

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI

NEVŞEHİR YÖRESİNDEKİ KEDİ VE KÖPEKLERDE *GIARDIA*
DUODENALIS'İN MOLEKÜLER PREVALANSI VE GENETİK
KARAKTERİZASYONU

Hazırlayan
Beyzanur SATAŞMAZ

Danışman
Doç. Dr. Arif ÇİLOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Aralık 2024
KAYSERİ

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI

NEVŞEHİR YÖRESİNDEKİ KEDİ VE KÖPEKLERDE *GIARDIA*
***DUODENALIS*'İN MOLEKÜLER PREVALANSI VE GENETİK**
KARAKTERİZASYONU
(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Beyzanur SATAŞMAZ

Danışman
Doç. Dr. Arif ÇİLOĞLU

Bu Tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2024-13516 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Aralık 2024
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Beyzanur SATAŞMAZ

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Nevşehir Yöresindeki Kedi ve Köpeklerde *Giardia duodenalis*'in Moleküler Prevalansı ve Genetik Karakterizasyonu” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Beyzanur SATAŞMAZ

Danışman

Doç. Dr. Arif ÇİLOĞLU

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Abdullah İNCİ

Doç. Dr. Arif ÇİLOĞLU danışmanlığında **Beyzanur SATAŞMAZ** tarafından hazırlanan “**Nevşehir Yöresindeki Kedi ve Köpeklerde *Giardia duodenalis*'in Moleküler Prevalansı ve Genetik Karakterizasyonu**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Parazitoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

23/12/2024

JÜRİ :

İmza

Danışman: Doç. Dr. Arif ÇİLOĞLU

Üye: Doç. Dr. Zuhale ÖNDER

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Neslihan SÜRSAL ŞİMŞEK

ONAY

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

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

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Başta tez konumun seçilmesinden çalışmalarımın yürütülmesine kadar her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda sonsuz desteğiyle gelişmeye katkıda bulunan değerli danışman hocam Doç. Dr. Arif ÇİLOĞLU'na en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Parazitoloji Anabilim Dalı'nda çalışmaya başladığım günden bu yana desteğini gördüğüm değerli hocalarım Prof. Dr. Abdullah İNCİ, Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM, Prof. Dr. Önder DÜZLÜ, Doç. Dr. Zuhale ÖNDER ve laboratuvar çalışmalarında desteğini aldığım Araş. Gör. Dr. Gamze YETİŞMİŞ, Öğr. Gör. Dr. Sadullah USLU ile Dr. Gupse Kübra KARADEMİR'e, TYL-2024-13516 proje kodu ile tez projemi destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve Birim Personeline teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın süresince birçok fedakârlıklar gösterip, yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için aileme en derin duygularla teşekkür ederim.

NEVŞEHİR YÖRESİNDEKİ KEDİ VE KÖPEKLERDE *GIARDIA DUODENALIS*'İN MOLEKÜLER PREVALANSI VE GENETİK KARAKTERİZASYONU

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2024

Danışman: Doç. Dr. Arif ÇİLOĞLU

ÖZET

Bu çalışmada, Nevşehir yöresinde çeşitli şikayetler ile özel veteriner kliniklerine getirilen sahipli kedi ve köpeklerde, *Giardia duodenalis*'in moleküler prevalansının araştırılması, genetik karakterizasyonlarının sağlanması, filogenetik yapılanmalarının belirlenmesi ve moleküler epidemiyolojik veriler kapsamında kedi ve köpeklerin halk sağlığı yönünden risk faktörlerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaçla 2023 yılında Nevşehir yöresinde farklı yaş ve cinsiyetteki sahipli 100 kedi ve 100 köpekten tekniğine uygun olarak toplam 200 adet dışkı örneği toplanmıştır. Takiben toplanan dışkı örneklerinden genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve sonrasında elde edilen genomik DNA izolatları, β -giardin gen bölgesini amplifiye eden spesifik primerlerle nested PCR analizine tabi tutulmuştur. PCR analizleri sonucu ikisi kedi ve biri köpek olmak üzere toplam üç (%1,5) örnek *G. duodenalis* DNA'sı yönünden pozitif belirlenmiştir. Pozitif belirlenen amplikonlar, jel pürifikasyon işlemlerinden sonra 2. PCR primerleri ile sekans analizlerine tabi tutulmuş ve hedef gen bölgesi dizilimleri elde edilmiştir. Nükleotid dizileri belirlenen izolatların üç farklı genotip olarak gruplandığı tespit edilmiş ve GenBank veri tabanı kayıtları gerçekleştirilmiştir (PQ514072-4). Elde edilen izolatların Dünya'daki diğer *G. duodenalis* izolatları ile çoklu hizalamaları yapılarak filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan çoklu hizalama ve filogenetik analizler sonucunda sahipli kedilerden elde edilen izolatların zoonotik Assemblage B ile Assemblage C ve sahipli köpekten elde edilen izolatın Assemblage D'de yer aldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu tez çalışması ile Nevşehir yöresinde sahipli kedi ve köpeklerde ilk kez *G. duodenalis*'in moleküler karakterizasyonu yapılmış, filogenetik yapılanmaları belirlenmiş ve *G. duodenalis*'in zoonotik genotipleri temelinde sahipli kedi ve köpeklerin halk sağlığı yönünden oluşturabileceği risk potansiyelleri ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Assemblage; β -giardin; *Giardia duodenalis*; Nevşehir; PCR.

**MOLECULAR PREVALENCE and GENETIC CHARACTERIZATION of
GIARDIA DUODENALIS IN CATS and DOGS FROM NEVŞEHİR PROVINCE**

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Veterinary Parasitology

M.Sc. Thesis, December 2024

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Arif ÇİLOĞLU

ABSTRACT

This study aimed to investigate the molecular prevalence of *Giardia duodenalis* in owned cats and dogs presented to private veterinary clinics in the Nevşehir region with various clinical complaints. The objectives included determining the genetic characterization and phylogenetic relationships of the isolates and evaluating the potential public health risks posed by cats and dogs in the context of molecular epidemiological data. For this purpose, 200 fecal samples were collected in 2023 from 100 owned cats and 100 owned dogs of different ages and sexes in the Nevşehir region. Fecal samples were collected in accordance with proper sampling techniques. Genomic DNA was subsequently isolated from the fecal samples. The extracted DNA was then subjected to nested PCR using specific primers targeting the β -giardin gene region. PCR analysis identified *G. duodenalis* DNA in three samples (1.5%): two from cats and one from a dog. Positive amplicons were purified using gel purification and sequenced with second-round PCR primers to obtain nucleotide sequences. Sequence analysis revealed three distinct genotypes among the isolates. These genotypes were submitted to the GenBank database with accession numbers PQ514072-4. Phylogenetic analyses were performed by aligning the sequences with those of other *G. duodenalis* isolates globally. Multiple sequence alignment and phylogenetic tree construction indicated that the isolates obtained from cats belonged to zoonotic Assemblage B and Assemblage C, whereas the isolate from the dog was classified as Assemblage D. This study represents the first molecular characterization and phylogenetic analysis of *G. duodenalis* in owned cats and dogs in the Nevşehir region. It highlights the potential public health risks posed by owned cats and dogs based on the zoonotic genotypes of the pathogen.

Key words: Assemblage; β -giardin; *Giardia duodenalis*; Nevşehir; PCR.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 <i>Giardia</i> Türleri ve Taksonomileri.....	3
2.1.1 <i>Giardia agilis</i>	4
2.1.2 <i>Giardia muris</i>	4
2.1.3 <i>Giardia psittaci</i>	5
2.1.4 <i>Giardia ardea</i>	5
2.1.5 <i>Giardia microti</i>	5
2.1.6 <i>Giardia peramelis</i>	5
2.1.7 <i>Giardia cricetidarum</i>	5
2.2 <i>Giardia duodenalis</i> 'in Morfolojisi.....	6
2.2.1 Trofozoit (Vejetatif) Formu.....	6
2.2.2 Kist Formu.....	6
2.3 <i>Giardia duodenalis</i> 'in Biyolojisi	7
2.3.1 Ekskistasyon	8
2.3.2 <i>Giardia duodenalis</i> 'in Bağırsak Epiteline Bağlanması.....	8
2.3.3 Trofozoitin Çoğalması.....	8
2.3.4 Enkistasyon	8
2.4 <i>Giardia duodenalis</i> 'in Kedi ve Köpeklerde Prevalansı	9

2.5	<i>Giardia duodenalis</i> Enfeksiyonlarında Klinik Bulgular ve Patogenez.....	10
2.6	<i>Giardia duodenalis</i> Enfeksiyonlarının Tanısı.....	11
2.6.1	Konvansiyonel Tanı Yöntemleri	12
2.6.2	Serolojik Yöntemler	15
2.6.3	Moleküler Yöntemler	15
2.7	<i>Giardia duodenalis</i> Enfeksiyonlarının Tedavisi.....	17
2.8	Korunma ve Kontrol	18
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1	Araştırma Sahası ve Örneklerin Toplanması	20
3.2	Dışkı Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu.....	21
3.3	β -giardin Gen Bölgesinin Amplifikasyonu.....	23
3.4	PCR Ürünlerinin Elektroforezi	24
3.5	β -giardin Gen Bölgesinin Sekans Analizleri.....	25
3.5.1	Genotiplendirme ve Filogenetik Analizler	25
4.	BULGULAR	27
4.1	<i>Giardia duodenalis</i> 'in Moleküler Prevalansı.....	27
4.2	β -giardin Gen Bölgesinin Sekans Analizi Sonuçları	28
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	36
6.	KAYNAKLAR.....	44
EKLER		
ÖZGEÇMİŞ		

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1	<i>Giardia</i> soyunun sistematikteki yeri	3
Tablo 2.2	<i>Giardia</i> soyunda yer alan türler, genotipler, altgenotipler ve konakları	16
Tablo 3.1	Dışkı örnekleri alınan kedi ve köpeklerin yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımları	21
Tablo 3.2	β -giardin gen bölgesinin Nested PCR analizlerinde kullanılan primerler ...	23
Tablo 4.1	İncelenen kedi ve köpek dışkı örneklerinde <i>G. duodenalis</i> pozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı	27
Tablo 4.2	β -giardin gen bölgesine göre karakterize edilen izolatların nükleotid kompozisyonları	30
Tablo 4.3	<i>Giardia duodenalis</i> β -giardin gen bölgesi filogenetik analizler için oluşturulan veri seti	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1	Örnekleme yapılan ilin Orta Anadolu Bölgesindeki lokasyonu.....	20
Şekil 4.1	Nested PCR sonucu elde edilen ampikonların jel elektroforezde görünümü M: 100 bp Marker, 1-3: Pozitif örnekler, 4: Pozitif kontrol, 5: Negatif kontrol	28
Şekil 4.2	Elde edilen izolatlara ait β -giardin gen bölgesi nükleotid dizilimlerinin çoklu hizalamaları	29
Şekil 4.3	Filogenetik analize dahil edilen <i>G. duodenalis</i> izolatlarının identikliklerinin heatmap gösterimi	33
Şekil 4.4	<i>Giardia duodenalis</i> izolatlarının β -giardin gen bölgesi Maximum Likelihood (ML) analizine göre filogenetik ilişkileri. Çalışmada belirlenen izolat isimlerinin başına siyah kare işareti konmuştur. Node'ların önündeki rakamlar ML olasılığını göstermektedir. Ölçek çizgisi yerleşim yeri başına nükleotid değişimini göstermektedir	34

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Giardiasis dünya çapında geniş bir yayılım gösteren, insan ve hayvanlarda özellikle gastrointestinal sistemde ciddi sorunlara yol açabilen protozoal bir enfeksiyondur. *Giardia duodenalis* (syn. *Giardia intestinalis*, *Giardia lamblia*), insan ve hayvanlarda (kanideler, felideler, primatlar, rodentler, ruminantlar ve toynaklı hayvanlar) giardiasise neden olan zoonotik bir protozoon türüdür. Bu parazit türü, dünyanın hemen her yerinde yayılım göstermesi ve özellikle de gelişmekte olan ülkelerde en sık rastlanan bağırsak paraziti olarak bildirilmesi nedeniyle giardiasise neden olan protozoon türleri içerisinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Özellikle kalabalık yaşam ortamları ve kontamine çevresel koşullar altında hayvanlardan insanlara veya insanlardan hayvanlara doğrudan veya dolaylı olarak bulaşabilen *G. duodenalis*, tek sağlık kavramı çerçevesinde veteriner hekimlik ve halk sağlığı alanında ortak öneme sahip bir patojen olarak kabul edilmektedir. Bu bağlamda, *Giardia duodenalis*'in etkeni olduğu giardiasisin yayılım dinamiklerinin ve bulaşma kaynaklarının anlaşılması, bu zoonoz hastalığa karşı kontrol ve mücadele stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik önem arz etmektedir.

Giardiasisin klinik teşhisi, geleneksel olarak mikroskopi veya immünolojik testler ile yapılmakla birlikte, bu yöntemler, parazitin düşük yoğunlukta bulunduğu durumlarda özellikle de kronik enfeksiyonlarda sınırlı hassasiyet sergilemektedir. Bu kapsamda teşhisin doğru ve net bir şekilde yapılamaması nedeniyle özellikle hastalık etkenini herhangi bir klinik belirti göstermeden taşıyan rezervuar konaklar, etkenin yayılım ve bulaşmasında rol oynamakta ve hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit edebilmektedirler. Son yıllarda moleküler tabanlı tekniklerin yaygınlaşmasıyla birlikte giardiasis, daha kesin ve hassas bir şekilde teşhis edilmeye başlanmıştır. Günümüzde özellikle polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve türevleri gibi moleküler yöntemler, giardiasisin teşhisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemler, ayrıca *G. duodenalis*'in

direkt identifikasyonu noktasında moleküler karakterizasyon analizlerinin gerçekleştirilmesine de temel oluşturmakta ve parazitin genetik yapısının detaylı bir şekilde incelenmesine olanak tanıyarak hastalığa karşı etkin kontrol ve mücadele stratejilerinin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlamaktadır.

Son yıllarda çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda kedi ve köpeklerde *G. duodenalis*'in moleküler epidemiyolojisi üzerine kapsamlı veriler elde edilmiştir. Türkiye'de ise günümüze kadar bu hayvanlarda *G. duodenalis* ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunlukla konvansiyonel mikroskopik teşhis yöntemleri temelinde gerçekleştirildiği, etkenin moleküler düzeyde identifikasyonu ve filogenetik karakterizasyonlarının belirlenmesini içeren çalışmaların ise oldukça sınırlı olduğu görülmektedir. Ancak *G. duodenalis*'in bulaşma dinamiklerinin belirlenmesi, epidemiyolojik faktörlerin analizi, çeşitli coğrafik bölgeler arasındaki ilişkilerin araştırılması ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesinde enfeksiyona yol açan genotip/alttiplerin moleküler olarak ortaya konulması, filogenetik yapılanmalarının belirlenmesi ve bilimsel çalışmaların bu temelde dizayn edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Nitekim, Türkiye'de *G. duodenalis* genotiplendirmesi üzerine yapılan sınırlı sayıda çalışmada zoonotik karakterli genotiplerin yaygın bulunduğu dikkati çekmektedir.

Bu çalışmada, Nevşehir yöresinde çeşitli şikayetler ile özel veteriner kliniklerine getirilen sahipli kedi ve köpeklerde, *G. duodenalis*'in varlığının ve moleküler prevalansının araştırılması, genetik karakterizasyonlarının sağlanması, filogenetik yapılanmalarının belirlenmesi ve elde edilecek moleküler epidemiyolojik veriler kapsamında halk sağlığı yönünden risk faktörlerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

1632 yılında Hollanda'da doğan Antony van Leeuwenhoek, kendi ishalli dışkısını kendi ürettiği lenslerinden birisi ile mikroskopik olarak incelemiş ve gördüklerini 1681 yılında Royal Society of London'a yazdığı mektupta bildirmiştir. Ancak belirgin bir görüntüye ulaşamadığı için çizimlerini de gerçekleştirememiştir. İngiliz bilim insanı Clifford Dobell bu yazılanları incelemiş ve Leeuwenhoek tarafından açıklanan etkenin *Giardia* olduğunu bildirmiştir (Conboy, 1997; Sulaiman ve Cama, 2006; Thomson, 2009). 1859 yılında Çekoslovak doktor Wilem Düsen Lambl etken hakkında daha ayrıntılı bilgiler vermiş ve bu etkeni *Cercomonas intestinalis* şeklinde adlandırmıştır (Değerli, 2001; Faubert, 2000; Flanagan, 1992; Meyer ve Radulescu, 1979). Kunster ise 1882 senesinde kurbağa yavrularında bulunan bir organizmayı *Giardia* olarak isimlendirmesinden sonra *Giardia* bir cins adı olarak kullanılmaya başlanmıştır (Farthing, 1996; Ivanov, 2010; Weese ve Fulford, 2011). Blanchard, 1888 yılında insanlara etki eden türü *Lambliia intestinalis* olarak adlandırırken, Stiles ise 1902 yılında aynı türü *Giardia duodenalis* olarak tanımlamıştır (Weese ve Fulford, 2011).

2.1 *Giardia* Türleri ve Taksonomileri

Zoomastigophora sınıfı, Diplomonadida dizisi, Hexamitidae ailesinde yer alan çift çekirdekli, kamçılı *Giardia* soyuna bağlı türler, memeli, kuş ve amfibi gibi birçok hayvan türünü enfekte edebilen flagellalı protozoonlardan biridir (Adam, 2001). *Giardia* sp.'nin taksonomisi Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1 *Giardia* soyunun sistematikteki yeri

Sınıflandırma

Alem: Protista

Alt Alem: Protozoa

Şube: Sarcomastigophora

Alt Şube: Mastigophora

Sınıf: Zoomastigophora

Dizi: Diplomonadida

Aile: Hexamitidae

Soy: *Giardia*

Güncel kaynaklarda, trofozoit şekillerine, boyutlarına, median cisimlerinin yapılarındaki farklılıklara ve özgünlüklerine bakılarak yapılan tür ayırımına göre *Giardia* tür sayısı 8 olarak kabul görülmektedir (Mahbubani ve ark., 1992; Monis ve ark., 2003; Ryan ve Zahedi, 2019).

2.1.1 *Giardia duodenalis* (syn. *Giardia lamblia* ve *Giardia intestinalis*)

Armut benzeri trofozoit şekle sahip olan *G. duodenalis*'in boyutu 11-16 µm X 5-9 µm arasındadır. Bulunduğu konak parazitin büyüklüğünü etkilemektedir. Virgül veya pençe benzeri median cisme sahip olan *G. duodenalis*, kedi, köpek, insan, kuş ve sürüngen gibi farklı konaklarda bulunabilmektedir (Adam, 2001).

2.1.2 *Giardia agilis*

Uzun ve dar 20 µm X 4,5 µm boyutunda trofozoit şekle, gözyaşı benzeri birbirine kaynaşan median cisme ve vücudun beşte birini kapsayan emici diske (vantuz) sahip olan *G. agilis* türü özellikle amfibilerde görülmektedir (Adam, 2001; Meyer ve Radulescu, 1979).

2.1.3 *Giardia muris*

10 µm X 12 µm uzunluğa 5-7 µm ene sahip olan *G. muris*, armut şeklinde trofozit bulundurmaktadır. Median cisim sivri değildir ve iki küçük yuvarlak şeklinde ortada yer almaktadır. Bu tür genelde fare gibi kemirgenlerde, sürüngenlerde ve kuşlarda görülmektedir (Adam, 2001; Friend, 1966).

2.1.4 *Giardia psittaci*

Trofozoitleri armut şeklinde olup 14 µm X 6 µm uzunluğundadır. Kistleri yaklaşık 6 µm olan bu türün trofozoitleri ventro-lateral yaka içermemektedir. Pençe şeklinde median cisme sahip olan *G. psittaci* muhabbet kuşlarında bulunmaktadır (Erlandsen ve Bemrick, 1987).

2.1.5 *Giardia ardea*

Bu türün trofozoitleri gözyaşı şeklinde olup uzunluğu 3,3 µm ile 10,5 µm arasında değişmektedir. *Giardia ardea* 6-7 µm büyüklüğünde kistlere ve küçük yuvarlak median cisimlere de sahiptir. Ayrıca kuyruk kamçısı yeterince gelişmemiş *G. ardea* büyük mavi balıkçılarda görülmektedir (Erlandsen ve Bemrick, 1987).

2.1.6 *Giardia microti*

Trofozoit formu olarak *G. duodenalis*'e benzeyen *G. microti* kemirgenlerde bulunmaktadır. Trofozoit uzunluğu 12-15 µm arasında değişkenlik gösterirken kist uzunlukları ise 6-8 µm arasında değişmektedir (Monis ve ark., 2009).

2.1.7 *Giardia peramelis*

Giardia peramelis'in kistlerini morfolojik olarak *G. duodenalis*'in kistlerinden ayırt etmek mümkün olmamaktadır. Keseli hayvanlarda bulunan bu türün kistlerinin uzunluğu ortalama olarak 12,68 µm genişliği ise 7,88 µm değerindedir (Hillman ve ark., 2016).

2.1.8 *Giardia cricetidarum*

Armut şeklinde olan *G. cricetidarum*'un trofozoitlerinde dört çift flagella bulunmaktadır. Trofozoit uzunluğu 12 ile 18 µm arasında olan *G. cricetidarum*, Cricetidae alt familyasına ait kemirgenlerden olan hamsterlarda görülmektedir (Lyu ve ark., 2018).

2.2 *Giardia duodenalis*'in Morfolojisi

Zorunlu anaerob bir protozoon olan *Giardia duodenalis*'in kist ve trofozoit adı verilen iki formunun olduğu bilinmektedir (Chandra, 1982; Seferoğlu ve ark., 2016).

2.2.1 Trofozoit (Vejetatif) Formu

Giardia duodenalis'in trofozoiti armut şeklinde olup 12-15 µm uzunluğunda ve 6-8 µm genişliğinde bir forma sahiptir (Seferoğlu ve ark., 2016). Trofozoitin çevresinde yanal flanş olarak adlandırılan düz bir yapı bulunmakla birlikte trofozoitin ön kısmı yuvarlak ve geniş arka kısmı ise dardır (Seferoğlu ve ark., 2016). Lateral bakıda sırt yüzü yani dorsal kısmı dış bükey, karın tarafı yani ventral yüzü ise iç bükey görünümünde olup ön kısmının tamamı emici disk ile kaplanmıştır. Emici diskin arka kısmında boyutu vücut uzunluğunun ¼'i kadar olan iki nükleus bulunmaktadır. Emici disk *G. duodenalis*'in ince bağırsağın duodenum kısmında yer alan epitellerdeki mikrovillüslerle tutunmasını sağlayan yapıdır. Emici diskin fonksiyonunda rol oynayan tubulin ve giardin adlı proteinler bulunmaktadır (Nosala ve Dawson, 2015). Orta kısımda trofozoitin gergin olmasını sağlayan aksostil adı verilen destekleyici uzantı bulunmaktadır. Bu iki nükleus ortasında kinetosomal kompleksler bulunmakta ve bu kompleksler flagellanın oluşumunu sağlamaktadır. Hücre gövdesinde median cisim, emici disk ve dört çift flagella bulunmaktadır (Carranza ve Lujan, 2010; De Souza ve ark., 2004; Nosala ve Dawson, 2015). Flagellalara hareket enerjisi sağlayan dört çift blefaroblast bulunmaktadır. Ön kamçılar blefaroblastların önüne geçerek birbirleri ile çaprazlaşmaktadır. Orta blefaroblasttan kuyruk kamçıları kalın iki aksonem olarak çıkmakta ve arka uca doğru iki çubuk şeklinde ilerlemektedir (Nosala ve Dawson, 2015). Eksitasyon işlemi sırasında parazitin motilitesi için önemli olan flagella, ventral disk altında negatif basınç oluşturarak parazitin bağırsak epitelyum yüzeyine tutunmasında büyük rol oynamaktadır (Nosala ve Dawson, 2015).

2.2.2 Kist Formu

Oval bir şekle sahip olan *G. duodenalis*'in kist formu 9-15 µm uzunluğunda ve 6-9 µm enindedir (Güngör, 2021). Kist zarının kalınlığı 0,3 µm olmakla birlikte sitoplazma ile kist duvarı arasında boşluk bulunmamaktadır (Vurupalmaz, 2012). Kist zarının ana

yapısını N-asetil galaktozamin adı verilen sert bir proteinöz madde oluşturmaktadır (Vurupalmaz, 2012). Kistin içerisinde median cisim, nükleus, flagella ve diğer hücre organel kalıntıları yer almaktadır. *Giardia duodenalis* kistin sitoplazması içerisinde rastgele dağılmış olan dört adet yuvarlak nükleus bulunmaktadır. Bu nükleuslar olgunlaşmamış kist içerisinde iki tanedir (Seferoğlu ve ark., 2016; Wolfe, 1992). Parazitin kist formu dış ortam şartlarına karşı oldukça dayanıklı olması sebebiyle enfeksiyonun yayılmasında önemli rol oynamaktadır (Seferoğlu ve ark., 2016; Wolfe, 1992).

2.3 *Giardia duodenalis*'in Biyolojisi

Giardia duodenalis trofozoitleri bulunduğu konağın ince bağırsağının mukozal yüzeyine tutunup hızla çoğalma kabiliyetinde olan noninvaziv bir yapı iken kistleri dışkı ile bulaşan, çevre şartlarına dirençli basit bir yaşam döngüsüne sahiptir (Monis ve ark., 2009; Seferoğlu ve ark., 2016; Vurupalmaz ve Öter, 2016). *Giardia duodenalis* parazitin kist formunu içeren dışkı ile kontamine su veya gıdaların alınması ile bulaşmaktadır (Ali ve Nozaki 2007; Eckmann, 2003; Turhan ve ark., 2009; Vurupalmaz ve Öter, 2016). Bu kistler vücuda alındığında mide ve duodenumda, pankreas ve asit enzimleri ile eksistasyona (kistten çıkış) uğrayıp trofozoite dönüşmektedir. 9-12 saatlik bir zaman aralığında ikiye bölünerek hızla çoğalan bu trofozoitler ince bağırsağa geçmektedir. İnce bağırsakta nötr pH ve sekonder safra tuzlarına maruz kalan trofozoitler ince bağırsak epiteline emici diskleri ile yapışmaktadır. Bağırsak epiteline ayrılan trofozoitler gaita içeriğine katılarak bağırsağın peristaltik hareketi ile dışarı atılabilmektedir (Seferoğlu ve ark., 2016). Bağırsaktan geçiş süresinin kısa olduğu sulu dışkılarda genellikle trofozoit formlara rastlanılırken, geçiş süresinin uzadığı şekilli dışkılarda ise kist formları ile karşılaşmaktadır (Seferoğlu ve ark., 2016). Atılan *G. duodenalis*'in trofozoit formları dış ortamda canlılığını koruyamazken, kist formları ise uzun süre canlı kalabilmektedir (Vurupalmaz ve Öter, 2016). Özetle parazitin bağırsağa kolonizasyonu ve yaşam döngüsünün tamamlanması eksistasyon, bağırsak epiteline bağlanma, trofozoitin çoğalması ve enkistasyon (kist formuna dönüş) şeklinde dört aşamadan oluşmaktadır (Farthing, 1996). Bu aşamalar, aşağıda başlıklar halinde verilmiştir.

2.3.1 Ekskistasyon

Vücuda alınan *G. duodenalis* kistleri öncelikle konak midesine ulaşmakta ve mide asidi ortamında bulunmasından sonra ince bağırsağın üst kısmına gelerek proksimale geçmektedir. Bu kısımda pH 6,8-7,0 arasında değişmektedir. Burada kist mide asidi, karbondioksit ve pankreatik salgılara maruz kaldığı için kistin duvarı parçalanmaktadır. Bu parçalanma sonucu kistten çıkış (ekskistasyon) gerçekleşir ve trofozoit serbest kalır (Ali ve Nozaki 2007; Farthing, 1996; Gülel ve ark., 2015). Kist laboratuvar ortamında mide asidi, karbondioksit ve pankreatik gibi sekresyonlara maruz kalırsa ekskistasyon 5-10 dakika içinde başlamaktadır (Farthing, 1996).

2.3.2 *Giardia duodenalis*'in Bağırsak Epiteline Bağlanması

Giardia duodenalis trofozoitinde bulunan emici disk sayesinde bağırsağın epitel yüzeyine sıkı bir şekilde tutunabilmekte ya da lumenin içerisinde serbest halde dolaşabilmektedir. *Giardia duodenalis*'e ait olan bu trofozoitler dokulara geçmemektedir (Vurupalmaz ve Öter, 2016; Wolfe, 1992). Trofozoitlerin epitelyum hücrelerine yapışmasında özellikle alfa, beta, delta ve gama adı verilen giardin proteinlerinin önemli rolü bulunmaktadır (Cotton ve ark., 2011).

2.3.3 Trofozoitin Çoğalması

Ağız yolu ile alındıktan sonra mideden duodenuma geçen ve burada ekskistasyona uğrayan aside dirençli kistler aseksüel yolla hızlıca çoğalmaktadır. Ekskistasyon sonucu meydana gelen trofozoitler beş saatte bir bölünmektedir. Sırasıyla iki nükleus sonra hareketi sağlayan hareket organelleri ve ventral disk son olarak sitoplazma hızlı bir şekilde bölünerek trofozoitler oluşmaktadır (Flanagan, 1992; Thompson, 1994). Bağırsak epitel hücrelerine tutunan trofozoitler gastrointestinal sistemin peristaltik hareketi etkisi ile epitellerden ayrılarak dışkı ile dışarı atılmaktadır (Seferoğlu ve ark., 2016; Thompson, 1994).

2.3.4 Enkistasyon

İnce bağırsaktan aşağı doğru inen *G. duodenalis*'in trofozoit formu replikatif olmayan kist formuna dönüşmekte ve bu dönüşüm olayı enkistasyon olarak adlandırılmaktadır

(Palm ve ark., 2005). Bu dönüşümden sonra ilk olarak trofozoit formunda bulunan flagellaların boyları kısalmaya ve yavaş hareket etmeye başlamaktadır (Thompson ve ark., 1993). Enkistasyon aşamasına özel olan veziküller gelişmekte ve olgunlaşmaktadır (Güngör, 2021). Sitoplazma yoğun hale gelerek kalın hyalin kist yapısı meydana gelmektedir. İki nükleusa sahip olan trofozoit formu iki nükleusa sahip kist formuna dönüşmektedir. Kistin içerisinde bulunan bu iki nükleus bölünerek dört nükleusa sahip kistler oluşmaktadır (Seferoğlu ve ark., 2016). Kist duvarının oluşumu 4 ila 70 saat sürmektedir (Thompson ve ark., 1993). Oluşan bu kistlerin enfektif özelliğe sahip olup olmadığı tartışılmaktadır fakat bazı kistlerin yedi günlük bir olgunlaşma sürecini enfekte olmadan geçirdiği tespit edilmiştir. Dış ortama atılan *G. duodenalis*'in kistleri diğer konaklar tarafından alınarak döngünün devamı sağlanmaktadır (Güngör 2021). Dış ortam şartlarına karşı duyarlı olan *G. duodenalis*'in trofozoitleri dışarıda yaşayamaz iken kistler dış ortam şartlarına karşı dirençlidir ve uzun süre canlı kalabilmektedir (Vurupalmaz ve Öter, 2016). Genelde enfeksiyon *G. duodenalis*'in kist formları ile kontamine olmuş içme sularının alınması ile meydana gelmektedir (Kraft ve ark., 2017).

2.4 *Giardia duodenalis*'in Kedi ve Köpeklerde Prevalansı

Giardia duodenalis kedi ve köpeklerde dünya çapında karşılaşılan en yaygın parazitlerdendir (Thompson, 2004). Dünya üzerinde yaygın seyreden ve önemli bir bağırsak paraziti olan *G. duodenalis* hem ılıman hem de tropik bölgelerde görülen ishallerin başlıca etkenidir (Aw ve ark., 2019; Leung ve ark., 2019; Mizuno ve ark., 2019). Altyapı ile ilgili sorunu olan ülkelerde yeterli sanitasyonun sağlanamaması fekal-oral ve kontamine yiyecek ve içeceklerle bulaşan *G. duodenalis*'i önemli bir enterik problem haline getirmiştir (Güngör, 2021). Türkiye'de su kaynaklarında ve çeşitli hayvan konakçılarında *G. duodenalis* enfeksiyonlarının yaygınlığını araştıran birçok moleküler epidemiyolojik çalışma bulunmasına rağmen kedilerde bu parazitlerin varlığına ve genotiplerin tespitine yönelik sınırlı sayıda araştırma mevcuttur (Önder ve ark., 2021). Kedilerde *G. duodenalis* enfeksiyonunun birçok ülkede görüldüğü rapor edilmiştir. Ancak yapılan çalışma sonuçları daha önce Avustralya (%10,1), Tayland (%12,1), Almanya (%10,5) ve Brezilya'da (%11,1) yapılan çalışmalardan daha düşük, Çin (%3,6) ve İtalya'da (%6,1) yapılan çalışmaların bulgularından daha yüksek

bulunmuştur (Önder ve ark., 2021). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesi'ndeki ishallerde *G. duodenalis*'in moleküler prevalansı %68,6 olarak rapor edilmiştir (Önder ve ark., 2021). Yine yakın zaman diliminde Avustralya'da 1400 köpek üzerinde yapılan araştırma neticesinde %9,3 oranında *Giardia* sp. kistine rastlanılmıştır. Brezilya'da bulunan köpeklerde yapılan bir çalışmada ise giardiasisin yaygınlığı %6,1 ile %16,9 arasında değişiklik gösterdiği rapor edilmiştir (Karahallı, 2014). Başka bir çalışmada ise *G. duodenalis*'in yaş dağılımına göre prevalansı incelenmiş ve 6 aydan küçüklerde bu oran %10,3 iken, 3 yaşından büyüklerde %1 olarak araştırmacılar tarafından kayıt altına alınmıştır (Little ve ark., 2009). Ülkemizde giardiasisli köpeklerde hematolojik ve biyokimyasal değerlerin incelenmesi amacıyla 170 köpek üzerinde yapılan çalışmada köpekler incelenmiş, ELISA yöntemiyle çalışan pratik kitlerle yapılan testler ile 60 köpeğin *Giardia* sp. açısından pozitif (prevalans %35,2) olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Sarı ve Onmaz, 2011). Ayrıca giardiasis vakalarının birçoğunun yaz aylarında ve sonbahar mevsiminin başlarında görüldüğü kaydedilmiştir (Leung ve ark., 2019).

2.5 *Giardia duodenalis* Enfeksiyonlarında Klinik Bulgular ve Patogenez

Giardia duodenalis enfeksiyonlarında risk, genç hayvanlarda ve hayvanların kalabalık şekilde bir arada bulunduğu yerlerde daha yüksektir. Bulaşma sadece dışkı ile atılan kistlerin oral yolla alınması ile mümkün olmaktadır (Güngör, 2021). *Giardia* parazitinin patojenitesindeki farklılıklar, konağın immun sistemi, beslenme koşulu ve yaşına bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir (Homan ve Mank, 2001). Giardiasis vakalarında asemptomatik taşıyıcılık görülmekle birlikte akut ve kronik enfeksiyon gibi vakalara da rastlanılmaktadır (Costache ve ark., 2020). Erişkin hayvanlarda *Giardia* enfeksiyonu genellikle asemptomatik seyretmektedir (Hanevik ve ark., 2009). *Giardia duodenalis*'in semptomatik vakalarında ise klinik bulgular, kistlerin alınmasından 3 ila 20 gün sonra başlamakta ve semptom olarak diyare, iştahsızlık, halsizlik, şişkinlikle birlikte karın ağrısı, yağ emiliminin bozulması sonucu steatore (yağlı dışkı) ve kilo kaybı yaygın olarak, ateş ise nadiren görülmektedir (Farthing, 1996; Karahallı, 2014; Pickering ve Engelkirk, 1988). Bağırsaklarda fonksiyonel bozukluğa yol açan *G. duodenalis* yağ ve yağda eriyen vitaminlerin emilimini aksatarak malabsorbsiyona neden olmaktadır.

Bunun sonucunda demir eksikliği anemisi, su, yağ, B₁₂ ve A vitamini, tiamin, folat ve disakkarit eksikliği görülebileceği bildirilmiştir (Seferoğlu ve ark., 2016). *Giardia* enfeksiyonu tedavi edilmediği sürece enfeksiyon birkaç ay sürebilmektedir (Gardner ve Hill, 2001). Giardiasis genellikle 7-14 gün süren inkübasyon süresi ve ortalama 9 gün süren bir prepatent süresine sahiptir (Güngör, 2021).

Giardiasisin patogenezi kesin olarak anlaşılamamasına rağmen, mekanizmalar birçok farklı nedene bağlı olabilmektedir. Kamçıları yardımı ile hareket eden trofozoitler, ventral yüzeylerinde bulunan emici diskler yardımı ile ince bağırsağın mukozal epitel katmanına tutunurlar (Üstün ve ark., 2012). *Giardia duodenalis*, salgıladığı lektin proteini ile parazit bağırsak mukozasına daha kolay tutunmakta ve mukozal irritasyona sebep olmaktadır (Cotton ve ark., 2011; Üstün ve ark., 2012). *Giardia duodenalis*'in patogenezi vücuda alınan kist miktarına, hangi suş ile kontamine olduğuna ve konağın bağışıklık sistemine göre değişiklik göstermektedir (Pickering ve Engelkirk, 1988). Toksinlerin çoğalması ile var olan floranın bozulması, yangısal bağırsak hastalığının etkin hale gelmesi, normal enterosit enzimatik fonksiyonunun yapılamaması, mikrovillusların düz hale gelmesi, yağ emilimi için önemli olan bağırsak içi komponentlerde ve motilitede bozulmalar *G. duodenalis* enfeksiyonlarında meydana gelmektedir (Buret, 2007; Üstün ve ark., 2012; Vivancos ve Bermejo, 2018). Bağırsak epitelyum yüzeyine yapışan *Giardia* parazitleri, emilimi engellediği için yağ emiliminde bozukluk yaşanarak yağlı dışkı (steatore) görünümü oluşturmaktadır (Üstün ve ark., 2012). Yağlı dışkının oluşmasının sebebi ise lipaz enzim aktivitesinin azalması ve müsin üretiminin artmasından kaynaklanmaktadır (Buret, 2007; Buret, 2008; Halliday ve ark., 1995).

2.6 *Giardia duodenalis* Enfeksiyonlarının Tanısı

Giardia enfeksiyonunun klinik bulguları patognomonik olmadığı için doğru ve erken tanı koymak enfeksiyonun tedavisi ve parazitin çevreye yayılmasının engellenmesi açısından büyük öneme sahiptir (Farthing, 1996; Hooshyar ve ark., 2019). Alınan dışkının direkt olarak mikroskop altında incelenmesi sonucu kistlerin veya trofozoitlerin tespit edilmesi ya da serolojik yöntemlerden olan ELISA ile antijenlerin tespit edilmesi

veya PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi kullanılarak *Giardia* DNA amplifikasyonu ile *Giardia* sp.'nin tanısı konulabilmektedir (Karahallı, 2014).

2.6.1 Konvansiyonel Tanı Yöntemleri

2.6.1.1 Direkt Bakı (Nativ-Lugol) Yöntemi

Nativ yöntemde dışkının muhtelif yerlerinden alınan örnek, steril bir cam çubuk yardımıyla lam üzerine konulduktan sonra örneğin üzerine bir damla fizyolojik tuzlu su çözeltisinden damlatılır ve homojen hale gelene kadar karıştırıldıktan sonra üzeri steril bir lamel ile kapatılır. Bu hazırlanan preparat ışık mikroskobunda 10x ve 40x büyütmede incelenir (Chakarova, 2010; Daldal ve ark., 2002). *Giardia*'nın trofozoitleri dökülen yaprak görünümünde bir motiliteye sahip olmakla birlikte bekletilen veya toplanmasının üzerinden bir iki saat geçen durumlarda trofozoitler motilitesini kaybedeceği için canlı bir *Giardia* trofozoiti incelemek mümkün olmayacaktır (Tangtrongsup ve Scorza, 2010).

Lugol yönteminde ise alınan örneğin üzerine bir damla lugol solüsyonu damlatılmakta ve mikroskop altında incelenmektedir. Bu yöntem kist formlarını daha belirgin hale getirip trofozoit formlarına zarar verdiği için kist formlarını karakterize etmekte lugol yöntemi tercih edilmektedir (Güngör, 2021).

Alınan dışkı örneğinde Nativ-Lugol yöntemi kullanılmasının temel amacı dışkıda bulunan diğer elemanlardan parazitin morfolojik yapısını kolayca ayırt edilmesini sağlamaktır (Daldal ve ark., 2002). Parazit yoğunluğunun fazla olmadığı veya parazitin atipik formlarının görüldüğü numunelerde Nativ-Lugol yöntemi ile doğru tanı konulmasının zor olacağı ve yanlış negatif sonuçlar elde edilmesine sebep olabileceği ifade edilmiştir. Bu nedenle daha doğru sonuçlar elde edebilmek adına zenginleştirme yöntemlerinden yararlanılmaktadır (Daldal ve ark., 2002; Karaman ve ark., 2018).

2.6.1.2 Zenginleştirme (Konsantrasyon) Yöntemleri

Yüzdürme (flotasyon) ve çöktürme (sedimentasyon) olarak ikiye ayrılan zenginleştirme yöntemleri dışkıda bulunan parazitlerin özgül ağırlıkları arasındaki farka göre belirlenen yöntemlerdendir (Çöplü ve ark., 2007; Güngör, 2021). Bu yöntemlerin tercih edilmesinin sebebi nativ muayenede tespit edilemeyen şüpheli örneklerin tespitinde

avantaj sağlamasıdır ve farkı trofozoit formlara rastlanılmamasıdır. Bunun sebebi ise bu yöntemler esnasında yapılan uygulamalara trofozoitlerin solüsyonların yoğunluğuna dayanamayıp parçalanmasıdır (Güngör, 2021).

Santrifüj kullanılarak yapılan çöktürme yöntemin avantajı, dışkının yeni olmasını gerektirmemesi, yeni alınmış dışkı örneklerinde ve saklanmış dışkı numunelerinde kullanılabilmesidir. Bu yöntemin olumsuz yönü ise sedimentte dışkı artıklarının fazla bulunması sonucu dışkıda var olan parazitlerin gölgelenmesidir (Özbel ve Dağcı, 1997). En sık kullanılan yöntem olan formol-eter yönteminde alınan dışkı solüsyon ile karıştırılır ve daha sonra santrifüj edilir. Santrifüj sonucu oluşan çökeltiden lam ve lamel yardımı ile preparat hazırlanır ve mikroskobun 10x ve 40x'lık büyütmelerinde muayene edilir (Miman ve Saygı, 2017).

Doymuş tuzlu su gibi yüksek özgül ağırlığa sahip olan solüsyonların içerisinde *Giardia duodenalis*'e ait kistlerin yüzdürülmesi yönteminde Sheather'ın şekerli eriyiği ve çinko-sülfat solüsyonu da doymuş tuzlu su gibi en sık kullanılan yüksek özgül ağırlığa sahip solüsyonlardır. Yüzdürme sonucu dışkıda var olan parazitler suyun üst yüzeyinde, geri kalan elemanlar ise kabın alt tarafında toplanmaktadır. Çöktürme yöntemine kıyasla yüzdürme yönteminde daha net görüntüler elde edilebilmektedir (Güngör, 2021).

2.6.1.3 Boyama Yöntemleri

Trofozoit ve kist formlarının morfolojik karakterleri direkt bakı ve zenginleştirme yöntemleri ile tanımlanamadığı zaman organizmanın ayrıntılarını daha net görebilmek ve daha doğru teşhis edebilmek için kalıcı boya yöntemleri kullanılmaktadır. Bu boyama yöntemlerinde *G. duodenalis* için kullanılan boyalar; giemsa boyama, trikrom boyama ve demirli hematoksin boyalarıdır (Hooshyar ve ark., 2019).

Klinik laboratuvar uygulaması kolay kalıcı bir boyama yöntemi olan giemsa boyama yönteminde, protozoona ait kamçı ve çekirdeklerin kırmızımsı pembe renkte boyandığı, sitoplazmanın ise gri-mavi renkte boyandığı gözlemlenmiştir (Hooshyar ve ark., 2019).

Alınan dışkı numunelerinden yayma preparat hazırlanması için tercih edilen trikrom boyama yönteminin avantajı ise çabuk ve kolay olan boyama işleminin yanı sıra

boyanın uzun süre bozulmadan kalabilmesidir. 45 dakika ile 1 saat arasında süren bu yöntemle boyanan protozoonun sitoplazması mavi-yeşilden morumsu bir renkte olurken çekirdek kromatini, kromatoid cisimler ve diğer inklüzyon cisimcikleri kırmızı veya kırmızımsı mor bir renkte görünmektedir. Küf ve maya barındıran arka zemin ise çoğunlukla mavimsi yeşil bir renk almaktadır (Güngör, 2021). Trikrom boyama yöntemine göre biraz daha uğraştırıcı ve zaman alan bir yöntem olan demirli hematoksilin boyama yöntemi ise trofozoit ve kistlerin görülmesinde kullanışlıdır. Boyamanın standartlara uyularak yapılması halinde protozoona ait sitoplazmanın mavimsi gri renkte, kist formlarının mavinin daha koyu tonlarında, nukleus ve inklüzyonların koyu gri mavi bazen de siyah renkte, zeminim ise mavi açık gri bir şekilde boyandığı görülebilmektedir (Güngör, 2021).

2.6.1.4 Kültür Yöntemi

Rutin klinik laboratuvarında çok tercih edilen bir yöntem değildir (Hooshyar ve ark., 2019). Kültür yöntemi, seroloji ve immunolojik testlerde kullanılan antijeni elde etmek, ilaç keşfi, direnç tespiti için faydalanan bir tanı yöntemidir (Daldal ve ark., 1997; Özbel ve Dağcı, 1997). *Giardia duodenalis*'in kültürü için kullanılan besiyerleri ise Karapetyan, HPS-1, HPS-2, TPS-1 TYI-S-33 besiyerleridir (Güngör, 2021).

2.6.1.5 Duodenal Biyopsi

Enfeksiyon varlığının tanısı tam olarak konulamadığı vakalarda, ince bağırsak biyopsisi yöntemi tercih edilebilmektedir (Erlandsen ve ark., 1996). Biyopsi yöntemi ile ince bağırsakta bulunan *G. duodenalis* tespit edilebilirken bağırsak epitellerinde meydana gelen değişiklikler de incelenebilmektedir. Alınan biyopsi örneğinden hazırlanan preparat boyanmakta ve daha sonra *G. duodenalis*'in trofozoit formu incelenmektedir (Güngör, 2021).

2.6.1.6 Entero-Test

Enfeksiyon varlığının tespit edilemediği giardiasis vakalarında, bağırsağın duodenum ve jejunum kısmından endoskopi veya entero-test (ip testi) yardımıyla alınan sıvıların incelenmesi ile *G. duodenalis*'e ait trofozoitler belirlenebilmektedir (Hooshyar ve ark., 2019).

2.6.2 Serolojik Yöntemler

Günümüzde yaygın olarak ELISA, Dot-ELISA, DFA, IFA ve counter immünelektroforez gibi çeşitli serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Özellikle *G. duodenalis* suşu için spesifik olarak kabul edilen β -giardin geni ELISA yöntemi ile teşhis edilmekte ve ELISA çok sayıda örnekle birlikte çalışmaya fırsat vermektedir (Cacciò ve Sprong, 2011; Graczyk ve ark., 2003; Güngör, 2021; Özbel ve Dağcı, 1997; Santin ve ark., 2012).

2.6.3 Moleküler Yöntemler

Özellikle oocyst atılımının çok sayıda olmadığı olguların teşhis edilmesinde moleküler tanı yöntemleri önemli bir konuma sahiptir. Belirlenen bir gen bölgesinin çoğaltılıp görüntülenmesi esasına dayanan PCR yöntemi, bu moleküler yöntemler arasında en yaygın kullanılan teşhis yöntemidir. PCR esaslı tekniklerle, alınan numunedeki tek bir kistin bile tespit edilebileceği belirtilmekle birlikte, tanı sürecinde *G. duodenalis*'in genotip ve alt tiplerinin ortaya konulabilmesi ve zoonotik durumun belirlenebilmesi için bu yöntem önemli bir avantaja sahiptir (Abeywardena ve ark., 2014; Santin ve ark., 2012). PCR uygulaması, özellikle *G. duodenalis*'in sistematığı, biyolojisi, epidemiyolojisi, ekolojisi ve popülasyon genetiğine ilişkin bilgi ve anlayışın artmasına yardımcı olduğu kadar giardiasisin önlenmesini ve kontrolünü de desteklemektedir (Ankarklev ve ark., 2010; Cacciò ve Ryan, 2008; Cooper ve ark., 2007; Feng ve Xiao, 2011; Kutz ve ark., 2009; Monis ve ark., 1999; Thompson ve ark., 1998; Thompson, 2004).

Giardiasisin moleküler epidemiyolojisi ve zoonotik potansiyeli hakkında son yıllarda yapılan moleküler tiplendirme çalışmaları önemli veriler elde edilmesinde fayda sağlamıştır. Dünyada yapılan moleküler çalışmaların birçoğu insan ve hayvanlardan elde edilen *G. duodenalis* izolatlarının bir tür kompleksi olduğunu kanıtlar niteliktedir (Caccio ve Ryan, 2008; Monis ve ark., 2003; Šoba ve ark., 2015). Yapılan bu genotiplendirme çalışmalarında genellikle *Giardia* spp. için ssu-rRNA, β -giardin (bg), glutamat dehidrogenaz (gdh), elongation faktör 1- α (ef-1), trioz fosfat izomeraz (tpi), GLORF-C4 (C4) genleri kullanılmıştır (Caccio ve Ryan, 2008). *Giardia duodenalis*'in

yapılan protein ve DNA tabanlı moleküler çalışmalarında genotipik ve fenotipik olarak birbirinden farklı, fakat morfolojik olarak benzer yapıda olduğu ve en az sekiz alt türünün (A-H) bulunduğu bildirilmiştir (Tablo 2.2) (Feng ve Xiao, 2011; Monis ve ark., 2003; Ryan ve Caccio, 2013; Wang ve ark., 2014). Ortaya çıkan genotiplerden A ve B tipi insanlarda ve bazı memelilerde (Giangaspero ve ark., 2007), C ve D tipi köpeklerde, kedilerde, kurtlarda ve çakallarda, E tipi sığırlarda, koyunlarda, keçilerde, domuzlarda, mandalarda, F ve G tipleri ise kedi ve farelerde görüldüğü araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur (Caccio ve ark., 2005). Bu bahsedilen genotiplerden A ve B genotipleri, çeşitli hayvanlarda enfeksiyon oluşturmakla birlikte insanlarda da enfeksiyon oluşturduğundan dolayı zoonotik genotip kabul edilmiştir (Caccio ve ark., 2002; Giangaspero ve ark., 2007; Monis ve ark., 2003). Diğer genotiplerin ise zoonotik önemi olmadığı ifade edilmektedir (Caccio ve ark., 2002; Lebbad, 2010; Monis ve ark., 2009; Thompson ve ark., 2008).

Tablo 2.2 *Giardia* soyunda yer alan türler, genotipler, altgenotipler ve konakları

Tür	Primer Konak
<i>Giardia duodenalis</i>	
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, 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 göre önerilen isimler

2.7 *Giardia duodenalis* Enfeksiyonlarının Tedavisi

Tedavide öncelik, ishalin durdurulması ve oluşabilecek re-enfeksiyonun önlenmesidir (Yıldız, 2019). Giardiasisli kedilerde tedavi amacıyla fenbendazol 50mg/kg dozda 5 gün süre ile oral olarak verilebilir (Singer ve ark., 2014). Özellikle *G. duodenalis*'in *Clostridium* spp. ile beraber seyrettiği vakalarda metronidazole benzoatın 15-25 mg/kg dozda 12-24 saat arayla 5 gün süre ile kullanımı daha etkili bir yöntemdir ancak nörotoksisite riski teşkil ettiği için günlük dozun 50 mg/kg'ı geçmemesi gerektiği bildirilmiştir (Yıldız, 2019). Tedavi sürecinde kedinin dışkısında kist atılımı devam ettiği durumda tedavi boyunca kullanılan ilaca karşı antimikrobiyal direnç gelişmiş olabileceği düşünülmelidir. Bu durumda diğer gruptan başka bir ilaç kullanımı önerilmektedir (Yıldız, 2019). Paramomisinin giardiasise karşı etkili olduğu bilinse bile kedilerde akut böbrek yetmezliğine sebep olma olasılığından dolayı bu etken madde önerilmemektedir. Direnç oluşumuna karşı bazı klinisyenler metronidazole ve fenbendazolü birlikte kullanmayı tercih edebilir. Giardiasisli köpeklerde ise sağaltım amacıyla pirantelmonat, febantel ve praziquantel üçlü kombinasyonu, fenbendazol, praziquantel, pirantelpamoat üçlü kombinasyonu ve silimarin, ipronidazol, ronidazol, *Enterococcus faecium* SF68 probiyotik gibi farklı etken maddeler ve kombinasyonları denenmiştir (Giangaspero ve ark., 2002; Payne ve ark., 2002; Simpson ve ark., 2009). Barınakta bakılan köpek ve kedilerde giardiasis vakasına rastlanıldıysa eğer içme sularına ipronidazol katılabileceği de araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Singer ve ark., 2014). Tinidazol, ornidazol ve seknidazol gibi nitroimidazol türevleri, furazolidon gibi nitrofuran türevi ve kinadrin gibi 9-aminoakridin türevi gruplar da giardiasis tedavisinde kullanılabilir. Bu ilaçlara alternatif olarak albendazol, mebendazol

ve fenbendazol gibi benzimidazol grubu ilaçlar tercih edilebilmektedir (Güngör, 2021). Albendazol, bazı kedilerde kemik iliğininin baskılanmasına sebep olabilmektedir. Bu nedenle be etken maddenin kullanımı sırasında dikkatli olunması gerektiği vurgulanmaktadır (Yıldız, 2019). Kist atılımı konusunda tek doz 30 mg/kg seknidazolün önemli etkisi olduğu bildirilmiştir (Ayan ve ark., 2019). Bununla ilgili olarak bir çalışmada, 8, 15, 30. günlerde uygulanan seknidazol tedavisi sonrasında on iki köpekten dördünde tedavi sonrası pozitif durum değişmezken tedavide fenbendazol tercih edilen on iki köpeğin üçünde pozitif durum görülmüştür (Ruiz ve ark., 2019). Öte yandan giardiasis olgularında klinik belirtilerin azaltılması amacıyla diyetle lifli gıdaların eklenmesi önerilmektedir (Yıldız, 2019). Farklı grup ilaçlar uygulanmasına rağmen *Giardia* spp. esaslı ishal olgusu kesilmemişse bunun altında yatabilecek diğer sebeplere (trichomoniasis, cryptosporidiosis, yangısal bağırsak hastalığı vb.) de odaklanılması gerektiği bildirilmiştir (Feng ve Xiao, 2011).

2.8 Korunma ve Kontrol

Giardia duodenalis insandan insana (antroponotik) veya hayvandan insana (zoonotik) dışkı ile atılan kistlerin direkt temas ya da sindirim yoluyla alınması sonucu bulaşmaktadır (Feng ve Xiao, 2011; Xiao ve Fayer, 2008). Bazen dışkı örneklerinde kistler görülmediği için dışkının üç kez incelenmesi önerilmektedir (Güngör, 2021). Doğada bulunan diğer hayvanların dışkısı ile kontamine olmuş su birikintilerinden kedi ve köpeklerin su içmesi önlenmeli ve şüpheli enfeksiyonu olan ya da enfekte olan hayvan diğer hayvanlardan uzak tutulmalıdır (Weese ve ark. 2011). Yetersiz sanitasyon ve kalabalık nedeniyle barınak ve kliniklerde bu protozoonun görülme olasılığı daha fazladır. Böyle yerlerde korunma ve kontrole yönelik önlemlere daha çok dikkat edilmesi gerekmektedir. Kontamine dışkının uzaklaştırılması, toprak ve suyun insan ve hayvan dışkısı ile kontamine olmasının engellenmesi kontrol noktasında uygulanacak en önemli adımlardan biridir (Güngör, 2021). Bu kistler soğuk suda (8°C) 8 hafta ılık suda ise (21°C) 4 hafta canlılığını koruyabilmektedir. Ancak söz konusu kistlerin donma, direkt güneş ışığına maruz kalma, kuruma ve hızlandırılmış hidrojen peroksit, çamaşır suyu (ev çamaşır suyunun 1:10 dilüsyonu) ya da kuaterner amonyum dezenfektanları ile etkisiz hale getirilebileceği de araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Weese ve ark.,

2011). Kloro direnç gösteren kistlerin dezenfekte edilmesi için içme ve kullanma sularında filtrasyon sistemi kullanılması gerekmektedir (Ali ve Nozaki, 2007). Dışkı ile kontamine olduğu düşünülen sular kullanımdan önce mutlaka kaynatılmalıdır. Ayrıca *Giardia* spp.'nin bulaşmasında mekanik taşıyıcı rollerinden dolayı *Musca domestica* ve *Blattodea* sp. ile mücadele edilmesi de hastalığın korunma ve kontrol yöntemleri arasında önerilmektedir (Güngör, 2021).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırma Sahası ve Örneklerin Toplanması

Çalışmanın materyalini, 2023 yılında Nevşehir yöresinde (Şekil 3.1) farklı yaş ve cinsiyetteki sahipli 100 kedi ve 100 köpekten tekniğine uygun olarak toplanan 200 adet dışkı örneği oluşturmuştur.



Şekil 3.1 Örnekleme yapılan ilin Orta Anadolu Bölgesindeki lokasyonu

Toplanan dışkı örnekleri, steril dışkı kaplarına aktarılmış, hayvanlara ait bilgiler ile birlikte kayıt altına alınmış ve takiben protokol kayıtları yapılmıştır. Örnekler, ilk aşamada -20 °C’de muhafaza edilmiş ve sonrasında örneklerin soğuk zincirde Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na intikalleri

sağlanmıştır. Örnek alınan hayvanların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımları Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1 Dışkı örnekleri alınan kedi ve köpeklerin yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımları

Yaş Grubu	Hayvan Sayısı						Toplam
	Köpek	Cinsiyet		Kedi	Cinsiyet		
		Dişi	Erkek		Dişi	Erkek	
≤1 yaş	37	18	19	23	10	13	60
1-3 yaş	30	14	16	35	15	20	65
>3 yaş	33	20	13	42	18	24	75
Toplam	100	52	48	100	43	57	200

3.2 Dışkı Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu

Dışkı örneklerinden genomik DNA izolasyonları, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda bulunan nükleik asit ekstraksiyon ünitesinde NucleoGene Stool DNA Quick Extraction Kit (NucleoGene, Türkiye) ile üreticinin önerdiği aşağıdaki basamaklar takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

1. Dışkı örneklerinden yaklaşık 220 mg tartılarak steril 2 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine aktarılmış ve tüpler buz üzerine yerleştirilmiştir.
2. Her dışkı örneğine 1 ml Removal Buffer ilave edilerek dışkı örneği tamamen homojenize hale gelene kadar yaklaşık 1 dk süreyle vortekslenmiştir.
3. Süspansiyon 95°C’de 10 dk inkübe edilmiştir. Bu aşamada vorteksleme her bir dakikada bir kez olmak üzere yapılmıştır.
4. Örnekler maksimum hızda (minimum 14.000 x g ve maksimum 20.000 x g’yi aşmadan) 3 dakika santrifüj edilmiştir. Bu sırada yeni bir 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne 20 µl proteinase K konulmuştur.
5. Elde edilen süpernatanttan 200 µl alınarak proteinase K içeren yeni 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.

6. Tüplere 200 µl Lysis Buffer eklenip 15 saniye boyunca vortekslenmiştir.
7. Örnekler 70°C’de 15 dakika inkübe edilmiştir.
8. Tüplere 200 µl saf etanol eklenmiş ve vortekslenmiştir.
9. Vorteks işlemini takiben karışımın 600 µl’si pipet yardımıyla alınarak dikkatlice spin columna aktarılmıştır. Kapak kapatılıp maksimum hızda 1 dakika santrifüjlenmiştir (minimum 14.000 x g ve maksimum 20.000 x g’yi aşmadan).
10. Santrifüj sonunda toplama tüpünde biriken sıvı dökülmüştür. Takiben spin column toplama tüpüne tekrar yerleştirilmiştir.
11. Spin column içerisine 500 µl Wash I buffer eklenmiştir. Maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpündeki sıvı boşaltıldıktan sonra spin column toplama tüpüne tekrar yerleştirilmiştir.
12. Spin column içerisine 600 µl Wash II buffer eklenmiştir. Daha sonra maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilmiştir. Toplama tüpündeki sıvı boşaltılıp spin column toplama tüpüne geri yerleştirilmiştir.
13. Yıkama işlemi sonucu dibe süzülen sıvı kısım uzaklaştırılarak spin columnlar toplama tüpleri içerisine tekrar yerleştirilmiş ve herhangi bir solüsyon eklenmeden boş tüpler maksimum devirde 2 dk santrifüj edilerek yıkama solüsyonları içerisindeki etanolün tamamen giderilmesi sağlanmıştır.
14. Toplama tüpü atılıp her bir örneğe ait spin columnlar 1,5 ml’lik yeni ependorf tüplerine yerleştirilmiş ve üzerlerine 50 µl Elution Buffer ilave edilerek oda ısısında 1 dk bekletilmiştir.
- 15) Tüpler, 14000 g’de 1 dk santrifüj yapılmış ve genomik DNA elde edilmiştir.

Elde edilen genomik DNA ekstraktlarından alınan örnekler Qubit® 3.0 Fluorometric Quantitation (Life Technologies) cihazında işlenerek DNA izolasyon etkinliği ve total

genomik DNA miktarları (ng/μl) belirlenmiştir. Örneklerle ait gDNA'lar kullanılabilecek kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.3 β-giardin Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

Alınan dışkı numunelerinden elde edilen genomik DNA izolatları, *G. duodenalis*'in β-giardin (bg) gen bölgesini amplifiye eden spesifik primerlerle (Tablo 3.2) Nested PCR analizine tabi tutulmuştur.

Tablo 3.2. β-giardin gen bölgesinin Nested PCR analizlerinde kullanılan primerler

	Primer İsmi	Primer Dizilimi (5' - 3')	Kaynak
1. PCR	G7	AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGTGC	Cacciò ve ark. (2002)
	G759	GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC	
2. PCR	2005F	GAACGAACGAGATCGAGGTCCG	Lalle ve ark. (2005)
	2005R	CTCGACGAGCTTCGTGTT	

Reaksiyon karışımı 25 μl final konsantrasyonda; 12,5 μl ticari Master Mix (DreamTaq™ Hot Start Green PCR Master Mix, Thermo Scientific, USA), 1,3 μl her bir primer (10 μM konsantrasyon), 7,9 μl steril ddH₂O ve 2 μl template DNA (10-20 ng/μl) içerecek şekilde hazırlanmıştır. 2. PCR'da ilk reaksiyon ürününden 1 μl ampikon kullanılmış ve steril ddH₂O miktarı 8,9 μl olarak ayarlanmıştır. Steril kabin içerisinde hazırlanan PCR reaksiyon karışımı DNase ve RNase free 0,2 ml'lik PCR tüpleri içerisine eşit hacimde dağıtılmış ve tüpler, C1000 Touch thermalcycler cihazına (BioRad) yerleştirilerek amplifikasyona tabi tutulmuştur.

β-giardin gen bölgesinin amplifikasyonu için gerekli nested PCR şartları aşağıda verilmiştir:

1. PCR:

1. 95 °C’de 3 dk 1 siklus
 2. 95 °C’de 1 dk
 3. 65 °C’de 30 s
 4. 72 °C 1 dk
- } 35 siklus
5. 72 °C 10 dk 1 siklus

2. PCR:

1. 95 °C’de 3 dk 1 siklus
 2. 95 °C’de 1 dk
 3. 55 °C’de 30 s
 4. 72 °C 1 dk
- } 35 siklus
5. 72 °C 10 dk 1 siklus

PCR analizlerinin geçerliliğinin ve herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığının test edilmesi amacıyla her analizde pozitif kontrol olarak Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında muhafaza edilen referans *G. duodenalis* genomik DNA’sı ile negatif kontrol olarak sterilize edilmiş ddH₂O kullanılmıştır.

3.4 PCR Ürünlerinin Elektrophorezi

PCR ile amplifikasyon sonucu elde edilen ampikonların görüntülenmesi amacıyla yatay elektrophorez tankı (BioRad) kullanılmıştır. Toplam hacim 1 lt olacak şekilde; 980 ml deiyonize su üzerine 20 ml 50X TAE (Tris-acetate-EDTA) buffer eklenerek elde edilen solüsyon, hem jel hazırlanmasında hem de elektrophorez tankının içerisinde doldurulmasında kullanılmıştır. Ürünlerin görüntülenmesinde %1,5’luk agaroz jel hazırlanmıştır. Jelin fazla kalın olmaması için 500 ml’lik bir beher içerisinde toplam

hacim 100 ml olacak şekilde; 1,5 mg agaroz tartılarak üzerine 100 ml 1X TAE ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım, agaroz, sıvı içerisinde tamamen eriyene kadar ısıtılmıştır. Karışımın buharlaşmasını engellemek amacıyla beherin ağzı alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Karışım hazır hale geldiğinde biraz soğumaya bırakıldıktan sonra üzerine 5 µl SafeView™ (Applied Biological Materials, Richmond, BC, Canada) ilave edilmiş ve sıvı içerisine tamamen dağılması için yavaş bir şekilde bilek hareketleriyle solüsyon karıştırılmıştır. Tamamen hazır hale gelen solüsyon jel tablasına dökülmüş ve incelenecek örnek sayısına göre taraklar yerleştirilmiştir. Jel tamamen soğuduğunda jel tablası ile birlikte elektroforez tankına yerleştirilmiş ve 1X TAE solüsyonu ile dolu tankın içerisinde taraklar yavaşça çıkarılmıştır. Elden edilen nested PCR ürünlerinin her birinden 5 µl alınıp jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. Yüklenen örnekler; sabit akımda, 110 V'da 40 dakika süreyle yürütülmüştür. Süre sonunda örnekler, iBRIGHT™ CL1500 Jel Görüntüleme Sisteminde (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) görüntülenip analiz edilmiştir.

3.5 β-giardin Gen Bölgesinin Sekans Analizleri

Nested PCR analizleri ile pozitif belirlenen örneklerde *G. duodenalis* nesillerinin genotip/alttiplerinin ortaya çıkarılması amacıyla amplifikasyon ürünleri sekans analizleri öncesinde ticari kit (High Pure PCR Product Purification Kit, Roche) kullanılarak pürifiye edilmiştir. Sekans analizleri 2. PCR analizlerinde kullanılan gen spesifik forward ve reverse primer dizileri ile çift yönlü olarak gerçekleştirilmiştir (Macrogen Europe). Çift yönlü DNA dizisi belirlenen izolatlara ait kromatogramlar Quality (Phred) skorlarına göre dikkatlice analiz edildikten sonra Geneious Prime (<https://www.geneious.com>) yazılımında *de novo* assembly ile forward ve reverse dizilimler işlenmiş ve kalite skoru yüksek olan consensus dizilim belirlenmiştir. Böylece β-giardin gen bölgesi için 511 bp uzunluğundaki hedef bölge sekansları sağlanarak izolatlar için final dizilimler elde edilmiştir.

3.5.1 Genotiplendirme ve Filogenetik Analizler

Çalışmada elde edilen izolatlara ait 511 bp uzunluğundaki nükleotid dizilimleri, GenBank BLASTn analizleri (Altschul ve ark., 1990) ile GenBank'ta kayıtlı tüm *G.*

duodenalis genotiplerine ait nükleotid sekansları çoklu hizalamaları yapılarak kıyaslanmış ve moleküler karakterizasyonları yapılmıştır. Takiben karakterize edilen sekansların GenBank kayıtları gerçekleştirilmiştir. *Giardia duodenalis* genotipleri arasındaki genetik farklılıklar Geneious Prime yazılımı kullanılarak belirlenmiştir. *Giardia duodenalis* genotiplerine ait nesillerin filogenetik yapılanmaları Maximum Likelihood (ML) analizleri ile belirlenmiştir. Bu kapsamda öncelikle GenBank veri tabanında kayıtlı çeşitli genogruplara ait izolatların bg gen bölgesi dizilimleri ile veri seti oluşturulmuştur. ML analizlerinde sekans evrimi için en uygun substitution modelin belirlenmesinde jModelTest v.0.1.1 (Posada, 2008) kullanılmış ve en düşük AIC (Akaike Information Criterion) değerine sahip belirlenen modeller filogenetik ağaçların oluşturulmasında tercih edilmiştir. ML analizleri MEGA X (Kumar ve ark., 2018) yazılımı üzerinden gerçekleştirilmiştir. ML analizleriyle oluşturulan ağaçların güvenilirliğinin tespit edilmesinde 1000 tekrarlı Bootstrap testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

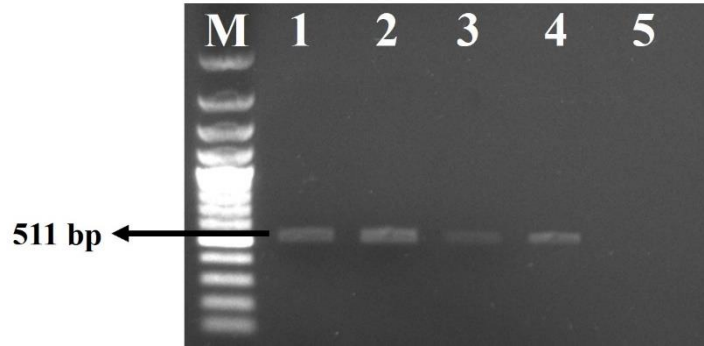
4.1 *Giardia duodenalis*'in Moleküler Prevalansı

Farklı yaş grupları ve cinsiyetten olan 100 sahipli kedi ve 100 köpeğe ait dışkı örneklerinden elde edilen toplam 200 gDNA izolatının ikisi kedi ve biri köpek olmak üzere 3'ü (%1,5) PCR analizleri sonucu *G. duodenalis* DNA'sı yönünden pozitif belirlenmiştir (Tablo 4.1). Nested PCR analizleri ile pozitif belirlenen bazı izolatların agaroz jel üzerinde görünüşleri Şekil 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 İncelenen kedi ve köpek dışkı örneklerinde *G. duodenalis* pozitifliğinin cinsiyet ve yaş gruplarına göre dağılımı

	İncelenen Örnek Sayısı		Pozitif Örnek Sayısı		Toplam
	Köpek	Kedi	Köpek	Kedi	
Cinsiyet					
Dişi	52	43	1	-	1
Erkek	48	57	-	2	2
Yaş grubu					
< 1	37	23	-	-	-
1-3	30	35	1	1	2
>3	33	42	-	1	1
Toplam	100	100	1	2	3

Tablo 4.1'de görüleceği üzere *G. duodenalis* pozitifliği sahipli kedilerde, köpeklere kıyasla daha yüksek oranda gözlenmiştir. Bunun yanında erkeklerde ve 1-3 yaş aralığında bulunan hayvanlarda dişilere ve diğer yaş gruplarına kıyasla daha fazla sayıda pozitiflik tespit edilmiştir.



Şekil 4.1 Nested PCR sonucu elde edilen amplikonların jel elektroforezde görünümü
M: 100 bp Marker, 1-3: Pozitif örnekler, 4: Pozitif kontrol, 5: Negatif kontrol

4.2 β -giardin Gen Bölgesinin Sekans Analizi Sonuçları

Nested PCR analizleri ile pozitif belirlenen 3 izolatın tamamı sekans analizlerine tabi tutulmuştur. İlgili izolatların amplikonları jel pürifikasyon işlemlerinden sonra 2. PCR primerleri 2005F ve 2005R ile sekanslanmış ve sonrasında kalite skoru yüksek ($Q>20$) kromotogramlar elde edilmiştir. Forward ve reverse dizilimlerin *de novo* analizleri ile contiglenmesi sonucu izolatlara ait yüksek kalitede consensus dizilim sağlanmıştır. Sekans analizleriyle belirlenen izolatların nükleotid dizilimleri çoklu hizalama analizleriyle birlikte Şekil 4.2’de verilmiştir.

	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
CB31, beta giar...	GAACGAGATCGAGGTCCGCCGCGTCGACGACGACGCGGTCAAGATGATCAAGGACGCCATCGCCACCTGGACAGGCTCATCCAGACGAGTCGAGGAAG										
	assemblage C source Giardia intestinalis										
CB50, beta giar...	GAACGAGATCGAGGTCCGCCGCGTCGACGACGACGCGGTGAAGATGATCAAGGACGCCATCGCCACCTTGACAGACTCATCCAGACAGAGTCGAGGAAG										
	assemblage B source Giardia intestinalis										
DB4, beta giardi...	GAACGAGATCGAGGTCCGCCGCGTCGACGAGACGACGCGTGAAGATGATCAAGGAGCCATCGCCACCTTGACAGGCTCATTCAGACGAGTCGAGGAAG										
	assemblage D source Giardia intestinalis										
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
CB31, beta giar...	CGCCAGGGCTCGTTGAGGACATCCGCGAGGAGGTCAAGAAGTCCGCCGACAACATGTACCTGACGATCAAGGAGGAATCGACACCATGGCCGCAACTTCC										
	assemblage C source Giardia intestinalis										
CB50, beta giar...	CGCCAGGCTCGTTGAGGACATCCGCGAGGAAGTCAAGAAGTCCGCCGACAACATGTACCTGACGATCAAGGAGGAGATCGACACCATGGCCGCAACTTCC										
	assemblage B source Giardia intestinalis										
DB4, beta giardi...	CGCCAGAGCTCTTCGAGGACATCCGCGAGGAGGTAAAGAAGTCCGCCGACAACATGTACTGACGATCAAGGAGGAGATGACACATGGCCGCAACTTCC										
	assemblage D source Giardia intestinalis										
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300	
CB31, beta giar...	GCAAGTCCCTTGCGAGATGGGCGAGACCTCAACAACGTCGAGACAAACCTCCAGAACCAGATCGCCATCCACAACGACGCCATCGCGCCCTCAGGAAGGA										
	assemblage C source Giardia intestinalis										
CB50, beta giar...	GCAAGTCTCTTGCGAGATGGGCGAGACGCTCAACAACGTCGAGACGAACCTCCAGAACCAGATCGCCATCCACAACGACGCCATCGCAGCCCTAGGAAGGA										
	assemblage B source Giardia intestinalis										
DB4, beta giardi...	GCAAGTCCCTCGCAGAGATGGGCGAGACGCTCAACAACGTCGAGACAAACCTCCAGAACCAGATCGCCATCCACAACGACGCCATCGCAGCCTCAGGAAGGA										
	assemblage D source Giardia intestinalis										
	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	410
CB31, beta giar...	GGCCCTCAAGAGCCTGAACGACCTCGAGACCGGCATCGCCACGGAGAACGCCGAGAGGAAGAAGATGTACGACCAGCTCAACGAGAAGGTCGAGAGGGATTTC										
	assemblage C source Giardia intestinalis										
CB50, beta giar...	GGCCCTCAAGAGCCTGAACGACCTCGAGACGGGCATCGCCACGGAGAACGCCGAGAGGAAGAAGATGTACGACCAGCTCAACGAGAAGGTCGAGAGGGATTTC										
	assemblage B source Giardia intestinalis										
DB4, beta giardi...	GGCCCTCAAGAGCCTGAACGACCTGAGACCGGCATCGCCACGGAGAACGCCGAGAGGAAGAAGATGTACGACCAGCTCAACGAGAAGGTCGAGAGGGATTTC										
	assemblage D source Giardia intestinalis										
	420	430	440	450	460	470	480	490	500	511	
CB31, beta giar...	GCCCGCATCTCCGCGCCATCGAGAAGGAGACGATCGCCCGCAGAGGGCCGTACGCGCAGCCACGACGAGGCTCACAAACACGAAGCTCGTCGAG										
	assemblage C source Giardia intestinalis										
CB50, beta giar...	GCCCGCATCTCCGCTGCCATCGAGAAGGAGACGATCGCCCGCAGAGGGCCGTACGCGCGCCACGACAGAGGCTCACAAACACGAAGCTCGTCGAG										
	assemblage B source Giardia intestinalis										
DB4, beta giardi...	GCCCGCATCTCCGCTGCCATCGAGAAGGAGACGATCGCCCGCAGAGAGCCGTCAGCGCAGCCACACACAGAGGCTCACAAACACGAAGCTCGTCGAG										
	assemblage D source Giardia intestinalis										

Şekil 4.2 Elde edilen izolatlara ait β -giardin gen bölgesi nükleotid dizilimlerinin çoklu hizalamaları

Şekil 4.2'deki nükleotid farklılıklarından da görüldüğü üzere sekanslanan izolatların üç farklı genotip olarak gruplandığı tespit edilmiştir. Bu izolatlar, oluşturulan protokol numaraları kapsamında CB31 (kedi), CB50 (kedi) ve DB4 (köpek) olarak isimlendirilmişlerdir. CB31 izolatının CB50 ve DB4 izolatlarına sırasıyla %94,91 ve %93,93 oranlarında, CB50 izolatının ise DB4 izolatına %92,95 oranında genetik benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. CB31, CB50 ve DB4'ün GenBank BLASTn analizleri (Altschul ve ark., 1990) ile yüksek genetik benzerlik gösterdikleri kayıtlı izolatlara göre yapılan genotiplendirmeleri sonucunda 2 yaşındaki erkek kedi dışkısından izole edilen CB31'in Assemblage C'de yer aldığı belirlenirken 5,5 yaşındaki erkek bir kedi dışkısından elde edilen CB50'nin ise zoonotik Assemblage B'de bulunduğu tespit edilmiştir. 1,5 yaşındaki dişi bir köpek dışkısından izole edilen DB4'te yine aynı analizlere tabi tutulmuş ve bu genotipin Assemblage D'de yer aldığı görülmüştür. Genotiplendirmesi yapılan izolatlar, PQ514072 (CB31), PQ514073 (CB50) ve PQ514074 (DB4) aksesyon numaraları ile GenBank veri tabanına kaydedilmiştir.

β -giardin gen bölgesine göre belirlenen genotiplerin nükleotid kompozisyonları Tablo 4.2'de verilmiştir. Saptanan izolatların yüksek GC baz içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir.

Tablo 4.2 β -giardin gen bölgesine göre karakterize edilen izolatların nükleotid kompozisyonları

İzolat	T(%)	C(%)	A(%)	G(%)	A+T(%)	G+C(%)	Toplam Baz
CB31	10,8	32,5	27,2	29,5	38,0	62,0	511
CB50	12,1	31,1	28,0	28,8	40,1	59,9	511
DB4	13,7	28,8	29,0	28,6	42,7	57,3	511

4.3 Filogenetik Analiz Sonuçları

Türlere ait haplotiplerin filogenetik yapılanmaları Maximum Likelihood (ML) analizleri ile belirlenmiştir.

Filogenetik analizler için oluşturulan β -giardin gen bölgesi veri setine çalışmadan elde edilen Assemblage C, B ve D’de yer alan sırasıyla CB31 CB50 ve DB4 izolatlarıyla birlikte GenBank’ta mevcut olan farklı Assemblage’lerde yer alan toplam 46 izolat dahil edilmiştir. Oluşturulan veri seti ile ilgili bilgiler Tablo 4.3’te verilmiştir.

Tablo 4.3 *Giardia duodenalis* β -giardin gen bölgesi filogenetik analizler için oluşturulan veri seti

Assemblage	GenBank Aksesyon No	Konak	Ülke
A	LC341569	Kedi	Japonya
	MK370927	At	Türkiye
	KR075938	Koyun	Çin
	AY545645	İnsan	İtalya
	MN276324	Sığır	Türkiye
	AY545649	Köpek	İtalya
	KR051224	Kaplumbağa	Çin
B	MH648142	Kedi	Türkiye
	AY647266	Sığır	İtalya
	MF169196	At	Çin
	KM190821	Köpek	Kanada
	KJ888980	Halka kuyruklu lemur	Çin
	AB618785	İnsan	Japonya
	EU626199	Thomson ceylanı	Polonya
	EU637579	İnsan	İtalya
	FJ009207	İnsan,	Polonya
	FJ009209	Küçük karıncayiyen	Polonya
	EU637581	Maymun	İtalya
	PQ514073*	Kedi	Türkiye
C	FJ009206	Köpek	Polonya
	JF422718	Köpek	Brezilya
	PQ514072*	Kedi	Türkiye
	JN416552	Köpek	Hırvatistan

	LC437428	Köpek	Japonya
	PP918967	Köpek	Türkiye
	MT713340	Köpek	ABD
	OP839119	Kedi	Çin
D	AY545647	Köpek	İtalya
	FJ009205	Köpek	Polonya
	HQ538708	Rakun köpeği	Polonya
	JN416551	Köpek	Hırvatistan
	KY979503	Köpek	Çin
	LC437453	Köpek	Japonya
	MG873354	Panda	Çin
	OQ818106	İber kurdu	Portekiz
	OR353408	Tilki	Çin
	PQ514074*	Köpek	Türkiye
E	AY653159	Sığır	İtalya
	EU189375	Keçi	İspanya
	GQ337972	Koyun	Norveç
	MN276322	Sığır	Türkiye
F	AY647264	Kedi	İtalya
	JX275388	Kedi	Çin
	KJ027424	Kedi	Çin
G	EU769221	Kahverengi sıçan	İsveç
	MF671919	Çizgili sincap	Çin

*Çalışmadan elde edilen izolatlara ait GenBank aksesyon numaraları

Filogenetik analize dahil edilen izolatların identiklikleri heatmap olarak Şekil 4.3'te verilmiştir. *Giardia duodenalis* izolatlarının ML filogenisi ve Tamura-Nei (GTR+G+I) modeli ile midpoint temelli oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 4.4'te verilmiştir.

Şekil 4.3 Filogenetik analize dahil edilen *G. duodenalis* izolatlarının identikliklerinin heatmap gösterimi



Şekil 4.4 *Giardia duodenalis* izolatlarının β -giardin gen bölgesi Maximum Likelihood (ML) analizine göre filogenetik ilişkileri. Çalışmada belirlenen izolat isimlerinin başına siyah kare işareti konmuştur. Node'ların önündeki rakamlar ML olasılığını göstermektedir. Ölçek çizgisi yerleşim yeri başına nükleotid değişimini göstermektedir

Şekil 4.4'te görüldüğü üzere analize dahil edilen tüm izolatlar assemblage bazında monofiletik yapıda bir kümelenme göstermiş ve filogenetik çözünürlük genotipler temelinde yüksek bootstrap oranları ile desteklenmiştir. Assemblage A, E, F ve G'de yer alan izolatlar, birbirine yakın kardeş kladlar (cladeler) oluştururken Assemblage B'nin bu assemblageler ile aynı düğüm (node) ile temsil edildiği fakat uzak bir klad oluşturduğu görülmektedir. Bunun yanında Assemblage C ve D ise söz konusu assemblagelelerden farklı bir düğüm ile temsil edildiği ve birbirine yakın kardeş kladlar oluşturdukları görülmektedir.

Çalışmada kedi dışkısından izole edilen CB31'in filogenetik ağaçta (Şekil 4.4) Assemblage C'de yer alan izolatlarla birlikte kümelendiği ve Hırvatistan (JN416552), Japonya (LC437428) ve Türkiye (PP918967)'de bulunan köpeklerin dışkılarından elde edilen *G. duodenalis* izolatlarıyla %100 identiklik gösterdiği belirlenmiştir. Öte yandan çalışmada yine kedi dışkısından izole edilen CB50'nin ise filogenetik ağaçta Assemblage B'de yer alan izolatlarla birlikte kümelendiği ve Japonya (AB618785), Polonya (EU626199, FJ009207, FJ009209) ve İtalya (EU637579)'dan insan, Thomson ceylanı ve küçük karıncayıyen ile %100'lük bir genetik benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada köpek dışkısından izole edilen DB4'ün de filogenetik ağaçta Assemblage D'de yer alan izolatlarla birlikte kümelendiği ve en yüksek genetik benzerliği %99,80 ile Çin (KY979503) ve Japonya (LC437453)'da köpek dışkılarından izole edilerek kaydedilen *G. duodenalis* izolatlarıyla gösterdiği belirlenmiştir.

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Giardiasise karşı etkin bir korunma ve kontrol stratejisi oluşturulması için öncelikle enfeksiyonun ekolojisi ve epidemiyolojisi hakkında yeterli ve doğru bilgi birikimine sahip olmak gerekmektedir (Pallant ve ark., 2015). Giardiasisin ekolojisi ve epidemiyolojisi tüm Dünya’da olduğu gibi Türkiye’de çeşitli çalışmalar ile araştırılmıştır. Bu araştırmaların çeşitli konaklar temelinde özellikle zoonotik *Giardia duodenalis*’in neden olduğu enfeksiyonlar üzerine odaklanılarak gerçekleştirildiği dikkati çekmektedir.

Giardia duodenalis, Dünya genelinde 40’tan fazla memeli hayvan türünde görülen ve yıllık ortalama 280 milyon insanda semptomatik enfeksiyona neden olan zoonotik karakterli önemli bir protozoon türüdür (Lane ve Lloyd, 2002; Monis ve ark., 2009; Upcroft ve Upcroft, 1998). Bu nedenle de *G. duodenalis* kaynaklı enfeksiyonlar, global bir öneme sahiptir (Feng ve Xiao, 2011; Weese ve Fulford, 2011). Yaygınlığı, farklı popülasyon ve coğrafyalarda önemli ölçüde değişkenlik gösteren *G. duodenalis*, halihazırda farklı konaklar temelinde gelişmekte olan ülkelerin yanında gelişmiş ülkelerin de problemi olmaya devam etmektedir (Feng ve Xiao, 2011). Ancak düşük ve orta gelirli ülkelerdeki enfeksiyon oranlarının, yüksek gelirli ülkelerdekine kıyasla çok daha fazla olduğu bildirilmiştir (Feng ve Xiao, 2011).

Türkiye’de giardiasis üzerine farklı konaklar temelinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu kapsamda *G. duodenalis*’in insanlarda prevalansının bölgelere göre %0,8-54,8 arasında değiştiği bildirilmiştir (Ak ve ark., 2007). Hayvanlar üzerinde yürütülen araştırmalarda ise giardiasis prevalans oranlarının oldukça değişken olduğu dikkati çekmiştir. Nitekim bu oranlar sığırlar için %3,7-21,81 (Değerli ve ark., 2005; Gultekin ve ark., 2017a; Sayın İpek ve Sarı, 2024), kuzularda %8,3-43,37 (Aslan elik ve ark.,

2023; Kiziltepe ve Ayvazoğlu, 2022; Sayın İpek ve Sarı, 2024), köpeklerde %2-%35,2 (Gultekin ve ark., 2017b; Sarı ve Onmaz, 2011; Yılmaz ve ark., 2017), kedilerde %4-38,6 (Burgu ve ark., 1985; Onder ve ark., 2021; Sursal ve ark., 2020) olarak bildirilmiştir. Bunun yanında Türkiye’de farklı su kaynaklarında da *Giardia* kistlerinin varlığı rapor edilmiştir (Berberoğlu ve Güngör, 2013; Karaman ve ark., 2017a; Karaman ve ark., 2017b; Koloren ve ark., 2016; Koloren ve Karaman, 2017). Dolayısıyla Türkiye’de *G. duodenalis*’in insanların yanında evcil ve yabani hayvanlarda ve hatta su kaynaklarında da yaygın olarak bulunduğu dikkati çekmektedir.

Kediler ve köpekler gibi evcil hayvanlarda *G. duodenalis* enfeksiyonlarının tespiti, mevcut zoonotik risk nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Özellikle yavru kedi ve köpekler, giardiasis olgularında sık rastlanılan ishal gibi klinik semptomlar göstermese de rezervuar konaklar olarak parazitin kist formlarını çevrelerine yayabilmekte ve etkenin farklı konaklara bulaşmasında rol oynayabilmektedirler. Yetişkin kedi ve köpeklerde enfeksiyon riski, gençlere kıyasla daha düşük olabilmekle birlikte yine bu hayvanlar da rezervuar konak olarak parazitin bulaşma ve yayılmasında görev alabilmektedir. Bu nedenle, insanlarla yakın temasta olan ve hatta evde beslenen hayvanlara başta *G. duodenalis* olmak üzere zoonotik patojenlerin tespiti için tarama testlerinin düzenli olarak uygulanması büyük önem arz etmektedir (Barutzki ve Schaper, 2011).

Kedi ve köpeklerde *G. duodenalis* enfeksiyonlarının tanı ve teşhisi farklı hassasiyet seviyelerine sahip yöntemlerle yapılabilmektedir (Ballweber ve ark., 2010; Rishniw ve ark., 2010). Geçmişte, köpeklerde ve kedilerde *G. duodenalis* enfeksiyonlarının tanısı, çoğunlukla patojenin trofozoit veya kist formlarının mikroskopik yöntemlerle tespiti sonucu konulmuştur (Bowman, 2014). Bu tanıda özellikle merthiolate-iodine-formalin konsantrasyon tekniği, sodium acetate formaldehyde tekniği, çinko sülfat flotasyon tekniği gibi çeşitli teknikler kullanılmış ve böylece mikroskopik inceleme yönteminin hassasiyeti artırılmaya çalışılmıştır (Barutzki ve Schaper, 2003; Barutzki ve Schaper, 2013; Geurden ve ark., 2008; Rishniw ve ark., 2010). Bu kapsamda zenginleştirme yöntemlerinin de dahil edilmesiyle birlikte mikroskopik inceleme teknikleri, ucuz ve hızlı olmaları sebebiyle *G. duodenalis*’in teşhisinde oldukça sık bir şekilde kullanılmaya

başlanmıştır. Ancak takip eden çalışmalarda, yeni tanı yöntemlerinin de kullanılmasıyla birlikte mikroskopik tanının doğruluğunun bu yeni yöntemlere kıyasla daha sınırlı olduğu bildirilmiştir (Barr ve Bowman, 1994; Kirkpatrick ve Farrell, 1984; Zimmer ve Burrington, 1986). Nitekim ishalleri dışkı örneklerinde trofozoitlerin seyrek bulunması, kistlerin tanısında deneyimli kişilere ihtiyaç duyulması gibi dezavantajlar bu duruma zemin oluşturmuştur (Barr ve Bowman, 1994; Kirkpatrick ve Farrell, 1984; Zimmer ve Burrington, 1986). Takiben teknolojiye gelişmelerle birlikte *G. duodenalis* tanısında kullanılmaya başlayan doğrudan Immun Floresan Antikor (IFA) testlerinin konvansiyonel flotasyon testlerine göre (mikroskopik inceleme) daha hassas ve spesifik olduğu bildirilmiştir (Alles ve ark., 1995; Geurden ve ark., 2008). Bunun yanında *G. duodenalis*'in tanısının indirekt serolojik tanı yöntemleri arasında ön plana çıkan koproantijen ELISA ve immünokromatografik analiz (SNAP) ile de gerçekleştirilebildiği kaydedilmiştir (Carlin ve ark., 2006; Costa ve ark., 2016; Zimmerman ve Needham, 1995). Ancak, *Giardia* antijen pozitifliğinin hayvanın tedavisinden sonra ne kadar süre devam ettiğinin tam olarak bilinmemesi ve antikor çapraz reaksiyonların görülebilmesi nedeniyle söz konusu teşhis yöntemlerinde hassasiyetin azalabileceği ve yanlış pozitifliklerin elde edilebileceği de bildirilmiştir (Koehler ve ark., 2014; Soares ve Tasca, 2016).

Konvansiyonel ve serolojik yöntemler, *Giardia* soyunda yer alan farklı tür veya grupları (Assemblage) ayırt etmek için efektif bir şekilde kullanılamamaktadır (Koehler ve ark., 2014). Bu nedenle incelenen örneklerde parazitin yüksek hassasiyet ve özgünlükle teşhis edilebilmesi ve genetik varyasyonların belirlenmesi amacıyla nükleik asit tabanlı yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (Koehler ve ark., 2014). Bu yöntemlerin bazıları *Giardia* kistlerinin genomundaki belirli genetik lokuslara problemlerin *in situ* hibridizasyonu temelinde çalışmakla birlikte, çoğu teknik, PCR temelli olarak az miktardaki genomik DNA'dan bir veya daha fazla lokusun spesifik amplifikasyonu kapsamında kullanılmaktadır. Bu noktada özellikle PCR tekniğinin uygulanması, *G. duodenalis*'in sistematigi, biyolojisi, epidemiyolojisi, ekolojisi ve popülasyon genetiği hakkında bilgi ve farkındalığın artmasına katkı sağlamış ve böylece giardiasisin önlenmesi ve kontrolü için yeni stratejiler geliştirilmesinde büyük rol oynamıştır

(Ankarklev ve ark., 2010; Cacciò ve ark., 2010; Cooper ve ark., 2007; Feng ve Xiao, 2011; Kutz ve Thompson, 2009; Thompson ve Monis, 2012). Ayrıca yapılan çalışmalar sonucu PCR gibi nükleik asit tabanlı yöntemlerin *G. duodenalis*'in teşhisinde yüksek hassasiyet (%58-92) ve özgünlük (%56-100) gösterdikleri de kaydedilmiştir (Hooshyar ve ark., 2019).

Çalışmamız insanlarla yakın temasta olan, özellikle insanların evlerinde besledikleri kedi ve köpekler üzerine kurgulanmış ve söz konusu hayvanların halk sağlığı yönünden risk potansiyelleri taşıyıp taşımadığı zoonoz *G. duodenalis*'in varlığı temelinde araştırılmıştır. Bu kapsamda teşhis yöntemi olarak hem yüksek hassasiyet ve özgünlüğe sahip olması hem de zoonotik karakterli genotiplerin belirlenebilmesi amacıyla nükleik asit temelli yöntemler içerisinde PCR yöntemi kullanılmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde *G. duodenalis* varlığının PCR ile araştırıldığı farklı ülkelerdeki çalışmalar incelendiğinde sahipli köpeklerde prevalans değerlerinin Brezilya'da %5-70, Kamboçya'da %2, Çin'de %5-26, İtalya'da %31, İspanya'da %29, Yunanistan'da %12,9, Almanya'da %42, Polonya'da %6 oranlarında seyrettiği, sahipli kedilerde ise bu değerlerin Birleşik Krallık'ta %21, İtalya'da %6-8, İspanya'da %5,9, Almanya'da %14, Yunanistan'da %15,6, Polonya'da %3,9 oranlarında ülkeler bazında değişkenlik gösterdiği görülmektedir (Bouazid ve ark., 2015; Piekara-Stępińska ve ark., 2021). Türkiye'de ise sahipli kediler üzerinde yürütülen ve teşhis metodu olarak PCR yönteminin kullanıldığı çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmüştür. Bu kapsamda Sursal ve ark. (2020) kedilerde *G. duodenalis*'in moleküler yöntemlerle teşhisi noktasında ilk çalışmayı gerçekleştirmişler ve moleküler prevalansı %29,4 olarak bildirmişlerdir. Takiben Önder ve ark. (2021) Kayseri ve Samsun yörelerinde 100 kedide *G. duodenalis*'in varlığını moleküler yöntemleri kullanarak araştırdıkları çalışmalarında 8 (%8) kedide pozitiflik tespit etmişlerdir. Aslan Çelik (2022) ve Aslan Çelik ve ark. (2023)'ün sırasıyla Mardin ve Siirt yörelerindeki kedilerde yaptıkları çalışmalarda %16,6 ve %2,5 prevalans oranlarında *G. duodenalis* pozitifliği saptamışlardır. Bunun yanında yapılan literatür taramalarına göre Türkiye'de sadece sahipli köpekler üzerinde yürütülen moleküler çalışma bulunmadığı görülmekle birlikte Gultekin ve ark. (2017b)'nin Aydın yöresinde sahipli köpeklerin yanında barınak

köpeklerini dahil ettikleri moleküler çalışmalarında *G. duodenalis* pozitifliğini %18,8 olarak bildirdikleri görülmüştür. Öte yandan Aslan Çelik ve ark. (2023) Diyarbakır yöresinde barınak köpekleri üzerinde yürüttükleri çalışmalarında bu oranı %4 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda farklı yaş ve cinsiyette 100 kedi ve 100 köpek olmak üzere toplam 200 sahipli hayvandan tekniğine uygun bir şekilde alınan dışkı örnekleri, genomik DNA izolasyonunu takiben nested PCR yöntemi ile *G. dudodenalis* varlığı yönünden taranmıştır. PCR analizleri sonucunda ikisi kedi (%2) ve biri köpek (%1) olmak üzere toplam 3 (%1,5) hayvanda *G. duodenalis* DNA'sı saptanmıştır. Bu kapsamda çalışmamızda sahipli kedi ve köpeklerde *G. dudodenalis* prevalansının yukarıda bahsedilen Dünya ve Türkiye'deki sahipli kedi ve köpekler üzerinde gerçekleştirilen moleküler çalışmalardan bildirilen prevalans oranlarına kıyasla daha düşük olduğu dikkati çekmiştir. Bu durumun dışkı örneği alınan kedi ve köpeklerin evde bakım şartlarının barınak veya sokak şartlarına göre oldukça yüksek kalitede olması ve dolayısıyla hayvanların *Giardia* kistleri ile kontamine olmuş besin ve su kaynaklarından uzak olmaları, hijyen, dışkı kontrolü ve genel bakım besleme koşullarının diğer çalışmalarda örneklenen hayvanlara göre daha yüksek derece sağlanması neticesinde gerçekleşebileceğinin yanında örneklem sayısı, coğrafik bölge koşulları ve iklimsel özelliklere de bağlı olabileceği düşünülmüştür. Öte yandan çalışmamızda *G. duodenalis* prevalansının düşük olması nedeniyle örneklenen kedi ve köpeklerin yaş ve cinsiyetleri temelinde herhangi bir istatistiki analiz ve değerlendirme yapılamamıştır.

Giardia duodenalis'in genotip ve alt genotiplerinin saptanması ve moleküler karakterizasyonu enfeksiyonun epidemiyolojisi, surveyans, korunma ve kontrolde oldukça önem arz etmektedir. *Giardia duodenalis*'in genotiplendirilmesi için sık kullanılan genler β -giardin, triose phosphate isomerase, glutamate dehydrogenase ve küçük alt ünite ribozomal RNA (ssu-rRNA) genleridir (Ryan ve Caccio, 2013). Tüm bu gen bölgelerine ait sekansların tek başına veya birlikte (multilocus sequence typing–MLST) kullanılması neticesinde *G. duodenalis*'in genotip ve alt genotipleri üzerine veriler sağlanmıştır. *Giardia duodenalis*'in hem konak spesifik genotipleri (C-H) hem de belirli bir konakla sınırlı olmayan genotiplerinin (A ve B) varlığı, ilgili genlerin

sekans analizleriyle ortaya konmuştur (Cai ve ark., 2021). Çalışmamızda *G. duodenalis*'in genotiplendirilmesinde en sık kullanılan genlerden biri olan β -giardin geni amplifiye edilmiş ve böylece elde edilen izolatların genotipleri hakkında veriler sağlanarak GenBank'a kayıtları gerçekleştirilmiştir.

Köpeklerde, Assemblage C ve D en yaygın görülen genotip grupları olarak bildirilmekle birlikte, zoonotik Assemblage A'da köpeklerde yine yaygın görülen bir grup olarak belirtilmektedir (Cai ve ark., 2021). Assemblage A ve canin-spesifik assemblagelerin (C ve D) dağılımı göz önüne alındığında köpeklerde *G. duodenalis*'in bulaşmasının iki farklı yol ile olabileceği varsayılmaktadır (Feng ve Xiao, 2011). Bunların ilki Assemblage C ve D temelinde, kötü hijyen şartlarına sahip, kalabalık barınaklar veya yaşam alanlarında köpekten köpeğe bulaşma şeklidir (Feng ve Xiao, 2011). Diğer bulaşma şekli ise zoonotik Assemblage A temelinde sahipli köpekler ve insanlar arasında gerçekleşen bulaşma durumu olarak belirtilmektedir (Feng ve Xiao, 2011). Nitekim Thompson ve ark. (2008) çalışmalarında aynı evi paylaşan insan ve köpeklerden izole ettikleri *G. duodenalis* izolatlarının genetik olarak identik oldukları bildirmişlerdir. Araştırmacılar (Thompson ve ark., 2008), elde ettikleri bu verilerle *G. duodenalis*'in hem köpekten insanlara hem de insanlardan köpeklere bulaşabildiğini kaydetmişlerdir. Assemblage B köpeklerde çoğunlukla sporadik olarak bildirilmesine rağmen (Feng ve Xiao 2011) İspanya'da yapılan bir çalışmada (Gil ve ark., 2017), Assemblage B'nin köpeklerdeki *G. duodenalis* enfeksiyonlarının %42,1'ini (8/19) oluşturduğu kaydedilmiş, Assemblage C ve D'nin ise yalnızca %21,1 oranında tespit edildiği bildirilmiştir. Gultekin ve ark. (2017b)'nın Türkiye'de yaptıkları bir çalışmada ise Assemblage B, genotiplenen 89 köpek örneğinin 51'inde (%57,3) tespit edilmiştir. Yapılan bu son çalışmalar göz önüne alındığında özellikle son yıllarda köpeklerde Assemblage A ve B'nin yayılışında bir artış olduğu, bunun da insanlar ve köpeklerin bir arada daha çok yaşamaya başlaması sonucunda *G. duodenalis*'in yaşam döngüsünü insan-köpek siklusu temelinde devam ettirebileceği dolayısıyla da bulaşmanın insan-köpek temelinde daha çok gerçekleşebileceği dikkati çekmiştir. Çalışmamızda farklı yaş ve cinsiyetten 100 sahipli köpekten alınan dışkı örneklerinin sadece birinde *G. duodenalis* pozitifliği saptanmış ve yapılan genotip analizleri sonucunda bu izolatın

zoonotik assemblajelerden farklı olarak canin-spesifik olarak nitelendirilen Assemblage D'de yer aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Bu kapsamda çalışmamızda *G. duodenalis* pozitif bulunan 1,5 yaşındaki bu dişi köpeğin etkeni muhtemelen başka bir enfekte köpekten almış olabileceği düşünülmüştür.

Kedilerde *G. duodenalis*'in genotiplendirildiği çalışmalar incelendiğinde bu hayvanların çoğunlukla feline-spesifik Assemblage F ile enfekte oldukları görülmüştür (Cai ve ark., 2021). Zoonotik Assemblage A ise F'den sonra kedilerde en yaygın görülen *G. duodenalis* genotip grubu olarak bildirilmektedir (Cai ve ark., 2021). Nitekim Kanada'da Hoopes ve ark. (2015)'nin yaptıkları bir çalışmada, kedilerden elde edilen ve genotiplendirmesi yapılan sekiz izolatın tümünün zoonotik Assemblage A'da yer aldığı ifade edilmiştir. Assemblage B, C ve D, kedilerden izole edilen örneklerde az sayıda bildirilmelerine rağmen Sursal ve ark. (2020) Türkiye'de yaptıkları bir çalışmada kedilerden izole ettikleri tüm *G. duodenalis* izolatlarının Assemblage B'de yer aldıklarını rapor etmişlerdir. Yine Önder ve ark. (2021) Kayseri ve Samsun ve Aslan Çelik ve ark. (2023) Siirt yörelerindeki kedilerde yaptıkları çalışmalarda genotiplendirdikleri tüm izolatların Assemblage B'de yer aldıklarını belirtmişlerdir. Dünya'nın farklı bölgelerinde yürütülen diğer çalışmalarda da kedilerden elde edilen izolatların feline-spesifik assemblajelerin yanında Assemblage B'de de yer aldıkları bildirilmiştir (Iijima ve ark., 2018; Jaros ve ark., 2011; McDowall ve ark., 2011; Pallant ve ark., 2015). Çalışmamızda farklı yaş ve cinsiyetten 100 sahipli kediden alınan dışkı örneklerinin ikisinde *G. duodenalis* pozitifliği saptanmış ve yapılan moleküler genotiplendirme analizleri sonucunda bu izolatların Assemblage B ve C'de yer aldıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Bu kapsamda, çalışmamızda zoonotik Assemblage B olarak genotiplendirilen izolatın Türkiye'de kedilerden bildirilen diğer tüm izolatlarla aynı genotip grubunda olduğu görülmüştür. Bunun yanında Assemblage B'nin Türkiye'de insanlarda (Aydin ve ark., 2004) ve hatta su kaynaklarında da (Koloren ve ark., 2016) tespit edilmiş olması bu genotip grubunun ülkede yaygın bir şekilde seyrettiğini göstermiştir. Dolayısıyla çalışmamızda elde edilen Assemblage B'nin 5,5 yaşındaki erkek kediye başta insan olmak üzere diğer kedilerden veya kontamine sulardan bulaşmış olma ihtimali göz önüne alınmış ve söz konusu hayvanın sporadik olarak kist

atımı yapabileceği düşünüldüğünde, başta insanlar olmak üzere diğer hayvanlar için oluşturabileceği risk faktörleri dikkati çekmiştir. Çalışmamızda 2 yaşındaki erkek kedi dışkısından izole edilen diğer *G. duodenalis* izolatu ise Assemblage C’de yer almıştır. Assemblage C grubunda yer alan isolatlar daha çok köpeklerden bildirilmesine rağmen çalışmamızda bu izolatu bir kediden bildirilmesi tesadüfi olarak değerlendirilmekle birlikte, Türkiye’de kedilerden bu gruptan bildirilen ilk izolat olması nedeniyle önem arz etmiştir. Bunun yanında Dünya’da yapılan diğer çalışmalar (Adriana ve ark., 2016; Ito ve ark., 2017; Kostopoulou ve ark., 2017; Liu ve ark., 2017; Mancianti ve ark., 2015; Tangtrongsup ve ark., 2020; Xu ve ark., 2016) incelendiğinde Assemblage C’nin kedilerden izole edilen örneklerde az sayıda da olsa bildirildiği görülmektedir. Bu kapsamda Assemblage C’nin sadece köpekgillerden bildirilen spesifik bir grup olmadığı dikkati çekmiştir. Nitekim, Traub ve ark. (2009) da yapmış oldukları çalışmalarında, insanlardan izole edilen *G. duodenalis* isolatlarının (%2,5) Assemblage C grubunda yer aldıklarını bildirmişlerdir. Bu da Assemblage C’nin gelecekte zoonotik bir önem taşıyabileceği ve bu kapsamda halk sağlığı yönünden tehdit oluşturabileceği ihtimalini göz önüne getirmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasıyla birlikte, Nevşehir yöresindeki sahipli kedi ve köpeklerde *G. duodenalis*’in moleküler prevalansı ve genetik karakterizasyonu ilk kez yapılmıştır. β -giardin gen bölgesinin sekans ve filogenetik analizleri ile birlikte elde edilen isolatların zoonotik Assemblage B ile Assemblage C ve D’de yer aldıkları belirlenmiştir. Bu çalışma aynı zamanda Türkiye’de kedilerde Assemblage C grubunda yer alan bir izolatu bildirildiği ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Bu kapsamda çalışmada Dünya literatürü için özgün veriler sağlanmış olmakla birlikte kedi ve köpeklerin insan enfeksiyonları için oluşturabilecekleri risk potansiyeline dikkat çekilmiştir. Bu tez çalışması, elde edilen sonuçlar çerçevesinde Türkiye’de *G. duodenalis* enfeksiyonlarının tek sağlık temelinde bir bütün olarak ele alınması gerekliliğini bir kez daha ortaya koymuş ve gelecekte giardiasisin moleküler epidemiyolojisi ile giardiasise karşı korunma ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesi noktasında daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir.

6. KAYNAKLAR

- Abeywardena H, Jex AR, Koehler AV, Rajapakse RJ, Udayawarna K, Haydon SR, Stevens MA, Gasser RB. First molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from bovines (*Bos taurus* and *Bubalus bubalis*) in Sri Lanka: unexpected absence of *C. parvum* from pre-weaned calves. *Parasit Vectors*, 2014; 7; 1-10.
- Adam RD. Biology of *Giardia lamblia*. *Clin Microbiol Rev*, 2001; 14; 447-75.
- Adriana G, Zsuzsa K, Mirabela Oana D, Mircea GC, Viorica M. *Giardia duodenalis* genotypes in domestic and wild animals from Romania identified by PCR-RFLP targeting the *gdh* gene. *Vet Parasitol*, 2016; 217; 71-5.
- Ak M, Türk M, Güne K. Giardiasis. Kitap: Özcel MA (yazar). Tıbbi Parazit Hastalıkları. Türk Parazitoloji Dern, İzmir 2007; s.: 323- 344.
- Ali V, Nozaki T. Current therapeutics, their problems, and sulfur-containing-amino-acid metabolism as a novel target against infections by “amitochondriate” protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev*, 2007; 20(1); 164-187.
- Alles AJ, Waldron MA, Sierra LS, Mattia AR. Prospective comparison of direct immunofluorescence and conventional staining methods for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in human fecal specimens. *J Clin Microbiol*, 1995; 33; 1632-1634.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*, 1990; 215(3); 403-410.
- Ankarklev J, Jerlström-Hultqvist J, Ringqvist E, Troell K, Svärd SG. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nature Rev Microbiol*, 2010; 8; 413–22.
- Aslan Çelik B, Çelik ÖY, Ayan A, Orunç Kılınç Ö, Akyıldız G, İrak K, Oktay Ayan Ö. Occurrence and genotype distribution of *Cryptosporidium* spp., and *Giardia duodenalis* in sheep in Siirt, Turkey. *Pol J Vet Sci*, 2023; 26; 359–366.

- Aslan Çelik B, Çelik ÖY, Koçhan A, Ayan A, Kılınç ÖO, Akyıldız G, İrak K, Ayan ÖO, Ercan K. Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in shelter dogs of southeastern Türkiye. Vet Res Forum, 2023; 14(11); 595-599.
- Aw JY, Clarke NE, McCarthy JS, Traub RJ, Amaral S, Huque MH, Nery SV. *Giardia duodenalis* infection in the context of a community-based deworming and water, sanitation and hygiene trial in Timor-Leste. Parasite Vector, 2019; 12; 1-10.
- Ayan A, Ural DA, Erdoğan H, Kılınç OO, Gültekin M, Ural K. Van hayvanlarında *Giardia Duodenalis*'in prevalansı ve moleküler karakterizasyonu, Türkiye. Int J Ecosyst Ecol Sci, 2019; 9(2); 64-70.
- Aydın AF, Besirbellioğlu BA, Avcı IY, Tanyuksel M, Araz E. ve Pahsa A. Classification of *Giardia duodenalis* parasites in Turkey into groups A and B using restriction fragment length polymorphism. Diagn Microbiol Infect Dis, 2004; 50; 147-151.
- Ballweber LR, Xiao LH, Bowman DD, Kahn G, Cama VA. Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. Trends Parasitol. 2010; 26; 180-189.
- Barr SC, Bowman DD. Giardiasis in dogs and cats. Comp Cont Educ Pract Vet, 1994; 16; 603.
- Barutzki D, Schaper R. Age-dependant prevalence of endoparasites in young dogs and cats up to one year of age. Parasitol Res, 2013; 112(1); 119-131.
- Barutzki D, Schaper R. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. Parasitol Res, 2003; 90(3); 148-150.
- Barutzki D, Schaper R. Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010. Parasitol Res, 2011; 109(1); S45-60.
- Berberoğlu U, Güngör Ç. Yüzey suyu ve sulama amaçlı atık sularda fekal kirlilik düzeyleri ile helmint yumurta ve protozoa kistlerinin araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg. 2013; 70(4); 191-200.
- Bouzig M, Halai K, Jeffreys D, Hunter PR. The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. Vet Parasitol. 2015; 207(3-4); 181-202.
- Bowman DD. Georgis' Parasitology for Veterinarians. 10. Baskı St. Louis, MO, Elsevier; 2014.
- Buret AG. Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. Gut, 2007; 56(3); 316-317.

- Buret AG. Pathophysiology of enteric infections with *Giardia duodenalis*. Parasite, 2008: 15(3); 261-265.
- Burgu A, Tinar R, Doğanay A, Toparlak M. Survey for ecto and eno parasites of stray cats in Ankara. Vet Fak Derg, 1985: 32(2); 288-300.
- Cacciò SM, Beck R, Almeida A, Bajer A, Pozio E. Identification of *Giardia* species and *Giardia duodenalis* assemblages by sequence analysis of the 5.8S rDNA gene and internal transcribed spacers. Parasitology, 2010: 137; 919–925.
- Cacciò SM, De Giacomo M, Pozio E. Sequence analysis of the β -giardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment 35 length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. Int J Parasitol, 2002: 32(8); 1023-1030.
- Cacciò SM, Ryan U. Molecular epidemiology of giardiasis. Mol Biochem Parasitol, 2008: 160(2); 75– 80.
- Cacciò SM, Sprong H. Epidemiology of Giardiasis in Humans. Luján HD, Svärd S (eds). *Giardia*, Springer Vienna, 2011: s.: 17-28.
- Cacciò SM, Thompson RCA, McLauchlin J, Smith AV. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. Trends Parasitol, 2005: 21(9); 430.
- Cai W, Ryan U, Xiao L, Feng Y. Zoonotic giardiasis: an update. Parasitol Res, 2021: 120(12); 4199-4218.
- Carlin EP, Bowman DD, Scarlett JM, Garrett J, Lorentzen, L. Prevalence of *Giardia* in symptomatic dogs and cats throughout the United States as determined by the Idexx Snap *Giardia* test. Vet Ther, 2006; 7: 199–206.
- Carranza PG, Lujan HD. New insights regarding the biology of *Giardia lamblia*. Microbes Infect, 2010: 12(1); 71–80.
- Chakarova B. Comparative evaluation of the diagnostic methods for detection of *Giardia intestinalis* in Human Fecal Samples. Trakia J Sci, 2010: 8(2); 174–179.
- Chandra RK, Desai HI. Giardiasis. Critical Reviews in Tropical Medicine: Cilt 1, 1982: 109-141.
- Conboy G. *Giardia*. Canadian Vet J, 1997: 38; 245-247.
- Cooper MA, Adam RD, Worobey M, Sterling CR. Population genetics provides evidence for recombination in *Giardia*. Curr Biol, 2007: 17; 1984–8.
- Costa M, Clarke C, Mitchell S, Papasouliotis K. Diagnostic accuracy of two point-of-care kits for the diagnosis of *Giardia* species infection in dogs. J Small Anim Pract, 2016: 57; 318–322.

- Costache C, Kalmár Z, Colosi HA, Baciú AM, Opreş RV, Györke A, Colosi IA. First multilocus sequence typing (MLST) of *Giardia duodenalis* isolates from humans in Romania. *Parasite Vector*, 2020; 13(387); 1–11.
- Cotton JA, Beatty JK, Buret AG. Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. *Int J Parasitol*, 2011; 41(9); 925–933.
- Çöplü N, Gözalan A, Akin L. Gaitada parazit incelemesinde kullanılan yoğunlaştırma yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 2007; 31(2); 123–128.
- Daldal N, Atambay M, Çelik T. İshalli olgularda bağırsak protozoonlarının tanısında nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. *J Turgut Ozal Med Cent*, 2002; 9(3).
- Daldal N, Özensoy S, Aksoy Ü, Akısü Ç. Besiyerleri ve hayvan inokulasyonları. *Parazit Hastalıklarında Tanı. Özcel MA, Altınta N. (Yazar) Türkiye Parazitol Dern, İzmir*, 1997; 15: s.:149-182.
- De Souza W, Lanfredi-Rangel A, Campanati L. Contribution of microscopy to a better knowledge of the biology of *Giardia lamblia*. *Microsc Microanal*, 2004; 10(5); 513–527.
- Değerli S, Çeliksöz A, Kalkan K, Özçelik S. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in cows and calves in Sivas. *Turk J Vet Anim Sci*, 2005; 29(4); 995-999.
- Değerli S. *Giardia intestinalis*'in aksenik kültürü, patogenezi ve tanısal özellikleri, Doktora tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas 2001.
- Eckmann L. Mucosal defences against *Giardia*. *Parasite Immunol*, 2003; 25(5); 259–270.
- Erlandsen SL, Bemrick WJ. SEM evidence for a new species, *Giardia psittaci*. *J Parazitol*, 1987; 73(3); 623–9.
- Erlandsen SL, Macechko PT, Keulen HV, Jarroll EL. Formation of the *Giardia* cyst wall: studies on extracellular assembly using immunogold labeling and high resolution field emission SEM. *J Euk Microbiol*, 1996; 43(5); 416–429.
- Farthing MJ. Giardiasis. *Gastrointestinal Clin North Am*, 1996; 25 (3); 493-515.
- Faubert, G. Immune response to *Giardia duodenalis*. *Clin Microbiol Rev*, 2000; 13(1); 35-54.
- Feng Y, Xiao L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev*, 2011; 24(1); 110-140.

- Flanagan PA. *Giardia* diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. *Epidemiol Infect*, 1992: 109; 1-22.
- Friend DS. The fine structure of *Giardia muris*. *J Cell Biol*. 1966: 29(2); 317-32.
- Gardner TB, Hill DR. Treatment of giardiasis. *Clin Microbiol Rev*, 2001: 14(1); 114–28.
- Geurden T, Berkvens D, Casaert S, Vercruysse J, Claerebout E. A Bayesian evaluation of three diagnostic assays for the detection of *Giardia duodenalis* in symptomatic and asymptomatic dogs. *Vet Parasitol*, 2008: 157; 14–20.
- Giangaspero A, Berrilli F, Brandoisio O. *Giardia* and *Cryptosporidium* and public health: the epidemiological scenario from the Italian perspective. *Parasitol Res*, 2007: 101(5); 1169-1182.
- Giangaspero A, Traldi G, Paoletti B, Traversa D, Bianciardi P. Efficacy of pyrantel embonate, febantel and praziquantel against *Giardia* species in naturally infected adult dogs. *Vet Rec*, 2002: 150(6); 184-6.
- Gil H, Cano L, de Lucio A, Bailo B, de Mingo MH, Cardona GA, Fernández-Basterra JA, Aramburu-Aguirre J, López-Molina N, Carmena D. Detection and molecular diversity of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in sheltered dogs and cats in Northern Spain. *Infect Genet Evol*, 2017: 50; 62-69.
- Graczyk TK, Conn DB, Marcogliese DJ, Graczyk H, De Lafontaine Y. Accumulation of human waterborne parasites by zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and Asian freshwater clams (*Corbicula fluminea*). *Parasitol Res*, 2003: 89; 107-112.
- Gultekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balikci C, Toplu S, Akyildiz G. Prevalance and molecular chracterization of *Giardia duodenalis* in calves in Turkey. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2017a: 45(1450); 1-6.
- Gultekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balikci C, Akyildiz G. Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* in dogs in Aydin, Turkey. *Int J Environ Health Res*, 2017b: 27(3); 161-168.
- Gülel GT, Çadırcı Ö, Gücükoğlu A, Alisharlı M. Gıda yoluyla bulaşan parazitler hastalıkları. *Türk Klin*, 2015: 1(3); 109-16.
- Güngör N. Giardiasis tanılı hastalardan izole edilen *Giardia intestinalis* suşlarının polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragment length polymorphism (PCR-RFLP) yöntemi ile genotiplerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli 2021.
- Halliday CE, Inge PM, Farthing MJ. Characterization of bile salt uptake by *Giardia lamblia*. *Int J Parasitol*, 1995: 25; 1089-1094.

- Hanevik K, Dizdar V, Langeland N, Hausken T. Development of functional gastrointestinal disorders after *Giardia lamblia* infection. BMC gastroenterology, 2009; 9; 1-5.
- Hillman A, Ash A, Ellio A, Lymbery A, Perez C, Thompson RA. Confirmation of a unique species of *Giardia*, parasitic in the quenda (*Isodon obesulus*). Int J Parasitol Parasites Wildl, 2016; 5(1); 110-115.
- Homan WL, Mank TG. Human giardiasis: genotype linked differences in clinical symptomatology. Int J Parasitol, 2001; 31(8); 822-826.
- Hoopes J, Hill JE, Polley L, Fernando C, Wagner B, Schurer J, Jenkins E. Enteric parasites of free-roaming, owned, and rural cats in prairie regions of Canada. Can Vet J, 2015; 56(5); 495-501.
- Hooshyar H, Rostamkhani P, Arbabi M, Delavari M. *Giardia lamblia* infection: review of current diagnostic strategies. Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2019 Wi: 12(1); 3-12.
- Iijima Y, Itoh N, Ito Y, and Kimura Y. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* isolates from household cats and pet shop kittens. Vet Parasitol, 2018; 259; 44-48.
- Ito Y, Iijima Y, Itoh N, Kimura Y. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* isolates from breeding cattery cats in Japan. JFMS Open Rep, 2017; 3(2).
- Ivanov AI. *Giardia* and Giardiasis. Bulg J Vet Med, 2010; 32(2); 65-80.
- Jaros D, Zygnier W, Jaros S, and Wedrychowicz H. Detection of *Giardia intestinalis* assemblages A, B and D in domestic cats from Warsaw, Poland Pol J Microbiol, 2011; 60; 259-263.
- Karahallı C, Ural K. *Giardia duodenalis* ile Doğal İnfekte Köpeklerde Tek Doz Seknidazol'un Sağaltım Etkinliğinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın 2014.
- Karaman Ü, Kaçmaz G, Kesti S, Akdemir C, Direkel Ş, Kolören Z. Parazitlerin kist, yumurtalarının, modifiye çinko sülfat yüzdürme yöntemi ile değerlendirilmesinde bozulma sürelerinin belirlenmesi. Ann Med Health Sci Res, 2018; 7(1); 13-17.
- Karaman Ü, Koloren Z, Ayaz E, Demirel E, Seferoğlu O. The protozoa and helminths in the water of Terme and Kocaman boroughs of Samsun province. J Turgut Ozal Med Cent, 2017a; 24(4); 472-476.
- Karaman Ü, Koloren Z, Seferoğlu O, Ayaz E, Demirel E. Samsun il ve ilçelerinden alınan çevresel sularda parazitlerin varlığı. Türkiye Parazitol Derg, 2017b; 41(1); 19-21.

- Kirkpatrick CE, Farrell JP. Feline giardiasis: observations on natural and induced infections. *Am J Vet Res*, 1984; 45; 2182-2188.
- Kiziltepe Ş, Ayvazoğlu C. Iğdır yöresindeki neonatal kuzularda ishal etkenlerinin araştırılması. *ISPEC J Agr Sci*, 2022; 6(1); 189-194.
- Koehler AV, Jex AR, Haydon SR, Stevens MA, Gasser RB. *Giardia*/giardiasis - a perspective on diagnostic and analytical tools. *Biotechnol Adv*, 2014; 32(2); 280-9.
- Koloren Z, Karaman Ü. Samsun ili Terme ve Kocaman Irmağı'ndan alınan çevresel su örneklerinde su kökenli parazitlerin tespit edilmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 2017; 6(2); 177-182.
- Koloren Z, Seferoğlu O, Karanis P. Occurrence of *Giardia duodenalis* assemblages in river waters sources of Black Sea, Turkey *Acta Trop*, 2016; 164; 337-344.
- Kostopoulou D, Claerebout E, Arvanitis D, Ligda P, Voutzourakis N, Casaert S, Sotirak S. Abundance, zoonotic potential and risk factors of intestinal parasitism amongst dog and cat populations: the scenario of Crete, Greece. *Parasit Vectors*, 2017; 10(1); 43.
- Kraft MR, Klotz C, Bucker R, Schulzke JD, Aebischer T. *Giardia*'s epithelial cell interaction in vitro: mimicking asymptomatic infection?. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017; 7; 421.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*, 2018; 35; 1547-1549.
- Kutz SJ, Thompson RA, Polley L. Wildlife with *Giardia*: villain or victim and vector. *Giardia and Cryptosporidium: from molecules to disease*. Wallingford: CABI, 2009; 94-106.
- Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, Crotti D, Cacciò SM. Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int J Parasitol*, 2005; 35; 207-213.
- Lane S, Lloyd D. Current trends in research into the water borne parasite *Giardia*. *Crit Rev Microbiol*, 2002; 28(2); 123-47.
- Lebbad M. Molecular diagnosis and characterization of two intestinal protozoa: *Entamoeba histolytica* & *Giardia intestinalis*,. Doktora tezi, Karolinska Institute, Stockholm 2010; s.:57.
- Leung AK, Leung AA, Wong AH, Sergi CM, Kam JK. Giardiasis: an overview. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 2019; 13(2); 134-143.

- Little SE, Johnson EM, Lewis D, Jaklitsch RP, Payton ME, Blagburn BL, Bowman DD, Moroff S, Tams T, Rich L, Aucoin D. Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. *Vet Parasitol*, 2009: 166; 144-152.
- Liu H, Shen Y, Liu A, Yin J, Yuan Z, Jiang Y, Pan W, Zhang Y, Zhao W, Cao J. Occurrence and multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* in pets and zoo animals in Shanghai, China. *J Infect Dev Ctries*, 2017: 11(6); 479-486.
- Lyu Z, Shao J, Xue M, Ye Q, Chen B, Qin Y, Wen J. A newspecies of *Giardia* Künstler, 1882 (Sarcosporidia: Hexamitidae) in hamsters. *Parasit Vector*, 2018: 11(1); 202.
- Mahbubani MH, Bej AK, Perlin MH, Schaefer FW 3rd, Jakubowski W, Atlas RM. Differentiation of *Giardia duodenalis* from other *Giardia* spp. by using polymerase chain reaction and gene probes. *J Clin Microbiol*, 1992: 30(1); 74-8.
- Mancianti F, Nardoni S, Mugnaini S, Zamboni L, Guerrini A, Papini RA. A retrospective molecular study of select intestinal protozoa in healthy pet cats from Italy. *J Feline Med Surg*, 2015: 17(2); 163-7.
- Mcdowall RM, Peregrine AS, Leonard EK, Lacombe C, Lake M, Rebelo AR, and Cai HY. Evaluation of the zoonotic potential of *Giardia duodenalis* in fecal samples from dogs and cats in Ontario. *Can Vet J*, 2011: 52; 1329–1333.
- Meyer EA, Radulescu S. *Giardia* and giardiasis. *Adv Parasitol*, 1979: 17; 1-47.
- Miman Ö, Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. İstanbul Tıp Kitapevleri, İstanbul 2017.
- Mizuno T, Matey EJ, Bi X, Songok EM, Ichimura H, Tokoro M. Extremely diversified haplotypes observed among assemblage B population of *Giardia intestinalis* in Kenya. *Parasitol Int*, 2019: 75; 102038.
- Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL. Genetic diversity with in the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infect Genet Evol*, 2003: 3(1); 29-38.
- Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL. Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis*. *Mol Biol Evol*, 1999: 16(9); 1135-44.
- Monis PT, Caccio SM, Thompson RC. Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends Parasitol*, 2009: 25(2); 93-100.
- Nosala C, Dawson SC. The Critical Role of the Cytoskeleton in the Pathogenesis of *Giardia*. *Curr Clin Microbiol Rep*, 2015: 2(4); 155-162.

- Önder Z, Yetişmiş G, Pekmezci D, Delibaşı Kökçü N, Pekmezci GZ, Çiloğlu A, Düzl  Ö, İnci A, Yıldırım A. Investigation of Zoonotic *Cryptosporidium* and *Giardia intestinalis* Species and Genotypes in Cats (*Felis catus*). *Türkiye Parazitol Derg.* 2021; 45(4); 252-256.
-  zbel Y, Dağcı H. Giardiosis'in Laboratuvar Tanısı. Kitap:  zcel MA,  ner A (yazarlar), Giardiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No 14, İzmir 1997.
- Pallant L, Barutzki D, Schaper R, Thompson R. The epidemiology of infections with *Giardia* species and genotypes in well cared for dogs and cats in Germany. *Parasite Vector*, 2015; 8(1); 2.
- Palm D, Weiland M, McArthur AG, Winiecka-Krusnell J, Cipriano MJ, Birkeland SR, Pacocha SE, Davids B, Gillin F, Linder E, Sv rd S. Developmental changes in the adhesive disk during *Giardia* differentiation. *Mol Biochem Parasitol*, 2005; 141(2); 199-207.
- Payne PA, Ridley RK, Dryden MW, Bathgate C, Milliken GA, Stewart PW. Efficacy of a combination febantel-praziquantel-pyrantel product, with or without vaccination with a commercial *Giardia* vaccine, for treatment of dogs with naturally occurring giardiasis. *J Am Vet Med Assoc*, 2002; 220(3); 330-3.
- Pickering LK, Engelkirk PG. *Giardia lamblia*. *Pediatr Clin North Am*, 1988; 35(3); 565-77.
- Piekara-St pińska A, Piekarska J, Gorczykowski M, Bania J. Genotypes of *Giardia duodenalis* in household dogs and cats from Poland. *Acta Parasitol.* 2021; 66(2); 428-435.
- Posada D. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol Biol Evol*, 2008; 1253-1256.
- Rishniw M, Liotta J, Bellosa M, Bowman D, Simpson KW. Comparison of 4 *Giardia* diagnostic tests in diagnosis of naturally acquired canine chronic subclinical giardiasis. *J Vet Intern Med*, 2010; 24: 293-297.
- Ryan U, Cacci  SM. Zoonotic potential of *Giardia*. *Int J Parasitol*, 2013; 43(12-13); 943-956.
- Ryan U, Zahedi A. Molecular epidemiology of giardiasis from a veterinary perspective. *Adv Parasitol*, 2019; 106; 209-254.
- Santin M, Dargatz D, Fayer R. Prevalence of *Giardia duodenalis* assemblages in weaned cattle on cow-calf operations in the United States. *Vet Parasitol*, 2012; 183(3- 4); 231.
- Sarı M, Onmaz CA. Giardiosis'li köpeklerde hematolojik ve biyokimyasal g stergelerin değerlendirilmesi. *Sağlık Bilim Derg*, 2011; 20(2); 129-136.

- Sayın İpek DN, Sarı B. Occurrence and Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in Lambs and Calves in Southeastern Anatolia, Turkey. Egypt. J Vet Sci Vol, 2024: 55(2); 599-606.
- Seferoğlu O, Karaman Ü, Aldemir İ, Kolören Z. *Giardia intestinalis*. ODÜ Tıp Dergisi, 2016: 3(2); 88-99.
- Simpson KW, Rishniw M, Bellosa M, Liotta J, Lucio A, Baumgart M, Czarnecki-Maulden G, Benyacoub J, Bowman D. Influence of *Enterococcus faecium* SF68 probiotic on giardiasis in dogs. J Vet Intern Med, 2009: 23(3); 476-81.
- Singer LM, Meyer W, Firacative C, Thompson GR 3rd, Samitz E, Sykes JE. Antifungal drug susceptibility and phylogenetic diversity among *Cryptococcus* isolates from dogs and cats in North America. J Clin Microbiol, 2014: 52(6); 2061-70.
- Soares R, and Tasca T. Giardiasis: An update review on sensitivity and specificity of methods for laboratorial diagnosis. J Microbiol Methods, 2016: 129; 98–102.
- Šoba B, Islamović S, Skvarč M. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* (Lambl, 1859) from symptomatic human infections in Slovenia. Folia Parasitol, 2015; 62: 062.
- Sulaiman IM, Cama V. The biology of *Giardia* parasites. In: Ortega YR. (eds), Foodborne Parasites. Springer, USA, 2006; p.:15-28.
- Sursal N, Simsek E, Yildiz K. Feline Giardiasis in Turkey: Prevalence and genetic and haplotype diversity of *Giardia duodenalis* based on the β -Giardin gene sequence in symptomatic cats. J Parasitol, 2020: 106(5); 699-706.
- Tangtrongsup S, Scorza AV, Reif JS, Ballweber LR, Lappin MR, Salman MD. Seasonal distributions and other risk factors for *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. infections in dogs and cats in Chiang Mai, Thailand. Prev Vet Med, 2020: 174; 104820.
- Tangtrongsup S, Scorza V. Update on the diagnosis and management of *Giardia* spp infections in dogs and cats. Top Comp Anim M, 2010: 25(3); 155-162.
- Thompson RC, Constantine CC, Morgan UM. Over view and significance of molecular methods: what role for molecular epidemiology. Parasitol, 1998: 117(7); 161-75.
- Thompson RC, Reynoldson JA, Mendis AH. *Giardia* and giardiasis. Adv Parasitol, 1993: 32; 71-160.
- Thompson RC. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. Vet Parasitol, 2004: 126(1-2); 15-35.
- Thompson RCA, Monis PT. *Giardia*—from genome to proteome. Adv Parasitol, 2012: 78; 57–95.

- Thompson RCA, Palmer CS, O’Handley R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. Vet J, 2008: 177; 18-25.
- Thompson RCA. The Impact of *Giardia* on science and society In: Ortega-Pierres S., Cació R, Fayer TG, Mank HV, Smith RCA, Thompson R (eds), *Giardia* and *Cryptosporidium* from Molecules to Disease. CABI, USA, 2009; p.:1-11.
- Thompson SC. *Giardia lamblia* in children and the child care setting: a review of the literature. J Paediatr Child Health, 1994: 30(3); 202-9.
- Traub RJ, Inpankaew T, Reid SA, Sutthikornchai C, Sukthana Y, Robertson ID, Thompson RC. 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, 2009: 111(2); 125-32.
- Turhan E, İnandı T, Çetin M, Taş S. Hatay ili çocuk esirgeme ve yetiştirme kurumlarında kalan çocuklarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitol Derg, 2009: 33(1); 59-62.
- Upcroft J, Upcroft P. My favorite cell: *Giardia*. Bioessays. 1998: 20(3); 256-63.
- Üstün Ş, Oruç N, İlter T. *Giardia intestinalis* ve gaitada total yağ tayini. Akademik Gastroenteroloji Dergisi, 2012: 11(1); 7–10.
- Vivancos V, Bermejo M. Giardiasis: characteristics, pathogenesis and new insights about treatment. Curr Top Med Chem, 2018: 18(15); 1287–1303.
- Vurupalmaz Y, Öter V. Giardiasis tanılı hastaların dışkı örneklerinde TPI gen lokusu hedeflenerek *Giardia intestinalis* genotiplerinin PCR–RFLP yöntemiyle araştırılması. Kocatepe Tıp Dergisi, 2016: 17(4); 109-117.
- Vurupalmaz Y. Giardiasis tanılı hastaların dışkı örneklerinde TPI gen lokusu hedeflenerek *G. intestinalis* genotiplerinin PCR RFLP yöntemiyle araştırılması,. Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Şanlıurfa 2012.
- Wang H, Zhao G, Chen G, Jian F, Zhang S, Feng C, Wang R, Zhu J, Dong H, Hua J, Wang M, Zhang L. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Henan, China. PloS one 2014: 9(6).
- Weese JS, Fulford MB (Edt) Companion animal zoonoses, Blackwell Publishing, Ames Iowa USA, 2011; 319.
- Wolfe MS. Giardiasis. Clin Microbiol Rev, 1992: 5(1); 93-100.
- Xiao L, Fayer R. Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. Int J Parasitol, 2008: 38(11); 1239-55.

- Xu H, Jin Y, Wu W, Li P, Wang L, Li N, Feng Y, Xiao L. Genotypes of *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bieneusi* and *Giardia duodenalis* in dogs and cats in Shanghai, China. *Parasit Vectors*, 2016; 9; 121.
- Yıldız K. Kedilerde ishal oluşturan parazitler ve tedavisi. *Vet Farm Toks Dern Bult*, 2019; 10(3); 115-124.
- Yılmaz AB, Orunç Kılınç Ö, Göz Y, Denizhan V. Van ilinde dışkı muayenesine göre sokak köpeklerinde görülen mide-bağırsak parazitleri. *Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2017; 5(2); 425-429.
- Zimmer JF, Burrington DB. Comparison of four protocols for the treatment of canine giardiasis. *J Am Anim Hosp Assoc*, 1986; 22; 168-172.
- Zimmerman SK, Needham CA. Comparison of conventional stool concentration and preserved-smear methods with merifluor *Cryptosporidium/giardia* direct immunofluorescence assay and prospect *giardia* ez microplate assay for detection of *Giardia lamblia*. *J Clin Microbiol*, 1995; 33; 1942–1943.

Nevşehir Yöresindeki Kedi ve Köpeklerde Giardia duodenalis'in Moleküler Prevalansı ve Genetik Karakterizasyonu

ORJİNALLİK RAPORU

% 19	% 18	% 3	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 12
2	dspace.kocaeli.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 3
3	pdffox.com İnternet Kaynağı	% 1
4	abis-files.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	ozen, Mihriban. "Uluabat Golu Toksik Siyanobakteri Turleri Ve Toksinlerinin Belirlenmesi", Bursa Uludag University (Turkey), 2021 Yayın	<% 1
6	acikerisim.aku.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
7	Karayel, İlke. "Buzağılarda Enterik Calicivirus (BEC) Enfeksiyonlarının Moleküler	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Beyzanur SATAŞMAZ

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

EĞİTİM

Derece

Kurum

Mezuniyet Tarihi

Lise

Altınyıldız Anadolu Öğretmen Lisesi/Nevşehir

2016

Lisans

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi/Bursa

2022

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl

Kurum

Görev

2022-2024

Gökkuşığı Veteriner Kliniği

Veteriner Hekim

2024 -

Nevpati Veteriner Kliniği

Veteriner Hekim

YABANCI DİL

İngilizce