



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

**DIŞKIDA *GIARDIA İNTESTİNALİS* TANISINDA ÜÇ  
YÖNTEMİN (MİKROSKOBİK İNCELEME, DİREKT  
FLORESAN ANTİKOR TESTİ,  
İMMUNOKROMATOĞRAFİK YÖNTEM)  
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Senem YAMAN KARADAM**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Sema ERTUĞ**

**AYDIN 2014**

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

DIŞKIDA *GIARDIA İNTESTINALİS* TANISINDA ÜÇ  
YÖNTEMİN (MİKROSKOBİK İNCELEME, DİREKT  
FLORESAN ANTİKOR TESTİ,  
İMMUNOKROMATOĞRAFİK YÖNTEM)  
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Senem YAMAN KARADAM

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Sema ERTUĞ

AYDIN 2014

## KABUL VE ONAY

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı doktora programı öğrencisi Senem Yaman Karadam tarafından hazırlanan "Dışkıda *Giardia intestinalis* tanısında üç yöntemin (mikroskopik inceleme, direkt floresan antikor testi, immunokromatografik yöntem) karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi" başlıklı tez, (.....) tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

<b><u>Unvanı, Adı ve Soyadı :</u></b>	<b><u>Üniversitesi :</u></b>	<b><u>İmzası:</u></b>
(Başkan).....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....
.....	.....	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... Sayılı kararıyla (.....) tarihinde onaylanmıştır.

Ünvanı, Adı Soyadı

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilimdalı tarafından yürütülen "Dışkıda *Giardia intestinalis* tanısında üç yöntemin (mikroskopik inceleme, direkt floresan antikor testi, immunokromatografik yöntem) karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi." isimli tez projesi kapsamında hazırlanmıştır. Tezin çalışması sırasında ışık mikroskobu, floresan mikroskobu, santrüfuj, vortex gibi malzemeler Adnan Menderes Üniversitesi Parazitoloji Anabilimdalı'nın olanaklarından kullanılmıştır. Tez projesi için demirbaş malzeme alınmamış sadece kullanılan sarf malzemeleri tez projesi kapsamında alınmıştır.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
ÖNSÖZ .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	v
RESİMLER ve TABLOLAR .....	vi
EKLER .....	vii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Araştırmanın Amacı .....	1
1.2. Genel bilgiler .....	3
1.2.1. Morfolojisi .....	4
1.2.1.1. <i>G. intestinalis</i> 'in Trofozoit Şeklinin İnce Yapısı .....	5
1.2.1.2. <i>G. intestinalis</i> 'in Kist Şeklinin İnce Yapısı .....	5
1.2.2. Parazitin Yaşam Döngüsü .....	6
1.2.3. Epidemiyoloji .....	7
1.2.4. Konak Parazit İlişkileri ve Patojenite .....	7
1.2.5. Klinik .....	10
1.2.5.1. Asemptomatik Taşıyıcılık .....	11
1.2.5.2. Akut Tablo .....	12
1.2.5.3. Kronik Tablo .....	12
1.2.6. Tanı .....	13
1.2.6.1. Etyolojik Tanı .....	13
1.2.6.1.1. Direkt Bakı (Nativ-Lugol) Yöntemi .....	13
1.2.6.1.2. Çoklaştırma Yöntemleri .....	14
1.2.6.1.3. Boyama Yöntemleri .....	14
1.2.6.1.4. Kültür Yöntemleri .....	14
1.2.6.1.5. Duodenum Aspirasyonu .....	15
1.2.6.1.6. Entero-test .....	15
1.2.6.1.7. Duodenel Biyopsi .....	16
1.2.6.2. İndirekt Tanı Yöntemleri .....	16
1.2.6.3. Ayırıcı Tanı .....	18
1.2.7. Giardioside İmmünite .....	18
1.2.8. Tedavi .....	19
1.2.8.1. Semptomatik Tedavi .....	19
1.2.8.2. Etkensel Tedavi .....	20
1.2.9. Korunma .....	22

<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	24
<b>2.1. Nativ-Lugol Direkt Mikroskopi Yöntemi</b> .....	24
2.1.1. Gerekli Malzemeler .....	24
2.1.2. Testin Yapılışı.....	25
2.1.3. Testin Değerlendirilmesi.....	25
<b>2.2. Formol- Etil Asetat Çöktürme Yöntemi</b> .....	25
2.2.1. Gerekli Malzemeler .....	25
2.2.2. Testin Yapılışı.....	25
2.2.3. Testin Değerlendirilmesi.....	26
<b>2.3. Crypto/Giardia IF Test Çalışma Yöntemi</b> .....	26
2.3.1. Kit Dışında Gerekli Malzemeler.....	26
2.3.2. Örnek Hazırlama .....	27
2.3.3. Testin Yapılışı.....	27
2.3.4. Testin Değerlendirilmesi.....	27
<b>2.4. Rida Quick Cryptosporidium/Giardia Test Çalışma Yöntemi</b> .....	28
2.4.1. Kit Dışında Gerekli Malzemeler.....	28
2.4.2. Testin Yapılışı.....	28
2.4.3. Testin Değerlendirilmesi.....	28
<b>3. BULGULAR</b> .....	30
3.1. Kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri .....	30
3.2. Olgu ve kontrol grubunun semptomları.....	30
3.3. Kullanılan yöntemlerin maliyetleri.....	31
<b>4. TARTIŞMA</b> .....	32
<b>5. SONUÇ</b> .....	37
<b>ÖZET</b> .....	38
<b>SUMMARY</b> .....	40
<b>KAYNAKLAR</b> .....	42
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	48
<b>RESİMLER VE TABLOLAR</b> .....	53
<b>EKLER</b> .....	58
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	59

## SİMGELER VE KISALTMALAR

°C:	Santigrat
BSA:	Sığır serum albumin (Bovin Serum Albumin)
DFA:	Direkt floresan antikor testi
Dk:	Dakika
DNA:	Deoksiribonükleik asit
dsRNA:	Çift sarmallı ribonükleik asit
EIA:	Enzyme immunoassay
ELISA:	Enzyme linked immunosorbant assay
<i>G. intestinalis</i> :	<i>Giardia intestinalis</i>
GLV:	<i>Giardia lamblia</i> virus
gr:	Gram
HLA:	İnsan lökosit antijeni (Human Leukocyte Antigene)
IFA:	İndirekt floresan antikor testi
İK:	İmmunokromatografik
kDA:	Kilodalton
kg:	Kilogram
l:	Litre
mg:	Miligram
MIF:	Merthiolat iyot formaldehit
ml:	Mililitre
µl:	Mikrolitre
µm:	Mikrometre
PBS:	Phosphate buffered saline
PCR:	Polymerase chain reaction

## RESİMLER ve TABLOLAR

		<b>Sayfa</b>
Resim 1:	Olgu grubu IK sonuçları	53
Resim 2:	Kontrol grubu IK sonuçları	54
Resim 3:	DFA, <i>G. intestinalis</i> saptanan numune örneği	55
Resim 4:	DFA, <i>G. intestinalis</i> saptanmayan numune örneği	56
Tablo 1:	Olgu ve kontrol grubundaki semptomların sayı ve yüzdeleri	57



## **EKLER**

	<b>Sayfa</b>
Ek 1: Çalışma bilgi ve anket formu	58

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Araştırmanın Amacı

*Giardia intestinalis* (*G.intestinalis*)'in neden olduğu giardiosis tüm dünyada ve özellikle de gelişmekte olan ülkelerde en sık rastlanan protozoon hastalığı olarak bildirilmektedir. Endüstriyel ülkelerde %2-5 arasında, gelişmekte olan ülkelerde %20-30'a varan oranlarda yayılım gösterdiği belirtilmektedir. Özellikle çocuklarda yüksek oranda görüldüğü ve uzun süreli diyarelere bağlı malnutrisyon ve gelişme geriliğine neden olduğu ifade edilmektedir (Roxstrom-Lindquist ve ark 2006, Ak ve ark 2007). Ülkemizde de son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı bölgelerde %0,8'den %54,8'e kadar değişebilen oranlar bildirilmiştir (Kocazeybek 2001, Yılmaz ve ark 2002, Çelik ve ark 2003, Çıragil ve ark 2003, Yaman Karadam ve ark 2008). *G.intestinalis* ile enfeksiyonun fekal oral geçiş ya da kontamine olmuş yiyecek veya suyun kullanımı ile meydana geldiği ifade edilmektedir. Özellikle lağım sularının içme sularına karışması ile salgınlar ortaya çıkabildiği belirtilmektedir (Ak ve ark 2007, Leber ve Novak-Weekley 2009). *G.intestinalis* ile enfekte olan bireylerin çoğu asemptomatik olmasına karşın semptomatik hastalarda akut enfeksiyonların diğer protozoal, viral ve bakteriyel patojenler tarafından oluşturulan enfeksiyonları taklit edebildiği belirtilmektedir. Yaklaşık 10-20 günlük bir inkübasyon zamanından sonra hastalarda bulantı, titreme, düşük dereceli ateş, üst karın ağrısı ve ani sulu ishal başlangıcı gibi yakınmalar bulunabileceği ifade edilmektedir. Dışkıının; kan, hücresel eksuda ya da mukus olmaksızın kötü kokulu olduğu bildirilmektedir. Hastalarda tekrarlayan ishal, karın bölgesinde huzursuzluk, şişkinlik, geğirme ve mide yanması gibi semptomlar eşliğinde subakut ya da kronik enfeksiyon gelişebileceği ifade edilmektedir. Kronik giardiosisli hastalarda ishal, dehidratasyon, malabsorbsiyon ve pankreatik fonksiyon azalması görülebileceği de belirtilmektedir (Leber ve Novak-Weekley 2009).

Giardiosis'in etyolojik tanısında dışkıda etkensel tanı, duodenum sıvısında etkensel tanı ve indirekt tanı yöntemlerinin kullanıldığı ifade edilmektedir. Dışkıda etkensel tanı için nativ-lugol yöntemi ile direkt bakı, çoklaştıma yöntemleri, boyama yöntemleri ve kültür yöntemi kullanılabilirliği belirtilmektedir. Boyama yöntemlerinden özellikle Giemsa, demir hematoxyline ve trichrom boyama yöntemlerinin yararlı olduğu bildirilmektedir. Duodenal sıvıdan etkensel tanı için: duodenum aspirasyonu, entero-test ve duodenal biyopsi

yöntemleri ile alınan materyallerin *G.intestinalis* açısından incelenmesinin yapılabildiği ifade edilmektedir. İndirekt tanı yöntemlerinin ise hastanın kanında *G.intestinalis*'e karşı oluşmuş antikorları veya dışkıda parazitin antijenlerini göstermeye yönelik yapılabileceği ifade edilmektedir. Dışkı örneklerinde *G.intestinalis* antijenlerinin saptanması için kabul gören yöntemlerin enzyme linked immonosorbant assay (ELISA), direkt floresan antikor testi (DFA) ve immunokromotografik (IK) analizler olduğu bildirilmektedir (Leber ve Novak-Weekley 2009). Bu yöntemlerin yüksek özgüllük (%90-100) ve duyarlılığa (%65-100) sahip oldukları belirtilmektedir. Bu yöntemler trichrom boyama yöntemi ile karşılaştırıldığında oldukça duyarlı oldukları bildirilmekte, ancak taze direkt baki ve boyalı preparatlar incelenmezse diğer önemli patojenlerin gözden kaçabileceği belirtilmektedir (Garcia ve Shimizu 1997, Johnstan ve ark 2003). Sıklıkla kullanılan DFA yöntemi'nin %95'den fazla bir duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu bildirilmekte, ancak bu yöntem pahalı ve değerlendirmesi uzmanlık isteyen bir araç olan fluoresan mikroskop kullanılmasını gerektirdiği ifade edilmektedir. Gastrointestinal semptomları olan 558 olgunun incelendiği bir çalışmada dışkıda *G. intestinalis*, *E. histolytica*, *C. parvum* saptanmasına yönelik kullanılan mikroskopik yöntemlerin immün tanısal yöntemlere göre duyarlılıkları, özgüllükleri ve tutarlılıkları [kappa ( $\kappa$ ) değerleri] sırasıyla; %26.0-75.0, %97.6-100.0 ve 0.20-0.66 (düşük-orta düzeyde) bulunmuştur (Kuştımur ve ark 2009). Yapılan bir çalışmada DFA yönteminin duyarlılığı %100 özgüllüğü ise %99,8 olarak bildirilmiş ve bu yöntemin geleneksel mikroskopi yöntemine göre daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (Zimmerman ve Needham 1995). Yapılan diğer bir çalışmada uzun süre bekletilmiş dışkı örneklerinden *G.intestinalis*' in tanısı için DFA yönteminin diğer mikroskopik inceleme yöntemlerine göre çok daha üstün olduğu bildirilmiştir (Morimoto ve ark 2001). Dışkı örneklerinden *G.intestinalis*'in farklı yöntemlerle araştırıldığı bir diğer çalışmada ise DFA ile ELISA ve DFA ile trichrom boyama yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadığı ifade edilmiştir (Doğruman Al ve ark 2006). Klinik örneklerden *G.intestinalis* saptamak için moleküler yöntemlerin kullanılmasıyla ilgili de çalışmalar yapıldığı bildirilmiştir (Almar ve ark 2002). İlk çalışmalar deoksiribonükleik asit (DNA) bazlı moleküler tanı yöntemlerinin kullanışlı olduğunu düşündürmekle birlikte DNA izolasyonunda bir takım güçlükler olduğu ve polymerase chain reaction (PCR) gibi amplifikasyon yöntemleriyle duyarlılığı artırmanın mümkün olduğu bildirilmiştir (Char ve Farthing 1991). Bizim çalışmamızın amacı dışkı örneklerinden *G.intestinalis* saptanmasında, direkt taze dışkıdan ve çoklaştırma yöntemi sonrası nativ-lugol ile direkt mikroskopi, DFA ve IK yöntemleri arasında fark olup olmadığının araştırılmasıdır. Direkt

mikroskopik inceleme ve/veya formol etil asetat yöntemleri altın standart kabul edilerek DFA ve IK yöntemleri ile karşılaştırılacak bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüğü saptanacaktır. Sonuç olarak *G.intestinalis* tanısı için DFA ve IK yöntemlerinin ne kadar uygun olduğu saptanmaya çalışılacaktır.

## 1.2. Genel bilgiler

*Giardia* genusu içinde yer alan organizmaların kamçılı protozoonlar olduğu ve insanlar ve diğer memelileri içine alan oldukça kalabalık bir omurgalı grubunu enfekte ettiği ifade edilmektedir (Roxström-Lindquist ve ark 2006, Cotton ve ark 2011). *Giardia* türlerinin Diplomonadida phylumu altında yer alan Zoomastigophorea sınıfına ait olduğu bildirilmektedir. *Gardia* türlerinin etkilediği tüm omurgalılarda yaşadığı yerin ince bağırsaklar olduğu bilinmektedir (Ak ve ark 2007, Cotton ve ark 2011). *G.intestinalis*'in, ilk olarak, kronik diyare yakınması olan Van Leeuwenhoek'un kendi sulu dışkısına mikroskop altında bakması ile görüldüğü, sulu olmayan dışkı örneklerinde parazite rastlamadığını bildirdiği ifade edilmektedir (Ak ve ark 2007).

*Giardia* cinsinin daha önceleri yerleştiği konağa ve vücut boyutlarına göre sınıflandırıldığı ifade edilmektedir. Bu sınıflandırma yöntemi ile 6 *Giardia* türünün bulunduğu ve bunların 40'dan fazla hayvan türünü enfekte ettiği bildirilmiştir. Francis Filice tarafından 1952'de ortaya konan; *Giardia* türlerinin median cisimlerinin şekline, protozoonun biçimine ve büyüklüğüne göre ayrıldığı sınıflandırma yönteminin çok daha pratik olduğu ifade edilmektedir. Bu kriterler kullanıldığında başlıca üç *Giardia* türünün tanımlandığı ifade edilmektedir ( Ak ve ark 2007):

- 1- *Giardia agilis*: Boyutları 20x4.5 µm olup, vücudunun ve median cisimlerinin uzun ve dar olduğu ifade edilmektedir. Median cisimlerinin vücudun uzun eksenine paralel ve gözyaşı şeklinde olabildiği bildirilmektedir. Bu *Giardia* türünün amfibilerde görüldüğü ifade edilmektedir.
- 2- *Giardia muris*: Boyutları yaklaşık 10x7 µm olup daha çok armuta benzediği ifade edilmektedir. Median cisimlerinin merkezde iki küçük yuvarlak şeklinde olduğu ve bu türün kemirgenlerde, kuşlarda ve bazı sürüngenlerde görüldüğü bildirilmektedir.

3- *Giardia duodenalis* (*G. lamblia* - *G. intestinalis*): Parazitin büyüklüğünün, bulunduğu konak memeliye göre farklılık gösterdiği belirtilmekle birlikte genellikle uzunluğunun 11-16 µm, genişliğinin 5-9 µm olabileceği ifade edilmektedir. Bu türün median cisimlerin parazitin vücudunu enine geçtiği, vücudun bir yarısından diğer yarısına uzandığı ve pençe şeklinde olduğu bildirilmiştir. Median cisimin nadiren bir tane olmakla birlikte genellikle iki tane olduğu ifade edilmektedir. Genellikle *G. intestinalis* olarak adlandırılan bu türün, insanda da etken olan tür olduğu bildirilmektedir (Ak ve ark 2007).

### 1.2.1. Morfolojisi

*G.intestinalis*'in evriminde trofozoit ve kist olmak üzere iki morfolojik şekil görüldüğü bilinmektedir. Parazitin trofozoit şeklinin uzunlamasına ortadan ikiye bölünmüş armut şeklinde olduğu 9-21 µm boyunda, 5-15 µm eninde olduğu bildirilmektedir. Ön yüzünde genişleyen bölümün neredeyse tamamını kaplayan emici diskin yer aldığı ve bu yapının parazitin yüzeylere tutunmasını sağladığı ifade edilmektedir. Emici diskin arkasında iki adet oval şekilde nukleus bulunduğu ve nukleus içinde genellikle merkezi yerleşimli olan büyük karyozomlar görüldüğü belirtilmektedir. *G.intestinalis*'in trofozoit şeklinin yandan görüntüsünde ise ön yüzünün yere paralel olacak biçimde düz, dorsal(sırt) yüzünün ise bombeli olduğu ifade edilmektedir. İki nukleus arasında adeta mikroorganizmayı ikiye ayıran ve armutun dar ucuna doğru uzanan aksonem, median cisimler ve organizmanın dört çift kamçısına kök oluşturan kinetosomal komplekslerin yer aldığı bildirilmektedir. *G. intestinalis*'in dört çift kamçıya sahip olduğu bunların; anterior, lateral, ventral ve posteriorda olduğu ifade edilmektedir. Aksonemlerin ön kamçılarla devam ettiği ve bu aksonemlerin, ön kamçıların bir miktar kavis almış olan intrastoplazmik parçaları gibi olduğu ifade edilmektedir. Median cisimlerin mikrotübüler yapılar olarak görüldüğü belirtilmektedir. *G.intestinalis*'in kist şeklinin ise 8-12 µm uzunluğunda ve 7-10 µm genişliğinde oval, sitoplazmaları ince granüllü olup içinde orta cisimler, kamçı ve diğer hücre organel kalıntıları ile 2-4 nukleus kistin bir ucunda toplanmış olarak görüldüğü ifade edilmektedir (Daldal ve Özensoy 1997, Ak ve ark 2007). *Giardia* cinsinin mitokondri ve golgi cisimciği bulunmamasına rağmen ökaryot mikroorganizmalar olarak sınıflandırıldığı ifade edilmektedir. *Giardia* kistlerinin ikiden dörde kadar değişen sayıda nukleus ve trofozoit organellerinin kalıntılarını içerdiği ve oval şekilde olduğu belirtilmektedir (Gillin ve ark 1991, Ak ve ark 2007).

### 1.2.1.1. *G. intestinalis*'in Trofozoit Şeklinin İnce Yapısı

*G. intestinalis* trofozoitlerin emici disklerinin birkaç yapısal elementten oluşan konkav yapıda ve sert olduğu ifade edilmektedir. Bu emici diskten, dorsal olarak sitoplazmaya mikroşeritler uzandığı ifade edilmektedir. Bu mikroşeritlerin karşılıklı köprülerle birbirlerine, ayrıca plazma membranına komşu olan mikrotübüllere ventral olarak bağlandığı bildirilmektedir. Diskin fibröz yapıda olduğu ve dışarı çıkıntı yapan kenarının, sitoplazma membranının yan çıkıntısına sıkıca bağlanmış olduğu belirtilmektedir. Tubulin adı verilen proteinlerin *G. intestinalis*'in en önemli iskelet yapısı proteini olduğu bildirilmektedir. Ayrıca emici disk mikroşeritlerinin giardin denilen bir protein içerdikleri bildirilmektedir. Boyutları 29-38 kDA arasında değişen ve *G. intestinalis*'e özgün olan giardin proteinlerinin; yalnız emici diskte bulunduğu ve emici diskin fonksiyonunda önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Ayrıca bu proteinlerin yeni geliştirilecek kemoterapötik ajanlar için iyi hedef olduklarının düşünüldüğü ifade edilmektedir. Sadece *Giardia* türlerinde çift olarak bulunan orta cisimlerin, mikrotübül paketinden oluştuğunun belirlenmesine karşın, fonksiyonlarının henüz bilinmediği ifade edilmektedir. Emici diskin oluşumunda rol oynadıklarının öne sürüldüğü ve biyokimyasal yapıları hakkında ileri çalışmaların gerektiği bildirilmektedir. Eşit büyüklükte ve simetrik iki nükleusun bir tek *Giardia* cinsinde bulunduğu, morfolojik olarak ayırt edilemeyen iki nükleusun, DNA yapılarının da aynı olduğunu düşündüren sonuçların bulunmasına rağmen DNA analizleri ve kromozom sayı analizleri ile ilgili çalışmaların devam ettiği bildirilmektedir (Daldal ve Özensoy 1997, Ak ve ark 2007).

### 1.2.1.2. *G. intestinalis*'in Kist Şeklinin İnce Yapısı

*G. intestinalis* kistlerinin dört adet nükleus içerdiği bilinmektedir. Bu nükleusların yuvarlak oval şekilde olduğu, kistlerin sitoplazmasında rastgele dağılmış olarak bulunduğu, tipik nükleer zarfla çevrilmiş ve orta yoğunlukta nükleoplazma içerdikleri ifade edilmektedir. Nükleuslarda merkeze yakın nükleolus olduğu düşünülen büyük, yoğun granüler bir yapının da bulunduğu ifade edilmektedir. Kamçıların aksonemlerinin nükleus çevresinde bulunduğu, daha oval şekilli kistlerde, kist merkezinde uzunlamasına yerleşebildiği, 8 aksonemin de genellikle seçilebildiği ifade edilmektedir. Kistlerin sitoplazmasını kist duvarından ayıran yapının plazma membranı olduğu bilinmektedir. Sitoplazmanın periferik kısmında, vakuollerin olduğu şeffaf bir bölüm bulunduğu ifade

edilmektedir. Kist çeperinin ana yapısını N-asetigalaktozamin olan fibröz proteinöz bir yapının oluşturduğu bildirilmektedir. Kist çeperinin kalınlığının yaklaşık 0.3 µm olduğu ifade edilmektedir. *Giardia* türlerinin bazılarının içerisinde bakteri, mikoplazma ve virüslerin endosimbiontlar olarak gözlemlendiği de bildirilmiştir. Bunlardan çift sarmallı ribonükleik asit (dsRNA) olan ve *Giardia lamblia* virüs (GLV) olarak tanımlanan virusun, trofozoitlerin büyüme oranı ve yapışmasının azalması ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca ağır enfeksiyonlarda hücre lizisine ve daha çok oranda parazitin çoğalmasının inhibisyonuna yol açtığı ifade edilmiştir (Thompson ve ark 1993, Daldal ve Özensoy 1997, Ak ve ark 2007).

### 1.2.2. Parazitin Yaşam Döngüsü

*Giardia*'nın yaşam döngüsünün; dışkı ile atılan kistlerin uygun bir konak tarafından, oral yoldan yiyecek ve içeceklerle alınması ile konak omurgalının ince bağırsağında başladığı belirtilmektedir. Konak içerisinde mide asiditesinin de etkisi ile kist duvarının parçalanarak trofozoitin ortaya çıkmasının ekskistasyon olarak isimlendirildiği ifade edilmektedir. Trofozoit formunun ait olduğu omurgalı konağın ince bağırsak mukozasına tutunmasını sağlayan yapının emici disk olduğu ifade edilmektedir. Parazitin bazı yüzey moleküllerinin (alfa, beta, delta, gama giardinler gibi) bu sıkı yapışmada etkili olduğu bildirilmektedir. Emici disk yardımıyla mukozaya yapışan trofozoitlerin nükleusunun burada ikiye bölündüğü ve trofozoitin tekrar tutunma sürecine başladığı, sonuçta çok fazla sayıda trofozoitin, konak omurgalının ince bağırsak mukozasına yapışmış biçimde yaşamlarına devam ettikleri ifade edilmektedir. Bu trofozoitlerden bir kısmının intestinal epitelden ayrılarak bağırsak peristaltizmin etkisi ile dışkı ile atıldığı bilinmektedir. Zaman alıcı bir süreç olan parazitin trofozoit formundan kist formuna dönüşümünün konak olan omurgalının ince bağırsağında gerçekleştiği belirtilmektedir. Dışkı daha şekilsiz ve sıvı iken, dışkı örneklerinde daha çok trofozoit formun görüldüğü ifade edilmektedir. Bunun sebebinin bağırsak içeriğinin bağırsakta durma süresinin kısa olup, parazitin trofozoit formundan kist formuna geçişi için gerekli süre kadar ince bağırsak lümeninde kalamaması olduğu belirtilmiştir. Parazitin iki nükleuslu trofozoit formunun, iki nükleuslu kist formuna dönüşümünün enkistasyon olarak adlandırıldığı ifade edilmektedir. Daha sonra bu iki nükleusun da ikiye bölünerek dört nükleuslu kist formunun olduğu bildirilmektedir. Parazitin kist formunun ise daha çok şekilli dışkı örneklerinde görüldüğü ifade edilmektedir (Daldal ve Özensoy 1997, Cotton ve ark 2011).

### 1.2.3. Epidemiyoloji

*G. intestinalis*'in intestinal malabsorbsiyon ve diyareye neden olan, tüm dünyada yaygın bir intestinal protozoon olduğu bilinmektedir. İçme suyu kaynaklı en yaygın patojenlerden biri olduğu ifade edilmektedir. Endüstriyel ülkelerde %2-5 arasında, gelişmekte olan ülkelerde %20-30'a varan oranlarda yayılış gösterdiği belirtilmektedir. Özellikle çocuklarda yüksek oranda görüldüğü ve uzun süreli diyarelere bağlı malnutrisyon ve gelişme geriliğine neden olduğu ifade edilmektedir (Roxstrom-Lindquist ve ark 2006, Ak ve ark 2007). Ülkemizde de son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı bölgelerde %0,8'den %54,8 e kadar değişebilen oranlar bildirilmiştir (Kocazeybek 2001, Yılmaz ve ark 2002, Çelik ve ark 2003, Çıragil ve ark 2003, Yaman Karadam ve ark 2008).

Giardiosis'in insanlar arasında fekal oral yol ile yiyecek ve su aracılığıyla veya cinsel yolla yayıldığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda hayvanlarda bulunan *Giardia* türlerinin de insanları enfekte edebileceğini gösteren güçlü deliller elde edilmiş ve zoonotik bulaşın mümkün olabileceği ileri sürülmüştür. *Giardia* kistlerinin insanlar arasındaki bulaşının fekal oral yolla kişiden kişiye bulaş ve kontamine yiyecek ve sular aracılığıyla çevresel bulaş olmak üzere iki şekilde gerçekleştiği gösterilmiştir. Fekal oral yolun giardiosis bulaşında en önemli yol olduğu belirtilmektedir. Sağlıksız ve hijyen koşullarının bozuk olduğu ortamlarda gelişmiş ülkelerde bile yüksek oranlarda (%5-43) giardiosis'e rastlandığı bildirilmektedir (Üner ve Ertuğ 1997, Roxstrom-Lindquist ve ark 2006).

Kontamine yiyecek ve sular yoluyla çevresel bulaşta, nüfusun büyük bir kısmı tek kaynaktan enfekte olabildiğinden bunun giardiosis epidemiyolojisinde en büyük tehlike olarak görüldüğü bildirilmektedir. Su kaynaklarının kontaminasyon nedenlerinden en önemlisinin, temas ettikleri kanalizasyonlar olmakla birlikte, insanları enfekte edebilecek *Giardia* türlerinin rezervuarı olan hayvanların da suların kontaminasyonunda potansiyel bir tehlike olabileceği belirtilmektedir (Üner ve Ertuğ 1997).

### 1.2.4. Konak Parazit İlişkileri ve Patojenite

Kamçıları ile hareket eden *Giardia* trofozoitlerinin emici diskleri ile ince bağırsağın yukarı kısmındaki epitel hücrelerine kuvvetle yapıştığı bildirilmektedir. Bu kuvvetli



bağlanmada giardinler gibi bazı parazit yüzey proteinlerinin rol aldığı ifade edilmektedir. *Giardia* trofozoitleri ile intestinal epitel hücrelerinin bu etkileşiminin diyare oluşumuna yol açan birçok olayı tetiklediği belirtilmektedir. Bu olayların enterosit apoptozisi, ince bağırsak bariyer disfonksiyonu, konak lenfositlerinin aktivasyonu, mikrovillusların kısalması veya atrofisi, disakkaridaz eksikliği, ince bağırsak malabsorpsyonu, anyon hipersekresyonu, ve bağırsak pasaj hızı artışı olarak sıralanabileceği ifade edilmektedir. Yapılan araştırmalarda bu olaylardan özellikle trofozoitlerin enterositlerin apoptozisini uyarmasının, *Giardia* infeksiyonunun patogeneğinde anahtar rol oynadığı ifade edilmiştir. Trofozoitlerin bazen bağırsak salgı bezleri içine girebildiği, bazen de duodenumdan safra kanallarına geçip, safra kanallarında da görülebildiği ifade edilmektedir (Roxstrom-Lindquist ve ark 2006, Ak ve ark 2007, Cotton ve ark 2011).

*G. intestinalis* trofozoitlerinin % 7 gliserol içinde -70 °C'de iki yıl canlı kalabildiklerinin saptandığı ifade edilmektedir. Kistlerin sularda ortam ısısına bağlı olarak 8 °C'de iki ay, 21 °C'de 5-24 gün, 37 °C'de 4 gün canlı kalabildiği bildirilmektedir. % 0.5 klorlu suda iki üç gün yaşayabildiği ifade edilmektedir. Dışkı ile birlikte sinekler tarafından alınan *G. intestinalis* kistlerinin sineklerin bağırsaklarında 24 saat canlı kalabildikleri bildirilmektedir. Kistlerin 65 °C'de iki dakikada (Dk) öldüğü, dondurma ve çözündürme işleminin ise %99'un üzerinde öldürücü etki yaptığı ifade edilmektedir. *G. intestinalis* trofozoitlerinin büyümesi, gelişmesi ve çoğalması için enerji kaynağı olarak mutlaka glikoza ihtiyacı olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmaların arjinin ve alanin başta olmak üzere bir çok aminoasidin *Giardia*'nın besiyerinde üremesi esnasında enerji metabolizmasına dahil olduğunu gösterdiği ifade edilmektedir (Ak ve ark 2007).

*G.intestinalis* bulaşımın kist içeren gıda veya suların ağız yolu ile alınması vasıtası ile olduğu bilinmektedir. *G.intestinalis* kistlerinin mideyi geçtikten sonra ince bağırsakların alkalin ortamında trofozoit şekle dönüştüğü ifade edilmektedir. *G.intestinalis*'in trofozoitlerinin duodenum, jejunum ve ileumun üst kısmı ile ender olarak safra kesesi veya safra yollarının epitel yüzeylerinde yerleştiği bildirilmektedir. Giardiosiste görülen diyare ve steatorenin patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte, bunu açıklayabilmek için bazı mekanizmalar ileri sürülmektedir. Bunların; intestinal epitel hücrelerinin apoptozisinde artış, mukozanın ve mukozal epiteldeki kanalların çok fazla sayıda parazit tarafından mekanik olarak tıkanması; fırça epiteli ve mikrovillus yapısında bozulma; yağ emilimi için gerekli bağırsak içi komponentlerin bozulması; parazitin ve konağın besin için yarışmaya

girmesi; artan mukus sekresyonu; parazitin salgıladığı bir toksinin bağırsaklar üzerine etkisi olabileceği ifade edilmektedir (Ketelaris ve ark 1991, Alkan 1997, Cotton ve ark 2011). Ancak bugün için *G.intestinalis*'in ince bağırsak mukozasında hasara yol açtığı görüşünün ağırlık kazandığı belirtilmektedir. İnce bağırsak biyopsilerinin ışık mikroskopunda yapılan incelemelerinde, villuslarda parsiyelden subtotale kadar değişen seviyelerde atrofi görüldüğü, bunlara mukozada inflamasyon ve intraepitelial lenfosit miktarında artmanın da eşlik ettiği ifade edilmektedir. Mikrovillus membran disakkaridaz aktivitesinde ve glikozun aktif transportunda azalmanın da saptandığı belirtilmiştir.

Giardiosisin yol açtığı hasarla ilgili ilgi çekici bir başka hipotez de parazitin salgıladığı hyaluronidaz, proteaz, ve mukopolisakkaridaz gibi enzimlerle parazitin kolon mukozasına invaze olmasını kolaylaştırması olarak değerlendirilmektedir. Salgıladığı bir ekzotoksin aracılığıyla bağırsak epitel hücrelerinde harabiyete yol açtığı da belirtilmektedir. Bununla birlikte parazitin taşıdığı çeşitli proteinazların varlığının, mikrovillus membranının yüzey proteinleri üzerine olası yıkıcı etkileri hakkında fikir vermekte olduğu ifade edilmektedir. *G.intestinalis*'in ayrıca konağın tripsini tarafından aktive edilen mannoz bağlayıcı bir yüzey lektinine sahip olduğu da ifade edilmektedir. Bu lektinin villus yapısında iki değişiklik oluşturabileceği ifade edilmektedir. Bu değişikliklerden birincisinin lektinin enterositler üzerine doğrudan zarar verici etkisi olabileceği bildirilmiştir. İkinci olarak ise *Giardia*'nın taşıdığı mannoz bağlayıcı lektinin bir mitojen gibi enterositlerin yarılanma ömrünü azaltarak gelişmemiş çok sayıda enterosit oluşumunu, dolayısıyla da disakkaridaz aktivitesinde azalmayı indüklediği ifade edilmektedir. Her iki mekanizmanın da şu an için kanıtlanmamış olduğu bildirilmektedir. Bunun yanında mukozada meydana gelen inflamasyonun da epitel hasarının oluşumunda rol oynadığı ifade edilmektedir. Diğer inflamatuvar bağırsak hastalıklarında olduğu gibi giardiosiste de lamina propria inflamatuvar değişiklikler olduğu belirtilmektedir. Ayrıca ince bağırsak mukozasında artan lektin veya anti CD4 antikörlerinin T hücresi aktivitesini arttırarak, villöz atrofiye yol açtığı ifade edilmektedir. Giardiosiste T hücre aktivitesinin artmasının spesifik *Giardia* antijenleri veya *Giardia* lektininin olası doğrudan etkisine bağlı olduğu bildirilmektedir. Artan lenfositlerin yanı sıra, bölgeye göç eden mast hücreleri ve bunların yol açtığı lokal anaflaktik etkilerin giardiosisteki inflamatuvar yanıtı daha da belirginleştirdiği ifade edilmektedir. Bütün bu sayılan mukozal etkilerin immüitesi baskılanmış kişilerde çok daha ciddi olarak ortaya çıktığı belirtilmektedir (Markel ve ark 1992, Ak ve ark 2007). Yapılan çalışmalarda *Giardia* infeksiyonunun villusların kısılması

yolu ile intestinal absorpsiyon kapasitesini azaltarak malnutrisyona sebep olduğu ifade edilmiştir (Ventura ve ark 2013).

*G. intestinalis*'in ince bağırsağın üst kısımlarında mukozal epitele ventral yüzündeki emici disk aracılığıyla tutunarak yerleştiği bilinmektedir. Parazitin intestinal mukozaya yapışmasını kolaylaştırabilen ilginç bir özelliğin de salgıladığı bir lektin proteininin bu tutunmayı kolaylaştırması ve aynı zamanda duodenum salgılarının bu lektinin oluşumunu uyarması olduğu ifade edilmektedir. Böylece mukozal epitele tutunabilen protozoonun yapışma sonucu yol açtığı mekanik etki sayesinde mukozal irritasyona da neden olduğu; bunun da *Giardia*'nın patojen etkilerinden birini oluşturduğu belirtilmektedir (Gillin ve ark 1991, Ak ve ark 2007).

Bazı hastalarda giardiosis sekonder intestinal bakteri artışı meydana geldiği ve bu bakteriler tarafından safra tuzlarının daha fazla konjugasyonu sonucu, yağ emiliminde bir azalma meydana geldiği ifade edilmektedir. Ayrıca parazitin kendisi tarafından tüketilen safra tuzlarının da yağ emilimini olumsuz yönde etkileyen ve pankreatik lipazın etkisini de azaltan bir dizi intestinal olaya yol açtığı ifade edilmektedir. *Giardia* trofozoitlerinin konağın hidrolitik enzimleri ile de etkileşime girdiği; böylece tripsin aktivitesinin ve lipolizin inhibe olduğu da belirtilmektedir. Semptomatik vakalarda pankreasın ekzokrin fonksiyonlarında azalmanın da meydana geldiği, parazitin eradikasyonundan sonra bu fonksiyonların düzelmesinin bunun bir kanıtı olarak sayılabileceği belirtilmiştir (Ak ve ark 2007).

Giardiosis için risk taşıyan grupların; bebeklik ve çocukluk döneminde anne sütünden yoksun kalanlar, yetersiz beslenen bebek ve çocuklar, turistler, immun yetmezliği olanlar, erkek homoseksüeller, doku antijeni gruplarından HLA A1, A2, B8, B12'ye sahip olanlar, peptik ülser, safra kanalı hastalıkları, pankreatit, aklorhidri, gastrektomi, kistik fibrozis gibi hastalıklara sahip olanlar olduğu ifade edilmektedir (Ak ve ark 2007).

### **1.2.5. Klinik**

*Giardia* ile enfekte bireylerde asemptomatik taşıyıcılıktan akut veya kronik diyareli hastalığa kadar çeşitli tablolar meydana gelebileceği ifade edilmektedir. Konak immun sisteminin bu klinik farklılıklarda anahtar rol oynadığı ifade edilmektedir. *Giardia*

enfeksiyonunun immun sistemi sağlam kişilerde aslında kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyon olduğu belirtilmektedir. *Giardia* enfeksiyonunun semptomlarının genellikle ishal, şişkinlik, karın ağrısı, mide bulantısı, kusma şeklinde olduğu, bu semptomların kilo kaybı ve anoreksiyaya yol açabileceği ifade edilmektedir (Cotton ve ark 2011). Yetişkinlerin ve büyük çocukların genellikle *G.intestinalis*'i semptomsuz olarak taşıdıkları bildirilmektedir. Ancak hayatın erken dönemlerindeki *Giardia* enfeksiyonunun genellikle semptomatik olduğu ifade edilmektedir. Diyarenin en sık görülen şikayet olduğu bildirilmekle beraber; davranış bozuklukları, gelişme geriliği, kronik karın ağrısı ve dışkı tutamama gibi şikayetlerin de oldukça sık görüldüğü ifade edilmektedir. Çocukluk ya da bebeklik çağında bu semptomlar varsa, diyarenin bunlardan birinin ya da birkaçının gölgesinde kalmış olabileceği ifade edilmektedir. Bunların dışında karında şişkinlik, iştahsızlık, kramp tarzında karın ağrıları, epigastrik hassasiyet, steatore ve malabsorbsiyon sendromu gibi başka şikayet ve bulgular da olabileceği ifade edilmektedir (Markell ve ark. 1992, Ak ve ark 2007). Ayrıca sekonder sinovite yol açtığını bildiren araştırmalar da mevcuttur (Letts ve ark 1998).

Giardiosisin inkübasyon süresinin 10-30 gün arasında olduğu bildirilmektedir. Bu srenin 10-100 günlük ısrarcı semptomatik sürecin içerisinde yer aldığı belirtilmektedir. Bu süreç içinde ortalama kilo kaybının 3-4 kg civarında olabileceği, hastalığın yeniden alevlenme oranının %25'e kadar ulaşabildiği ifade edilmektedir (Homan ve Mank 2001, Ak ve ark 2007). Bu hastalıkta asemptomatik taşıyıcılık, akut ve kronik olmak üzere üç tip klinik tablo aşağıda özetlenmiştir.

#### **1.2.5.1. Asemptomatik Taşıyıcılık**

Asemptomatik taşıyıcılığın hastalığın en yaygın şekli olduğu bildirilmektedir. Hastalığın bu şeklinde zaman zaman gelip geçen diyare dönemleri olsa da bunun hastalarda çok fazla sıkıntı oluşturmadığı belirtilmektedir. Enfeksiyonun hastalık şeklinde ortaya ıkmayışının konağın immün sisteminin ve savunma mekanizmalarının gücü ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Ak ve ark 2007, Cotton ve ark 2011).

### 1.2.5.2. Akut Tablo

Akut tabloda semptomların ortalama bir hafta içinde (3-20 gün) ortaya çıktığı, hastalığın 2-4 haftada kendini sınırladığı ifade edilmektedir. Hastalığa yakalananların %25 'inde semptomların 7 hafta ya da daha uzun süre devam edebildiği bildirilmektedir. Bu tabloda semptomların genellikle sulu diyare şeklinde başlayıp, daha sonra şekillenerek steatore, bulantı, karında rahatsızlık, şişkinlik, sıklıkla kilo kaybı şeklinde devam ettiği ifade edilmektedir. Semptomların peptik ülseri veya safra kesesi hastalıklarını taklit edebileceği bildirilmektedir. Akut tablonun özellikle düşük endemik bölgeden yüksek endemik bölgeye giden kişilerde görüldüğü ifade edilmektedir (Gürüz 1997).

### 1.2.5.3. Kronik Tablo

*Giardia* enfeksiyonlarında immunitesi sağlam kişilerde genellikle enfeksiyonun kendi kendini sınırladığı ve iyileştiği ifade edilmektedir. Ancak bazı vakalarda %30-50'ye varan oranlarda kronik giardiosis gelişebildiği bildirilmektedir. Kronik giardiosisde; kronik diyare, steatore, yağ emiliminde bozulma, yağda eriyen vitaminlerin emiliminde bozulma, karbonhidrat ve protein emiliminde bozulma, kilo kaybı ve anemi gibi semptom ve bulgularının olabileceği ifade edilmektedir. Diğer bir deyişle kronik giardiosisin, kronik malabsorbsiyon sendromuna yol açtığı belirtilmektedir. Giardiosisin bu en önemli komplikasyonu olan beslenme yetersizliği sonucu bir dizi problem ortaya çıktığı, bu komplikasyonun özellikle gelişmekte olan ve gelişmemiş ülkelerdeki çocuklarda önemli sağlık sorunlarına yol açtığı bildirilmektedir. Herhangi bir yaşta da görülebilecek bu semptomların, genellikle bebeklik ve küçük yaşlarda karşımıza çıktığı belirtilmektedir. Kronik giardiosisin genel belirtilerinin en çok şişkin karın, uzun-ince ekstremiteler ve gelişme geriliği olduğu bildirilmektedir. Periferik veya generalize ödem de görülebildiği ifade edilmektedir (Markel ve ark 1992, Ak ve ark 2007). Giardiosisin yol açtığı malabsorbsiyonun demir emilim bozukluğuna da yol açabildiği, buna bağlı giardiosisde demir eksikliği anemisi görülebildiği ifade edilmektedir ( Ak ve ark 2007).

Kronik giardiosiste zaman zaman kas ve eklem ağrılarının da klinik tabloya eşlik edebileceği bildirilmektedir. Hipersensitivite reaksiyonları sıklıkla helmint enfeksiyonlarında karşımıza çıkmakla beraber, giardiosisde de eozinofili ve ürtikerin görülebildiği ifade edilmektedir. *G. intestinalis* enfeksiyonlarından sonra görülebilen olası

reversible sekeller de artralji, sinovit ve artrit olarak bildirilmektedir (Letts ve ark 1998, Ak ve ark 2007).

### **1.2.6. Tanı**

Giardioside tanı koyabilmek için öncelikle bu parazitin akla getirilmesi gerektiği bilinmektedir. Yakın zamanda gerçekleştirilmiş bir yabancı ülke seyahati veya endemik bir bölgeden geliyor olmanın bu paraziti düşünmek için ipuçları olabileceği ifade edilmektedir (Thompson ve ark 1993). Giardiosisli hastaların en sık şikayeti olan diyarenin çok değişik karakterlerde olabileceği ifade edilmektedir. Örneğin akut veya kronik, aralıklı veya devamlı olabilirken zaman zaman konstipasyonla yer değiştiren şekilde de olabildiği belirtilmektedir. Dışkının genellikle mukuslu olduğu belirtilmektedir. Ancak yumuşak veya sulu, nadiren kanlı da olabileceği, zaman zaman yağ da içerebileceği bildirilmektedir. Karın ağrısı, şişkinlik, karında gaz, bulantı, kusma, iştahsızlık, yorgunluk, kilo kaybı ve nonspesifik psişik bazı semptomlar da görülebildiği ifade edilmektedir (Ak ve ark 2007).

#### **1.2.6.1. Etyolojik Tanı**

##### **1.2.6.1.1. Direkt Bakı (Nativ-Lugol) Yöntemi**

Dışkı incelemelerinin tüm diğer bağırsak protozoonlarında olduğu gibi giardiosis tanısında da yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri olduğu ifade edilmektedir (Özbel ve Dağcı 1997). Özellikle sıvı bir dışkı örneğinde ışık mikroskopunda direkt bakı ile hareketli trofozoitlerin görülebileceği ifade edilmektedir. Nativ yönteminde bir lam üzerine dışkının çeşitli yerlerinden alınan az miktardaki materyal konulup, üzerine bir damla fizyolojik tuzlu su konularak karıştırıldığı ve bir lamel kapatılarak kısa zamanda incelendiği bildirilmektedir. Bu yöntemle hareketli trofozoitler ve boyanmamış kistlerin görülebileceği ifade edilmektedir. Lugol yönteminde ise fizyolojik tuzlu su yerine Lugol eriyiği kullanıldığı, bu yöntemle trofozoitlerin hareketsiz, tipik armut şeklinde, iki nükleuslu olarak görüldüğü bildirilmektedir. Kistlerin ise sitoplazmadan ayrılmış kist duvarı ve sitoplazma içindeki fibrillerle kolayca tanındığı, nükleuslarının ise zor görüldüğü ifade edilmektedir. Nativ-lugol yöntemlerinin, sıvıların birbirine karışmaması şartı ile aynı lam üzerinde uygulanabilmesi, son derece kolay olması ve fazla ekipman gerektirmemesi

nedeniyle çok kullanılan yöntemler olduğu; ancak yanlış negatif sonuçların oldukça sık görülmesinin ise bu yöntemin dezavantajı olduğu ifade edilmektedir.

Dışkı numunelerinde kist şekillerinin her gün görülmeyebileceği, bu nedenle birden fazla dışkı örneğinin farklı günlerde alınması, değişik yöntemler ve boyama teknikleri kullanılarak daha güvenilir sonuçlar elde edilmeye çalışılması gerektiği bildirilmektedir. Klinik olarak giardiosisden şüphelenilen hastalarda dışkı örneğinin incelenmesine ısrarla devam edilmesi gerektiği belirtilmektedir. Eğer dışkı sıvı ise trofozoitleri görebilmek için alındıktan sonra en geç bir saat içerisinde incelenmesi gerektiği, çünkü genellikle sıvı dışkıda bulunan trofozoit şekillerin kısa zamanda bozulabildiği ifade edilmektedir. Dışkı örneklerinin merthiolat iyot formaldehit (MIF), %10'luk formalin ya da polivinil alkol gibi fiksatifler içine konarak daha sonra incelenmek üzere saklanabileceği bildirilmektedir (Özbel ve Dağcı 1997, Ak ve ark 2007).

#### **1.2.6.1.2. Çoklaştırma Yöntemleri**

Bu yöntemlerin amacının dışkıdaki kistlerin çöktürülerek veya yüzdürülerek bir araya toplanması ve görülebilme şansının artırılması olduğu ifade edilmektedir. Çöktürme (sedimentasyon) yöntemleri, formalin etil asetat (formalin eter veya ritche) sedimentasyon yöntemi; yüzdürme yöntemleri ise çinko sülfat veya doymuş tuzlu su ile flotasyon yöntemi olarak bildirilmektedir (Özbel ve Dağcı 1997).

#### **1.2.6.1.3. Boyama Yöntemleri**

Dışkıda protozoon görülüp tanımlanamadığı durumlarda veya kalıcı preparat elde etmek amacıyla uygulanmakta olduğu ifade edilmektedir. Boyama yöntemleri arasında Giemsa, Heidenhain'in demir hematoxylene ve trichrome boyama yöntemleri olduğu belirtilmektedir (Özbel ve Dağcı 1997, Ok ve ark 1997).

#### **1.2.6.1.4. Kültür Yöntemleri**

Serolojik yöntemler için gerekli olan antijenlerin elde edilmesinde, genetik, biyokimyasal ve immünolojik araştırmalar için kullanılmak üzere *Giardia* suşlarının hasta dışkılarından saf olarak elde edilmesi gerektiği ifade edilmektedir. Bu izolasyon işleminin;

- a) Sukroz gradient santrifüj ile kistlerin dışkı artıklarından ayrılması ve konsantre edilmesi,
- b) Asit solüsyonu içinde ekskistasyonun sağlanması,
- c) Ekskiste olmuş parazitin Karapetyan, TYI-S-33, HSP-1 ve HSP-2 gibi besiyerlerine ekilmesi
- d) Aksenik kültürün elde edilebilmesi için antibiyotik ve antimikotik solüsyonların kullanılması basamaklarından oluştuğu ifade edilmektedir ( Özbel ve Dağcı 1997).

#### **1.2.6.1.5. Duodenum Aspirasyonu**

*Giardia* trofozoitlerinin duodenumdan bir floroskop ve bir duodenal tüp yardımı ile alınan sıvı örneklerde de görülebileceği ifade edilmektedir. Bu uygulamanın ayrıca *Cryptosporidium* ve *Isospora* ookistlerinin ve *Strongyloides* larvalarının saptanmasında en duyarlı yöntem olduğu bildirilmiştir. Duodenum aspirasyonu yapmak için; duodenum içine 10-15 ml serum fizyolojik enjekte edilip sonra aspire edilebileceği, daha sonra 30 ml %33'lük magnezyum sülfat enjeksiyonu ile mukus salgısı uyarılabileceği ve 5-10 Dk sonra aspirasyon yolu ile lümene dökülen parazitlerin aspirasyonla elde edilebileceği ifade edilmektedir. Fakat giardiosisli hastaların duodenum mayilerinde trofozoit formunu görebilme oranının %50 olduğu bildirilmektedir. Dışkının direkt yöntemlerle incelenmesinde ise trofozoit saptanma oranlarının %85'e kadar çıktığı ifade edilmektedir. Özellikle bu iki inceleme yönteminin birbirini tamamlayıcı olarak kullanılması önerilmektedir. Bazı giardiosisli hastalarda duodenum aspirasyonu, biyopsisi veya dışkı örneğinin negatif sonuç verebileceği bildirilmektedir. Bazı araştırmacılara göre ise aslında bu organizmalar ince bağırsağın üst bölümlerinde yaşadığı için duodenum ya da jejenumdan alınan örneklerin inceleme sonuçları, dışkı incelemesine göre daha güvenilir olmaktadır (Özbel ve Dağcı 1997).

#### **1.2.6.1.6. Entero-test**

Bu yöntemde yaklaşık 140 cm'lik bir naylon ip, bir kapsül içine yerleştirilmiştir. Kapsül dışında kalan ve sliksandan yapılmış olan ipin 15-20 cm'lik kısmın ucu hastanın ağız çevresine tespit edilerek, kapsül hastaya yutturulur. Yaklaşık 3-4 saat hiçbir şey yemeyen hastadan bu ipli test kiti yavaşça çekildikten sonra alt ucu bir lama sürülerek mikroskopta *G.intestinalis* trofozoit ve kistleri araştırılmaktadır. Test genel olarak güvenli



olmakla beraber, koagülopatisi olan veya özofagus varisi bulunan hastalara bu testin uygulanmasının sakıncalı olduğu bildirilmektedir (Özbel ve Dağcı 1997).

#### **1.2.6.1.7. Duodenal Biyopsi**

Bu yöntemde endoskopi yapılarak ince bağırsak mukoza epitelinin uğradığı morfolojik değişiklikler ve protozoonun kendisinin doğrudan gösterilebileceği ifade edilmektedir. Alışılmış formalin fiksasyonu ve hematoksilin eosin boyamasında, duodenal biyopsi materyali ile elde edilen intraluminal preparasyonlarda *G.intestinalis*'i tanımanın zor olduğu belirtilmektedir. Duodenal aspirasyon materyalini yada luminal yüzey sürüntüsünü lam üzerine hafifçe sürme şeklinde yayıp ince yayma yapıldıktan sonra Giemsa boyası kullanarak hazırlanan preparatlarda *G.intestinalis*'i tanımanın nispeten daha kolay olduğu ifade edilmektedir. Yine aynı şekilde jejenumdan endoskopi sırasında alınan mayinin boyanmadan direkt incelenmesinde armutun uzunlamasına ikiye kesilmiş şekilde hareketli trofozoitlerin görülmesinin tanıyı kesinleştirdiği bildirilmiştir. Genel olarak daha duyarlı ve özgül bir yöntem olduğu ifade edilmektedir (Özbel ve Dağcı 1997).

#### **1.2.6.2. İndirekt Tanı Yöntemleri**

Giardiosis tanısında kullanılan direkt yöntemlerin yanısıra indirekt yöntemlerin de olduğu ifade edilmektedir. Bu yöntemlerin bir kısmının hastanın kanında *Giardia*'ya karşı oluşmuş antikorları gösterdiği bir kısmının ise dışkı örneğinde immunolojik yöntemlerle *Giardia* antijenini gösterdiği bildirilmektedir. Bazı çalışmalarda bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin %90'dan fazla olduğu belirtilmiştir. Giardiosis tanısında; IFA, ELISA, Western Blot gibi serolojik ve immunolojik yöntemlerin kullanımının gittikçe artmakta olduğu ifade edilmektedir (Özbel ve Dağcı 1997, Özcel ve ark 1997).

IFA yönteminde; besiyerinde geç logaritmik faza kadar üretilmiş *Giardia* trofozoitlerinin phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandıktan sonra trofozoitler sayılarak, 600.000 trofozoit/100 µl PBS olacak şekilde lamlar üzerinde bulunan dairelere yayıldığı ve kurutulduğu ifade edilmiştir. Ardından test yapılacak hastanın serumunun tek dilüsyonda veya istenen dilüsyon serisi halinde hazırlandığı ve antijen bulunan dairelerin üzerine damlatıldığı ve lamların yarım saat 37 °C'de tutulduktan sonra üç kez PBS'de yıkandığı ifade edilmektedir. Lamlar kuruduktan sonra üzerlerine kullanılan seruma göre

floresan işaretli konjuge damlatıldığı ve 37 °C'de yarım saat bekletildikten sonra üç kez PBS ile yıkanıp hemen kapatma solusyonu damlatılarak lamel kapatıldığı ve flouresan mikroskopta incelendiği ifade edilmiştir (Özbel ve Dağcı 1997). Bu amaçla kullanılan hazır ticari kitlerde mevcuttur.

ELISA yönteminde; besiyerinde geç logaritmik faza kadar üretilmiş *Giardia* trofozoitleri 100.000 trofozoit/100 µl PBS olacak şekilde hazırlandığı ve mikroplaklara kaplandığı, sonrasında en az 14 saat +4 °C'de tutulduğu ifade edilmiştir. Daha sonra plakların %0,05 Tween 20 içeren PBS ile beş kez yıkandığı ifade edilmiştir. Plakların kullanılmadan önce kuyucuklarına 100 µl, %1 Bovin Serum Albumin (BSA) içeren PBS eklenerek bir gece +4 °C'de bekletildiği ve ertesi gün %1 BSA içeren PBS ile serum dilüsyonları hazırlanıp kuyucuklara eklendiği ifade edilmiştir. Daha sonra bir saat 37 °C'de bekletilen plaklar beş defa yıkandıktan sonra enzim işaretli konjuge konularak yine aynı inkübasyon ve yıkamaya işlemlerinin yapıldığı, son aşamada ise konjugeye uygun substratın eklenerek, 30-60 Dk oda ısısında bekletildiği ve ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda okunarak sonuçların değerlendirildiği ifade edilmiştir (Özbel ve Dağcı 1997). Bu amaçla kullanılan hazır ticari ELISA kitleri de mevcuttur.

Ayrıca giardiosis tanısında dışkıdan antijen saptamaya yönelik ticari enzyme immunassay (EIA) kitleri de mevcuttur. Yapılan bir çalışmada bu yöntemin duyarlılığı %96.4 ve özgüllüğü %80.8 olarak bildirilmiştir (Özekinci ve ark 2005).

Yapılan çalışmalarda *G. intestinalis* tanısında, serolojik testlerin geniş kitle taramalarında hızlı yanıt verebildiği için, güncel kullanıma girebileceği ancak özgünlük ve duyarlılık konusunda kesin veriler elde etmek için daha kapsamlı çalışmalara gereksinim olduğu ifade edilmiştir (Aksoy ve ark 2001).

*Giardia* için spesifik DNA problemlerinin geliştirilmesiyle, DNA bazlı moleküler tanı yöntemleriyle dışkı tetkiklerinin yapılmasının da mümkün olduğu bildirilmektedir. Ancak *Giardia* kistlerinden DNA izolasyonunda bir takım güçlükler olduğu bildirilmiştir. PCR gibi amplifikasyon teknikleri ile bu konudaki duyarlılığı arttırmanın mümkün olduğu gösterilmiştir (Char ve Farting 1991). Yapılan bir çalışmada PCR yönteminin *G. intestinalis* tanısı için en duyarlı yöntem olmasına rağmen, yüksek yanlış pozitifliği nedeniyle çok dikkat gerektirdiği ifade edilmiştir (Elsafi ve ark 2013). diğ er bir çalışmada

*G. intestinalis* tanısı için PCR'ın duyarlılık ve özgüllüğünün %100 olduğu bildirilmiştir (Van Lint P ve ark 2013).

### 1.2.6.3. Ayırıcı Tanı

İki hafta veya daha uzun süreli diyaresi olan hastalarda *G.intestinalis*'in akla getirilmesi gerektiği belirtilmektedir. Endemik bir bölgeye seyahat hikayesi, günlük çocuk bakım merkezlerindeki çocuklardan biriyle temas, erkek homoseksüalitesinin varlığı, veya hijyenik durumu belli olmayan su içme durumlarında giardiosisin akla getirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. *G.intestinalis* enfeksiyonunun ayırıcı tanısında, irritabl bağırsak sendromu, lenfoma, dizanteri, ülseratif kolit, crohn hastalığı, gastrointestinal alerji, kistik fibrosis, çölyak hastalığı ve depresyonun düşünülmesi gerektiği belirtilmektedir. Ayrıca *G.intestinalis*'in sindirim sisteminde bulunan ve genellikle apatojen olarak bilinen; *Chilomastix mesnii*, *Enteromonas hominis*, *Embadomonas intestinalis*, *Trichomonas intestinalis*, *Trichomonas tenax* gibi diğer kamçılılarla da karıştırılmaması gerektiği belirtilmektedir (Ak ve ark 2007).

### 1.2.7. Giardiosisde İmmünite

Giardiosisin immunitesi ile ilgili bilgilerin son yıllarda oldukça arttığı bildirilmektedir. *Giardia* genomunun daha iyi anlaşılması ile konak parazit ilişkilerinin daha iyi anlaşılmasının mümkün olduğu ifade edilmektedir. *Giardia*'ya karşı konak savunma mekanizmalarının çok farklı immunolojik ve non immunolojik mekanizmaları içerdiği belirtilmektedir (Roxtröm-Lindquist ve ark 2006). Bazı araştırmacılar giardiosis'e karşı koruyucu immünitinin, *G.intestinalis* enfeksiyonunun hemen ardından geliştiğini ileri sürmektedir. Ancak bugün koruyucu immünitinin tam olarak mümkün olmadığı da bilinmektedir. Bunun nedeninin *G.intestinalis*'in birbirinden oldukça farklı çok sayıda antijenik yapı içermesi ve antijenik yapıda birbirini izleyen değişimler gösterebilmesi olduğu ifade edilmektedir. Parazitin birçok değişik antijenik yapı içeren alt tiplerinin bulunmasının problem oluşturduğu vurgulanmaktadır. Koruyucu immünitinin gelişmesinde en önemli bileşenin ince bağırsak lümenindeki *Giardia*'ya özgü sekretuvar IgA'lar olduğu, bununla birlikte *Giardia* antijenlerine karşı IgM türü antikor yanıtının da saptandığı ifade edilmektedir (Altıntaş ve Korkmaz 1997).

Yapılan çalışmalarda *Giardia* infeksiyonlarının büyük oranda CD4 T lenfositlerle yönetilen hücrel immun yanıtı neden olduğu ifade edilmiştir (Hanevik ve ark 2011). Giardiosis'e karşı aşı geliştirilmesi ile ilgili çalışmaların da uzun yıllardır devam ettiği ifade edilmektedir. Araştırmacıların bildirdiğine göre: farelerde denenilen bir *Giardia* aşısı çalışmasında oral immünizasyonun kısmen mümkün olduğu saptanmış, aşı amacıyla kullanılan bu oral antijen parazitin sadece ince barsak lümenindeki kolonizasyonunu engellemekle kalmamış, aynı zamanda uygulamadan 9-11 gün sonra trofozoitleri de ortadan kaldırmıştır. Yapılan çalışmalarda aşının immunoprolifaktik ve immunoterapötik uygulaması ve yararlarının halen tartışmalı olduğu belirtilmektedir (Olson ve ark 2000).

İnsan sütünün *Giardia* infeksiyonuna karşı koruyucu rol oynadığını ve *G.intestinalis* trofozoitlerini öldürdüğünü gösteren bazı çalışmalar da mevcuttur (Markel ve ark 1992). Bu etkinin sekretuar IgA'ye bağlı olmadığı daha çok insan sütünde bulunan bir lipaz aktivitesine bağlı olduğu yayınlanmıştır. Ancak infeksiyonu bulunan bebeklerin bazılarının annelerinin sütünde sekretuar IgA'nin de arttığı gösterilmiştir. Lipazın *G.intestinalis* trofozoitleri üzerine öldürücü etkisinin, safra tuzlarının etkisiyle süttaki trigliseridlerden serbest yağ asitlerini ortaya çıkarması ile mümkün olduğu ifade edilmektedir. Buradan anne sütünün bununla beslenen bebekler için intestinal protozoonlara karşı koruyucu olduğu sonucunun çıkarılabileceği belirtilmektedir (Markel ve ark 1992).

### **1.2.8. Tedavi**

*G.intestinalis*'in üretilmesi izolasyonu ve duyarlılık testleri yapılması oldukça güç olduğu için giardiosis tedavisinde kullanılan ilaçların etkilerinin daha çok klinik deneyimlere dayandığı belirtilmektedir. Giardiosisli hastaların bir kısmı asemptomatik olsa da radikal tedavi gerektiği belirtilmektedir (Kuman 1997, Ak ve ark 2007).

#### **1.2.8.1. Semptomatik Tedavi**

Semptomatik tedavide çocuklarda demir eksikliği anemisi varsa demirli preparatlar, B vitamini eksikliği varsa B vitamin kompleksleri, folik asit eksikliği varsa folik asit ve proteinden zengin diyet verilmesi tavsiye edilmektedir. Sadece proteinden zengin diyetle dışkıda kistlerin kaybolduğu bildirilmiştir (Kuman 1997, Ak ve ark 2007).

### 1.2.8.2. Etkensel Tedavi

Giardiosis'in etkensel tedavisinde kullanılan ilaçların üç ana grupta incelendiği belirtilmektedir.

- a) Nitroimidazol türevleri: Metronidazol, secnidazol, ornidazol, tinidazol
- b) Akridin boyaları: Mepakrin, kinakrin
- c) Nitrofuran grubu: Furazolidon

#### a) Nitroimidazol türevleri:

Giardiosis tedavisinde ilk seçeneğin metronidazol olduğu ifade edilmektedir. Metronidazolün bir nitroimidazol türevi olup, 1-( $\beta$ -Hydroxy-etil)-2-methyl-5-nitroimidazol olduğu belirtilmektedir. Amiplere, *G.intestinalis*'e, *T.vaginalis*'e öldürücü etkisi bulunduğu bildirilmektedir. Oral yolla alındığı, çabuk ve tamamının absorbe edildiği ifade edilmektedir. Metranidazol ve diğer 5-nitroimidazol türevlerinin (Tinidazol, ornidazol, secnidazol) küçük molekülü, iyonize olmayan fazla lipofilik bileşikler olduğu bildirilmektedir. Bütün bakteri ve diğer mikroorganizma hücrelerine pasif difüzyonla kolayca girebildikleri, anaerop ve düşük redoks potansiyelli elektron taşıyıcı proteinler içeren hücrelerin nitroimidazollere duyarlı oldukları ifade edilmektedir. Bu proteinlerin hücre içinde nitroimidazollerin nitro grubunu enzimatik olmayan bir kimyasal reaksiyonla redükleyerek onları etkin ara metabolitlere veya serbest radikallere dönüştürdükleri bildirilmektedir. Bu radikallerin duyarlı bakteri veya protozoon hücrelerinin DNA'sına bağlanarak DNA sentezini ve kopyalanmasını durdurdukları, mevcut DNA'yı parçaladıkları, DNA'nın çift sarmal yapısını düzelmeyecek şekilde bozarak hücrelerin ölümüne neden oldukları ifade edilmektedir. Metranidazol'ün ve diğer nitroimidazollerin plazma proteinlerine düşük oranda bağlandığı, dokulara ve vücut sıvılarına çabuk dağıldığı bildirilmiştir. En lipofilik türevin tinidazol olduğu; metranidazolün karaciğerde metabolize edildiği ifade edilmektedir (Kuman 1997). Yapılan çalışmalarda metranidazol türevlerinin yüksek giardiacidal etkileri ve düşük toksik etkileri ile *Giardia* ile mücadelede önemli tedavi alternatifleri oldukları belirtilmektedir (Busatti ve ark 2013).

Beş gün boyunca üç eşit dozda alınan 750 mg/gün veya çocuklar için üç eşit dozda alınacak günlük kilogram (kg) başına 15 mg'lık dozun yeterli olduğu bildirilmiştir. Ama bu ilacın sadece trofozoitlere etkili olduğu, kist formu üzerine hiçbir etkisi bulunmadığı ifade edilmektedir. Bu ilaçla tedavi sonucunda kistlerin infekte etme özelliğini koruduklarının

saptandığı bildirilmiştir (Ak ve ark 2007). Metronidazol tedavisinin hastaların %20'sinde yetersiz kaldığı bildirilmekte olup, bu durumda tedavinin diğer kuşaktan bir ilaçla kombine edilmesi önerilmektedir.

Secnidazol'un de oldukça etkili olduğu bildirilmiştir. Parazit hücrelerine pasif difüzyonla girdiği ve hücrelerin amino gruplarında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Bu azalma sonucunda hücre içine daha fazla ilacın gireceği belirtilmiştir. Secnidazol'un ağızdan alındıktan iki saat sonra tamamen emildiği, karaciğerde metabolize edildiği ve diğer 5-nitroimidazollerden daha uzun plazma yarı ömrüne sahip olduğu bildirilmektedir. Erişkinlerde iki gram (gr), çocuklara ise 30 mg/kg tek doz halinde verilmesi önerilmektedir.

Tinidazol'un diğer bir etkili ilaç olduğu belirtilmektedir. Erişkinlerde günde iki gram, çocuklarda ise 50 mg/kg tek doz halinde verilmesi önerilmektedir.

Ornidazol'un da bir nitroimidazol türevi olduğu, erişkinlerde günde iki gram, üç beş gün verilmesi ile iyi sonuçlar alındığı bildirilmektedir (Kuman 1997, Ak ve ark 2007). Yapılan çalışmalarda giardiosiste ornidazol tedavisinin %100, metranidazol tedavisinin %92.9, yedi günlük mebendazol tedavisinin %58.3 ve iki günlük mebendazol tedavisinin %40.7 oranında etkili olduğu bildirilmiştir (Aysev ve ark 1995).

#### b)Akridin boyaları:

Mepakrin'in nitroimidazol türevleri ile neredeyse aynı yeterlilikte etkiye sahip olmasına rağmen iyi tolere edilemediği bildirilmektedir. Kinakrin'in de aynı grupta ve giardiosiste etkili bir ilaç olup, beş gün boyunca günde üç kez 0,1 gr oral yoldan alınması önerilmektedir. Ancak her iki ilacın da özellikle çocuklarda belirgin bazı santral sinir sistemi yan etkilerine yol açtığı belirtilmektedir. Akridin boyası türevlerinin psikotik öyküsü veya psöriasis ve benzeri deri hastalığı olanlarda önerilmemesi gerektiği bildirilmektedir (Markel ve ark 1992, Ak ve ark 2007).

#### c)Nitrofuran grubu:

Sentetik nitrofuran derivesi olan 5-nitrofuranlardan furazolidonun etkisi daha az olsa da, sıvı formu olduğu için süt çocukluğu ve çocukluk döneminde daha kullanışlı olabildiği bildirilmektedir. Yetişkinlerde 7 gün günde dört kez 100 mg, çocuklarda ise 1.25 mg/kg verilmesi önerilmektedir (Ak ve ark 2007).

Gebelerde bu sayılan ilaçların hiçbirinin kullanılamayacağı belirtilmiştir. Bu yüzden gebelerde ve diğer ilaçların yan etkilerinin ya da toksisitesinin yüksek görüldüğü hastalarda Paramomisin tavsiye edilmektedir. Bu ilacın gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu oldukça zor olduğundan gebelerde kullanımının uygun olduğu belirtilmektedir. Gebelerde 25-30 mg/kg/gün üç eşit doza bölünerek 7 gün kullanılması önerilmektedir (Reynoldson JA 1998, Ak ve ark 2007).

Bunların dışında etkili olan ve üzerinde çalışılan başka ilaçlarda olduğu belirtilmektedir. Albendazol, mebendazol, siprofloksasin, nitazoksanid, sodyum fusidat, meflokin, doksisisiklin, rifampisin, ivermektinin bu ilaçlardan bazıları olduğu ifade edilmektedir (Reynoldson JA 1998, Ak ve ark 2007).

### **1.2.9. Korunma**

Giardiosisın sıklığı gittikçe artan bir zoonoz olduğu ve hayvanlardan, insanlardan ya da çevreden tam olarak elimine edilmesinin çok zor olduğu belirtilmektedir. Bunun nedeninin ise *G. intestinalis*'in çok çeşitli konaklarda yaşamını sürdürebilmesi ve kendine uygun bir konak bulduğu zaman uzun süre o konakta yaşayabilmesi olduğu ifade edilmektedir. Parazitin eliminasyonu için su kaynaklarının *G. intestinalis*'den tamamen temizlenmesi ve su kaynaklarının durumunun sürekli izlenerek temizlik için uygulanan önlemlerin sürekli uygulamaya devam etmesi gerektiği bildirilmektedir. Bireysel olarak giardiosisten korunmakta atılacak ilk adımın kişisel hijyen kurallarına uymak olduğu belirtilmiştir. Bu önlemin özellikle gündüz çocuk bakım evleri, huzur evleri ve seksüel transmisyon gibi yollardan insandan insana geçiş riskini en aza indirdiği ifade edilmektedir. Normalde uygun ve düzenli olarak suyun doğru düzeyde klorlanması *G.intestinalis* kistlerini öldürmeye yeterli olduğu bildirilmektedir. Ancak su sıcaklığı, berraklığı, pH'ı, temas zamanı, gibi etkenlerin klorun etkisinin yeterliliğini etkilediği ve daha yüksek klor düzeyleri (4-6 mg/l) gerektirdiği bildirilmektedir. Klorlamaya ek olarak su kaynaklarının içindeki taneciklerden arındırılması ve filtre edilmesi önerilmektedir. Ayrıca özellikle kırsal bölgelere ve vahşi hayatın olduğu yerlere yolculuk yapanlar için; kullanılacak suların vahşi hayvanlar ve rezervuar insan çıkartılarıyla kirlenmiş olma riski bulunduğundan, tüm su kaynaklarını şüpheli olarak yorumlamak gerektiği bildirilmektedir. Diğer yandan suların kaynatılmasının da tüm protozoon kistlerini yok ettiği bildirilmektedir. Por çapı bir mikron ve daha küçük olan kişisel kullanım filtrelerinin de

yararlı olduğu belirtilmektedir. Aynı şekilde iyi yıkanmamış ya da kirli su ile yıkanmış olan pişmemiş yiyeceklerden kaçınmanın da gerekli olduğu bildirilmiştir. Besin işlerinde, besin sanayinde ve dağıtımında çalışan personelin, insandan insana kirlenmiş ellerle doğrudan geçebilecek olan *G.intestinalis* bakımından, periyodik olarak kontrollerinin yapılması ve besin hijyeni kurallarına uymalarının sağlanması yoluyla parazit bulaştırmalarının önlenebileceği bildirilmiştir. Dışkı ile bulaşan diğer parazitlerde olduğu gibi *G.intestinalis*'in bulaşında karasinek ve hamamböceklerinin rolü olabileceği düşünülerek bunlarla mücadele edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır.

Günlük çocuk bakım merkezlerindeki endemik odakların bugün için büyük problem olduğu belirtilmektedir. Kreş ve anaokullarına yeni başlayan çocuklarda dışkı incelemesinin mutlaka yapılması ve periyodik olarak sürdürülmesi önerilmektedir. *G.intestinalis*'in kist ve trofozoitlerinin dışkı ile atılması zaman zaman azaldığından, dışkı incelemeleri birkaç gün ara ile birkaç kez tekrarlanması önerilmektedir. Yeni doğan bebeklerde anne sütünün IgA tipindeki anti-*Giardia* antikorlarla koruyucu rolü nedeniyle ishalden çok etkilenen bu bebeklerin anne sütü alması enfeksiyonun kontrolü açısından önerilmektedir. Ayrıca *G. intestinalis*'e karşı aşı çalışmalarının da devam ettiği bildirilmektedir (Olson ve ark 2000, Ak ve ark 2007).



## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na Ocak 2011- Ağustos 2011 tarihleri arasında, parazit araştırılması amacıyla diğer kliniklerden gönderilen dışkı örnekleri çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Bu amaçla, servislere bırakılan ve laboratuvarımız numune alma bölümünden olgulara verilen ağız sıkı kapaklı dışkı toplama kaplarına, olguların bir ceviz büyüklüğündeki dışkıyı koyup yarım saat içerisinde laboratuvara ulaştırması istenmiştir. Laboratuvarımıza gönderilen dışkı örneklerinden önce nativ-lugol ve formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile aşağıda ayrıntılı anlatıldığı şekilde parazit aranması yapılmıştır (Ok ve ark 1997, Özbel ve Dağcı 1997, Özcel 2007). Olgu grubu olarak tek başına *G.intestinalis* saptanan 25 ve kontrol grubu olarak parazit saptanmayan 25 örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen olgular aranarak laboratuvarımıza davet edilmiş ve ekteki anket formu (Ek 1) doldurulmuştur. Bu yöntemlerin her birinin hasta başı maliyetleri de hesaplanmıştır. Dışkıların mikroskopik incelemeleri yapıldıktan sonra, DFA ve IK yöntemleri ile çalışılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır. Saklanan dışkılar DFA (CeLLabs, Crypto/Giardia-Cel IF) ve IK (RIDA QUICK, *Cryptosporidium /Giardia* Combi Dipstick) testleri ile üretici firmaların önerileri doğrultusunda, aşağıda tarif edilen şekilde çalışılmıştır. Çalışmamızda mikroskopik bakı referans yöntem olarak kabul edilerek, DFA ve IK yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri hesaplanmıştır. Ayrıca çalışmaya alınan olguların semptomlarının sayısı ve yüzdeleri hesaplanmıştır.

### 2.1. Nativ-Lugol Direkt Mikroskopi Yöntemi

#### 2.1.1. Gerekli Malzemeler

- 1-Lam ve lamel
- 2-Serum fizyolojik (%0,85 lik fizyolojik tuzlu su)
- 3-Lugol solüsyonu
- 4-Karıştırma çubuğu
- 5-Işık mikroskobu

### **2.1.2. Testin Yapılışı**

Mikroskopik inceleme için temiz bir lamın bir tarafına bir damla fizyolojik tuzlu su, diğer tarafına ise bir damla lugol solüsyonundan damlatılmıştır. İncelenecek dışkı materyalinden yarım pirinç tanesi kadar bir miktar veya sıvı ise bir damla, lamın her iki tarafına fizyolojik tuzlu su ve lugol solüsyonlarının üzerine konulmuştur. Daha sonra karıştırma çubuğu ile iyice karıştırılıp homojenize edilmiş ve üzerlerine birer lamel kapatılmıştır.

### **2.1.3. Testin Değerlendirilmesi**

Hazırlanan preparat ışık mikroskopunda X20 ve X40 büyütmede parazit açısından incelenmiştir. Kist ve/veya trofozoit saptanan ve saptanmayan örnekler kaydedilmiştir.

## **2.2. Formol- Etil Asetat Çöktürme Yöntemi**

### **2.2.1. Gerekli Malzemeler**

- 1-Formaldehit (%10'luk)
- 2-Serum fizyolojik (% 0,85 fizyolojik tuzlu su)
- 3-Konik santrifüj tüpü (15 ml'lik),
- 4-Plastik dışkı kabı
- 5-Etil asetat
- 6-Karıştırma çubuğu
- 7-Gazlı bez

### **2.2.2. Testin Yapılışı**

1-Plastik dışkı kabına 10 ml %10'luk formaldehit konulmuştur. 1-1,5 gr dışkı (bir fındık büyüklüğünde) veya sulu ise 5-6 ml dışkı, içerisine eklenmiş ve iyice ezilerek süspansiyon haline getirilmiştir.

2-Fiksasyonu sağlamak için 30 Dk bu şekilde bekletilmiştir.

3-Daha sonra iki kat gazlı bezle bu karışım konik santrifüj tüpüne süzölmüştür.

4-Bu karışım üzerine tüpün ağzına yarım santimetre kalıncaya kadar, % 0,85 fizyolojik tuzlu su eklenmiştir.

5-Bu karışım 1000-1500 devirde 1-2 Dk santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı yavaşça dökölmüştür. Bu bir yıkama işlemi olup tüpün üzerindeki sıvı berrak oluncaya kadar 2-3 kez fizyolojik tuzlu su ile tekrar edilmiştir.

6-Son yıkamadan sonra çökeltiye önce birkaç ml %10'luk formaldehit koyup çalkaladıktan sonra, toplam hacim 10 ml oluncaya kadar %10'luk formaldehit eklenmiştir.

7-Bu karışım üzerine 3-4 ml etil asetat eklenip tüpün ağzı kapatılmış ve çalkalanmıştır.

8-Bu karışım 2000 devirde 2-3 Dk santrifüj edilmiştir.

9-Tüpün santrifüj edilmesiyle 4 tabaka meydana gelmiştir; en üstte etil asetat tabakası, tüpün duvarına yapışmış dışkı tabakası, formalin tabakası ve en altta sediment. Bu tabakalardan sediment dışındakiler bir çubukla gevşetilerek dökölüp atılmıştır.

10-Dipte kalan çökelti bir iki damla serum fizyolojikle karıştırılarak bir pipet yardımıyla lam lamel arasında preparat hazırlanmıştır.

### **2.2.3. Testin Değerlendirilmesi**

Hazırlanan preparat ışık mikroskobunda X20 ve X40 büyütmede parazit açısından incelenmiştir. Kist ve/veya trofozoit saptanan ve saptanmayan örnekler kaydedilmiştir.

## **2.3. Crypto/Giardia IF Test Çalışma Yöntemi**

### **2.3.1. Kit Dışında Gerekli Malzemeler**

1-PBS, Ph 7.4

2-Pipet (25 µl'lik)

3-Lam, lamel (6-8 mm çaplı)

4-Dışkı örneklerini hazırlamak için test tüpü

5-Formalin (%10'luk)

6-Örnekleri sabitlemek için aseton

7-Nemlendirme küveti

8-Tahta aplikatör çubuk

9-Yıkama küveti

10-Fluoresan mikroskop

### 2.3.2. Örnek Hazırlama

Yaklaşık 1/10- 1/50 dilüsyonda dışkı örneği hazırlanmıştır. 50 µl veya 5 mm çapta dışkı 2 ml %10 luk formalinle dilüe edilmiştir. Aplikatör çubukla iyice karıştırılarak çok büyük dışkı parçaları uzaklaştırılmıştır.

### 2.3.3. Testin Yapılışı

1- Lamın üzerine 20 µl dışkı örneği konulmuştur.

2- Lamın havada tamamen kuruması beklenmiştir.

3- Lam 5 Dk aseton içinde fikse edilmiş ve tekrar kuruması beklenmiştir.

4-Fikse edilmiş örneklerin ve kit içerisinde mevcut olan pozitif kontrol örneğinin üzerine 25 µl reagent konulmuştur. (Reagent kullanıldıktan sonra hemen 2-8 °C'ye kaldırılmıştır.)

5- Nemlendirme küvetinde 37 °C'de 30 Dk inkübe edilmiştir.

6- PBS dolu küvette nazikçe çalkalayarak lamalar yıkanmıştır.

7-Lamalar süzölmüştür. Daha sonra lamaların fazla ıslaklığı nazikçe bir bezle silinmiş ve tamamen oda ısısında kurumaya bırakılmıştır.

8-Kit içerisindeki kapama solüsyonundan bir damla lama damlatılıp lamel kapatılmış ve hava kabarcıkları uzaklaştırılmıştır.

9-Fluoresan mikroskopta X20 ve X40 büyütmede bekletilmeden incelenmiştir.

### 2.3.4. Testin Değerlendirilmesi

1- *Cryptosporidium* ookistleri 2-6 µm boyutunda, yuvarlak veya oval şekilde, floresan mikroskopta parlak yeşil floresan vermektedir. Yüzeyinde bir kıvrımı olabilmektedir. Çevresel örneklerde bu kıvrım daha az belirgindir. Bir veya daha çok ookistin varlığında testin pozitif olduğuna karar verilmiştir. Bu bilgiye göre örnekler *Cryptosporidium* açısından değerlendirilmiştir.

2- *Giardia* kistleri eliptik, oval şekilde, 8-12 µm boyutunda, parlak yeşil floresans vermektedir (Resim 3). Bir veya daha çok kistin varlığında testin pozitif olduğuna karar verilmiştir. Bu bilgiye göre örnekler *Giardia* açısından değerlendirilmiştir.

3- İki organizma bir arada ise boyut ve şekline göre ayırt edilmiş, karşılaştırma organizmaların pozitif kontrol lamındaki görünüşüne göre yapılmıştır.

4-Negatif örnekler karakteristik morfolojide ve yeşil floresan veren hiçbir organizma içermemeleri ile ayırt edilmiştir (Resim 4).

5- Bazı örneklerde nonspesifik floresan görülmüş ancak bunlar morfolojik olarak *Giardia* ve *Cryptosporidium*'dan ayırt edilebilmiştir.

## **2.4. Rida Quick Cryptosporidium/Giardia Test Çalışma Yöntemi**

### **2.4.1. Kit Dışında Gerekli Malzemeler**

1- Test tüpü (5 ml'lik)

2- Vorteks

### **2.4.2. Testin Yapılışı**

1- Kit buzdolabından çıkartılarak, içerisindeki malzemelerin oda ısısına ulaşması için laboratuvar tezgahında bekletilmiştir.

2- Bir test tüpünün içerisine bir ml ekstraksiyon buffer (diluent) konulmuştur.

3- 100 µl veya 50 mg dışkı örneği tüpün içerisine ilave edilmiştir.

4- Örnek vorteksle veya pipetle çekip bırakarak homojenize edilmiştir.

5- Tüp içerisindeki örneğin çökmesi için üç Dk beklenmiştir.

6- 0,5 ml süpernatant başka bir test tüpüne alınmıştır. Test çubuğu (strip) kutusundan çıkartılmış ve temiz süpernatanta en fazla ok çizgisine kadar batırılmıştır. Batma derinliğinin geçilmemesine dikkat edilmiştir.

7- Beş Dk sonra değerlendirilmiştir.

### **2.4.3. Testin Değerlendirilmesi**

Testin değerlendirilmesi üretici firmanın önerisi doğrultusunda aşağıdaki şekilde yapılmıştır. Testin geçerli kabul edilebilmesi için yeşil kontrol bandı mutlaka görülmüştür.

Kontrol bandı görülmeyen testler geçersiz kabul edilmiş, yeni triple tekrar çalışılmıştır. Bunun yanında; Mavi bant: *Cryptosporidium* pozitif, Kırmızı bant: *Giardia* pozitif, Mavi ve kırmızı bant: *Cryptosporidium* ve *Giardia* pozitif, sadece yeşil kontrol bandı: negatif olarak yorumlanmıştır (Resim 1, Resim 2).

NOT: 10 Dk'yı geçtikten sonra görülen bant renklenmeleri dikkate alınmamıştır.

Ayrıca çalışma kapsamına alınan tüm olgulara telefonla ulaşıp laboratuvarımıza davet edilmiş; olguların her birine yaş, cins, meslek gibi sosyodemografik özellikleri ve karın ağrısı, karında gerginlik, ishal, iştahsızlık, kilo kaybı gibi şikayetlerini içeren bir anket formu doldurtulmuştur (Ek 1).

### 3. BULGULAR

Çalışmamıza alınan 25 olgu grubu; 2-74 yaş arası, 11 (%44)'i erkek 14 (%56)'ü kadın, olarak saptanmıştır. Çalışmamıza alınan 25 kontrol grubu ise 1-71 yaş arası, 11 (%44)'i erkek 14 (%56)'ü kadın olarak saptanmıştır.

#### 3.1. Kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri

Çalışmamıza alınan olgu ve kontrol grubundaki olguların hiçbirisinde üç yöntemle de başka herhangi bir parazite rastlanmamıştır. Çalışmamızda nativ-lugol ve/veya formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile *G.intestinalis* saptanan 25 dışkının tamamında DFA ile bu parazit görülmüştür. DFA 'da *Cryptosporidium* olguların hiç birinde görülmemiştir. IK yöntemi ile 24 dışkıda parazite özgü bant saptanırken, bir dışkıda saptanamamıştır. Kontrol grubundaki *G.intestinalis* saptanmamış olan 25 dışkının tamamında hem DFA hem de IK yöntemi ile *G.intestinalis* saptanmamıştır.

Sonuç olarak, *G.intestinalis* tanısında mikroskopik bakı referans olarak alındığında DFA'nın özgüllük ve duyarlılığının %100, IK'in duyarlılığının %96, özgüllüğünün ise %100 olduğu belirlenmiştir.

#### 3.2. Olgu ve kontrol grubunun semptomları

Çalışmamızdaki 25 olgunun anket formu ile sorgulanması sonucu; karın ağrısı 14 (%56)'ünde, karında gerginlik 4 (%16)'ünde, ishal 5 (%20)'inde, iştahsızlık 9 (%36)'unda, kilo kaybı 4 (%16)'ünde, bulantı-kusma bir (%4)'inde, dışkı tutamama iki (%8)'sinde, davranış bozukluğu üç (%12)'ünde, gelişme geriliği 7 (%28)'sinde, kaşıntı iki (%8)'sinde, alerji iki (%8)'sinde, ağızda aft bir (%4)'inde, gece terlemesi bir (%4)'inde, karında şişkinlik bir (%4)'inde saptanmıştır.

Kontrol grubu olan 25 olgunun anket formu ile sorgulanması sonucu kontrol grubunun hiçbirinde; karın ağrısı, karında gerginlik, ishal, iştahsızlık, kilo kaybı, bulantı, kusma, dışkı tutamama, davranış değişikliği gibi semptomların olmadığı saptanmıştır. Olgu ve kontrol grubunda görülen semptomların sayı ve yüzdeleri Tablo 1'de verilmiştir.

### **3.3. Kullanılan yöntemlerin maliyetleri**

Kullanılan yöntemlerin maliyetleri sırasıyla DFA (Cellabs, crypto/giardia-cel IF) için 50 lik ambalaj kit birim fiyatı (bir hasta maliyeti) 11 euro (25.5 TL); IK (rida quick, cryptosporidium /giardia combi dipstick) 25 lik ambalaj kit birim fiyatı 5.5 euro (12.8 TL) dir. Nativ-lugol ve formol etil asetat çöktürme yönteminin birim maliyeti ise 1.5 TL olarak hesaplanmıştır.



#### 4. TARTIŞMA

*G.intestinalis*'in neden olduğu giardiosisin dünya çapında en yaygın görülen protozoon enfeksiyonlarından birisi olduğu belirtilmektedir (Roxtröm-Lindquist ve ark 2006). Ülkemizde yapılan geniş çaplı bir çalışmada 85707 dışkı değerlendirilmiş ve parazit saptanan olgular içerisinde en sık görülen parazitin, %40 oranında *G.intestinalis* olduğu belirtilmiştir (Gülmez D ve ark 2013). Ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda dışkı örneklerinde %12.28 oranında *G.intestinalis* saptandığı, saptanan oranlar bölgelere göre değerlendirildiğinde; İç Anadolu Bölgesi'nde % 11.1, Doğu Anadolu Bölgesi'nde % 7.3, Karadeniz Bölgesi'nde % 9.9 Marmara Bölgesi'nde % 7.8, Ege Bölgesi'nde %11.6, Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde % 28.0, Akdeniz Bölgesi'nde % 10.2 oranlarında olduğu ifade edilmiştir. Bu durumda, giardiosisin yurdumuzda en yüksek olarak saptandığı bölgenin Güney Doğu Anadolu Bölgesi olduğu belirtilmiştir (Özçelik ve Değerli 1998). Giardiosisin özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve çocuklarda salgınlar yapabildiği ve ciddi sosyoekonomik kayıplara yol açabildiği ifade edilmektedir (Roxtröm-Lindquist ve ark 2006). Bu kayıpların önlenmesi için ilk adımın doğru ve hızlı tanı koyarak hasta veya taşıyıcı kişilerin saptanması ve uygun şekilde tedavi edilmesi olduğu vurgulanmaktadır (Ak ve ark 2007).

Giardiosis tanısında kullanılan birçok yöntem olmasına karşın bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüğü ve rutin kullanıma uygunluğuyla ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda *G.intestinalis* tanısında mikroskopik bakı referans olarak alındığında DFA'nın özgüllük ve duyarlılığı %100, IK'in duyarlılığı %96, özgüllüğü ise %100 olarak bulunmuştur. Literatürdeki çalışmaların çoğunluğu da bizim bulduğumuz verileri desteklemektedir.

Dışkı örneklerinde *G. intestinalis*'in de dahil olduğu bazı intestinal protozoonların farklı tanı yöntemleriyle araştırılıp tanıya katkısının değerlendirildiği bir çalışmada, ELISA, DFA ve gerçek zamanlı PCR yöntemlerinin protozoon enfeksiyonlarının tanısında pratik ve yararlı teknikler olarak rutin laboratuvarlarda kullanılabileceği belirtilmiştir (Kuştımur ve ark 2009). *G. intestinalis*'in rutin tanısında DFA ve ELISA'nın değerinin saptanması amacıyla yapılan bir diğer çalışmada *G. intestinalis* saptama açısından DFA ile

ELISA ve DFA ile Trichrom boyama yöntemleri arasında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir (Doğruman Al ve ark 2006).

Uyar ve Taylan Özkan, *G. intestinalis* ve diğer protozoonların tanısının genellikle direkt mikroskopik bakı ile yapıldığını, bunun ucuz olduğunu ancak yoğun emek ve deneyimli personel gerektirdiğini vurgulamışlardır. Antijen saptama yöntemlerinin ise (DFA, EIA, hızlı dipstick testleri) hızlı olduğunu ve deneyimli ve kalifiye personel gerektirmediğini ve protozoonların tanısında kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir (Uyar ve Taylan Özkan 2009). *G.intestinalis*'in tanısında farklı yöntemlerin karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada, DFA ve ELISA gibi immünolojik yöntemlerin geleneksel mikroskopik yöntemlere göre daha duyarlı, kullanışlı, hızlı ve daha ekonomik olduğu vurgulanmıştır (Aziz ve ark 2001).

*G.intestinalis*'in tanısı için direkt ve formol etil asetat çoklaştırma yöntemi sonrası yapılan mikroskopik inceleme ile, ticari bir direkt floresan antikör testi (DFA) ve yine ticari bir enzim immünassay (EIA) testinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; DFA'nın duyarlılığı %100, EIA'in duyarlılığı ise %97 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada bu DFA ve EIA'in özgüllükleri ise %99,8 olarak bildirilmiş, geleneksel mikroskopi yöntemine göre bu iki testin daha duyarlı olduğu ifade edilmiştir (Zimmerman ve Needham 1995).

Fikse edilmeden uzun süre bekletilmiş dışkı örneklerinde *G.intestinalis* kistlerinin saptanmasında direkt mikroskopik inceleme ile DFA yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada, fikse edilmeden uzun süre buzdolabında farklı ısı derecelerinde bekletilmiş *Giardia* içeren dışkıların tamamında DFA ile *Giardia* kistleri saptanırken, direkt mikroskopik inceleme ile %93'ünde *Giardia* kisti saptandığı bildirilmiş ve DFA'nın uzun süre beklemiş dışkılarda *G.intestinalis* kistlerini saptamak için uygun bir yöntem olduğu ifade edilmiştir (Morimoto ve ark 2001).

İnsan dışkısında *G. intestinalis* ve *Cryptosporidium parvum* saptama açısından dokuz farklı ticari EIA ve DFA kitinin değerlendirildiği bir çalışmada kullanılan tüm DFA kitlerinin duyarlılığı ve özgüllüğünün %100 olduğu bildirilmiş, uygun kit seçimine karar vermekte; fiyat, çalışma kolaylığı, sonuçların değerlendirme kolaylığı, personel, ekipman ve test sayısı gibi faktörlerinde önemli olduğu vurgulanmıştır (Garcia ve Shimizu 1997).

Yapılan bir çalışmada insan dışkısında *G. intestinalis*, *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*, *Cryptosporidium parvum* parazitlerinin üçünün saptanması için kullanılan ticari bir enzim immunoassay kiti (Triage Micro Parasite Panel) geleneksel mikroskopik bakı ile karşılaştırılmıştır. Çalışma kapsamına alınan 523 dışkı örneğinden 19 örneğin ticari kit ile pozitif bulunduğu; 29 örneğin direkt bakı ile pozitif bulunduğu bildirilmiştir. Sonuçta bu kitin dışkı örneklerinde bu üç parazitin acil taraması için kullanılabileceği ancak negatif çıkan dışkıların mutlaka geleneksel mikroskopik bakı ile doğrulanması önerilmiştir (Sharp ve ark 2001).

Gastrointestinal yakınmaları olan hastalarda bazı protozoonların farklı yöntemlerle araştırıldığı bir çalışmada, ELISA; DFA ve gerçek zamanlı PCR yöntemlerinin *G. intestinalis*'in de dahil olduğu bazı protozoon enfeksiyonlarının tanısında pratik ve yararlı teknikler olarak rutin laboratuarlarda kullanılabilir özellik taşıdığı bildirilmiştir (Kuştimur ve ark 2009).

Giardiosis tanısı için gaitada direk mikroskopi ve antijen kaset testinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, bu iki yöntem arasında *Giardia* saptama açısından anlamlı bir fark olmadığı antijen kaset testinin yüksek özgüllük (%100) ve duyarlılığa (%100) sahip olduğu ifade edilmiştir (Yentur Doni ve ark 2013).

Bayramoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise gıda çalışanlarında *G. intestinalis* ve *Cryptosporidium* prevalansı, DFA, nativ-lugol ve immunokromatografik yöntemleriyle araştırılmış; DFA referans yöntem olarak kabul edildiğinde *G. intestinalis* tespitinde nativ-lugol yöntemi ile IK yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla, %54.1, %100 ile %33.3, %100 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak portör taraması için başvuran gıda çalışanlarında, immunokromatografik yöntemin uygun bir test olmadığı, nativ-lugol yönteminin diğer parazitleri tespit edebilmesi sebebiyle mutlaka uygulanması gerektiği ve bu yöntemle negatif bulunan kişilerin duyarlılığı daha yüksek olan immunodiagnostik bir testle doğrulanması gerektiği ifade edilmiştir (Bayramoğlu ve ark 2013)

*Giardia* tanı yöntemleri ile ilgili hayvanlarda yapılan çalışmalar da bulunmaktadır. İnsan giardiosis için potansiyel kaynak olduğu düşünülen kunduz dışkı örneklerinde yapılan bir çalışmada: dışkı örneklerinde *Giardia* kistlerinin saptanması için geleneksel

mikroskopi, immunfloresan mikroskopi ve flow cytometry yöntemleri karşılaştırılmış, düşük kist konsantrasyonlarında geleneksel mikroskobik yöntemde yanlış negatif sonuçların yaygın olduğu, bu durumlarda immunfloresan mikroskobinin daha kullanışlı olduğu, akım sitometrisinin ise düşük kist içeren numuneler için, geleneksel mikroskopi ve immunfloresan mikroskobiden daha kullanışlı olduğu ifade edilmiştir (Dixon ve ark 1997).

Giardiosisde diyarenin en sık görülen şikayet olduğu bildirilmekle beraber; davranış bozuklukları, gelişme geriliği, kronik karın ağrısı ve dışkı tutamama gibi şikayetlerin de oldukça sık görüldüğü ifade edilmektedir. Bunların dışında karında şişkinlik, iştahsızlık, kramp tarzında karın ağrıları, epigastrik hassasiyet, steatore ve malabsorbsiyon sendromu gibi başka şikayet ve bulgular da olabileceği ifade edilmektedir (Markell ve ark. 1992, Ak ve ark 2007, Cotton ve ark 2011). Yapılan bir çalışmada, çalışmaya alınan ve *Giardia* saptanan bütün hastalarda epigastrik ağrı ve karında rahatsızlık hissi olduğu ifade edilmiştir (Demirçeken ve ark 2007). Araştırmacıların bildirdiğine benzer şekilde bizim çalışmamızda da giardiosisli 25 olguda; karın ağrısı 14 (%56)'ünde, karında gerginlik 4 (%16)'ünde, ishal 5 (%20)'inde, iştahsızlık 9 (%36)'unda, kilo kaybı 4 (%16)'ünde, bulantı bir (%4)'inde, dışkı tutamama iki (%8)'sinde, davranış bozukluğu üç (%12)'ünde, gelişme geriliği 7 (%28)'sinde, kaşıntı iki (%8)'sinde, alerji iki (%8)'sinde, ağızda aft bir (%4)'inde, gece terlemesi bir (%4)'inde, karında şişkinlik bir (%4)'inde saptanmıştır. En sık görülen bulgular; karın ağrısı, iştahsızlık, gelişme geriliği, ishal, karında gerginlik, kilo kaybı olarak saptanmıştır. Buna karşılık kontrol grubunda bu semptomların hiçbirinin bulunmadığı görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda hazır testlerin maliyeti gözönüne alındığında deneyimli bir personelle direk mikroskobik inceleme yapılmasının daha ucuz ve kolay olduğu ifade edilmiştir (Aziz ve ark 2001, Yentur Doni ve ark 2013). Bizim çalışmamızda kullanılan yöntemlerin maliyetleri karşılaştırıldığında, diğer çalışmalarda ifade edilenlere benzer şekilde en yüksek maliyetlinin kit birim fiyatı 25.5 TL ile DFA olduğu görülmüştür. IK'in kit birim fiyatı maliyeti ise 12.8 TL ile yüksek olmakla beraber daha ortalama bir değer olarak düşünülmüştür. Diğer iki yöntemle göre oldukça düşük maliyetli olan nativ lugol ve çöktürme yöntemlerinin toplam maliyeti ise yaklaşık 1.5 TL olarak hesaplanmıştır.

Literatürde giardiosis görülme sıklığının cinsiyet ve yaşla ilişkisini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada giardiosis en fazla 0-12 yaş grubunda

saptandığı ifade edilmiştir (Aşçı ve ark 1997). Ülkemizde yapılan geniş kapsamlı diğer bir çalışmada giardiosisin saptanma oranları inceleme yapılan yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde; karışık yaş gruplarını içeren araştırmalarda % 12.2, erişkin yaş gruplarında % 11.2, çocuk yaş gruplarında ise % 13.8 olarak saptandığı ifade edilmiştir (Özçelik ve Değerli 1998). Yapılan bazı çalışmalarda *G.intestinalis* saptanma açısından cinsiyet ve yaşa göre anlamlı bir fark görülmediği ifade edilmiştir (Aşçı ve ark 1997, Yentur Doni ve ark 2013). Bizim çalışmamızda, gruplar *Giardia* saptanan ve saptanmayan olgular seçilerek oluşturulduğu için giardiosisin cinsiyet ve yaşla ilişkisi değerlendirilememiştir.

## 5. SONUÇ

Çalışmamızda, *G.intestinalis* tanısında mikroskopik bakı referans olarak alındığında DFA'nın özgüllük ve duyarlılığının %100, IK'in duyarlılığının %96, özgüllüğünün ise %100 olduğu belirlenmiştir.

IK yönteminin, kolay uygulanabilmesi, deneyimli personel ve laboratuvar alt yapısı gerektirmemesi, hızlı sonuç vermesi gibi avantajlı yönleri nedeni ile tanı laboratuvarlarında ve ayrıca kitle taramalarında kullanılacağı düşünülmüştür. Ayrıca IK'nın kit birim fiyatı maliyetinin 12.8 TL ile kit birim fiyatı 25.5 TL olan DFA'ya göre daha uygun maliyetli olduğu düşünülmüştür. DFA yönteminin ise alt yapısı güçlü laboratuvarlarda deneyim gerektirmeyen personel tarafından değerlendirilebileceği, ancak maliyetinin geleneksel yöntemlere göre fazla olduğu kanısına varılmıştır.

Giardiosisli olgularda sırasıyla en sık görülen semptom ve bulguların; karın ağrısı, iştahsızlık, gelişme geriliği, ishal, karında gerginlik, kilo kaybı olduğu saptanmıştır.

## ÖZET

### **Yaman Karadam S. Dışkıda *Giardia intestinalis* Tanısında Üç Yöntemin (Mikroskopik İnceleme, Direkt Floresan Antikor Testi, İmmunokromatografik Yöntem) Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi.**

Kamçılı bir protozoon olan *G. intestinalis*'in neden olduğu giardiosis tüm dünyada ve özellikle de gelişmekte olan ülkelerde en sık rastlanan protozoon hastalığı olarak bildirilmektedir. Endüstriyel ülkelerde %2-5 arasında, gelişmekte olan ülkelerde %20-30'a varan oranlarda yayılım gösterdiği belirtilmektedir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve çocuklarda salgınlar yapabilmekte ve ciddi sosyoekonomik kayıplara yol açabilmektedir. Bu kayıpların önlenmesi için şüphesiz ilk adım doğru ve hızlı tanı koyarak hasta veya taşıyıcı kişilerin saptanması ve uygun şekilde tedavi edilmesinin sağlanmasıdır. Ülkemizde de son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı bölgelerde %0,8'den %54,8'e kadar değişebilen oranlar bildirilmiştir.

Dışkıdaki parazitin tanısında mikroskopik bakı, çeşitli boyama yöntemleri, Direkt Floresan Antikor Tekniği (DFA), Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA), immunokromatografik (IK) ve Polymerase Chain Reaction (PCR) gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüğü ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı *G.intestinalis* tanısında sıklıkla kullanılan direkt mikroskopik inceleme ve konsantrasyon yöntemi sonrası direkt mikroskopik inceleme ile DFA ve IK yöntemlerinin paraziti saptama açısından birbirine olan üstünlüğünü saptamak ve tanı için en uygun olabilecek yöntemi araştırmaktır.

Çalışmaya parazit araştırılması amacıyla laboratuvarımıza gönderilen dışkı örneklerinden nativ-lugol ve/yeya formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile *G.intestinalis* saptanan 25 ve kontrol grubu olarak parazit saptanmayan 25 örnek dahil edilmiştir. Dışkılar mikroskopik incelemeleri yapıldıktan sonra, DFA ve IK yöntemleri ile çalışılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır. Saklanan dışkılar DFA (CeLLabs, Crypto/Giardia-Cel IF) ve IK (RIDA QUICK, *Cryptosporidium* /*Giardia* Combi Dipstick) testleri ile üretici firmaların önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

Çalışmamızda nativ-lugol ve/yeya formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile *G.intestinalis* saptanan 25 dışkının tamamında DFA ile parazit görülmüştür. IK yöntemi ile 24 dışkıda parazite özgü bant saptanırken, bir dışkıda saptanamamıştır. Kontrol grubundaki *G.intestinalis* saptanmamış olan 25 dışkının tamamında hem DFA hem de IK yöntemi ile parazit saptanmamıştır. Sonuç olarak, *G.intestinalis* tanısında mikroskopik bakı referans olarak alındığında DFA'nın özgüllük ve duyarlılığının %100, IK'in duyarlılığının %96, özgüllüğünün ise %100 olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda, IK yönteminin, kolay uygulanabilmesi deneyimli personel ve laboratuvar alt yapısı gerektirmemesi, hızlı sonuç vermesi gibi avantajlı yönleri nedeni ile tanı laboratuvarlarında ve ayrıca kitle taramalarında kullanılacağı düşünülmüştür. Ayrıca IK'nın kit birim fiyatı maliyetinin 12.8 TL ile kit birim fiyatı 25.5 TL olan DFA'ya göre daha uygun maliyetli olduğu düşünülmüştür. DFA yönteminin ise alt yapısı güçlü laboratuvarlarda deneyim gerektirmeyen personel tarafından değerlendirebileceği, ancak maliyetinin geleneksel yöntemlere göre fazla olduğu kanısına varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** DFA, Direkt mikroskopik inceleme, *Giardia intestinalis*, IK.



## SUMMARY

**Yaman Karadam S. Comparison evaluation of three methods (Microscopic Examination, Direct Fluorescent Antibody Assay, Immunochromatographic Method) in diagnosis of *Giardia intestinalis* in stool specimens.**

Giardiasis caused by a flagellated protozoon *G. intestinalis*, is known as the most common protozoon disease all over the world, especially in developing countries. Prevalence rate is stated to be around 2-5% in industrial countries, 20-30% in developing countries. It becomes contagious especially in developing countries and among children, causing serious socio-economic losses. In order to prevent these losses, the first step is to determine the sick and disease carrier people and provide relevant cure by correct and fast diagnosis without doubt. In Turkey when recent studies are examined, different ratios between 0,8% and 54,8% are stated.

In diagnosis of the parasite, many different methods are used, such as microscopic examination, various colouring techniques, Direct Florescent Antibody Assay (DFA), Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA), Immunochromatographic Method (IK) and Polymerase Chain Reaction (PCR). There is not enough study on these methods sensitivity and specificity.

The aim of this study is to make a comparison between direct microscopic examination and direct microscopic examination after concentration method and DFA and Immunocromatographic methods in finding out the parasite and the best suitable method for diagnosis.

In this study 25 stool samples that *G.intestinalis* has been diagnosed through native-lugol and/or formol-ethyl acetate concentration method and 25 non parasite diagnosed samples as control group has been examined. These samples have all been sent to our laboratory for parasite examination. After microscopic examination of stools, they have been kept at -20 °C for future DFA and IK methods examination. The preserved stool samples have been studied with DFA (CeLLabs, Crypto/Giardia-Cel IF) and IK (RIDA

QUICK, *Cryptosporidium* /*Giardia* Combi Dipstick) tests as per the manufacturing companies recommendations.

In our study, by DFA method, parasites have been detected in all 25 stool samples that *G.intestinalis* has been diagnosed through native-lugol and/or formol-etil asetat concentration method. By IK method, particular bant for the parasite have been detected in 24 samples, whereas one has not been observed. No parasites have been determined in all 25 samples in the control group where *G.intestinalis* have not been diagnosed. As a result, in diagnosis of *G.intestinalis*, when microscopic examination is taken as reference, DFA's sensitivity and specificity is noted as 100%, IK's sensitivity is noted as 96% and specificity as 100%.

In our study, it's been thought that IK method can be used in diagnosis laboratories and mass scanning due to its advantages in easy application, no experienced staff and laboratory infrastructure necessity and giving fast results. Besides, it's been observed that IK kit unit price of 12,80 TL is much cheaper than DFA kit unite price of 25,50 TL. It's been judged that DFA method can be evaluated in the laboratories with strong infrastructure with no experienced staff, but its cost is higher than the traditional methods.

**Keywords:** DFA, Direct microscopic examination, *Giardia intestinalis*, IK.

## KAYNAKLAR

- 1) Ak M, Türk M, Güneş K. Giardiosis. In: Özcel MA, Özbel Y, Ak M. (Eds). Özcel'in tıbbi parazit hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:22; İzmir: 2007. p. 323-344.
- 2) Aksoy Ü, Akısü Ç, Orhan V. Giardiasis tanısında direkt mikroskopik bakı ile immunfluoresan tekniği sonuçlarının karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2001;25(4):342-345.
- 3) Alkan MZ. Giardiosiste patogenezi. In: Özcel MA, Üner A. (Eds). Giardiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:14. İzmir: 1997. p. 37-40.
- 4) Almar CF, Dear PH, Pedraza Diaz S, Looker N, Linnane E, Mclauchlin J. Sensitive PCR-restriction fragment length polymorphism assay for detection and genotyping of *Giardia duodenalis* in human feces. Journal of Clinical Microbiology 2002;40:446-452.
- 5) Altıntaş N, Korkmaz M. Giardiosisin immünolojisi. In: Özcel MA, Üner A. (Eds). Giardiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:14. İzmir: 1997. p. 41-63.
- 6) Aşçı Z, Seyrek A, Kizirgil A, Yılmaz M. Dışkı örneklerinde *Giardia intestinalis*'in bulunması üzerine retrospektif bir çalışma. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1997;21(2):133-135.
- 7) Aysev D, Başkan S, Bulut B. Giardiazizde alternatif tedavi protokolleri. İnfeksiyon Dergisi 1995;9(4):421-424.
- 8) Aziz H, Beck CE, Lux MF, Hudson MJ. A comparison study of different methods used in the detection of *Giardia lamblia*. Clinical Laboratory Science 2001 Summer;14(3):150-154.

- 9) Bayramoğlu Ö, Pekmezci D, Başarı F. Adana ili gıda alışanlarında *Giardia* ve *Cryptosporidium* prevalanslarının farklı yöntemlerle araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2013;37:4-8.
- 10) Busatti HGNO, Alves RJ, Santana-Anjos KG, Gil FF, Cury MC, Vannier-Santos MA, Gomes MA. Effect of metranidazol analogues on *Giardia lamblia*: experimental infection and cell organization. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2013;75:160-164.
- 11) Char S, Farthing MJG. DNA probes for diagnosis of intestinal infection. Gut January 1991;32(1):1-3.
- 12) Cotton JA, Beaty JK, Buret AG. Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. Invited Review. International Journal For Parasitology 2011;41:925-933.
- 13) elik T, Atambay M, Daldal N. Malatya ilinde ishallerde bağırsak protozoonlarının dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2003;27(2):136-138.
- 14) ıragil P, Aral M, Ekerbiçer H, Göl M. Kahraman Marař Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2003;27(2):136-138.
- 15) Daldal N, Özensoy S. *Giardia intestinalis*'in morfolojisi ve evrimi. In: Özcel MA, Üner A. (Eds). Giardiasis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:14; İzmir: 1997. p. 1-16.
- 16) Demirçeken FG, Soykan İ, Kuloğlu Z, etinkaya H, Özden A. Dispepsili Hastalarda Giardiazis Sıklığı. Akademik Gastroenteroloji Dergisi 2007;6(3):132-136.
- 17) Dixon BR, Parenteau M, Martineau C, Fournier J.. A Comparison of conventional microscopy, immunofluorescence microscopy and flow cytometry in the detection of *Giardia Lamblia* cysts in beaver fecal samples. Journal of Immunological Methods 1997 Mar;202(1):27-33.

- 18) Doğruman Al F, Kuştımur S, Özekinci T, Balaban N, İlhan MN. *Giardia intestinalis* tanısında enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ve direkt floresan antikor yöntemlerinin kullanılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2006; 30(4):275-278.
- 19) Elsafi SH, Al-Magati TN, Hussein MI, Adam AA, Abu Hassan MM, Al Zahrani EM. Comparison of microscopy, rapin immunoassay and molecular techniques for the detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum*. Journal of Parasitology Research 2013;112:1641-1646.
- 20) Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of nine immunoassay kits (Enzymeimmunoassay and Direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. Journal of Clinical Microbiology 1997;35:1526-1529.
- 21) Gillin FD, Reiner DS, McCaffery M. Organelles of protein transport in *Giardia lamblia*. Parasitology Today 1991;7:113-116.
- 22) Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2003-2012 yılları sonuçları: 10 yıllık değerlendirme. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2013;37(2):97-101.
- 23) Gürüz AY. Giardiosis Kliniği. In: Özcel MA, Üner A. (Eds). Giardiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:14; İzmir: 1997. p. 63-67.
- 24) Hanevik K, Kristoffersen E, Svard S, Bruserud O, Ringqvist E, Sornes S, Langeland N. Human cellular immune response against *Giardia lamblia* 5 years after acute giardiasis. The Journal of Infectious Diseases 2011; 204:1779-1786.
- 25) Homan WL, Mank TG. Human Giardiosis: Genotype linked differences in clinical symptomatology. International Journal for Parasitology 2001;31(8):822-826.
- 26) Johnstan SP, Ballard MM, Beach MJ, Causer L, Wilkins PP. Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. J Clin microbiol 2003;41:623-626.

- 27) Ketelaris P, Seow F, Ngu M. The effect of *Giardia lamblia* trophozoites on lipolysis in vitro. *Parasitology* 1991;103:35-39.
- 28) Kocazeybek B. Özel bir hastanede akut gastrointestinal infeksiyon etkeni mikroorganizmaların prevalansının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2001;31(1-2):69-72.
- 29) Kuman HA. Giardiosis sağılıtmı. In: Özcel MA, Üner A. (Eds). *Giardiosis*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:14; İzmir: 1997. p. 117-129.
- 30) Kustimur S, Doğruman Al F, Tuncer C, Duyan Çamurdan A, Dalgıç B, Alağözlü H, Berk E. Gastrointestinal yakınmaları olan hastalarda bazı protozoonların farklı tanı yöntemleri ile araştırılması. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 2009;29(5):1260-1266.
- 31) Leber AL, Novak-Weekley S, Çev:Tanyüksel M, Koro Ö. İntestinal ve ürogenital yerleşimli amipler, kamçılılar ve silialılar. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (Eds) Çev. Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M. *Manuel of Clinical Microbiology*, Ankara 2009. Cilt:2 s. 2092-2112.
- 32) Letts M, Davidson D, Lalonde F. Synovitis secondary to giardiosis in children. *American Journal of Orthopedics* 1998 Jun;27(6): 452-454.
- 33) Markell EK, Voge M, John DT. *Medical Parasitology*. 7th ed, W.B. Saunders Company; 1992. p. 63-79.
- 34) Morimoto N, Komatsu C, Nishida M, Sugiura T. Detection of *Giardia lamblia* cysts in non-fixed long-term stored human feces by direct immunofluorescence assay. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2001 Apr;54(2):72-74.
- 35) Ok UZ, Girginkardeşler N, Kilimcioğlu A, Limoncu E. Dışkı inceleme yöntemleri. In: Özcel MA, Altıntaş N (Eds). *Parazit Hastalıklarında Tanı*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:15; 1997. s.1-61.

- 36) Olson ME, Ceri H, Mock DW. *Giardia* vaccination. *Parasitology Today* 2000;16 (5):213-217.
- 37) Özbel Y, Dağcı H. Giardiasisin laboratuvar tanısı. In: Özcel MA, Üner A. (Eds). Giardiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:14; İzmir: 1997. p. 79-117.
- 38) Özcel MA, Genel parazitoloji. In: Özcel MA, Özbel Y, Ak M (Eds). Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:22;2007. s. 3-75.
- 39) Özcel MA, Üner A, Ertuğ S. İmmunfloresans yöntemi. In: Özcel MA, Altıntaş N (Eds). Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:15; 1997. s.215-239.
- 40) Özçelik S, Değerli S. Türkiye'de Giardiosis. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1998;22(3):292-298.
- 41) Özekinci T, Uzun A, Suay A, Elçi S, Akpolat N, Atmaca S. Giardiasisin tanısında enzyme immun assay (EIA) ve direkt inceleme yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2005;29(2):89-92.
- 42) Reynoldson JA, Behnke JM, Gracey M, Horton RJ, Spargo R, Hopkins RM, Constantine CC, Gilbert F, Stead C, Hobbs RP, Thompson RC. Efficacy of albendazole against *Giardia* and hookworm in a remote Aboriginal community in the North of Western Australia. *Acta Tropica* 1998;71(1):27-44.
- 43) Roxström-Lindquist K, Palm D, Reiner D, Ringqvist E, Svard SG. *Giardia* immunity-an update. *Trends in Parasitology* 2006;22(1):26-31.
- 44) Sharp SE, Suarez CA, Duran Y, Poppiti RJ. Evaluation of the triage micro parasite panel for detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Cryptosporidium parvum* in patient stool specimen. *J Clin Microbiol* 2001; 39(1):332-334.
- 45) Thompson RCA, Reynoldson JA, Mendis HW. *Giardia* and Giardiosis. *Advances in Parasitology* 1993;32:71-160.

- 46) Uyar Y, Taylan Özkan A. Antigen detection methods in diagnosis of amebiasis, giardiasis and cryptosporidiosis. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2009;33(2):140-150.
- 47) Üner A, Ertuğ S, Giardiasis'in Epidemiyolojisi. In: Özcel MA, Üner A. (Eds). *Giardiasis*. Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:14; İzmir: 1997. p. 17-35.
- 48) Van Lint P, Rossen JW, Vermeiren S, Ver Elst K, Weekx S, Van Schaeren J, Jurissen A. Detection of *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium spp.* and *Entamoeba histolytica* in clinical stool samples by using multiplex real-time PCR after automated DNA isolation. *Acta Clinica Belgica* 2013 May-Jun; 68(3):188-192.
- 49) Ventura LLA, Oliveira DR, Viana JC, Santos JFG, Caliani MV, Gomes MA. Impact of protein malnutrition on histological parameters of experimentally infected animals with *Giardia lamblia*. *Experimental Parasitology* 2013 Apr; 133(4):391-395.
- 50) Yaman Karadam S, Ertabaklar H, Ertuğ S. Aydın'da üç farklı kreş ve anasınıfında bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008;32(3):257- 260.
- 51) Yentur Doni N, Zeyrek FY, Gürses G, Tümer S. *Giardia* ve *Cryptosporidium* tanısında direkt mikroskopi ve antijen tarama testlerinin karşılaştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2013;37:169-173.
- 52) Yılmaz Ü, Östan İ, Kayran E, Özbilgin A. Celal Bayar Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde 2000-2001 yıllarında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2002;6(1):60-63.
- 53) Zimmerman SK, Needham CA. Comparison of conventional stool concentration and preserved-smear methods with Merifluor *Cryptosporidium/Giardia* Direct Immunofluorescence Assay and ProSpecT *Giardia* EZ Microplate Assay for detection of *Giardia lamblia*. *Journal of Clinical Microbiology* 1995 Jul;33(7):1942-1943.



## ÖZGEÇMİŞ

**İsim:** SENEM YAMAN KARADAM

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ UZMANI**

**DİP NO:**3034

**Email:** [drsenem@yahoo.com](mailto:drsenem@yahoo.com)

**Tel:**05056270214

**Doğum Yeri ve Yılı:** TARSUS , 01.12.1976

**Medeni durumu:** Evli

**Yabancı dil:** İngilizce (UDS:85 puan)

**İş Adresi:** ÖZEL SADA HASTANESİ/İZMİR

**Eğitim Durumu:**

İlkokul: Misaki Milli İlkokulu, 1982-1987.

Ortaokul: Kasım Ekenler Ortaokulu, 1987-1990.

Lise: Tarsus Lisesi, 1990-1993.

Fakülte : Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1994-2000.

Tıpta Uzmanlık Eğitimi: Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ; Mayıs 2001-Nisan 2005

Parazitoloji Doktorası : Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Eylül 2007-halen tez dönemi

**Çalıştığı yerler**

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi (Mayıs 2001-Nisan 2005)

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzman Hekim (Nisan 2005-Aralık 2005)

Aydın Özel Menderes Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı Laboratuvar Sorumlusu (Ocak 2006- Ağustos 2007)

Özel Sada Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı (Ağustos 2007-Kasım 2009)

Adnan Menderes Üniversitesi Parazitoloji AD. Parazitoloji Doktorası (Eylül 2007 – Halen tez dönemi)

Özel Sada Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanı (Ocak 2012-halen)

### ***Uzmanlık Tezi***

Aydın İlinde Eozinofili Saptanan Olgularda, Fasciola spp. ve Toxocara spp'ye özgü IgG Antikorlarının Araştırılması

### ***Katıldığı Kurslar***

Hücre Kültürü Teknolojisinde Temel Prensipler ve Yapay Organlar, Ege Üniversitesi Bilim-Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (EBİLTEM), 24-26 Kasım 2004. İzmir.

Antibiyotik kullanımında güncel yaklaşımlar, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, 12 Ekim 2001, Aydın.

### ***Üye Olunan Bilimsel Dernekler***

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti.

Türkiye Parazitoloji Derneği

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanları Derneği

### **ULUSLARARASI DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER**

1. Karadam SY, Ertug S, Ertabaklar H, Okyay P.,The comparision of IgG antibodies specific to *Toxocara spp.* among eosinophilic and non-eosinophilic groups. New microbial 31(1):113-6, 2008

### **ULUSAL DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER**

1. Yaman S, Ertabaklar H, Kapdağlı A, Ertuğ S. 2002 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında Toxoplasmosis araştırılması Amacıyla

- Başvuran Olguların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 28(1):1-4. 2004.
2. Kapdağlı A, Ertabaklar H, Yaman S, Ertuğ S. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına 2002 Yılında Başvuran Olgulardaki Bağırsak Parazitlerinin Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 27 (4): 31-34, 2004.
  3. Eyigör M, Kırcan Ş, Gültekin B, Yaman S, Tekbıyık S, Aydın N. Q Humması İçin Risk Gruplarında *Coxiella Brunetii*'ye Karşı Oluşan Antikorların ELISA ve IFA Testleri ile Saptanması. İnfeksiyon Dergisi;20 (1):31-36,2006.
  4. Ertabaklar H, Yaman S, Ertuğ S. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına Gönderilen Ev Tozlarında Akar Sıklığının Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 30 (1):29-31, 2006
  5. Yaman Karadam S, Ertabaklar H, Ertuğ S. Aydın'da üç farklı kreş ve anasınıfındaki çocuklarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 32 (3): 257-60, 2008.
  6. Sarı C, Ertuğ S, Karadam SY, Özgün H, Karaoğlu AÖ, Ertabaklar H. Kistik Ekinokokkozis Tanısında ELISA(Enzym Lynked Immunosorbent Assay), İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA) ve İndirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT)'nin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 33(1):73-76, 2009.
  7. Karadam SY, Ertabaklar H, Sarı C, Dayanır Y, Ertuğ S. Eozinofil sayısı yüksek olanlarda kistik ekinokokkozis araştırılmalı mı?. Türkiye Parazitoloji Dergisi,33(3):203-206, 2009.
  8. Ertuğ S, Ertabaklar H, Karadam SY, Dayanır Y. Kistik Ekinokokkozis:Aile Enfeksiyonu. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 30(5):1724-1726, 2010

#### **ARAŞTIRMA PROJELERİ**

1. Bozdoğan B., Yazıcı V, Karadam SY, Kırdar S, Aydın N, S aureusta vankomisin direncinin genetik temelleri, TÜBİTAK, 1055388, 1/5/2006, 1/11/2007

#### **ULUSAL KONGRELERDE SUNULAN BİLDİRİLER**

1. Gültekin B, Eyigör M, Yaman S, Aydın N. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne 2001 yılında başvuran hasta ve donörlerde HbsAg pozitifliği. VI. Ulusal Viral Hepatit Simpozyumu, 31 Ekim-2 Kasım 2002, Ankara, s:52.

2. Ertabaklar H, Yaman S, Ertuğ S, . Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına gönderilen ev tozlarında akar sıklığının araştırılması XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 19-23 Eylül 2004, Aydın, s: 299.
3. Kırkan S, Eyigör M, Gültekin B, Kaya O, Aydın N, Tekbıyık S, Yaman S. Q Humması Hastalığı İçin Risk Gruplarında ve Sığırlarda *Coxiella burnetii*'in Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması. VII Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 26-28 Eylül 2006, Ankara Üniversitesi Örsen Çolaklı Side Antalya.
4. Yaman Karadam S, Ertuğ S, Ertabaklar H, Okyay P, Aydın İlinde Eozinofili Saptanan Olgularda *Toxocara spp.*'ye özgü IgG Antikorlarının Araştırılması. XIV Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-25 Eylül 2005. İzmir.
5. Yaman Karadam S, Serter M, Kırdar S, Gültekin B, Ertabaklar H, Ertuğ S, Demir Ece Mine, *Toxocara canis* Enfeksiyonunda Nitrik Oksitin Yeri ve Eozinofili ile İlişkilendirilmesi. Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği 3. Ulusal Kongresi, 21-24 Eylül 2005, Antalya.
6. Ertug S, Ertabaklar H, Yaman Karadam S, Dayanır Y, Kist hidatik: aile enfeksiyonu. XV. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-23 Kasım 2007. Kayseri ve Ürgüp. s: 234-235
7. Yaman Karadam S, Ertabaklar H, Sarı C, Dayanır Y, Ertug S, Eozinofil sayısı yüksek olanlarda kistik ekinokokkozis araştırılabilir mi?. XV. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-23 Kasım 2007. Kayseri ve Ürgüp. S: 234
8. Yaman Karadam S, Ertabaklar H, Ertug S, Aydın'da üç farklı kreş ve anasınıfındaki çocuklarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. XV. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-23 Kasım 2007. Kayseri ve Ürgüp. s: 264

#### **ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN BİLDİRİLER**

1. Eyigör M, Gültekin B, Yaman S, Aslanhan E, Aydın N, Retrospective Evaluation of Agents Isolated From The Blood Cultures in Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Microbiologia Balcanica 3rd Balkan Conference of Microbiology, September 4-6, 2003, İSTANBUL
2. Eyigör M, Kırkan S, Gültekin B, Yaman S, Tekbıyık S, Aydın N, Detection of *Coxiella burnetii* and antibodies by molecular and serological methods among risk groups. 16th

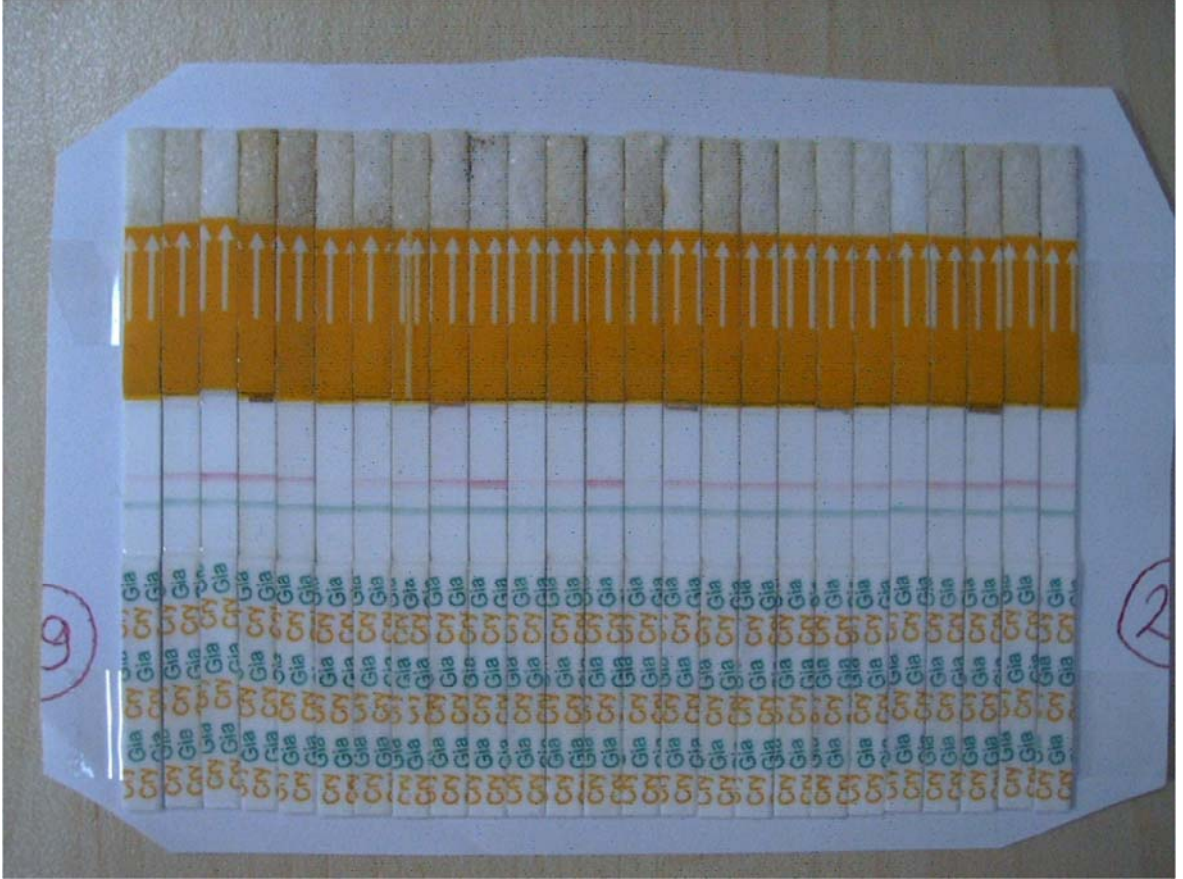
European Congresses of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Nice, France. 1-4 April 2006.

### **KATILDIĞI KONGRE VE SEMPOZYUMLAR**

1. Antibiyotik Kullanımında Güncel Yaklaşımlar Sempozyumu. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi. 12 Ekim 2006, Aydın.
2. Candida Mikrobiyolojisi ve İnfeksiyonları Sempozyumu. 21-22 Haziran 2002, Eskişehir.
3. FEMS-Symposium on the Versatility of Listeria Species. 10-11 October 2002, İzmir, Turkey.
4. Hücre Kültürü Teknolojisinde Temel Prensipler ve Yapay Organlar Kursu. Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Araştırma Merkezi EBİLTEM. 24-26 Kasım 2004. İzmir.
5. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 19-23 Eylül 2004. Pine Bay Otel, Kuşadası, Aydın.
6. 15. Ulusal Parazitoloji Kongresi. 18-23 Kasım 2007. Kayseri ve Ürgüp.
7. XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 21-25 Ekim 2008. Bodrum Princess De Luxe Resort Hotel, Bodrum.
8. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Aile Hekimliği 1. Aşama Uyum Eğitimi. 30 Eylül-6 Ekim 2010. Kocaeli.
9. XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 3-7 Kasım 2012. Pine Bay Otel, Kuşadası.

## RESİMLER VE TABLOLAR

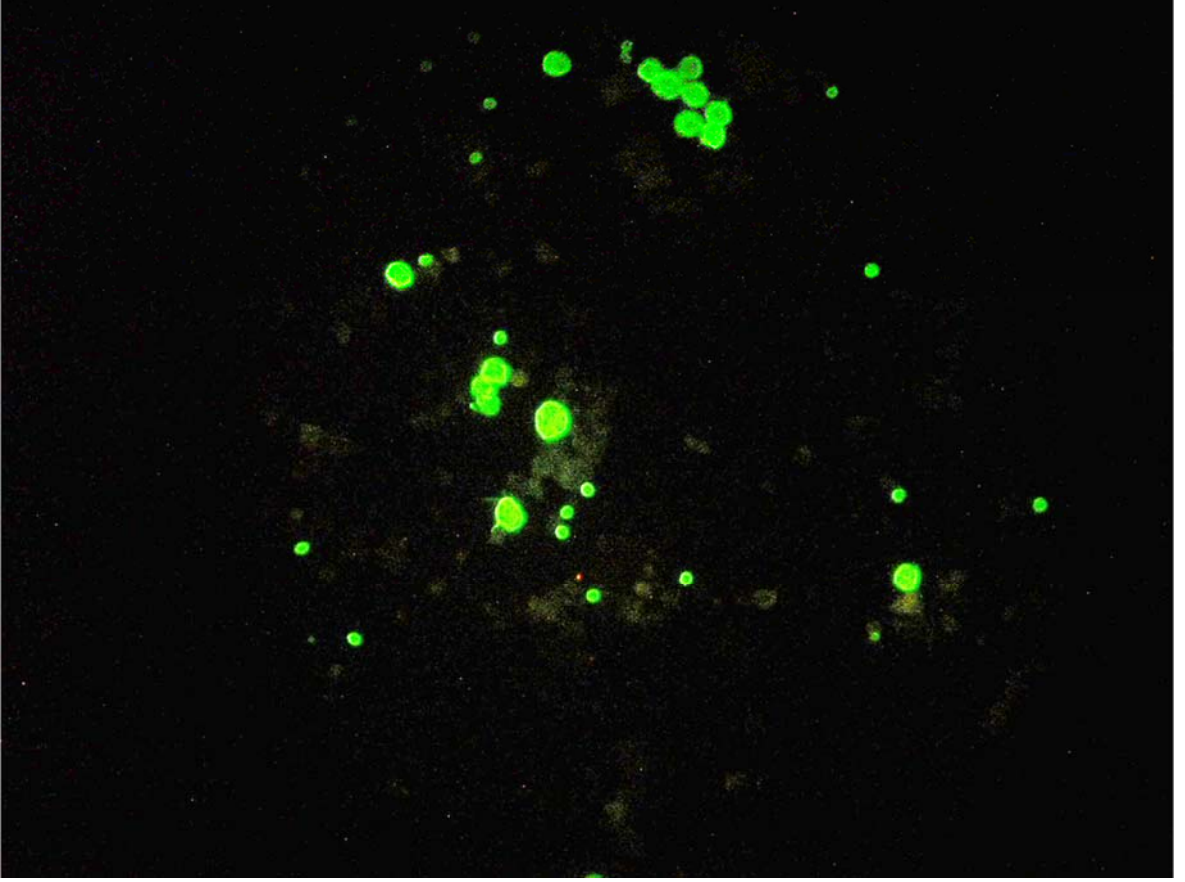
Resim 1: Olgu grubu IK sonuçları



Resim 2: Kontrol grubu IK sonuçları

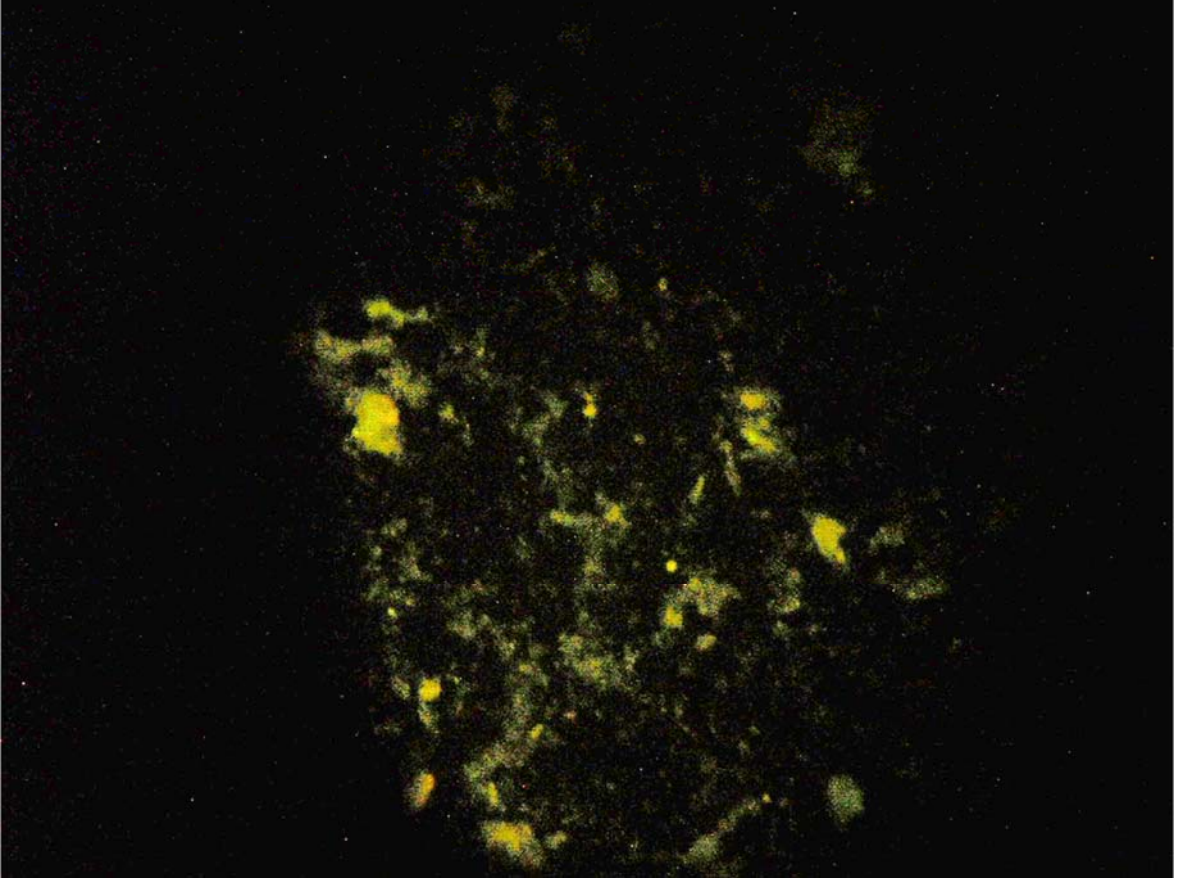


Resim 3: DFA, *G. intestinalis* saptanan numune örneği





Resim 4: DFA, *G. intestinalis* saptanmayan numune örneği



Tablo 1: Olgu ve kontrol grubundaki semptomların sayı ve yüzdeleri

SEMPTOMLAR	OLGU GRUBU (25)		KONTROL GRUBU (25)	
	VAR (%)	YOK(%)	VAR(%)	YOK (%)
Karın ağrısı	14 (%56)	11 (%44)	0	25 (%100)
Karında gerginlik	4 (%16)	21 (%84)	0	25 (%100)
İshal	5 (%20)	20 (%80)	0	25 (%100)
İştahsızlık	9 (%36)	16 (%64)	0	25 (%100)
Kilo kaybı	4 (%16)	21 (%84)	0	25 (%100)
Bulanti-kusma	1 (%4)	24 (%96)	0	25 (%100)
Dışkı tutamama	2 (%8)	23 (%92)	0	25 (%100)
Davranış bozukluğu	3 (%12)	22 (%88)	0	25 (%100)
Gelişme geriliği	7 (%28)	18 (%72)	0	25 (%100)
Kaşıntı	2 (%8)	23 (%92)	0	25 (%100)
Alerji	2 (%8)	23 (%92)	0	25 (%100)
Ağızda aft	1 (%4)	24 (%96)	0	25 (%100)
Gece terlemesi	1 (%4)	24 (%96)	0	25 (%100)
Karında şişkinlik	1 (%4)	24 (%96)	0	25 (%100)

## EKLER

Ek 1

### ÇALIŞMA BİLGİ VE ANKET FORMU

Adı-Soyadı:

Yaşı:

Cinsiyeti:

Mesleği:

Adres:

Aşağıdaki şikayetlerden var olanları işaretleyiniz:

Karın ağrısı

Karında gerginlik

İshal

İştahsızlık

Kilo kaybı

Bulantı-kusma

Dışkı tutamama

Davranış bozukluğu

Gelişme geriliği

Kaşıntı

Alerji

Ağızda aft

Gece terlemesi

Karında şişkinlik

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında katkıları büyük olan Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakóltesi Parazitoloji Bölümünden Hocalarım sayın Prof. Dr. Sema Ertuğ, Prof. Dr. Hatice Ertabaklar'a ayrıca parazitoloji laboratuvarı çalışanları ve Serçin Özlem Çalıőkan'a, desteğini esirgemeyen eőim Bahaddin Karadam'a teőekkürlerimi sunarım.