



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ,
ANKARA SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ KLİNİğİ

**ÇÖLYAK HASTALIğI BULUNAN ERİşKİN
HASTALARDA KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE *BLASTOCYSTIS* SPP. VE *DIENTAMOEBİ*
FRAGILIS GÖRÜLME SIKLIğININ ARAşTIRILMASI**

Dr. Muzaffer MIZRAK

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2021



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ,
ANKARA SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ KLİNİĞİ

**ÇÖLYAK HASTALIĞI BULUNAN ERİŞKİN
HASTALARDA KONVANSİYONEL VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE *BLASTOCYSTIS* SPP. VE *DIENTAMOEBA*
FRAGILIS GÖRÜLME SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Dr. Muzaffer MIZRAK

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Bedia DİNÇ

Yardımcı Tez Danışmanı:

Uzm. Dr. Filiz Kaya

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, tez çalışmalarım sürecinde her konuda desteklerini benden esirgemeyen, sabırla tecrübelerini bana aktaran, ihtiyaç duyduğum her an yanımda olan tez danışmanım, değerli hocamız Doç. Dr. Bedia DİNÇ'e ve yardımcı tez danışmanım, kıymetli parazitoloğumuz Uzm. Dr. Filiz KAYA'ya,

Tüm eğitim sürecim boyunca birlikte çalıştığım, eşsiz bilgi ve birikimlerini paylaşan ve hep yol gösterici olan tüm hocalarıma ve uzmanlarıma,

Asistanlığım sürecinde tanıma fırsatı bulduğum, bu süreci birlikte çalışarak daha keyifli hale getiren, her zaman ailemden biri olarak gördüğüm, çok sevdiğim, değerli asistan arkadaşlarıma ve diğer tüm laboratuvar ekibine,

Tez çalışmama gönüllü olarak katılan arkadaşlarım, aile bireylerim ve hastalarımıza,

Yaşamımın her aşamasında bana destek olan, bugünlere ulaşmamda büyük emekleri olan, evlatları olmaktan gurur duyduğum sevgili anneme, babama ve canım kardeşime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLolar DİZİNİ	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	viii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	2
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	19
BULGULAR.....	30
TARTIŞMA	38
SONUÇLAR	47
KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ	56
EKLER.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

anti-DGP: Deamine anti-gliadin antikorları

ÇH: Çölyak Hastalığı

dTG: Doku transglutaminaz

EMA: Antiendomisyum IgA

GI: Gastrointestinal

GIS: Gastrointestinal sistem

İBS: İrritabl bağırsak sendromu

PCR: Polymerase chain reaction

RT-PCR: Real-time PCR

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Çölyak hastalığı patogenezi	4
Şekil 2. <i>Blastocystis</i> spp. a)Vakuoler Form b) Granüler Form c) Ameboid Form d) Kist Formu	8
Şekil 3. <i>Blastocystis</i> spp. vakuoler formunun trikrom boyamadaki görünümü X1000 (SBÜ Ankara Eah, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü).....	9
Şekil 4. <i>Blastocystis</i> spp. yaşam döngüsü	10
Şekil 5. Modifiye demir-hematoksilen boyamasında çift çekirdekli <i>D. fragilis</i> trofozoitleri (58).....	15
Şekil 6. <i>Dientamoeba fragilis</i> yaşam döngüsü.....	16
Şekil 7. <i>Blastocystis</i> spp. nativ-lugol direkt bakı görüntüsü X400	31
Şekil 8. A) <i>Blastocystis</i> spp. vakuoler formun trikrom boyamadaki görünümü X1000 B) <i>D. fragilis</i> trikrom boyamadaki görünümü X1000	33
Şekil 9. Kültür yöntemi sonrası mikroskopik incelemede <i>Blastocystis</i> spp. görüntüsü X400	34

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Türkiye'de çölyak hastalığı görülme sıklığı	3
Tablo 2. <i>Blastocystis</i> spp. ve <i>D. fragilis</i> real time PCR için kullanılan primer-prob oligonükleotid dizileri.....	29
Tablo 3. <i>Blastocystis</i> spp. real time PCR için reaksiyon karışımı	29
Tablo 4. <i>D. fragilis</i> real time PCR için reaksiyon karışımı.....	29
Tablo 5. Real time PCR için kullanılan amplifikasyon protokolü	30
Tablo 6. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları.....	31
Tablo 7. Nativ-lugol direkt bakı yöntemiyle <i>Blastocystis</i> spp. ve <i>D. fragilis</i> görülme sıklıkları	32
Tablo 8. Konsantrasyon sonrası mikroskopik inceleme yöntemiyle <i>Blastocystis</i> spp. ve <i>D. fragilis</i> görülme sıklıkları.....	32
Tablo 9. Trikom boyama yöntemiyle <i>Blastocystis</i> spp. ve <i>D. fragilis</i> görülme sıklıkları	33
Tablo 10. Jones kültürü yöntemiyle <i>Blastocystis</i> spp. görülme sıklıkları.....	34
Tablo 11. Real time PCR yöntemi ile <i>Blastocystis</i> spp. ve <i>D. fragilis</i> görülme sıklıkları	35
Tablo 12. Real time PCR yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde <i>Blastocystis</i> spp. saptanmasında yöntemlerin karşılaştırılması	36
Tablo 13. Real time PCR yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde <i>D. fragilis</i> saptanmasında yöntemlerin karşılaştırılması	37

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada çölyak hastalığı bulunan erişkin hastaların dışkı örneklerinde *Blastocystis* spp. ve *Dientamoeba fragilis* görülme sıklığının konvansiyonel ve moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmesi ve bu protozoonların tespitinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Hastanemiz gastroenteroloji polikliniğine başvuran çölyak hastalığı tanılı, 18 yaş ve üstü 75 birey hasta grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak ise çölyak hastalığı bulunmayan, bilinen herhangi bir hastalığı olmayan, 18 yaş ve üstü 75 gönüllü çalışmaya dahil edildi. Her bireyden alınan dışkı örnekleri direkt nativ-lugol mikroskopik inceleme, dışkı konsantrasyon yöntemi sonrası nativ-lugol inceleme, trikrom boyama, moleküler yöntemler ve *Blastocystis* türlerinin tespiti için kültür yöntemi kullanılarak incelendi. Hasta ve kontrol grubundaki tüm bireyler için semptom, özgeçmiş ve soygeçmişlerin sorgulandığı bir vaka takip formu dolduruldu. Elde edilen tüm veriler istatistiksel yöntemler ile değerlendirildi.

Bulgular: En az bir yöntemle hasta grubunun 23'ünde (%30.7), kontrol grubunun 29'unda (%38.7) *Blastocystis* spp. saptandı. Hasta grubunun 10'unda (%13.3) ve kontrol grubunun dördünde (%5.3) *D. fragilis* görülürken hasta grubunun sekizinde (%10.7) ve kontrol grubunun altısında (%18) koenfeksiyon tespit edildi. *Blastocystis* spp. tanısında PCR(Polimeraz chain reaction) yöntemi altın standart kabul edildiğinde direkt mikroskopik inceleme, konsantrasyon yöntemi sonrası mikroskopik inceleme, trikrom boyama ve kültür yöntemlerinin duyarlılıkları sırasıyla %27.7, %51.51, %50 ve %68.18 olarak saptandı. *D. fragilis* tanısında PCR yöntemi altın standart kabul edildiğinde direkt mikroskopik inceleme, konsantrasyon yöntemi sonrası mikroskopik inceleme ve trikrom boyama yöntemlerinin duyarlılıkları sırasıyla %3.57, %14.28 ve %14.28 olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları en az bir yöntemle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Sonuç: Çölyak hastalığı olan erişkinlerdeki *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* prevalansı, bu protozoonların sağlıklı erişkinlerdeki prevalansı ile benzer bulunmuştur. Her iki protozoonun tanısında RT-PCR(Real-time PCR) yöntemi en etkin yöntemdir. Konvansiyonel yöntemler arasında *Blastocystis* spp. tanısı için en etkin yöntem kültür yöntemi iken, *D. fragilis* tanısı için konvansiyonel yöntemlerin etkinliği zayıftır.

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis* spp., ölyak hastalığı, *Dientamoeba fragilis*, real-time PCR



ABSTRACT

Aim: This study aimed to investigate the frequency of *Blastocystis* spp. and *Dientamoeba fragilis* in stool samples from adult patients with coeliac disease by using conventional and molecular methods and compare the methods used in the detection of protozoa.

Materials and Methods: 75 patients over the age of 18 who applied to the gastroenterology outpatient clinic of our hospital with coeliac disease were included in the study as a patient group. As a control group, 75 participants over the age of 18, without celiac disease and other diseases were included in the study. Stool samples taken from each adult were analyzed using native-lugol direct microscopic examination, stool concentration method, trichrome staining and molecular methods. Also, Jones' medium culture method was used to detect *Blastocystis* spp. Patient follow up form was filled out to question gluten-free diet, family history of coeliac disease, symptoms for all individuals included in the patient and control groups. All data obtained were compared with statistical methods.

Results: *Blastocystis* spp. was detected in 23 (30.7%) of the patient group and 29 (38.7%) of the control group. *D. fragilis* was detected in 10 (13.3%) of the patient group and four (5.3%) of the control group. Also, co-infection was determined in eight (10.7%) of the patient group and six (18%) of the control group. When PCR (Polymerase chain reaction) method was accepted as the gold standard method in the diagnosis of *Blastocystis* spp., the sensitivity of direct microscopic examination, concentration method, trichrome staining and culture method were found as 27.7%, 51.51%, 50% ve 68.18%, respectively and in the diagnosis of *D. fragilis*, the sensitivities of direct microscopic examination, concentration method and trichrome staining methods were detected as %3.57, %14.28 and %14.28, respectively. Differences between the groups were not statistically significant for *Blastocystis* spp. and *D. fragilis*.

Conclusion: The prevalence of *Blastocystis* spp. and *D. fragilis* in adults with coeliac disease is similar to the prevalence of protozoa in healthy adults. Real-time

PCR(RT-PCR) method is the most effective method in the diagnosis of both protozoa. The most effective conventional method for the diagnosis of *Blastocystis* spp. is the culture method; but the sensitivities of conventional methods for the diagnosis of *D. fragilis* is insufficient.

Keywords: *Blastocystis* spp., coeliac disease, *Dientamoeba fragilis*, real-time PCR



GİRİŞ VE AMAÇ

Çölyak hastalığı(ÇH), gluten adı verilen bir buğday proteinine karşı gelişen, gastrointestinal ve gastrointestinal sistem dışı semptomların görüldüğü, immün reaksiyonların neden olduğu kronik bir enteropatidir (1). ÇH dünyanın farklı toplumlarında ortalama %0.5-1 civarında görülmektedir (2). Ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda ÇH'nin görülme sıklığı yetişkinlerde %0.8-1.3, çocuklarda ise %1 olarak bulunmuştur (3, 4).

Blastocystis spp. ülkemizde yaygın olarak görülen, gaita örneklerinde sıklıkla saptanan, patojen olup olmadığı halen tartışmalı olan ve ortalama 30 alt türü olan tek hücreli bir parazittir. *Blastocystis* enfeksiyonları asemptomatik olabileceği gibi karın ağrısı, ishal ve kusma gibi gastrointestinal semptomlarla da kendini gösterebilir. Son yıllarda irritabl bağırsak sendromu, Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi bağırsak hastalıkları, kutanöz ülser, akut ve kronik ürtiker ile *Blastocystis* spp. arasında ilişki olduğu düşünülmektedir (5). Ayrıca semptomatik çölyak hastalarında immünolojik, histolojik ve nutrisyonel değişimlerden dolayı fırsatçı *Blastocystis* enfeksiyonlarının daha sık görülebileceği belirtilmiştir (6). Diğer yandan bazı çalışmalarda belirli parazitlerin çölyak hastalarına inokülasyonu sonucu, hastalığın fizyopatogenezinde rol alan sitokinlerin ve otoantikorların düzeylerinin gerilediği, gluten diyetine rağmen villöz atrofinin artmadığı tespit edilmiştir (7).

Dientamoeba fragilis insanların çekum ve proksimal kolonuna yerleşen kamçılı bir protozoondur. *D. fragilis* enfeksiyonları asemptomatik olabileceği gibi akut ve kronik gastrointestinal sistem(GIS) belirtilerine neden olabilmektedir. Parazit çeşitli bağırsak hastalıklarında yüksek oranda bulunabilmektedir (8). Ancak hiçbir yakınması olmayan bireylerde çok daha yüksek oranda bulunabilen bir protozoon olduğu da belirtilmektedir (9).

Çalışmamızda ÇH bulunan erişkin hastaların dışkı örneklerinde *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* görülme sıklığının konvansiyonel ve moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmesi ve bu parazitlerin tespitinde kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllük bakımından karşılaştırılması amaçlanmıştır. ÇH ile

Blastocystis spp. ve *D. fragilis* arasındaki ilişkinin gösterilmesi, bu protozoonların intestinal flora elemanı olup olmadığını ve çölyak hastalığının patogeneğinde nasıl bir rol aldığını açıklaması açısından önemlidir.

GENEL BİLGİLER

ÇÖLYAK HASTALIĞI

Tanımı ve Tarihçesi

Çölyak hastalığı, tahıl ürünlerindeki gluten adlı proteine karşı hassasiyetle karakterize ince bağırsaklarda kript/villus oranında artış, intraepitelyal lenfosit artışı gibi patofizyolojik değişikliklerin görüldüğü otoimmün kronik bir enteropatidir. İntestinal semptomların yanı sıra ekstraintestinal semptomların da görüldüğü sistemik bir hastalıktır (10).

Milattan önce birinci yüzyılda ilk defa Kapadokyalı Aretaesus yazılarında ÇH benzeri hastalıktan bahsetmiştir (11). ÇH, İngiliz patolog Samuel Gee tarafından ilk defa 1887 yılında günümüzdeki tanımıyla yazılı kaynaklara geçirilmiştir (10). Hastalık ve gluten arasındaki ilişki II. Dünya Savaşı sırasında Hollandalı pediatrist Willem K. Dicke tarafından açıklanmıştır (10-12). Dicke savaş sırasında yiyecek kıtlığı dönemlerinde ÇH olan çocuklarda semptomların gerilediğini, savaş sonrası dönemde tahıl ürünlerinin tüketimiyle beraber semptomların tekrarladığını gözlemlemiş ve yaptığı çalışmalar sonucunda ÇH ile gluten arasındaki ilişkiyi tanımlamıştır (12, 13).

Çölyak hastalığındaki histopatolojik değişiklikler ilk olarak 1954 yılında açıklanmıştır (14). Marsh, 1992 yılında ÇH'nin ilk histopatolojik sınıflamasını geliştirmiştir (15). Ardından 1999 yılında Oberhuber tarafından bu sınıflama modifiye edilip 2010 yılında Ensari sınıflaması geliştirilmiştir. 1997 yılında Dietrich ve 1998 yılında Molberg ÇH'de doku transglutaminazın rolünü açıklamıştır (16).

Epidemiyoloji

Çölyak hastalığı tüm dünyada genel nüfusun %0.5-1’inde görülen en yaygın otoimmün hastalıklardan biridir. Düşük gluten tüketiminin olduğu Japonya ve Sahra altı Afrika gibi bölgelerde düşük oranda görülmesine rağmen batı ülkelerinde görülme sıklığı giderek artmaktadır (17).

Türkiye’nin farklı şehirlerinden toplanan verilerin değerlendirildiği bir çalışmada 20.190 öğrencide ÇH prevalansı %0.47 olarak bulunmuştur (18). Ankara’da ve Erzurum’da yapılan çalışmalarda ÇH sıklığı sırasıyla %1 ve %0.87 olarak saptanmıştır (19, 20). Erişkinlerde ve gönüllü kan donörlerinde yapılan farklı çalışmalarda sıklık %0.71-%1.3 olarak hesaplanmıştır (Tablo 1) (4, 21, 22).

Tablo 1. Türkiye’de çölyak hastalığı görülme sıklığı (4, 18-22)

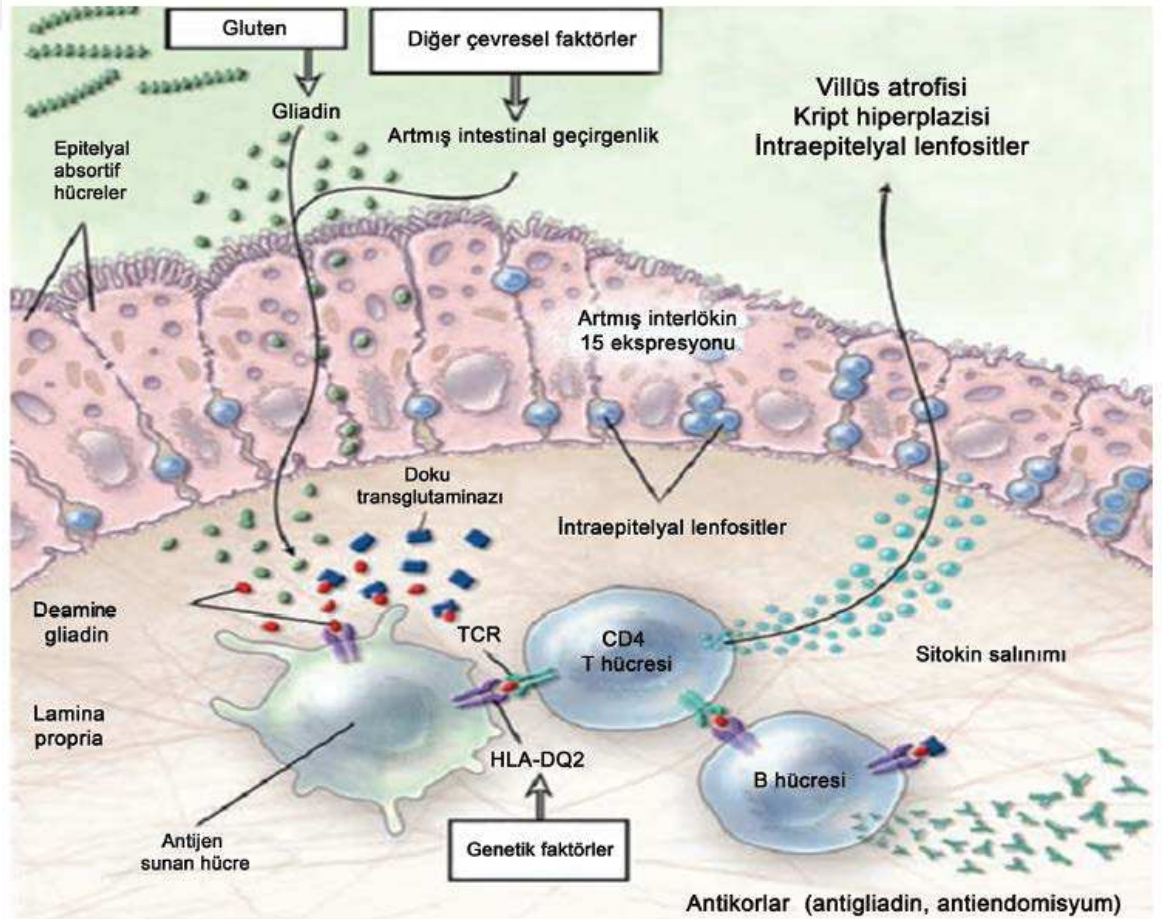
Bölge	Örneklem	Çölyak Hastalığı Sıklığı	Yıl
Türkiye	6-17 yaş okul çocuklarında	%0.47	2010
Ankara	2-18 yaş çocuklarda	%1	2008
Erzurum	6-17 yaş okul çocuklarında	%0.87	2005
Kayseri	Erişkin	%1	2005
Ankara	Erişkin kan vericiler	%1.3	2004
Ankara	Erişkin kan vericiler	%0.71	2003

Patogenez

Çölyak hastalığı, patogenezinde immünolojik, çevresel ve genetik faktörlerin birlikte rol aldığı otoimmün bir hastalıktır (23).

Gluten, ÇH patogenezinde rol oynayan en önemli çevresel faktördür. Latince “glue(tutkal)” anlamına gelen bir kelimedenden türetilmiş buğday, arpa ve çavdarda bulunan tahıl proteindir. Gluten proteini glutamin ve prolinden zengin olup GIS endopeptidazlarına karşı dirençlidir ve tam olarak sindirilemez. Immunopatogenezde glutenin reaksiyonundan başlıca sorumlu prolamın, 33 aminoasitli α -gliadin moleküllerinden oluşan gliadin adlı peptittir (24). Gliadin, glutenin alkolde çözünen formu olup GIS mukozası için toksiktir. GIS mukozasında

oluşan immünolojik reaksiyonlar neticesinde absorpsiyondan sorumlu hücrelerde harabiyet meydana gelir. Gliadinin epitel hücrelerinde yaptığı hasar interlökin-15 (IL-15) ekspresyonunu artırarak intraepitelyal lenfositleri stimüle eder. İmmünolojik hasara bağlı artan bağırsak geçirgenliği neticesinde, gliadin lamina propriadaki doku transglutaminazı tarafından deamine olur. Sonrasında deamine gliadin antijen sunan hücrelerin yüzeyindeki HLA-DQ2 ve HLA-DQ8'e bağlanarak T hücre reseptörü (THR) vasıtasıyla CD4 T hücrelerine sunulur. Bu durum sitokin salınımını uyarak doku hasarına sebep olur. Sonuç olarak kronik mukozal inflamasyon zemininde villüslerde atrofi, intestinal epitelde lenfosit birikimi ve kriptlerde hiperplazi meydana gelir (Şekil 1) (25).



Şekil 1. Çölyak hastalığı patogenezi (24)

Genetik faktörlerin ÇH gelişiminde rol oynadığının en önemli kanıtı ailesel kalıtım ve hastalığın monozigot ikizlerde yüksek oranda görülmesidir. ÇH olan

hastaların neredeyse %100'ünde HLA II genleri olan HLA-DQA1 ve HLA-DQB1 bulunmaktadır. Bu genler birlikte çölyak ilişkili heterodimer proteinler olan DQ2 ve DQ8'in iki zincirini(α ve β) kodlamaktadır. HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 proteinleri, antijen sunucu hücrelerin yüzeyinde bulunmakta olup antijenik peptitleri bağlayarak bu peptitlerin CD4 yardımcı T lenfositlere sunulmasında görev almaktadır. ÇH olan hastaların %90'ından fazlası HLA-DQ2 pozitif iken geri kalanların çoğu HLA DQ8 pozitifdir (25). Bu proteinleri kodlayan HLA allel genlerin varlığı ÇH gelişimi için gereklidir; fakat tek başına yeterli değildir. Kardeşler ve monozigotik ikizler arasında yapılan çalışmalar, HLA genlerinin ÇH gelişimine katkısının %50'den az olduğunu göstermektedir. Bu durum HLA dışı genlerin de etkili olabileceğini düşündürmektedir (24, 26).

Çevresel faktörlerden viral GIS enfeksiyonları, ilaç kullanımı ve ameliyat öyküsünün hastalığın gelişiminde tetikleyici faktörler olduğu düşünülmektedir (26). Bebeklik döneminde uzun süre anne sütü alımının ve dördüncü ile yedinci ay arası glutenli ek gıda tüketmeye başlamanın hastalıktan korunmada etkili olduğu gösterilmiştir (24, 25).

Klinik

a. Klinik belirtiler: Çölyak hastalığında bir veya birden fazla organ sistemini ilgilendiren çok geniş bir çeşitliliğe sahip intestinal ve ekstraintestinal belirtiler görülür. Çocukluk döneminde ishal, kilo kaybı, boy kısalığı, gelişme geriliği, letarji ve puberte gecikmesi ön plandadır. Erişkin dönemde ise ishal, gaz, şişkinlik, karın ağrısı ve mide bulantısı ön plandadır (27).

Gastrointestinal(GI) belirtiler içerisinde en sık diyare görülür. Atrofik glossit, tekrarlayan aftöz ülserler, refrakter gastroözofageal reflü hastalığı, eozinofilik özofajit, rekürren pankreatit gibi GI belirtiler ve hastalıklar daha az sıklıkta görülür. Demir eksikliği anemisi en sık görülen ekstraintestinal bulgu olup kardiyomyopati, myokardit, trombositopeni, osteoporoz, artrit, infertilite, dermatitis herpetiformis, ürtiker, hipotiroidi ve otoimmün tiroidit gibi otoimmün hastalıklar ile migren, periferik nöropati, depresyon gibi nörolojik ve psikiyatrik hastalıklar diğer ekstraintestinal bulgulardır (28).

b. Klinik sınıflama: ÇH dört başlık altında sınıflandırılabilir (29).

1-Klasik/Tipik/Belirtili ÇH: Tipik GIS belirtileri ve malabsorbsiyon bulguları görülen olgularda serolojik testler pozitif ve karakteristik histopatolojik değişiklikler görülür.

2-Atipik/Klasik olmayan ÇH: Ekstraintestinal belirtiler ve bulgular görülen olgularda serolojik testler pozitif ve karakteristik histopatolojik değişiklikler görülür.

3-Sessiz/Aseptomatik ÇH: Aseptomatik kişilerde serolojik testler pozitif ve ÇH ile uyumlu histopatolojik değişiklikler görülür.

4-Latent ÇH: Aseptomatik kişilerde serolojik testler pozitif ve karakteristik histopatolojik değişiklikler görülmez veya hafif görülür. İleride hastalık geliştirme potansiyeline sahip, genetik olarak ÇH'ye yatkın bireylerdir.

Tanı

Çölyak hastalığının tanısı klinik özellikler ile serolojik, genetik ve histopatolojik bulguların değerlendirilmesi ile konur. ÇH şüphesi olan durumlarda ilk basamak olarak serolojik testlere başvurulur; fakat altın standart yöntem serolojik inceleme sonrası biyopsiyle histopatolojik incelemedir (27).

Serolojik testlerden doku transglutaminaz (dTG) IgA, iki yaşından büyük bireylerde en sık tercih edilen testtir. Duyarlılığı %93-95 ve özgüllüğü %96'dır. Antiendomisyum IgA (EMA) %90 duyarlılık ve %99 özgüllükle başka bir serolojik test olarak kullanılmaktadır. EMA maliyeti yüksek ve subjektif bir test olmasına rağmen yüksek özgüllüğüyle dTG IgA sonucu şüpheli olgularda birlikte kullanılmaktadır. Deamine anti-gliadin antikorları (anti-DGP) %94 duyarlılık ve %97 özgüllüğe sahiptir. Yapılan çalışmalar özellikle iki yaş altı çocuklarda anti-DGP'nin ÇH tanısında diğer otoantikorlara göre daha duyarlı ve özgül olduğunu göstermiştir. Gluten içeren diyet sonrası serolojik testlerin duyarlılığı artmaktadır. Bu nedenle bu testler en az dört hafta gluten içeren diyet sonrası yapılmalıdır. ÇH olan bireylerin

yaklaşık %2-3'ünde IgA eksikliğine bağlı olarak IgA temelli serolojik testlerin negatif olması nedeniyle IgG temelli testlere de başvurulmalıdır (30).

Endoskopi ile alınan ince bağırsak biyopsisinin histopatolojik incelemesi tanı için altın standarttır. Mukozada mozaik görünüm, submukozal kapiller fissürler, duodenumda sirküler foldların sayıca azalması ve taraklanma gibi endoskopik bulgular saptanabilir. Bu bulguların ÇH'ya özgü olmaması nedeniyle mutlaka biyopsiye başvurulmalıdır. ÇH'da karakteristik histopatolojik bulgular yüzeyel epitelde düzleşme, kript hiperplazisi, villüslarda atrofi, kript/villus oranında artış ve intraepitelyal lenfosit sayısının artmasıdır. Bu bulgular Marsh-Oberhuber ve Corazza-Villanacci evreleme sistemlerine göre değerlendirilmektedir (31). Serolojik ve histopatolojik incelemelerin doğruluğu diyetten glutenin çıkarılması sonrası etkilenmektedir. (Glutensiz diyetten ortalama 11 ay sonra dTG IgA testinin duyarlılığı %16'ya düşmektedir.) Bu nedenle testler hastalara gluten içeren diyet sonrası uygulanmalıdır (27).

Genetik değerlendirmede HLA-DQ2 ve HLA-DQ8'in negatif saptanması ÇH tanısını dışlamaya yardımcıdır, bu nedenle genetik testlerin negatif prediktif değeri çok yüksektir. Aynı zamanda bu testler glutensiz diyetten etkilenmez (27).

Tedavi

Günümüzde ÇH'ye karşı tek tedavi yöntemi ömür boyu glutensiz diyetdir (32). Eksiklik durumlarında vitamin B12, folat, demir, kalsiyum ve D vitamini de nutrisyonel destek tedavisi olarak verilmelidir. Hastaların yaklaşık %70'inde glutensiz diyetle başladıktan iki hafta sonra klinik bulgularda düzelme görülmektedir. Serolojik olarak antikorların düzeyinin altıncı ayda düşmesi diyetle uyumu ve düzelmeyi gösterir. Histopatolojik olarak tam düzelme yaklaşık altı ay sonra görülebilmektedir. Yaklaşık %5 hastada diyetle rağmen düzelme görülmez. Bunun en sık nedeni gluten alımına istemsiz olarak devam edilmesidir. Laktoz intoleransı, diğer diyet proteinlerine hassasiyet, lenfoma, immün yetmezlik, irritabl bağırsak hastalığı, pankreatik yetersizlik veya refrakter çölyak hastalığı ise diğer sebeplerdir.

Refrakter çölyak hastalığı olgularında kortikosteroid ve immunsupresif tedavi verilir (33, 34).

BLASTOCYSTIS SPP.

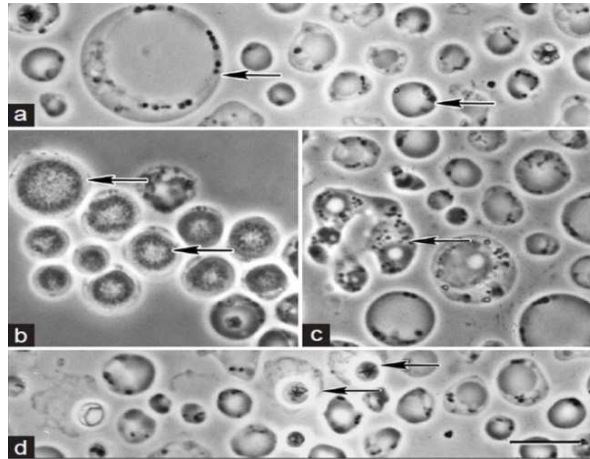
Tarihçe ve Sınıflama

Blastocystis, ilk defa 1911 yılında *Blastocystis enterocola* olarak isimlendirilerek intestinal bir protozoon olarak tanımlanmıştır. Brumpt tarafından 1912 yılında ise *Blastocystis hominis* adı verilmiştir. Zierdt 1967 yılında morfolojik çalışmalar yaparak bu protozoonun çeşitli formlarını tanımlamıştır (35).

Blastocystis türleri izole edildiği konağa göre isimlendirilmektedir. (İnsanlarda *B. hominis*, tavuklarda *B.galli*, farelerde *B. ratti*, kazlarda *B. anseri* gibi) (36). *Blastocystis hominis*' in sınıflandırmadaki yeri tartışılırken, 1996 yılında yapılan moleküler çalışmalarda SSUrRNA sekanslanması sonucu tek ve çok hücreli protistaların yer aldığı *Stramenopile* grubunun içinde bir protozoon olarak tanımlanmıştır. Daha sonra *Stramenopile*'nin *Chromista* aleminin altında bulunan *Heterokonta* bölümüyle identik olduğu tespit edilerek 1998 yılında Heterokontid *Chromista* olduğu anlaşılmıştır. Parazitin sınıflandırması 18S rRNA analizi sonucu son şeklini almıştır (37).

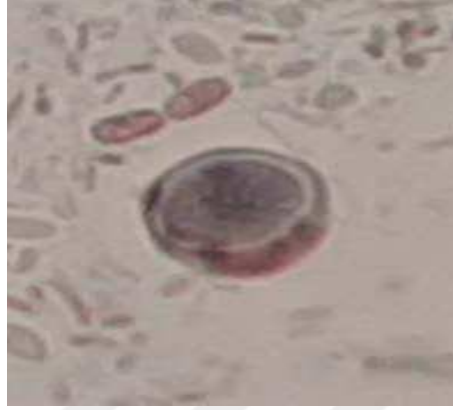
Morfolojik Özellikler

Blastocystis türlerinin morfolojik olarak vakuoler, granüler, ameboid ve kist olmak üzere dört farklı formu gösterilmiştir (şekil 2) (36).



Şekil 2. *Blastocystis* spp. a)Vakuoler form b) Granüler form c) Ameboid form d) Kist formu (36)

Vakuoler form ortalama 4-15 µm boyutunda kültürde daha büyük gözüken en sık görülen formdur. Bu morfolojik formda protozoonun %90'ını kaplayan üreme ve depolamada görevli santral vakuol bulunmaktadır. Kalan %10'u kaplayan periferik sitoplazmik kısımda ise 2-4 adet çekirdek ve mitokondriler bulunmaktadır (şekil 3) (38).

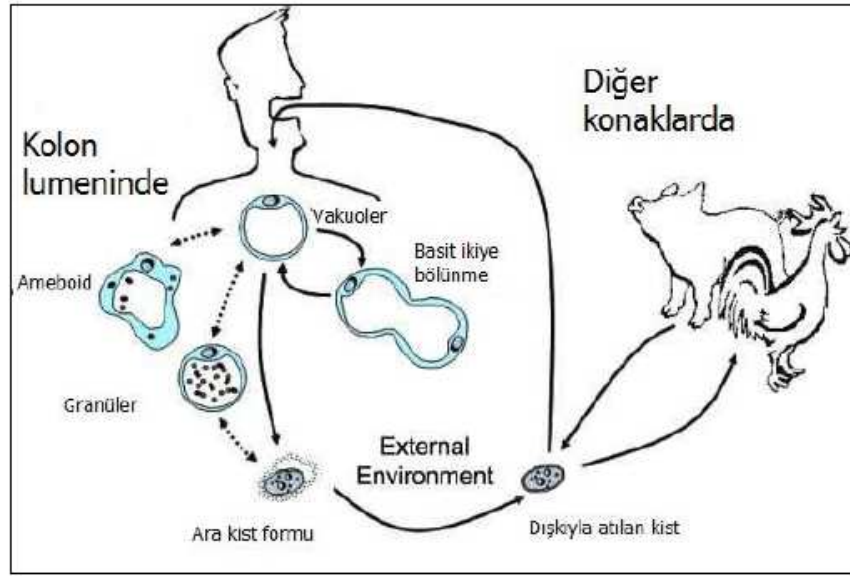


Şekil 3. *Blastocystis* spp. vakuoler formunun trikrom boyamadaki görünümü x1000 (SBÜ Ankara EAH, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü)

Granüler formun santral vakuolünde lipid içeriği yüksek ve çok sayıda granül bulunmaktadır. Ameboid formda psödopod benzeri sitoplazmik uzantıda golgi cisimcikleri ve mitokondriler yer almaktadır. Fakat amiplerden farklı olarak bu psödopodlar hareket için değil; bakteri sindirimi için kullanılmaktadır. Kist formu kalın bir kist duvarı ile çevrili olup, kist duvarı ve hücre duvarı arasındaki sitoplazmik kısımda çok sayıda çekirdek, mitokondri ile lipid/glikojen vakuolleri bulunmaktadır (39). Multivakuoler ve avakuoler formlar ise diğer morfolojik formlardır (39, 40).

Yaşam Döngüsü

Blastocystis spp. kistleri aracılığıyla kontamine su ve yiyeceklerin tüketilmesi sonrası fekal-oral yolla bulaşır. Ayrıca insanlar ve hayvanlar arasında da bulaşın olduğu düşünülmektedir (41). Parazit mutlak anaerop özellik gösterir ve kist formunun kolon lümeninde eksistasyonu sonrası vakuoler, multivakuoler ve ameboid formları oluşur. Vakuoler formlar ikiye bölünerek çoğalmaktadır. Multivakuoler ve ameboid formlardan prekistler meydana gelmektedir. Prekistlerden şizogonik çoğalma ile kalın duvarlı kistler oluşmaktadır. Kalın duvarlı kistler kolon lümeninden fekal yolla atılmaktadır (şekil 4) (42, 43).



Şekil 4. *Blastocystis* spp. yaşam döngüsü (43)

Epidemiyoloji

Dünya üzerinde farklı türde konaklardan(memeliler, kuşlar, sürüngenler ve artropodlar gibi) izole edilebilen *Blastocystis* spp. çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda en sık saptanan parazit türüdür. Prevalansı gelişmiş ülkelerde ortalama %10, az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere ortalama %50 civarındadır. Gelişmekte olan ülkelere prevalansının yüksek olması, kötü hijyen koşullarına ve düşük sosyoekonomik düzeye bağlanmaktadır (38). Ülkemizde yapılan çalışmalarda *Blastocystis*'in en sık görülen protozoonlar arasında yer aldığı ve prevalansının %1.4-%23.5 arasında değiştiği belirtilmiştir (44).

Patogenez ve Klinik

Yıllarca yapılan çalışmalara rağmen *Blastocystis* spp.'nin insanlarda patojen olup olmadığı hala belirsizliğini korumaktadır. Hem semptomatik hem de asemptomatik bireylerde saptanması ve toplumda yüksek oranda görülmesi nedeniyle insan sağlığı üzerine etkileri araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda akut veya kronik diyare, karın ağrısı, şişkinlik, gaz, kusma, konstipasyon, mide bulantısı, irritabl bağırsak sendromu(İBS) gibi nonspesifik gastrointestinal bulguların ve ürtiker gibi ekstraintestinal belirtilerin parazit ile ilişkisi gösterilmiştir (45).

Blastocystis spp. kalın bağırsakta yerleşir ve ikiye bölünerek çoğalır. Son yıllarda yapılan *in vitro* çalışmalar parazitin patogenezinin aydınlatılmasında büyük rol oynamıştır. Genel olarak bu araştırmalarda *Blastocystis* tarafından sistein proteaz sekrete edilerek salgısal IgA parçalanması, rho-kinaza (ROCK) aracılı mekanizma ile epitelyal bariyer fonksiyonunun bozulması, NF-κB aracılı yolla inflamatuvar sitokinlerin salgılanması ve hücrelerin apoptozunun indüklenmesi gözlenmiştir (46).

Blastocystis patojenitesi morfolojik form, alt türler ve parazit yükü gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ameboid formun yüksek patojenite ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Moleküler filogenetik analizler sonucu *Blastocystis* spp.'nin 30 farklı alt türü (ST) tanımlanmıştır. İnsanlardan izole edilen dokuz alt tür bulunmakta olup, bunlardan en sık ST3 olmak üzere, ST1, ST2 ve ST4 insanlar arasında en yaygın bildirilen alt türlerdir (47). ST1 ve ST4'ün semptomatik ve akut ishalli olgularda en sık saptanan alt tür olduğunu, ST2 ve ST3'ün ise asemptomatik enfeksiyonla ilişkili olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (48). Aksine ST3'ün semptomatik ve asemptomatik bireylerde en sık saptanan alt tür olduğu ve *Blastocystis* alt türleri ile gastrointestinal semptomlar arasında bir ilişki olmadığını bildiren yayınlar da vardır (49).

Tanı

Blastocystis spp.'nin laboratuvar tanısı için taze gaita örneği kullanılır. Taze gaita örneğinde ışık mikroskopunda nativ-lugol direkt bakı yönteminde özellikle vakuoler formun görülmesiyle tanı konur. Bu yöntemde lamın bir köşesine serum fizyolojik (%0.9 NaCl), diğer köşesine lugol solüsyonu damlatılıp gaita örneği ile karıştırıldıktan sonra parazit araştırılmaktadır. Gaita örneğinin incelenmesinde mikroskopta x400 büyütmede her alanda beşten fazla sayıda *Blastocystis* görülmesi halinde raporlama yapılması gerektiğini bildiren çalışmalar olduğu gibi bazı çalışmalarda sayı ve semptomlar arasında ilişkinin olmadığı da belirtilmektedir (50). Protozoonun kist formlarının gözden kaçırılması, kullanılan ilaçlara bağlı olarak *Blastocystis* morfolojisinin bozulması ve maya, *Cyclospora* spp., makrofajlar, nötrofiller ve yağ globülleri ile *Blastocystis*'in karıştırılması bu yöntemin kısıtlılıkları olarak bildirilmektedir (51).

Blastocystis spp. tanısında kültür yöntemlerine başvurulabilir. Bu yöntemlerden en sık Jones besiyeri kullanılmaktadır. Boeck ve Drbohlav'ın yoğunlaştırılmış yumurtalı besiyeri, Dobell ve Laidlaw besiyeri (ringer solüsyonu +%20 insan serumu+streptomisin sülfat) de parazitin tanısında kullanılabilir (38). Kültür yönteminin direkt mikroskopiden daha duyarlı olduğunu belirten çalışmalar mevcut olup kültür sonuçları en az 48-72 saat sonra değerlendirilmektedir (43, 44).

Enzim bağlı immünosorbent testi (ELISA) ve indirekt floresan antikor testi (IFA) gibi serolojik yöntemler *Blastocystis* spp. rutin tanısında kullanılmaz. Parazite karşı oluşan IgG ve IgA antikorlarını tespit eden bu yöntemler sınırlı sayıdaki çalışmalarda kullanılmıştır. Serolojik yöntemlerin rutin tanıda kullanılmama nedenleri olarak; *Blastocystis*'in farklı alt türlerinin ve morfolojik formlarının olması ile yüzey antijenik yapısının değişkenlik göstermesi sayılabilir (43).

Moleküler yöntemler *Blastocystis* spp. tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllük göstermektedir. *Blastocystis* için ilk tanısal PCR 2006 yılında uygulanmıştır (47). PCR yönteminin kültürden ve direkt mikroskopiden daha duyarlı olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (52, 53). PCR tabanlı moleküler yöntemler parazitin alt tür tayini, filogenetik analizi ve sınıflaması için kullanılabilmektedir. RFLP, DNA

dizi analizi, pirosekanslama, SSU rDNA, SSU rRNA, suptiplere özgü STS primerleri ile yapılan PCR yöntemleri *Blastocystis*' in moleküler çalışmalarında kullanılmaktadır (47, 53).

Tedavi ve Korunma

Blastocystis spp. tedavisi, enfeksiyonun kendi kendini sınırlaması ve genellikle asemptomatik seyretmesi nedeniyle tartışmalıdır. Başka bir etkenin saptanmadığı semptomatik durumlarda tedavi önerilmektedir (54). Tedavide metronidazol ilk tercih edilen ilaçtır. Parazitin eradikasyonu için metronidazol ve iyodokinol başarılı bulunmuş ve semptomları hafiflettiği belirtilmiştir. Ancak iyodokinol toksik etkileri nedeniyle tercih edilmez. Metronidazol, erişkinlerde 200-750mg günde üç kez 5-10 günlük tedavi şeklinde verilir (38). Ketokonazol, ornidazol, tinidazol, trimetoprim-sülfametoksazol ve paromomisin parazite etkili diğer ilaçlardır. Özellikle parazitin kist formu gibi metronidazole direnç durumlarında paromomisin veya trimetoprim-sülfametoksazol ile kombinasyon tedavisi tercih edilir (55).

Blastocystis'in fekal-oral yolla bulaşması nedeniyle enfeksiyondan korunmak için hijyenik koşulların sağlanması, kontamine su ve yiyeceklerin tüketilmemesi, toplumsal eğitim ve sanitasyonun sağlanması gereklidir (38, 54).

DIENTAMOEBA FRAGILIS

Tarihçe ve Sınıflama

Dientamoeba fragilis ilk olarak 1918 yılında M.W. Jepps ve C. Dobell tarafından apatojen amip olarak tanımlanmıştır. Jepps ve Dobell bu yeni parazite; 8-10 µm boyutunda çift nükleuslu olması, amipe benzemesi, insan vücudu dışında morfolojik olarak kolay parçalanması ve fragil olması nedeniyle *D. fragilis* adını vermişlerdir ve protozoonu *Entamoebidae* ailesi içerisinde sınıflandırmışlardır (56).

Dobell 1940 yılında, *D. fragilis* ve *Histomonas meleagridis* arasında yakın morfolojik benzerlik olduğunu belirtmiş ve gerçek bir flagella gösterilmemesine

rağmen flagellalılar grubuna dahil edilmesi gerektiğini önermiştir (57). Parazit daha sonra 1953 yılında *Entamoebidae* ailesinden çıkarılıp *Dientamoebidae* ailesi içerisinde sınıflandırılmıştır (58).

Jel diffüzyonu ve immunoelektroforez yöntemleri kullanılarak 1972 ve 1974 yıllarında yapılan çalışmalarda *Trichomonas*, *Histomonas* ve *Dientamoeba* arasında antijenik yapı bakımından benzerlik bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca *Dientamoeba*'nın *Entamoeba histolytica* ile antijenik benzerlik göstermediği de vurgulanmıştır (59, 60). 1980 yılında *Dientamoeba*, *Histomonas*, *Monocercomonas* ve *Trichomonas* ile birlikte *Trichomonadida* içerisinde yeniden sınıflandırılmıştır (61).

Moleküler yöntemler, ilk olarak 1996 yılında *Dientamoeba*'nın taksonomik sınıflamasında kullanılmıştır. Bu döneme kadar geleneksel fenotipik yöntemlerden faydalanılmıştır. Moleküler filogeni çalışmaları *D. fragilis*'in küçük alt birim ribozomal RNA (SSU rRNA) dizilerini tespit etmeye yönelik uygulanmış olup, parazitin kamçılı trikomonadlar ile yakın ilişkili olduğu belirtilmiştir (58).

D. fragilis'in güncel taksonomik sınıflandırması (62)

Alem (kingdom) : Excavata

Alt alem (subkingdom): Metamonada

Kök (phylum) : Parabasalia

Sınıf (class) : Tritrichomonadidae

Takım (order) : Trichomonadidae

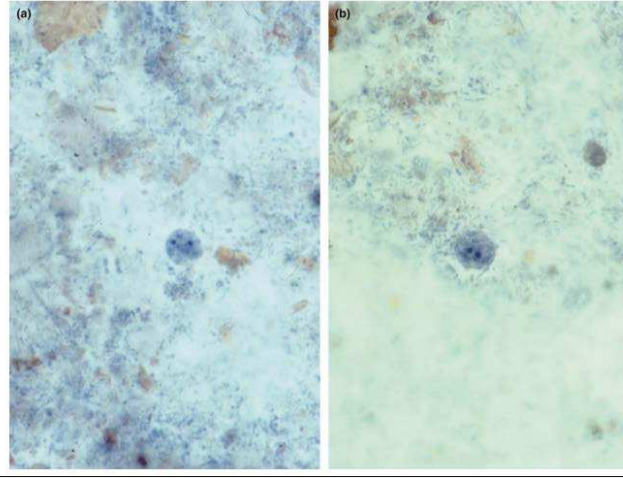
Aile (family) : Dientamoebidae

Cins (genus) : *Dientamoeba*

Tür (species) : *Dientamoeba fragilis*

Morfolojik Özellikler

D. fragilis genellikle trofozoit formunda ve 4–20 µm (ortalama 5–15 µm) boyutunda olup %60-70 oranında çift çekirdekli, %30-40 oranında tek çekirdekli. Demir-hematoksilen ve trikrom boyalı preparatlarda nükleer membran fragildir ve periferik kromatin görülmez. Çekirdek içerisinde 4-8 adet kromatin granülleri bulunmaktadır. Protozoonun sitoplazması granüllü ve vakuollü gözükmeyle birlikte, içerisinde besin inklüzyonları ile sindirilmiş bakteri ve maya artıkları bulunmaktadır (şekil 5) (58).



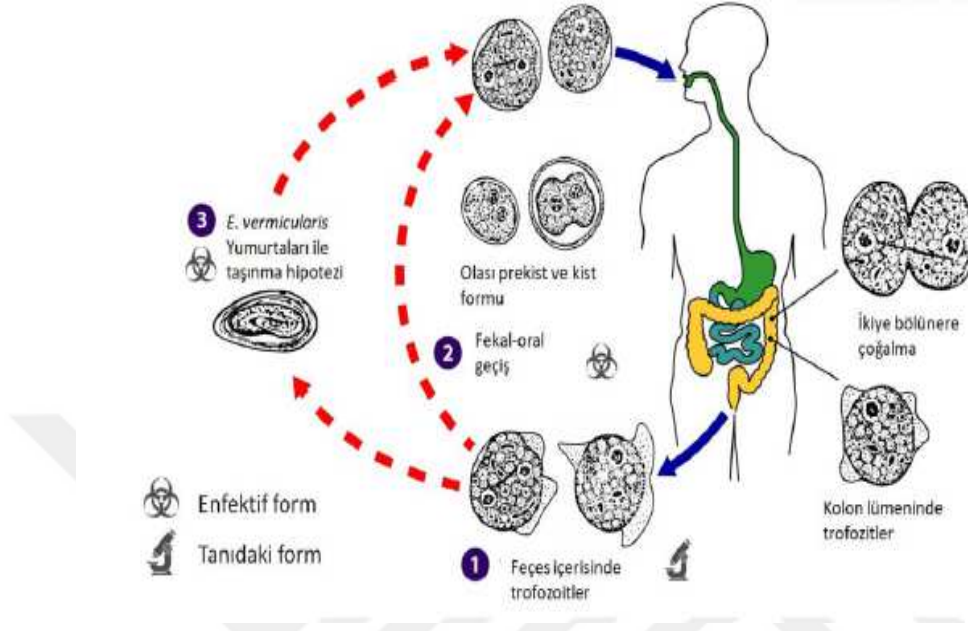
Şekil 5. Modifiye demir-hematoksilen boyamasında çift çekirdekli *D. fragilis* trofozoitleri (58)

D. fragilis'in preistik formu insanlardan alınan örneklerde gösterilmiştir. Bu form, 3.5-5 µm boyutlarında, bir ya da iki nükleusa sahip, granüler ve homojen sitoplazmadan oluşmaktadır. Preistik formu, kist formuna göre daha sık görülmekle birlikte örneklerin %5'inden fazlasında tespit edilmektedir. Kist formunun önceleri yalnızca hayvan konaklarda görüldüğü tahmin edilmekteydi. Fakat 2014 yılında ABD ve Avustralya'daki iki ayrı laboratuvarında insan gaita örneklerinde saptandığı bildirilmiştir (63).

Yaşam Döngüsü ve Bulaş

Yapılan çalışmalar *D. fragilis*'in, *Enterobius vermicularis* ve *Ascaris lumbricoides* gibi helmint yumurtalarıyla bulaştığını göstermiştir. Preistik ve kist formlarının tanımlanmış olması bulaşın farklı yollarla da gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Protozoonun preistik ve kist formlarının, insan gaita örneklerinde

nadir saptanmasına rağmen fekal-oral bulaşta rol oynayabileceği düşünülmektedir (şekil 6) (64).



Şekil 6. *Dientamoeba fragilis* yaşam döngüsü.

(<https://www.cdc.gov/dpdx/dientamoeba/index.html> adresinden 04.03.2021 tarihinde erişilmiştir.)

Epidemiyoloji

D. fragilis genellikle gelişmiş ülkelerde daha sık görülür ve prevalansı %0.4-71 arasındadır. Direkt mikroskopi ile görülme sıklığı %1-20 iken moleküler yöntemlerle görülme sıklığı %60-70'tir (62). Danimarka ve Hollanda'da yapılan iki epidemiyolojik çalışmada, *D. fragilis*'in görülme sıklığının sırasıyla %43 ve %22 olduğu belirtilmiş, Danimarka'daki çalışmada prevalansın çocuklarda %70'lere ulaştığı bildirilmiştir (9).

Ülkemizde *D. fragilis* prevalansı %0.2-9 arasında değişmektedir. Ankara'da yapılan bir çalışmada 85707 dışkı örneğinin %9'unda parazit saptanmıştır (65). Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda Manisa'da %8.8 ve Kayseri'de %10.7 oranında tespit edilmiştir (66, 67).

D. fragilis'in günümüzde iki adet genotipi tanımlanmış olup genotip 1'in insanlarda en sık saptanan genotip olduğu belirtilmiştir. Genotip 2'nin nadir

görüldüğü ve asıl konağının hayvanlar olduğu, insanların ise rastlantısal konak olduğu düşünülmektedir (68).

Klinik

D. fragilis, önceleri Jepps ve Dobell tarafından apatojen olarak tanımlansa bile çok çeşitli semptomlara neden olmaktadır (69). Parazit asemptomatik olabileceği gibi aralıklı diare, karın ağrısı, bulantı, iştahsızlık, halsizlik, yorgunluk, kilo kaybı ve açıklanamayan eozinofili gibi semptomlara neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda hastaların %50'sinde eozinofili görüldüğü bildirilmiştir. En sık görülen semptomlar aralıklı diare, karın ağrısı ve yorgunluktur. Bazı hastalarda uygun tedavi verilinceye kadar persistan enfeksiyonlar veya reenfeksiyonlar görülebilmektedir (64).

Fekal kalprotektin çoğunlukla nötrofil, monosit, makrofaj ve submukozal epitel hücrelerinden salgılanmakta ve intestinal inflamasyonu göstermektedir. Fekal kalprotektin birçok bağırsak hastalığında tanı belirteci olarak kullanılmaktadır ve *D. fragilis* ile enfekte olan hayvanlarda ve insanlarda yüksek bulunmuştur (70).

Çalışmalarda ürtiker, kolanjit-kolesistit, kaşıntı, kolit, allerjik kolit ve irritabl bağırsak sendromu ile *D. fragilis* arasında ilişki olabileceği gösterilmiştir (71).

Tanı

D. fragilis'in keşfinden bu yana 100 yıl geçmesine rağmen bu protozoonu tespit etmek için halen az sayıda yöntem mevcuttur. Parazitin kesin tanısı kalıcı boyama yöntemleriyle direkt mikroskopiye dayanmaktadır (72). Laboratuvarlar tarafından rutin olarak sık kullanılmasa da moleküler yöntem olan real-time PCR başka bir tanı yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır.

Nativ-lugol direkt mikroskopik incelemelerde *D. fragilis* nonspesifik yuvarlak bir şekil olarak gözükmekte ve karakteristik nükleus yapıları görülememektedir. Trofozoit yapısı çabuk dejenere olduğu için kalıcı fiksasyon gereklidir. Bu nedenle protozoonun tespiti için fiksasyon sonrası kalıcı boyama yapılmaktadır. Birçok farklı boya ve fiksatif tanıda kullanılabilmektedir. Civa bazlı bileşikler, sodyum asetat asetik asit formalin (SAF), modifiye Schaudinn fiksatifi ve

timerosal (Mertiolat) iyodin formalin uygun fiksatiflerdir. Boyama için en sık demir hematoksilen ve trikrom boyaları kullanılmakla beraber Mayer's hemalum ve Lawless' boyası da kullanılabilir. Kalıcı boyama yöntemiyle incelemenin deneyim gerektirmesi ve zaman alıcı olması gibi dezavantajları mevcuttur (62).

D. fragilis'i üretmek için birçok kültür yöntemi mevcut olmasına rağmen günümüzde aksenik kültürler kullanılmamaktadır. *D. fragilis*, çoğunlukla *Escherichia coli*'nin olduğu flora içeren ksenik kültürlerde üremektedir. Kültür için Boeck ve Drbohlav'ın besiyeri, Robinson besiyeri, Dobell ve Laidlaw besiyeri, Cleveland-Collier besiyeri, Balamuth besiyeri ve TYGM-9 gibi çok sayıda besiyeri farklı sıcaklık ve koşullarda kullanılabilir. Bifazik Loeffler besiyeri kullanılarak 42°C sıcaklık ve mikroaerofilik koşullarda en iyi üreme ortamı sağlandığı gösterilmiştir (62, 64, 73).

Dışkı örneklerinde *Cryptosporidium* spp., *Giardia intestinalis* ve *E. histolytica* tanısı için uygun monoklonal antikorların kullanıldığı immünofloresan mikroskopi, enzim immunoassay ve immünokromatografik testler gibi tanı yöntemleri mevcut olmasına rağmen bu tanı yöntemleri *D. fragilis* için kullanılmamaktadır (74). Literatürde indirekt floresan antikor testi gibi yöntemlerin kullanıldığı çalışmalar bulunmakta olup bu çalışmalar gelecekte enzim immunoassay gibi tanı yöntemlerinin geliştirilebilmesi için umut vadetmektedir (62).

Moleküler yöntemler *D. fragilis* tanısında alternatif tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Mevcut moleküler yöntemler birkaç saat içerisinde parazitin hızlı tanısına olanak sağlamaktadır (62). Konvansiyel PCR yönteminin duyarlılığı 88.9% ve özgüllüğü %100 iken RT-PCR yöntemi %100 duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (64).

Tedavi ve Korunma

D. fragilis enfeksiyonunu antimikrobiyal ajanla tedavi etmenin klinik semptomları hafiflettiğini gösteren birçok çalışma mevcuttur. Parazitin tedavisinde eritromisin, karbarson, iyodokinol, kliokinol, diphetarson, doksisisiklin, oksetetrasiklin, paromomisin ve tetrasiklin ile 5-nitroimidazol türevlerinden başta metronidazol olmak üzere ornidazol, tinidazol, seknidazol de kullanılabilir.

(75). Bununla birlikte istatistiksel olarak anlamlı büyüklükte bir örneklemin kullanıldığı bu ilaçların etkinliğinin araştırıldığı randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Literatürdeki çalışmaların çoğu vaka çalışması şeklindedir veya yeterli kontrol grubu içermemektedir. *D. fragilis* enfeksiyonları tedavisinde kullanılan ilaçların çalışıldığı büyük ölçekli, randomize, çift kör, kontrollü çalışmaların yapılması gerekmektedir (62).

D. fragilis fekal-oral yolla insana bulaşmaktadır. Parazit *E. vermicularis* yumurtaları ve prekist-kist formu ile insandan insana bulaşmaktadır. Bu nedenle enfeksiyondan korunmak için genel hijyen kurallarına ve sanitasyona uyulmalıdır. Kişisel korunma önlemleri arasında el temizliğine dikkat edilmesi ve kontamine yiyeceklerin yıkanması gerekmektedir. Özellikle toplu yaşam alanlarında hijyen kurallarına uyulması ve bulaşın engellenmesi açısından bu ortamları paylaşan insanlara gerekli eğitimlerin verilmesi gerektiği belirtilmektedir (76).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

GEREÇLER

Laboratuvar Gereçleri

- Işık mikroskopu: Leica, Almanya
- Çeker ocak: Metisafe, Türkiye
- Biyolojik güvenlik kabini: Nuaire, ABD
- Buzdolabı: Bosch, Almanya
- Derin dondurucu (-80°C): Thermo Scientific, ABD
- Etüv: Nüve, Türkiye
- Santrifüj cihazı: Nüve, Türkiye
- Mikrosantrifüj tüpleri: 2 ml, 1.5 ml
- Vortex: Boeco U-32, Almanya
- Lam-lamel
- Vida kapaklı dışkı toplama kabı: 50 ml
- Fekal parazit konsantrasyon tüpü: Mini Parasep SF, Apacor, UK
- Boya şaleleri

- Otomatik pipetler: 100-1000 µl, 10-100 µl, 0.5-10 µl
- Steril pipet uçları: 1000 µl, 100 µl, 40 µl, 20 µl, 10 µl
- Doku parçalayıcı: Disruptor Genie, ABD
- Kuru ısı bloğu: Biosan, Türkiye
- Isı döngü cihazı: Qiagen, Almanya
- Pamuk uçlu eküvyon
- Tüp sporu
- Mikrosantrifüj tüpü saklama kutusu
- Gazlı bez
- Cam boncuk: BioSpec, 0.1 mm
- Pasteur pipeti

Kimyasal Maddeler

- Etil alkol
- Shaudinn fiksatif
- Distile su
- Trikróm boya
- Karbolik asit (fenol)
- Ksilén
- Lugol solüsyonu
- Potasyum iyodür (KI)
- İyot kristalleri (I₂)
- % 0.9 NaCl solüsyonu
- Bakır sülfat (CuSO₄.5H₂O)
- Gliserin
- Glasiyal asetik asit
- %1 Sülfirik asit
- Metil alkol
- %10 Formol
- Steril at serumu
- İmmersiyon yağ

ARAŞTIRMANIN YÖNTEMİ

Etik Kurul Onayı

Çalışma için SBÜ Tıp Fakültesi Dekanlığından tez konusu onayı (2019/28957), SBÜ Ankara EAH Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu'ndan çalışma onayı, SBÜ Ankara EAH Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 26.12.2019 tarihli ve E-19 155-no'lu etik kurul onayı alınmıştır. Çalışmaya katılan hasta grubundaki bireylere (Bkz. EK-1) ve kontrol grubundaki bireylere (Bkz. EK-2) bilgilendirilmiş onam formu imzalatılmıştır.

Hasta ve Kontrol Gruplarının Seçimi

Ocak 2020-Ağustos 2020 tarihleri arasında TC. Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniğine başvuran ÇH tanısı olan, 18 yaş üstü ve çalışmaya katılma için aydınlatılmış onamı alınan 75 birey hasta grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Kontrol grubu olarak ise ÇH tanısı olmayan, bilinen herhangi bir hastalığı olmayan, 18 yaş üstü ve çalışmaya katılmaya gönüllü olan 75 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi.

Hasta Takip Formu

Hasta ve kontrol gruplarına dahil edilen tüm bireyler için yaş, cinsiyet, uyruk gibi bilgilerin, iştahsızlık, kabızlık, ishal, karın ağrısı, bulantı-kusma, kilo kaybı, yorgunluk, şişkinlik, gaz, döküntü, anemi gibi semptomların ve ailede ÇH öyküsü ile glutensiz diyet öyküsünün sorgulandığı, dışkının makroskobik görünümü, dışkının direkt mikroskobi, konsantrasyon yöntemi sonrası mikroskopi, trikrom boyama, *Blastocystis* kültürü ve RT-PCR sonuçlarının kaydedildiği hasta takip formu doldurulmuştur (Bkz. EK-3).

Örneklerin Toplanması ve Laboratuvarda İncelenmesi

Çalışmaya dahil edilen bireylerden alınan taze dışkı örnekleri 30 dakika içerisinde Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na ulaştırıldı. Laboratuvara ulaşan dışkı örnekleri makroskopik incelemenin ardından direkt mikroskopik inceleme (nativ-lugol), konsantrasyon yöntemi sonrası direkt mikroskopik inceleme (nativ-lugol) ve trikrom boyama yöntemleri ile *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı açısından incelendi. Ayrıca *Blastocystis* spp. varlığının tespiti için taze dışkı örneklerinin Jones besiyerine ekimi yapılarak *Blastocystis* kültürleri yapıldı. Daha sonra yapılacak moleküler çalışmalar için taze dışkı örnekleri mikrosantrifüj tüplerine alınarak -80°C'de dondurularak saklandı.

Moleküler yöntemler ile *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığının değerlendirilmesi Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Mikrosantrifüj tüplerinde saklanmış dışkı örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı ve RT-PCR yöntemiyle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı araştırıldı.

Dışkı Örneklerinin Direkt Mikroskopik İncelenmesi

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların dışkı örneklerinin direkt mikroskopik incelemesi serum fizyolojik ve lugol solüsyonlarıyla hazırlanarak aynı lam üzerinde yapıldı.

- a. Nativ direkt bakı yöntemi:** Temiz bir lam üzerine pastör pipetiyle bir damla % 0.9'luk NaCl solüsyonu damlatıldı. Numune kabından örnek çubuğuyla küçük bir parça dışkı alındı. Alınan dışkı lam üzerindeki % 0.9'luk NaCl solüsyonu ile karıştırılarak homojenize edildi. Lamın üzeri bir lamelle kapatılarak tüm alan ışık mikroskopunda x100 ve x400 büyütme ile incelendi..
- b. Lugol direkt bakı yöntemi:** Kullanımdan önce bir birim stok lugol solüsyonu, beş birim distile suyla sulandırıldı.

Stok Lugol solusyonu

- Potasyum iyodür(KI): 10 gr

- İyot kristalleri(I₂): 5 gr
- Distile su: 100 ml

Temiz bir lam üzerine pastör pipetiyle bir damla lugol solüsyonu damlatıldı. Numune kabından örnek çubuğuyla küçük bir parça dışkı alındı. Alınan dışkı lam üzerindeki lugol ile karıştırılarak homojenize edildi. Lamın üzeri bir lamelle kapatılarak ışık mikroskopunda (x100-x400) büyütmede tüm alan incelendi.

Konsantrasyon Sonrası Direkt Mikroskopik İnceleme

Dışkı örneklerinin konsantrasyonunun sağlanması amacıyla ticari olarak kullanıma hazır fekal konsantrasyon tüpleri (Mini Parasep SF, Apacor, UK) kullanıldı. Birinde fiksatif solüsyon diğerinde ise filtre bulunan ve birbirine monte edilebilen iki tüpten oluşan tüpün içerisinde Triton-x-100 ile tamponlanmış %10'luk formalin bulunmaktadır.

Solüsyon bulunan tüpün kapağı açılıp diğer tüpte bulunan kaşık yardımıyla numune kabından bir miktar dışkı alındı. Üç birim fiksatif bir birim dışkı olacak şekilde içinde dışkı bulunan kaşık, solüsyon bulunan tüpün içine konuldu ve vidalı bağlantı yerinden kapatıldı. Tüp ters çevrilerek (filtre bulunan tüp alt tarafa gelecek şekilde) 2 dakika 400 rpm'de santrifüj edildi. Tüpteki örnek iyice vortekslendi ve dışkının fiksatifle karışması sağlandı. Santrifüjden sonra süpernatant kısmı döküldü. Geride kalan sedimentten pastör pipetiyle bir miktar alınarak %0.9 NaCl ve lugol ile lam-lamel arası preparat hazırlandı. Hazırlanan preparat mikroskopta x100 ve x400'lük büyütmelerde incelendi.

Trikrom Boyama Yöntemi

a. Boyama için ön hazırlık:

1. Schaudinn fiksatif (Bakır sülfat modifikasyonu):

Doymuş bakır sülfat solüsyonu

Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$): 20 gr
Distile su: 1000 ml

Bakır sülfat, distile su içinde benmari usulü ısıtılarak eritildi. Solüsyon soğumaya bırakıldı ve kapaklı cam şişede kullanılıncaya kadar saklandı.

Schaudinn fiksatif (Bakır sülfat modifikasyonu)

Doymuş bakır sülfat solüsyonu: 600 ml
Etil alkol (%95'lik): 300 ml
Gliserin: 15 ml
Glasiyal asetik asit: 5 ml

Doymuş bakır sülfat solüsyonu, etil alkol ve gliserin ile karıştırıldı. Kullanılıncaya kadar kapaklı cam şişede saklandı. Kullanmadan hemen önce her 100 ml stok solüsyona 5 ml glasiyal asetik asit eklendi.

2. D'Antoni'nin iyot solüsyonu:

Potasyum iyodür (KI): 1 gr
İyot kristalleri (I_2): 1.5 gr
Distile su: 100 ml

Solüsyon kırmızımsı kahverengi olana kadar cam erlende karıştırıldı ve filtre kağıdından süzüldü.

%70'lik etil alkole (70 ml etil alkol + 30 ml distile su) demli çay renginde olana kadar D'Antoni'nin iyot solüsyonu eklendi ve renkli cam şişelerde saklandı.

3. %90'lık asit alkol:

Glasiyal asetik asit: 4.5 ml
%90 etil alkol: 995.5 ml

%90'lık etil alkole glasiyal asetik asit eklendi ve kapaklı cam şişede oda sıcaklığında saklandı.

4. Karbol-Ksilen solüsyonu:

Karbolik asit (fenol): 1 hacim

Ksilen: 3 hacim

1 hacim karbolik asit ve 3 hacim ksilen karıştırıldı ve kapaklı cam şişede saklandı.

5. Trikrom boyası:

Çalışmada ticari olarak hazır trikrom boyası (BESLAB, Türkiye, Lot No:11042016.0001) kullanıldı.

b. Test Prosedürü:

1. Boyama için 12 adet kapaklı cam şale kullanıldı. Her bir şalenin üzerine kullanım sırasına göre sıra numarası, hangi solüsyon olduğu, lamaların içinde ne kadar süre kalması gerektiği ve solüsyonun şaleye konulma tarihi yazıldı. Boyama işlemi yapılırken süreyi takip edebilmek için kronometre kullanıldı. Lamalar bir solüsyondan diğerine aktarılırken kurutma kağıdına bir önceki solüsyonun damlaları emdirildi. Böylece bir sonraki solüsyonun kirlenmemesi sağlandı.
2. Temiz bir tahta eküvyonla taze dışkı örneğinden bir miktar alınarak temiz bir lamın 1/3'ini kaplayacak şekilde ince bir yayma hazırlandı.

Yaymalar tam kurumadan Schaudinn fiksatifine daldırıldı ve en az 30 dakika, en çok bir gece bekletildi.

3. Tespit edilmiş lamalar, %70'lik alkol solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
4. Lamalar %70'lik etil alkol eklenmiş D'Antoni'nin iyot solüsyonunda 3-5 dakika bekletildi
5. Lamalar %70'lik alkol solüsyonunda 2-5 dakika bekletildi.
6. Lamalar tekrar %70'lik alkol solüsyonunda 2-5 dakika bekletildi.
7. Lamalar trikrom boyası içeren şalede 8-10 dakika bekletildi.
8. Dekolarizasyon için 2-3 saniye %90 asit-alkol solüsyonuna daldırıldı.
9. Lamalar %95 alkole daldırıldı.
10. Lamalar tekrar %95 alkolde çalkalandı.
11. Lamalar karbol-ksilen solüsyonunda 2 dakika bekletildi.
12. Lamalar tekrar karbol-ksilen solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
13. Lamalar ksilende 2 dakika bekletildi.
14. Lamalar tekrar ksilende 5 dakika bekletildi. Kuruyan preparatlar ışık mikroskopunda x100 immersiyon objektifinde incelendi.

***Blastocystis spp.* Kültür Yöntemi-Jones Besiyeri**

1. Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl, maya özütü ve distile su ağzı kapaklı cam şişede karıştırıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Oda ısısına geldikten sonra ekim yapılana kadar 4°C'de saklandı. Ekim öncesi solüsyon gerekli miktarda buzdolabından dışarı alınarak oda ısısına getirildi.
2. Mikrosantrifüj tüplerine 1350 µl Jones besiyeri ve 150 µl inaktive edilmiş at serumu eklendi.

3. Taze dışkıdan eküvyon çubuğu ile 50 mg civarında (kırmızı mercimek kadar) alınarak kültür tüplerine aktarıldı. Ağız sıkıca kapatılarak 37°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakıldı.
4. İnkübasyon sonrasında tüp dibinden Pasteur pipeti yardımıyla alınan bir damla örnekle hazırlanan preparat ışık mikroskopunda x100 ve x400 objektiflerle incelendi.
5. Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların dışkı örneklerinin Jones besiyerinde kültürü yapılarak *Blastocystis* üremesi değerlendirildi.

Dışkı Örneklerinden DNA İzolasyonu Yapılması

Mikrosantrifüj tüplerinde -80°C'de saklanan dışkı örneklerinden *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* DNA'sının izolasyonu için QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanıldı.

1. Saklanan dışkı örneklerinin -80°C'den çıkarılıp oda ısısında çözülmesi sağlandı. Mikrosantrifüj tüplerine 25 mg cam boncuk konulup üzerlerine 1 ml InhibitEX buffer eklendi.
2. InhibitEX buffer ve cam boncuk eklenmiş tüplere 180-220 mg dışkı örneği koyulup tamamen homojenize oluncaya kadar, doku parçalayıcıda 10 dakika vortex yapıldı.
3. Elde edilen süspansiyon 70°C'de 5 dakika inkübe edildikten sonra tekrar bir dakika vortekslendi.
4. Tüpler 14 000 rpm'de bir dakika santrifüj edildi.
5. Yeni bir mikrosantrifüj tüpüne 20 µl Proteinaz K eklendikten sonra bir önceki adımda elde edilen süspansiyonun süpernatant kısmından 400 µl pipetlenip Proteinaz K içeren mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
6. Tüplere 400 µl AL eklenip 15 saniye vortekslendi.
7. Tüplerin 70°C'de 10 dakika inkübasyonundan sonra tüp kapaklarındaki damlacıkları önlemek için tekrar santrifüj yapıldı.
8. Süspansiyona 400 µl etanol (%96-100) eklendikten sonra 15 saniye vortekslendi.

9. Süspansiyondan 600 µl pipetlenip QIAamp spin kolona aktarıldı. 1 dakika 14 000 rpm’de santrifüj uygulandıktan sonra spin kolondaki süspansiyon yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılıp filtratı içeren tüp atıldı. Bu aşama tüm süspansiyon bitene kadar iki kere tekrarlandı.
10. Spin kolona 500 µl Buffer AW1 eklenip 1 dakika 14 000 rpm’de santrifüjlendi. QIAamp spin kolon yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılıp filtratı içeren tüp atıldı.
11. Spin kolona 500 µl Buffer AW2 eklenip 3 dakika 14 000 rpm’de santrifüjlendi. QIAamp spin kolon yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılıp filtratı içeren tüp atıldı.
12. QIAamp spin kolon yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılıp filtratı içeren tüp atıldıktan sonra 3 dakika boyunca 14 000 rpm’de santrifüjlendi.
13. QIAamp spin kolon yeni bir 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılıp 200 µl ATE buffer QIAamp membranın üzerine gelecek şekilde pipetlendi. 1 dakika oda ısısında inkübe edildikten sonra 1 dakika 14 000 rpm’de santrifüjlenip kolon atıldı.

Elde edilen DNA alikotlanıp her tüpün üzerine örnek numarası yazılarak kapakları parafilm ile sarıldı ve -80°C’de saklandı.

***Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* Real time-PCR Yöntemi**

Blastocystis ve *D. fragilis* varlığını saptamak için hidroliz(Taqman) problu RT-PCR yöntemi kullanıldı. *Blastocystis* RT-PCR için PrimeTimeAssay (Blasto FWD F5 ve Blasto R F2 primerleri ve probu) (Sentegen Biotech, Türkiye) *D. fragilis* için ise DF3 ve DF4 primerleri ve probu (Sentegen Biotech, Türkiye) kullanıldı. Kullanılan primer ve proplar tablo 2’de gösterilmiştir.

Her iki parazite ait RT-PCR amplifikasyonu için toplam 16 µl’den oluşan benzer PCR karışımı hazırlandı. Reaksiyonda karışım tamponu olarak iTaq Universal Probes Supermix (Bio-Rad, ABD) kullanıldı (Tablo 3, 4). *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis*’in RT-PCR amplifikasyonu için optimizasyon çalışmaları önceden Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılmıştır. Optimizasyon sonuçlarına dayanarak amplifikasyon için RotorGene Q (Qiagen,

Almanya) RT-PCR cihazında yaklaşık bir saat süren PCR protokolü kullanıldı ve her iki protozoon için <35 Ct altındaki değerler pozitif olarak kabul edildi (Tablo 5)

Tablo 2. *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* real time PCR için kullanılan primer-prob oligonükleotid dizileri

Protozoon	Oligonukleotid	Dizi (5'-3')	Ampli kon boyu (bp)	Kaynak
<i>Blastocystis</i> spp.	Blasto_R_F2	CCTACGGAAACCTTGTTA CGACTTCA	118	(77)
	Blasto_FWD_F5	GGTCCGGTGAACACTTTGGATTT		
	Probe	FAM-TCGTGTAAATCTTAC CATTTAGAGGA-MGB NFQ		
<i>Dientamoeba fragilis</i>	DF4	TGATCCAATGATTTTACCGAGTCA	78	(78)
	DF3	GTTGAATACGTCCCTGCCCTTT		
	Probe	FAM-CACACCGCCCGTCGCTCCTACCG-TAMRA		

Tablo 3. *Blastocystis* spp. real time PCR için reaksiyon karışımı

Bileşenler	Hacim(μl)
Universal MasterMix	8
PrimeTimeAssay	1.6
dH ₂ O	4.4
DNA	2
Toplam	16

Tablo 4. *D. fragilis* real time PCR için reaksiyon karışımı

Bileşenler	Hacim(μl)
Universal MasterMix	8
Probe	0.5
DF4	0.8
DF3	0.8
dH ₂ O	3.9
DNA	2
Toplam	16

Tablo 5. Real time PCR için kullanılan amplifikasyon protokolü

Sıcaklık	Süre	Protokol	Döngü sayısı
95 ⁰ C	3dk	Ön Denatürasyon	1 döngü
95 ⁰ C	10sn	Denatürasyon	40 döngü
57 ⁰ C	30sn	Primer bağlanması	

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME/ANALİZ

Analizlerde IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versiyon 25 programı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılmıştır. Kontrol ve hasta grupları bazında yaş gibi değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram, boxpolt, QQ—PP grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnow/Shapiro-Wilk testleri, Skewness/Kurtosis) incelendi. Çalışmamızda sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum kullanılırken kategorik değişkenler için frekans verileri (sayı ve yüzde) kullanılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar yapılırken normal dağılıma uymayan nonparametrik sayısal değişkenler için Mann-Whitney U, kategorik değişkenlerde Ki-kare ya da Yates Düzeltmeli Ki-kare ve Fisher testleri (hücrelerde gözlenen değerlerin Ki-kare testi varsayımlarını sağlamadığı durumda) kullanılmıştır. *Blastocystis spp.* ve *Dientamoeba fragilis* saptanması açısından konvansiyonel ve moleküler yöntemlerin karşılaştırılmasında bağımlı gruplarda Ki-kare testi(McNemar testi) ve yöntemler arası tutarlılık analizi için Cohen kappa testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya hasta grubu olarak dahil edilen ve çölyak hastalığı tanısı olan toplam 75 hastanın 59 (%78.7)'u kadın, 16 (%21.3)'sı erkekti. Çalışmaya kontrol grubu olarak dahil edilen ve çölyak hastalığı bulunmayan toplam 75 gönüllünün 60 (%80)'i kadın, 15 (%20)'i erkekti. Hasta ve kontrol gruplarındaki bireylerin yaş ortalamaları sırasıyla 40.21±13.69 ve 40.85±13.28 olarak tespit edildi (Tablo 6).

Gruplar arasında yaş, cinsiyet ve uyruk açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

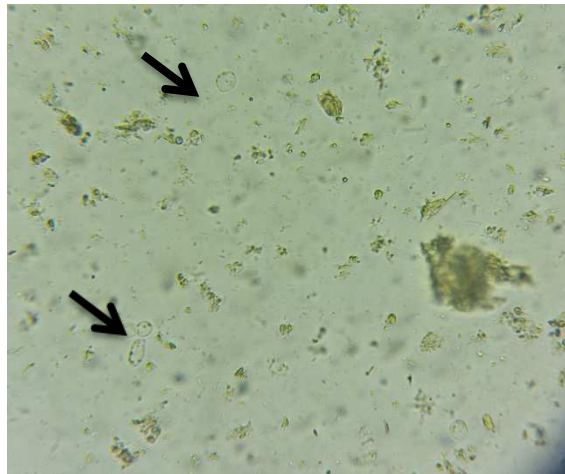
Tablo 6. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları

	Hasta Grubu (n=75) Ortalama $\pm$ SD	Kontrol Grubu (n=75) Ortalama $\pm$ SD	p
Yaş	40.21 $\pm$ 13.69	40.85 $\pm$ 13.28	0.704* (MWU-Z=-0.380)
Cinsiyet	Kadın	59(%78.7)	0.840**(r=0.41)
	Erkek	16(21.3)	

*: Mann Whitney U Test **: Ki kare testi

Dışkı örneklerinin makroskopik incelemesinde hasta grubunda örneklerin %57.3'ü normal-yumuşak iken %42.7'si normal-katıydı. Kontrol grubunda ise örneklerin %48'i normal-yumuşak, %52'si normal-katıydı. Her iki grup arasında dışkı örneklerinin makroskopik görünümü açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.252$ $r=1.310$ $p>0.05$).

Dışkı örnekleri nativ-lugol direkt bakı yöntemiyle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı açısından değerlendirildiğinde hasta grubu örneklerinin 64 (%85.3)'ünde ve kontrol grubu örneklerinin 68 (%90.7)'inde parazit saptanmadı. Hasta örneklerinin 11 (%14.7)'inde ve kontrol grubu örneklerinin altısında(%8) *Blastocystis* spp. tespit edildi (Şekil 7). Hasta grubunda *D. fragilis* görülmezken kontrol grubunda sadece bir (%1.3) hastada *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* birlikte saptandı (Tablo 7).



Şekil 7. *Blastocystis* spp. nativ-lugol direkt bakı görüntüsü x400

Tablo 7. Nativ-lugol direkt bakı yöntemiyle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* görülme sıklıkları

NATİV-LUGOL DİREKT BAKI	Hasta Grubu (n=75)	Kontrol Grubu (n=75)
Parazit görülmedi	64(%85.3)	68(%90.7)
<i>Blastocystis</i> spp. görüldü	11(%14.7)	6(%8)
<i>Blastocystis</i> spp. + <i>D. fragilis</i> görüldü	0	1(%1.3)

Dışkı konsantrasyon işlemi sonrası yapılan direkt mikroskopik incelemede hasta grubunda 56 (%74.7) örnekte ve kontrol grubunda 59 (%78.7) örnekte parazit saptanmadı. Hasta grubunda 16 (%21.3) ve kontrol grubunda 15 (%20) örnekte *Blastocystis* spp. görülürken hasta grubunda sadece bir (%1.3) örnekte *D. fragilis* tespit edildi. *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* birlikteliği hasta grubunda iki (%2.7), kontrol grubunda ise bir (%1.3) örnekte saptandı (Tablo 8).

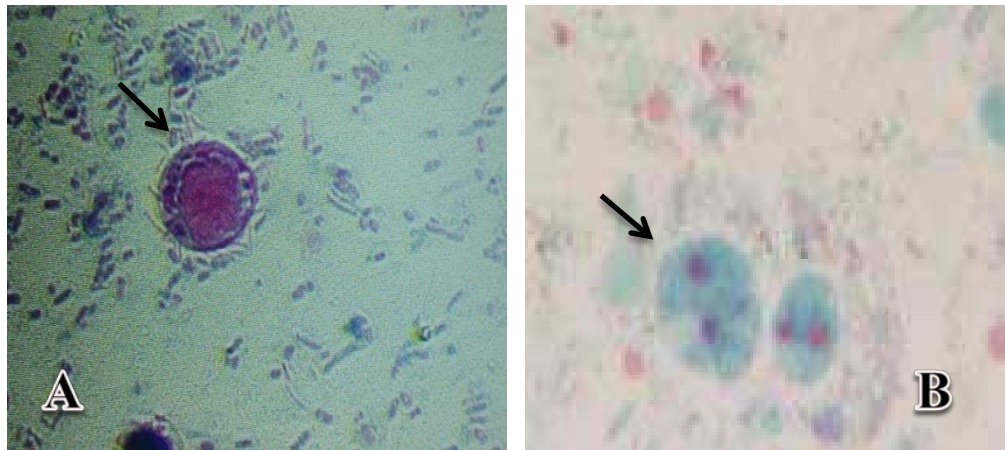
Tablo 8. Konsantrasyon sonrası mikroskopik inceleme yöntemiyle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* görülme sıklıkları

KONSANTRASYON SONRASI MİKROSKOBİK İNCELEME	Hasta Grubu (n=75)	Kontrol Grubu (n=75)
Parazit görülmedi	56(%74.7)	59(%78.7)
<i>Blastocystis</i> spp. görüldü	16(%21.3)	15(%20)
<i>D. fragilis</i> görüldü	1(%1.3)	0
<i>Blastocystis</i> spp. + <i>D. fragilis</i> görüldü	2(%2.7)	1(%1.3)

Trikrom boyama yöntemiyle hasta grubunda 56 (%74.7) örnekte ve kontrol grubunda 60 (%80) örnekte parazit saptanmadı. Hasta grubunda 16 (%21.3) ve kontrol grubunda 14 (%18.7) örnekte *Blastocystis* spp. görülürken sadece hasta grubunda bir (%1.3) örnekte *D. fragilis* tespit edildi (Şekil 8). *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* birlikteliği hasta grubunda iki (%2.7), kontrol grubunda bir (%1.3) örnekte saptandı (Tablo 9).

Tablo 9. Trikrom boyama yöntemiyle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* görülme sıklıkları

TRİKROM BOYAMA YÖNTEMİ	Hasta Grubu (n=75)	Kontrol Grubu (n=75)
Parazit görülmedi	56(%74.7)	60(%80)
<i>Blastocystis</i> spp. görüldü	16(%21.3)	14(%18.7)
<i>D. fragilis</i> görüldü	1(%1.3)	0
<i>Blastocystis</i> spp. + <i>D. fragilis</i> görüldü	2(%2.7)	1(%1.3)

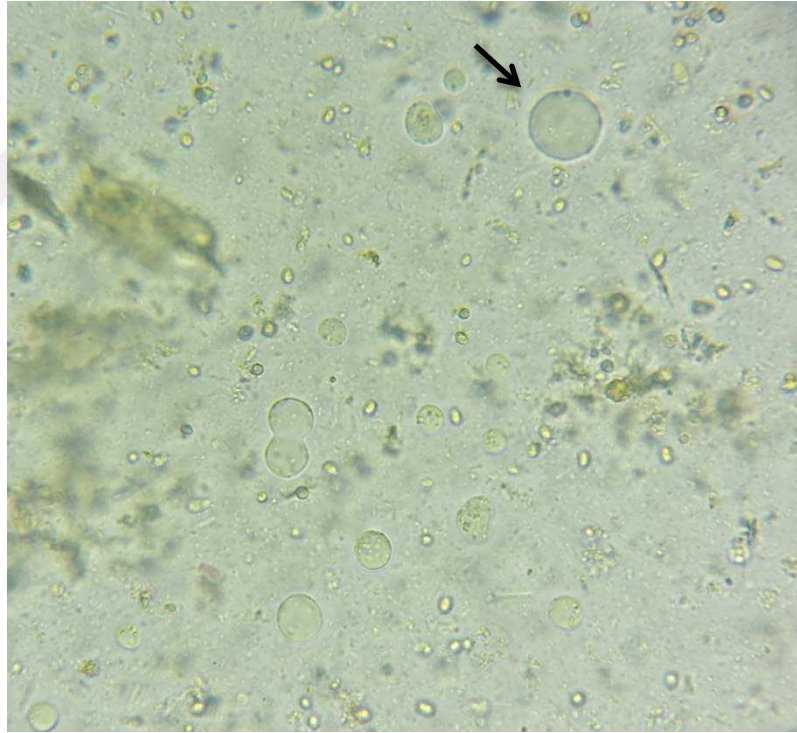


Şekil 8. A) *Blastocystis* spp. vakuoler formun trikrom boyamadaki görünümü x1000 B) *D. fragilis* trikrom boyamadaki görünümü x1000

Jones kültürü yöntemiyle hasta grubunda 23 (%30.7) örnekte ve kontrol grubunda ise 22 (%29.3) örnekte *Blastocystis* spp. tespit edildi (Şekil 9, Tablo 10). Her iki grup arasında kültür yöntemiyle *Blastocystis* spp. görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($r=0.032$ $p=0.859$ $p>0.05$).

Tablo 10. Jones kültürü yöntemiyle *Blastocystis* spp. görülme sıklıkları

JONES KÜLTÜRÜ	Hasta Grubu (n=75)	Kontrol Grubu (n=75)
<i>Blastocystis</i> spp. görülmedi	52(%69.3)	53(%70.7)
<i>Blastocystis</i> spp. görüldü	23(%30.7)	22(%29.3)



Şekil 9. Kültür yöntemi sonrası mikroskopik incelemede *Blastocystis* spp. görüntüsü x400

Moleküler yöntemle(RT-PCR) hasta grubunda 34 (%45.3) dışkı örneğinde *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* saptanmazken 23 (%30.7) örnekte izole *Blastocystis* spp. 10 (%13.3) örnekte izole *D. fragilis* ve sekiz (%10.7) örnekte *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* birlikte tespit edildi. Kontrol grubunda ise 36 (%48) örnekte bu protozoonlara rastlanmazken 29 (%38.7) örnekte izole *Blastocystis* spp. dört (%5.3) örnekte izole *D. fragilis* ve altı (%18) örnekte *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* birlikteliği saptandı (Tablo 11).

Hasta ve kontrol grupları en az bir yöntemle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($r=3.607$ $p=0.307$ $p>0.05$). Ayrıca çalışma grupları ayrı ayrı *Blastocystis* spp. ($r=0.433$ $p=0.511$ $p>0.05$) ve *D. fragilis* ($r=2.810$ $p=0.094$ $p>0.05$) varlığı açısından değerlendirildiğinde de istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Tablo 11. Real time PCR yöntemi ile *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* görülme sıklıkları

MOLEKÜLER YÖNTEM(RT-PCR)	Hasta Grubu (n=75)	Kontrol Grubu (n=75)
Parazit görülmedi	34(%45.3)	36(%48)
<i>Blastocystis</i> spp. görüldü	23(%30.7)	29 (%38.7)
<i>D. fragilis</i> görüldü	10(%13.3)	4(%5.3)
<i>Blastocystis</i> spp. + <i>D. fragilis</i> görüldü	8(%10.7)	6(%18)

Çalışmamıza dahil edilen tüm dışkı örneklerine uygulanan direkt bakı, konsantrasyon, trikrom boyama, kültür ve real time PCR yöntemlerinin *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* için istatistiksel karşılaştırılması tablo 12 ve tablo 13'te verilmiştir. Yöntemler arasındaki tutarlılık Kappa katsayısı ile değerlendirildi ve $\kappa \leq 0.21$ ise çok

zayıf derecede, $\kappa=0.21-0.40$ ise düşük derecede, $\kappa=0.41-0.60$ ise orta derecede, $\kappa=0.61-0.80$ ise yüksek derecede $\kappa \geq 0.81$ ise çok yüksek derecede tutarlı kabul edildi.

Tüm bireylerin dışkı örnekleri birlikte değerlendirildiğinde, konvansiyonel ve moleküler yöntemlerin *Blastocystis* spp. saptama açısından karşılaştırılmasında konsantrasyon sonrası mikroskopik incelemenin nativ-lugol direkt bakı yöntemine göre daha duyarlı olduğu görüldü (Tablo 12) Konsantrasyon yöntemiyle trikrom boyama yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$, Tablo 12). Konsantrasyon yöntemiyle Jones kültürü karşılaştırıldığında kültür yönteminin duyarlılığının daha fazla olduğu tespit edildi (Tablo 12). *Blastocystis* spp. saptanmasında moleküler yöntem(RT-PCR) altın standart kabul edildiğinde direkt bakı yönteminin tutarlılığı düşük derecede, konsantrasyon yöntemi ve trikrom boyama yönteminin tutarlılığı orta derecede, Jones kültür yönteminin tutarlılığı ise yüksek derecede bulundu (Tablo 12).

Tablo 12. Real time PCR yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde *Blastocystis* spp. saptanmasında yöntemlerin karşılaştırılması

KARŞILAŞTIRILAN YÖNTEMLER	Duyarlılık	Özgüllük	κ değeri	p
Nativ-lugol Direkt Bakı	%27.7	%100	0.296*	0.001**
Konsantrasyon Sonrası Mikroskopik İnceleme	%51.51	%100	0.543*	0.001**
Trikrom Boyama	%50	%100	0.528*	0.001**
Jones Kültürü	%68.18	%100	0.706*	0.001**

*:Kappa(tutarlılık testi) **: McNemar testi

D. fragilis saptanmasında nativ-lugol direkt bakı yöntemi, konsantrasyon sonrası mikroskopik inceleme ve trikrom boyama yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$, Tablo 13). RT-PCR yöntemi altın standart kabul edildiğinde direkt bakı yönteminin tutarlılığı çok zayıf derecede,

konsantrasyon yöntemi ve trikrom boyama yönteminin ise düşük derecede tespit edildi (Tablo 13).

Tablo 13. Real time PCR yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde *D. fragilis* saptanmasında yöntemlerin karşılaştırılması

KARŞILAŞTIRILAN YÖNTEMLER	Duyarlılık	Özgüllük	κ değeri	p
Nativ-lugol Direkt Bakı	%3.57	%100	0.057*	0.001**
Konsantrasyon Sonrası Mikroskopik İnceleme	%14.28	%100	0.213*	0.001**
Triokrom Boyama	%14.28	%100	0.213*	0.001**

*:Kappa(tutarlılık testi) **: McNemar testi

Çölyak hastalığı olan bireyler semptomlar bakımından sorgulandığında 31 (%41.3)'inde iştahsızlık, 36 (%48)'sında kabızlık, 29 (%38.6)'unda ishal, 32 (%42.6)'sinde karın ağrısı, 14 (%18.6)'ünde bulantı ve kusma, 23 (%30.6)'ünde kilo kaybı, 46 (%61.3)'sında yorgunluk, 39 (%52)'unda şişkinlik, 40 (%53.3)'ında gaz, 27 (%36)'sinde döküntü ve 25 (%33.3)'inde anemi vardı. Hasta grubunda dışkıda en az bir yöntemle *Blastocystis* spp. görülme durumuna göre semptomlar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak sadece döküntü semptomunun *Blastocystis* spp. görülen bireylerde daha sık oranda olduğu görüldü ($p<0.05$).

Hasta grubunda dışkıda en az bir yöntemle *D. fragilis* görülme durumuna göre semptomlar karşılaştırıldığında kilo kaybı, yorgunluk, şişkinlik ve gaz semptomlarının *D. fragilis* görülmeyen bireylerde daha sık oranda olduğu görüldü ($p<0.05$).

Glutensiz diyet sorgulandığında; hasta grubunda glutensiz diyetle uyuma durumu ve en az bir yöntemle *Blastocystis* spp. varlığı arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0.072$ $p>0.05$). Ayrıca aynı çalışma grubunun glutensiz diyetle uyuma durumu ve en az bir yöntemle *D. fragilis* varlığı arasında da anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0.441$ $p>0.05$).

TARTIŞMA

Çalışmamızda çölyak hastalığı tanısı olan ve olmayan erişkin bireylerde konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı araştırılmıştır. Çölyak hastalarında intestinal parazitlerin varlığı tartışmalı bir konudur. Bildiğimiz kadarıyla, bizim çalışmamız çölyak hastalarında *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığının farklı yöntemler kullanılarak araştırıldığı ilk çalışmadır.

Blastocystis spp. patojenitesi açısından araştırmacıların farklı görüşlere sahip olduğu bir parazittir. Semptomatik ve asemptomatik hastalarda yapılan çalışmalarda özellikle semptomatik hastalarda parazitin ameboid formu tespit edilmiştir (38). Diğer intestinal protozoonlardan daha fazla görülen *Blastocystis* spp.'nin prevalansı gelişmiş ülkelerde ve immunsuprese hastalarda %38'e kadar çıkmaktadır. Önemi yeterince bilinmeyen bu parazitin ülkemizdeki prevalansı %1.4-23.5 arasında değişmektedir (79). *D. fragilis* şişkinlik, ishal ve kilo kaybı gibi gastrointestinal semptomlara neden olduğu düşünülen; fakat asemptomatik bireylerde de yüksek oranlarda saptanması nedeniyle patojenitesi tartışmalı bir bağırsak protozoonudur (80).

Korkmaz ve arkadaşları Ankara'da yaptıkları çalışmada 157 GIS şikayeti olan ve 193 şikayeti olmayan toplam 350 hastanın dışkı örneklerini incelemiş ve şikayeti olanların %16.6'sında ve olmayanların %21'inde *Blastocystis* spp. tespit etmişlerdir. Örneklerin %12'si direkt mikroskopik inceleme, %17'si trikrom boyama ve %19'u kültür yöntemi ile pozitif sonuç vermiştir (81). Türk ve arkadaşları Ankara'da yaptıkları çalışmada 66 erişkin bireyin dışkı örneklerinden kültür yöntemiyle %39.4 oranında *Blastocystis* spp. pozitifliği saptamıştır (82). İnceboz ve arkadaşları tarafından İzmir'de yapılan ve GIS şikayetleri olan 17756 olgunun dışkı örneklerinin nativ-lugol direkt mikroskopi ve konsantrasyon yöntemiyle incelendiği çalışmada *Blastocystis* spp. sıklığı %4.38 olarak bulunmuş ve ülkemizin farklı bölgelerinde *Blastocystis* spp. pozitifliğinin %2.1-%23.5 oranında olduğu belirtilmiştir (83).

Sivcan ve arkadaşları tarafından Kayseri'de yapılan bir çalışmada GIS şikayetleri olan ve sağlıklı gönüllülerden oluşan 121 hastanın dışkı örneği değerlendirilmiş ve %10.7'sinde demir hematoksilin boyama, %1.7'sinde trikrom

boyama ve %10.7'sinde kantitatif PCR yöntemi ile *D. fragilis* pozitifliği saptanmıştır (66). Gülmez ve arkadaşları Ankara'da yaptıkları bir çalışmada konvansiyonel yöntemlerle *Blastocystis* spp. sıklığını %22, *D. fragilis* sıklığını %9 olarak bulmuşlar ve bu iki protozoonun görülme sıklığının son yıllarda arttığını belirtmişlerdir (65). Girginkardeşler ve arkadaşları tarafından Manisa'da yapılan bir çalışmada trikrom boyama yöntemiyle *D. fragilis* pozitifliği %8.8 oranında saptanmıştır (67). Yıldız ve arkadaşlarının Aydın'da yaptıkları bir çalışmada ise *D. fragilis* sıklığı boyama yöntemiyle %2.7 olarak ve PCR yöntemiyle %28.37 olarak bulunmuştur (84). Yalçın ve arkadaşları tarafından İzmir'de yapılan 292 dışkı örneğinin değerlendirildiği çalışmada kalıcı boyama yöntemleriyle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* sıklığı sırasıyla %25.7 ve %16.4 olarak tespit edilmiş ve konvansiyonel PCR yöntemiyle *D. fragilis* %18.2 oranında saptanmıştır (85). Karaman ve arkadaşlarının Malatya'da yaptığı, 241 temizlik işçisinin dışkı örneklerinin direkt mikroskopi ve formol-eter çöktürme yöntemiyle değerlendirdiği çalışmada *Blastocystis* spp. pozitifliği %2.1, *D. fragilis* pozitifliği %0.4 olarak bulunmuştur ve ülkemizde *D. fragilis* epidemiyolojisiyle ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulduğu ve tek başına boyama yönteminin değerlendirildiği çalışmalarda protozoonun sıklığının %0.2-%1.02 olduğu açıklanmıştır (86).

Roberts ve arkadaşları Avustralya'da yaptıkları, 513 dışkı örneğini demir-hematoksilen kalıcı boyama yöntemi, Boeck ve Drbohlav besiyeri ile TYGM-9 besiyeri kültürü, konvansiyonel PCR ve sekans analizi yöntemleri ile inceledikleri çalışmalarında en az bir yöntemle %19 oranında *Blastocystis* spp. pozitifliği saptamıştır. Kalıcı boyama yöntemiyle *Blastocystis* spp. sıklığını %9.1, *D. fragilis* sıklığını %1.3, kültür yöntemleriyle *Blastocystis* spp. sıklığını %15.6 ve konvansiyonel PCR yöntemiyle ise *Blastocystis* spp. sıklığını %17.9 olarak tespit etmişlerdir (52). *D. fragilis* ile kronik karın ağrısı ilişkisinin araştırıldığı De Jong ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise kronik karın ağrısı olan 132 ile GIS şikayeti olmayan 77 çocuk hastanın dışkısı RT-PCR yöntemiyle değerlendirilmiş ve parazitin sıklığı hasta grubunda %43.2 kontrol grubunda %50.6 olarak bulunmuştur (87). David ve arkadaşları tarafından yapılan Brezilya'nın sosyoekonomik düzeyi düşük farklı bölgelerinde moleküler yöntemlerle intestinal protozoonların sıklığının araştırıldığı çalışmada bölgelere göre farklı oranlarda olmak üzere *Blastocystis* spp.

pozitifliği %45 ile %71 arasında, *D. fragilis* pozitifliği %13.6 ile %18.4 arasında tespit edilmiştir ve birçok bireyin GIS semptomları olmadan birden fazla paraziti taşıyabileceği belirtilmiştir (88). Ögren ve arkadaşları tarafından Vietnam’da yapılan çalışmada RT-PCR yöntemiyle *D. fragilis* prevalansı GI semptomları olan erişkinlerde %2.5, GI semptomları olmayan sağlıklı kontrol grubunda %2.3 olarak saptanmıştır (89). Calderaro ve arkadaşları, 15752 dışkı örneğini değerlendirdikleri çalışmalarında erişkinlerde *Blastocystis*’in %16.06 oranında en sık saptanan protozoon olduğunu ve *D. fragilis*’in erişkinlerde %1.49 oranında saptandığını belirtmişlerdir (90).

Bizim çalışmamızda nativ-lugol direkt mikroskopi yöntemiyle hasta grubunda *Blastocystis* spp. sıklığı %14.7 ve kontrol grubunda %8 olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda sadece bir kişide *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* birlikte tespit edilmiştir. Konsantrasyon sonrası direkt mikroskopik inceleme yöntemiyle hasta ve kontrol grubunda *Blastocystis* spp. sırasıyla %21.3 ve %20 oranında bulunmuş olup hasta grubunda sadece bir erişkinde *D. fragilis* görülmüştür. Ayrıca hasta grubunda iki kişide, kontrol grubunda ise bir kişide her iki protozoona rastlanmıştır. Trikrom boyama yöntemiyle de benzer oranlar tespit edilmiş olup kontrol grubunda *Blastocystis* spp. sıklığı daha düşük oranda (%18.7) saptanmıştır. *Blastocystis* spp. varlığı Jones besiyeri-kültür yöntemiyle değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grubunda sırasıyla %30.7 ve %29.3 oranında bulunmuştur. Moleküler yöntemlerle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı değerlendirildiğinde ise hasta grubunda %30.7 ve kontrol grubunda %38.7 oranında *Blastocystis* spp. hasta grubunda %13.3 ve kontrol grubunda %5.3 oranında *D. fragilis* saptanmıştır. Ayrıca hasta ve kontrol grubunda sırasıyla %10.7 ve %18 oranında her iki protozoon birlikte tespit edilmiştir. Tüm dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde ve çalışılan hasta popülasyonu, sosyoekonomik ile sosyokültürel düzey ve çalışılan yöntem açısından değerlendirildiğinde farklı oranların olduğu dikkat çekmektedir. Bizim çalışmamızda ise hasta ve kontrol grupları en az bir yöntemle protozoonların sıklığı açısından değerlendirildiğinde her iki grupta *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* sıklığı ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmaların ortalamasına göre yüksek bulunmuştur. Bu durum hastanemizin bulunduğu çevrenin sosyoekonomik düzeyinin düşüklüğüne bağlanmıştır.

Literatürde *D. fragilis* ve *Blastocystis* spp. koenfeksiyon oranlarına baktığımızda; Sarzhanov ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada moleküler yöntemlerle *Dientamoeba fragilis* ve *Blastocystis* spp. koenfeksiyonu immün yeterli hastalarda %4.15, immün yetmezlikli hastalarda %1.63 olarak bulunmuştur (91). Piubelli ve arkadaşları, İtalya'nın farklı bölgelerinde yaptıkları çalışmalarında moleküler yöntemler ile koenfeksiyon oranını %10.4 olarak saptamışlardır (92). Aykur ve arkadaşlarının çalışmasında RT-PCR yöntemiyle her iki protozoonun birlikteliği %2.8 oranında raporlanmıştır (93). Çalışmamızda ise konvansiyonel yöntemlerle de koenfeksiyon saptanmakla birlikte RT-PCR yöntemiyle koenfeksiyon oranı hasta grubunda %10.7 ve kontrol grubunda %18 olarak tespit edildi. Bu sonuçlar literatüre göre daha yüksektir ve koenfeksiyon oranının yüksek olması parazitlerin bulaş yolunun aynı olabileceği yorumunu yaptırmaktadır.

Blastocystis spp. tespitinde birçok çalışmada farklı yöntemlerin referans alındığı göze çarpmaktadır. Korkmaz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Blastocystis* spp. saptanmasında kültür yöntemi referans olarak alındığında, direkt mikroskopik inceleme ve trikrom boyama yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %65 ve %100, %88 ve %100 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca *Blastocystis* spp. tespitinde direkt mikroskopik inceleme ile trikrom boyama ve kültür yöntemlerinin istatistiksel karşılaştırılmasında anlamlı farklılık saptanmış ve tutarlılıkları ise direkt mikroskopik incelemenin güçlü, trikrom boyamanın çok güçlü olarak bulunmuştur (81). Türk ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *Blastocystis* spp. tespitinde kültür yöntemi altın standart kabul edildiğinde nativ-lugol direkt mikroskopik inceleme ve trikrom boyama yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %30 ve %77.6, %43.3 ve %78.7 olarak tespit edilmiştir. Kültür yöntemi ile nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemleri arasında orta düzeyde bir korelasyon belirlenmiştir (82). Roberts ve arkadaşları moleküler yöntemlerin *Blastocystis* spp. tanısında en etkili yöntem olduğunu açıklamış ve kalıcı boyama yönteminin duyarlılığını ise %48 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca kalıcı boyama yöntemlerinin klinik laboratuvarlarda intestinal parazitlerin tanısında altın standart yöntem olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (52). Stensvold ve arkadaşları tarafından yapılan 107 dışkı örneğinin değerlendirildiği çalışmada, *Blastocystis* spp. saptanmasında moleküler yöntem referans alındığında kültür, trikrom boyama,

formol-etil asetat konsantrasyon yöntemlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %89 ve %100, %82 ve %100, %50 ve %100 olarak hesaplanmıştır (94). Mewara ve arkadaşları çalışmalarında konsantrasyon yönteminin direkt mikroskopik incelemeden daha duyarlı olduğunu vurgulamışlardır (95). Çalışmamızda konvansiyonel yöntemler ve moleküler yöntemin(RT-PCR) tüm dışkı örneklerinde *Blastocystis* spp. tespiti açısından karşılaştırılmasında istatistiksel olarak RT-PCR'in en etkin yöntem olduğu tespit edilmiştir. *Blastocystis* spp. tanısı için moleküler yöntem altın standart kabul edildiğinde direkt mikroskopi, konsantrasyon yöntemi, trikrom boyama ve kültür yönteminin duyarlılıkları sırasıyla %27.7, %51.51, %50 ve %68.18 olarak hesaplanmıştır. Her dört yöntemin özgüllüğü ise %100 olarak bulunmuştur. Ayrıca RT-PCR yöntemi ile direkt mikroskopik yöntemin uyumu düşük, konsantrasyon yöntemi ve trikrom boyamanın uyumu orta ve kültür yönteminin ise yüksek derecede bulunmuştur. Protozoonun tanısında RT-PCR yöntemi en etkin yöntem olmasına rağmen yöntemin pahalı, manuel ekstraksiyon basamağı nedeniyle zaman alıcı, emek yoğun olması ve özellikli ekipman gerektirmesi gibi dezavantajları mevcuttur. Direkt mikroskopi yöntemi kısa sürede sonuçlanması, uygulama kolaylığı gibi nedenlerle en yaygın kullanılan yöntemdir. Bu yöntemin eğitimli ve deneyimli personel gerektirmesi, değerlendirmenin subjektif olması, artefaktların yanlış değerlendirilebilmesi, duyarlılığın artırılması için birden fazla dışkı örneğinin incelenmesi gerekliliği gibi durumlar diğer tanı yöntemlerine gereksinimi ortaya çıkarır. Çalışmamızda *Blastocystis* spp. tespitinde konsantrasyon sonrası direkt mikroskopik incelemenin, direkt mikroskopi yöntemine göre istatistiksel olarak daha etkili olduğu görülmüştür. Konsantrasyon yöntemi, zararlı kimyasallar kullanmadan, dışkı örneğinin kısa sürede incelenmesini sağlayan düşük maliyetli tanı yöntemidir. İki aşamalı filtreleme sayesinde dışkıyı artefaktlardan arındırır. Helminth larva ve yumurtalarının, protozoon kistlerinin tespitine yardımcı olur. Parazit morfolojisinin bozulmadan korunmasını sağlar. Ayrıca dışkının transferinin kolay olması ve saklanabilmesi diğer avantajlarından. Fakat dışkı miktarının az olması durumunda yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir. Kalıcı boyama yöntemleri de klinik laboratuvarlarda intestinal parazitlerin tanısında kullanılabilmektedir. Bu amaçla demir-hematoksilen boyama ve trikrom boyama gibi yöntemlere başvurulabilir. Direkt mikroskopideki artefaktların olmaması,

preparatların uzun süreli saklanabilmesi gibi avantajları olduğu gibi kalıcı boyama yöntemiyle incelemelerin deneyim ve bilgi gerektirmesi nedeniyle sübjektif olması gibi dezavantajları da mevcuttur. Çalışmamızda bir diğer tanı yöntemi olan Jones besiyeri-kültür yönteminin konvansiyonel yöntemler arasında en etkili yöntem olduğu görülmüştür. Fakat besiyerinin hazırlanması emek gerektirdiği ve yöntemin 48-72 saat gibi uzun sürede sonuç vermesi nedeniyle rutin tanıda kullanılmamaktadır.

Sivcan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *D. fragilis* tespitinde kantitatif RT-PCR yöntemi altın standart kabul edildiğinde demir hematoksilen boyamanın duyarlılığı ve özgüllüğü %44 ve %93, trikrom boyamanın %0 ve %99, PCR yönteminin ise %54 ve %100 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca parazitin tanısında boyama yöntemlerinin deneyim gerektirdiği; bu nedenle yanlış pozitif ve negatif sonuçların alınabileceği belirtilmiş ve kantitatif PCR yönteminin %100 duyarlılık ve özgüllükle kısa sürede kesin sonuç vermesi nedeniyle avantajlı bir yöntem olduğu vurgulanmıştır (66). Yalçın ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada demir hematoksilen kalıcı boyama yöntemi ile konvansiyonel PCR yönteminin tutarlılığı yüksek derecede bulunmuştur ($\kappa=0.77$) (85). Sarzhanov ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada immün yeterli ve immün yetmezlikli toplam 438 hastanın dışkı örneğinin değerlendirilmesinde *D. fragilis* sıklığı trikrom boyama yöntemiyle %3.2, RT-PCR yöntemiyle %11,9 olarak saptanmıştır. Ayrıca *D. fragilis* tanısında RT-PCR yönteminin istatistiksel olarak daha duyarlı olduğu ve trikrom boyama yönteminin tutarlılığının düşük derecede olduğu açıklanmıştır ($\kappa=0.27$) (91).

Yaptığımız çalışmada konvansiyonel yöntemler ve RT-PCR yöntemi *D. fragilis* saptanması açısından karşılaştırıldığında RT-PCR yönteminin en duyarlı olduğu görülmüştür. RT-PCR yöntemi, protozoonun apatojen olarak da değerlendirilebilmesi ve yöntemin pahalı olması nedeniyle rutin tanıda sık kullanılmamaktadır (72). Moleküler yöntem altın standart kabul edildiğinde direkt mikroskopi, konsantrasyon ve trikrom boyama yöntemlerinin duyarlılıkları sırasıyla %3.57, %14.28 ve %14.28 olarak hesaplanmıştır. Tüm yöntemlerin özgüllükleri ise %100 olarak bulunmuştur. Ayrıca direkt mikroskopik incelemenin RT-PCR ile uyumunun çok zayıf, konsantrasyon yöntemi ve trikrom boyama yönteminin

uyumunun ise düşük derecede olduğu tespit edilmiştir. Protozoonun morfolojik görünümü lökosit gibi yapılarla karışabilmesi nedeniyle direkt mikroskopik inceleme *D. fragilis* tanısında kullanılmamaktadır. Rutin tanıda en sık kalıcı boyama yöntemleri kullanılmaktadır (84). Fakat parazitin trofozoit formunun dış ortama dayanıksız olması nedeniyle boyama yöntemiyle preparat hazırlanana kadar canlılığını yitirmesi ve bu yöntemle incelemenin tecrübe gerektirmesi sebebiyle boyama yöntemlerinin duyarlılığı düşüktür. Çalışmamızın sonuçlarına göre *D. fragilis* tanısında konvansiyonel yöntemlerin duyarlılığı düşük olduğundan daha etkili olması ve hızlı tanı konulması açısından RT-PCR yöntemi tercih edilmelidir.

Blastocystis spp. ve *D. fragilis*'in farklı çalışmalarda farklı semptomlara yol açtığı görülmektedir. Mumcuoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Blastocystis* spp. pozitifliği akut GIS şikayetleri olan grupta %18.8 ve hiçbir GIS şikayeti olmayan grupta %6 olarak bulunmuş ve her iki grup arasında anlamlı fark olduğu belirtilmiştir (5). Doğruman Al ve arkadaşları 55 ürtikerli olgu ve kontrol grubu olarak 43 sağlıklı olgu değerlendirmişler, hasta grubunun 11'inde ve kontrol grubunun beşinde *Blastocystis* spp. tespit etmişlerdir. Hasta grubunda pozitiflik daha fazla görülmesine rağmen her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulmamışlardır (96). Çalışmamızda hasta grubunda *Blastocystis* spp. pozitif erişkinlerde döküntü semptomunun görülme oranı istatistiksel olarak daha yüksekti. GIS semptomları ve anemi gibi diğer semptomlar açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Vandenberg ve arkadaşları GIS semptomları olan 448 hasta üzerinde yaptıkları çalışmalarında *Blastocystis* spp. sıklığını %9.8 ve *D. fragilis* sıklığını %6.3 olarak saptamışlardır. *D. fragilis* saptanan olgularda karın ağrısı ve ishalin en sık görülen semptomlar olduğunu, kilo kaybı, anoreksi ve anal kaşıntının ise daha az sıklıkta görüldüğünü açıklamışlardır (97). Menéndez ve arkadaşları tarafından 892 semptomatik ve asemptomatik bireyin dışkılarında *D. fragilis* varlığına bakılmış ve PCR yöntemiyle 163 olguda parazite rastlanmıştır. Parazit saptanan 50 olguda herhangi semptomun olmadığı ve semptomlar ile *D. fragilis* pozitifliği arasında istatistiksel olarak bir ilişki saptanmadığı vurgulanmıştır. Ayrıca ürtikeri olan altı hastanın beşinde *Blastocystis* spp. koenfeksiyonu olduğu belirtilmiştir (98). Ögren ve

arkadaşları ile De Jong ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda da RT-PCR yöntemiyle *D. fragilis* araştırılmış ve protozoonun varlığı ile semptomlar arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (87, 89). Bizim çalışmamızda ise literatürdeki çalışmalardan farklı olarak hasta grubunda *D. fragilis* görülmeyen erişkinlerde kilo kaybı, yorgunluk, şişkinlik ve gaz semptomlarının oranı istatistiksel olarak daha fazlaydı. Kilo kaybının parazit görülmeyen bireylerde daha fazla görülmesinin; Zavala ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarına benzer olarak, *D. fragilis* enfeksiyonu nedeniyle bağırsak mikrobiyotasındaki değişim ve inflamatuvar yanıtla bağlı iştah ve besin alımında değişiklikler ile bağlantılı olabileceği düşünülmüştür (99).

Bazı çalışmalarda çeşitli protozoon ve helmintler ile çölyak hastalığı, irritabl bağırsak sendromu ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi immünolojik hastalıklar arasında ilişki gösterilmiştir. ÇH; ince bağırsakların etkilendiği, malabsorbsiyon semptomlarının görüldüğü, multisistemik otoimmün bir hastalıktır. Ayrıca yapılan çalışmalarda bazı intestinal parazitlerin ÇH ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi otoimmün bağırsak hastalıklarında bağışıklık yanıtı değiştirebileceği belirtilmiştir (7). *Blastocystis* spp.'nin bağırsaklarda yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu, lamina propriada ödem, bağırsak epiteline yerleşme ve epitelde dökülme gibi immunopatolojik değişikliklere neden olduğu; ayrıca GM-CSF ve IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını uyardığı açıklanmıştır (100). Protozoonların bu şekilde inflamasyonu uyarması immünolojik bağırsak hastalıkları için tetikleyici olabilmektedir (101). Literatürde çölyak hastalarında *Blastocystis* spp., *Giardia lamblia* ve *D. fragilis* gibi protozoonlarla fırsatçı bağırsak enfeksiyonlarının meydana gelebileceği belirtilmesine rağmen *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* ile ÇH ilişkisini gösteren çalışma sayısı yok denecek kadar azdır (102). Genellikle İBS hastalarında protozoonların varlığı ve *Necator americanus* gibi kancalı kurtların ÇH tedavisinde kullanılabileceği ile ilgili çalışmalar mevcuttur (103). Jiménez ve arkadaşları 30 ÇH olan erişkinin katıldığı çalışmalarında *Blastocystis* spp.'nin subtotal-total villus atrofi ve kilo kaybı olan semptomatik çölyak hastalarında fırsatçı enfeksiyonlara neden olabileceğini belirtmişlerdir (6). Bizim çalışmamızda ÇH olan erişkinler ve sağlıklı kontrol grubu arasında en az bir yöntemle *Blastocystis* spp. varlığı açısından istatistiksel olarak bir farklılık saptanmadı. Ayrıca *D. fragilis*

pozitifliği hasta grubunda daha fazla görülmesine rağmen en az bir yöntemle protozoonun varlığı açısından da anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bu durumun  H'nın daha çok ince bağırsakları tutan bir hastalık olmasına, protozoonların ise daha çok kalın bağırsaklarda yerleşmesine bağlı olduğu d ş n ld . Hasta grubunun %88'i glutensiz diyetle uymaktaydı. *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı ile glutensiz diyet arasında da istatistiksel bir ilişki görülmediğinden glutensiz diyetin protozoonların pozitifliğini etkilemediği d ş n ld . Bildiğimiz kadarıyla, bizim çalışmamız   lyak hastalığı, semptomlar ile *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* ilişkisini araştıran ve protozoonların varlığını farklı yöntemlerle değerlendiren ilk çalışmadır. Çölyak hastalığında ve sağlıklı mikrobiyotada protozoonların rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için örneklem sayısının fazla olduğu yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

- Çalışmamızda ÇH tanısı olan 75 erişkin ile ÇH tanısı olmayan 75 erişkinin dışkı örneği incelendi. Tüm dışkı örnekleri nativ-lugol direkt mikroskopik inceleme, konsantrasyon, trikrom boyama, *Blastocystis* spp. için kültür (Jones besiyeri) ve RT-PCR yöntemiyle değerlendirildi.
- Direkt mikroskopik incelemeyle hasta grubunun 11'inde (%14.7), kontrol grubunun altısında (%8) *Blastocystis* spp. saptandı. Kontrol grubunda sadece bir hastada *Blastocystis* spp. ve *Dientamoeba fragilis* birlikte görüldü.
- Konsantrasyon yöntemiyle hasta grubunun 16'sında (%21.3) ve kontrol grubunun 15'inde (%20) *Blastocystis* spp. görülürken hasta grubunda bir hastada *D. fragilis* görüldü. Hasta grubunun ikisinde (%2.7) ve kontrol grubunun birinde (%1.3) her iki parazite birden rastlandı.
- Trikrom boyama yöntemiyle hasta grubunun 16'sında (%21.3) ve kontrol grubunun 14'inde (%18.7) *Blastocystis* spp. görülürken hasta grubunda bir hastada *D. fragilis* görüldü. Hasta grubunun ikisinde (%2.7) ve kontrol grubunun birinde (%1.3) her iki parazite birden rastlandı.
- Kültür yöntemiyle hasta grubunda 23 erişkinde (%30.7) ve kontrol grubunda 22 erişkinde (%29.3) *Blastocystis* spp. saptandı.
- RT-PCR yöntemiyle hasta grubunda 23 (%30.7) erişkinde, kontrol grubunda 29 (%38.7) erişkinde *Blastocystis* spp. görüldü. Hasta grubunun 10'unda (%13.3) ve kontrol grubunun dördünde (%5.3) *D. fragilis* görülürken hasta grubunun sekizinde (%10.7) ve kontrol grubunun altısında (%18) koenfeksiyon tespit edildi.
- Hasta ve kontrol grupları en az bir yöntemle *Blastocystis* spp. ve *D. fragilis* varlığı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).
- Konvansiyonel ve moleküler yöntemler karşılaştırıldığında *Blastocystis* spp. tanısında en etkili yöntemin RT-PCR olduğu, trikrom boyama ve konsantrasyon yönteminin direkt mikroskopik incelemeye göre daha duyarlı olduğu, kültür yönteminin ise konvansiyonel yöntemler arasında en duyarlı yöntem olduğu görüldü. RT-PCR yöntemi altın standart kabul edildiğinde

direkt mikroskopik inceleme, konsantrasyon yöntemi, trikrom boyama ve kültür yönteminin duyarlılıkları sırasıyla %27.7, %51.51, %50 ve %68.18 olarak saptandı. Tutarlılıkları ise sırasıyla düşük derecede, orta derecede, orta derecede ve yüksek derecede olarak tespit edildi.

- *D. fragilis* tanısında en etkili yöntemin RT-PCR olduğu ve konvansiyonel yöntemlerin etkinliğinin zayıf olduğu görüldü. RT-PCR yöntemi altın standart kabul edildiğinde direkt mikroskopik inceleme, konsantrasyon yöntemi ve trikrom boyama yöntemlerinin duyarlılıkları sırasıyla %3.57, %14.28 ve %14.28 olarak saptandı. Tutarlılıkları ise sırasıyla çok zayıf derecede, düşük derecede ve düşük derecede olarak tespit edildi
- Çalışmamızda *Blastocystis* spp. tanısında konsantrasyon yöntemiyle birlikte kültür yöntemi kullanımının duyarlılığı artırabileceği sonucuna ulaşıldı. RT-PCR yönteminin en etkili yöntem olması ve kısa sürede sonuç vermesine rağmen maliyeti yüksek, manuel ekstraksiyon nedeniyle yoğun emek gerektiren bir yöntem olduğu görüldü. Bununla birlikte her iki protozoonun asemptomatik bireylerde de saptanması nedeniyle rutin tanı testlerinin kullanımının gerekli olup olmadığı sorgulandı.
- Hasta grubunda *Blastocystis* spp. görülen bireylerde döküntü semptomu istatistiksel olarak daha fazla oranda tespit edildi. Diğer semptomlar açısından parazit görülen ve görülmeyen bireyler arasında farklılık yoktu.
- Hasta grubunda *D. fragilis* saptanmayan bireylerde kilo kaybı, yorgunluk, şişkinlik ve gaz şikayetleri istatistiksel olarak daha fazlaydı.
- Hasta grubunda glutensiz diyetle uyup uymama ile protozoonların pozitifliği arasında ilişki saptanmadı.,
- SARS-CoV-2 pandemisi nedeniyle ve moleküler yöntemin maliyetinin yüksek olmasından dolayı çalışmamızın örneklem sayısının düşük olması çalışmamızın kısıtlayıcı faktörüdür.
- Protozoonların varlığının spesifik hasta grubunda beş farklı yöntemle araştırılması çalışmamızın güçlü yanındır.

KAYNAKLAR

1. Yönel O, Özdi S. Çölyak hastalığı. Güncel Gastroenteroloji. 2014;18(1):93-100.
2. Biagi F, Klersy C, Balduzzi D, Corazza GR. Are we not over-estimating the prevalence of coeliac disease in the general population? Ann Med. 2010;42(8):557-61.
3. Beser OF, Gulluelli E, Cullu Cokugras F, Erkan T, Kutlu T, Yagci RV, et al. Prevalence and Clinical Features of Celiac Disease in Healthy School-Aged Children. Dig Dis Sci. 2019;64(1):173-81.
4. Gursay S, Guven K, Simsek T, Yurci A, Torun E, Koc N, et al. The prevalence of unrecognized adult celiac disease in Central Anatolia. J Clin Gastroenterol. 2005;39(6):508-11.
5. Mumcuoğlu I, Coşkun FA, Aksu N, Pürnak T, Güngör C. Role of Dientamoeba fragilis and Blastocystis spp. in Irritable Bowel Syndrome. Türkiye parazitolojii dergisi. 2013;37(2):73-7.
6. Jiménez OM, Carbonell AE, García OM, Rodríguez LW, Triana FP, Fabián LG. Blastocystis hominis in symptomatic celiac patients. Acta Gastroenterol Latinoam. 2012;42(3):175-81.
7. Mohammadi R, Hosseini-Safa A, Ehsani Ardakani MJ, Rostami-Nejad M. The relationship between intestinal parasites and some immune-mediated intestinal conditions. Gastroenterology and hepatology from bed to bench. 2015;8(2):123-31.
8. Ibrahim AN, Al-Ashkar AM, Nazeer JT. Additional Glance on the Role of Dientamoeba fragilis & Blastocystis hominis in Patients with Irritable Bowel Syndrome. Iranian journal of parasitology. 2018;13(1):100-7.
9. Kurt Ö, Oktem-okullu s, Mansur-ozen n, Unubol N, Cat S, Surer-nurdagi, et al. Is Dientamoeba fragilis friend or foe? A study from Istanbul on patients and healthy individuals from different cohorts. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2020;50(4):244-9.
10. Demirçeken FG. Gluten enteropatisi (çölyak hastalığı): Klasik bir öykü ve güncel gelişmeler. Güncel Gastroenteroloji. 2011;15(1):58-72.
11. Booth C. History of coeliac disease. BMJ : British Medical Journal. 1989;298(6672):527-.
12. Farrell RJ, Kelly CP. Celiac sprue. N Engl J Med. 2002;346(3):180-8.
13. Dicke W-K, Weijers HA, Kamer JHvD. Coeliac Disease The Presence in Wheat of a Factor Having a Deleterious Effect in Cases of Coeliac Disease. Acta Paediatr. 1953;42(1):34-42.
14. Paulley JW. Observation on the aetiology of idiopathic steatorrhoea; jejunal and lymph-node biopsies. Br Med J. 1954;2(4900):1318-21.
15. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). Gastroenterology. 1992;102(1):330-54.
16. Bureš J. History of celiac disease. Vnitr Lek. 2018;64(6):600-1.
17. Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, et al. Celiac disease: a comprehensive current review. BMC Med. 2019;17(1):142.

18. Dalgic B, Sari S, Basturk B, Ensari A, Egritas O, Bukulmez A, et al. Prevalence of celiac disease in healthy Turkish school children. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(8):1512-7.
19. Demirçeken FG, Kansu A, Kuloğlu Z, Girgin N, Güriz H, Ensari A. Human tissue transglutaminase antibody screening by immunochromatographic line immunoassay for early diagnosis of celiac disease in Turkish children. *Turk J Gastroenterol.* 2008;19(1):14-21.
20. Ertekin V, Selimoglu MA, Kardas F, Aktas E. Prevalence of celiac disease in Turkish children. *J Clin Gastroenterol.* 2005;39(8):689-91.
21. Karaaslan H, Bektaş M, Bozkaya H, Soykan İ, Bahar K, Özden A. Gönüllü kan donörlerinde glüten enteropatisi seroprevalansı. 20 Ulusal Gastroenteroloji Haftası; Kuşadası. *Turk J Gastroenterol.* 2003;14:18.
22. Tatar G, Elsurur R, Simsek H, Balaban YH, Hascelik G, Ozcebe OI, et al. Screening of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors for celiac disease screening in the Turkish population. *Dig Dis Sci.* 2004;49(9):1479-84.
23. Burden S, Langley-Evans S, Talley N. Coeliac disease: pathogenesis, prognosis and management. *J Hum Nutr Diet.* 2014;27(3):203-4.
24. Green PH, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med.* 2007;357(17):1731-43.
25. Lebowitz B, Sanders DS, Green PHR. Coeliac disease. *Lancet.* 2018;391(10115):70-81.
26. Al-Toma A, Volta U, Auricchio R, Castillejo G, Sanders DS, Cellier C, et al. European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European gastroenterology journal.* 2019;7(5):583-613.
27. Oxentenko AS, Rubio-Tapia A. Celiac Disease. *Mayo Clin Proc.* 2019;94(12):2556-71.
28. Green PH, Krishnareddy S, Lebowitz B. Clinical manifestations of celiac disease. *Dig Dis.* 2015;33(2):137-40.
29. Harris LA, Park JY, Voltaggio L, Lam-Himlin D. Celiac disease: clinical, endoscopic, and histopathologic review. *Gastrointest Endosc.* 2012;76(3):625-40.
30. Al-Bawardy B, Codipilly DC, Rubio-Tapia A, Bruining DH, Hansel SL, Murray JA. Celiac disease: a clinical review. *Abdominal radiology (New York).* 2017;42(2):351-60.
31. Hujoel IA, Reilly NR, Rubio-Tapia A. Celiac Disease: Clinical Features and Diagnosis. *Gastroenterol Clin North Am.* 2019;48(1):19-37.
32. Karaahmet F. Çölyak hastalığı'nda teşhis süresi. *Ege Tıp Dergisi.* 2018;57(4):228-31.
33. Rubin JE, Crowe SE. Celiac Disease. *Ann Intern Med.* 2020;172(1):Itc1-ite16.
34. Cichewicz AB, Mearns ES, Taylor A, Boulanger T, Gerber M, Leffler DA, et al. Diagnosis and Treatment Patterns in Celiac Disease. *Dig Dis Sci.* 2019;64(8):2095-106.
35. Zierdt CH. Blastocystis hominis--past and future. *Clin Microbiol Rev.* 1991;4(1):61-79.
36. Parija SC, Jeremiah S. Blastocystis: Taxonomy, biology and virulence. *Tropical parasitology.* 2013;3(1):17-25.
37. Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 1998;73(3):203-66.

38. Al FD, Hökelek M. Blastocystis hominis fırsatçı bir patojen mi. Türkiye parazitolojii dergisi. 2007;31:28-36.
39. Tan KS, Singh M, Yap EH. Recent advances in Blastocystis hominis research: hot spots in terra incognita. Int J Parasitol. 2002;32(7):789-804.
40. Stenzel DJ, Boreham PF. Blastocystis hominis revisited. Clin Microbiol Rev. 1996;9(4):563-84.
41. Popruk S, Pintong A-r, Radomyos P. Diversity of Blastocystis subtypes in humans. J Trop Med Parasitol. 2013;36(2):88-97.
42. Yoshikawa H, Yoshida K, Nakajima A, Yamanari K, Iwatani S, Kimata I. Fecal-oral transmission of the cyst form of Blastocystis hominis in rats. Parasitol Res. 2004;94(6):391-6.
43. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. Clin Microbiol Rev. 2008;21(4):639-65.
44. Ertuğ S, Malatyali E, Ertabaklar H. Aydın ilinde elde edilen Blastocystis izolatlarının alt tip dağılımı ve klinik semptomların değerlendirilmesi. Microbiyol Bul. 2015;49:98-104.
45. Skotarczak B. Genetic diversity and pathogenicity of Blastocystis. Ann Agric Environ Med. 2018;25(3):411-6.
46. Stensvold CR, Tan KSW, Clark CG. Blastocystis. Trends in parasitology. 2020;36(3):315-6.
47. Stensvold CR. Blastocystis: Genetic diversity and molecular methods for diagnosis and epidemiology. Tropical parasitology. 2013;3(1):26-34.
48. Dogruman-Al F, Dagci H, Yoshikawa H, Kurt O, Demirel M. A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of Blastocystis hominis. Parasitol Res. 2008;103(3):685-9.
49. Dogruman-Al F, Yoshikawa H, Kustimur S, Balaban N. PCR-based subtyping of Blastocystis isolates from symptomatic and asymptomatic individuals in a major hospital in Ankara, Turkey. Parasitol Res. 2009;106(1):263-8.
50. Poirier P, Wawrzyniak I, Albert A, El Alaoui H, Delbac F, Livrelli V. Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection and quantification of blastocystis parasites in human stool samples: prospective study of patients with hematological malignancies. J Clin Microbiol. 2011;49(3):975-83.
51. Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, Dionigia M, Texier C, Delbac F, et al. Blastocystis, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. Therapeutic advances in infectious disease. 2013;1(5):167-78.
52. Roberts T, Barratt J, Harkness J, Ellis J, Stark D. Comparison of microscopy, culture, and conventional polymerase chain reaction for detection of blastocystis sp. in clinical stool samples. Am J Trop Med Hyg. 2011;84(2):308-12.
53. Stensvold CR, Clark CG. Current status of Blastocystis: A personal view. Parasitol Int. 2016;65(6 Pt B):763-71.
54. İnceboz T, Usluca S. Blastocystis hominis bağırsak hastalığı için potansiyel bir tehlike olabilir mi? Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2009;23(1):37-45.

55. Roberts T, Bush S, Ellis J, Harkness J, Stark D. In Vitro Antimicrobial Susceptibility Patterns of Blastocystis. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(8):4417-23.
56. Jepps MW, Dobell C. Dientamoeba fragilis ng, n. sp., a new intestinal amoeba from man. Parasitology. 1918;10(3):352-67.
57. Dobell C. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man: X. The life-history of Dientamoeba fragilis: observations, experiments, and speculations. Parasitology. 1940;32(4):417-61.
58. Stark DJ, Beebe N, Marriott D, Ellis JT, Harkness J. Dientamoebiasis: clinical importance and recent advances. Trends in parasitology. 2006;22(2):92-6.
59. Dwyer DM. Analysis of the Antigenic Relationships Among Trichomonas, Histomonas, Dientamoeba and Entamoeba III. Immunoelectrophoresis Technics. The Journal of protozoology. 1974;21(1):139-45.
60. Dwyer DM. Analysis of the Antigenic Relationships Among Trichomonas, Histomonas, Dientamoeba, and Entamoeba.* II. Gel Diffusion Methods. The Journal of protozoology. 1972;19(2):326-32.
61. Levine ND, Corliss JO, Cox FEG, Deroux G, Grain J, Honigberg BM, et al. A Newly Revised Classification of the Protozoa* THE COMMITTEE ON SYSTEMATICS EVOLUTION OF THE SOCIETY OF PROTOZOOLOGISTS. The Journal of protozoology. 1980;27(1):37-58.
62. Stark D, Barratt J, Chan D, Ellis JT. Dientamoeba fragilis, the Neglected Trichomonad of the Human Bowel. Clin Microbiol Rev. 2016;29(3):553-80.
63. Stark D, Garcia LS, Barratt JL, Phillips O, Roberts T, Marriott D, et al. Description of Dientamoeba fragilis cyst and precystic forms from human samples. J Clin Microbiol. 2014;52(7):2680-3.
64. Garcia LS. Dientamoeba fragilis, One of the Neglected Intestinal Protozoa. J Clin Microbiol. 2016;54(9):2243-50.
65. Gülmez D, Saribas Z, Akyön Y, Ergüven S. The results of Hacettepe University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory in 2003-2012: evaluation of 10 years. Türkiye parazitolojii dergisi. 2013;37(2):97.
66. Sivcan E, Charyyeva A, Ceylan ŞS, Yürük M, Erdoğan E, Şahin İ. Dientamoeba fragilis infection in patients with gastrointestinal system complaints. Mikrobiyol Bul. 2018;52(2):166-79.
67. Girginkardeşler N, Coşkun Ş, Cü İ, Ertan P, Ok Z. Dientamoeba fragilis, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. Clin Microbiol Infect. 2003;9(2):110-3.
68. Cacciò SM. Molecular epidemiology of Dientamoeba fragilis. Acta Trop. 2018;184:73-7.
69. Clark CG, Röser D, Stensvold CR. Transmission of Dientamoeba fragilis: pinworm or cysts? Trends in parasitology. 2014;30(3):136-40.
70. Aykur M, Armagan G, Vardar R, Dagci H. Fecal calprotectin as a factor that supports the pathogenicity of Dientamoeba fragilis. Microb Pathog. 2020;139:103868.
71. Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. Emerging from obscurity: biological, clinical, and diagnostic aspects of Dientamoeba fragilis. Clin Microbiol Rev. 2004;17(3):553-70, table of contents.

72. Barratt JL, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. The ambiguous life of *Dientamoeba fragilis*: the need to investigate current hypotheses on transmission. *Parasitology*. 2011;138(5):557-72.
73. Barratt JL, Banik GR, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. Newly defined conditions for the in vitro cultivation and cryopreservation of *Dientamoeba fragilis*: new techniques set to fast track molecular studies on this organism. *Parasitology*. 2010;137(13):1867-78.
74. McHardy IH, Wu M, Shimizu-Cohen R, Couturier MR, Humphries RM. Detection of intestinal protozoa in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol*. 2014;52(3):712-20.
75. Nagata N, Marriott D, Harkness J, Ellis JT, Stark D. Current treatment options for *Dientamoeba fragilis* infections. *International journal for parasitology Drugs and drug resistance*. 2012;2:204-15.
76. Girginkardeşler N, Kurt O, Kilimcioğlu AA, Ok UZ. Transmission of *Dientamoeba fragilis*: evaluation of the role of *Enterobius vermicularis*. *Parasitol Int*. 2008;57(1):72-5.
77. Stensvold CR, Ahmed UN, Andersen LO, Nielsen HV. Development and evaluation of a genus-specific, probe-based, internal-process-controlled real-time PCR assay for sensitive and specific detection of *Blastocystis* spp. *J Clin Microbiol*. 2012;50(6):1847-51.
78. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Evaluation of three diagnostic methods, including real-time PCR, for detection of *Dientamoeba fragilis* in stool specimens. *J Clin Microbiol*. 2006;44(1):232-5.
79. Seyer A, Karasartova D, Ruh E, Güreşer AS, Turgal E, İmir T, et al. Epidemiology and Prevalence of *Blastocystis* spp. in North Cyprus. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2017;96(5):1164-70.
80. Girginkardeşler N, *Dientamoebiosis* KÖ. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. 1. baskı. İzmir: Meta Basım. 2007:415-6.
81. Adıyaman Korkmaz G, Doğruman Al F, Mumcuoğlu İ. Investigation of the presence of *Blastocystis* spp. in stool samples with microscopic, culture and molecular methods. *Mikrobiyol Bul*. 2015;49(1):85-97.
82. Türk S, Doğruman Al F, Kuştımur S. *Blastocystis* Türlerinin Tanısında Yeni Bir Yaklaşım: Direk Floresan Antikor Yöntemi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2012;18.
83. Inceboz T, Usluca S, Over L, Yalçın G, Tuncay S, Ozkoç S. The epidemiology research of *Blastocystis hominis* in the Dokuz Eylül University Medical Faculty Hospital between 2005 and 2009. *Türkiye parazitolojii dergisi*. 2011;35(2):72-6.
84. Yıldız İ, Ertuğ S, Tileklioğlu E, Malatyalı E, Güçlü Ö, Ertabaklar H. Investigation of *Dientamoeba fragilis* Frequency in Faecal Samples of Patients with *Enterobius vermicularis* Infection by Polymerase Chain Reaction. *Türkiye parazitolojii dergisi*. 2021;45(3):195-200.
85. Gültür Yalçın Z. İmmun yetmezliği olan ve olmayan ishallerde *Dientamoeba fragilis*' in görülme sıklığının araştırılması ve genotip profilinin belirlenmesi: DEÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2010.
86. Karaman Ü, Atambay M, Aycaan Ö, Yoloğlu S, Daldal N. Malatya temizlik işçilerinde bağırsak parazitlerinin görülme oranı. *Türkiye parazitolojii dergisi*. 2006;30(3):181-3.

87. de Jong MJ, Kortbeek JJ, Benninga MA, Hilbink M, Widdershoven J, Deckers-Kocken JM. *Dientamoeba fragilis* and chronic abdominal pain in children: a case-control study. *Arch Dis Child*. 2014;99(12):1109-13.
88. David É B, Guimarães S, de Oliveira AP, Goulart de Oliveira-Sequeira TC, Nogueira Bittencourt G, Moraes Nardi AR, et al. Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. *Parasites & vectors*. 2015;8:103.
89. Ögren J, Van Nguyen S, Nguyen MK, Dimberg J, Matussek A. Prevalence of *Dientamoeba fragilis*, *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica/dispar*, and *Cryptosporidium* spp in Da Nang, Vietnam, detected by a multiplex real-time PCR. *APMIS*. 2016;124(6):529-33.
90. Calderaro A, Montecchini S, Rossi S, Gorrini C, De Conto F, Medici MC, et al. Intestinal parasitoses in a tertiary-care hospital located in a non-endemic setting during 2006-2010. *BMC Infect Dis*. 2014;14:264.
91. Sarzhanov F. İmmün Yeterli Ve İmmün Yetmezlikli İshalli Olgularda Gözden Kaçan Protozoonların Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması 2020.
92. Piubelli C, Soleymanpoor H, Giorli G, Formenti F, Buonfrate D, Bisoffi Z, et al. Blastocystis prevalence and subtypes in autochthonous and immigrant patients in a referral centre for parasitic infections in Italy. *PLoS One*. 2019;14(1):e0210171.
93. Aykur M, Çalışkan Kurt C, Dirim Erdogan D, Biray Avcı C, Vardar R, Aydemir S, et al. Investigation of *Dientamoeba fragilis* Prevalence and Evaluation of Sociodemographic and Clinical Features in Patients with Gastrointestinal Symptoms. *Acta parasitologica*. 2019;64(1):162-70.
94. Stensvold CR, Arendrup MC, Jespersgaard C, Mølbak K, Nielsen HV. Detecting Blastocystis using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007;59(3):303-7.
95. Mewara A, Khurana S, Gupta S, Munda VS, Singh S, Sehgal R. Diagnostic performance of mini parasep® solvent-free faecal parasite concentrator for the diagnosis of intestinal parasitic infections. *Indian J Med Microbiol*. 2019;37(3):381-6.
96. Al FD, Adışen E, Kuştımur S, Gürer MA. Ürtiker etyolojisinde protozoonların yeri. *Türkiye parazitolojii dergisi*. 2009;33:136-9.
97. Vandenberg O, Peek R, Souayah H, Dediste A, Buset M, Scheen R, et al. Clinical and microbiological features of *dientamoebiasis* in patients suspected of suffering from a parasitic gastrointestinal illness: a comparison of *Dientamoeba fragilis* and *Giardia lamblia* infections. *Int J Infect Dis*. 2006;10(3):255-61.
98. Menéndez C, Fernández-Suarez J, Boga Ribeiro JA, Rodríguez-Pérez M, Vázquez F, Gonzalez-Sotorrios N, et al. Epidemiological and clinical characteristics of *Dientamoeba fragilis* infection. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica (English ed)*. 2019;37(5):290-5.
99. Zavala GA, Doak CM, Portrait F, Seidell JC, García OP, Rosado JL, et al. Are intestinal parasites associated with obesity in Mexican children and adolescents? *Parasitol Int*. 2019;71:126-31.
100. Long HY, Handschack A, König W, Ambrosch A. Blastocystis hominis modulates immune responses and cytokine release in colonic epithelial cells. *Parasitol Res*. 2001;87(12):1029-30.

101. Üstün Ş, Turgay N. Blastocystis hominis ve bağırsak hastalıkları. Türkiye parazitoloji dergisi. 2006;30(1):72-6.
102. Girbovan AM, Samasca G, Lupan I. Are Parasitic Infections a Solution in the Treatment of Celiac Disease. International Journal of Celiac Disease. 2017;5(3):125-6.
103. Wammes LJ, Mpairwe H, Elliott AM, Yazdanbakhsh M. Helminth therapy or elimination: epidemiological, immunological, and clinical considerations. Lancet Infect Dis. 2014;14(11):1150-62.



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Muzaffer MIZRAK

Doğum yeri ve tarihi: 1989

Medeni Durumu: Bekar

E-posta:

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

2017-2021 Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanlık Eğitimi, Ankara

2014-2017 Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Ortopedi ve Travmatoloji Uzmanlık Eğitimi, Ankara

2006-2013 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

2003-2006 Ankara Fen Lisesi, Ankara

1995-2003 Polatlı Atatürk İlköğretim Okulu, Ankara

III- Ünvanları

2013-2014 Pratisyen Hekim

2014-2017 Ortopedi ve Travmatoloji Asistanı

2017-2021 Tıbbi Mikrobiyoloji Asistanı

IV- Mesleki Deneyimi

2013-2014 Günyüzü İlçe Devlet Hastanesi, Eskişehir

2014-2017 Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, Ankara

2017-2021 Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti

VI- Bilimsel İlgi Alanları

SCI, SCI Expanded, SSCI veya ACHI tarafından taranan dergilerde yayınlanmış vaka takdimi ve makale

Mızrak M, Mızrak Ö.Y, Çelikkilek N, Başar E, Kocaağa M. Purple Urine Bag Syndrome: A Rare Clinical Case, Mikrobiyol Bul. 2019 Oct;53(4):457-463.

Sertac OM, Gumusok M, Yucel M, Dinc B, Mızrak M, Gungormus M. Antifungal Effect Of Silver Nitrate on Prosthodontic Dentures, Balkan Journal of Dental Medicine. 2020;24(2):96-101.

Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan sözlü bildiri

Mızrak M, Kocaağa M, Yücel M, Yağcı S, Sarıgüzel F.M, Türkmen Z, Dinç B. Ankara Eğitim Ve Araştırma Hastanesi'nde Bir Yılda Steril Vücut Sıvı Örneklerinde Üreyen Mikroorganizmaların Değerlendirilmesi, 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 113, Antalya, 2018

Ulusal bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan sözlü bildiri

Mızrak M, Kocaağa M, Karakoç A.E, Dinç B.M. SBÜ Ankara EAH'de Gerçek Zamanlı PZR ile Yüksek Riskli HPV Genotiplerinin Dağılımının Belirlenmesi, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 44, İzmir, 2019

Tuncer Ertem G, Şenol S, Özsoy M, Gelişigüzel G, Büyükdemirci A, Mızrak M, Erdinç F.Ş. Ventrikülo-Peritoneal Şant Enfeksiyonunda Şant Çıkarılmalı mıdır? Enfeksiyon Dünyası Çalıştayı 2020, 05, Ankara, 2020

Uluslararası bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan poster

Mızrak M, Demir H.A.Y, Türkmen Z, Karakoc A.E, Dinc B. Evaluation of High Risk Human Papilloma Virus Genotypes In Our Region, Ankara, Turkey, 22nd Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology, 186, Copenhagen, 2019

Ulusal bilimsel kongre, sempozyum ve panellerde sunulan poster

Mızrak M. İlk Aşama Anti-HIV EIA Sonucu Reaktif Saptanan Hastaların İlgili Kliniğe Bildirilmesi, Enfeksiyon Dünyası Çalıştayı 2018 73, Ankara, 2018

Kocağa M, Mızrak M, Karakoç A.E, Berkem R, Önde U, Dinç B. HIV Pozitif Hasta Sayısında Artış Var mı? İnfeksiyon Dünyası Çalıştayı 2018 74, Ankara, 2018

Kocağa M, Mızrak M, Karakoç A.E, Berkem R, Önde U, Dinç B. Anti-HIV Doğrulanmış Pozitif Hastaların 20-30 Yaş Arası Genç Nüfusta Daha Sık Görülmeye Başlanması, İnfeksiyon Dünyası Çalıştayı 2018, 76, Ankara, 2018

Mızrak M, Karataş S, Yağcı S, Yücel M. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Haziran 2018-Haziran 2019 Tarihleri Arasında *Escherichia Coli* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 42, İzmir, 2019

Türkmen Z, Demir H.A.Y, Yücel M, Yağcı S, Dinç B, Mızrak M. Kan Kültürü Örneklerinden İzole Edilen *Candida* Türlerinin Dağılımı Ve Antifungal Duyarlılıkları, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 134, İzmir, 2019

Kocağa M, Mızrak M. Refrakter Göz Cerrahisi Sonrası *Alternaria* spp'ye Bağlı Gelişen Fungal Keratit Olgusu, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 143, İzmir, 2019

Kaya F, Mızrak M, Kocağa M, Özkan M. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne Başvuran Hastalarda İntestinal Parazitlerin Dağılımının Değerlendirilmesi, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 190, İzmir, 2019

Kocağa M, Mızrak M, Özkan M, Yücel M, Yağcı S. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 4 Yıllık Süreçte Göz Örneklerinde Üreyen Mikroorganizmaların Değerlendirilmesi, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 198, İzmir, 2019

Berkem R, Mızrak M. İndirekt İmmunfloresan Yöntemiyle ANA Pozitif Saptanan Örneklerde Sentromer Paterninin Değerlendirilmesi, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 226, İzmir, 2019

Berkem R, Mızrak M, Karaahmet F. Aktin Tipi Anti-Düz Kas Antikoru(ASMA) Pozitifliği Saptanan Tip 1 Otoimmün Hepatit Olgusu, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 228, İzmir, 2019

Mızrak M, Gelişigüzel G, Erdinç F.Ş, Yağcı S, Yücel M, Tuncer Ertem G. Polikliniğe Başvuran Hastalardan Alınan İdrar Kültürlerinde Üreyen Etkenlerin Siprofloksasin Duyarlılığının Değerlendirilmesi, İnfeksiyon Dünyası Çalıştayı 2020, 04, Ankara, 2020

Mızrak M, Gülbahçe Orhan S, Kocağa M, Erdinç F.Ş, Yücel M, Yağcı S, Tuncer Ertem G. Son Bir Yılda Gaita Örneklerinden İzole Edilen *Salmonella* ve *Shigella* İzolatlarının Antibiyotik Direnç Oranları, İnfeksiyon Dünyası Çalıştayı 2020, 08, Ankara, 2020

Gülbahçe Orhan S, Mzrak M, Aksoy A, Erdinç F.Ş. Anti-HIV ELISA Sonucu Düşük Titrede Reaktif Saptanan Hastaların Doğrulama Sonuçlarının Değerlendirilmesi, İnfeksiyon Dünyası alıştay 2020, 08, Ankara, 2020

Cesur B.S, Mzrak M, Yağcı S, Yücel M, Berkem R. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Ocak 2021-Eylül 2021 Tarihleri Arasında Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniklerinden Gönderilen İdrar rneklerinden İzole Edilen *Streptococcus agalactiae* reme Oranının Tespiti, 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi, 034, 2021

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Katıldığı paneller (panelist olarak)

Sahada Fırsatlar ve Tehditler alıştay, 5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, İzmir, 2019

Asistanlar ve Genç Uzmanlar Tartışıyor Paneli, 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi, 2021

EKLER

EK-1: HASTALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

Sevgili hastamız,

Çölyak hastalığınız olması sebebiyle sizi Dr. Bedia DİNÇ tarafından yürütülen **“Çölyak hastalığı bulunan erişkin hastalarda konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle *Blastocystis* spp. ve *Dientamoeba fragilis* görülme sıklığının araştırılması”** başlıklı araştırmaya davet ediyoruz.

Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle **aşağıda ayrıntılı olarak yazılan bilgilerin okunup anlaşılması** büyük önem taşımaktadır. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz doktorunuza sorunuz.

Bu çalışmaya katılmak tamamen **gönüllülük** esasına dayanmaktadır ve sadece siz izin verdiğiniz takdirde çalışmaya dahil edileceksiniz. Çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkında sahipsiniz. Bu araştırmaya katılmayı reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Aşağıda yazılan bilgileri okuyup anladıktan sonra **araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.**

Araştırmanın amacı: Çölyak hastalığı, gluten adı verilen bir buğday proteinine karşı gelişen, sindirim sistemi belirtileri ve sindirim sistemi dışı belirtilerle görülen bağırsak hastalığıdır.

Blastocystis spp. ve *Dientamoeba fragilis* ülkemizde yaygın olarak görülen ve dışkı örneklerinde sıklıkla saptanan bir parazit türleridir. Bu parazit enfeksiyonları belirtisiz olabileceği gibi karın ağrısı, ishal ve kusma gibi sindirim sistemi belirtileriyle de kendini gösterebilir. Son yıllarda bu parazitler ile çölyak hastalığı ve diğer bazı bağırsak hastalıkları arasında ilişki gösterilmiştir. Çölyak hastalarında parazit enfeksiyonlarının daha sık görülebileceği belirtilmiştir.

Çölyak hastalığı ve parazit enfeksiyonları arasındaki ilişkinin gösterilmesi, çölyak hastalığının tanısında ve tedavisinde yol gösterici olmaktadır.

Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı: Araştırmaya çölyak hastalığı tanısı olan 75 erişkin hasta ile çölyak hastalığı tanısı olmayan, bilinen herhangi bir hastalığı bulunmayan ve çalışmaya katılmaya gönüllü olan sağlıklı kişilerden seçilecek 75 erişkin birey olmak üzere **toplam 150** gönüllü dahil edilecektir.

Araştırma sırasında izlenecek ve gönüllüye uygulanacak yöntemler:

1. Çalışma için sizden **sadece dışkı örneği** vermeniz istenecektir.
2. Alınan dışkı örnekleri laboratuvar koşullarında bağırsak parazitleri açısından farklı yöntemlerle incelenecektir.

* Bu araştırma ile hastalar herhangi bir risk ya da rahatsızlık ile karşılaşmayacaktır.

* Gönüllülere ait kimlik bilgileri ve elde edilen tüm veriler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

* Çalışmaya katılmak için gönüllülerden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katılan gönüllülere de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

*Gönüllüler araştırma süreci ve sonucu ile ilgili bilgi almak isterse sorumlu araştırmacı Dr. Bedia DİNÇ'i 0 505 354 07 76 numaralı telefonda, yardımcı araştırmacılar Dr. Muzaffer MIZRAK'ı 0 505 561 41 07, Dr. Filiz KAYA'yı 0 505 457 67 12 numaralı telefonlardan arayabileceklerdir.

Gönüllü Beyanı:

Bilgilendirilmiş gönüllü onam formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

TARİH

Katılımcı hasta:

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Katılımcı ile görüşen hekim:

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza:

EK-2: SAĞLIKLI KONTROLLER İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

Sevgili gönüllümüz,

Sizi Dr. Bedia DİNÇ tarafından yürütülen **“Çölyak hastalığı bulunan erişkin hastalarda konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle *Blastocystis* spp. ve *Dientamoeba fragilis* görülme sıklığının araştırılması”** başlıklı araştırmaya davet ediyoruz.

Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle **aşağıda ayrıntılı olarak yazılan bilgilerin okunup anlaşılması** büyük önem taşımaktadır. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz doktorunuza sorunuz.

Bu çalışmaya katılmak tamamen **gönüllülük** esasına dayanmaktadır ve sadece siz izin verdiğiniz takdirde çalışmaya dahil edileceksiniz. Çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkında sahipsiniz. Bu araştırmaya katılmayı reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Aşağıda yazılan bilgileri okuyup anladıktan sonra **araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.**

Araştırmanın amacı: Çölyak hastalığı, gluten adı verilen bir buğday proteinine karşı gelişen, sindirim sistemi belirtileri ve sindirim sistemi dışı belirtilerle görülen bağırsak hastalığıdır.

Blastocystis spp. ve *Dientamoeba fragilis* ülkemizde yaygın olarak görülen ve dışkı örneklerinde sıklıkla saptanan bir parazit türlerdir. Bu parazit enfeksiyonları belirtisiz olabileceği gibi karın ağrısı, ishal ve kusma gibi sindirim sistemi belirtileriyle de kendini gösterebilir. Son yıllarda bu parazitler ile çölyak hastalığı ve diğer bazı bağırsak hastalıkları arasında ilişki gösterilmiştir. Çölyak hastalarında parazit enfeksiyonlarının daha sık görülebileceği belirtilmiştir.

Çölyak hastalığı ve parazit enfeksiyonları arasındaki ilişkinin gösterilmesi, çölyak hastalığının tanısında ve tedavisinde yol gösterici olmaktadır.

Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı: Araştırmaya çölyak hastalığı tanısı olan 75 erişkin hasta ile çölyak hastalığı tanısı olmayan, bilinen herhangi bir hastalığı bulunmayan ve çalışmaya katılmaya gönüllü olan sağlıklı kişilerden seçilecek 75 erişkin birey olmak üzere **toplam 150** gönüllü dahil edilecektir.

Araştırma sırasında izlenecek ve gönüllüye uygulanacak yöntemler:

1. Çalışma için sizden **sadece dışkı örneği** vermeniz istenecektir.
2. Alınan dışkı örnekleri laboratuvar koşullarında bağırsak parazitleri açısından farklı yöntemlerle incelenecektir.

* Bu araştırma ile hastalar herhangi bir risk ya da rahatsızlık ile karşılaşmayacaktır.

* Gönüllülere ait kimlik bilgileri ve elde edilen tüm veriler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir.

* Çalışmaya katılmak için gönüllülerden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katılan gönüllülere de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

*Gönüllüler araştırma süreci ve sonucu ile ilgili bilgi almak isterse sorumlu araştırmacı Dr. Bedia DİNÇ'i 0 505 354 07 76 numaralı telefondan, yardımcı araştırmacılar Dr. Muzaffer MIZRAK'ı 0 505 561 41 07, Dr. Filiz KAYA'yı 0 505 457 67 12 numaralı telefonlardan arayabileceklerdir.

Gönüllü Beyanı:

Bilgilendirilmiş gönüllü onam formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

TARİH

Katılımcı hasta:

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Katılımcı ile görüşen hekim:

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza:

EK 3: HASTA TAKİP FORMU

ADI: SOYADI: YAŞ: CİNSİYET:	TEL: UYRUK: ADRES:
--------------------------------------	--------------------------

İştahsızlık:

Kabızlık:

İshal:

Karın ağrısı:

Bulantı ve kusma:

Kilo kaybı:

Yorgunluk:

Şişkinlik:

Gaz:

Döküntü:

Anemi:

Kullanılan ilaç:

☐ Hasta glutensiz diyetle uyuyor

☐ Hasta glutensiz diyetle uymuyor

Özgeçmiş: (Akrabalarda ÇH tanısı öyküsü)

Gaita makroskopisi:

Gaitanın direkt mikroskopi/direkt bakı(nativ-lugol) sonucu:

Gaitanın direkt mikroskopi/konsantrasyon sonucu:

Gaitanın *Blastocystis* kültür sonucu

Gaitanın trikrom boyama sonucu:

Gaitanın real-time PCR sonucu: