sayıda izolatının bulunduğu, dolayısıyla da giardiosiste söz konusu olan zoonotik potansiyelin temel olarak bu genotiple ilişkili olduğu kaydedilmiştir. Yine BIII'ün de insan haricinde bazı hayvan gruplarında da (slow loris, çinçilya, köpek, kunduz, sıçan, bir primat türü olan siamang) görülebildiği ve dolayısıyla belli bir zoonotik önem taşıdığı bildirilmiştir (Thompson 2004; Karaer ve Kar 2010). Birçok araştırmacı tarafından kabul edilen son konum ise, B tipinin her iki alt grubunun da zoonotik olduğu, A tipinin üç alt grubunun bulunduğu, bunlardan AI ve AII'nin hem insan hem de hayvanlarda görüldüğü dolayısıyla zoonotik olduğu, ancak AIII'ün hayvanlara özgü olduğudur (Lebbad 2010).

### 2.3. Morfoloji

Genel olarak *Giardia* türleri monoksen temelli basit bir biyolojiye sahiptir (Feng ve Xiao 2011) ve biyolojik süreçlerinde iki farklı morfolojik aşama gösterirler. Bunlar, enfektif kist formu ve proliferatif trofozoit formudur (Flanagan 1992; Ali ve Nozaki 2007; Weese ve ark. 2011). Trofozoitler armut şeklinde, karakteristik bir görünüme sahiptir ve 10-20 x 5-15 µm boyutlarında, bilateral simetrik yapıdadır. Ventral yüzeyinin ön kısmında yer alan ventral diskten dolayı tanımlanmaları kolaydır (Turgay 2009; Ankarlev ve ark. 2010). Disk, bağırsak mukoza epitelinin yüzeyine bağlanma sürecinde rol alan kontraktıl proteinlerden aktin, α-aktin, miyozin ve tropomiyozin içerir. Yine, metabolik süreçte önem taşıyan bazı diğer moleküllere de rastlanır ki bunlardan sistein, 37°C'nin altındaki sıcaklıkta ve oksijen düzeyinin arttığı durumlarda inhibe edilmektedir. Ultrayapısal olarak ventral disk 13 protofilamentten oluşmuş mikrotübül setini içerir ve bu set ventral membrana bağlı durumdadır (Adam 2001). Diskin dayanıklılığı tubulin, giardin ve düşük afiniteli kalsiyum bağlayan anneksinler tarafından sağlanır ki disk yüzeyi sisteinden zengin moleküllerle kaplıdır (Despommier ve ark. 2000).

Trofozoitin sitoplazmasında yer alan, emici disk düzeyinde, orta hattın iki yanında simetrik olarak duran oval yapıda iki nükleus bulunur. Nükleuslar oldukça büyük nükleolusa

sahiptir (Turgay 2009). Bu genel görünüm ile trofozoitler Giemsa boyalı preparatlarda oldukça fotojenik bir tablo çizerler ki iki nükleus ile gözlüklü bir yüz ve orta cisimcik ile de tebessüm etmiş bir yüz ifadesi sergilerler (Lebbad 2010; Weese ve ark. 2011). Trofozoitlerin sahip olduğu çekirdekler görünüm olarak neredeyse özdeştir. Ayrıca her iki çekirdek de transkripsiyonel olarak aktiftir (Despommier ve ark. 2000) ve replikasyonları da aşağı yukarı aynı zaman diliminde gerçekleşir. İki çekirdek de eşit sayıda rDNA genine sahiptir. Her ikisinde de yaklaşık eşit miktarda DNA'ya sahip olduğu nükleer boyalarla tespit edilmiştir. Trofozoitler, sahip oldukları söz konusu iki taraflı asimetriyi muhafaza etmek adına, çoğalma sürecinde longitudinal olarak bölünürler (Adam 2001). Her biri bazal cisimcikten köken alan, ön, arka, yan ve arka yan olmak üzere 4 çift kamçısı bulunur (Turgay 2009; Weese ve ark. 2011); her bir kamçıda 9 çift periferik mikrotubul, iki merkezi mikrotubülü kuşatır (Adam 2001). İki nükleus arasında, adeta mikroorganizmayı ikiye ayıran ve trofozoitin dar ucuna doğru uzanan aksonem vardır (Ak ve ark. 2007). Median cisimcik dorsal ve orta hatta lokalize olmuştur ve sıkı paketlenmiş bir grup mikrotübülden meydana gelmiştir; bu durum *Giardia* spp.'ye hastır. Sitoplazmada ayrıca, lizozomal vakuoller, ribozomal ve glikojen granülleri de bulunur (Adam 2001).

Aerobik veya mikroarefilik ortamlarda yaşamını sürdürebilen *G. intestinalis* trofozoitleri, diğer çoğu ökaryottan farklı olarak mitokondri, peroksizom ve tipik Golgi aygıtından yoksundur (Despommier ve ark. 2000; Ankarlev ve ark. 2010). ATP üretimleri sadece substrat düzeyinde fosforilasyon ile mümkün olur (Ali ve Nozaki 2007). Öte yandan, çalışmalarda demir-sülfür protein olgunlaşmasında rol oynayan, çift zarla çevrili ilkel mitokondri denebilecek yapıların (mitozomlar) varlığı gösterilmiştir. Bu bulgular ışığında, *Giardia* türlerinin prensip olarak amitokondriat olmadığı ve parazitin mitokondriyal endosimbionttan köken alan bir organelin varlığını hala koruduğu ifade edilmiştir. Sitoplazma içinde dağılmış küçük hücresel yapılarda lokalize olan ilgili organellerin, özellikle bazal cisimciğin etrafında kümelendikleri gösterilmiştir (Benchimol 2009). Ayrıca, tipik Golgi kompleksine rastlanmasa da, varlıkları konusu hala tartışmalıdır (Benchimol 2009). Özellikle trofozoitlerin kistlenme sürecinde görünür hale gelen ve Golgi kompleksini andıran yığılanmış membran kümeleri gösterilmiştir (Adam 2001). *Giardia* ayrıca lizozomlara, geç ve erken endozomlara karşılık gelen periferik yerleşimli bir vezikül sistemine de sahiptir. Parazitin, fonksiyonel olarak kesinleştirilememiş internal vezikülleri de bulunmaktadır (Benchimol 2009). *Giardia* türleri, DNA replikasyonu ve protein sentezi konusunda da tam



bir de novo süreç izleyemezler; söz konusu eksikliklerini konak üzerinden karşılarlar (Ali ve Nozaki 2007).

*Giardia* türlerinde morfolojik açıdan dikkati çeken en ilginç yapılar, mikrotubuler yapısı hakkında pek fazla bilgi edinilememiş olan median cisimcik ve oldukça karmaşık ve olağanüstü organizasyona sahip olan hücre iskeletidir (Benchimol 2009; Lauwaet ve Gillin 2009). Median cisimcik önceleri, aksoneme transversal bir konumda yerleşmiş mikrotubul grupları şeklinde tanımlanmıştır; ancak, çalışmalar, yapının sadece bir iki temel birimden değil oldukça farklı monomerlerden oluşmuş bir kompleks olduğunu göstermiştir (Piva ve Benchimol 2004). Bu noktada, median cisimciğin esas itibariyle miktar, içerik ve dizilim bakımından farklılıklar gösteren mikrotubul demetlerinden oluştuğu ifade edilmiştir. Yapısındaki belirgin morfolojik farklılıklar median cisimciğin *G. duodenalis*, *G. muris* ve *G. agilis* gibi farklı *Giardia* türlerinin ayırımında kullanılmasına zemin hazırlamıştır (Benchimol 2009).

Parazitin enfektif aşaması kisttir (Ali ve Nozaki 2007) ve bu formlar dışıyla atıldığı anda enfektiftir (Feng ve Xiao 2011). Ebat olarak 8-14 x7-10 µm boyutlarında olan kistler, soğuk, nemli ve loş ortamlarda aylarca enfektivitelerini korurlar (Flanagan 1992; Ali ve Nozaki 2007; Turgay 2009; Feng ve Xiao 2011). Sulu ortama uzun süre dayanmalarında, kist duvarının paraziti hipotonik lizisten koruyacak kadar güçlü olması önemli bir faktördür (Gillin ve ark. 1996). Kistleşme sonrası trofozoitte bulunan nükleus ikiye bölündüğü için içlerinde dört nükleus taşımaktadırlar (Turgay 2009). Kistlerin duvar kısmı 0.3-0.5 µm kalınlığında olup, bir dış filamentöz kat, bir de iç membran tabaka olmak üzere iki katlıdır. dolayısıyla içerideki parazit hem kendi dış membranı ile hem de adı geçen iki dış bariyerle korunmaktadır. Ortalama 0.3-0.5 nm kalınlığında olan filamentöz kat 7-20 nm'lik filamentlerin ağ şeklinde sıralanmasından oluşmuştur. Duvarın ana komponentini N-asetilgalaktozamin ve molaküler ağırlığı 102 kDa olan dört mojör protein oluşturur. Bunlardan üç kist duvar proteini (CWP1, CWP2, CWP3) özellikle önemlidir. Daha önceki, kist duvarının kitinden (N-asetilglukozamin) oluştuğuna dair iddialar çürütülmüştür. Yaşam döngüsünün dirençli geçiş formları olan kistlerde metabolik faaliyetler minimize edilmiş olup, söz konusu etkinlik trofozoit formunun ancak %10-20'si düzeyindedir (Adam 2001; Ankarlev ve ark, 2010).

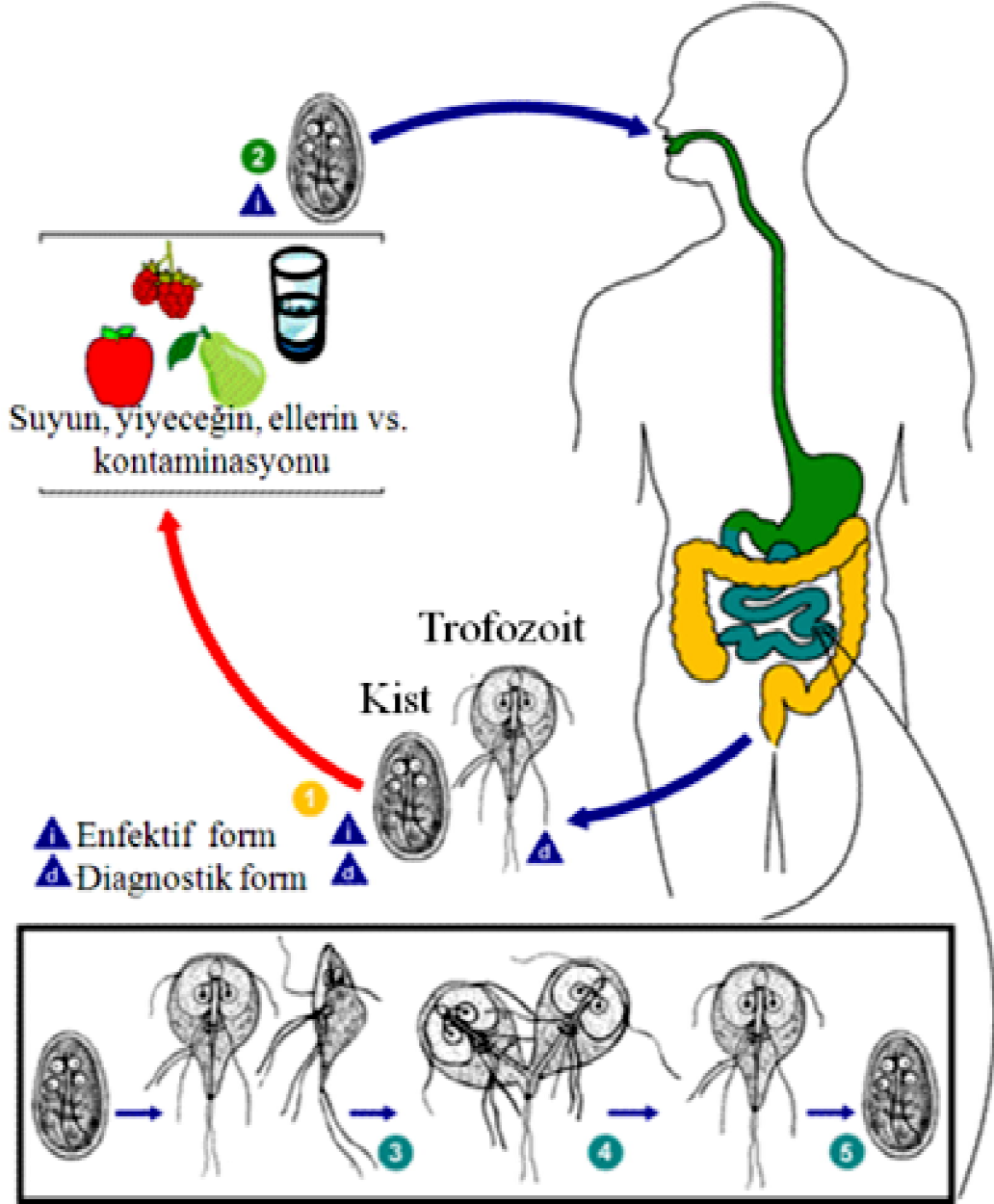
## 2.4. Yaşam Döngüsü

Parazitin yaşam döngüsü temel hatlarıyla bilinse de, bazı ayrıntılar henüz aydınlığa kavuşturulabilmiş değildir (Flanagan 1992; Eckmann 2003; Ali ve Nozaki 2007; Ak ve ark. 2007). Bulaşması, konaktan konağa doğrudan ya da kontamine su ve gıdalar yolu ile dolaylı bir şekilde olabilmektedir. Döngüde izlenen temel yol basit fekal-oral bulaştır (Cacció ve ark. 2005). *Giardia* türleri yaşam süreçlerinde, hem konakta hem de serbest doğada, etkili bir uyum stratejisine sahiptirler. Enkistasyon ve ekskistasyona yol açan dış fizyolojik etmenler bilinmektedir; ancak, söz konusu süreçlere yönelik hücre içi sinyaller hakkında ayrıntılı bilgi bulunmamaktadır. Öte yandan, parazitin morfolojik ve fizyolojik geçişlerinde etkili olan bazı özel proteinlerden de söz edilmektedir (Lauwaet ve Gillin 2009).

Parazitin konaktaki biyolojik süreci, kist formlarının oral olarak alınmasıyla başlar (Lujan ve ark. 1998). Asite dirençli bir form olan kistler, alındıktan sonra sindirim sistemindeki normal prosesi takip eder. Önce mideye ulaşır ve buradaki asitin yıkımlayıcı etkisinden kurtularak duodenuma geçer. Ancak, bu süreçte midedeki düşük pH, duodenumdaki yüksek pH ve yine her iki ortamda da bulunan özel proteolitik enzimler sayesinde kist duvarı zayıflar ve takibinde de açılır (Flanagan 1992; Eckmann 2003; Ali ve Nozaki 2007; Ak ve ark. 2007). Mide asiditesi ve proteolitik etkisi kist duvarını belli derecede zayıflatır; ancak, bu noktada ilgili inceleme belli bir düzeyde gerçekleşir. Kaldı ki, aşırı inceleme veya kist duvarının açılması, içeride bulunan protozoonun söz konusu yıkımlayıcı etkiye maruz kalması ve ölmesiyle sonuçlanacaktır. Öte yandan, bağırsağa girdiğinde iyiden iyiye incelmış olan kist duvarından ötürü hemen duodenumda ekskistasyon gerçekleşir ve parazit tam da hedeflediği bölgede serbest hale gelir (Lauwaet ve Gillin 2009).

Midede maruz kaldığı asidite ve diğer etkiler, kistin hemen orada açılmasına neden olmasa da, kist içindeki trofozoitin bazı metabolik süreçleri başlatmasına neden olmaktadır (Svärd ve ark. 2003; Ankarlev ve ark. 2010). Ekskistasyonda proteaz özel önem taşır; pankreatik proteaza ek olarak cathepsin B ailesinden *G. lamblia* sistein proteazı söz konusu süreç için önemlidir. Ekskistasyonu takiben, kist duvarı dağılır ve içeriden dört çekirdekli bir protozoon çıkar. Ortama düşen protozoon DNA replikasyonu olmaksızın doğrudan sitokinezis ile bölünmeye başlar ve sonuçta her biri bir çekirdekli dört protozoon oluşur. Yine, hemen arkasından çekirdekler bölünür, flagellalar şekillenir, ventral disk gelişir, bazı sitoplazma organelleri oluşur, olgunlaşır. Dolayısıyla 10-15 dk. gibi kısa bir zaman diliminde, bağırsak lumeninde dört adet aktif *Giardia* trofozoiti şekillenmiş olur (Adam 2001; Svärd ve ark. 2003;

Ak ve ark. 2007). Sonuçta bağırsak epiteline tutunup beslenmesini sürdüren parazit, uzununa ikiye bölünerek çoğalmaya başlar (Roberts ve Janovy 2006). (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Giardia intestinalis*'in yaşam döngüsü (Weese ve ark. 2011)

Trofozoitler insanlarda özellikle duodenum, jejunum ve ileumun üst kısımlarında konumlanırlar. Ekskistasyonda olduğu gibi, kolonizasyon süreçlerinde de gastrik asit ve safra tuzları desteklidir. Alınan gıdalar ve sindirilen ürünlerin yanı sıra hidrojen iyonları, safra, proteazlar ve diğer sindirim enzimlerinin farklı karışımlarında yüzen trofozoitler luminal sıvıda flagellalarını kullanarak, aktif şekilde hareket ederler (Roberts ve Janovy 2006; Lauwaet ve Gillin 2009). Trofozoitler, sahip oldukları ventral disk aracılığıyla ince bağırsak

duvarındaki epitel hücrelerinin yüzeyine yapışırlar. Şiddetli enfeksiyonlarda mukoza epitelinin önemli bir kısmı işgal edilmiş olur (Lauwaet ve Gillin 2009; Flanagan 1992). Hücrelere tutunmayı sağlayan moleküler mekanizma tam olarak bilinmemektedir; ancak, disk yüzeyinde karbonhidrat bağlayan lektinler tanımlanmıştır (Despommier ve ark. 2000). Trofozoitler bu çevresel ortamda devam edebilirler veya akut ve şiddetli intestinal ishal dinamiğinin etkisiyle bağırsağın ilerleyen bölümlerine taşınabilirler. Bu süreçte, uygun olmayan ortamlara geçiş yapan trofozoitler kistlenmeden dışkıyla atılabilir veya dejenere olabilirler (Lauwaet ve Gillin 2009). Trofozoitler söz konusu bağırsak akışına direnme amacıyla epitel yüzeyinde, mukus içerisinde kolonize olabilirler; ancak, mukoza içerisine penetre olmazlar (Eckmann 2003).

Bağırsaktaki trofozoit formları enfeksiyonun ileri dönemlerinde kistlenme sürecine girerler. Süreç sonunda oluşan kistler dışkı ile atılır. Kist oluşum süreci temel olarak üç önemli aşamada gerçekleşir. Bunlar; i) kist oluşumunu indükleyen uyarıların alınması ve bu süreçte rol alan gen bölgelerinin aktivasyonu, ii) kist duvarı komponentlerinin sentezi ve hücre yüzeyine nakli ve iii) kist duvarının tam olarak şekillenmesidir (Lujan ve ark. 1998).

Vejetatif formların varlıklarını devam ettirebilme süreleri birtakım faktörlerce belirlenir ki besin varlığı bunların en önemlilerindedir (Sener ve ark. 2009). İnce bağırsakta ve sulu gaita ortamında parazitin aktif formunu idare edecek besinler bulunur; ancak, içerik kalın bağırsaklara doğru ilerledikçe suyunu kaybetmeye başlar ve bu durum enkistasyonu uyarır (Roberts ve Janovy 2006). Yine, üremesini sürdüren trofozoitler safra tuzlarının, yağ asitlerinin (Flanagan 1992; Adam 2001) ve düşük kolesterol içeren çevresel uyarıların (Ali ve Nozaki 2007) etkisiyle kalın bağırsağa doğru ilerler ve kistlenmeye başlarlar (Flanagan 1992). Deneysel kanıtlar kolesterol yoksunluğunun kistleşmeyi tetiklediğini göstermiştir (Roberts ve Janovy 2006).

*Giardia* trofozoitlerinde kistlenme sürecinin önemli bir kısmı konağın incebağırsaklarında geçer. Söz konusu sürecin tamamlanması için belli bir zaman dilimine ihtiyaç vardır. O nedenle, bağırsak içeriğinin hızlı hareket ettiği akut ishallerde, henüz kistlenmesini tamamlayamamış trofozoitlere dışkıda bolca rastlanır. Ancak, bunların dış ortama veya oral olarak alınsa bile mide asiditesine olan direnci çok düşük olduğundan bulaşmada önemleri yoktur ve atılımdan kısa süre sonra inaktive olurlar. Kistlere ise özellikle normal şekilli dışkılamanın olduğu süreçlerde, yani içeriğin bağırsaklarda yeteri kadar oyalandığı dönemlerde daha çok rastlanmaktadır (Ak ve ark. 2007). Her bir dışkılamada atılan

parazit sayısı ılımlı enfeksiyonlarda 300 milyon, ishallerde ise 14 milyar düzeyine çıkabilmektedir (Roberts ve Janovy 2006). Birey enfekte olduğu sürece kist üretimi devam eder; ancak, kişinin immunitesindeki değişimlere de bağlı olarak atılım genelde dalgalı bir seyir izler (Despommier ve ark. 2000).

Kist formuna dönüşüm sürecinde, trofozoitlerin dayanıklı yüzey, yani kist duvarı matriksini salgılaması gerekir. Parazit ince bağırsağın aşağı kısımlarında yuvarlaklaşır, kist duvarı şekillenir ve zamanla kistlenme tamamlanır (Sener ve ark. 2009). Söz konusu süreçte, hücre iskeleti büyük oranda şekil değiştirir, kamçılar ve emici disk önemli düzeyde kaybolur (Lauwaet ve Gillin 2009). Kistlenme sürecini erken ve geç faz olarak ikiye ayırmak mümkündür. Erken faz yaklaşık 10 saatte, geç faz ise yaklaşık 16 saatte tamamlanır. Erken faz, kist duvarı komponentlerinin intraselüler sentezini ve yüzeye taşınması süreçlerini kapsar (Adam 2001; Ak ve ark. 2007). Bu süreçte, komponentlerin yüzeye taşınmasını sağlayan membranöz yapılarda belirgin bir yığılanma dikkati çeker (Adam 2001; Roberts ve Janovy 2006, Ak ve ark. 2007). Elektron mikroskopunda, söz konusu enkistasyon spesifik granüller kolaylıkla tanımlanabilmektedir. Enkistasyonun geç fazı, kist duvarı filamentlerinin trofozoit plazmolemmasında görünmesiyle başlar (Adam 2001; Ak ve ark. 2007). Kistlenme sürecinde trofozoitler, filamentöz matrikste yığılanmış kist duvarı proteinleri 1,2 ve 3 ve giardan olarak adlandırılan 2-acetamido-2-deoxy-D-galactan ile kaplı hale gelir. Kist duvarı proteinleri taşıyıcı veziküller aracılığıyla yüzeye iletilir; ancak, giardan iletimi kesinleştirilebilmiş değildir (Sener ve ark. 2009). Dış yüzeyi kalınlaşmaya başlayan parazit, söz konusu süreçte bağırsak epiteline tutunabilme yetisini kaybetmiştir. Zamanla sitoplazmadaki taşıyıcı veziküller de kaybolur. Enkistasyon süreci sonunda, kist içerisinde iki çekirdekli bir protozoon bulunur. Daha sonra çekirdekler ikiye bölünür ve kist içerisinde dört çekirdekli tek bir protozoon olarak varlığını sürdürür (Adam 2001; Ak ve ark. 2007).

Enkistasyonun biyolojik amacı çevresel koşullarda canlı kalabilen bir forma çevrilmek ve yeni bir konağı enfekte etmektir. Enkistasyon sonucu oluşan kist duvarı konak dışındaki yaşam için esastır. Bu yapı parazitin suda uzun süre canlı kalmasına, klor gibi dezenfektanlara direnç göstermesine, konak mide asiditesinden protozoonun korunmasına imkan sağlar. Kistler soğuğa oldukça dirençliyken aşırı sıcak ve donmaya direnç görece daha düşüktür. Duvardaki fibröz yapı su da dahil küçük moleküllerin geçişini engellerken, ekskistasyonu tetikleyen fizyolojik uyaranlara duyarlıdır. Söz konusu iki yönlü tutum parazitin döngüsünü

tamamlayabilmesi adına esastır (Despommier ve ark. 2000; Sener ve ark. 2009; Lauwaet ve Gillin 2009).

## 2.5. Patoloji ve İmmunoloji

*Giardia* trofozoitleri, 300 yıldan daha uzun bir süre önce ishalleri bir gaitada tespit edilmiş olmasına rağmen parazit, 1978'e kadar patojen kabul edilmemiştir. Sonra, enfekte kişilerde görülen ince bağırsağın proksimalindeki lezyonlar ve malabsorbsiyon sorunları etkenin patojenitesi hakkındaki şüpheleri ortadan kaldırmış ve WHO 1979'da paraziti zoonotik olabilen etkenler listesine dahil etmiştir (Lebbad 2010). Yine, *G. intestinalis* ile ilgili pek çok çalışma yapılmış olmasına karşın etkenin hastalık oluşturma süreci ile ilgili ayrıntılı bilgi henüz yoktur. İnvaziv olmamasına karşın ciddi mukozal yangı oluşturan etkenin spesifik bir toksini olup olmadığı son zamanlara kadar tartışılmıştır (Buret 2008) ve bazı araştırmalarda patogeneğinde rol alan kimi spesifik toksinler tanımlanmıştır. Virulans faktörlerin başında, parazitin konak epiteline tutunmasını ve beslenmesini sağlayan adeziv disk (Palm ve ark. 2005), parazitin hareketinde ve tutunmasında rol alan dört çift flagella ve varyeteye spesifik yüzey proteinleri yer almaktadır. Söz konusu yüzey proteinleri sürekli kendini değiştirme yetisindedir ki bu durum da gelişen spesifik konak immunitesine karşı paraziti korumaktadır (Prucca ve Lujan 2009).

*Giardia lamblia*, invazyon, inflamasyon, toksin ve virulans faktörlere sahip olmadığı halde bağırsak yangısına neden olabilmesinden (Lauwaet ve Gillin 2009), patojenitesinden ve tedaviye verdiği yanıt şeklinden ötürü, diğer pek çok patojenden farklı bir konuma sahiptir (Roberts ve Janovy 2006). Giardiosiste klinik tablonun şiddeti muhtemelen parazitin virülansı, konağın gelişimsel, beslenme ve immunolojik yapısı (Cacció ve Ryan 2008; Feng ve Xiao 2011), doğal bağırsak florası, diğer patojenlerin bulunuşu ya da yokluğu arasındaki etkileşim tarafından belirlenmektedir (Flanagan 1992; Feng ve Xiao 2011).

Enfekte bireyler tarafından günde 900 milyondan fazla kist atılabilirken, konağı için uygun tür veya tipin 10'dan az kistin oral olarak alınması enfeksiyona neden olabilmektedir. Enfeksiyon kontamine olmuş içme suyu ya da göl, gölet ve yetersiz düzeyde dezenfektan eklenmiş yüzme havuzu gibi eğlence amaçlı suların içilmesiyle bulaşabilmektedir. El-ağız iletimi özellikle çocuk bakım merkezlerinde yaygındır. Gıda kontaminasyonu ile bulaş da mümkündür (Adam 2001; Weese ve ark. 2011; Feng ve Xiao 2011). İnsanlarda *G. intestinalis*

ince bağırsağın üst kısmında yaşayan, mukozaya sıkı sıkı tutunan, zaman zaman safra kesesi ve safra yollarına penetre olabilen bir protozoondur (Turgay 2009).

Midede gastrik asit salınımı ve proksimal ince bağırsaktaki proteazların etkisi sayesinde kistlerin açılması ile trofozoitler serbest hale gelir. Trofozoitler hareketlidir, ikiye bölünerek çoğalır ve ince bağırsak epitelini tutar (Eckmann 2003). Etken tarafından üretilen, serin ve sistein proteazları, ince bağırsak epitel bariyerini bozar, konakta bir immun cevap ve yangıya neden olur (Ali ve Nozaki 2007). Trofozoitler ince bağırsakta mukozaya penetre olmazlar (Weese ve ark. 2011); ancak, hücre iskeleti ve hücreler arası bağlantının bozulması ile ilişkili olan enterositlerin apoptozisini indükler (Ali ve Nozaki 2007). İshalli bireylerde, trofozoitler villus atrofisi, kriptik hiperplazi ve ince bağırsakta yangı hücreleri tarafından lamina proprianın yaygın işgaline neden olabilirler. Bazı vakalarda görülen villus kısalması, bölgesel bazı sindirim enzimlerinin salınımında problem yaratabilmektedir (Weese ve ark. 2011).

Birçok enfeksiyon olgusunda hastalığın herhangi bir bulgusuna rastlanmaz. Bariz bir şekilde bazı insanlar diğerlerine nazaran daha hassastır; bazı insanlarda ise zamanla gelişen bağışıklık hastalığın seyrini önemli derecede değiştirebilmektedir. Kimi hastalarda mukus üretiminde dikkat çekici bir artış, ishal, sıvı kaybı, bağırsaklarda ağrı, gaz oluşumu ve kilo kaybı dikkati çeker. Gaita yağlıdır, fakat dışkıda kan varlığı asla hastalığın primer bir bulgusu değildir. Parazit, konak hücrelerinde lizise neden olmaz, ancak mukozaya ait müköz salgı miktarı artar. Bağırsak epitelinin parazit tarafından istilası epitelyum mikrovillusunda ciddi kayıplara yol açabilir. Bu durum ise yağların ve bazı diğer besin maddelerinin emilimini aksatır. Söz konusu tablo hastalığın klinik bulgularının oluşumuna zemin hazırlar. Bazen safra kesesi de parazit tarafından istila edilebilmektedir. Bağlı olarak, ilgili bölgede ağrı ve çeşitli komplikasyonların sonucu sarılık meydana gelebilir. Hastalık temelde ölümcül bir karakter taşımamaktadır (Roberts ve Janovy 2006).

IgA ve IgM antikoları *Giardia* 'ya karşı gelişen immunolojik savunmada önem taşır. Söz konusu spesifik antikolar bağırsak lümenine de bolca salgılanırlar. Yapılan bazı çalışmalar, B hücrelerinin giardiosise karşı konakta gelişen immunité adına büyük önem taşıdığını göstermiştir. Öte yandan, bazı diğer çalışmalar, bu hücrenin anti-giardial bağışıklıkta sadece sınırlı bir rolü olduğunu da ortaya koymuştur (Eckmann 2003). Asıl büyük role sahip olan lokal bağışıklık, sistemik bağışıklığın da katkısıyla enfeksiyonu kontrol etmekte, hastalığın şiddetini ve yayılışını baskılamaktadır. O nedenle de, immun süpresiflerde bağışıklık yoksunluğunun derecesi enfeksiyonun şiddetinin ve gidişatının en büyük belirleyicisidir (Stark ve ark. 2009). Bağışıklığın bir şekilde gelişmesi ve ortam koşullarının bozulması trofozoitlerde kiste dönüşümü de aktive etmektedir (Eckmann 2003).

Oldukça belirgin bir antijenik varyasyon sergileyen *G. duodenalis*, genotiplere de bağılı olarak, her 6-12 nesil boyunca 180 farklı antijen eksprese edebilmektedir. Çalışmalar, hastalığın konakta sınırlandırılması noktasında, öncelikli rolün hümoral bağışıklığa ait olduğunu göstermiştir. Konak immun sistemini etkili şekilde uyaran en önemli antijen ise sisteinden zengin yüzey proteindir. Öte yandan, söz konusu bu değişken yapıdaki antijen, etkenin infektivitesini ve virulensini de belirleyen en önemli faktördür (Roberts ve Janovy 2006).

Trofozoitlerin yüzey bileşenlerindeki antijenik çeşitlilik enfeksiyonun özellikle erken fazında tipiktir. Büyük olasılıkla trofozoit yüzey proteinlerini kullanarak konak immun yanıtını (IgA antikorları) kendi istediği yönde kullanmaktadır. Sisteinden zengin yüzey proteinlerinin değişimi, parazitin daha eksistasyon sürecinde bile dikkati çekmektedir (Despommier ve ark. 2000).

Anne sütü enfeksiyondan koruyucu özellik taşır; bu durum spesifik IgA antikorlarını taşıyabilmesi ile ilişkilidir. Yine, normal sindirim sistemindeki sütün lipid hidrolizi ürünleri ya da laktoferrin gibi nonspesifik defanslar da bu noktada rol oynayabilir ki ilgili ürünlerin her biri *Giardia* için toksik etki gösterebilmektedir. Bağırsak epitel hücreleri tarafından lumene salınan nitrik oksit parazit gelişimi ve farklılaşmasını inhibe ettiği görülmüştür; öte yandan, parazit epitelyum hücrelerinin nitrik oksit sentezi için ihtiyaç duyduğu ortamdaki arjinin seviyesini düşürmekte böylece ilgili yoldan gelecek bir savunmayı baskılamaya çalışmaktadır (Despommier ve ark. 2000).

## **2.6. Klinik**

Giardiosiste prepatent süre 1-2 hafta kadar olup (Ali ve Nozaki 2007), takibinde akut bazen per akut gelişen, kansız, kötü kokulu ishal, şişkinlik, karın ağrısı (Weese ve ark. 2011), epigastrik ağrı, bulantı, kusma, ağırlık kaybı gibi bulgulara rastlanır ki çocuklarda, beslenme problemi olanlarda, immünsüpresif bireylerde klinik daha ağır izler (Adam 2001; Eckmann 2003; Thompson 2009; Ankarlev ve ark. 2010). Olası şişkinlik ve karın ağrısı genellikle 3-4 gün sürer (Eckmann 2003; Ali ve Nozaki 2007; Thompson 2009). Birçok bireyde enfeksiyon kendiliğinden sınırlansa da (Feng ve Xiao 2011), ishal süresi uzayabilir, hatta kronik boyut kazanabilir (Weese ve ark. 2011). Kronik hastalığa halsizlik, yeme ile şiddetlenen yaygın karın hassasiyeti, yağlı ve kötü kokulu dışkılama, sık ve az hacimli ishal durumu ve kilo kaybı eşlik edebilir. Böylesi durumlarda hastalık birkaç ay içinde şiddetlenebilir veya gerileyebilir



(Weese ve ark. 2011). İnatçı enfeksiyon ve ishal, özellikle immun sistemi baskılanmış bireylerde medyana gelir (Rossignol 2009). Öte yandan, klinik bulgular, asemptomatik kist atılımından, akut, kronik ya da aralıklı olabilen ishal durumundaki dışkılamaya kadar değişebilmektedir (Sulaiman ve Cama 2006; Weese ve ark. 2011). O nedenle, giardiosiste klinik tablonun oldukça değişken olduğu ve genel geçerli bir karakteristiğinin bulunmadığı, klinik bulguların etkenin virulansına, hastanın gelişimine, beslenmesine ve immun sisteminin durumuna bağlı olduğu bildirilmektedir (Coccio ve Ryan 2008). Enfeksiyonun, kistleri yutan her 100 insandan 5-15'inde asemptomatik seyrettiği, 25-30'unda akut ishal geliştiği ve 30-70'inde ise enfeksiyona rastlanmadığı tahmin edilmektedir (Weese ve ark. 2011). Hatta, enfeksiyonların hemen hemen yarısında herhangi bir klinik bulgu ortaya konmadığı ve bunların neredeyse tamamının zaman içerisinde kendiliğinden iyileştiği de iddia edilmektedir (Ankarlev ve ark. 2010). Kaldı ki, giardiosis vakalarının % 85'inin etkili konak savunması varlığında kendiliğinden sınırlandığı, kronikleşmenin ise özellikle bağışıklık problemi olan kişilerde dikkati çektiği kaydedilmiştir (Eckmann 2003). Kronik enfeksiyonlara, özellikle gelişmekte olan ülkelerde sık rastlandığı, bu gibi alanlarda hastalığın endemik bir karakter ortaya koyduğu ve malabsorbsiyona, çocuklarda büyüme ve gelişme geriliğine yol açtığı bildirilmiştir (Ali ve Hill 2003). Persistent *G. intestinalis* enfeksiyonlarının irritabl bağırsak sendromu ve artritis ile de ilişkisi kurulmuştur (Buret 2008). Yapılan bir çalışmada (Oberhuber ve ark. 1997) 567 giardiosisli vakanın biopsi örnekleri incelenmiş, 18 kişinin duodenal mukozasında lamina proprianın hafif inflamasyonu gözlenmiştir. Jejuno-ileal, mide ve kolon mukozasında parazite has histolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Pozitif 252 vakanın gastrik biopsisinde %57.8'inde *Helicobacter pylori*, %10.3'ünde reaktif gastrit, %12.9'unda normal mukoza, % 2.9'unda kronik atrofik gastrit ve %16.1'inde gastrit görülmüştür.

Giardiosisin gıda malabsorbsiyonu aracılı büyüme aksaklıklarına yol açtığı bildirilmiştir (Sulaiman ve Cama 2006). Hastalığın büyüme ve gelişme üzerine zararlı etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Malnütrisyon enfekte çocuklarda yaygın olarak görülen bir sorundur (Ali ve Nozaki 2007). Yapılan bir çalışmada, 1-10 yaşlarındaki çocuklarda, enfekte grubun kontrol grubuna göre daha düşük kilo, serum demir ve çinko düzeylerine sahip olduğu görülmüştür. Besin malabsorpsiyonu, semptomatik giardiosisli hastaların en son %50'sinde rapor edilmiştir. Ek olarak gelişim ve kilo üzerine giardiosisin negatif bir etkisi sıklıkla bildirilmiştir. Hatta asemptomatik giardiosiste muhtemelen malnütrisyon yolu ile gelişmede azalma not edilmiştir. Daha da rahatsız edici olan, hastalığın zeka ve fizikososyal gelişme,

özellikle de dil-bilişsel ve ince-motor gelişme üzerine olan etkileridir (Feng ve Xiao 2011). Hastalıkla ilişkisi iyi derecede belgelenmiş olan malabsorpsiyona bağlı olarak yağ, karbonhidrat, şeker ve vitaminlerin emilimi bozulabilmektedir. Semptomlar kistlerin atılmaya başlamasından bir hafta önce başlamakta ve enfeksiyon kendiliğinden 6 hafta içinde temizlenebilmekte ya da birkaç ay devam edebilmektedir ki ilgili klinik sorunlar da yine aynı dönem boyunca varlığını korumaktadır. Hastalığın seyri sırasında, ekstraintestinal bazı bulgulara da rastlanabilmektedir ki makülopapüler deri döküntüsü, aftöz ülserasyon, ürtiker bunlardan bazılarıdır (Flanagan 1992).

Farklı *G. duodenalis* genetik gruplarının (assemblage) farklı toksinler ya da metabolik ürünler ortaya koyabilmesi, onların patojenitesinin de az çok farklı olmasına neden olmaktadır. Bazı çalışmalar, assemblage A izolatlarının, assemblage B izolatlarından daha virulent olduğunu göstermiştir. Assemblage A sıklıkla semptomların varlığı ile ilişkiliyken, assemblage B enfeksiyonları subklinik seyredebilmektedir. Avustralya'da 5 yaşın altındaki çocuklarda yapılan bir çalışmada, assemblage A izolatları ile enfekte çocukların, assemblage B izolatları ile enfekte olanlardan 26 kat daha fazla ishale sahip oldukları bulunmuştur. Bazı çalışmalarda ise karşıt sonuçlar elde edilmiştir. Hollanda'da 8-60 yaşları arasındaki kişilerle yapılan bir çalışmada assemblage A'nın aralıklı ishal ve assemblage B'nin duodenal inflamasyon, bulantı ve ısrarlı semptomlar ile ilişkili olduğu görülmüştür. Öte yandan *G. duodenalis* assemblage'ları ve virülansı arasındaki ilişkinin olası çalışmaları tutarsız sonuçlar da verebilmektedir (Feng ve Xiao 2011). Orta, aralıklı ishali assemblage A'ya ve şiddetli akut ya da kronik ishali assemblage B'ye bağlayan ya da tam tersini ifade eden zıt sonuçlar, parazitin genetik çeşitliliğinin semptomlara olan katkısı üzerine kesin söylemi engellemektedir (Cacció ve ark. 2005).

*Giardia lamblia* ile karşılaşanların yaklaşık yarısı klinik olarak asemptomatiktir. Bu insanların çoğu taşıyıcı konumundadır. Hastalık gelişenlerde en önde gelen semptom uzun süreli ishaldir. İshal hafif şiddette ve yarı katı halde ya da sulu ve hacimli olabilir. Son olasılık klinik bulguları da şiddetlendirir. İshalin bu tipi tedavi edilmezse haftalarca ya da aylarca sürebilir, şiddeti zamanla artabilir veya azalabilir. Çocuklarda gelişme bozulu. Kronik enfeksiyonlar önemli derecede kilo kaybı ile emilim bozukluğu sendromu, genel bir halsizlik ve buna bağlı yorgunluğun eşlik ettiği yağlı dışkılama ile karakterizedir. Ek olarak, bazıları epigastrik hassasiyet, iştahsızlık hatta ağrı tarif eder. Belirli gıdalara karşı olan alerjik semptomlar ve bazı diğer semptomlar bazen giardiozise eşlik edebilir; ancak, benzer kimi bulguların hastalıkla ilişkisi kesinleştirilebilmiş değildir. Belirli hasta grupları giardiozise yakalanma ve hastalığın kronikleşmesi noktasında büyük risk taşırlar. HIV/AIDS hastalığı,

diğer immun sistemi baskılayan durumlar (hipogammaglobulinemi, kanser kemoterapisi vs.), kistik fibrozis, çocuklarda bağırsak emilimi problemleri bu gruba verilebilecek başlıca örneklerdendir (Despommier ve ark. 2000).

Hastalığın hayvanlardaki formu da, klinik olarak insanlardakine benzerlik gösterir; ancak, bazı su kuşlarında (*Threskiornis spp.* vs.) primer yavru ölümlerinden de sorumlu olduğu bildirilmiştir (Thompson 2004).

## 2.7. Epidemiyoloji

*Giardia duodenalis*'in birkaç karakteristik özelliği ilgili enfeksiyonun epidemiyolojisini belirleyen temel etmenlerdendir. Bunlar; (i) Etkenin enfektif dozu düşüktür. (ii) Kistler, defekasyonla atılım anında enfektiftir; o nedenle de doğrudan temas bulaşta rol oynayabilmektedir. (iii) Kistler değişik çevresel etmenlere oldukça dirençli olup farklı ortamlarda haftalarca, hatta aylarca yaşamını sürdürebilir. (iv) Çevresel yayılım dinamiği, süreç dahilinde su ve yiyeceklerin kontaminasyonu ile sonuçlanabilmekte ve bu durum da indirekt bulaşa zemin hazırlamaktadır (Cacció ve ark. 2009).

Doğrudan temas kaynaklı bulaşlara en tipik örnek insanların, özellikle de çocukların bir arada bulundurulduğu mekanlarda görülen yaygın hastalık varlığıdır. Günlük bakım merkezlerinde artan oranlarda görülen giardiosis salgınları söz konusu savı desteklemektedir (Eckmann 2003; Sulaiman ve Cama 2006).

Eğlence veya içme amacıyla kullanılan suların aracılık ettiği salgınlar hastalığın epidemiyolojisinde büyük rol oynar. Günümüze kadar tespit edilen su aracılı ve parazitik protozoon kaynaklı 325 salgının %40'ının *G. duodenalis* tarafından oluşturulduğu tespit edilmiştir (Karanis ve ark. 2007). Öte yandan *Giardia spp.*'nin epidemiyolojik karakteristiği ile ilgili çok da ayrıntılı bilgilere ulaşılabilmiş değildir. İncelenen bütün atık su örneklerinde sadece *G. duodenalis* kistleri tanımlanmış ve daha da önemlisi sadece insan patojenleri (assemblages A and B) bulunmuştur (Cacció ve ark. 2009). Bir mezbahadan alınan atık su örneklerinde yürütülen bir taramada, olasılıkla çiftlik hayvanı orjinli kontaminasyon ile ilintili olarak assemblage A ve E kistleri tespit edilmiştir. Ancak, kentsel orjinli atık su örneklerinde sadece assemblage A ve B bulunmuştur (Cacció ve Ryan 2008).

Taze tüketilen elma, salata sebzeleri ve benzeri diğer gıdalarda etkenin kist formlarına sıklıkla rastlanmaktadır; ancak, söz konusu kontaminasyonun aktif kaynağı konusunda belli bir standardizasyon bulunmamaktadır. Enfekte çiftlik çalışanları, kist içeren sular ile

yiyeceklerin yıkanması veya henüz bahçede bitkilerin kontamine sularla sulanması bazı salgınlardan sorumlu tutulmuştur (Dixon 2009). Örneğin, Wisconsin Sigorta Şirketinde 1990'larda görülen bir giardiosis salgınının kafeteryada yiyecekleri hazırlayan enfekte bir kişi ile ilişkili olduğu görülmüştür (Roberts ve Janovy 2006). Kontaminasyonun diğer bir olası kaynağı ise çiftlik hayvanları ile doğrudan ya da dolaylı temastır (Dixon 2009). Çünkü, zoonotik karakter de taşıyabilen giardiosisin, çiftlik hayvanlarında ciddi ekonomik kayıplarla sonuçlanabilen ishal olgularına neden olabileceği bildirilmiştir (Eckmann 2003; Sulaiman ve Cama 2006). Yine, enfekte gübrelerin tarlalara uygulanması muhtemel bir risk faktörüdür. Ayrıca, mezbahalarda kesilen hayvanların enfektif dışkılarıyla etin kontaminasyonu olağan şüpheli bir durumdur. Bazı sebze ve meyvelerin genelde nemli olan yüzeyi, paraziti kuruma ve sıcak stresinden korumaktadır. Dolayısıyla, ürünün tüketiciye ulaşmadan dekontamine edilmesi bulaş siklusunun kırılması adına önemli olabilmektedir (Dixon 2009).

Mevsimsel olarak, giardiosisin yazları (Roberts ve Janovy 2006) ve erken sonbaharda daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Bu durum hastalığın belli derecede mevsimsel karakter taşıdığını göstermektedir (Weese ve ark. 2011). Öte yandan, giardiosisin mevsim ile olan ilişkisi tam olarak aydınlatılabilmemiş de değildir (Roberts ve Janovy 2006; Flanagan 1992).

Hastalıkta yaş dağılımı tipiktir (Flanagan 1992). Genel olarak bütün yaş grupları epidemiler süresince eşit olarak etkilenir, fakat klinik veya subklinik olgulara özellikle endemik bölgelerdeki çocuklarda daha çok rastlanmaktadır (Weese ve ark. 2011). Bu noktada, özellikle 5 yaş altı çocukların daha büyük bir risk taşıdığı ifade edilmiştir (Eckmann 2003).

Hastalığın epidemiyolojisinde, ülke veya şehir bazında toplumların gelişmişlik düzeyi ve sosyoekonomik koşullar büyük önem taşır. Bazı şehirlerde diğerlerine kıyasla giardiosisin daha fazla görülmesinin altyapı sorunlarıyla ilişkili olabileceği ifade edilmektedir (Ak ve ark. 2007). Endüstrileşmiş şehirlerde *Giardia* kisti atılımının yaygınlığı sağlıklı bireylerde tahmini olarak %1-7 arasındadır ki bu oran bazı bölgelerde daha da yüksek olabilmektedir (Eckmann 2003; Weese ve ark. 2011). Gelişmekte olan ülkelerde gıdanın, gelişmiş ülkelerde ise suyun asıl bulaş kaynağını oluşturduğu bildirilmiştir (Eckmann 2003). Ayrıca, kontamine suların turistler ve çeşitli amaçlarla seyahat eden kişilerin enfeksiyonundan sorumlu ana kaynak olduğu öne sürülmüştür (Ali ve Nozaki 2007; Turgay 2009).

## 2.8. Zoonotik Önem

*Giardia* spp.'nin zoonotik karakteri konusunda tam bir uzlaşma henüz sağlanabilmiş değildir. En azından parazitin temelde antropozoonoz mu yoksa zooantroponoz mu olduğu konusunda tartışmalar devam etmektedir. Birçok hayvan türünün zoonotik *Giardia* türleri ile enfekte olduğu bilinmektedir. Ancak, özellikle hayvanların insanlar açısından kaynaklık edebilme yetileri tartışmalıdır. Örneğin, 4-12 haftalık buzağular klinik boyutta hastalığa sahip olduklarında dışkıyla  $10^5$ - $10^6$ /gr kist atmaktadırlar. Ancak, bunlarda daha çok, kendilerine özgün parazit tipine (E) rastlanmakta ve zoonotik etken kaynaklı enfeksiyonlarla da çok az düzeyde de olsa karşılaşmaktadır. Benzer durum kedi ve köpekler için de geçerlidir. Bu noktada en önemli zoonoz riskinin köpeklerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Thompson 2004).

Hastalığıdaki düşük enfeksiyon dozu ve etkenin kullandığı farklı bulaş rotalarının olması, giardiosisin zoonotik önemin kesinleştirilmesi noktasında sorunlar yaratmaktadır (Cacció ve ark. 2005). WHO 20 yıldan uzun süredir *G. duodenalis*'in zoonotik potansiyele sahip olduğunu kabul ettiği halde direkt kanıtlar hala eksiktir ve tartışmalar hem tür hem de alttür bazında devam etmektedir (Cacció ve Ryan 2008). Evcil veya yabani hayvanların zoonotik önemi belirsizliğini korumaktadır. Öte yandan, çiftlik hayvanlarının, özellikle de sığırların insan enfeksiyonlarına kaynaklık edebileceği ile ilgili güçlü deliller mevcuttur (Dixon 2009).

Zoonotik iletim, veterinerler, çiftçiler, onların aileleri ve çiftlik ya da hayvanat bahçesi ziyaretçileri üzerinden doğrudan temas ile gerçekleşebilmektedir. Öte yandan, böylesi bir bulaş kontamine su ve besinler aracılığı ile indirekt yoldan da gerçekleşebilir. Atıklar, tarlalara uygulanan hayvansal gübreler veya bazı diğer kaynaklar yüzey veya yer altı sularının kontaminasyonuna yol açabilmektedir. Benzer şekilde ürünlerin kontamine sularla yıkanması veya muamele edilmesi de önemlidir. Yine, süt ve et gibi hayvan orijinli ürünlerde *Giardia* kistlerinin varlığına sıklıkla rastlanmaktadır (Dixon 2009). İnsanlarda, parazitin *ssu-rRNA* gen bölgesi analizleri üzerinden yürütülen taramalarda assemblage C ve D'ye rastlanmıştır. Öte yandan, aynı parazitler *tpi* veya *ef-1* gen bölgesi yönünden incelendiğinde assemblage A ve B oldukları yönünde bir sonuç çıkmıştır. Yine, insan enfeksiyonu ile ilişkili verileri olmayan kedi spesifik assemblage F Etiyopya'da 7 insanda tanımlanmıştır. Bu etkenler *bg* gen bölgesi analizlerine göre %100 olarak kedi genotipi olduğu doğrulanmıştır; ancak, kesin söylem için *ssu-rRNA* veya *tpi* üzerinden de olguların teyiti gerekmektedir (Cacció ve Ryan 2008). Vahşi toynaklı hayvanlardan izole edilen alttür çoğunlukla assemblage A olarak tiplendirilmiştir;

ancak, bu tiplerin genetik olarak insan izolatlarından farklı olduğu da kaydedilmiştir (Lalle ve ark. 2007). Bütün bu veriler bir noktada tartışmalı görünse de, etkenin zoonotik öneminin olabileceğini göstermektedir (Cacció ve ark.2009).

Sığırlar ya zoonotik *G. duodenalis* assemblage A yada konak spesifik, zoonotik olmayan assemblage E ile enfekte olabilmektedirler. Sayısız çalışma sığırlarda *G. duodenalis* assemblage E'nin, assemblage A'dan daha yüksek oranda bulunduğunu göstermiştir (Dixon 2009). Bu noktada, geviş getirenlerdeki assemblage A varlığına özellikle insanların kaynaklık etmiş olabileceği düşünülmektedir (O'Handley ve Olson 2006; Dixon 2009). Yine, etlerde yapılan bir taramada assemblage B'ye de rastlanmış ve bu durumun, ilgili kontaminasyonda asıl kaynağın insan olduğuna iyi bir delil oluşturduğu kaydedilmiştir (Dixon 2009).

## 2.9. Tanı

Parazit protozoonların vücutta istila ettikleri doku, organ, ortaya çıkan klinik bulgular ve hastalığın şiddeti, etkenin türüne bağlı olarak değişir. Ancak, salt patolojik ve klinik bulgulara bakılarak kesin tanı zordur; çünkü, söz konusu bulgular konağın türüne, yaşına, içinde bulunduğu biyolojik döneme, immun sisteminin durumuna vs. bağlı olarak farklılıklar gösterebilir. İlgili nedenlerden ötürü, protozoon hastalıklarında kesin tanı, diğer pek çok enfeksiyöz hastalıkta olduğu gibi, doğrudan etkenlerin tanımlanmasıyla konabilir (Yaşarol 1984).

Giardiosiste doğru tanı koyabilmek için, öncelikle hastadan iyi bir anamnez alınmalıdır. Laboratuvar bulguları arasında dışkı örneklerinin yağlı bir görünümde olması, düşük serum protein düzeyi, bazı hastalarda folat düzeylerinde düşme hastalık adına şüphe uyandırıcı bulgulardandır (Ak ve ark. 2007).

Temel olarak giardiosisın laboratuvar tanısında dikkate alınması gereken bazı temel kurallar vardır. Bunlar;

- Birden fazla dışkı numunesi (en az üç) test edilmeli ve ancak o zaman kesin sonuçtan söz edilmelidir (Conboy 1997; Lebbad 2010; Weese ve ark. 2011). Çünkü, dışkıda kist atılımı tutarsız bir seyir izlemektedir (Weese ve ark. 2011).

- Kistlerin daha iyi tespiti için, mikroskopik incelemeden önce gaita örnekleri formalin ya da diğer bir fiksatif ile konsantre edilmelidir. Örneğin, formalin-etil asetat konsantrasyon yöntemi dahilinde uygulanacak 500 × g 10 dk. santrifüj işlemi kullanışlı bir yaklaşım olabilmektedir. Öte yandan, eğer EIA (Enzyme Immunoassay) ya da hızlı kartuş testleri ile

dışkıda olası antijen arayışına girişilecek ise, numunelerin konsantrasyonundan kaçınılmalıdır; bu işlem, ilgili antijenleri elemine edebilmektedir (Anonim 2013).

- Tanı tekniklerinin seçimi ekipmana, kullanılan kimyasallara ve deneyime bağlıdır; zaman ve maliyet mutlak dikkate alınmalıdır (Anonim 2013).

Giardiosisin tanısında direkt ya da zenginleştirme yöntemlerini takiben yapılan mikroskopik dışkı muayenesi, dışkıda parazit antijenlerinin aranması ilkesine dayanan serolojik yöntemler, indirekt seroloji ve PCR esaslı moleküler tekniklerden yararlanılabilmektedir. Direkt dışkı muayeneleri, yaygın bir kullanıma sahiptir; ancak, bu yöntemlerin düzensiz karaktere sahip kronik olgulardaki tanı gücünün zayıf olduğu bildirilmiştir (Thompson 2004; Sönmez-Tamer ve ark. 2009; Lebbad 2010). Hastalığın tanısı amacıyla kullanılabilecek metotları direkt ve indirekt yöntemler olmak üzere iki başlık altında toplamak mümkündür:

### **2.9.1 İndirekt tanı yöntemleri**

Bunlar hastanın kanında parazite karşı oluşmuş antikorların saptanmasını ya da immunolojik yöntemlerle dışkı örneğinde doğrudan parazit antijenlerinin gösterilmesi esasına dayanır. Bu noktada, direkt floresan antikor tekniği (DFA) duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir test olup, birçok laboratuvar tarafından dışkıda etken taraması noktasında altın standart olarak kabul edilir. Ticari DFA kitlerinin kullanımında, tanı olasılığını arttırmak amacıyla dışkının konsantre edilmesi önerilir. Ancak, bu yöntemde özel ekipman ve piyasada bulunan ticari test kitleri gerekir ve kalıcı bir boyama sağlamaz (Weese ve ark. 2011). Ayrıca, immunodiagnostik yaklaşımların, hastalığın ne süreçte olduğu ile ilgili belli bir bilgiyi kazandırmadığı da bildirilmiştir (Roberts ve Janovy 2006).

### **2.9.2. Direkt tanı yöntemleri**

#### **2.9.2.1. Dışkıda etken tanısı**

A) Direkt bakı (Natif-Lugol) yöntemi: Kistler (Weese ve ark. 2011) ve trofozoitler direkt mikroskopik muayene ile tespit edilebilir. Pozitif gaita örnekleri çok sayıda kist içerebilir. Kistler en iyi 100x büyütmede tanımlanır. Bu formların bir oküler mikrometre ile ölçümü ve morfolojik detaylar (düzgün oval duvar, şekil ve boyut tutarlılığı) bu parazitin doğru teşhisini sağlayacaktır (Conboy 1997). Natif yöntemde bir damla dışkı numunesi lam üzerine alınır, onun üzerine de bir damla fizyolojik tuzlu su veya lugol eriyiği damlatılır, karıştırılır ve lamel kapatılıp mikroskop altında incelenir. Eğer dışkı örneği sıvı ise trofozoit görme olasılığı yüksektir; böyle dışkılar trofozoit için en çok bir saat içinde incelenmelidir. Çünkü, trofozoit

tanısında etkenin hareketli olması önemlidir ve parazit kısa sürede inaktive olabilmektedir (Ak ve ark. 2007).

B) Çoklaştırma yöntemleri: Dışkıdaki kistlerin formalin-eter sedimantasyon tekniği ile çöktürülerek (Ak ve ark. 2007) ya da çeşitli yoğun solüsyonlarla yüzdürülerek toplanması söz konusudur. Bu teknik, yüksek yerçekiminden kaynaklanan ozmotik hasardan dolayı, sitoplazmanın bir yanına bir vakuol ya da boşluk görünümünün oluşmasına neden olabilmektedir (Conboy 1997). Flotasyon aracılığıyla gerçekleştirilen zenginleştirme yöntemlerinde, doymuş tuzlu su, Sheather'in doymuş şekerli suyu ve doymuş çinko sülfat ( $ZnSO_4$ ) çözeltileri kullanılabilir. Ancak, doymuş şekerli su kistleri deforme etmesinden, doymuş tuzlu su ise başarısının düşük olmasından ötürü dışkıda kistlerin taranmasında pek tercih edilmemektedir. Bunlardan, 350 gr granüler çinko sülfatın 1000 ml distile suda çözülmesiyle elde edilen 1.18 dansiteye sahip çözeltinin, dışkıda kist aranması esasına dayanan giardiosis tanılarında özel bir öneme sahip olduğu bildirilmiştir (Truant ve ark. 1981; Conboy 1997; Artzer 2009; Rishniw ve ark. 2010).

C) Boyama yöntemleri: Özellikle protozoonların görülüp tanımlanamadığı durumlarda veya sürekli preparat elde etmek amacı ile uygulanır (Ak ve ark. 2007). Kullanılabilecek boyama yöntemleri arasında trikrom (Weese ve ark. 2011), Giemsa ve Heidenhain'in demir hematoksilin yöntemleri sayılabilir (Ak ve ark. 2007).

D) Kültür Yöntemleri: Tanıda kültür yöntemlerini kullanmak rutinde kendine yer bulamamıştır (Saygı 2002). Bu yöntem kısaca, eksikte olmuş parazitin Karapetyan, TYI-S-33, HSP-1 ve HSP-2 besi yerlerine ekilmesini kapsar (Ak ve ark. 2007).

E) PCR: Moleküler tanı teknikleri, özellikle az sayıda oocyst atılımı ile karakterize olguların teşhisinde özel bir konuma sahiptir. Hastalığın tanısında kullanılabilecek, daha etkili yöntemlerin geliştirilebilmesi üzerine çabalar devam etmektedir. PCR esasına dayanan tekniklerle, numunedeki tek bir kistin bile belirlenebileceği, tanı sürecinde tür ve alt türlerin de belirlenebilmesinin araştırmalar açısından önemli bir avantaj konumunda olduğu bildirilmiştir (Roberts ve Janovy 2006).

Giardiosis tanısı amacıyla, *ssu-rRNA* (the small subunit ribosomal RNA), *bg*, *gdh* ve *tpi* gen bölgelerine yönelik primerlerden yararlanılabilmektedir (Hopkins ve ark. 1997; Monis ve ark. 1999; Lalle ve ark. 2005; Cacció ve ark. 2010; Lasek-Nesselquist ve ark. 2010). Bunlardan özellikle *tpi* ve *gdh*'in izolatlar arasında belirgin variabiliteye sahip olduğu, *ssu-rRNA*'nın ise en konservatif gen bölgesi konumunda bulunduğu ve genomda birçok



kopyasının olmasından ötürü sensitiviteyi de arttırdığı bildirilmiştir. Fakat bu gen bölgesinin, yapılacak genotiplendirmelerde, tipler arası ayrımı sağlarken alt izolat gruplarının ayrımlarında yetersiz kaldığı da vurgulanmıştır (Lebbad 2010). Son zamanlarda, 5.8S rDNA ve intergenomik rRNA spacer bölgesi (*ITS1* ve *ITS2*) amplifikasyonuna dayanan moleküler analizlerin, tür ve alt tür saptaması konusunda büyük avantajlara sahip olduğu da bildirilmiştir (Cacció ve ark. 2010).

### **2.9.2.2. Duodenal sıvıda etken tanısı**

Özellikle giardiosis şüpheli fakat dışkı örnekleri negatif sonuç veren durumlar için, direkt aspirasyon ile alınan duodenum içeriği incelenebilmektedir (Flanagan 1992; Weese ve ark. 2011). Entero-test adı verilen bir yöntem ile, alınan aspiratta trofozoitler tanımlanabilmektedir (Saygı 2002; Ak ve ark. 2007). Yine, bazı durumlarda başvuru duodenal biyopside, endoskopi yapılarak ince bağırsak mukoza epitelinin uğradığı morfolojik değişiklikler ve protozoonun kendisi doğrudan gösterilebilmektedir (Flanagan 1992; Ak ve ark. 2007).

### **2.10. Tedavi**

Klinik hastalık tablosu, birçok olguda belli bir süre içerisinde kendi kendini sınırlayabilmekte ve sadece destekleyici sağaltım yeterli olabilmektedir (Weese ve ark. 2011). Semptomatik tedavide, çocuklarda belirlenen eksiklik bulgularına göre demirli preparatlar, B vitamin kompleksleri, folik asit verilebilmekte, proteinden zengin diyet takviyesi yapılabilmektedir (Ak ve ark. 2007).

Giardiosis tedavisinde nitroimidazol grubu ilaçlar, metronidazol ve tinidazol özellikle tercih edilen kematerapötiklerdir (Upcroft ve Upcroft 1998). Metronidazol 250 mg, günde 3 kez, 5-10 gün (Saygı 2002; Ali ve Nozaki 2007; Rossignol 2009), tinidazol 100 mg, günde 3 kez, 7 gün, furazolidon 100 mg, günde 4 kez, 7-10 gün, quinacrine 100 mg, günde 3 kez, 5-7 gün, albendazol 400 mg, günde 4 kez, 5 gün ve paromomycin 500 mg, günde 3 kez, 5-10 gün uygulanabilmektedir. Tinidazol ya da ornidazolün giardiosis tedavisi için genellikle tek bir yüksek doz (2 gr) rejimi de tavsiye edilir (Ali ve Nozaki 2007). Metronidazol % 80-95 oranında iyileştirici güce sahiptir (Weese ve ark. 2011); ancak, bu ilacın alkollü içeceklerle birlikte alınmaması önemlidir (Roberts ve Janovy 2006). Yapılan bir çalışmada, 2-15 yaş arası 35 çocukta metronidazol ve tek doz ornidazol uygulamaları denenmiş ve ornidazol uygulama kolaylığı ve etkinlik bakımından daha iyi sonuçlar vermiştir (Özbilgin ve ark. 1999). Tinidazol de yine % 80-100 oranında iyileştiriciliğe sahiptir ve tek dozluk kullanımlar için

tercih edilebilir. Paromomycin 2. ve 3. trimesterdeki hamile kadınların tedavisi için uygundur. Giardiosiste, taşıyıcı bireylerin tedavisi genellikle önerilmez; fakat, hane halkının, özellikle de immun sistemi baskılanmış bireylerin, söz konusu taşıyıcılardan ötürü yüksek risk altında oldukları unutulmamalıdır (Weese ve ark. 2011).

### **2.11. Korunma ve Kontrol**

*Giardia intastinalis* halk sağlığını etkileyen önemli bir parazittir (Sulaiman ve Cama 2006). Etkili bir zoonotik karaktere sahip olması etkenin insanlardan, hayvanlardan ve çevreden tümüden eliminasyonunu imkansız kılmaktadır (Ak ve ark. 2007). Bu nedenle de, hem insanlarda hem de hayvanlarda temel bulaş kaynağı olan dışkıının kontrolü önemlidir. El hijyeni önemli bir tedbirdir ve enfekte bir hayvan ya da onun yaşam alanı ya da dışkı ile temas sonrası uygulanması korunmada büyük rol oynar. Hayvan dışkıları toplanmalıdır; özellikle köpek ve çocukların oynadıkları parklarda vs. dayanıklı kistler ile çevresel kontaminasyonu önlemek için hemen bertaraf edilmelidir. Diğer hayvanların dışkısı ile kontamine olmuş su birikintileri, göl, gölet ya da diğer su kaynaklarından köpeklerin su içmesi engellenmelidir. Şüpheli enfeksiyonu olan ya da enfekte bir hayvan diğer hayvanlardan ve yüksek risk taşıyan çocuklardan veya immun sistemi baskılanmış bireylerden ve hayvanlardan ayrı tutulmalıdır. Kistler ayrıca hayvanın vücut kıllarında değişen periyotlar için canlı kalabilmektedir (Weese ve ark. 2011). *G. duodenalis*'in kedi ve köpek gibi hayvanlarda tespiti ve subklinik bireylerin tedavisi halk sağlığı açısından büyük önem arz eder (Conboy 1997).

*Giardia* kistleri soğuk suda (8°C) 8 haftadan daha uzun süre ya da ılık suda (21°C) 4 hafta canlı kalabilir (Weese ve ark. 2011). Sıradan dezenfeksiyon yöntemleri ile inaktive edilebilmekle birlikte, içme suyundaki normal klor konsantrasyonundan etkilenmemektedir (Turgay 2009). Ancak, kistler donma, kuruma, direkt güneş ışığı ve hızlandırılmış hidrojen peroksit, çamaşır suyu (ev çamaşır suyunun 1:10 dilüsyonu) ya da kuaterner amonyum dezenfektanlar tarafından öldürülebilir. Organik enkazı kaldırmaya yönelik derinlemesine temizlik etkili dezenfeksiyon için kritik öneme sahiptir (Weese ve ark. 2011). Su kaynaklı enfeksiyonlar, yüzey sularının uygun filtrasyonu ile de önlenmektedir (Ali ve Nozaki 2007). Ham yüzey suyunun tüketimi giardiosis için önemli bir risk faktörüdür. Su kaynaklarının kontaminasyonu insanlardan, çiftlik hayvanlarından ve vahşi yaşamdan kaynaklanabilir. İki yıllık bir çalışma *Giardia* kistleri ile yüzey suyunun çevresel kontaminasyonunda her kaynağın önemi değerlendirilmiş, parazit ile ilgili en önemli yaygınlık derecesine kanalizasyon sularında rastlanmıştır (Feng ve Xiao 2011).

Giardiosise yönelik olarak, insanlarda kullanılan etkili bir aşı bulunmamaktadır (Eckmann 2003). Köpekler ve kediler için aşı kullanılabileceği bildirilmiştir; ancak, bu

uygulama Amerikan Hayvan Hastanesi Birliği gibi kurumlarca tavsiye edilmemektedir (Weese ve ark. 2011). Deneysel aşılar, insanlardan izole edilen *G. duodenalis* tarafından enfekte edilen kedi ve köpeklerde test edilmiştir. Bu aşılar hastalığın şiddetini ve atılan kist sayısını azaltıcı yönde etkiye sahiptir (Roberts ve Janovy 2006).

Türkiye’de 01.01.2005 tarihinden itibaren uygulanmaya başlanan bulaşıcı hastalıklar bildirim sistemine göre *G. intestinalis* D grubu bildirim zorunlu enfeksiyon etkenleri listesinde yer almakta, laboratuvarlar D grubu srveyans tipi ile doğrudan bildirim sistemine dahil olmaktadır. Grup D bildirim zorunlu enfeksiyon etkenleri şunlardır: *Campylobacter jejuni*, *Cryptosporidium sp.*, *Entamoeba histolytica*, *Enterohemorajik Escherichia coli*, *Giardia intestinalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.* ve *Shigella sp.* (Bayazit 2005).

alışmalar, giardiosisin Türkiye’deki yaygınlığının zamanla belli derecelerde azaldığını göstermektedir. Bu durum, altyapı ve insanların sosyo-kültürel özelliklerindeki gelişmelerle ilişkilendirilmektedir. Öte yandan, gelişim ve hastalıkla ilgili veriler ülke genelinde homojen bir karakter taşımamaktadır. Bütün bu veriler ışığında; genellikle toplumların gelişmişliği ile ters orantılı olan giardiosisin prevalansının azaltılması için, toplumun bütün kesimlerinin kişisel hijyen ve sanitasyon kuralları hakkında bilgilendirilmesi ve alt yapı sorunlarının giderilmesi yanında, sosyo-ekonomik koşulların da iyileştirilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu noktada da, en önemli temizlik önleminin, insan dışkısının çevreye yayılmasını önlemek ve özellikle dışkılama sonrası temizlik olduğu anlaşılmaktadır (Alver ve ark. 2005; Yazar ve ark. 2005; Ataş ve ark. 2008).

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Kullanılan cihazlar**

Isısal döngüleme cihazı (thermocycler), Techne TC5000, İngiltere

Mikrosantrifüj, Sigma, Almanya

Otomatik pipet, Axygen axypet, ABD

Yatay elektroforez tankı, Thermo, ABD

Yatay elektroforez tankı, Cleaver, İngiltere

Güç kaynağı, Cleaver, İngiltere

Sallayıcı su banyosu, Nüve ST402, Türkiye

İnkübatör, Incucell, Almanya

Soğutucu -20 °C, Vestel, Türkiye

Soğutucu +4 °C, Profilo, Türkiye

Isıtıcıli manyetik karıştırıcı, WiseStir MSH-20A, Kore

pH metre, Hanna HI221, ABD

Vorteks, WiseMix VH-10, Kore

Hassas terazi, Ohaus, ABD

Transillüminatör, Vilber Lourmat, Fransa

Fotoğraf makinesi, Canon, Japonya

Santrifüj, Nüve-NF 400, Belçika

Dikey elektroforez tankı ve güç kaynağı (MP-300V), Cleaver, İngiltere

### 3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

*Taq* DNA polimeraz enzim seti, Fermentas, Litvanya

FastDigest®*HaeIII* (*BsuRI*) restriksiyon endonükleaz, MBI Fermentas, Litvanya

Etil alkol, Sigma, ABD

Agaroz, Sigma, ABD

Tris, Sigma, ABD

EDTA, Sigma, ABD

Glasiyal asetik asit, Sigma, ABD

Borik asit, Sigma, ABD

DNA belirteç 100 bp, MBI Fermentas, Litvanya

DNA belirteç 50 bp, MBI Fermentas, Litvanya

DNA belirteç 20 bp, Thermo Scientific, Litvanya

Etidyum bromür, Sigma, ABD

Yükleme tamponu, MBI Fermentas, Litvanya

ZnSO<sub>4</sub>, Sigma, ABD

Potasyum Dikromat, Sigma, ABD

QIAamp DNA Stool Mini Kit, Qiagen, Almanya

Deoksiribonükleik asit trifosfat (dNTP) set (100 mM dATP, dGTP, dCTP ve dTTP),  
MBI Fermentas, Litvanya

PAGE:

N,N'-Methylenebisacrylamide, Sigma, ABD

Acrylamide, Sigma, ABD

N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine(TEMED), Sigma, ABD

Ammonium persulphate, Sigma, ABD

### 3.1.3. Kullanılan çözeltiler

#### 3.1.3.1. Doymuş çinko sülfat çözeltisi

Behere alınan 100 ml. hacimde distile suya, 33 gr heptahydrate  $ZnSO_4$  eklenerek, oda ısısında, magnetik karıştırıcıda, iyice homojen bir hal alıncaya kadar karıştırıldı. Kullanılma sürecinde oda koşullarında muhafaza edildi (Conboy 1997; Zajac ve ark. 2002).

#### 3.1.3.2. Nested PCR çözeltileri

**10X Reaksiyon tamponu:** *Taq* DNA polimeraz enzim seti içerisinde hazır olarak alınmıştır.

100 mM Tris-HCl (pH 8,8)

500 mM KCl

0,8% (h/h) Nonidet P40

**25 mM  $MgCl_2$ :** Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan 25 mM  $MgCl_2$  *Taq* DNA polimeraz enzim kiti içerisinde hazır olarak alınmıştır.

**10mM dNTP:** Her biri 100 mM olan dATP, dGTP, dCTP ve dTTP solüsyonlarının her birinden 10 µl alınmış ve 60 µl steril  $dH_2O$  ile 500 µl'lik steril ependorf tüpü içinde karıştırılmıştır. Sonuçta, 100 µl, 10 mM dNTP hazırlanmıştır.

#### 3.1.3.3. Agaroz jel elektroforez çözeltileri

**50X TAE (1 lt):**

242 gr Tris baz

57,1 ml Glisyal asetik asit

100 ml 0,5 M  $Na_2EDTA$  (pH 8,0)

Hassas terazide 18,6 g  $Na_2EDTA$  tartılıp bir miktar  $dH_2O$  ile çözdürüldü ve son hacmi 100 ml'ye tamamlandı; pH 8,0'a ayarlandı. Tris'ten 242 gr alındı ve 500 ml  $dH_2O$  içerisinde

çözdürüldü. Hazırlanan tris solüsyonu içerisine 57,1 ml glasiyal asetik asit ve daha önce hazırlanmış olan 100 ml 0,5 M Na<sub>2</sub>EDTA (pH 8,0) eklendi; arkasından son hacim dH<sub>2</sub>O ilavesiyle 1 lt'ye tamamlandı. Çözelti filtre kağıdından geçirilerek süzüldü (Sambrook ve Russell 1989).

#### **3.1.3.4. RFLP çözeltileri**

**Reaksiyon tamponu:** *HaeIII (BsuRI)* restriksiyon endonükleaz enzim seti içinde hazır olarak alınmıştır.

FastDigest®*HaeIII* (BsuRI)

10X FastDigest® Buffer

10X FastDigest® Green Buffer

#### **3.1.3.5. PAGE çözeltileri**

##### **5XTBE (1 lt)**

54 g Tris baz

27,5 g Borik asit

20 ml 0,5 M Na<sub>2</sub>EDTA (pH 8,0)

Hassas terazide 3,72 gr Na<sub>2</sub>EDTA tartılıp bir miktar dH<sub>2</sub>O ile çözdürüldü ve son hacmi 20 ml'ye tamamlandı; pH 8,0'a ayarlandı. Tris'ten 54 gr, borik asitten de 27,5 gr alınarak 500 ml dH<sub>2</sub>O içerisinde çözdürüldü; üzerine 20 ml, daha önce hazırlanmış olan 100 ml 0,5 M Na<sub>2</sub>EDTA (pH 8,0) eklendi. Arkasından son hacim dH<sub>2</sub>O ilavesiyle 1 lt'ye tamamlandı.

##### **%30 acrylamide-bisacrylamide çözeltisi**

29 gr acrylamide

1 gr bisacrylamide

100 ml ultra saf su

Akrilamidden 29 gr ve bisakrilamidden 1 gr alındı ve 100 ml ultra saf su içinde çalkalanarak eritildi. Hazırlanan bu çözelti ışık görmeyen bir ortamda oda sıcaklığında, en fazla bir ay kullanıldı.

### **%10 Amonyum Persülfat Çözeltisi**

1 gr amonyum persülfat

10 ml distile su

Amonyum persülfattan 1 gr alındı ve 10 ml distile su içinde çözdürüldü. Bu çözelti ışiksiz ortamda +4°C'de en fazla bir ay kullanıldı.

### **3.1.4. Kullanılan primerler**

Çalışmada *G. intestinalis*  $\beta$ -giardin gen bölgesine spesifik primerler kullanılmıştır. İlk PCR'de Cacciò ve ark. (2002) tarafından verilen, 752 bp (baz çifti)'lik bir bölgeyi üreten G7 ve G759 primerleri, nested PCR'de ise Lalle ve ark. (2005) tarafından bildirilen ve 511 bp'lik bir bölgeyi üreten BG1 ve BG2 primerleri kullanılmıştır. Söz konusu primerler GenBank'tan verilmiş olan protokol numarası (M36728) üzerinden kontrol edilmiştir. Nested PCR primerlerindeki bazı nükleotidlerin, ilgili literatürde yanlış yazıldığı fark edilmiş ve siparişler Gen Bank'a göre düzeltilmiştir. Kullanılan primerlerin (IDT<sup>®</sup>) dizileri Çizelge 3.1'de belirtilmiştir.

**Çizelge 3.1.** PCR aşamasında kullanılan primerler ve ilgili bilgiler

<b>Kod</b>	<b>Primer dizini (5' → 3')</b>	<b>Tm(C°)</b>	<b>Kaynak</b>
<b>G7</b>	AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGTGC	70.1	Cacciò ve ark. 2002
<b>G759</b>	GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC	67.3	Cacciò ve ark. 2002
<b>BG1</b>	GAACGAGATCGAGGTCCG	54.9	Lalle ve ark. 2005
<b>BG2</b>	CTCGACGAGTTCGTGTT	51.8	Lalle ve ark. 2005



### **3.1.5. Kullanılan restriksiyon enzimi**

*Haemophilus aegyptius* adlı bakteriden elde edilen ve DNA'yı 5'...G G<sup>^</sup>C C...3' ve 3'...C C<sup>^</sup>G G...5' bölgelerinden kesen bir endonükleaz olan FastDigest®*Hae*III (BsuRI) (Fermentas) restriksiyon enzimi kullanılmıştır.

### **3.1.6. Hasta grubu**

Çalışma grubunu, 01.01.2011 ve 31.12.2011 tarihleri arasında Tekirdağ Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gaita numunesi incelemesi için başvuran hastalardan alınan 573 örnek oluşturmuştur. Örneklerin belirlenmesinde, hastaların hastaneye başvuru nedenleri, şikayetleri, hekimin öngördüğü ilk teşhis ve numunenin makroskopik olarak görünüşleri dikkate alınmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Numunelerin toplanması**

Tekirdağ Devlet Hastanesine 01.01.2011 ve 31.12.2011 tarihleri arasında sindirim sistemi şikayeti ile başvuran ve rutin dışkı muayenesine yönlendirilen hastaların gaita numunelerinden 573 örnek alındı. Çalışma sürecinde, toplanan numunelerin aylık dağılımının belli bir dengede ve aylık verilerin karşılaştırılmasına imkan verecek bir dağılımda olmasına dikkat edildi. Toplanan her numune için hasta cinsiyeti, yaşı, saptanan klinik bulgular, başka bir hastalığı olup olmadığı, varsa adresi kaydedildi. Seçilen numneler 15 ml hacimli falkon tüplere alındı ve sonuç konsantrasyonu %2,5 olacak şekilde potasyum dikromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) solusyonu ile muamele edildi. Örnekler, natif ve flotasyon incelemesine kadar +4°C'de muhafaza edildi. İncelemeye kadar geçen toplam muhafaza süresi bir ayı geçirilmedi.

### **3.2.2. Numunelerin natif muayenesi**

Potasyum dikromat ile muamele edilen ve +4°C'de tutulan numunelerin bir miktarı (4 ml) ilk önce çay süzgecinden geçirildi. Sonra potasyum dikromattan arındırmak için 15 ml'lik falkon tüpe alınarak kalan kısmı distile su ile dolduruldu; 2500 rpm'de 6 dk. santrifüj edildi. Süpernatant doküldü. Bu işleme süpernatant berrak bir hal alana kadar tekrarlandı. En son aşamada, süpernatant döküldü ve peletten çok az bir miktar alınarak lugol eriyiği eşliğinde mikroskopta x40 büyütmede incelendi. Bulgular kaydedildi.

### 3.2.3. Doymuş çinko sülfat flotasyonu

Çeşitli araştırmacılar tarafından (Truant ve ark. 1981; Conboy 1997; Zajac ve ark. 2002; Artzer 2009; Rishniw ve ark. 2010) açıklanan yöntemler modifiye edilerek uygulanmıştır. Bu amaç için, natif muayenesi esnasında potasyum dikoromattan arındırılan, yıkanmış peletler kullanıldı. Peletler %33'lük ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi içinde tekrar süspansiyon edildi. Tüp santrifüje yerleştirildi ve tüpün ağzında bombe oluşturuncaya kadar ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi eklendi. Süspansiyon ile temas edecek şekilde tüpün üzerine 18 mm<sup>2</sup>'lik lamel yerleştirildi ve lamelin üstüne hafif parmakucu darbesiyle vurularak tüpün ağzına iyice yerleşmesi sağlandı. Sonra, 500 g'de (2000 rpm) 5 dk. santrifüj edildi. Santrifüjden sonra 10 dk. bekletilen lameller, sarsmadan alındı ve lamel altındaki çözelti damlacığı düşürülmeden kaldırıldı. Lam üzerine bir damla lugol çözeltisi kondu ve çözelti damlacığı lugol ile karışacak şekilde lamel lama kondu. Sonra da, x40 büyütmede, mikroskop altında numune incelenerek veriler kaydedildi. DNA ekstraksiyonuna kadar örnekler -20°C'de muhafaza edildi.

### 3.2.4 DNA ekstraksiyonu

ZnSO<sub>4</sub> flotasyonu sonucuna göre seçilen 90 örneğin DNA ekstraksiyonu QIAamp DNA Stool Mini Kit kullanılarak yapılmış olup, işlemin gerçekleştirilmesi sürecinde, firma tarafından verilen protokol aynen takip edildi. Daha sonraki işlemler için küçük miktarlara ayrılan DNA örnekleri -20°C'de muhafaza edildi.

### 3.2.5. Nested PCR

Yapılan nested PCR'nin ilk aşamasında, Caccio ve ark. (2002) tarafından tarif edilen yöntemden yararlanıldı. Master mix (25 µl) şu şekilde hazırlandı: 3 µl template, 0,5 µl taq DNA polimeraz (5 IU/µl), 1µl Fp (10 pmol), 1µl Rp (10 pmol), 0,5 µl dNTP-mix (10 mM), 1,5 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 2,5 µl buffer (10X), 15 µl nükleaz-free su. Kullanılan ısısız döngü koşulları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Nested PCR aşamasında Lalle ve ark. (2005) tarafından açıklanan yöntemden yararlanıldı. Master mix (25 µl) şu şekilde hazırlandı: 4 µl template, 0,5 µl taq DNA polimeraz (5 IU/µl), 1µl Fp (10 pmol), 1µl Rp (10 pmol), 0,5 µl dNTP-mix (10 mM), 1,5 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 2,5 µl buffer (10X), 14 µl nükleaz-free su. Nested PCR ısısız döngü koşulları ilk PCR'de olduğu gibidir; sadece annealing sıcaklığı 55°C'dir.

**Çizelge 3.2.** Yapılan ilk PCR’de kullanılan ısısız döngü koşulları

<b>İlk PCR Thermal Cycler Koşulları</b>			
<b>Sıcaklık</b>	<b>Süre</b>	<b>Siklus sayısı</b>	<b>İşlem</b>
95	15 dk.	1	Initial denaturation
95	30 s.	35	Denaturation
65	30 s.		Annealing
72	60 s.		Extension
72	7 dk.	1	Final extension

### 3.2.6. Agaroz jel elektroforezi

Elektroforez işlemi %2’lik agaroz jelde gerçekleştirildi. İlk PCR’de 752 bp, nested PCR’de 511 bp bantlar gözlemlendi.

### 3.2.7. RFLP

Polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri, *Hae*III restriksiyon enzimi ile, Çizelge 3.3’de verilen reaksiyon karışımları hazırlanarak, yaklaşık 3 saat, 37°C’de ısısız döngüleme cihazında kesime tabi tutuldu ve kesim ürünleri PAGE’de incelendi.

**Çizelge 3.3.** RFLP reaksiyon koşulları

<b>Reaksiyon İçeriği</b>	<b>Miktar (µl)</b>
<b>PCR Ürünü</b>	11
<b>10X Reaksiyon Tamponu</b>	3.2
<b>Restriksiyon Enzimi</b>	1.6
<b>Saf Su</b>	15

### 3.2.8. PAGE

Jel dökülecek cam levhalar iyice temizlenip, kurularak dikey elektroforeze yerleştirildi. İki taraflı jel için 70 ml total hacimde olacak şekilde Çizelge 3.4.'deki malzemeler belirtilen miktarlarda beher içinde karıştırılarak %12'lik jel hazırlandı. Hazırlanan jelden levhalara, bir şırınga yardımıyla, hava kabarcığı oluşturmadan döküldü. Jelin kurumması için yaklaşık 1 saat beklemeye bırakıldı. Jel kurduktan sonra levhalar içe bakacak şekilde ters çevirildi. Tanka 1X TBE dolduruldu. Levhalar bu tankın içine yerleştirildi. Jel hazırlanırken içine konan TBE oranı da 1X olacak şekilde ayarlandı. Kuyucukların içi 1X TBE ile yıkandı. Her kuyucuğa 12 µl RFLP ürünü yükleme tamponuyla birlikte yüklendi; 2 saat 200 V ve 200 A koşullarında yürütüldü. Sonuçlar Vilber Lourmat görüntüleme cihazında fotoğraflandı ve bulgular kaydedildi.

**Çizelge 3.4.** Poliakrilamid dikey jel elektroforez malzemeleri

<b>Malzemeler</b>	<b>Miktar</b>
<b>Distile su</b>	27.03 ml
<b>%30 acrylamide-bisacrylamide</b>	28.2 ml
<b>5X TBE</b>	14 ml
<b>Amonyum Persülfat</b>	700 µl
<b>TEMED</b>	70 µl

### 3.2.9. İstatistiksel analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, versiyon 15.0) ve Microsoft Excel 2007 programları yardımıyla yapıldı. Her bir karakter için edinilen sayısal değerlerin genel durumlarını anlamak amacıyla tanımlayıcı istatistikler (ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri) hazırlandı.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

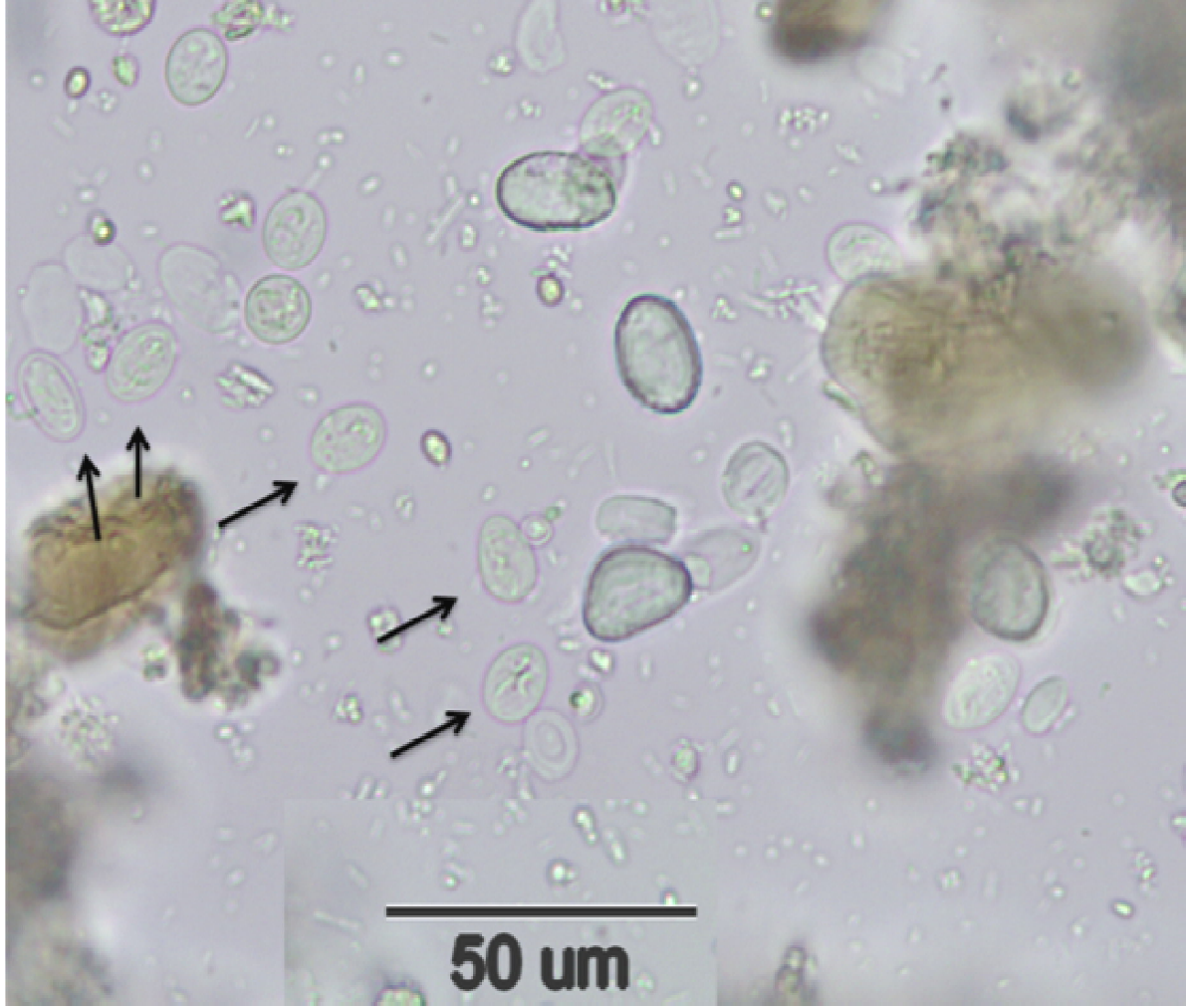
### 4.1. Hasta Grubuna ve Genel Gaita Tetkikine Yönelik Veriler

Çalışmanın gerçekleştirildiği bir yıllık süre dahilinde, Tekirdağ Devlet Hastanesi'ne çeşitli nedenlerle başvuran ve Mikrobiyoloji Laboratuvarına yönlendirilen hastaların 573'ünden alınan numuneler tezin temel materyalini oluşturmuştur. Tutulan kayıtlardan elde edilen verilere göre, hastaların 301'i (%52,53) erkek, 272'si (%47,47) kadın olup, yaş ortalamaları 19,03'tür (3 günlük-97 yaş). Numunelerin aylık dağılımı Ocak'ta 74, Şubat'ta 56, Mart'ta 85, Nisan'da 60, Mayıs'ta 60, Haziran'da 18, Temmuz'da 51, Ağustos'ta 41, Eylül'de 37, Ekim'de 18, Kasım'da 26 ve Aralık'ta 47'dir. Hastalarla ilgili olarak kaydedilmiş olan ilk klinik bulgular incelendiğinde, olgulardan 427 tanesinin, günümüze kadar giardiosis ile ilişkili olabileceği bildirilen semptomlara sahip olduğu görülmüştür. Söz konusu grupta, 257 (%44,85) gastroenterit, 118 (%20,59) karın ağrısı, 47 (%8,20) bulantı-kusma, 4 (%0,7) iritabl bağırsak sendromu ve 1 (%0,17) kabızlık tanısı bulunmaktadır.

Gaita örneklerinin makroskopik incelemesinde; 44'ünün (%7,68) sarı, 36'sının (%6,28) yeşil, 18'inin (%3,14) sarımsı kahverengi, 11'inin (%1,92) sarımsı yeşil, 11'inin (%1,92) kahverengi, 5'inin (%0,87) koyu, 1'inin (%0,17) mat, 1'inin (%0,17) beyaz, 1'inin (%0,17) kırmızı, 445'inin (%77,66) ise normal renkte olduğu görülmüştür. İçerik olarak gaitalardan 84'ünün (%14,7) mukuslu, 14'ünün (%2,44) yağlı, 7'sinin (%1,22) kanlı ve mukuslu, 4'ünün (%0,7) kanlı, 464'ünün (%80,98) ise normal olduğu anlaşılmıştır. Kıvam incelemesinden elde edilen verilere göre de; 249'u (%43,46) yumuşak, 104'ü (%18,15) katı, 84'ü (%14,66) sıvı, 15'i (%2,62) katı-sıvı karışık, 6'sı (%1,05) cıvık, 115'i (%20,07) ise normaldir.

### 4.2. Mikroskopik Muayene Sonuçları

İncelenen 573 dışkı örneğinin mikroskop altında yapılan (x40) natif muayenelerinde 21'inin (%3,66) *Giardia* spp. kistlerine sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.1). Ayrıca, 93 (%16,23) örnekte lökosit, 83 (%14,49) örnekte lökosit ve eritrosit, 50 (%8,73) örnekte maya, 12 (%2,09) örnekte lökosit ve maya, 4 (%0,7) örnekte eritrosit, 3 (%0,52) örnekte lökosit, eritrosit ve maya, 1 (%0,17) örnekte ise eritrosit ve maya, değişik yoğunluklarda tespit edilmiştir.

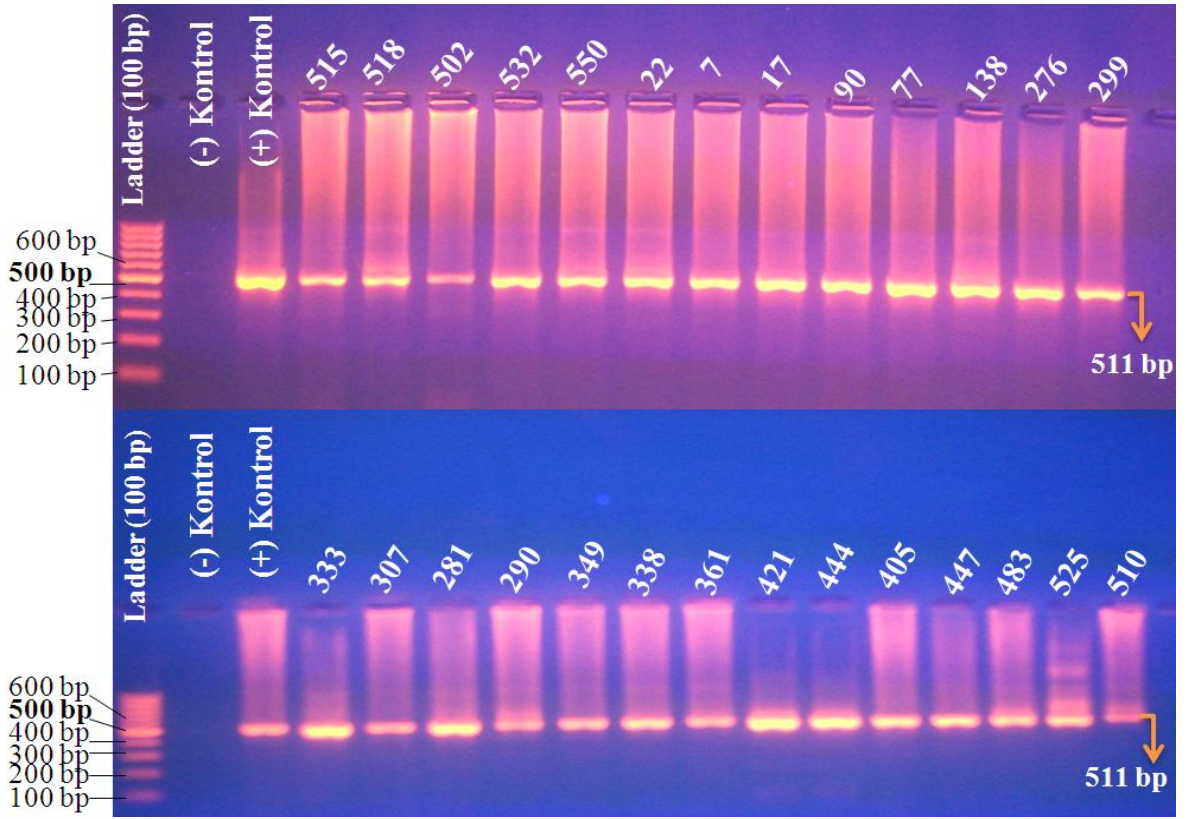


**Şekil 4.1.** Dışkıının natif mikroskopik muayenesinde görülen *Giardia* spp. kistleri (x40)

Numunelerde, çinko sülfat flotasyon ile yüzdürme sonrası mikroskop altında (x40) yapılan muayenede 26 (%4,54) örnekte *Giardia* spp. kistlerine rastlanmıştır. Natif muayenede kistlere rastlanan örneklerin tümünden, yapılan bu zenginleştirme yönteminde de pozitif sonuç alınmıştır. Mikroskopun x40 objektifi altında, her bir sahada görülen kist sayısı 8 örnekte 1-2 (+), 2 örnekte 3-5 (++), 16 örnekte ise 5'in üzerinde (+++) çıkmıştır.

#### **4.3. Nested PCR Sonuçları**

Nested PCR, incelenen 573 numunenin 90'ı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaç için, mikroskopik muayenelerde pozitif çıkan 26 örnek ile hem dışkı morfolojisi hem de klinik veriler ışığında giardiosis olasılığı yüksek görünen 64 numune seçilmiştir. Sonuç olarak 27 (%4,71) örnekten spesifik bantlar elde edilmiştir (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Nested PCR işleminde pozitif çıkan numunelere ait PCR ürünlerinin (511 bp) %2'lik jel elektroforez görüntüsü. Numunelere ait protokol numaraları kuyucukların üst bölümlerinde verilmiştir

Bu aşamaya kadar uygulanan tanı yöntemlerinden çinko sülfat flotasyon yönteminde, natifte pozitif çıkanlara ek olarak 5 örnek, PCR'de ise zenginleştirmeye ek olarak 1 örnek daha fazladan pozitif sonuç vermiştir. Buna göre, nested PCR temel alındığında, çinko sülfat flotasyon yönteminin duyarlılığının %96,30 (26/27), özgünlüğünün %100 (63/63), çinko sülfat flotasyon yöntemi temel alındığında ise, natif muayenenin duyarlılığının %80,77 (21/26), özgünlüğünün ise %100 (547/547) olduğu anlaşılmıştır (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.1.** Nested PCR ve çinko sülfat flotasyon yöntemlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması

		Nested PCR		Toplam
		(+)	(-)	
Çinko sülfat flotasyon yöntemi	(+)	26	0	26
	(-)	1	63	64
Toplam		27	63	90

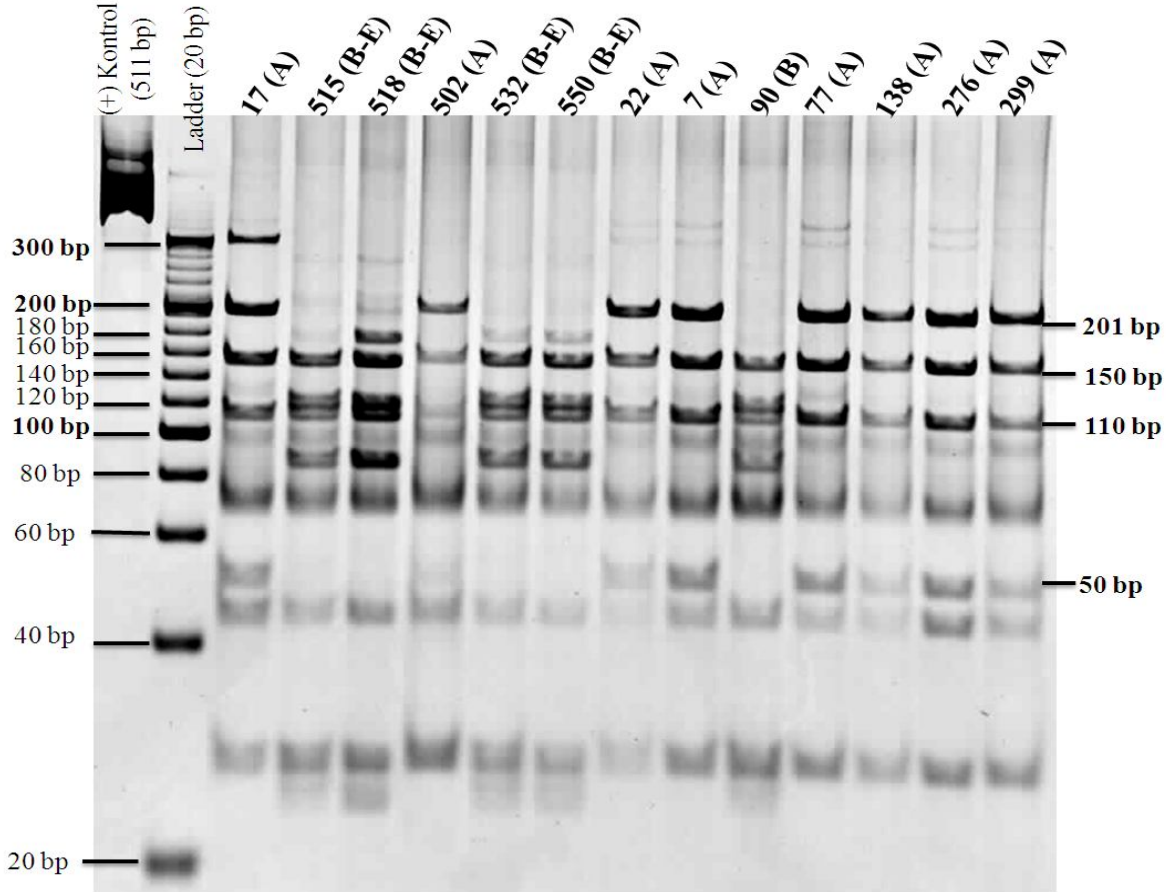
**Çizelge 4.2.** Çinko sülfat flotasyon yöntemi ile natif muayeneden elde edilen sonuçların karşılaştırılması

		Çinko sülfat flotasyon yöntemi		Toplam
		(+)	(-)	
Natif muayene	(+)	21	0	20
	(-)	5	547	553
Toplam		26	547	573

#### 4.4. RFLP Sonuçları

Çalışmamızda, nested PCR yöntemiyle pozitif olduğu belirlenen 27 örneğe ait PCR ürünleri *HaeIII* enzimi ile kesilmiş (Lalle ve ak. 2005) ve restriksiyon ürünleri PAGE (%12) ile görüntülenmiştir. Sonuç olarak, örneklerden 15'inin assemblage A (7, 17, 22, 77, 138, 276, 281, 290, 299, 338, 405, 421, 447, 483 ve 502 numaralı örnekler), 2'sinin assemblage B (90 ve 349 numaralı örnekler) ve 10'unun assemblage B ve E miks olduğu görülmüştür (307, 333, 361, 444, 510, 515, 518, 525, 532 ve 550 numaralı örnekler). (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4)

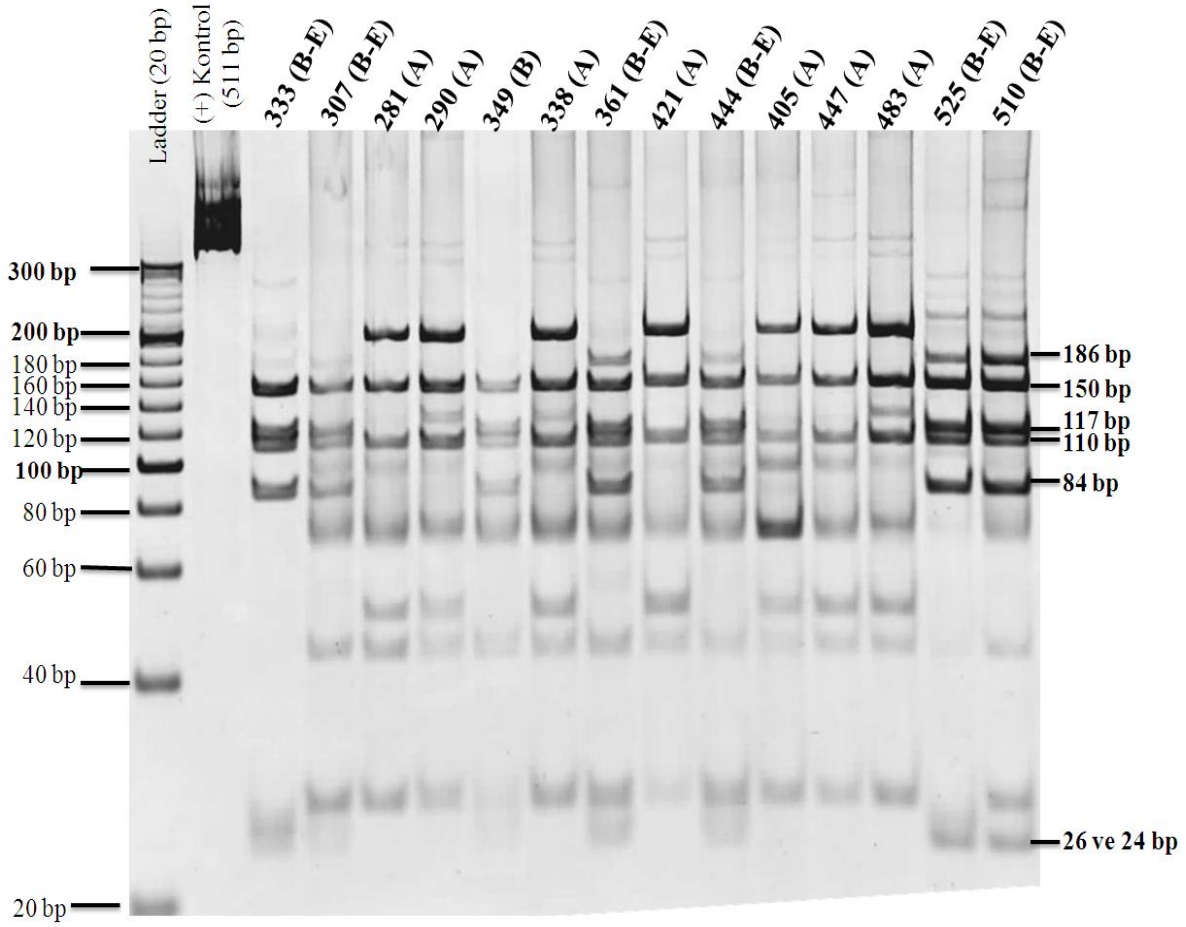




**Şekil 4.3.** *HaeIII* enzimi ile kesilen 13 örneğe ait restriksiyon ürünlerinin PAGE (%12) görüntüsü. Örnek numarası ve çıkan assemblage çeşidi kuyucukların üst kısımlarında verilmiştir

Çalışmamızda kullandığımız literatüre göre (Lalle ve ak. 2005), nested PCR ürünlerinin (511 bp) *HaeIII* enzimi ile kesim sonrası, ürünlerin sekans uzunlukları assemblage'lara göre şu şekildedir: Assamblage A için 201, 150, 110 ve 50 bp; assemblage B için 150, 117, 110, 84, 26 ve 24 bp; assemblage C için 194, 150, 102, 50 ve 15 bp; assemblage D için 200, 194 ve 117 bp; Assemblage E için 186, 150, 110, 26, 24 ve 15 bp; assemblage F için 186, 150, 110, 50 ve 15 bp. Elde ettiğimiz görüntülerde farkedilebilen en küçük bantlar 26 ve 24 bp'dir; ancak, bu iki bant birbirinden ayırt edilememiştir. Örneklerde assemblage A bantları tümünde net seçilmiştir; ancak, 17 numaralı örnekte, 300 bp dolaylarında beklenmedik, belirgin bir bant ile karşılaşmıştır. Aynı örneğin nested PCR görüntüsü, söz konusu bantın, PCR'deki bir ek üremeden değil, doğrudan restriksiyondan kaynaklandığını göstermiştir. Jelde, assemblage B ile ilgili bantlar da, kolaylıkla değerlendirilecek ve kesin isimlendirmeyi mümkün kılacak şekilde çıkmıştır. Assemblage B ve E misklerinde de yine adlandırma gücü çökmemiştir. Bu noktada özellikle B-F

miksi olma olasılığı akılda tutulmuş; ancak, assemblage F'de var olan 50 bp'in ilgili kuyucuklarda görülmemesi, söz konusu assemblage'in elemine edilmesini sağlamıştır.

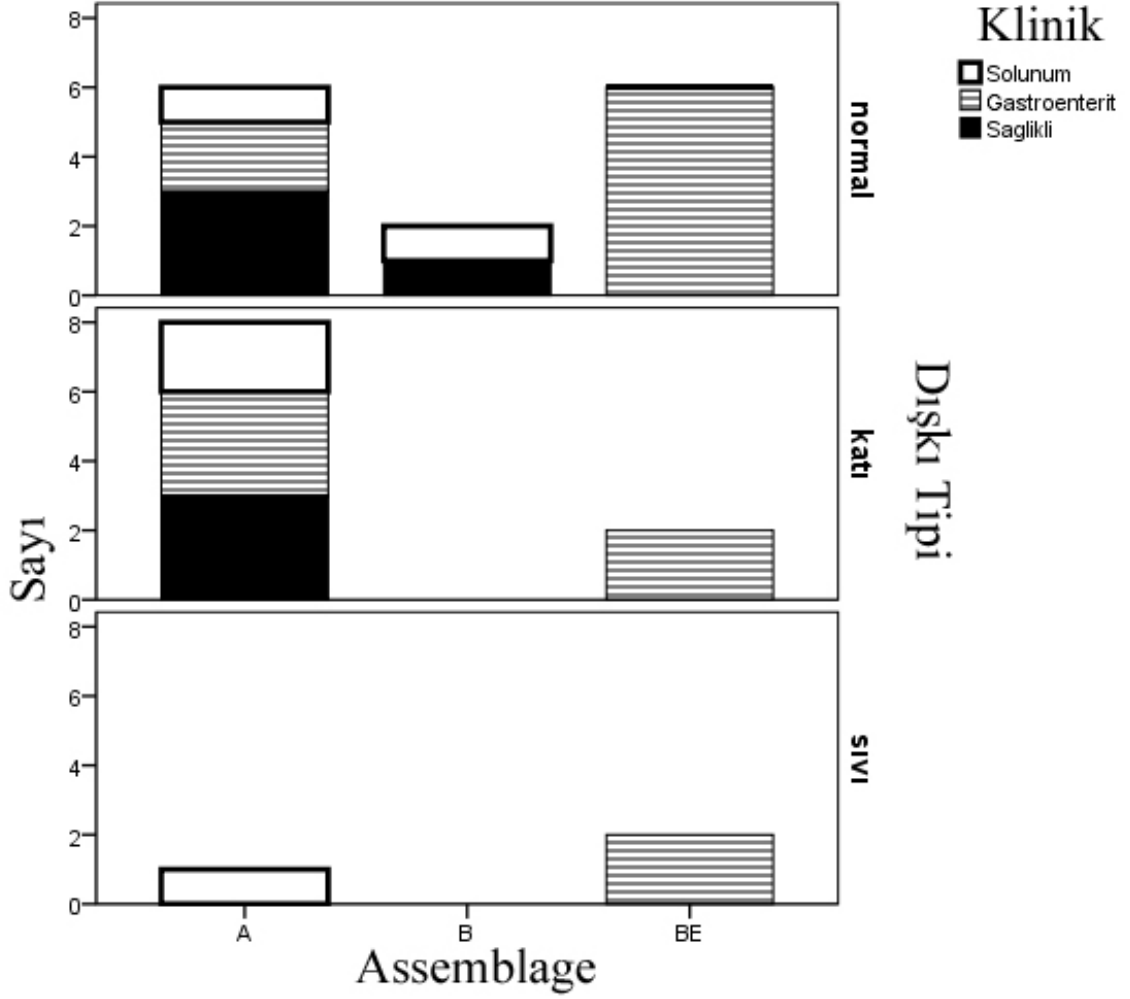


**Şekil 4.4.** *Hae*III enzimi ile kesilen 14 örneğe ait restriksiyon ürünlerinin PAGE (%12) görüntüsü. Örnek numarası ve çıkan assemblage çeşidi kuyucukların üst kısımlarında verilmiştir

#### 4.5. Pozitif Örneklerin Çeşitli Parametrelerle İlişkisi

Pozitif olguların 7'si ilkbahar, 6'sı yaz, 7'si sonbahar ve 7'si kış döneminde gelmiştir. Aylara göre bakıldığında, en yüksek pozitifliklerin sırasıyla Mayıs (6 pozitif) ve Kasım (5 pozitif) dönemine ait olduğu görülmüştür. Pozitif bireylerin yaş aralığı 1-59 arasında değişmiş olup, ortalama değer 16,37'dir. Cinsiyete göre ise pozitif 27 hastanın 11'i (%40,74) kız, 16'sı

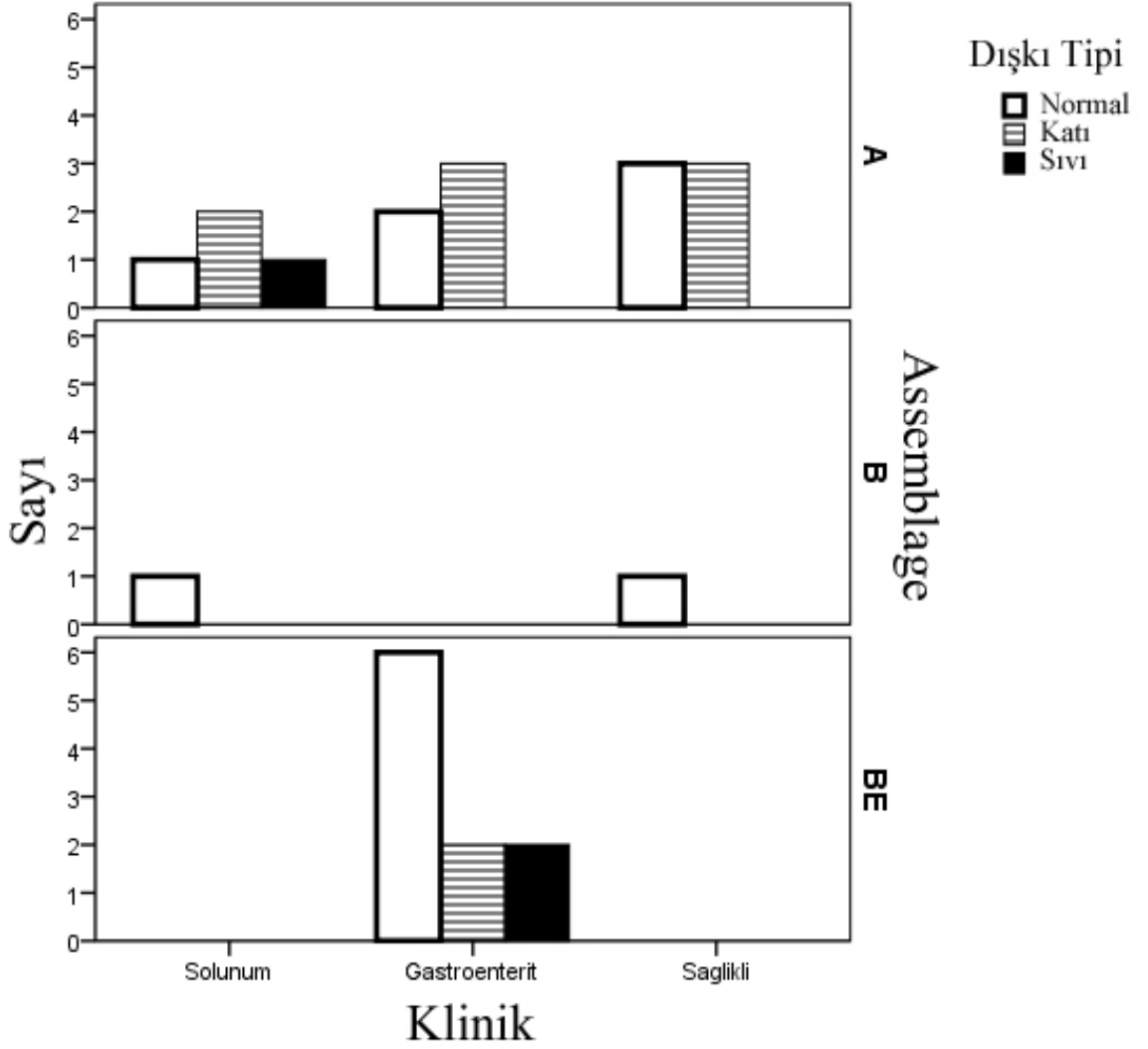
(%59,26) ise erkektir. Yapılan ilk klinik muayenede pozitif hastaların 15'ine (%55,56) gastroenterit, 5'ine (%18,52) solunum sistemi enfeksiyonu tanısı konmuş olup, diğer 7 (%25,93) kişide herhangi bir tanımlama yapılmamıştır. Makroskobik dışkı muayenesine göre, pozitif numunelerin 10'u (%37,04) katı, 3'ü (%11,11) sıvı ve 14'ü (%51,85) normal çıkmıştır.



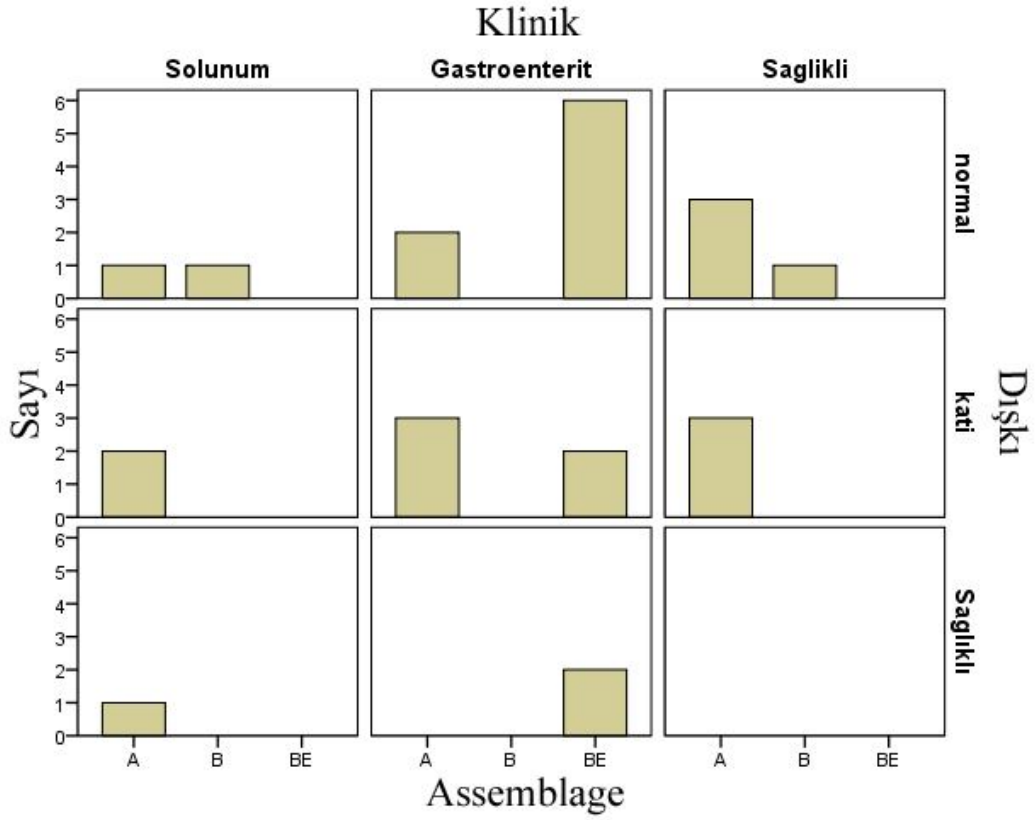
**Şekil 4.5.** Assemblage ve dışkı tipi arasındaki ilişkinin bar grafik analizi

Assemblage ve izlenen parametreler arası ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapılan değerlendirmelerde, assemblage A olan 15 hastanın ilk klinik tanısı 5 (%33,33) gastroenterit, 4 (%26,67) solunum sistemi enfeksiyonu ve 6 (%40,0) normal şeklindedir. Dışkı tetkiklerinde 6'sının (%40,0) katı, 1'inin (%6,67) sıvı ve 8'inin (%53,33) normal olduğu görülmüştür. Bu gruptaki hastaların yaş ortalaması ise 16,07'dir (1-52). Assemblage B olduğu belirlenen iki hastadan biri 3, diğeri 5 yaşındadır; klinik olarak, birinde solunum sistemi enfeksiyonu

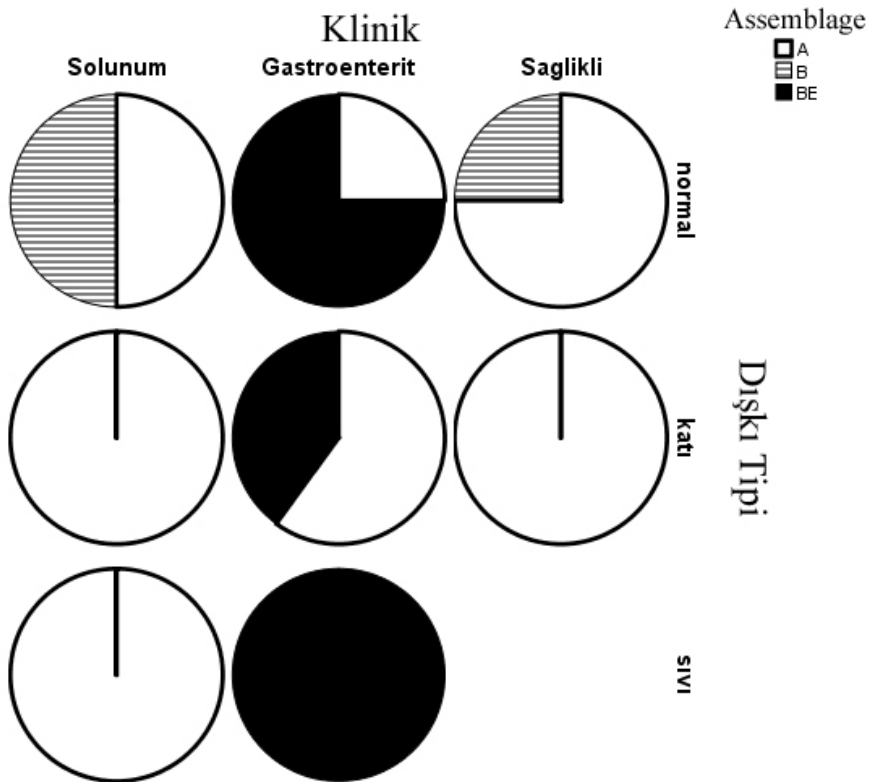
saptanırken diğeri normal olarak tanımlanmıştır. İki hastanın da dışkı morfolojisi normaldir. Assemblage B-E miks 10 hastanın ilk klinik tanısı tamamında gastroenterit ilişkilidir. Bu gruptaki dışkıların 2'si (%20,0) katı, 2'si (%20,0) sıvı ve kalan 6'sı (%60,0) normaldir. Yaş ortalamaları ise 19,3 (2-59) çıkmıştır (Çizelge 4.3) (Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8).



Şekil 4.6. Assemblage ve klinik tanı arasındaki ilişkinin bar grafik analizi



**Şekil 4.7.** Assemblage, klinik ve dışkı tipi arasındaki ilişkinin bar grafik analizi



**Şekil 4.8.** Assemblage, klinik ve dışkı tipi arasındaki ilişkinin dilimli grafik analizi

**Çizelge 4.3.** Nested PCR ile incelenen 90 numuneye yönelik klinik, gaita tetkiki, mikroskopik muayene ve nested PCR-RFLP tetkiki sonuçları. Pozitif numunelerde belirlenen assemblage çeşitleri (A, B ve B-E) harf ile gösterilmiştir. (ÇSF : Çinko Sülfat Flotasyon)

No	Tarih	Yaş	Cinsiyet	Klinik Tanı	Natif Muayene (x40)	Gaitada renk, içerik, şekil	ÇSF (x40)	Mahalle	İl-İlçe	PCR-RFLP (Assemblage)
1	Ocak	46	E	Portör kontrolü	Lökosit (1-2), Eritrosit (20<)	mukuslu, yumuşak	0	Gündoğdu Mah.	Merkez	0
2	Ocak	7	E	Karın ağrısı	Lökosit (20<)	sarımsı yeşil, mukuslu, sıvı	0	Zafer Mah.	Merkez	0
3	Ocak	28	E	Üst sol. yolu enf.	Lökosit (20<)		0		Merkez	0
4	Ocak	7	E	Astım		yumuşak	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
5	Ocak	53	E	Malign neoplazi (kolon)			0		Merkez	0
6	Ocak	26	E	Sarılık		katı	0		Merkez	0
8	Ocak	38	K	Acil hastası		katı	0		Merkez	0
9	Ocak	24	K	Gastroenterit		sıvı	0	Orta Cami Mah.	Merkez	0
10	Ocak	5	K	Karın ağrısı	Lökosit (20<)	sarı, yumuşak	0		Merkez	0
11	Ocak	44	K	Portör kontrolü		yağlı, katı	0		Merkez	0
12	Ocak	5	K	Karın ağrısı		katı	0	Aydoğdu Mah.	Merkez	0
75	Şubat	56	E	Gastroenterit	Lökosit (20<), Eritrosit (20<)		0		Merkez	0
76	Şubat		E	Karın ağrısı	Maya (20<)		0		Merkez	0
78	Şubat	29	E	Gastroenterit			0		Merkez	0
79	Şubat	5	K	Gastroenterit	Lökosit (20<), Eritrosit (15-20)		0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
80	Şubat	46	E	Gastroenterit			0		Merkez	0
131	Mart	78	E	Gastroenterit	Lökosit (10-12), Eritrosit (1-2)	yumuşak	0		Merkez	0
132	Mart	7 aylık	E	Bulantı-kusma	Maya (20<)	yumuşak	0	Gündoğdu Mah.	Merkez	0
133	Mart	50	E	Gastroenterit	Maya (20<)	yumuşak	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
134	Mart	33	E	Portör kontrolü	Maya (20<)	yumuşak	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
135	Mart	34	K	Gastroenterit	Lökosit (20<)	yumuşak, mukuslu	0	Gazibey Mah.	Malkara	0
136	Mart	7	K	Gastroenterit		katı	0		Merkez	0

Çizelge 4.3'ün devamı

No	Tarih	Yaş	Cinsiyet	Klinik Tanı	Natif Muayene (x40)	Gaitada renk, içerik, şekil	Ç.S.F (x40)	Mahalle	İl-İlçe	PCR-RFLP (Assemblage)
137	Mart	6	K	Gastroenterit		katı-svı karışık	0	Zafer Mah.	Merkez	0
216	Nisan	60	E	Ateş	Eritrosit (20<)	yumuşak	0	Kumbağ	Merkez	0
217	Nisan	5	E	Gastroenterit	Lökosit (20<), Eritrosit (8-10)	yumuşak, mukuslu	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
218	Nisan	33	E	Viral enfeksiyon	Maya (20< )		0		Merkez	0
219	Nisan	6	E	Bulantı-kusma		Sarımsı, yumuşak	0	Selçuk Köyü	Merkez	0
220	Nisan	2	E	Gastroenterit			0		Merkez	0
221	Nisan	3	E	Karın ağrısı		katı	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
222	Nisan	6	K	Karın ağrısı		katı	0		Merkez	0
277	Mayıs	14	E	Acil hastası		yumuşak	0	Muratlı Caddesi	Merkez	0
278	Mayıs	4	E	Gastroenterit		sarı, sıvı	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
279	Mayıs	54	E	Gastroenterit		mukuslu, yumuşak	0	Karacakılavuz Köyü	Merkez	0
280	Mayıs	39	E	Gastroözofajial reflü		katı	0		Merkez	0
282	Mayıs	33	K	Gastroenterit		sıvı	0	Karşıyaka Mah./Susuluk	Merkez	0
283	Mayıs	5 aylık	E	Gastroenterit	Lökosit (20<)	yumuşak	0	Aydoğdu Mah.	Merkez	0
284	Mayıs	13	E	Karın ağrısı		katı	0	Zafer Mah.	Merkez	0
336	Haziran	4	E	Karın ağrısı		katı	0	Altınova	Merkez	0
337	Haziran	21	K	Gastroenterit	Lökosit (20<), Eritrosit (20<)	yumuşak	0	Mustafa Kemalpaşa Mah.	Merkez	0
354	Temmuz	37	E	Gastroenterit	Lökosit (20<)	sıvı	0	Barbaros	Merkez	0
355	Temmuz	1	E	Febrilkanülüsiyon	Lökosit (20<), Eritrosit (20<)	yumuşak	0	Gündoğdu Mah.	Merkez	0
356	Temmuz	30	E	Gastroenterit	Lökosit (5-6), Eritrosit (20<)	kanlı	0	Karadeniz Mah.	Merkez	0
357	Temmuz	8 aylık	E	Bulantı-kusma		mukuslu yumuşak	0		Merkez	0
358	Temmuz	14	K	Gastroenterit	Lökosit (20<), Eritrosit (5-6)	yumuşak	0		Merkez	0

Çizelge 4.3'ün devamı

No	Tarih	Yaş	Cinsiyet	Klinik Tanı	Natif Muayene (x40)	Gaitada renk, içerik, şekil	Ç.S.F (x40)	Mahalle	İl-İlçe	PCR-RFLP (Assemblage)
359	Temmuz	38	K	Gastroenterit	Lökosit (20<), Eritrosit (7-8),	yumuşak, mukuslu	0		Merkez	0
360	Temmuz	49	K	Gastroözofagial reflü		katı	0		Merkez	0
406	Ağustos	16	E	Ateş	Lökosit (20<), Eritrosit (7-8)	katı	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
407	Ağustos	9	E	Karın ağrısı		katı	0		Merkez	0
408	Ağustos	1	K	Faranjit	Lökosit (20<), Eritrosit (20<)	yeşil, mukuslu, yumuşak	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
409	Ağustos	6	E	Karın ağrısı	Lökosit (20<), Eritrosit (4-5)	mukuslu, yumuşak	0	100. Yıl Mah.	Merkez	0
446	Eylül	2	E	Faranjit	Lökosit (20<), Eritrosit (8-10)	sarı, yumuşak	0	Karacakılavuz Köyü	Merkez	0
501	Kasım	2 aylık	E	Gastroenterit	Lökosit (7-8), Maya (20<)	sarı, sıvı	0	100. Yıl Mah.	Merkez	0
503	Kasım	2	K	Gastroenterit	Eritrosit (7-8)	yeşil, yumuşak	0		Merkez	0
504	Kasım	4	K	Gastroenterit	Lökosit (20<), Eritrosit (20<)	sıvı	0		Merkez	0
505	Kasım	52	K	Ülseratif kolit	Lökosit (20<), Eritrosit (20<)		0		Merkez	0
506	Kasım	7	K	Gastroenterit		Sarımsı kahverengi, cıvık	0		Merkez	0
507	Kasım	1	K	Gastroenterit		Sarımsı kahverengi, cıvık	0	Hürriyet Mah.	Merkez	0
508	Kasım	70	E	Bitkinlik		katı	0	Barbaros	Merkez	0
527	Aralık	5	E	Gastroenterit	Lökosit (20<)	kahverengi, yağlı, yumuşak	0	Orta Cami Mah.	Merkez	0
528	Aralık	8	E	Artrit		sarımsı kahverengi, yumuşak	0	Çınarlı Mah.	Merkez	0
529	Aralık	10	E	Faranjit		katı	0	Aydoğdu Mah.	Merkez	0
530	Aralık	13	E	Gastroenterit		kahverengi, katı	0		Merkez	0
531	Aralık	8	K	Faranjit			0	Altınova	Merkez	0



Çizelge 4.3'ün devamı

No	Tarih	Yaş	Cinsiyet	Klinik Tanı	Natif Muayene (x40)	Gaitada renk, içerik, şekil	Ç.S.F (x40)	Mahalle	İl-İlçe	PCR-RFLP (Assemblage)
7	Ocak	1	E	Pneumoni	Giardia(+), Maya (20< )	sarımsı kahve, katı	Giardia +++	Camikebir Mah.	Şarköy	A
17	Ocak	10	K	Karın ağrısı	Giardia(+)		Giardia +++		Merkez	A
22	Ocak	2	E	Pneumoni	Giardia(+), Maya (20< )	sarımsı kahve, katı	Giardia +++	Hacievhat Mah.	Malkara	A
77	Şubat	52	K	Bronşit	Giardia(+), Eritrosit(20<)	kanlı	Giardia +++	Ahmedikli Köyü	Merkez	A
138	Mart	11	K	Karın ağrısı	Giardia(+)		Giardia +++		Merkez	A
276	Mayıs	21	E	Portör kontrolü	Giardia(+)	yumuşak	Giardia +++		Merkez	A
281	Mayıs	10	E	Karın ağrısı		katı	Giardia ++	Çınarlı Mah.	Merkez	A
290	Mayıs	8	K	Karın ağrısı	Giardia(+)	katı	Giardia +++		Merkez	A
299	Mayıs	19	K	Portör kontrolü	Giardia(+)	yağlı, katı	Giardia +++	Fatih Mah.	Muratlı	A
338	Haziran	26	E	Portör kontrolü	Giardia(+)	yumuşak	Giardia +++	Çınarlı Mah.	Merkez	A
405	Ağustos	39	K	Portör kontrolü	Giardia(+)	yumuşak	Giardia +++		Merkez	A
421	Ağustos	8	K	Karın ağrısı		katı	Giardia ++		Merkez	A
447	Eylül	26	K	Viral enfeksiyon	Giardia(+)	katı	Giardia +		Merkez	A
483	Ekim	4	E	Üriner sis. enf.	Giardia(+)	katı	Giardia +++	Altınova	Merkez	A
502	Kasım	4	E	Astım	Giardia(+), Lökosit (20<), Eritrosit (20<)	mukuslu, sıvı	Giardia +	Aydoğdu Mah.	Merkez	A

Çizelge 4.3'ün devamı

No	Tarih	Yaş	Cinsiyet	Klinik Tanı	Natif Muayene (x40)	Gaitada renk, içerik, şekil	Ç.S.F (x40)	Mahalle	İl-İlçe	PCR-RFLP (Assemblage)
90	Şubat	5	K	Beslenme eksik.	Giardia (+)		Giardia +	Gündoğdu Mah.	Merkez	B
349	Haziran	3	E	Öksürük	Maya (20< )	yumuşak	Giardia +++		Merkez	B
307	Mayıs	5	E	Karın ağrısı	Giardia(+)	katı-svı karışık	Giardia +++	Aydoğdu Mah.	Merkez	B-E
333	Mayıs	8	K	Karın ağrısı	Giardia(+)	yağlı, yumuşak	Giardia +	Ertuğrul Mah.	Merkez	B-E
361	Temmuz	12	E	Bulantı-kusma		yumuşak	Giardia +		Merkez	B-E
444	Ağustos	10	E	Bulantı-kusma		katı-svı karışık	0	Çınarlı Mah.	Merkez	B-E
510	Kasım	2	E	Gastroenterit	Giardia (+)	katı	Giardia +	Aydoğdu Mah.	Merkez	B-E
515	Kasım	10	E	Karın ağrısı	Giardia (+)	yeşil, yumuşak	Giardia +++	Çınarlı Mah.	Merkez	B-E
518	Kasım	59	K	Gastroenterit	Giardia(+)	yumuşak	Giardia +++	Hüsmen Ağa Mah.	Malkara	B-E
525	Kasım	6	E	Karın ağrısı	Giardia (+)	katı	Giardia +	Aydoğdu Mah.	Merkez	B-E
532	Aralık	57	E	Gastroenterit	Giardia(+)	kahverengi	Giardia +	Gündoğdu Mah.	Merkez	B-E
550	Aralık	24	E	Gastroöz. reflü			Giardia +++		Merkez	B-E

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya genelinde yaygın olarak görülen parazitik sindirim sistemi hastalıkları, gerek ekonomik kayba neden olmalarından, gerekse de ölüm ile seyreden klinik tablo ortaya koyabilmelerinden ötürü büyük bir öneme sahiptirler. Giardiosis, adı geçen hastalıkların en önemlileri arasındadır ki söz konusu önem hem dünya hem de Türkiye için geçerlidir (Ak ve ark. 2007; Sönmez Tamer ve ark. 2009; Weese ve ark. 2011; Lebbad 2010). Dünya genelinde yaygın olarak görülen ve zoonotik bir öneme sahip olan *G. duodenalis*, 40'tan fazla memeli hayvan türünde etkili olmakta (Upcroft ve Upcroft 1998; Monis ve ark. 2009) ve yıllık 280 milyon insanda semptomatik enfeksiyona yol açmaktadır (Lane ve Lloyd 2002). Hastalığın bu yönüyle global bir endemiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Feng ve Xiao 2011; Weese ve ark. 2011). Öte yandan, parazitin yaygınlığı farklı popülasyon ve coğrafyalarda önemli ölçüde değişiklik göstermektedir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde görülen (Lebbad 2010) etkenden dolayı Asya, Afrika ve Latin Amerika'da 200 milyon insanın klinik düzeyde enfeksiyon tablosu sergilemekte ve yine aynı bölgelerden yıllık 500.000 yeni bildirim yapılmaktadır (Cacció ve Ryan 2008). Diğer taraftan, modern ülkelerde kist atılımının %1-7 düzeylerinde olduğu ve söz konusu aralığın, toplumların gelişmişlik düzeyine göre değiştiği bildirilmiştir (Eckmann 2003; Weese ve ark. 2011). Örneğin, gelişmekte olan ülkelerin çoğunda insanların %20-30'u taşıyıcı iken (Adam 2001), belli bir sosyoekonomik eşğin üzerinde olan İsveç'te, ülke genelinde rapor edilen yıllık giardiosis olgusu 1200-1500 dolaylarında kalmaktadır (Lebbad 2010).

Ülkemizde ise, insanlarda *G. intestinalis* yaygınlığının bölgelere göre %0,8-54,8 arasında değiştiği bildirilmiştir (Ak ve ark. 2007). Mikroskopik esaslara dayanan taramalardan elde edilen sonuçlar, bölgelere göre hastalığın yayılışını şu şekilde göstermektedir: Marmara Bölgesi'nde %4,7, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde %6,2, Ege Bölgesi'nde %8,5, Doğu Anadolu Bölgesi'nde %11,4, Akdeniz Bölgesi'nde %14,7, İç Anadolu Bölgesi'nde %15,9 ve Karadeniz Bölgesinde %17 (Yaşarol 1984). Van'da 0-14 yaş grubu çocuklarda yürütülen bir çalışmada, sosyo-ekonomik düzey ve göçün bağırsak parazitolojilerinin yayılışına etkisi araştırılmış ve sonuç olarak, parazitlerin göçmen grubunda lojmanda yaşayanlara göre 2,5 kat daha yaygın olduğu anlaşılmıştır (Yılmaz ve ark. 1997). Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na 2000-2004 yılları arasında başvuran 34.883 hastada yapılan bir çalışmada 892 (%2,6) hastada parazitin kistlerine rastlanmıştır (Yazar ve ark. 2005). Yine, Ocak 2002- Haziran 2003 tarihleri arasında İzmir

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen toplam 4.322 dışkı örneğinin incelenmesi sonucu, 112 (%23,88) örnekten pozitiflik elde edilmiştir (Türk ve ark. 2004). Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Koproloji Laboratuvarına dört yıllık süre içinde başvuran 9.867 kişiye ait sonuçlar değerlendirilmiş ve parazit yaygınlığının %22 olduğu anlaşılmıştır (Özyurt ve ark. 2007). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran 3.925 hastanın %12,9'unda *Giardia* spp. pozitifliği elde edilmiştir (Değirmenci ve ark. 2007). Sosyo-ekonomik düzeyi düşük ailelerin oturduğu ve çevre düzenlemesinin iyi olmadığı Havutlu Köyü'nde yaşları 0-6 arasında değişen okul öncesi çocuklardan alınan 321 dışkı örneği incelenmiş, 116'sında çeşitli bağırsak parazitleri saptanmış ve bu parazitler arasında ilk sırayı %19 (61) ile *Giardia*'nın aldığı kaydedilmiştir (Tanrıverdi ve ark. 1998). Niğde ve yöresinde ilkokul çocuklarında yapılan bir taramada %16,2'lik bir pozitifliğe ulaşılmış, bu oranıyla *Giardia*, parazitler hastalıklar arasında ikinci sırada çıkmış ve ekonomik yönden gelir düzeyi orta ve düşük olan ailelerin çocuklarında parazit görülme sıklığının daha yüksek olduğu görülmüştür (Topçu ve Uğurlu 1999). Malatya'da 1999-2001 yılları arasında ishal yakınması ile hastanelere başvuran kişilerden alınan 500 dışkı örneği parazitolojik yönden muayene edilmiş ve %6,2'lik *Giardia* pozitifliği elde edilmiştir (Çelik ve ark. 2003). Sivas Halk Sağlığı Laboratuvarına 1987-1997 arasında başvuran 2.298 kişinin %55'inde bağırsak parazitine rastlanmış, *G. intestinalis* yaygınlığı ise %4 bulunmuştur (Alim ve ark. 1999). Kahramanmaraş Üniversite Hastanesine, 2000-2002 tarihleri arasında başvuran 3.509 kişinin dışkı örneği bağırsak parazitleri yönünden incelenmiş ve bunlardan %52,87'sinin *Giardia* ile enfekte olduğu anlaşılmıştır (Çıragil ve ark. 2003). Bu tez sürecinde bir yıl süreyle Tekirdağ Devlet Hastanesi'ne başvuran hastalardan 573'üne ait dışkı örnekleri natif ve çinko sülfat zenginleştirme yöntemi kullanılarak *Giardia* spp. kistleri yönünden taranmış ve sonuç olarak natif muayenede %3,66 (21/573), zenginleştirme yönteminde ise %4,54 (26/573) pozitiflik elde edilmiştir. Elde edilen bu veri, incelenen numunelerin bir derecede genel hasta grubuna ait olması ve şehrin sosyoekonomik yapısı dikkate alındığında, beklendiği gibidir.

Yapılan moleküler ve antijenik analizler, *G. duodenalis*'in genotipik ve fenotipik olarak farklı, ancak morfolojik olarak benzer, en az yedi alt türünün (A-G) olduğunu ortaya koymuştur (Monis ve ark. 2003; Thompson 2004; Weese ve ark. 2011). Bunlardan A ve B tipinin insanlarda ve hayvanlarda (Giangaspero ve ark. 2007; Cacció ve Ryan 2008), C ve D tipinin köpek, kedi, çakal ve kurtlarda, E tipinin sığır, koyun, keçi, domuz, manda ve muflonda (Avrupa yaban koyunu), F ve G tiplerinin ise kedi ve rodentlerde görüldüğü

bildirilmiştir (Cacció ve ark. 2005). Yine, son zamanlarda yapılan bir çalışmada (Lasec-Nesselquist ve ark. 2010), deniz canlılarında etkili olan yeni bir assemblage varlığı ortaya konmuş ve buna da assemblage H denmiştir. Ayrıca, assemblage A'nın AI, AII ve AIII, assemblage B'nin ise BIII ve BIV olmak üzere alt izolatlarının olduğu bildirilmiş, bunlardan AI, AII, BIII ve BIV'ün zoonotik karakterde olduğu, AIII'ün ise hayvanlara özgü olduğu kaydedilmiştir (Cacció ve ark. 2005; Lebbad 2010; Feng ve Xiao 2011).

Temelde assemblage B insanlara özgü bir grup olarak ele alınmış olsa da, kunduz, sığır, köpek, at, eşek, misk sıçanı, tavşan, koyun gibi hayvanlardan da izole edilmiş (Cacció ve Ryan 2008), kuzularda (30-90 günlük) ciddi ishale, malabsorbsiyon, ağırlık kaybı gibi bulgulara neden olduğu görülmüştür (Aloisio ve ark. 2006). Özellikle de BIII tipinin *slow loris* (*Nycticebus* sp.), çinçilla (*Chinchilla* spp.), köpek, kunduz, rat, siamang (*Symphalangus syndactylus*) gibi hayvanlardaki varlığı kesinleştirilmiştir (Thompson 2004). Öte yandan assemblage ve tiplere yönelik tartışmalar devam etmekte olup, assemblage A ve B'nin insandan ve hayvandan izole edilen tiplerinin genetik olarak bazı farklılıklara sahip olduğu, olasılıkla da farklı genotipler olabileceği ifade edilmektedir (Cacció ve Ryan 2008). Yine, belli assemblage'lere yönelik subgenotip sayısının tahmin edilenden fazla olduğu da öne sürülmüştür. Örneğin, çeşitli konaklardan elde edilen *G. duodenalis* örnekleri yüksek sekans heterogenitesine sahip  $\beta$ -giardin gen bölgesi yönünden incelendiğinde, assemblage A'nın 8, assemblage B'nin 6, assemblage D'nin 2 ve assemblage E'nin 3 subgenotipinin olduğu, bunlardan A1, A2, A3, A4 ve B3'ün insanlardan, köpeklerden ve buzağılardan izole edildiği, dolayısıyla da ilgili hayvan gruplarının zoonotik açıdan önem taşıdığı bildirilmiştir (Lalle ve ark. 2007).

Assemblage A ve B'nin insanlarda giardiosisten sorumlu temel parazitler olduğu (Cacció ve Ryan 2008), assemblage B'nin daha yaygın görüldüğü (Cacció ve ark. 2005; Kohli ve ark. 2008; Franzén ve ark. 2009; Breathnach ve ark. 2010; Jerlström-Hultqvist ve ark. 2010; Ankarlev ve ark. 2010; Al-Mohammed, 2011), dünya genelinde assemblage A'nın %35 (5-54), B'nin %60 (32,5-95), A-B miks olguların ise %5 (0-25) arası bir yaygınlığa sahip olduğu bildirilmiştir (Cacció ve Ryan 2008). Öte yandan, ilgili assemblage'ların yaygınlığı bölgeden bölgeye değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin, insanlarda yapılan taramalarda Tayland'da %73 assemblage A, %2,5 assemblage B (Traub ve ark. 2009), Etiyopya'da ise %52 assemblage A ve %22 assemblage B saptanmıştır (Gelanew ve ark. 2007). Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nde yapılan bir taramada 44 pozitif hastanın 25'inde

assemblage B (%56,82), 19'unda assemblage A (%43,18) saptanırken (Aydin ve ark. 2004), Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında izole edilen 54 pozitif numunenin 38'inin (%70,37) assemblage A, 16'sının ise (%29,63) assemblage B olduğu anlaşılmıştır (Balcioglu ve ark. 2012). Bu çalışmada, nested PCR-RFLP ile yapılan taramalarda ise pozitif örneklerin 15'inin assemblage A, 2'sinin assemblage B, ve 10'unun ise assemblage B ve assemblage E miks enfeksiyon olduğu görülmüştür.

İnsan giardiosisinin epidemiyolojisinde hayvanların rolü hala tartışmalı bir durumdur. İnsanlarda, başlıca iki assemblage (A ve B), bulunmakta olup, bunlardan assemblage A'nın daha geniş bir konak spektrumuna sahip olduğu, insanlardaki düzeyinin %19'larda, hayvanlardaki yayılımının ise çeşitli gruplarda %22-29 arasında değiştiği kaydedilmiştir. Öte yandan, assemblage B'nin özellikle insanlarda daha yaygın görüldüğü (%56), bu tip için temel kaynağın da yine insan olduğu da bildirilmiştir. Söz konusu yayılım dinamiğinden ötürü, zoonotik açıdan assemblage A ön plana çıkmaktadır (Sprong ve ark. 2009). Çalışma bölgemiz olan Tekirdağ'da, pozitif numunelerin hemen tamamı şehir merkezinden geliyor olmasına karşın, çoğunluğu assemblage A çıkmıştır. Bu durum, olgularda muhtemel bir zoonotik bulaş payının olabileceğini işaret etmektedir. Öte yandan, ilgili assemblage için birincil kaynak olan çiftlik hayvanlarının (Guerden ve ark. 2008; Santín ve ark. 2009) Tekirdağ şehir merkezinde bulunmaması, olası şebeke suyundaki veya tüketilen taze sebze ve meyvelerdeki olası kontaminasyonu akla getirmiştir.

Yapılan bu çalışmada, kullanılan literatürde (Lalle ve ark. 2005) verilen değerlere göre assemblajelere yönelik RFLP bantları dikkate alındığında, assemblage B olan 10 örnek, assemblage E ile miks olduğunu kesin olarak gösterir bir bant dizilimi sergilemiştir. Öte yandan, çift tırnaklı çiftlik hayvanlarında görülen assemblage E'nin, şehirde yaşayan insanlardan izole edilmesi beklenmedik bir durumdur. Ayrıca, tek başına bir assemblage E örneğinin izole edilememiş olması durumu da söz konusudur. Şu aşamada, miks gibi görünen örneklerin gerçekten assemblage E mi içerdiğinin, yoksa genotipik açıdan oldukça farklı bir assemblage B grubunu mu işaret ettiğinin anlaşılması zor görünmektedir. Söz konusu sorunun çözüme kavuşması adına ilgili sekansın ayrıntılı analizinin yapılması gerekmektedir. Yine, assemblage A olarak tanımlanan örneklerden birinde, beklenen RFLP ürünü bantların dışında, ek olarak 300 bp dolaylarında oldukça net bir bant daha elde edilmiştir. Adı geçen örneğin, nested PCR ürünü diğerlerine denk düzeyde bant sergilerken, kesim öncesi, 300 bp civarında, herhangi bir bant vermemiştir. Bu durum ilgili bantın tamamen kesimden kaynaklandığını

göstermektedir. Bütün bu veriler, yüksek heterojeniteye sahip  $\beta$ -giardin gen bölgesi dikkate alındığında, belli assemblajelerin, beklenenden çok daha fazla subgenotipe sahip olabileceğini işaret etmektedir. Kaldı ki, çalışmada kaynak olarak kullanmış olduğumuz literatürde (Lalle ve ark. 2005), yazarlar böylesi bir durumu da işaret etmişlerdir.

Assemblage C, D, E, F ve G'nin konak spesifik bir özellik taşıdığı, belli sayıda hayvan grubuna özgü oldukları ve temel olarak insanlar için kanıtlanmış bir önemlerinin bulunmadığı bildirilmiştir (Cacció ve Ryan 2008). Ancak, her ne kadar söz konusu konak spesifitesinden bahsedilmiş olsa da, beklenmedik şekilde, assemblage C ve D'nin kedilerde, assemblage D'nin domuzlarda, assemblage E'nin kedilerde, assemblage F'nin ise yine domuzlarda görüldüğüne dair az sayıda da olsa bildirim bulunmaktadır. Ayrıca, assemblage C, D, E ve F'nin insanlarda görüldüğüne dair bildirimler de söz konusudur (Feng ve Xiao 2011). Avrupa Veteriner ve Halk Sağlığı Enstitüsü (European Network of Public and Veterinary Health Institutions) organizasyonu dahilinde yapılan bir çalışmada, 978 insan ve 1.440 hayvan izolatinin genetik karakterizasyonu yapılmış ve insanlarda saptanan assemblage dağılımının %43 A, B %56, C %0,1, D %0,2, E %0,2 ve F %0,2 olduğu görülmüştür. Her ne kadar söz konusu türlerin insanda oluşturabileceği klinik ile ilgili bilgi bulunmasa da, bu durum adı geçen bütün assemblage'ların az çok zoonotik karakter taşıyabileceğini ve giardiosis bulaşında konak parazit ilişkisinden öte faktörlerin etkili olabileceğini işaret etmektedir (Sprong ve ark. 2009). Özellikle sığır (Guerden ve ark. 2008; Santín ve ark. 2009), koyun-keçi ve domuz gibi çiftlik hayvanlarında görülen assemblage E'nin vahşi hayvanlardan, kediden, köpekten ve bazı diğer hayvanlardan da izole edildiği kaydedilmiştir (Sprong ve ark. 2009). Mısır'da insanlarda yapılan bir taramada, elde edilen pozitif örneklerde *tpi* gen bölgesi analizi yapılmış ve buna göre assemblage yaygınlığı %80 B, %15 E ve %5 A olarak belirlenmiştir. Assemblage E'nin, sadece incelenen bir bölgede çıktığı ve ilgili bölgede çiftlik hayvanlarının yaygın olarak üretildiği kaydedilmiştir (Foronda ve ark. 2008). Etiyopya'da insanlarda yapılan bir çalışmada, pozitif örnekler, bu tez çalışmasında yapıldığı gibi,  $\beta$ -giardin gen bölgesine yönelik olarak nested PCR-RFLP ile incelenmiş, assemblage dağılımları %52 A, %22 B, %25'i ise A-F miks (7 tane) veya B-F miks (8 tane) çıkmıştır. Ayrıca, A-F pozitifler üzerinde gerçekleştirilen sekans analizleri ile ilgili örneklerden üçünde adı geçen miks durumu kanıtlanmıştır (Gelanew ve ark. 2007). Yine, Tayland'da insanlarda yapılan başka bir çalışmada ise, numuneler *ssu-rRNA* gen bölgesi analizi esasına göre irdelenmiş ve assemblage yaygınlığı %73 A, %17 insan ve köpek genotipleri miks, %5 A-B miks, %2,5 B, %2,5 C çıkmıştır (Traub ve ark. 2009). Öte yandan, her ne kadar araştırmacılar bazı gen

bölgeleri analizleri kullanarak verilerini desteklemiş olsalar da, kesin söylem için farklı gen bölgelerinin analizleri ile sonuçların daha etkili şekilde desteklenmesi gerektiği de bildirilmektedir (Cacció ve Ryan 2008; Feng ve Xiao 2011).

Giardiosiste klinik oldukça değişken olup, subklinikten akut veya kronik ishal, karın ağrısı, mide bulantısı, kusma, ağırlık kaybına kadar değişen bulgularla seyrederek (Eckmann 2003). Hastalığın şiddeti parazitin virulansına, konağın gelişimine, beslenmesine ve immunolojik konumuna bağlı olarak değişmektedir. *G. duodenalis*'in assemblage'ları ile hastalık şiddeti arasındaki ilişkiye yönelik bazı bulgular söz konusu olsa da kesin veriler bulunmamaktadır (Sahagún ve ark. 2007). Öte yandan, her ne kadar alt tiplerin neden olduğu hastalık karakterleri arasında kesinleşmiş bir ayrımın olmadığı ifade edilse de, insanlardaki persiste enfeksiyonlardan B tipinin, aralıklı ishal olgularından ise A tipinin daha çok izole edildiği bildirilmiştir (Lebbad 2010). Benzer şekilde, Hollanda'da yapılan bir taramada assemblage B ile persistent diare arasında bir ilişki olduğu görülmüştür (Homan ve Mank 2001). Malezya'da, 2-76 yaş arası insanlarda yapılan bir tarama, assemblage B'nin klinik olgularla daha çok ilişkili olduğunu, özellikle 12 yaş ve altındakilerde daha çok görüldüğünü, kızlarda hastalığın erkeklere göre daha yaygın olduğunu ve özellikle de taze meyve ve sebze tüketenlerde daha sık karşılaşıldığını göstermiştir (Mahdy ve ark. 2009). Arabistan'dan da yine assemblage B'nin klinik, A'nın ise subklinik olgularla ilişkili olduğu yönünde bildiri yapılmıştır (Al-Mohammed, 2011). Türkiye'de ise, Manisa'da yapılan bir çalışmada, assemblage B'nin klinik olgulardan asıl sorumlu grup olduğu ve ilgili genotipin kadınlarda erkeklere kıyasla anlamlı düzeyde daha yaygın olduğu ifade edilmiştir (Balcioglu ve ark. 2012). Bu durum, kuzularda (30-90 günlük) da ciddi ishal, malabsorbsiyon ve ağırlık kaybı gibi bulgularla seyrettiği bilinen assemblage B'nin (Aloisio ve ark. 2006), insanlarda da klinik açıdan daha önemli olabileceğini göstermektedir. Ancak, assemblage B'nin 5 yaş altı çocuklarda klinik boyuta ulaşmadığı da ifade edilmiş olup (Sahagún ve ark. 2007), Bangladeş'te yapılan bir çalışmada assemblage A'nın B'ye göre ishalden iki kat daha fazla sorumlu olduğu, B'lerin genelde asemptomatik olgulardan izole edildiği, ancak kist atılımının B'de daha yüksek olduğu yönünde bir sonuca varılmıştır (Haque ve ark. 2005). Ülkemizde, Ankara'da yapılan bir çalışmada da yine semptomatik bireylerde A'nın, asemptomatiklerde ise B'nin daha yaygın olduğu yönünde bir sonuç çıkmıştır (Aydin ve ark. 2004). Yine, Brezilya'da, ishalleri çocuklarda yapılan incelemeler klinik açıdan assemblage A ve B arasında bir fark olmadığını, öte yandan, B'de kist atılımının daha düzensiz ve toplamda da A enfeksiyonlarından daha fazla olduğunu göstermiştir (Kohli ve ark. 2008). İngiltere'de



yapılan diğerk bir çalışmada, assemblage A ve B'nin enfeksiyon oluşturma yetisi ile hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları birbirine benzer çıkmış, klinik olarak A'nın ateş oluşturma yetisinin biraz daha belirgin olduğu, ancak yine A ile ilgili enfeksiyonların biraz daha kısa srdğu görülmüştür. Yine, her iki assemblage ile ilişkili enfeksiyonların mevsimsel dağılımlarının da birbirine benzediği ve ilgili olgulara özellikle Ekim-Aralık aylarında rastlandığı ifade edilmiştir (Breathnach ve ark. 2010).

Yapılan bu çalışmada, assemblage A saptanan hastaların %33,33' sindirim sistemi şikayetine sahip iken, diğerlerinde ilgili sistemi işaret eden herhangi bir bulguya rastlanamamıştır. Ayrıca, dışkının makroskopik muayenesinde %40,0'nin katı ve %53,33'ünün normal olduğu görülmüştür. Sadece bir numunede ishal gözlenmiş ancak, aynı hastanın dışkı tetkiklerinde bolca lökosit ve eritrosite de rastlanmış olup, adı geçen ishal bulgusunun, olasılıkla tabloya eşlik eden diğer bir enfeksiyondan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Öte yandan, assemblage B olduğu belirlenen iki hastadan birinde solunum sistemi enfeksiyonu saptanırken diğeri normal olarak tanımlanmıştır. Assemblage B-E miks 10 hastanın ilk klinik tanısı ise tamamında gastroenterit ilişkilidir. Bu gruptaki dışkuların %20,0'si katı, %20,0'si sıvı ve kalan %60,0'ı normaldir. Pozitiflerin mevsimsel dağılımı incelendiğinde ise, ne çıkan herhangi bir assemblage tipi belirlenememiş olup, aylara göre genel giardiosisi yoğunluğunda Mayıs ve Kasım aylarında bir yükselme dikkati çekmiştir.

Assemblage A ve B haricindeki zoonotik türlerin insanlarda görülme olasılığının oldukça düşük olduğu (yaklaşık %0,8) ve ortaya koydukları klinik bulgularla ilgili pek bir bilginin bulunmadığı kaydedilmiştir (Sprong ve ark. 2009). Yapmış olduğumuz taramada, assemblage E'ye bu denli yaygın rastlanması elbette beklenmedik bir durumdur; ancak, söz konusu pozitif bireylerin tamamının gastrointestinal sistem şikayeti ile hastanelere başvurmuş olması da bir o kadar beklenmedik bir durumdur. İlk bakışta adı geçen klinik seyrin olgulara eşlik eden assemblage B ile ilişkili olabileceği akla gelmektedir. Öte yandan, yalnızca B rastlanan iki bireyde de ilgili sistemi işaret eden bir bulgu saptanamamıştır. Elbette kesin sylen, daha çok pozitif örnekle yapılacak, daha ayrıntılı araştırmaları gerektirmektedir. Ancak, miks olgularda gözlenen yaygın klinik tablonun, assemblage'lar arası beklenmedik interaksiyonların bir göstergesi olabileceği de akılda tutulmalıdır. Kaldı ki, yapılan bazı çalışmalar, temelde eşseysiz bir üreme şekline sahip olan *Giardia* türlerinin, bir çeşit eşeyli üreme sürecine girebiliyor olabileceklerini, bu durumun ise farklı assemblage'lar arası genetik değişimleri mümkün kılabileceğini göstermiştir (Cooper ve ark. 2007; Teodorovic ve ark.

2007). Öte yandan, ilgili değişimin derecesi ve parazitin doğal döngüsündeki önemi hala tartışmalıdır (Cacciò ve Sprong 2010).

Sonuç olarak bu çalışma, Tekirdağ ilinde insanlarda giardiosisin belli bir yaygınlığa sahip olduğunu, olgulardan daha çok assemblage A'nın sorumlu olduğunu, ancak klinik giardiosisin daha çok assemblage B-E miksleriyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Tetkik sonuçlarında assemblage E'nin assemblage B ile miks olarak görülmesi durumu kesin söylemi güçleştirse de, söz konusu genotipin insanlardaki önemi üzerinde daha dikkatli durulması gerektiği ve yapılan taramaların, farklı gen bölgelerine yönelik sekans analizleri ile güçlendirilmesinin daha doğru bir yaklaşım olacağı anlaşılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

- Adam RD (2001). Biology of *Giardia lamblia*. Clin Microbiol Rev, 14(3):447-475.
- Ak M, Tanyüksel M, Dağcı H (2007). Amoebiasis. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları, Ed: MA Özcel. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No:22, Meta Basım, İzmir, 279-307.
- Ali SA, Hill DR (2003). *Giardia intestinalis*. Curr Opin Infect Dis, 16(5):453-460.
- Ali V, Nozaki T (2007). Current therapeutics their problems and sulfur-containing-amino-acid metabolism as a novel target against infections by 'Amitochondriate' protozoan parasites. Clin Microbiol, 20(1):164-187.
- Alim A, Kahraman Ö, Dikçal H, Alim E (1999). Sivas Halk Sağlığı Laboratuvarının 10 yıllık bağırsak parazitleri inceleme sonuçları. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 23(2):150-152.
- Al-Mohammed HI (2011). Genotypes of *Giardia intestinalis* clinical isolates of gastrointestinal symptomatic and asymptomatic Saudi children. Parasitol Res, 108:1375-1381.
- Aloisio F, Filippini G, Antenucci P, Lepri E, Pezzotti G, Cacció SM, Pozio E (2006). Severe weight loss in lambs infected with *Giardia duodenalis* assemblage B. Vet Parasitol, 142:154-158.
- Alver O, Özakın C, Yılmaz E, Akçağlar S, Töre O (2005). Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde farklı yıllarda bağırsak parazit dağılımlarının değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 29(3):193-199.
- Ankarklev J, Jerlström-Hultqvist J, Ringqvist E, Troell K, Svärd SG (2010). Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. Nat Rev Microbiol, 8(6):413-422.
- Anonim (2013) Giardiasis. <http://dpd.cdc.gov/dpdx> (erişim tarihi, 08.04.2013).
- Artzer MA (2009). A comparison of the SNAP<sup>®</sup> *Giardia* Fecal Antigen Test and the Zinc Sulfate Double Centrifugation Fecal Flotation Procedure to Diagnose *Giardia intetsinalis* Infections in two Populations of Infected Dogs. MSci. Thesis, Master of Veterinary Biomedical Science, Kansas State University, Manhattan, Kansas.
- Ataş AD, Alim A, Vural H, Aygan Ç, Kahraman Ö (2008). Sivas Belediyesi Çevre-Gıda ve Tıbbi Tahlil Laboratuvarına 1993-2006 yıllarında başvuran hastalarda bağırsak parazit dağılımlarının incelenmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 32(1):59-64.
- Aydin AF, Besirbelliöglu BA, Avci IY, Tanyüksel M, Araz E, Pahsa A (2004). Classification of *Giardia duodenalis* parasites in Turkey into Groups A and B using restriction fragment length polymorphism. Diagnostic Microbiol Infect Dis, 50:147-151.
- Balcioglu C, Kurt O, Sevil N, Dacı H, Tetik A, Ergunay K, Yereli K, Ozbilgin A, Turgay N, Ozensoy Toz S (2012). Genotyping of *Giardia lamblia* in a cohort of Turkish

- patients: a search for a relationship between symptoms and genotypes. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 18(Suppl-A):125-131.
- Bayazit Y (2005). Türkiye Bulaşıcı Hastalıklar Bildirim Sistemi. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 62(1,2,3):73-75.
- Benchimol M (2009). Basic biology of *Giardia lamblia*: further studies on median body and funis. *Giardia and Cryptosporidium from Molecules to Disease*, Ed: G. Ortega-Pierres, S. Cació, R. Fayer, TG. Mank, HV. Smith, RCA. Thompson. CABI, USA, 266-283.
- Breathnach AS, McHugh TD, Butcher PD (2010). Prevalence and clinical correlations of genetic subtypes of *Giardia lamblia* in an urban setting. *Epidemiol Infect*, 138:1459-1467.
- Buret AG (2008). Pathophysiology of enteric infections with *Giardia duodenalis*. *Parasite*, 15(3):261-265.
- Cacció SM, Beck R, Almeida A, Bajer A, Pozio E (2010). Identification of *Giardia* species and *Giardia duodenalis* assemblages by sequence analysis of the 5.8S rDNA gene and internal transcribed spacers. *Parasitol*, 137:919-925.
- Cacció SM, de Giacomo M, Pozio E (2002). Sequence analysis of the  $\beta$  giardin gene and development of a PCR-RFLP assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *Int J Parasitol*, 32:1023-1030.
- Cacció SM, Lalle M, Beck R, Pozio E (2009). Insights into the molecular detection of *Giardia duodenalis*: implications for epidemiology. *Giardia and Cryptosporidium from Molecules to Disease*, Ed: G. Ortega-Pierres, S. Cació, R. Fayer, TG. Mank, HV. Smith, RCA. Thompson. CABI, USA, 81-93.
- Cacció SM, Ryan U (2008). Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol Biochem Parasitol*, 160(2):75-80.
- Cacció SM, Sprong H (2010). *Giardia duodenalis*: genetic recombination and its implications for taxonomy and molecular epidemiology. *Exp Parasitol*, 124(1):107-112.
- Cacció SM, Thompson RC, McLauchlin J, Smith HV(2005). Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol*, 21(9):430-437.
- Conboy G (1997). *Giardia*. *Can Vet J*, 38:245-247.
- Cooper MA, Adam RD, Worobey M, Sterling CR (2007). Population genetics provides evidence for recombination in *Giardia*. *Curr Biol*, 17(22):1984-1988.
- Çelik T, Atambay M, Daldal N (2003). Malatya ilinde ishallerde bağırsak protozoonlarının dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 27(2):129-132.
- Çıragil P, Aral M, Ekerbiçer HÇ, Gül M (2003). Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 27(2):136-138.

- Değirmenci A, Sevil N, Güneş K, Yolastğmaz A, Turgay N (2007). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarında 2005 yılı boyunca saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31 (2): 133-135.
- Despommier DD, Gwadz RW, Hotez PJ, Knirsch CA (2000). *Parasitic Disease*. 4<sup>th</sup> Edition. Apple Trees Production, 345 p, New York, USA.
- Dixon BR (2009). The role of livestock in the foodborne transmission of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. to humans. *Giardia and Cryptosporidium from Molecules to Disease*, Ed: G. Ortega-Pierres, S. Cació, R. Fayer, TG. Mank, HV. Smith, RCA. Thompson. CABI, USA, 107-122.
- Eckmann L (2003). Mucosal defences against *Giardia*. *Parasite Immunol*, 25(5):259-270.
- Feng Y, Xiao L (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev*, 24(1):110-140.
- Flanagan PA (1992). *Giardia* – diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. *Epidemiol Infect*, 109:1-22.
- Foronda P, Bargues MD, Abreu-Acosta N, Periago MV, Valero MA, Valladares B, Mas-Coma S (2008). Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* of human isolates in Egypt. *Parasitol Res*, 103:1171-1181.
- Franzén O, Jerlström-Hultqvist J, Castro E, Sherwood E, Ankarklev J, Reiner DS, Palm D, Andersson JO, Andersson B, Svärd SG (2009). Draft genome sequencing of giardia intestinalis assemblage B isolate GS: is human giardiasis caused by two different species? *PLoS Pathog*, 5(8):e1000560.
- Gelanew T, Lalle M, Hailu A, Pozio E, Cacció SM (2007). Molecular characterization of human isolates of *Giardia duodenalis* from Ethiopia. *Acta Trop*, 102:92-99.
- Geurden T, Geldhof P, Levecke B, Martens C, Berkvens D, Casaert S, Vercruyse J, Claerebout E (2008). Mixed *Giardia duodenalis* assemblage A and E infections in calves. *Int J Parasitol*, 38:259-264.
- Giangaspero A, Berilli F, Brandonisio O (2007). *Giardia* and *Crptosporidium* and public health: the epidemiological scenario from the Italian perspective. *Parasitol Res*, 101:1169-1182.
- Gillin FD, Reiner DS, McCaffery JM (1996). Cell biology of the primitive eukaryote *Giardia lamblia*. *Annu Rev Microbiol*, 50:679-705.
- Haque R, Roy S, Kabir M, Stroup SE, Mondal D, Houpt ER (2005). *Giardia* assemblage A infection and diarrhea in Bangladesh. *J Infect Dis*, 192(12):2171-2173.
- Homan WL, Mank TG (2001). Human giardiasis: genotype linked differences in clinical symptomatology. *Int J Parasitol*, 31(8):822-826.
- Hopkins RM, Meloni BP, Groth DM, Wtherall JD, Reynoldson JA, Thompson RC (1997). Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of *Giardia*

- isolates recovered from humans and dogs living in the same locality. *J Parasitol*, 83(1):44-51.
- Jerlström-Hultqvist J, Ankarklev J, Svärd SG (2010). Is human giardiasis caused by two different *Giardia* species? *Gut Microbes*, 1(6):379-382.
- Karaer Z, Dumanlı N (2010). Genel Protozooloji. *Veteriner Protozooloji*, Ed: N. Dumanlı, Z. Karaer. Medisan Yayınevi, Ankara, 1-21.
- Karaer Z, Kar S (2010). Hexamitidae. *Veteriner Protozooloji*, Ed: N. Dumanlı, Z. Karaer. Medisan Yayınevi, Ankara, 143-47.
- Karanis P, Kourenti C, Smith H (2007). Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *J Water Health*, 5:1-38.
- Kohli A, Bushen OY, Pinkerton RC, Houpt E, Newman RD, Sears CL, Lima AAM, Guerrant RL (2008). *Giardia duodenalis* assemblage, clinical presentation and markers of intestinal inflammation in Brazilian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 102(7):718-725.
- Lalle M, di Regalbono F, Poppi L, Nobili G, Tonanzi D, Pozio E, Cacciò SM (2007). A novel *Giardia duodenalis* assemblage A subtype in fallow deer. *J Parasitol*, 93:426-428.
- Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, Crotti D, Cacciò SM (2005). Genetic heterogeneity at the  $\beta$ -giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int J Parasitol*, 35:207-213.
- Lane S, Lloyd D (2002). Current trends in research into the waterborne parasite *Giardia*. *Crit Rev Microbiol*, 28(2):123-147.
- Lasec-Nesselquist E, Welch DM, Sogin ML (2010). The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. *Int J Parasitol*, 40:1063-1074.
- Lauwaet T, Gillin FD (2009). Signalling during *Giardia* differentiation. *Giardia and Cryptosporidium from Molecules to Disease*, Ed: G. Ortega-Pierres, S. Cació, R. Fayer, TG. Mank, HV. Smith, RCA. Thompson. CABI, USA, 309-319.
- Lebbad M (2010). Molecular Diagnosis and Characterization of two Intestinal Protozoa: *Entamoeba histolytica* & *Giardia intestinalis*. Ph.D. Thesis, Karolinska Institutet. 57 p. Stockholm.
- Lujan HD, Mowatt MR, Nash TE (1998). The molecular mechanisms of *Giardia* encystation. *Parasitol Today*, 14(11):446-450.
- Mahdy AKM, Surin J, Wan KL, Mohd-Adnan A, Al-Mekhlafi MSH, Lim YAL (2009). *Giardia intestinalis* genotypes: Risk factors and correlation with clinical symptoms. *Acta Tropica*, 112:67-70.
- Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL (1999). Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis*. *Mol Biol Evol*, 16(9):1135-1144.

- Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL (2003). Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infect Genet Evol*, 3(1):29-38.
- Monis PT, Cacció SM, Thompson RC (2009). Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends Parasitol*, 25(2):93-100.
- Oberhuber G, Kastner N, Stolte M (1997). Giardiasis: a histologic analysis of 567 cases. *Scand J Gastroenterol*, 32(1):48-51.
- O'Handley RM, Olson ME (2006). Giardiasis and cryptosporidiosis in ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 22(3):623-643.
- Ortega YR (2006). *Foodborne Parasites*, Ed: MP. Doyle. 289 p. Springer, N.Y., USA.
- Özbilgin A, Kilimcioğlu AA, Kurt Ö, Ertan P, Değerli K, Yereli K, Ok ÜZ, Onağ A, (1999). Çocuklarda giardiasisin metronidazol ve tek doz ornidazole sağaltımlarının karşılaştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 23(3):243-246.
- Özyurt M, Kurt Ö, Yaman O, Ardıç N, Haznedaroğlu T (2007). Bir eğitim hastanesi koproloji laboratuvarında geçen dört yıllık dönemde saptanan bağırsak parazitlerinin değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31(4):306-308.
- Palm D, Weiland M, McArthur AG, Winiğcka-Krusnell J, Cipriano MJ, Birkeland SR, Pacocha SE, Davids B, Gillin F, Linder E, Svard SG (2005). Developmental changes in the adhesive disk during *Giardia* differentiation. *Mol Biochem Parasitol*, 141(2):199-207.
- Piva B, Benchimol M (2004). The median body of *Giardia lamblia*: an ultrastructural study. *Bio Cell*, 96(9):735-746.
- Prucca CG, Lujan HD (2009). Antigenic variation in *Giardia lamblia*. *Cell Microbiol*, 11(12):1706-1715.
- Rishniw M, Liotta J, Bellosa M, Bowman D, Simpson KW (2010). Comparison of 4 *Giardia* diagnostic tests in diagnosis of naturally acquired canine chronic subclinical giardiasis. *J Vet Intern Med*, 24:293–297.
- Roberts LS, Janovy J (2006). *Foundations of Parasitology*. 6<sup>th</sup> edition. 702 p. McGraw-Hill Higher Education, Boston, USA.
- Rossignol JF (2009). Drug treatment and novel drug targets against *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Giardia and Cryptosporidium from Molecules to Disease*, Ed: G. Ortega-Pierres, S. Cació, R. Fayer, TG. Mank, HV. Smith, RCA. Thompson. CABI, USA, 463-483.
- Sahagún J, Clavel A, Goni P, Seral C, Ilorente MT, Castillo FJ, Capilla S, Arias A, Gomez-Lus R (2007). Correlation between the presence of symptoms and the *Giardia duodenalis* genotype. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 27(1):81-83.
- Sambrook J, Russell DW (1989). *Molecular cloning: A laboratory manual*. 3<sup>rd</sup> ed. 213 p. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Santín M, Trout JM, Fayer R (2009). A longitudinal study of *Giardia duodenalis* genotypes in dairy cows from birth to 2 years of age. *Vet Parasitol*, 162:40-45.
- Saygı G (2002). *Temel Tıbbi Parazitoloji*. 260 p. Es-Form Ofset Ltd Şti., Sivas.
- Sener K, van Keulen H, Jarroll EL (2009). Giardan: synthesis, regulation and inhibition. *Giardia and Cryptosporidium from Molecules to Disease*, Ed: G. Ortega-Pierres, S. Cació, R. Fayer, TG. Mank, HV. Smith, RCA. Thompson. CABI, USA, 382-397.
- Sönmez Tamer G, Üstün Ş, Ak M (2009). *Giardia*'larda moleküler biyolojik yapı ve çalışmaları. *Moleküler Parazitoloji*, Ed: MA. Özcel, M. Tanyüksel, H. Eren. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No: 22, Meta Basım, İzmir, 453-470.
- Sprong H, Cacciò SM, van der Giessen JW, on behalf of the ZOOPNET network and partners (2009). Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. *PLoS Negl Trop Dis* 3(12):3:e558.
- Stark D, Barratt JLN, van Hall S, Marriott D, Harkness J, Ellis JT (2009). Clinical significance of enteric protozoa in the immunosuppressed human population. *Clin Microbiol Rew*, 22(4):634-650.
- Sulaiman IM, Cama V (2006). The biology of giardia parasites. *Foodborne Parasites*, Ed: YR. Ortega. Springer, USA, 15-28.
- Svärd SG, Hagblom P, Palm JE (2003). *Giardia lamblia* - a model organism for eukaryotic cell differentiation. *FEMS Microbiol Lett*, 218(1):3-7.
- Tanrıverdi S Kara H Azder AK Kotlaş S Özcan K (1998). Okul öncesi çocuklarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 22(2):144-146.
- Teodorovic S, Braverman JM, Elmendorf HG (2007). Unusually low levels of genetic variation among *Giardia lamblia* isolates. *Eukaryot Cell*, 6(8):1421-1430.
- Thompson RCA (2004). The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. A review. *Vet Parasitol*, 126-15-35.
- Thompson RCA (2009). The Impact of *Giardia* on science and society. *Giardia and Cryptosporidium from Molecules to Disease*, Ed: G. Ortega-Pierres, S. Cació, R. Fayer, TG. Mank, HV. Smith, RCA. Thompson. CABI, USA, 1-11.
- Topçu A, Uğurlu K (1999). Niğde ve Yöresindeki ilkokul çocuklarında görülen bağırsak parazitlerinin yaşa cinsiyete ve sosyo-ekonomik duruma göre dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 23(3):286-290.
- Traub RJ, Inpankaew T, Reid SA, Sutthikornchai C, Sukthana Y, Robertson ID, Thompson RC (2009). Transmission cycles of *Giardia duodenalis* in dogs and humans in temple communities in Bangkok-a critical evaluation of its prevalence using three diagnostic tests in the field in the absence of a gold standard. *Acta Trop*, 111:125-132.
- Truant AL, Elliott SH, Kelly MT, Smith JH (1981). Comparison of formalin-ethyl ether sedimentation, formalin-ethyl acetate sedimentation, and zinc sulfate flotation techniques for detection of intestinal parasites. *J Clin Microbiol*, 13(5):882-884.



- Turgay N (2009). Giardiosis. Zoonozlar: Hayvanlardan insanlara Bulaşan Enfeksiyonlar, Ed: M. Doğanay, N. Altıntaş. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 727-732.
- Türk M, Şener AG, Orhan M, Candüz K, Yurtsever S, Türker M (2004). Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında Ocak 2002- Haziran 2003 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 28(2):100-102.
- Uproft J, Uproft P (1998). My favorite cell: *Giardia*. Bioessays, 20(3):256-263.
- Weese JS, Anderson MEC, Fulford MB (2011). Parasitic zoonoses. 1<sup>th</sup> edition. Companion Animal Zoonoses, Ed: SJ. Weese, M. Fulford M. Wiley-Blackwell Publishing, USA.
- Yaşarol Ş (1984). Medikal Protozooloji. 2. Baskı, Medikal Parazitoloji. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, No:93, Ders Kitabı, 41-89.
- Yazar S, Yaman O, Gözkenç N, Şahin İ (2005). Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalarda giardiosis parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 29 (4): 261-263.
- Yılmaz H, Akman N, Gödekmerdan A, Göz Y (1997). Sosyo-ekonomik düzeyin ve göçün 0-14 yaş grubu çocuklarda bağırsak parazitlerinin dağılımına etkisi. Van Tıp Dergisi, 4(4):205-210.
- Zajac AM, Johnson J, King SE (2002). Evaluation of the importance of centrifugation as a component of zinc sulfate fecal flotation examinations. JAAHA. 38:221-224.

## ÖZGEÇMİŞ

Şadiye Kaplan Küçük, 1976 yılında Çanakkale’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Gelibolu’da tamamladı. 1990 yılında Çanakkale Sağlık Meslek Lisesi hemşirelik bölümünü kazanarak eğitimine Çanakkale’de devam etti. 1994 yılında Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. Aynı yıl, lise öğrenimini yatılı okuduğu için mecburi hizmetini yapmak üzere Edirne il emrine hemşire olarak atandı. Bir yandan örgün eğitime devam ederken bir yandan da Edirne Devlet Hastanesinde hemşire olarak mesaisini tamamladı. 1997 yılında evlendi. 1998 yılında Biyoloji Bölümünden mezun oldu. Aynı yıl eş durumundan Tekirdağ’a atandı. 2005 yılına kadar Tekirdağ Devlet Hastanesi acil serviste hemşirelik görevine devam etti. 2005-2006 yılları arası Patoloji laboratuvarında çalıştı. 2006 yılında Mikrobiyoloji Laboratuvarına geçti. 2009’da Sağlık Bakanlığı ünvan sınavını kazanarak 2010’da biyolog olarak laboratuvardaki görevine devam etti. Daha sonra 1 yıl süreyle Biyokimya Laboratuvarında çalıştı. Evli ve iki çocuk annesi olan Şadiye Kaplan Küçük 2011 yılından bu yana Tekirdağ Halk Sağlığı Laboratuvarında biyolog olarak görevine devam ediyor.

Bilimsel Yayınları: Yılmaz N, Güven E, **Kaplan Küçük Ş**, Dittmar K, Bangoura B, Kar S (2011). Could Vital Dyes be used to Determine the Degree of the Time Dependent Viability Changes in *Cryptosporidium parvum* Oocysts? Kafkas Univ Vet Fak Derg, 17(6):953-956.