

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ (TIP) DOKTORA PROGRAMI

***ENTEROBIUS VERMICULARIS* SAPTANAN OLGULARIN
DIŞKILARINDA PZR YÖNTEMİ İLE *DIENTAMOEBIA*
FRAGILIS VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

**İBRAHİM YILDIZ
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hatice Ertaçlar**

AYDIN-2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Tıp) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde İbrahim YILDIZ tarafından hazırlanan “*Enterobius vermicularis* Saptanan Olguların Dışkılarında PZR Yöntemi İle *Dientamoeba fragilis* Varlığının Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21/01/2020

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Hatice ERTABAKLAR	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Üye (T.D)	: Doç. Dr. Özgür GÜÇLÜ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sultanhisar MYO
Üye	: Prof. Dr. Sema ERTUĞ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Üye	: Prof. Dr. İbrahim Cüneyt BALCIOĞLU	Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Üye	: Prof. Dr. Mehmet Emin LİMONCU	Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri M.Y.O.

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlamasından sonuçlanmasına kadar her aşamasında emek veren, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemedi bana yol gösteren tez danışman hocalarım Prof. Dr. Hatice ERTABAKLAR ve Doç. Dr. Özgür GÜÇLÜ'ye öncelikle sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Aynı şekilde tez çalışmam süresince değerli bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Sema ERTUĞ hocamıza da teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca laboratuvar çalışmaları esnasında benden desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Erdoğan MALATYALI hocama ve çalışma arkadaşım Evren TİLEKLİOĞLU'na ayrı ayrı çok teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince özellikle örnek toplama ve saklama aşamalarında değerli katkılarından dolayı Kerim ÇOLAK ve Aydan TÜZEL'e de teşekkür ederim. Tez yazım süresi boyunca sabrını ve desteğini sürekli hissettiğim sevgili eşim Mehtap KAPLAN YILDIZ'a ve kızım Azra Elif YILDIZ'a da çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Dientamoeba fragilis</i> Tarihi	2
2.2. Taksonomi	3
2.3. Morfoloji	3
2.3.1. Trofozoit	4
2.3.2. Prekist	5
2.3.3. Kist	5
2.4. <i>Dientamoeba fragilis</i> 'in Genotiplendirilmesi	7
2.5. Yaşam Döngüsü ve Bulaş.....	8
2.6. Epidemiyoloji	10
2.7. Patogenez ve Klinik	14
2.8. Tanı Yöntemleri	14
2.8.1. Mikroskopik Tanı Yöntemleri	15
2.8.2. Kültür	16
2.8.3. İmmunolojik Testler	17
2.8.4. Moleküler Tanı Yöntemleri	18
2.9. Tedavi ve Korunma	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Olguların Seçilmesi ve Örneklerin Toplanması	23

3.2. Selofan Bant Örneklerinde Direkt Mikroskopi ile <i>Enterobius vermicularis</i> Araştırılması	23
3.3. Dışkı Örneklerinde Kalıcı Boyama ile <i>Dientamoeba fragilis</i> Araştırılması	24
3.3.1 Trikrom Boyama	24
3.3.1.1. Kullanılan Malzemelerin Hazırlanması	24
3.3.1.1.1. Trikrom Boyası	24
3.3.1.1.2. D'antoni İyot Solüsyonu	24
3.3.1.1.3. %90'lık Asit Alkol	25
3.3.1.1.4. Schaudin Fiksatif	25
3.3.1.2. Yöntem	25
3.4. DNA İzolasyonu	26
3.4.1. DNA İzolasyon Protokolü	26
3.5. İzolatlarda PZR Yöntemi ile <i>Dientamoeba fragilis</i> Araştırılması	27
3.6. Sekans Analizi ve İzolatlar Arasındaki Genetik Uzaklığın Belirlenmesi	28
3.7. İstatistiksel Analizler	28
3.8. Anket Formu	29
4. BULGULAR	30
4.1. Dışkı Örnekleri ve Olgular	30
4.2. Direkt Mikroskopi	30
4.3. PZR Sonuçları	31
4.4. <i>Dientamoeba fragilis</i> ve <i>Enterobius vermicularis</i> Birlikteliğinin Karşılaştırılması	32
4.5. Saptanan <i>D. fragilis</i> PZR Ürünlerinin Sekans Analiz Sonuçları	33
4.6. <i>Dientamoeba fragilis</i> 18S rRNA Dizilerinin Filogenetik Analizi.....	40
4.7. Tanıda Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması	41
4.8. Demografik Özellikler ve Semptomların Analizi	43
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	56
Ek 1 Etik Kurul Onayı.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	71

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BLAST	: Basic local alignment search tool
Bp	: Baz çifti
dH₂O	: Distile su
DM	: Direkt mikroskopi
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
dNTP	: Deoksinukleozit tri-fosfat
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EIA	: Enzim immün testi
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
IBS	: İrritabl bağırsak sendromu
IFA	: İndirekt floresan antikor testi
ITS	: internal transcribed spacer
MEGA	: Moleküler evrimsel genetik analiz
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
qPCR	: Kantitatif Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	: Ribo Nükleik asit
rRNA	: Ribozomal ribo nükleik asit
SAF	: Sodyum asetat-asetik asit-formol
SNP's	: Tek nükleotid polimorfizmi
SPSS	: Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı
SSU rRNA:	: Ribozomun küçük alt birimine ait RNA'yı kodlayan bölge

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. *Dientamoeba fragilis*'in kist, prekist ve trofozoit formları4

Şekil 2. *Dientamoeba fragilis* yaşam döngüsü9

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Enfekte farelerin dışkıсында bulunan <i>Dientamoeba fragilis</i> kistlerinin demir hemotoksilen boyası ile incelenmesi.....	6
Resim 2. <i>Dientamoeba fragilis</i> kistlerinin elektron mikroskobundaki görüntüleri	6
Resim 3. Trikróm boyama yöntemi ile saptanan <i>Dientamoeba fragilis</i> 'lerin 100X büyütmedeki görüntüleri	30
Resim 4. Selofan bant yöntemi ile saptanan <i>Enterobius vermicularis</i> 'lerin 40X büyütmedeki görüntüleri	31
Resim 5. Saptanan <i>Dientamoeba fragilis</i> PZR ürünlerinin %1.5 Agaroz jelde yürütüldükten sonra 863bp.deki görüntüsü	32
Resim 6. <i>Dientamoeba fragilis</i> 18S rRNA dizilerinin Bioedit Sequence Alingment Editör programı ile sıralanması (alignment)	33
Resim 7. <i>Dientamoeba fragilis</i> Genotip 1, Genotip 2, AduDf14 ve AduDf138 18S rRNA dizilerinin sıralanması (alignment).....	34
Resim 8. <i>Dientamoeba fragilis</i> Genotip 1, Genotip 2, AduDf14 ve AduDf138 18S rRNA dizilerinin MEGA programı ile sıralanması (alignment)	34
Resim 9. <i>Dientamoeba fragilis</i> 18S rRNA dizilerinden birine ait kromatogram dosyası	34
Resim 10. AduDf14 referans numarasıyla Genbank'a yüklenen dizi ayrıntıları	35
Resim 11. AduDf138 Referans numarası ile Genbank'yüklenen dizi ayrıntıları	36
Resim 12. AduDf14'ün BLAST analizi sonrasında %100 benzerlik gösterdiği diziler	40
Resim 13. AduDf14, AduDf138, Genotip 1 (AY30405) ve Genotip 2 (DFU37461) dizilerinin evrimsel uzaklıkları	41

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Dünya genelinde <i>Dientamoeba fragilis</i> prevalansını bildiren çalışmalar	11
Tablo 2. Türkiyedeki <i>Dientamoeba fragilis</i> prevalansını bildiren çalışmalar	13
Tablo 3. <i>Dientamoeba fragilis</i> tanısında kullanılan PZR testleri	19
Tablo 4. <i>Dientamoeba fragilis</i> tanısında kullanılmak üzere ticari olarak temin edilebilir PZR kitleri	20
Tablo 5. <i>Dientamoeba fragilis</i> tedavisinde kullanılan antiparaziter ajanlar	21
Tablo 6. <i>Dientamoeba fragilis</i> tanısında kullanılan primerler	28
Tablo 7. Tanı yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif ve negatif prediktif değerlerinin hesaplanması	28
Tablo 8. Direkt Mikroskopi Sonuçları	31
Tablo 9. PZR Sonuçları	32
Tablo 10. <i>Dientamoeba fragilis</i> ve <i>Enterobius vermicularis</i> birlikteliğinin karşılaştırılması	33
Tablo 11. AduDf14, AduDf138, Genotip 1 ve Genotip 2'nin tüm baz dizilimleri	37
Tablo 12. AduDf14 ve AduDf138 dizilerinin <i>Dientamoeba fragilis</i> genotip 1 ve genotip 2 ile olan baz farklılıkları	39
Tablo 13. Tanı yöntemlerinin bir arada değerlendirilmesi	42
Tablo 14. Trikróm boyama yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde PZR yönteminin değerleri	43
Tablo 15. PZR yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde trikróm boyama yönteminin değerleri	43
Tablo 16. <i>Dientamoeba fragilis</i> saptanan ve saptanmayan olgular cinsiyet, ve yaşadıkları yer açısından karşılaştırılması	44
Tablo 17. <i>Dientamoeba fragilis</i> saptanan ve saptanmayan olgularda semptomların karşılaştırılması	45

ÖZET

***ENTEROBIUS VERMICULARIS* SAPTANAN OLGULARIN DIŞKILARINDA PZR YÖNTEMİ İLE *DIENTAMOEBA FRAGILIS* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Yıldız İ. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Tıp) Programı Doktora Tezi, Aydın, 2020

Bu çalışmanın amacı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden selofan bant ve dışkı örnekleri gönderilen olgularda *Enterobius vermicularis* (*E. vermicularis*) ve *Dientamoeba fragilis* (*D. fragilis*) birlikteliğini araştırmak ve bulunan *D. fragilis* 'lerin genotiplerini belirlemektir. Ayrıca *D. fragilis* tanısında kullanılan trikrom boyama ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla laboratuvarımıza gönderilen selofan bant örneklerinde *E. vermicularis* yumurtası saptanan 74 olgunun dışkı örneği ile yumurta saptanmayan 74 olguya ait toplam 148 dışkı örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm örnekler trikrom boyama ve PZR yöntemleri uygulanarak *D. fragilis* araştırılmıştır. *Dientamoeba fragilis* izolatlarının alt tiplerinin belirlenmesi için 18S ribozomal RNA gen bölgesi sekanslanmıştır. Ayrıca *D. fragilis* saptanan olguların demografik özellikleri ve klinik bulguları değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda *E. vermicularis* pozitif 74 olgunun trikrom boyama yöntemi ile üçünde (%4,05), PZR yöntemiyle ise 28'inde (%37,8) *D. fragilis* varlığı saptanmıştır. Kontrol grubunu oluşturan *E. vermicularis* negatif 74 olgunun ise trikrom boyama yöntemi ile birinde (%1,35) PZR yöntemi ile ise 14'ünde (%18,91) *D. fragilis* saptanmıştır. *Enterobius vermicularis* ile *D. fragilis*'in birlikte görülme olasılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Sekans analizi yapılan 26 *D. fragilis* izolatının tamamı genotip 1 olarak belirlenmiştir. *Dientamoeba fragilis* varlığı ile klinik bulgular arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Cinsiyet ve yaşanan bölge ile *D. fragilis* görülmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Dientamoeba fragilis 'in direkt mikroskopik tanısı oldukça zor olup bu nedenle rutin tanıda sıklıkla boyama yöntemleri ve kültür tercih edilmektedir. Son yıllarda moleküler yöntemlerin gelişmesiyle parazitin tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda

Enterobius vermicularis saptanan olgularda *D. fragilis*'in sıklıkla eşlik edebileceği görülmüş olup *E. vermicularis*'li olgularda *D. fragilis* varlığının araştırılması akla getirilmelidir. Ayrıca *D. fragilis* tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllük değerlerine sahip PZR gibi ikinci bir yöntemin kullanılmasının yanlış sonuçları önlemek için faydalı olabileceği düşünülmüştür. Klinik bulgular ve *D. fragilis* arasında anlamlı bir ilişkinin bulunamaması parazitin patojen ve apatojen alt tiplerinin olabileceği görüşünü desteklemekte olup bu konuda yapılacak yeni araştırmaların yapılması gerektiği vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aydın, *Dientamoeba fragilis*, *Enterobius vermicularis*, PZR, trikrom.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF *DIENTAMOEBIA FRAGILIS* FREQUENCY IN FECAL SAMPLES OF *ENTEROBIUS VERMICULARIS* POSITIVE CASES BY PCR

Yildiz I. Aydin Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Parasitology Programme Thesis of Doctorate, Aydin, 2020

The aim of the present study was to investigate the coexistence of *Enterobius vermicularis* (*E. vermicularis*) and *Dientamoeba fragilis* (*D. fragilis*) in cases that sent cellophane tapes and fecal samples from different departments in Parasitology Laboratory of Aydin Adnan Menderes University, Application and Research Hospital, in addition, to determine *D. fragilis* genotypes. Another aim of the study was to compare the trichrome staining and polymerase chain reaction (PCR) methods in the diagnosis of *D. fragilis*.

For this purpose, fecal samples from 148 cases were included in the study, 74 were positive for the presence of *E. vermicularis* eggs in cellophane tape samples and 74 were negative. The positivity of *D. fragilis* was investigated by trichrome staining and PCR methods. The partial 18S ribosomal RNA gene region was sequenced to identify subtypes of *D. fragilis* isolates. In addition, demographic features and clinical findings of the cases with *D. fragilis* were evaluated.

In our study, *D. fragilis* was detected in three (4.05%) of 74 *E. vermicularis* positive cases by trichrome staining method and in 28 (37.8%) by PCR method. In addition, *D. fragilis* was detected in one of the 74 vermicularis negative cases (1.35%) by trichrome staining method and in 14 (18.91%) by PCR method. The coexistence of *E. vermicularis* and *D. fragilis* was statistically significant ($p < 0.05$). All of the 26 *D. fragilis* isolates that were analyzed by sequence analysis and were identified as genotype 1. No significant relationship was found between the presence of *D. fragilis* and clinical findings. There was no statistically significant difference between sex and region and the presence of *D. fragilis*.

Direct microscopic examination of *D. fragilis* is relatively inefficient, so staining and culture methods are frequently used in routine diagnosis. In recent years, due to advances in molecular methods, these techniques have been used in the diagnosis of parasites. As a result of this study, it was observed that *D. fragilis* can be frequently associated with *E.*

vermicularis and the presence of *D. fragilis* in *E. vermicularis* positive cases should be considered. It is also thought that the use of a second method such as PCR which has high sensitivity and specificity in the diagnosis of *D. fragilis*, it may be useful in preventing false negative results. The absence of a significant relationship between the clinical findings and *D. fragilis* supports the idea that there may be pathogen and apathogenic genotypes of the parasite; however, further research is needed.

Keywords: Aydin, *Dientamoeba fragilis*, *Enterobius vermicularis*, PCR, trichrome.

1. GİRİŞ

Dientamoeba fragilis (*D. fragilis*), 5-15 µm büyüklüğünde, amip benzeri morfolojiye sahip, uzun yıllar boyunca sadece trofozoit formu bulunduğu varsayılan gastrointestinal yerleşimli bir protozoon parazittir. *Dientamoeba fragilis* enfeksiyonları sıklıkla asemptomatik seyretmekle birlikte semptomatik olgularda iştahsızlık, karın ağrısı, diyare, bulantı-kusma, gaz ve kilo kaybı gibi klinik bulgular görülebilmektedir.

Dientamoeba fragilis'in kist evresi parazitin tanımlanmasını takiben geçen yaklaşık yüz yıllık süre zarfında net olarak saptanamamıştır. Bu konuda yapılan yeni tarihli çalışmalarda ise kist evresinin saptandığı belirtilmekle birlikte parazitin dışkıda genellikle trofozoit formda atıldığı vurgulanmaktadır. Dış ortam koşullarına son derece dayanıksız olan *D. fragilis*'in trofozoit formunun ise fekal oral bulaşa neden olamayacağı düşünülmektedir. Parazitin bulaş yolu hakkında en yaygın olarak kabul edilen görüş *Enterobius vermicularis* (*E. vermicularis*) yumurtalarının *D. fragilis* trofozoitlerini taşıdığı hipotezidir.

Çalışmamızda Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarına farklı kliniklerden incelenmesi için gönderilen dışkı ve selofanlı lam örnekleri kullanılmıştır. Rutin parazitolojik testlerde çoğu kez selofanlı lam ve dışkı örnekleri birlikte istenilmektedir. Çalışmanın yapıldığı iki yıllık sürede selofanlı lam örneklerinde *E. vermicularis* varlığı araştırılan olguların dışkı örnekleri trikrom boyama yöntemiyle *D. fragilis* açısından incelenmiştir. Ayrıca çalışma kapsamına alınan tüm olguların dışkı örneklerinde PZR yöntemi ile *D. fragilis* DNA'sı araştırılmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün ihmal edilen gastroenterit etkenleri arasında bildirdiği *D. fragilis*'in bulaş yolu hakkında tatmin edici bulgulara ulaşıldığı söylenememektedir. Çalışmamızın ana amacı *D. fragilis* ile *E. vermicularis* birlikteliğinin sıklığını araştırmaktır. Ayrıca çalışmamızda, saptanan *D. fragilis*'lerin alttiplerinin belirlenmesi, cinsiyet ve demografik özellikler gibi değişkenlerin *D. fragilis* varlığı üzerindeki etkisinin araştırılması ve *D. fragilis* varlığı ile gastrointestinal sistem semptomları arasında anlamlı bir ilişkinin olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Dientamoeba fragilis* Tarihi

Kamçılı bir protozoon olan *D. fragilis* ilk defa 1907 yılında mikrobiyolog Wenyon tarafından kendi dışkısında görülmüş olmasına rağmen literatürde ilk kez 1918 yılında Jepps ve Dobell tarafından tanımlanmıştır. Bu parazit, dış ortam koşullarına son derece dayanıksız oluşu, çoğunlukla çift çekirdekli formunun görülmesi ve amiplere olan benzerliği nedeniyle *Dientamoeba fragilis* olarak isimlendirilmiştir. Hareketlerinin ve morfolojisinin amipilere olan benzerliğinden dolayı başta amip sınıflandırması içerisine alınmıştır (Jepps ve Dobell, 1918). Dobell (1940), parazitin kümes hayvanlarında görülen kamçılı bir protozoon ile (*Histomonas meleagridis*) morfolojik benzerliğini ortaya koymuş ve *Dientamoeba*'nın, kamçılıların evrimi esnasında kamçılarını kalıcı olarak kaybettiği bir aşamayı temsil ettiği sonucuna varmıştır. Grasse (1953) *Dientamoeba*'yı amip sınıflandırmasından çıkarmıştır. Camp ve ark (1974) *D. fragilis*'i ışık ve elektron mikroskobu incelemeleri sonucunda tekrar tanımlamıştır. *Dientamoeba fragilis*'in kesin sınıflandırması elektron mikroskopik incelemeleri, moleküler yöntemler ve antijenik araştırmalar sonucunda yapılmış ve parazit günümüzde kamçılılar sınıfına dahil edilmiştir (Johnson ve ark, 2004)

Dobell ve Jepps (1918) ilk olarak *D. fragilis*'in apatojen olduğunu kabul etmiş ve devam eden çalışmalarda bu düşünce desteklenmiştir (Dobell ve O'Connor, 1921). Fakat *D. fragilis*'in tanımlanmasından sadece bir yıl sonra ishali olan iki amerikan askerinde parazitin saptanmasıyla diğer araştırmacıların bu bilgiyi sorgulamaya başlaması uzun sürmemiştir (Kofoid ve ark, 1919). Daha sonra yapılan çalışmalarda, Filipinler'deki üç semptomatik çocukta *D. fragilis*'in saptandığını bildirilmiş ve akabinde *D. fragilis*, İngiltere'den yetişkin bir erkekte ishalin nedeni olarak gösterilmiştir. (Haughwout ve Horrilleno, 1920; Thomson ve Robertson, 1923). *Dientamoeba fragilis* patojenitesi hakkında başlayan bu tartışmalar günümüze kadar devam etmiştir.

2.2. Taksonomi

Dientamoeba fragilis'in taksonomik pozisyonunu belirlemek için 1996 yılına kadar moleküler yöntemler kullanılmamış olup o döneme kadar geleneksel fenotip belirleme yöntemleriyle taksonomik sınıflandırması yapılmıştır. İlk kez 1996 yılında *D. fragilis*'in küçük alt birim ribozomal RNA (SSU rRNA) dizilerine dayanan moleküler filogeni çalışmaları yapılmış ve bu parazitin kamçılı trikomonadlar ile yakından ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Silberman ve ark, 1996).

Dientamoeba fragilis 'in güncel sınıflandırması (Stark ve ark, 2006)

Alem: Protista

Alt Alem: Protozoa

Şube: Sarcomastigophora

Alt Şube: Mastigophora

Sınıf: Zoomastigophora

Takım: Trichomonadida

Aile: Monocercomonadidae

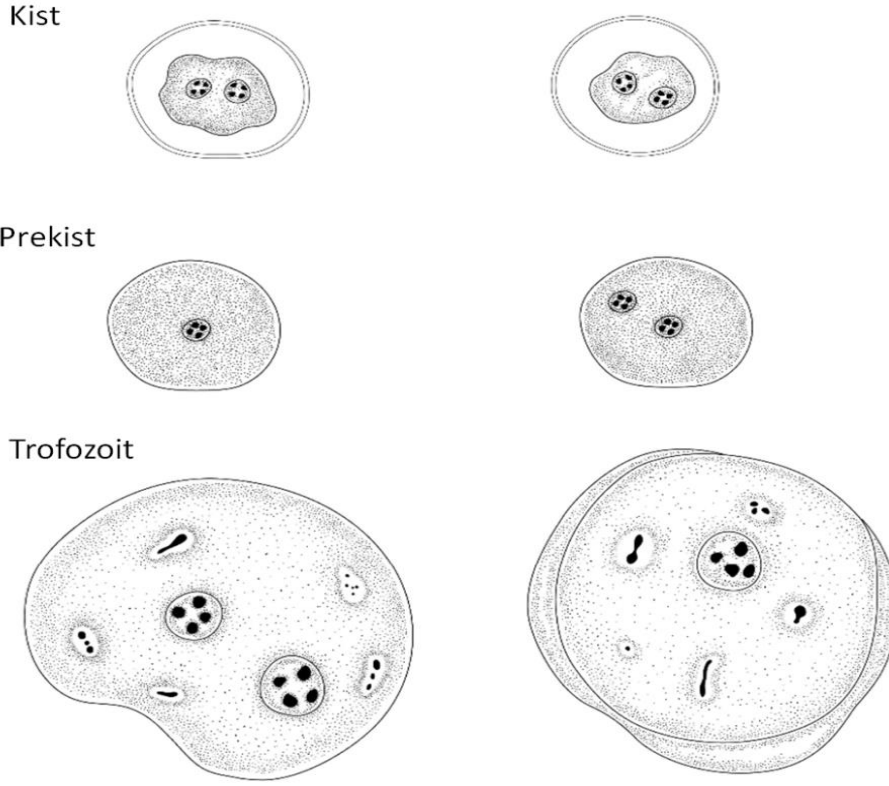
Cins: *Dientamoeba*

Tür: *Dientamoeba fragilis*

2.3. Morfoloji

Dientamoeba fragilis morfolojisi hakkındaki ilk bilgiler ışık mikroskobu altındaki incelemeler sonucunda elde edilmiştir. Trofozoitleri tipik olarak 5-15µm boyutlarında olup çoğu zaman çift nükleus bulundurmasından dolayı "*Dientamoeba*" olarak isimlendirilmiştir. Fakat parazitin bir, üç veya dört nükleus içeren formları daha nadir de olsa görülebilmektedir. Çekirdeğin boyutları trofozoitin boyutuna göre değişkenlik göstermekle birlikte ortalama 2µm'dir (Johnson ve ark, 2004). Parazitin kist formunun olmadığı uzunca bir süre kabul görmüştür (Barratt ve ark, 2011a). Munasinghe ve ark (2013) fare modeli kullanarak yaptıkları çalışmada *D. fragilis*'in kist formunu saptamışlar, ve bu kist formunu geçirirli elektron mikroskopisi (TEM) görüntüleriyle teyit ettiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca parazitin kist yapısının 1-2 çekirdeğe sahip ve kalın bir kist duvarı ile çevrili olduğunu, demir hemotoksilen ile hazırlanan preparatlarda ortalama 5µm boyutlarında ölçüldüğünü

bildirmişlerdir. Kist duvarının, *Giardia* türlerindeki gibi filamentli bir yapıda olduğu belirtilmiştir (Munasinghe ve ark, 2013).



Şekil 1. *Dientamoeba fragilis*'in kist, prekist ve trofozoit formları (Stark ve ark, 2014)

2.3.1. Trofozoit

Dientamoeba fragilis trofozoitleri çoğunlukla bir (%60-80) veya iki (%20-40) çekirdeğe sahip olup nadiren üç veya dört çekirdekli formları görülebilmektedir (Johnson ve ark, 2004). Nükleer kromatin genellikle üç ila beş granül arasında değişmektedir ve nükleer membran üzerinde periferik kromatin tanecikleri bulunmamaktadır. Nükleer kromatin görüntüsü, özellikle parazitin fazla boya tutmasına bağlı olarak *Endolimax nana* ve *Entamoeba hartmanni* ile yakından benzerlik gösterebilmektedir. Parazitin sitoplazması genellikle vakuoler şekildedir ve sindirilmiş besin artıkları bulundurabilmektedir. Fiksasyon ve boyama işlemi hemen yapılmayan, beklemiş dışkı örneklerinden hazırlanan preparatlarda sayıca fazla vakuol görülme olasılığı yüksek olup bu durum, parazitin dejenarasyonunu göstermektedir. Trofozoitler şekil ve büyüklük olarak aynı preparatta dahi birbirinden farklı

olabilmektedir. Büyüklükleri 5-15 µm arasında değişirken şekilleri oval veya yuvarlak olarak görülebilmektedir. Trofozoitler amiplerdeki gibi psödopodlar oluşturarak hareket etmektedirler (Windsor ve Johnson, 1999).

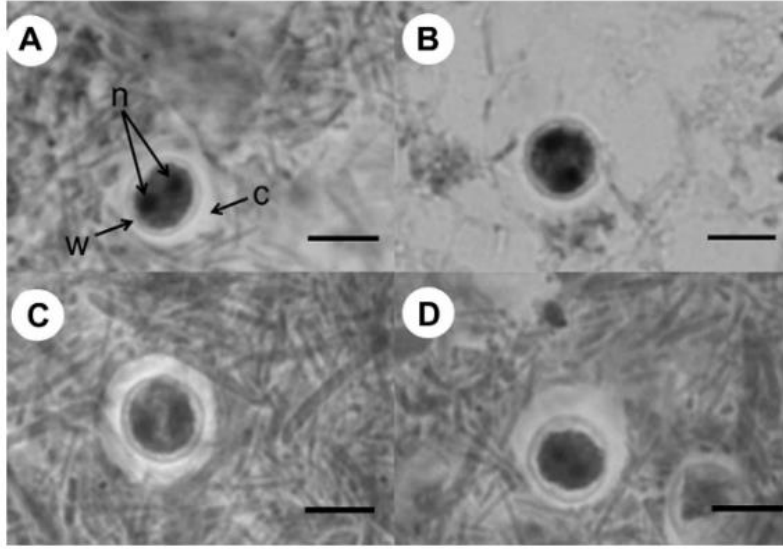
2.3.2. Prekist

Dientamoeba fragilis'in prekist formunun insandan elde edilen örneklerde gösterildiği bildirilmektedir (Stark ve ark, 2014). Prekist formu 3,5- 5 µm büyüklüğünde, bir veya iki çekirdekli, ince granülleri olan homojen bir sitoplazmadan oluşmaktadır. Bu özelliklerin parazitin olumsuz çevre şartlarına direncini artırmayı sağladığı düşünülse de prekist formunun bulaştırıcı olduğu kanıtlanamamıştır. *Dientamoeba fragilis*'in prekist formu kist formuna oranla daha sık görülmekte olup klinik örneklerin yaklaşık %5'inde saptandığı bildirilmektedir (Stark ve ark, 2014).

2.3.3. Kist

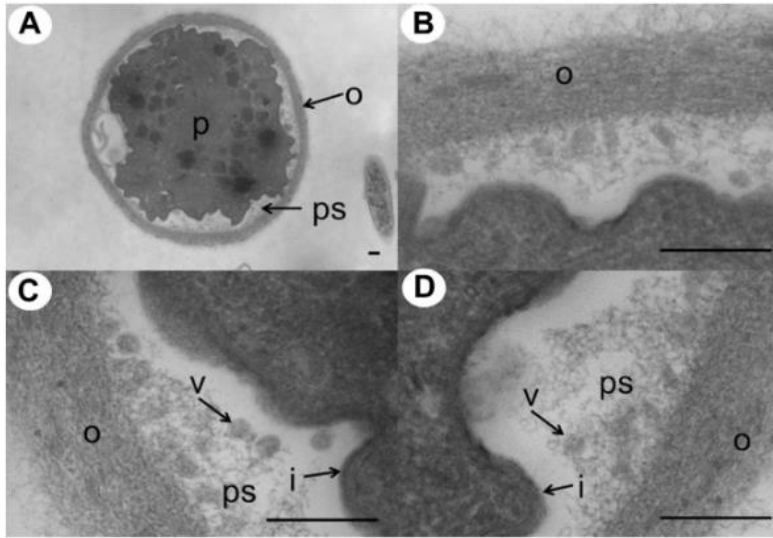
Kist formu, parazitin tanımlandığı ilk yıllardan günümüze kadar tartışılan bir konu olmuştur ve son yıllarda bu konu üzerine yapılan araştırmalar yoğunlaşmıştır. Parazitin 2014 yılına kadar kist formunun sadece konak hayvanlarda olduğu düşünülmekte olsa da 1923, 1928 ve 1948 yıllarında yapılan farklı çalışmalarda parazitin kist formundan bahsedilmiş fakat kist formu için yeterli kanıt gösterilemediği bildirilmiştir (Garcia, 2016).

Dientamoeba fragilis kist formunun ilk kez 2013 yılında fare modeli ile yapılan bir çalışmada saptandığı (Resim 1) bildirilmiştir (Munasinghe ve ark, 2013). Daha sonra, iki farklı ülkede (ABD, Avustralya) enfekte insan dışkısında *D. fragilis* kist formunun görüldüğü rapor edilmiştir (Stark ve ark, 2014). Kist formunun elektron mikroskopisi ile incelenmesi sonucunda aksostil, flagellar aksonemler ve kostayı içeren organellerin görüldüğü belirtilmektedir (Resim 2).



Resim 1. Enfekte farelerin dışkıсында bulunan *D. fragilis* kistlerinin demir hemotoksilen boyası ile incelenmesi

(A) İki çekirdekli kist (n) Kist duvarı (w) ve kist etrafındaki açıklık (c). (B, C ve D) Farelerin dışkıсында bulunan *D. fragilis* kistleri. Ölçek: 5 µm (Munasinghe ve ark, 2013).



Resim 2. *Dientamoeba fragilis* kistlerinin elektron mikroskopundaki görüntüleri

(A) Kist duvarı (o), peritrofik boşluk (ps) parazit (p). (B) Fibrilden yoğun dış kist duvarı (o) ince katmanlı fibril örgüsü. (C) Paraziti saran kist duvarı, çift katmanlı iç zar(i), dış kist duvarının altına saçılan peritrofik boşluk (ps) ve Encystation Spesifik Vezikülleri (v). (D) Peritrofik boşluk (ps) boyunca dağılmış çift zara bağlı Encystation Spesifik Veziküller (v), Kist duvarının iç zarı (i). Ölçek: 200 nm. (Munasinghe ve ark, 2013).

Flagellar bileşenlerinin sadece kist aşamasında saptanıp trofozoit formunda gözlenmemesi, *D. fragilis*'in kamçısını kaybederek ameobik bir görünüm ve hareket tarzına uyum sağlayarak bağırsaktaki yaşama adapte olduğu önerisini desteklediği bildirilmektedir (Windsor ve Johnson, 1999; Stark ve ark. 2014). Kist ve prekist aşamalarının saptanmasının son derece zor olduğu ve diğer protozoonlar ile karşılaştırıldığında kist atılımının oldukça nadir olduğu belirtilmektedir (Stark ve ark, 2014). Kist formunun ayrı bir kist duvarına sahip olduğu ve kist ile arasında boş bir alanın bulunduğu bildirilmektedir. Nükleer yapının trofozoit formu ile aynı yapıda olduğu, kist yapısında görülen tüm parazitlerin iki çekirdek içerdiği ve bu çekirdeklerin dayanıksız bir nükleer zar ile çevrili büyük bir merkezi karyozoma sahip olduğu ifade edilmektedir. Nükleer membran üzerinde kromatin taneciklerinin olmadığı bildirilirken tarif edilen bu kist yapılarının çok nadir olarak saptanabildiği özellikle vurgulanmaktadır (Munasinghe ve ark, 2013; Stark ve ark, 2014).

2.4. *Dientamoeba fragilis*'in Genotiplendirilmesi

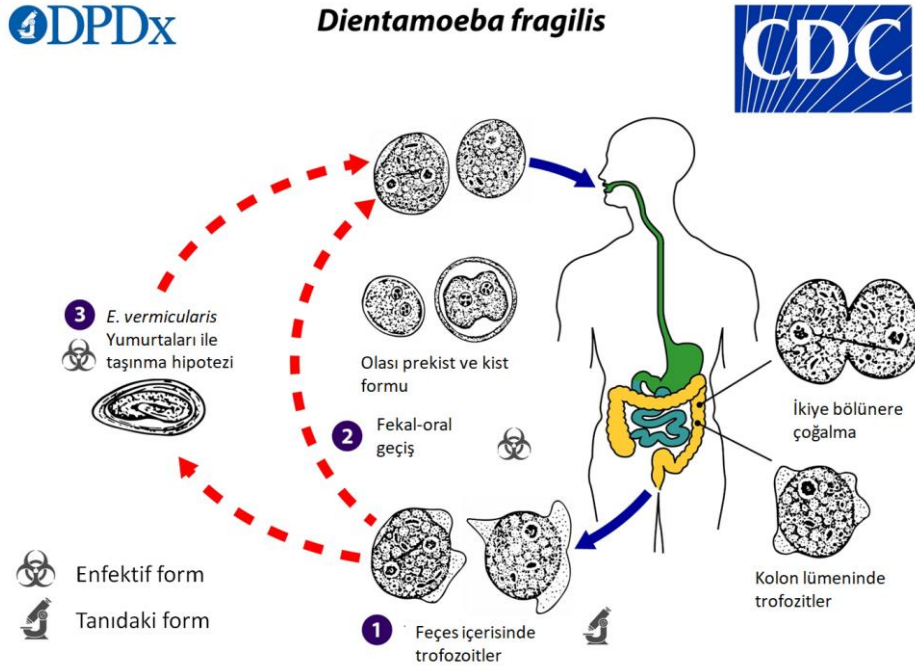
Güncel çalışmalara göre *D. fragilis*'in genotip 1 ve genotip 2 olmak üzere iki genotipinin saptandığı ve genotip 1'in daha sık olarak görüldüğü belirtilmektedir (Johnson ve ark, 2004; Windsor ve ark, 2004). Yapılan ilk çalışmalarda genotipler arasındaki ayırım 18S rRNA dizilerine göre belirlenmiş ve genotipler arasında minör farklılıkların olduğu bildirilmiş, daha sonra gerçekleştirilen çalışmada ise, iki genotipin karşılaştırılması aktin ve elongasyon faktör 1 α geni kullanılarak yapılmış ve aradaki farkın önceki çalışmalardakine benzer şekilde minimal olduğu (%3) ifade edilmiştir (Stensvold ve ark, 2013). Ayrıca, iki genotip arasında bulunan küçük farklılıklar, genotiplerin birbirinden yakın zamanda ayrıldığı fikrini ortaya çıkarmıştır (Stensvold ve ark, 2013). Günümüze kadar, *D. fragilis*'e ait az sayıda gen ve izolat incelenmiş ve buna göre parazitin genetik çeşitliliğinin sınırlı olduğu bildirilmiştir (Stark ve ark, 2016). Bunun yanında, henüz çalışılmamış gen bölgelerinin genetik farklılıkların kaynağı olabileceğini belirten görüşler de mevcuttur (Barratt ve ark, 2010). Barrat ve ark (2010) çeşitli klinik semptomları olan olgulardan izole edilen *D. fragilis* izolatlarında değişik fenotip özellikleri tanımlamış ve bunun genetik bazlı farklılıklara bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca, tüm *D. fragilis* izolatlarının genotip 1 olduğu belirlenmiş ve bu nedenle genetik çeşitliliğin çalışılmayan gen bölgelerine ait olabileceğini ifade etmişlerdir (Barratt ve ark, 2010).

Hayvanları enfekte eden *D. fragilis* suşları ile insanlardaki enfeksiyondan sorumlu suşların birbirinden farklı olabileceği belirtilmektedir. Caccio ve ark (2012) SSU rRNA geninden elde ettikleri PCR ürünlerinin dizilemesini takiben elde ettikleri sekiz tek nükleotid polimorfizmi'ne (SNP's) dayanan çalışmada, *D. fragilis*'in iki farklı tipini tanımladıklarını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, elde edilen iki genotip arasında farklılığın çok az olması nedeniyle parazitlerin hala *D. fragilis* genotip 1'e ait olduğu belirtilmiştir (Caccio ve ark, 2012). Yapılan bu çalışma da diğer benzer çalışmalar gibi *D. fragilis* izolatlarının SSU rRNA genlerinde çok az çeşitlilik olduğunu göstermiştir (Stensvold ve ark, 2013). Gerçekleştirilecek yeni çalışmaların diğer genlerin incelenmesini de içermesi gerektiği belirtilmektedir (Stark ve ark, 2016). Birçok enterik protozoa, morfolojik farklılıklar olmamasına rağmen, rRNA genleri dışındaki genlerde geniş bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Başlangıçta tek bir tür olduğu düşünülen birçok protozoanın daha sonra iki veya daha fazla yeni tür içerdiği görülmüştür. *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*) ve *Entamoeba dispar* (*E. dispar*)'ın bu konuya verilebilecek güzel bir örnek olduğu bilinmektedir. Bu organizmalar morfolojik olarak ve SSU rRNA gen lokuslarında dikkate değer bir farklılık içermemekle birlikte çalışılan farklı gen bölgeleri bu iki parazitin farklı türler olduğunu göstermiştir (Willhoeft ve ark, 1999; Diamond ve Clark, 1993). *Entamoeba dispar*'ın tanımlanmasına kadar geçen uzun süre boyunca patojen olan *E. histolytica*'nın asemptomatik taşıyıcılığı olduğu varsayılmış fakat *E. dispar*'ın tanımlanmasının ardından asemptomatik olgularda saptanan parazitin *E. histolytica* olmadığı anlaşılmıştır (Diamond ve Clark, 1993). Aynı durum *D. fragilis* için henüz ispatlanamamıştır. *Dientamoeba fragilis*'in semptomatik olguların yanı sıra sağlıklı olgularda da yüksek oranlarda saptanması nedeniyle, parazitin başka alt türlerinin olabileceği düşünülmektedir (Stark ve ark, 2016).

2.5. Yaşam Döngüsü ve Bulaş

Dientamoeba fragilis'in yaşam döngüsü günümüze kadar net olarak belirlenememiştir. Yakın tarihli araştırmalara kadar *D. fragilis*'in kist formunun saptanamaması nedeni ile bulaşın *Enterobius vermicularis* ve *Ascaris lumbricoides* gibi helmint yumurtalarında kendini koruyan trofozitler yoluyla olduğu belirtilmiştir. Yapılan araştırmalarda prekist ve kist formlarının tanımlanmış olması, *D. fragilis*'in bulaşında farklı mekanizmaların olabileceği düşüncesini de beraberinde getirmiştir. Ayrıca, insan örneklerinde nadir olarak görülmekte olsalar da parazitin kist ve prekist yapılarının potansiyel su kaynaklı bulaşa rol

oynayabileceği düşünülmekte ve bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bildirilmektedir (Garcia, 2016).



Şekil 2. *Dientamoeba fragilis* yaşam döngüsü

(<https://www.cdc.gov/dpdx/dientamoeba/index.html> adresinden 12.09.2019 tarihinde erişilmiştir)

Histomonas meleagridis'in helmint yumurtalarıyla bulaştığının bilinmesi birçok açıdan benzerlikleri olan bu iki parazitin bulaş şekillerinin de benzer olabileceği fikrini beraberinde getirmiştir (Barratt ve ark, 2011b). Her ne kadar bu fikri destekleyen birçok araştırma bildirilmiş olsa da, helmintler ile *D. fragilis* enfeksiyonları arasında bir ilişki olmadığını savunan araştırmalar da bulunmaktadır (Garcia, 2016; Stark ve ark, 2016). Tüm veriler gözden geçirildiğinde *D. fragilis*, *E. vermicularis* yumurtalarının içinde taşıyor olsa bile, bulaş için bu birlikteliğin zorunlu olup olmadığı halen tartışmalı bir konu olmaya devam etmektedir (Garcia, 2016). Yapılan bir çalışmada *D. fragilis* DNA'sının *E. vermicularis* yumurtalarının sterilize edilmiş yüzeyinde ve yumurta içerisinde saptanmasının, *D. fragilis* bulaşında *E. vermicularis*'in rolü olduğu hipotezini desteklediği belirtilmektedir (Ogren ve ark, 2013). Bununla birlikte, yumurtaların içindeki *D. fragilis* DNA'sının, canlı parazit varlığının doğrulanması anlamına gelmediği ifade edilmektedir (Clark ve ark, 2014).

2.6. Epidemiyoloji

Tanımlandığı günden günümüze kadar tüm kıtalarda varlığı rapor edilmiş olan *Dientamoeba fragilis*'in prevalansı kullanılan tanı yöntemlerine bağlı olarak %0,4 ile %82,9 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir. Genellikle bağırsak protozoonları için gözlenmeyen bir durum olmasına rağmen parazitin gelişmiş ülkelerde daha sık görüldüğü belirtilmektedir (Barratt ve ark, 2011a; Windsor ve Johnson, 1999; Preiss ve ark, 1990). Parazitin tanımlanmasından kısa bir süre sonra patojen olabileceği yönündeki bulgular dünya genelinde *D. fragilis*'e karşı olan ilginin artmasına neden olmuş ve parazit ile ilgili bulguların tüm dünyada raporlanmasını sağlamıştır (Stark ve ark, 2016).

Amerika Birleşik Devletleri'nde kreşlerdeki çocukların ve personelin yer aldığı bir çalışmada *D. fragilis*'in kreş çocuklarında %8,6, personelde ise %4 oranında saptandığı bildirilmiştir (Kestone ve ark, 1984). Yaş gruplarına göre *D. fragilis* varlığının araştırıldığı Hollanda'da yapılan bir çalışmada ise, parazitin en sık 5-14 yaş aralığında görüldüğü ve yaygınlığının %19,8 olarak saptandığı belirtilmiştir. Ayrıca, dientamoebiosisin çocukluk yaş grubunda sıklıkla semptomatik, erişkinlerde ise asemptomatik seyrettiği ortaya konmuştur (Stumpel ve ark, 2006).

Dünya genelinde *D. fragilis* prevalansını araştıran çalışmalar yayınlanma yılına göre eskiden yeniye olacak şekilde Tablo 1'de özetlenmiştir. Ancak, bu tablodan da anlaşılacağı üzere, yapılan çok sayıda prevalans çalışmasının verisi direkt mikroskopi gibi düşük duyarlılığa sahip yöntemler ile gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla *D. fragilis* görülme sıklığı aynı ülkelerde farklı zaman dilimlerinde yapılan çalışmalarda uygulanan yöntemlerin değişmesi ile oldukça değişken sonuçlar göstermektedir.

Tablo 1. Dünya genelinde *Dientamoeba fragilis* prevalansını bildiren çalışmalar

Ülke	İncelenen örnek sayısı	Yöntem	Yaygınlık (%)	Literatür
ABD	14.203	DM	2.4	Kean ve Malloch, 1966
İsrail	1.114	DM	20.1	Steinitz ve ark, 1970
Kanada	43,029	DM	4,2	Yang ve Scholten, 1977
Meksika	125	Kültür	9,6	Sargeaunt ve ark, 1980
Güney Afrika	94	Kültür	1,1	Sargeaunt ve ark, 1980
ABD	104	DM	21,1	Milet ve ark, 1983
Avustralya	125	DM	16,8	Walker ve ark, 1985
Endonezya	242	DM	21	Muller ve ark, 1987
Yeni Zellanda	1350	DM	3	Oxner ve ark, 1987
Almanya	123	DM	82,9	Preiss ve ark, 1990
Honduras	266	DM	3	Kaminsky, 1991
Dominik Cumhuriyeti	100	DM	2	Tavarez ve ark, 1991
Avustralya	260	Kültür	1,5	Sawangjaroen ve ark, 1993
Arjantin	82	DM	25,6	Mendez ve ark, 1994
ABD	87	DM	2,3	Meropol, 1995
Kanada	189	IFA	91	Chan ve ark, 1996
Umman	857	DM	5,1	Windsor ve ark, 1998
Tunus	27,053	DM	5,5	Ayadi ve Bahri, 1999
Brezilya	34	DM	3	Lainson ve Silva, 1999
İtalya	151	DM	11,3	Crotti ve D'Annibale, 2001
Avustralya	6750	DM	0,9	Stark ve ark, 2005a
Belçika	448	DM	6,3	Vandenberg ve ark, 2006
İtalya	3,139	DM	3,7	Crotti ve ark, 2007
Libya	352	DM	2	Kassem ve ark, 2007
Arjantin	112	DM	2,7	Menghi ve ark, 2007
Mısır	168	Kültür	29,8	Rayan ve ark, 2007

(Tablo 1. Devam)

Avustralya	622	DM	1,1	Stark ve ark, 2007b
Danimarka	103	DM	11,7	Stensvold ve ark, 2007
Hollanda	397	DM, PZR	32	Bruijnesteijn ve ark, 2009
İngiliz Adaları	3719	DM	14,6	Schuster ve Jackson, 2009
İtalya	491	qPZR	21,4	Calderaro ve ark, 2010
İtalya	1503	Giensa	0,9	Guidetti ve ark, 2010
Pakistan	171	PZR	4	Yakoob ve ark, 2010
ABD	2604	Trikrom	0,4	Church ve ark, 2010
İspanya	8313	Modifiye Ziehl-Neelsen	1,6	Gonzales ve ark, 2011
Hollanda	220	DM	23	Gijsbers ve ark, 2011
Tunus	8502	DM	15,5	Siala ve ark, 2011
ABD	1042	Wheatley'in modifiye Trikrom Yöntemi	5	Staat ve ark, 2011
Brezilya	82	Demir Hemotoksilen	1,2	Garcia ve Cimerman, 2012
Meksika	45	PZR	26,7	Jimenez ve ark, 2012
Hollanda	163	Multipleks qPZR	62	Maas ve ark, 2013
Danimarka	22000	qPZR	2,3	Roser ve ark, 2013
İran	1000	Nested PZR	2,3	Sarafraz ve ark, 2013
İtalya	491	qPZR	30,3	Calderaro ve ark, 2014
İsveç	299	qPZR	60	Ögren ve ark, 2015
Portekiz	176	qPZR	6,3	Julio ve ark, 2015
Brezilya	88	PZR	21,6	David ve ark, 2015
Lübnan	249	qPZR	60,6	Osman ve ark, 2016
Hollanda	107	qPZR	55,1	Holtman ve ark, 2017
Avustralya	892	PZR	18,2	Menendez ve ark, 2019

Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise *Dientamoeba fragilis* prevalansını %0,2 ile %9 arasında değişen oranlarda bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Cengiz ve ark, 2009; Gülmez ve ark, 2013). Ülkemizde *D. fragilis* sıklığının araştırıldığı çalışmaların bir kısmı Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Türkiyedeki *Dientamoeba fragilis* prevalansını bildiren çalışmalar

Ülke	İncelenen örnek sayısı	Yöntem	Yaygınlık (%)	Literatür
Türkiye	400	DM	8,8	Girginkardeşler ve ark, 2003
Türkiye	241	DM	0,82	Karaman ve ark, 2006
Türkiye	770	DM	2,7	Özçakır ve ark, 2007
Türkiye	2975	DM	0,2	Cengiz ve ark, 2009
Türkiye	292	PZR	18,2	Yalçın ve ark, 2010
Türkiye	2443	NL, Modifiye Trikrom	0,9	Karaman ve ark, 2011
Türkiye	1181	NL, Trikrom, Asit fast	0,6	Çalık ve ark, 2011
Türkiye	225	Modifiye Ehrlich Ziehl-Neelsen Yöntemi	1,3	Doğan ve ark, 2012
Türkiye	85707	DM	9	Gülmez ve ark, 2013
Türkiye	285	Trikrom, Kültür	0	Mumcuoğlu ve ark, 2013
Türkiye	121	Trikrom, PZR	10,7	Sivcan ve ark, 2018

2.7. Patogenez ve Klinik

Dientamoeba fragilis, tanımlandığı ilk günden beri, patojenitesi hakkındaki tartışmalar devam etmekte olan bir protozoondur. Başlangıçta patojenik olmadığı düşünülen parazitin klinik önemini aydınlatmak için birçok çalışma yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir (Stark ve ark, 2006a). Bu konudaki farklı görüşlere rağmen parazitin patojenitesi hakkında yetersiz kalan veriler, *D. fragilis*'in ihmal edilmiş etkenlerden birisi olarak kalmasında en önemli faktör olarak görülmektedir (Johnson ve ark, 2004). *Dientamoeba fragilis*'in patojenik olmayan bir amip olarak tanımlanmasından (Jepps ve Dobell, 1918) çok kısa bir süre sonra, araştırmacılar tarafından organizmanın patojenik yapısına ilişkin varsayımlar sorgulanmaya başlanmıştır. Filipinler'de parazitin tanımlanmasından bir yıldan kısa bir süre sonra 1919'da yapılan bir çalışmada, 100 semptomatik çocukta üç *D. fragilis* saptandığı bildirilmiştir (Haughwout ve Horrilleno, 1920). Dobell, bir askeri hastanede 971 semptomatik askerden 10'unda *D. fragilis* varlığını açıklamıştır (Dobell, 1940). *Dientamoeba fragilis*'in patojenitesine yönelik erken tarihli bu çalışmaları takiben parazite olan ilgi artmış ve 1924 yılında *D. fragilis* dünya çapında potansiyel bir patojen olarak bildirilmiştir (Taliaferro ve Becker, 1924). Parazitin erken tarihindeki yapılan çalışmalarda elde edilen bulguları desteklemek için, sonraki 75 yıl boyunca yapılan çok sayıda çalışma *D. fragilis*'in patojenik potansiyelini göstermiştir. Parazitin ishal, karın ağrısı, gaz ve diğer gastrointestinal semptomlar ile ilişkili yaygın görülen enteropatojen olduğu vurgulanmıştır (Windsor ve Macfarlane, 2005; Stark ve ark, 2010). Ayrıca parazitin kolonda yaptığı irritasyonun enflamatuvar yanıtı tetikleyerek fibrozise neden olduğu belirtilmektedir (Stark, 2012).

Çalışmalar, dientamoebiasisin irritabl barsak sendromuna (IBS) benzer semptomlara neden olabileceğini ortaya koymaktadır (Stark ve ark, 2007a). Avustralya'da irritabl bağırsak sendromu (IBS) ve eşzamanlı *D. fragilis* tanısı alan 21 olguya iyodokinol ve doksisisiklin tedavisi uygulandığı, parazitlerin tedavisinden sonra olguların kliniklerinde düzelme sağlandığı belirtilmiştir (Borody ve ark, 2002).

2.8. Tanı Yöntemleri

Dientamoeba fragilis'in keşfinden bu yana geçen yaklaşık 100 yıllık süre zarfı içerisinde bu parazit ile enfeksiyonun teşhisinde kullanılan tekniklerde yavaş bir ilerleme

olmuştur. Parazitin tanısında trikrom boyama ve hemotoksilen boyama gibi kalıcı boyama yöntemleri halen en sık kullanılan tanı yöntemleridir (Barratt ve ark, 2011b). Bununla birlikte PZR ve Gerçek Zamanlı PZR gibi yeni moleküler tanı yaklaşımlarının, klinik teşhis laboratuvarları ve bilimsel araştırmalar için tercih edilen yöntemler haline gelmesine rağmen, bu testlerin çoğu tanısal laboratuvar tarafından rutin olarak kullanılmamaktadır (Stark ve ark, 2016).

2.8.1. Mikroskopik Tanı Yöntemleri

Dientamoeba fragilis'in tanısında sıklıkla kalıcı boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Boyama yapılmadan incelenen taze dışkı örneklerinde parazitin morfolojik yapısının ayırt edilmesi olanaksızdır. Sıklıkla trikrom ve demir hemotoksilen boyama yöntemleri kullanılarak araştırılan parazit, genellikle iki ve daha nadir olarak tek çekirdekli formunun görülmesiyle saptanmaktadır. Parazitin dış ortam koşullarına karşı son derece dayanıksız yapısı nedeniyle dışkı incelemesinin yarım saat içerisinde yapılması gerekmektedir. Hızlı inceleme yapılmasının mümkün olmadığı şartlarda incelenecek dışkıya uygun bir fiksatif içerisinde bekletilmesi önerilmektedir (Stark ve ark, 2006a; Johnson ve ark, 2004; Van Gool ve ark, 2003). Kullanılacak fiksatifin yapılacak boya yöntemine göre seçilmesi parazitin morfolojik yapısının net bir şekilde görülebilmesi açısından önem arz etmektedir. Trikrom boyama yönteminde polivinil alkol (PVA) veya Schaudinn, demir-hematoksilen boyama yönteminde ise sodyum asetat-asetik asit-formol (SAF) fiksatif olarak en iyi tercihler olarak gösterilmektedir (Johnson ve ark, 2004; Keystone ve ark, 1984).

Taze dışkı örnekleriyle direkt mikroskopi altında *D. fragilis*, her hangi bir özelliği olmayan yuvarlak bir cisim olarak görülmektedir ve parazitin tanınması salin içerisinde veya iyot içeren çözeltilerle karıştırılması ile de mümkün olmamaktadır (Windsor ve Rafay, 1997). Bunun en önemli sebebi parazitin hızlı şekilde dejenere olması ve kendine özgü yapısını kaybetmesi olup bu nedenle incelenecek örneğin hızlı bir şekilde sabitlenmesi gerektiği bildirilmektedir (Yang ve Scholten, 1977). *Dientamoeba fragilis* tanısında başarılı sonuçlar veren birçok farklı boya ve fiksatif mevcuttur. En yaygın olarak kullanılan fiksatifler Schaudinn fiksatifi, SAF, Fenol alkol-formalin, merthiolat, iyot-formol ve civa bazlı bileşiklerden oluşmaktadır (Yang ve Scholten, 1977; Burrows, 1967; Walker ve ark, 1985). Boyama yöntemlerinde en sık kullanılan iki yöntem olan trikrom boyama ve demir hemotoksilen boyama yöntemlerine ek olarak Mayer'in hemalum solüsyonu ve Lawless

boyama yöntemi gibi alternatif birçok yöntem de bulunmaktadır (Johnson ve Windsor, 2004). Yapılan çalışmalarda kullanılan boyama yöntemleri ve fiksatiflerin birbirlerine karşı bazı avantaj ve dezavantajlarından bahsedilmekle birlikte, çoğu çalışmada kalıcı boyama yöntemlerinde çok sayıda personele ve deneyimli bir göze ihtiyaç duyulması önemli bir sorun olarak dile getirilmektedir (Stark ve ark 2016).

Diğer enterik protozoalarda olduğu gibi, *D. fragilis* trofozoitleri de aralıklı olarak atılmaktadır (van Gool ve ark, 2003). Bu durum doğru tanı için birden fazla dışkı örneğinin farklı zamanlarda incelenmesini gerektirmektedir. Hiatt ve ark (1995) olgularda tek bir dışkı örneğinin birden fazla örneğe kıyasla duyarlılığını incelemiş, birden fazla dışkı örneği toplamanın, *D. fragilis* için pozitif sonuç yüzdesini % 31,1 oranında arttırdığını bildirmişlerdir. Bu veriler ışığında semptomatik olgularda, tek bir dışkı örneğiyle inceleme yapılmasının çok sayıda *D. fragilis* enfeksiyonunun atlanmasıyla sonuçlanacağını ortaya koymuşlardır (Hiatt ve ark, 1995).

2.8.2 Kültür

Dientamoeba fragilis tanısında parazit kültür teknikleri uzun süredir kullanılmaktadır. Boeck-Drbohlav, Robinson, Dobell-Laidlaw, Balamuth ve TYGM-9 dahil olmak üzere bir çok besiyeri parazitin tanısı için kullanılmaktadır (Boeck ve Drbohlav, 1925; Cleveland ve Collier, 1930; Balamuth, 1946; Robinson, 1968; Diamond, 1982).

Barratt ve ark (2010) yaptıkları geniş kapsamlı bir çalışmada, modifiye Boeck-Drbohlav kültürü, TYGM-9, modifiye Loeffler besiyeri, Robinson besiyeri, kültür 199, Trichosel ve Tritrikomonas fetus ortamı gibi çeşitli kültür ortamlarının farklı sıcaklık ve farklı atmosferik koşullar altında *D. fragilis* üremesi üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. İki fazlı Loeffler besiyerinin mikroaerofilik ortamda, *D. fragilis*'in üremesi için en uygun kombinasyon olduğu bu çalışmayla bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada parazitin üremesinde en uygun sıcaklığın 42 °C olduğu belirtilmiştir. Munasinghe ve ark (2012) elde edilen bu kombinasyonu geliştirmek amacıyla besiyerini kolesterol, lipit ve demir yönünden zenginleştirerek farklı denemelerde bulunmuş ve Loeffler besiyeri ile birlikte kolesterol ve ferrik amonyum sitrat takviye edilmiş Earle'nin stabil tuz çözeltisinden oluşan yeni bir sıvı katman kullanıldığında, yetiştirilen trofozoitlerin sayısında Barratt ve ark (2010) tarafından tarif edilen orijinal Loeffler besiyerine kıyasla iki kat artışın gözlemlendiği ifade edilmiştir (Munasinghe ve ark, 2012).

Kalıcı boyama yöntemlerine kıyasla, birçok çalışmada kültür tekniklerinin parazitin tanısında daha duyarlı olduğu belirtilmiştir. Sawangjaroen ve ark (1993) dientamoebiasis tanısı için kültürün mikroskopiden anlamlı derecede daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bir çalışmada geleneksel mikroskopi teknikleriyle modifiye Robinson besiyeri tanısal duyarlılık açısından karşılaştırılmış, Robinson besiyerinin *D. fragilis* saptama oranında çok daha başarılı olduğu ortaya konmuştur (Windsor ve ark, 2003). Stark ve ark (2016) mikroskopi ile iki ksenik kültür yöntemini parazitin tanısındaki duyarlılıkları açısından karşılaştırmış ve Modifiye Boeck-Drbohlav besiyerinin mikroskopiden daha üstün olduğunu fakat TGYM-9 ortamının mikroskopiden daha az duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

2.8.3. İmmünolojik Testler

Ticari olarak temin edilebilen monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan immunofloresan mikroskopi, çeşitli firmaların ürettiği enzim immünoassay (EIA) ve immünokromatografik testler (ICT) dışkı örneklerinde *Cryptosporidium*, *Giardia intestinalis* ve *Entamoeba histolytica* antijenlerinin tespiti için uzun zamandır kullanılmaktadır. *Dientamoeba fragilis* için ise bu tür testler ticari olarak temin edilememektedir (McHardy ve ark, 2014). Bunun gibi hızlı, kolay ve güvenilir testlerin *D. fragilis* tanısı için geliştirilmesi, daha fazla laboratuvar tarafından rutin uygulanmasını teşvik edebileceği belirtilmektedir (Stark ve ark, 2016).

Chan ve ark (1993), saklanmış dışkı örneklerinde *D. fragilis*'i tespit etmek amacıyla indirekt floresan-antikor deneyi yapmışlardır. Toplam 155 örnek üzerinde uygulanan testin sonucunda, 42 örnekte herhangi bir parazite rastlanmadığı, 104'ünde çeşitli protozoaların tespit edildiği ve bunların dokuzunun *D. fragilis* olduğu belirtilmiştir. Dokuz pozitif örnekten ikisinin şüpheli sonuç olmasına rağmen, yanlış pozitif ve diğer protozoalarla çapraz reaksiyon oluşmadığı vurgulanmıştır. Çalışmanın tasarlayıcıları şüpheli iki sonucun örneklerdeki düşük sayıdaki trofozoitlerden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır. Bu çalışmanın immünolojik testler gibi diğer tanısal testlerin de bu parazit için geliştirilebileceği konusunda ümit verdiği ifade edilmiştir (Chan ve ark, 1993).

2.8.4. Moleküler Tanı Yöntemleri

Günümüzde moleküler biyoloji teknikleri mikroskopi gibi geleneksel yöntemlere tanınasal bir alternatif sunmaktadır. *Dientamoeba fragilis*'in çoğu çalışmada semptomatik ajan olarak tanımlanması ve kronik enfeksiyonların oluşma potansiyeli göz önüne alındığında spesifik bir tedavi gerektirdiğinden, hastalık ile mücadele için doğru ve hızlı tanının önemi bir kez daha ortaya çıkmaktadır. Mevcut PZR teknikleri, *D. fragilis*'in doğrudan klinik numunelerden hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağlamak ve sonuçlar birkaç saat içinde alınabilmektedir. Bu PZR teknikleri, klinik örneklerden çeşitli protozoan parazitlerinin tespiti için kullanılmakta ve kullanılmaya devam edilmektedir (McHardy ve ark,2014). Günümüzde *D. fragilis* tanısında kullanılmak üzere çeşitli primerler mevcut olup bu primerlerin bir kısmı özet olarak Tablo 3'de verilmiştir. Ticari olarak temin edilebilir testlerin bir listesi ise Tablo 4'de verilmiştir. Ticari olarak ulaşılabilir kitlerin ABD'de FDA onayı bulunmamaktadır.

Dientamoeba fragilis saptanması amacıyla geliştirilen ilk PZR yöntemi Peek ve ark. (2004) tarafından bildirilmiştir. Geliştirilen bu testin analitik tespit sınırı reaksiyon başına ~0,1 *Dientamoeba fragilis* trofozoiti olarak belirtilmiş olmasına rağmen testin klinik duyarlılığı ve özgüllüğünün saptanamadığı ifade edilmektedir (Peek ve ark, 2004). Stark ve ark (2006) *D. fragilis* SSU rRNA genini temel alan bir başka klasik PZR ve Gerçek Zamanlı PZR tekniği geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Geliştirilen bu tekniğin duyarlılığını saptamak amacıyla SSU rRNA geni klonlanarak çoğaltılmıştır. Ayrıca tanı için gerekli limitlerin klasik PZR için ~100 plazmid kopyası (~1 *D. fragilis* trofozoiti) ve Gerçek Zamanlı PZR için ise SSU rRNA geninin bir plazmid kopyası (~0,01 *D. fragilis* trofozoiti) olduğu ifade edilmiştir. Geliştirilen iki PZR tekniği ile mikroskopi sonuçları karşılaştırıldığında, moleküler yöntemlerin ikisinde özgüllüğünün %100, klasik PZR duyarlılığının %89,9 ve Gerçek Zamanlı PZR duyarlılığının ise %100 olarak hesaplanmıştır (Stark ve ark, 2006b). Gerçek Zamanlı PZR'ye ek olarak, literatürde bu testin bir tamamlayıcısı ya da *D. fragilis*'in klinik araştırmalarda doğrulanması amacıyla alternatif olarak birkaç Nested PZR analizi de bildirilmiştir (David ve ark, 2015, Sarafaz ve ark, 2013).

Tablo 3. *Dientamoeba fragilis* tanısında kullanılan PZR testleri

Yöntem	Hedef Bölge	Amplikon Büyüklüğü	Primer / Prob	Sekans (5'-3')	Kaynak
PZR	18S rRNA	1.7 kb	TRD5 ^a TRD3 ^a	F-GATACTTGGTTGATCCTGCCAAGG R-GATCCAACGGCAGGTTACCTACC	Stark ve ark, 2005b
PZR	18S rRNA	850 bp	DF400 DF1250	F-TATCGGAGGTGGTAATGACC R-CATCTTCCTCCTGCTTAGACG	Stark ve ark, 2005b
PZR	18S rRNA	364 bp	DFpn_1f DFpn_364r	5'-GCCAAGGAAGCACACTATGG-3' 5'-GTAAGTTTCGCGCCTGCT-3'	Roser ve ark, 2013
PZR	18S rRNA	662 bp	DF1 DF4	5'-CTCATAATCTACTTGGAACCAATT-3' 5'-CCCCGATTATTCTCTTTGATATT-3'	Vandenberg ve ark, 2006
PZR	ITS1-5.8S	300 bp	Ssu2 1su1	5'-GGAATCCCTTGTAATGCGT-3' 5'-AGTTCAGCGGGTCTTCCTG-3'	Bart ve ark, 2008
PZR	ITS1	300 bp	Ssu2 5.8s1	5'-GGAATCCCTTGTAATGCGT-3' 5'-TGTGAGGAGCCAAGACATCC-3'	Bart ve ark, 2008
Nested PZR	18S rRNA	662 bp	DF1 ^b DF4 ^b	5'-CTCATAATCTACTTGGAACCAATT-3' 5'-CCCCGATTATTCTCTTTGATATT-3'	Caccio ve ark, 2012
Nested PZR	18S rRNA	366 bp	DF322For ^c DF687Rev ^c	5'-GAGAAGGCGCCTGAGAGATA-3' 5'-TTCATACTGCGCTAAATCATT-3'	Caccio ve ark, 2012
Nested PZR	18S rRNA	850 bp	DF400 DF1250	5'-TATCGGAGGTGGTAATGACC-3' 5'-CCAACGGCCATGCACCACC-3'	Sarafraz ve ark, 2013
Nested PZR	18S rRNA	403 bp	DF2 ^c DFR2 ^c	5'-CGGGGATAGATCTATTTTCATGGC-3' 5'-CCAACGGCCATGCACCACC-3'	Sarafraz ve ark, 2013
Nested PZR	ITS1	540 bp	Ssu2 ^b DF-ITSREV ^b	5'-GGAATCCCTTGTAATGCGT-3' 5'-GCGGGTCTTCTATATAAACAAGAACC-3'	Caccio ve ark, 2012
Nested PZR	ITS1	380 bp	Df-ITSnesFor ^c ITSnesRev ^c	5'-ATACGTCCCTGCCCTTTGTA-3' 5'-GCAATGTGCATTCAAAGATCGAAC-3'	Caccio ve ark, 2012
qPZR	18S rRNA	78 bp	DF3 DF4	5'-GTTGAATACGTCCCTGCCCTTT-3' 5'-TGATCCAATGATTTACCCGAGTCA-3'	Stark ve ark, 2016
qPZR	18S rRNA	101 bp	TaqMan Probe 5DMB 3DMB TaqMan Probe	5'-FAM-CACACCGCCCGTCGCTCCTACCG-TAMRA-3' 5'-GGCGAAAGCATCTATCAAGTGTAAT-3' 5'-CGGCATCGTTTAAGGTAGGAAC-3' 5'-FAM-CCCGGGTCTCTGATCCGGTTGGTAMRA-3'	De Canale ve ark, 2009

(Tablo 3. Devam)					
qPZR	18S rRNA	662 bp	DF1 DF4	5'-CTCATAATCTACTTGGAAACCAATT-3' 5'-CCCCGATTATTCTCTTTGATATT-3'	Hussein ve ark, 2009
qPZR	5.8S rRNA	98 bp	Df-124F Df-221R Df-172revT	5'-CAACTTGGCTCTTTA-3' 5'-TGCATTCAAAGATCGAACTTATCAC-3' 5'-FAM-CAATTCTAGCCGCTTAT-3'-MGB	Verweij ve ark, 2007

Tablo 4. *Dientamoeba fragilis* tanısında kullanılmak üzere ticari olarak temin edilebilir PZR kitleri

Test	Yöntem	Hedef Bölge	Ticari Firma
Gastrointestinal parasite	Multiplex PZR	18S rRNA geni	AusDiagnostics
G-DiaFrag	Gerçek zamanlı PZR	5.8S rRNA geni	Diagenode
EasyScreen enteric parasite detection kit	Multiplex PZR	18S rRNA geni	Genetic Signatures
LightMixModular Dientamoeba	Gerçek zamanlı PZR	5.8S rRNA geni	Roche Diagnostics
Rida Gene <i>Dientamoeba fragilis</i>	Gerçek zamanlı PZR	18S rRNA geni	R-Biopharm

2.9. Tedavi ve Korunma

Dientamoeba fragilis patojenitesi hakkında kesin bir görüş birliği olmasa da yapılan birçok çalışmada parazitin tedavisi sonrasında olguların klinik semptomlarında iyileşme bildirilmiştir. Bu nedenle *D. fragilis* dışında başka bir etken saptanamayan klinik olgularda, parazite özgü tedavi önerilmektedir (Ito ve ark, 2004; Norberg ve ark, 2003; Girginkardeşler ve ark, 2003). *Dientamoeba fragilis* tedavisinde sıklıkla 5-nitroimidazol türevlerinden başta metronidazol olmak üzere ornidazol, tinidazol, secnidazol vb. kullanılmaktadır. Ayrıca diğer kimyasal ajanlardan eritromisin, karbarson, iyodokinol, kliokinol, diphetarson, doksisisiklin, oksetetrasiklin, paromomisin ve tetrasiklin'in de kullanılabileceği bildirilmektedir (Nagata ve ark, 2012). Bununla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bir örneklem büyüklüğü kullanılarak bu bileşiklerin etkinliği üzerine randomize kontrollü çalışmaların gerçekleştirilmediği, çoğunun vaka çalışmaları ile sınırlı kaldığı ve yeterli kontrol grubununun oluşturulmadığı ayrıca belirtilmiştir (Stark ve ark, 2016). *Dientamoeba fragilis* tedavisinde en sık kullanılan etken maddelerin tedavi başarı oranlarının ve önerilen günlük dozlarının bildirildiği çalışmalar Tablo 5'de özetlenmiştir.

Tablo 5. *Dientamoeba fragilis* tedavisinde kullanılan antiparaziter ajanlar

Antiparaziter etken madde	Tedavi dozu	Tedavi oranı (%)	Kaynak
Metronidazol	30mg/kg/gün (10 gün)	70	Preiss ve ark, 1990
Hidroksikinolin	20mg/kg/gün (10gün)	20	Preiss ve ark, 1990
Paramomisin	500m- Günde 3 defa (7 gün)	98	Van Hellemond ve ark, 2012
Tetrasiklin	30-40 mg/kg/gün(10gün)	90	Preiss ve ark, 1990
Secnidazol	30mg/kg/gün (çocuk) 2g/gün (yetişkin)	97	Girginkardeşler ve ark, 2003
Doksisisiklin	2mg/kg/gün (10gün)	75	Preiss ve ark, 1990
Ornidazol	30 mg/kg/gün (çocuk) 2g/gün (yetişkin)	92,9	Kurt ve ark, 208
Kliokinol	40mg/kg/gün (10-21 gün)	81,5	Bosman ve ark, 2004
Eritromisin	50mg/kg/gün (10gün)	50	Preiss ve ark, 1990
İyodokinol	650mg- Günde 3 defa (20gün)	83,3	Millet ve ark, 1983

Bulaş yolu ile ilgili farklı görüşler bildirilmesine rağmen *D. fragilis* bulaşında görüş birliğinin olduğu nokta parazitin fekal-oral yol ile insana bulaştığıdır. Parazit *E. vermicularis* yumurtaları veya kist formu ile insandan insana bulaşmakta ve bu durum parazitten korunma konusunda genel hijyen kurallarının geçerliliğini göstermektedir. Fekal-oral geçişli

enfeksiyon ajanlarından korunma da içme suyu ve kanalizasyon sorunlarının giderilmesi, insan dışkısının gübre olarak kullanımının önlenmesi, dışkuların gelişi güzel şekilde çevreye bırakılmasının engellenmesi, bu ajanlarla oluşabilecek ciddi salgınların önüne geçmek için son derece önemlidir. Kişisel korunma önlemleri arasında el temizliği parazit bulaşındaki en önemli aşama olmakla beraber kontamine yiyeceklerin yıkanması, toplu yaşam alanlarındaki genel temizlik ve sanitasyon kurallarına uyulması oldukça önemlidir. *Dientamoeba fragilis*'in bulaşında *E. vermicularis* yumurtalarının rolü olduğu da düşünülerek hareket edilmesi gerektiği vurgulanmakta ve bu nedenle özellikle kreş, okul, hastane vb. gibi çocukların yoğunlukta olduğu toplu yaşam alanlarında hijyen kurallarına uyulması, parazit bulaşı açısından gerekli önlemlerin alınması ve bu ortamları paylaşan insanlara gerekli eğitimlerin verilmesi gerektiği belirtilmektedir (Girginkardeşler ve Kurt, 2007).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmamızda iki farklı olgu grubu oluşturulmuştur. İlk grup *E. vermicularis* yumurtaları saptanan 74 olgudan, kontrol grubu ise *E. vermicularis* saptanmayan 74 olgudan oluşmaktadır. Olguların tümünden selofan bant örneği alınmış ve gaita örneklerinde kalıcı boyalı preparatlar hazırlanarak mikroskopta incelenmiştir. Ayrıca tüm örnekler PZR işlemi uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan gereçler ve uygulanan yöntemler bu bölümde ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

3.1. Olguların Seçilmesi ve Örneklerin Toplanması

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarına 1 Ekim 2017-1 Ekim 2018 tarihleri arasında gönderilen rutin dışkı ve selofanlı lam örnekleri çalışma kapsamında kullanılmıştır. Bu tarihlerde selofanlı lam örneklerinde *E. vermicularis* yumurtaları saptanan tüm gönüllü olguların rutin kapsamında laboratuvara gönderilen dışkı örnekleri çalışmaya alınmıştır. *Enterobius vermicularis* saptanan olgu sayısı kadar kontrol grubu oluşturulmuştur. Aynı tarihler arasında gelen 74 *E. vermicularis* negatif olgunun dışkı örneği, basit rastgele örnekleme yöntemiyle seçilmiştir. Çalışmaya alınacak olan dışkı örnekleri için olgulara ulaşılmış ve çalışmaya katılmak isteyip istemedikleri sorularak gönüllü olanlar bilgilendirilmiştir. Bu kişilere gönüllü olur formu imzalatılarak çalışmaya dahil edilmişlerdir. Gönüllü olgulara yaş, cinsiyet, yaşadıkları yer ve sahip oldukları semptomlar ile ilgili anket uygulanmıştır. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 24.08.2017 tarihinde 2017/1218 nolu kararı ile araştırma için etik kurul onayı alınmıştır (Ek 1)

3.2. Selofan Bant Örneklerinde Direkt Mikroskopi ile *Enterobius vermicularis* Araştırılması.

Bu aşamada rutin parazitolojik inceleme kapsamında hastalar, selofanlı lamlardaki bandın yapışkan kısmını açıp anüs bölgesine 5-6 kere değdirdikten sonra tekrar camın üzerine

yapıştırıp numune kabul birimine bırakmaktadırlar. Örnek alınması ile ilgili ayrıntılar numune kabul birimindeki görevli tarafından hastalara anlatılmaktadır. Bu örnekler direkt mikroskopi yöntemiyle ışık mikroskobu altında 10X büyütmede parazit yumurtaları varlığı açısından incelenmiştir.

3.3. Dışkı Örneklerinde Kalıcı Boyama ile *Dientamoeba fragilis* Araştırılması

Rutin parazitolojik inceleme kapsamında dışkı örnekleri, hastaya verilen şeffaf plastik dışkı kabına koyularak numune kabul birimine teslim edilmektedir. Örnekler numune kabule bırakılmasını takiben yarım saat içerisinde trikrom boyama yöntemi ile boyanmıştır. Trikrom Boyama Yöntemi Wheatley Modifikasyonuna göre yapılmıştır. Boyanan örnekler ışık mikroskobu altında immersiyon damlatılarak 100X büyütmede incelenmiş ve parazit kist/trofozoitleri araştırılmıştır

3.3.1. Trikrom Boyama

3.3.1.1. Kullanılan Malzemelerin Hazırlanması

3.3.1.1.1 Trikrom Boyası

Chromotrope 2R	3gr
Light green SF	1.5gr
Fosfofungustik asit	3.5gr
Glasiyal asetik asit	5ml
Distile su	500ml

Karışım renkli cam şişede bir yıl saklanır.

3.3.1.1.2. D'antoni İyot Solüsyonu

Potasyum iyodür	1gr
İyot kristalleri	1.5gr
Distile su	100ml

Solüsyon kırmızımsı-kahverengi renk alana kadar karıştırılır ve filtre kağıdından süzülür.

%70'lik etil alkole (70ml etil alkol+30ml distile su) demli çay renginde olana kadar D'antoni iyot solüsyonu eklenir ve renkli şişelerde saklanır. Haftada bir solüsyon değiştirilir.

3.3.1.1.3. %90'lık Asit Alkol

Etil alkol (%90)	995.5ml
Glasiyal asetik asit	4.5ml

3.3.1.1.4. Schaudin Fiksatif

Cıva klorür	9.20gr
Distile su	120ml

Karışım su banyosunda eritilir. Solüsyon daha sonra soğumaya bırakılır. Beherin tabanında kristaller oluşur. Bir gece bekletildikten sonra filtre kağıdı ile süzülür.

100 ml cıva klorür 50 ml %95'lik etil alkol (95 ml etil alkol+5 ml distile su) ve 2.5 ml gliserin ile iyice karıştırılır. Stok kullanılacağı zaman 100 ml'ye 5 ml glasiyel asetik asit eklenir.

3.3.1.2. Yöntem

Dışkı yayması kenarlardan kurumaya başlayınca fiksatife konulur. Dışkıdan yayma hazırlanırken lamın kenarına protokol numarası yazılır. Fırçanın ucu ile bir miktar dışkı alınır ve bir yönde yayma yapılır. Yayılan bölgeye tekrar fırça sürülmez.

B1. Schaudin fiksatif	30 dakika
B2. D'antoni iyot solüsyonu	1 dakika
B3. Alkol(%70'lik metanol)	1 dakika
B4. Alkol(%70'lik metanol)	1 dakika
B5. Trikrom boyası	8-10 dakika
B6. %90'lık asit alkol	8-10 saniye

B7. Alkol(%100'lük metanol) 4-5 saniye çalkala

B8. Alkol(%100'lük metanol) 30 saniye

B9. ksilen 1 dakika

Kurutulur ve immersiyon objektifinde incelenir

3.4. DNA İzolasyonu

Toplam 148 olgudan toplanan dışkı örneğinden 180-220 mg'ı hiçbir işlem uygulanmadan 2 ml'lik ependorf tüplere alınmış ve DNA izolasyonu yapılınca kadar tüm dışkılar -20°C'de saklanmıştır. DNA izolasyonu için QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit kullanılmış ve firmanın belirttiği protokole uyulmuştur.

3.4.1. DNA İzolasyon Protokolü

Dientamoeba fragilis genomik DNA izolasyonu amacıyla, dışkıdan DNA elde edilmek üzere hazırlanmış QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen) protokole uygun olarak kullanılmıştır. İzolasyondan önce -20°C muhafaza edilen dışkılar, aşağıda verilen DNA izolasyon aşamalarına uygun olarak çalışılmıştır.

1. İzolasyon için -20°C' de saklanan 2 ml'lik ependorf tüplerdeki 180-220 mg ağırlığındaki dışkılar dondurucudan çıkartılmış ve buzun üzerine yerleştirilmiştir
2. Her tüpün içerisine 1 ml InhibitEX buffer eklenmiş ve 1 dk süresince örnekler vortekslenmiştir. Süre sonunda örneklerin tam olarak homojenize olup olmadığı kontrol edilmiş, çözünmeyen örnekler homojen görünüm elde edilene kadar vorteks işlemine tabi tutulmuştur.
3. Elde edilen süspansiyon 5 dk süresince önceden istenen sıcaklığa ayarlanmış ısı bloğu kullanılarak 95°C'de ısıtılmıştır.
4. Örnekler 1 dk boyunca santrifüj edilmiştir.
5. Her örnek için yeni 1,5 µl'lik tüp açılarak içerisine 15 µl proteinaz K eklenmiştir.
6. Proteinaz K içeren yeni tüplere aşama 4'de santrifüj edilmiş süspansiyonun üst kısmındaki süpernatanttan 200 µl alınarak eklenmiştir.
7. Elde edilen Proteinaz K ve Süpernatant karışımının üzerine 200 µl Buffer AL eklenerek 15 saniye süresince vortekslenmiştir.

8. Elde edilen karışım 10 dk boyunca 75°C'de ısıtılmıştır
9. Isıtılan karışımın üzerine 200 µl etanol eklenerek vorteks işlemi uygulanmıştır.
10. Elde edilen ~600 µl'lik karışım dikkatli şekilde ticari kit tarafından sağlanan QIAamp spin column adındaki kolonlara aktarılmıştır. Kapakları kapatılarak 1 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından kolonlar ticari kitede bulunan yeni 2 µl'lik tüplere yerleştirilmiştir.
11. Yeni tüplere yerleştirilen kolonların kapakları açılarak üzerlerine 500 µl Buffer AW1 eklenmiş ardından 1 dk santrifüj edilmiştir. İşlem sonrasında kolon yeni 2 µl'lik tüplere yerleştirilmiş ve filtrat içeren eski tüpler atılmıştır.
12. Yeni tüplere yerleştirilen kolonların kapakları açılarak üzerlerine 500 µl Buffer AW2 eklenmiş ardından 3 dk santrifüj edilmiştir. İşlem sonrasında kolon yeni 1,5 µl'lik ependorf tüplere yerleştirilmiş ve filtrat içeren eski tüpler atılmıştır.
13. Son işlemde 1,5 µl'lik tüplere yerleştirilmiş olan kolon kapakları açılmış üzerlerine 200 µl Buffer ATE eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 dk süresince bekletilmiştir. Devamında 1 dk boyunca santrifüj edilerek elde edilen DNA'nın membrandan ayrılarak tüpe alınması sağlanmış ve kolonlar atılarak elde edilen DNA'ların bulunduğu 1,5 µl'lik ependorf tüpler PZR işlemi uygulanmak üzere hazır hale gelmiştir.

3.5. İzolatlarda PZR Yöntemi ile *Dientamoeba fragilis* Araştırılması:

PZR yöntemi için DF400 ve DF1250 primerleri kullanılmıştır (Tablo 6). Reaksiyon içeriğinde 3 µl Buffer, 2,4 µl MgCl₂, 1,2 µl Primer DF400 (10 pmol), 1,2 µl Primer DF1250 (10 pmol), 0,6 µl dNTP (Fermentas) (10 mM), 0,3U Taq DNA Polymerase (Fermentas) ve 22,62 µl dH₂O olup reaksiyon hacmi her bir örnek için 30 µl hacimde hazırlanmıştır ve 50 ng kalıp DNA'nın üzerine eklenmiştir. Ön denatürasyon 94 °C 3 dk uygulanmıştır. Devamında 94°C'de 1 dk denatürasyon, 57°C'de 1.5 dk bağlanma, ve 72°C'de 2 dk uzama ile 30 döngü gerçekleştirilmiştir. Final uzama ise 72° C'de 10 dk şeklinde yapılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu analizleri için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvar'ında bulunan Biorad T100™ Thermal Cycler cihazı kullanılmıştır. Elde edilen amplikonlar %1,5 agaroz jelde yürütülmüş VilberLourmat görüntüleme sistemi ile ultraviyole ışık altında (340 nm) incelenerek fotoğraflanmıştır. Beklenen 863 bp boyutundaki ürünler pozitif olarak kabul edilmiştir

Tablo 6. *Dientamoeba fragilis* tanısında kullanılan primerler

Primer	Hedef Bağlanma Bölgesi
DF400	5'- TATCGGAGGTGGTAATGACC -3'
DF1250	5'-CATCTTCCTCCTGCTTAGACG- 3'

3.6. Sekans Analizi ve İzolatlar Arasındaki Genetik Uzaklığın Belirlenmesi:

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında beklenen boyutta (863 bp) bant görülen PZR ürünlerinin bir kısmı dizileme için MacroGen firmasına gönderilmiştir. Elde edilen sekanslar, Genbank'daki mevcut *D. fragilis* 18S rRNA sekansları ile Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) kullanılarak karşılaştırılmıştır. Veri tabanına göre tam veya en fazla benzerlik gösterdikleri alt tipler belirlenmiştir. İzolatlar arasında genetik uzaklıklar 18S rRNA gen sekansına göre belirlenmiştir. Sıralanan diziler ile Molecular Evolutionary Genetics Analysis versiyon 7.0 (MEGA) uygulamasında Neighbor-Joining metodu, bootstrap testleri (1000 tekrar) kullanılarak genetik uzaklığa bağlı bir ağaç çizilmiştir. Dizilerin evrimsel uzaklıkları Maximum Composite Likelihood metodu ile belirlenmiştir.

3.7. İstatistiksel Analizler:

Verilerin değerlendirilmesi için SPSS for Windows 15.0 kullanılmıştır. İki parazit in birlikteliğini karşılaştırmak için ki-kare testi uygulanmıştır.

Tablo 7. Tanı yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif ve negatif prediktif değerlerinin hesaplanması

Test	Altın standart	
	Pozitif	Negatif
Pozitif	a	c
Negatif	b	d

a: gerçek pozitif, b: yanlış negatif, c: yanlış pozitif, d: gerçek negatif
Duyarlılık= $a / (a + b)$, **Özgüllük**= $d / (d+c)$, **Pozitif Prediktif Değer**= $a / (a + c)$,
Negatif Prediktif Değer= $d / (d+b)$

3.8. Anket Formu

“Bu araştırmaya katılım gönüllük esasına dayanmaktadır. Sorulara verdiğiniz yanıtlar **tamamen gizli tutulacak**, kişi ya da kurumlarla paylaşılmayacaktır. Bu çalışmaya isteyerek katılmanız, bu alanda yapılan bilimsel çalışmaların geliştirilebilmesi için önemli bir etkiye sahiptir. Bu araştırma ile ilgili sormak istediğiniz tüm soruları uygulamayı yürüten Dr. ibrahim Yıldız’a uygulama sırasında veya sonrasında e-posta yoluyla veya telefonla sorabilirsiniz.”

(Anketi cevaplama süreniz yaklaşık olarak 5-6 dakika olabilir.)

İletişim bilgileri:

Tel : +90 543 310 28 12

E-mail: dr.ibrahimyildiz@gmail.com

Tarih://

1.Adı soyadı

2.Cinsiyet: Erkek () Kadın ()

3.Yaş:

4.Yaşadığımız yer

() İl merkezi () ile () Köy

5.Aşağıdaki şikayetlerden sizde görülenleri lütfen işaretleyiniz.

İştahsızlık Evet () Hayır ()

Bulantı –Kusma Evet () Hayır ()

Karın ağrısı Evet () Hayır ()

İshal Evet () Hayır ()

Kabızlık Evet () Hayır ()

Şişkinlik Evet () Hayır ()

Kilo kaybı Evet () Hayır ()

Kaşıntı Evet () Hayır ()

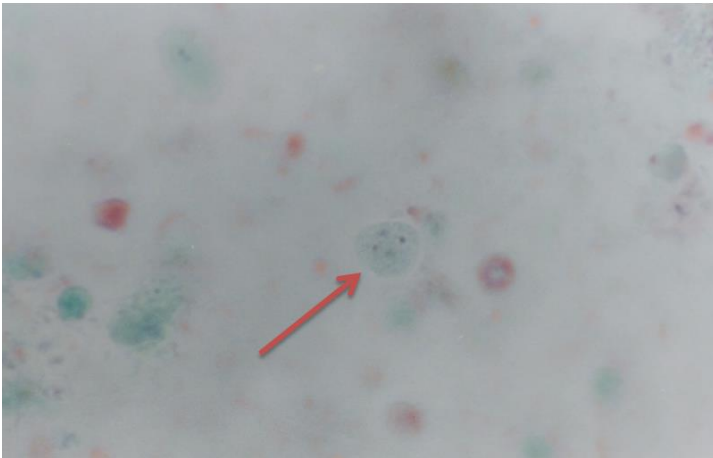
4. BULGULAR

4.1. Dışkı Örnekleri ve Olgular

Çalışmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına gelen dışkılarından gönüllü 148 olgunun dışkı örneği değerlendirme kapsamına alınmıştır. Bu örneklerin 74'ü selofan bant yöntemiyle *E.vermicularis* yumurtaları saptanan (Resim 4.2) diğer 74'ü ise aynı yöntemle *E. vermicularis* yumurtaları saptanmayan olgulardan seçilmiştir. Olguların 81'ini (%54,72) erkekler, 67'sini (%45,28) kadınlar oluşturmaktadır. Olguların yaş aralığı 1-85 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 23,87'dir. Çalışmamızdaki olguların büyük kısmı ilçelerde ikamet etmekte olup (58 kişi, %39,19), geri kalanı köylerde (46 kişi, %31,08) ve il merkezinde ikamet edenlerden (44 kişi, %29,73) oluşmaktadır.

4.2. Direkt Mikroskopi

Trikrom boyama yöntemi ile hazırlanan 148 dışkı örneği direkt mikroskopi ile incelenmiş ve dördünde *D. fragilis* trofozitleri saptanmıştır (Resim 3). *Dientamoeba fragilis* saptanan örneklerin üçü *E. vermicularis*, pozitif olgulardan biri ise kontrol grubunu oluşturan olgulardan oluşmaktadır.



Resim 3. Trichrom boyama yöntemi ile saptanan *Dientamoeba fragilis*'lerin 100X büyütmedeki görüntüleri



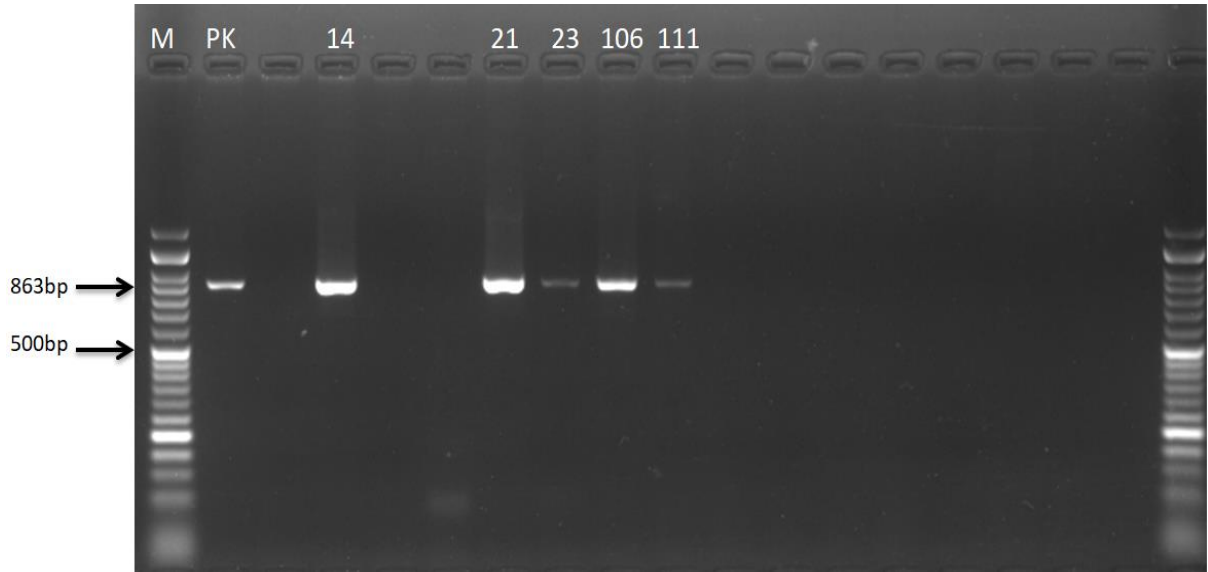
Resim 4. Selofan bant yöntemi ile saptanan *Enterobius vermicularis*'lerin 40X büyütmedeki görüntüleri

Tablo 8. Direkt Mikroskopi Sonuçları

		<i>E. vermicularis</i>	
		Pozitif (%)	Negatif (%)
<i>D. fragilis</i>	Pozitif (n=4)	3 (75)	1 (25)
	Negatif (n=144)	71 (49,30)	73 (50,70)
Toplam	N=148	74 (50)	74 (50)

4.3. PZR Sonuçları

Selofan bant yöntemiyle *E. vermicularis* yumurtaları saptanan 74 olgunun dışkı örneğinde *D. fragilis* genine özgü PZR çalışıldığında 28 olguda (%66,66) ve *E. vermicularis* yumurtaları saptanmayan 74 olgunun ise 14'ünde (%33,33) istenen büyüklükte (863bp) amplifikasyon görülmüştür (Resim 5). PZR sonuçları Tablo 9'da özetlenmiştir.



Resim 5. Saptanan *Dientamoeba fragilis* PZR ürünlerinin %1.5 Agaroz jelde yürütüldükten sonra 863bp.deki görüntüsü (M: Marker, PK: Pozitif kontrol)

Tablo 9. PZR Sonuçları

		<i>E. vermicularis</i>	
		Pozitif (%)	Negatif (%)
<i>D. fragilis</i>	Pozitif (n=42)	28 (66,66)	14 (33,33)
	Negatif (n=106)	46 (43,39)	60 (56,61)
Toplam	N=148	74 (50)	74 (50)

4.4. *Dientamoeba fragilis* ve *Enterobius vermicularis* birlikteliğinin karşılaştırılması

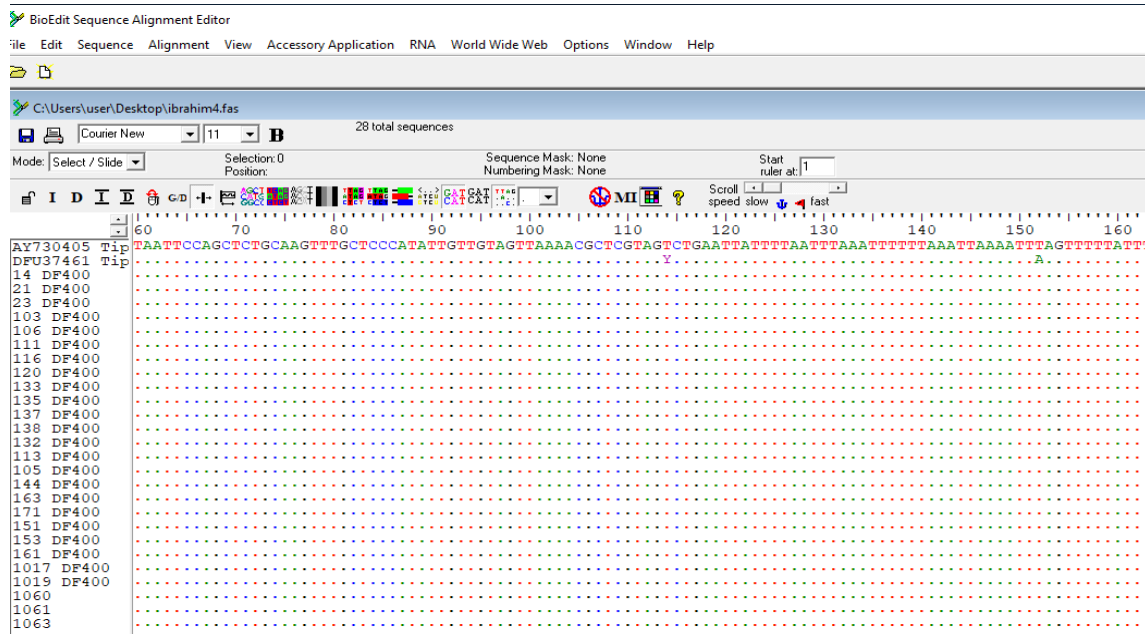
Çalışmamızda incelenen 148 gaita örneğinin %50'si *E. vermicularis* pozitif olgulara ait olup kalan %50'lik kısmı ise *E. vermicularis* saptanamayan olgulardan oluşmaktadır. *Dientamoeba fragilis* saptanan olguların %66,66'sını *E. vermicularis* pozitif olgular oluşturmaktadır. İki parazitin birlikteliğinin istatistiksel olarak incelemesinde ki-kare testi kullanılmış (Tablo 10) ve p değeri 0,010 olarak bulunmuştur (χ^2 : 6,515, $P < 0,05$).

Tablo 10. *Dientamoeba fragilis* ve *Enterobius vermicularis* birlikteliğinin karşılaştırılması

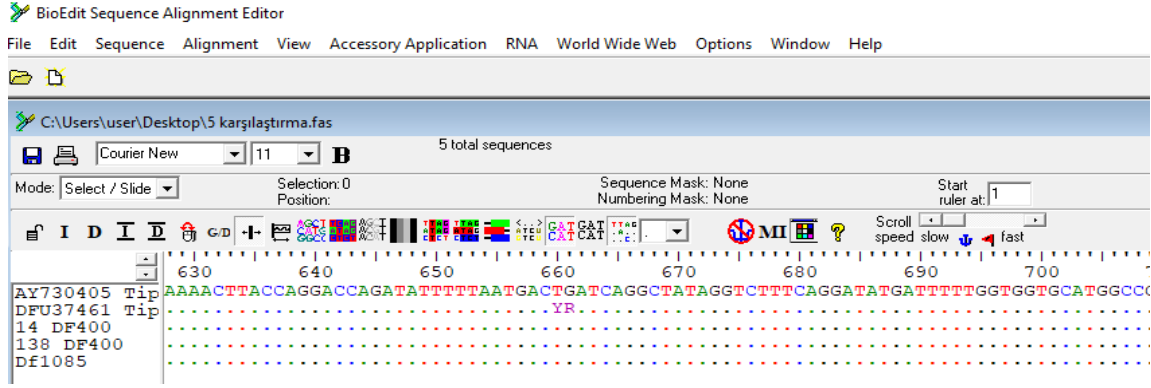
		<i>E. vermicularis</i>				Toplam	χ^2	P
		Pozitif (n=74)		Negatif (n=74)				
		Sayı	%	Sayı	%			
<i>D. fragilis</i>	Pozitif	28	66,66	14	33,34	42	6,515	0,010
	Negatif	46	43,40	60	56,60	106		

4.5. Saptanan *D. fragilis* PZR ürünlerinin sekans analiz sonuçları

Çalışmamızda saptadığımız 42 adet *D. fragilis* pozitif olgunun PZR ürünlerinden 26'sı basit rastgele örnekleme metodu ile seçilmiş ve dizileme yapılmak üzere MacroGen firmasına gönderilmiştir. Elde edilen dizilerin Bioedit programı ile sıralanması Resim 6 ve Resim 7'de gösterilmiştir. Ayrıca elde ettiğimiz dizilerin MEGA programında sıralanması Resim 8'de verilmiş olup *Dientamoeba fragilis* 18S r RNA dizilerinden birine ait kromatogram görseli ise Resim 9'da gösterilmiştir.



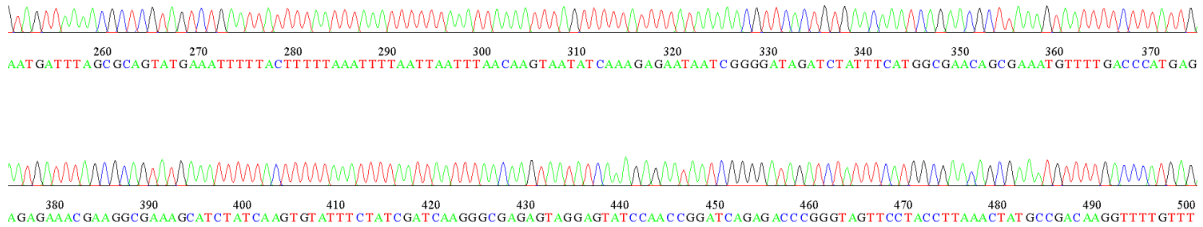
Resim 6. *Dientamoeba fragilis* 18S rRNA dizilerinin Bioedit Sequence Alingment Editor programı ile sıralanması (alignment)



Resim 7. *Dientamoeba fragilis* Genotip 1, Genotip 2, AduDf14 ve AduDf138 18S rRNA dizilerinin sıralanması (alignment)



Resim 8. *Dientamoeba fragilis* Genotip 1, Genotip 2, AduDf14 ve AduDf138 18S rRNA dizilerinin MEGA programı ile sıralanması (alignment)



Resim 9. *Dientamoeba fragilis* 18S r RNA dizilerinden birine ait kromatogram dosyası

Dizileme için gönderilen 26 örnek analiz edildiğinde 14, 21, 23, 103, 106, 111, 113, 116, 120, 132, 133, 135, 137, 144, 151, 153, 161, 163, 171, 1017, 1019, 1060, 1061 ve 1063 numaralı dizilerin %100 benzer olduğu saptanmıştır ve elde edilen dizi AduDf14 referans numarası ve MN560149 erişim kodu ile Genbank'a kaydedilmiştir (Resim 10). Bunların dışında kalan 105 ve 138 numaralı iki dizinin de kendi arasında birebir aynı olduğu görülmüş ve bu iki dizi ise AduDf138 referans numarası ve MN560150 erişim kodu ile Genbank'a yüklenmiştir (Resim 11).

NCBI Resources How To

Nucleotide Advanced

GenBank Send to: ▾

Dientamoeba fragilis isolate AduDf14 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MN560149.1
[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to: ▾](#)

LOCUS MN560149 806 bp DNA linear INV 20-OCT-2019
 DEFINITION Dientamoeba fragilis isolate AduDf14 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
 ACCESSION MN560149
 VERSION MN560149.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Dientamoeba fragilis
 ORGANISM [Dientamoeba fragilis](#)
 Eukaryota; Parabasalia; Tritrichomonadida; Dientamoebidae; Dientamoeba.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 806)
 AUTHORS Yildiz,i. and Ertabaklar,H.
 TITLE The genotyping of Dientamoeba fragilis isolates in Aydin
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 806)
 AUTHORS Yildiz,i. and Ertabaklar,H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (15-OCT-2019) Parasitology, Adnan Menderes University, Aytepe, Aydin 090100, Turkey
 COMMENT ##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##
 FEATURES
 source Location/Qualifiers
 1..806
 /organism="Dientamoeba fragilis"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="AduDf14"
 /isolation_source="Feaces"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:43352"
 /country="Turkey"
 /collection_date="12-Jan-2018"
 /note="PCR_primers=fwd_name: Df400"
 rRNA
 <1..>806
 /product="small subunit ribosomal RNA"
 ORIGIN
 1 tatacttttc cagtatatg taacctagca gagggccagt ctggtgccag cagctcggg
 61 aattccagct ctgcaagttt gctcccatat tgtttagtt aaaacgctc tagtctgaat
 121 tattttaatt taaattttt aaattaaaat ttagtttta tttataaaa acgttcactg
 181 tgaacaacat agaacgctta aagtaatttt ctttattgaa tgatttagcg cagtatgaaa
 241 tttttacttt ttaaatttta attaatntaa caagtaatat caaagagaat aatcggggat
 301 agatctattt catggcgaac agcgaatgt ttgacctat gagagagaaa cgaaggcgaa
 361 agcatctatc aagtgtatct ctatcgatca agggcgagag taggagatc caaccggatc
 421 agagaccggg gtatgtccta ccttaaaacta tgccgacaag gttttgttt ttttaataaa
 481 agcagtagca taggagaaat catagttcat gggctctggg ggaactacga ccgcaaggct
 541 gaaacttgaa ggaattgacg gaaaggcaca ccagggtgg agcttgtggc ttaattgaa
 601 tcaacacggg aaaacttacc aggaccagat attttaaat actgatcagg ctataggctc
 661 ttcaggatat gatttttggg ggtgcatggc cgttgggtgg gcgtgggttg acctgtctag
 721 cgttgattca gataacgagc gagattatca ccaattaaat atataaata ttttattaaa
 781 ataatttatt ttctaattgg gactcc

Resim 10. AduDf14 referans numarasıyla Genbank'a yüklenen dizi ayrıntıları

GenBank

Send to:

Dientamoeba fragilis isolate AduDf138 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MN560150.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS MN560150 806 bp DNA linear INV 20-OCT-2019
 DEFINITION Dientamoeba fragilis isolate AduDf138 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
 ACCESSION MN560150
 VERSION MN560150.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Dientamoeba fragilis
 ORGANISM [Dientamoeba fragilis](#)
 Eukaryota; Parabasalia; Tritrichomonadida; Dientamoebidae; Dientamoeba.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 806)
 AUTHORS Yildiz,i. and Ertabaklar,H.
 TITLE The genotyping of Dientamoeba fragilis isolates in Aydin
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 806)
 AUTHORS Yildiz,i. and Ertabaklar,H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (15-OCT-2019) Parasitology, Adnan Menderes University, Aytepe, Aydin 090100, Turkey
 COMMENT ##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..806
 /organism="Dientamoeba fragilis"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="AduDf138"
 /isolation_source="Feaces"
 /host="Homo sapiens"
 /db_xref="taxon:43352"
 /country="Turkey"
 /collection_date="12-Jan-2018"
 /note="PCR primers=fwd_name: Df400"
 rRNA
 <1..>806
 /product="small subunit ribosomal RNA"
 ORIGIN
 1 tatacttttc cagtatttg taacctagca gaggccagct ctggtcccag cagctgcggt
 61 aattccagct ctgcaagttt gctcccata tgttgtagtt aaaacgctcg tagtctgaat
 121 tattttaatt taaatttttt aaattaaaa ttagttttta tttataaaa acgttcactg
 181 tgaacaaatc agaacgctta aagtaatttt cttattgaa tgatttagcg cagtatgaaa
 241 tttttacttt ttaaatttta attaattdaa caagtaatat caaagagaat aatcggggat
 301 agatctattt catggcgaac agcgaaatgt ttgacccat gagagagaaa cgaaggcgaa
 361 agcatctatc aagtgtatct ctatcgatca agggcgagag taggagtatc caaccggatc
 421 agagaccggg gtagttccta ccttaaaacta tgccgacaag gttttgtttt ttttaataaa
 481 agcagtacca taggagaaat catagttcat gggctctggg ggaactacga ccgcaaggct
 541 gaaacttgaa ggaattgacg gaagggcaca ccagggggtg agcttggtgc ttaattgaa
 601 tcaacacggg aaaacttacc aggaccagat attttaatg actgatcagg ctataggtct
 661 ttcaggatag gatttttggg ggtgcatggc cgttggtggt gcgtgggttg acctgtctag
 721 cgttgattca gataacgagc gagattatca ccaattaaat atattaatat ttttataaa
 781 ataatttatt ttctaattgg gactcc

Resim 11. AduDf138 Referans numarası ile Genbank'a yüklenen dizi ayrıntıları

Dientamoeba fragilis'in bilinen iki alt tipi mevcuttur. Genotip 1 için Genbank'da AY730405 referans numaralı dizi, Genotip 2 için ise DFU37461 referans numaralı dizi kullanılmaktadır (Cacciò, 2018). AduDf14 referans numarasıyla kaydettiğimiz dizi ile Genotip 1 dizisi arasında tek baz farkı bulunmuş ve BLAST analizi sonucu %99,75 benzerlik oranı saptanmıştır. Elde ettiğimiz AduDf138 dizisi ile Genotip 1 arasında ise iki baz farkı bulunmuş olup yapılan BLAST analizinde Genotip 1 ile %99,63 benzerlik oranı saptanmıştır. Elde ettiğimiz AduDF14 ve AduDf138 dizileri ile Genotip 2 arasındaki benzerlik oranları ise sırasıyla %95,01 ve %94,89 olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz iki farklı dizi ile Genotip 1 ve 2'nin tüm baz dizilimleri Tablo 11'de verilmiştir. *Dientamoeba fragilis* Genotip 1 ve Genotip 2 ile elde ettiğimiz AduDf14 ve AduDf138 dizileri arasındaki baz farkları ise Tablo 12'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Tablo 11. AduDf14, AduDf138, Genotip 1 ve Genotip 2 tüm baz dizilimleri

Dizi Adı	Baz Dizilimi
AduDf14	TATACTTTCCAGTATATTGTAACCTAGCAGAGGGCCAGTCTGGTGCCAGCAGCTGCGGTAA TTCCAGCTCTGCAAGTTTGCTCCCATATTGTTGTAGTTAAAACGCTCGTAGTCTGAATTATTTT AATTTAAATTTTTTAAATTTAAAATTTAGTTTTTATTTTATAAAAACGTTCACTGTGAACAAAT CAGAACGCTTAAAGTAATTTCTTTATTGAATGATTTAGCGCAGTATGAAATTTTTACTTTTT AAATTTTAATTAATTTAACAAGTAATATCAAAGAGAATAATCGGGGATAGATCTATTTTCATG GCGAACAGCGAAATGTTTTGACCCATGAGAGAGAAACGAAGGCGAAAGCATCTATCAAGTG TATTTCTATCGATCAAGGGCGAGAGTAGGAGTATCCAACCGGATCAGAGACCCGGGTAGTTC CTACCTTAAACTATGCCGACAAGTTTTGTTTTTTTTAATAAAAAGCAGTACCATAGGAGAAAT CATAGTTCATGGGCTCTGGGGGAACTACGACCGCAAGGCTGAAACTTGAAGGAATTGACGG AAGGGCACACCAGGGGTGGAGCTTGTGGCTTAATTTGAATCAACACGGGAAAACCTACCAG GACCAGATATTTTTAATGACTGATCAGGCTATAGGTCTTTCAGGATATGATTTTTGGTGGTGC ATGGCCGTTGGTGGTGCCTGGGTTGACCTGTCTAGCGTTGATTCAGATAACGAGCGAGATTA TCACCAATTAATATATAAAATATTTTTATTAAAATAATTTATTTTCTAATTGGGACTCC
AduDf138	TATACTTTCCAGTATATTGTAACCTAGCAGAGGGCCAGTCTGGTGCCAGCAGCTGCGGTAA TTCCAGCTCTGCAAGTTTGCTCCCATATTGTTGTAGTTAAAACGCTCGTAGTCTGAATTATTTT AATTTAAATTTTTTAAATTTAAAATTTAGTTTTTATTTTATAAAAACGTTCACTGTGAACAAAT CAGAACGCTTAAAGTAATTTCTTTATTGAATGATTTAGCGCAGTATGAAATTTTTACTTTTT AAATTTTAATTAATTTAACAAGTAATATCAAAGAGAATAATCGGGGATAGATCTATTTTCATG GCGAACAGCGAAATGTTTTGACCCATGAGAGAGAAACGAAGGCGAAAGCATCTATCAAGTG TATTTCTATCGATCAAGGGCGAGAGTAGGAGTATCCAACCGGATCAGAGACCCGGGTAGTTC CTACCTTAAACTATGCCGACAAGTTTTGTTTTTTTTAATAAAAAGCAGTACCATAGGAGAAAT CATAGTTCATGGGCTCTGGGGGAACTACGACCGCAAGGCTGAAACTTGAAGGAATTGACGG AAGGGCACACCAGGGGTGGAGCTTGTGGCTTAATTTGAATCAACACGGGAAAACCTACCAG GACCAGATATTTTTAATGACTGATCAGGCTATAGGTCTTTCAGGATATGATTTTTGGTGGTGC

ATGGCCGTTGGTGGTGCGTGGGTTGACCTGTCTAGCGTTGATTTCAGATAACGAGCGAGATTA
TCACCAATTAATATATTAATATTTTTATTAAAATAATTTATTTTCTAATTGGGACTCC

Genotip 1 TATACTTTTCCAGTATATTGTAACCTAGCAGAGGGCCAGTCTGGTGCCAGCAGCTGCGGTAA
TTCCAGCTCTGCAAGTTTGGTCCCATATTGTTGTAGTTAAAACGCTCGTAGTCTGAATTATTTT
AATTTAAATTTTTTAAATTAATAATTTAGTTTTTATTTATAAAAACGTTCACTGTGGAACAAA
TCAGAACGCTTAAAGTAATTTCTTTATTGAATGATTTAGCGCAGTATGAAATTTTACCTTTT
AAATTTTAATTAATTTAACAAGTAATATCAAAGAGAATAATCGGGGATAGATCTATTTTCATG
GCGAACAGCGAAATGTTTTGACCCATGAGAGAGAAACGAAGGCGAAAGCATCTATCAAGTG
TATTTCTATCGATCAAGGGCGAGAGTAGGAGTATCCAACCGGATCAGAGACCCGGGTAGTTC
CTACCTTAAACTATGCCGACAAGGTTTTGTTTTTTTTAATAAAAACGAGTACCATAGGAGAAAT
CATAGTTCATGGGCTCTGGGGAACTACGACCGCAAGGCTGAAACTTGAAGGAATTGACGG
AAGGGCACACCAGGGGTGGAGCTTGTGGCTTAATTTGAATCAACACGGGAAAACCTACCAG
GACCAGATATTTTAAATGACTGATCAGGCTATAGGCTTTTCAGGATATGATTTTGGTGGTGC
ATGGCCGTTGGTGGTGCGTGGGTTGACCTGTCTAGCGTTGATTTCAGATAACGAGCGAGATTA
TCACCAATTAATATATAATAATTTTTATTAAAATAATTTATTTTCTAATTGGGACTCC

Genotip 2 TATACTTTTCCAGTATATTGTAACCTAGCAGAGGGCCAGTCTGGTGCCAGCAGCTGCGGTAA
TTCCAGCTCTGCAAGTTTGGTCCCATATTGTTGTAGTTAAAACGCTCGTAGYCTGAATTATTT
TAATTTAAATTTTTTAAATTAATAATTAAGTTTTTATTTATAAAAACGTTCACTGTGAACAAR
TCAGAACGCTTAGAGTAATTTTAAATTATTGAATGATTTAGCGCAGTATGAAATTTTACTTT
TTAAAAAAAAAAAAATTTATTTTTTTTTTTTTTTAACAAGTAATATCAAAGAGAATAATCGGGG
ATAGRTCTATTTTCATGGCGAACAGCGAAATGTTTTGACCCATGAGAGAGAACTAAGGCGAA
AGCATCTATCAAGTGTATTTTCYATCGATCAAGGGCGAGAGTAGGAGTATCCAACCGGATCAG
AGACCCGGGTAGTTCCTACCTTAAACGATGCCGACAAGRTTTTGTTTTTYTTTATAAAAAGCAG
TATCATAGGAGAAATCATAGTTCATGGGCTCTGGGGAACTACGACCGCAAGGCTGAAACTT
GAAGGAATTGACGGAAGGGCACACCAGGGGTGGAGCTTGTGGCTTAATTTGAATCAACACG
GGAAAACCTACCAGGACCAGATATTTTTAATGACYRATCAGGCTATAGGCTTTTCAGGATAT
GATTTTTGGTGGTGCATGGCCGTTGGTGGTGCGTGGGTTGACCTGTCTAGCGTTGATTTCAGAT
AACGAGCGAGATTATCACCAATTAATATATAATAATTTTTTTTTTAAATTAATTTTCTAA
TTGGGACTCC

AduDf14: 14, 21, 23, 103, 106, 111, 113, 116, 120, 132, 133, 135, 137, 144, 151, 153, 161, 163,171,
1017, 1019, 1060, 1061 ve 1063 numaralı örnekler. AduDf138: 138 ve 105 numaralı örnekler

Tablo 12. AduDf14 ve AduDf138 dizilerinin *Dientamoeba fragilis* genotip 1 ve genotip 2 ile olan baz farklılıkları

	14	52	89	202	212-214	250	257 - 271	277	278	281	282	320	369	399
Genotip 1	T	T	A	A	C-T- -	C	-----	A	A	A	A	A	G	T
Genotip 2	C	A	G	G	T-A-A	T	A-A-A-A-A-A-A-A	T	T	T	T	G	T	A
							T- T-T-A-T-T							
AduDf14	T	T	A	A	C-T- -	T	-----	A	A	T	A	A	G	T
AduDf138	T	T	A	A	C-T- -	T	-----	A	A	A	A	A	G	T

Tablo 12. Devam

	466	478	489	492	505	660	661	782	785	792	800	802
Genotip 1	T	G	T	A	C	T	G	A	T	A	A	T
Genotip 2	G	A	C	T	T	C	A	A	A	T	T	A
AduDf14	T	G	T	A	C	T	G	A	T	A	A	T
AduDf138	T	G	T	A	C	T	G	T	T	A	A	T

Elde ettiğimiz AduDf14 referans numaralı dizinin BLAST analizi sonucunda, Genbank'a yüklenmiş 3 farklı dizi ile %100 benzer olduğu görülmüştür. AduDf14 dizisinin BLAST analizi sonucunda Genbank'a JQ677147, JQ677148 ve AB692772 referans numaralarıyla yüklenmiş diziler ile olan benzerlikleri Resim 12'de gösterilmiştir.

U.S. National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST⁺ » blastn suite » results for RID-Z1MWARRA01N

Job Title: gb|MN560149.1
RID: Z1MWARRA01N
Program: BLASTN
Database: nt
Query ID: MN560149.1
Description: Dientamoeba fragilis isolate AduDf14 small subunit ribosome: ...
Molecule type: dna
Query Length: 806

Filter Results
Organism: only top 20 will appear
Percent Identity: [] to []
E value: [] to []
Query Coverage: [] to []

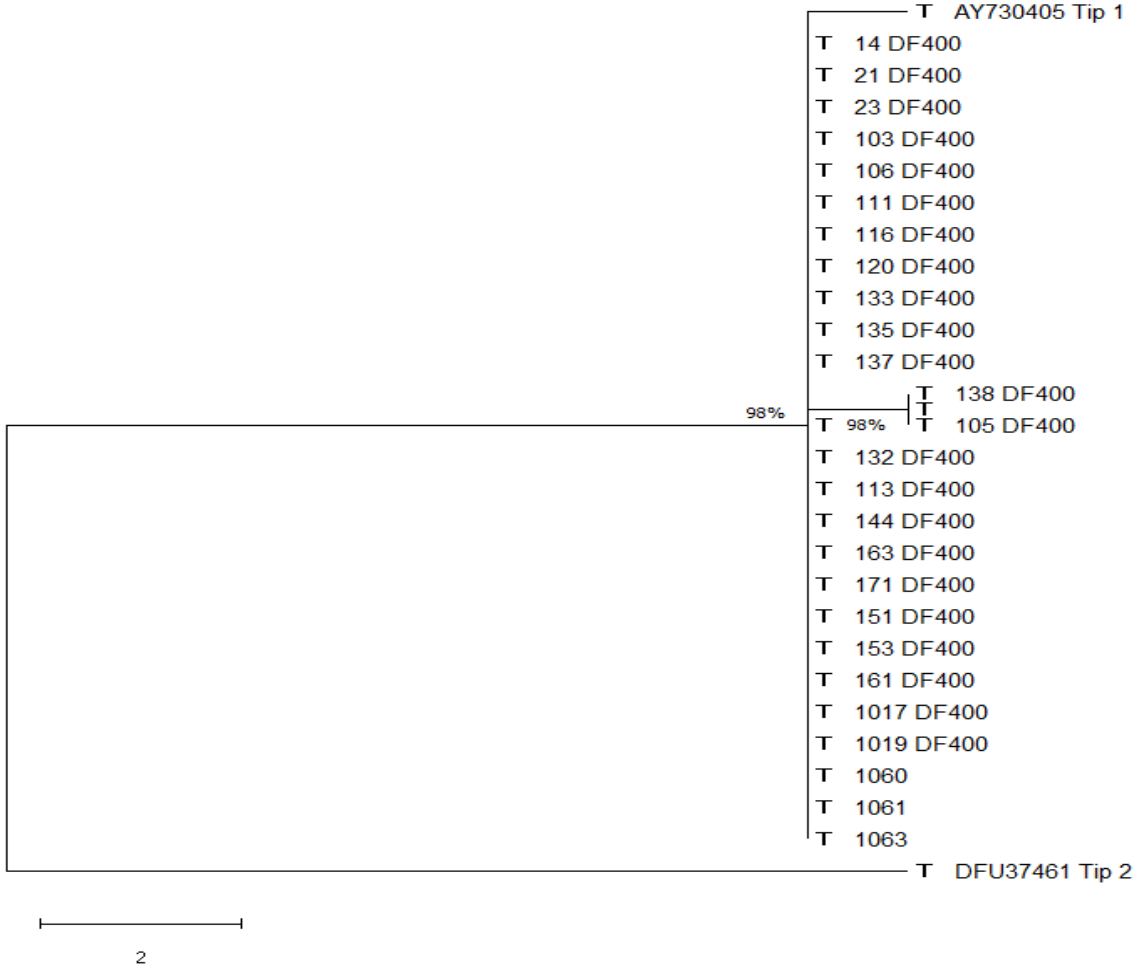
Sequences producing significant alignments

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Dientamoeba fragilis isolate Df1085 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1489	1489	100%	0.0	100.00%	JQ677148.1
Dientamoeba fragilis isolate DfB79 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1489	1489	100%	0.0	100.00%	JQ677147.1
Dientamoeba fragilis gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence isolate: Tehran 10	1489	1489	100%	0.0	100.00%	AB692772.1

Resim 12. AduDf14'ün BLAST analizi sonrasında %100 benzerlik gösterdiği diziler

4.6. Dientamoeba fragilis 18S rRNA dizilerinin Filogenetik Analizi

Sekans analizi için gönderdiğimiz 26 *Dientamoeba fragilis* izolatının tamamı Genbank'dan elde edilen referans diziler ile birlikte filogenetik analiz için sıralanmıştır (Resim 13). Elde edilen 18S rRNA dizilerinin *D. fragilis* genotip 1 ve genotip 2 için gösterilen referans diziler ile sıralanması sonucunda saptadığımız tüm *D. fragilis*'lerin genotip 1 ile aynı dalda olduğu görülmektedir.



Resim 13. AduDf14, AduDf138, Genotip 1 (AY30405) ve Genotip 2 (DFU37461) dizilerinin evrimsel uzaklıkları

4.7. Tanıda Kullanılan Yöntemlerin Karşılaştırılması

Çalışma kapsamında selofan bant yöntemi ile *E. vermicularis* saptanan 74 ve *E. vermicularis* saptanamayan 74 olguya ait toplam 148 gaita örneği trikrom boyama ve PZR yöntemleri ile *D. fragilis* varlığı açısından incelenmiştir.

Trikrom boyama yöntemi ile 148 örneğin 4'ünde (%2,70) *D. fragilis* saptanmıştır. *Enterobius vermicularis* negatif olgulara ait 74 örneğin birinde (%1,35) , *E. vermicularis* pozitif olgulara ait 74 örneğin ise üçünde (%4,05) *D. fragilis* saptanmıştır. Trikrom boyama yöntemi ile *D. fragilis* saptanan dört olgunun üçünü (%75) *E. vermicularis* pozitif olgular oluşturmaktadır.

Toplam 148 örnek PZR yöntemi ile incelendiğinde örneklerin 42'sinde (%28,37) *D. fragilis* DNA'sı saptanmıştır. *Enterobius vermicularis* negatif olgulara ait 74 örneğin 14'ünde

(%18,91), *E. vermicularis* pozitif olgulara ait 74 örneğin ise 28'inde (%37,83) *D. fragilis* saptanmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu ile pozitif saptanan 42 örneğin 28'ini (%66,66) *E. vermicularis* pozitif olgular oluşturmuştur. Ayrıca bulgular Tablo 13'de özet olarak verilmiştir.

Tablo 13. Tanı yöntemlerinin bir arada değerlendirilmesi

<i>Enterobius vermicularis</i>		<i>Dientamoeba fragilis</i>	
Selofan Bant	Trikrom	PZR	
Pozitif	Pozitif	Pozitif	
n=74	n=3 (%4,05)	n=28 (%37,84)	
	Negatif	Negatif	
	n=71 (%95,95)	n=46 (%62,16)	
Negatif	Pozitif	Pozitif	
n=74	n=1 (%1,35)	n=14 (%18,91)	
	Negatif	Negatif	
	n=73 (%98,65)	n=60 (%81,09)	

Her iki yöntem sırasıyla altın standart olarak kabul edilmiş ve duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri hesaplanmıştır. Altın standart olarak trikrom boyama yöntemi kabul edildiğinde PZR yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %73,61 pozitif prediktif değeri %9,52 ve negatif prediktif değeri %100 olarak bulunmuştur (Tablo 14) Polimeraz zincir reaksiyonu altın standart olarak kabul edildiğinde ise trikrom boya yönteminin duyarlılığı %9,52 özgüllüğü %100, pozitif prediktif değeri %100 ve negatif prediktif değeri %73,61 olarak bulunmuştur (Tablo 15).

Tablo 14. Trikrom boyama yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde PZR yönteminin değerleri

	PZR (%)
Duyarlılık	100
Özgüllük	73,61
Pozitif Prediktif Değer	9,52
Negatif Prediktif Değer	100

Tablo 15. PZR yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde trikrom boyama yönteminin değerleri

	PZR (%)
Duyarlılık	9,52
Özgüllük	100
Pozitif Prediktif Değer	100
Negatif Prediktif Değer	73,61

4.8. Demografik Özellikler ve Semptomların Analizi

Çalışma kapsamına alınan toplam 148 olgunun %54,72'sini erkekler %45,28'ini ise kadınlar oluşturmaktadır. *Dientamoeba fragilis* saptanan 42 olgu ayrıca incelendiğinde pozitif olguların %59,52'sini erkekler, %40,48'ini ise kadınlar oluşturmuştur. Ki-kare testi uygulanarak cinsiyet ile *D. fragilis* varlığı arasındaki ilişki incelenmiş ve $p = 0,460$ olarak bulunmuştur (χ^2 : 0,544, $P > 0,05$). Ayrıca olgular yaşadıkları yerlere göre gruplandırıldığında *D. fragilis* pozitif olguların %42,86'sı il merkezinde, %28,57'si ilçelerde ve %28,57'sinin ise köylerde ikamet ettiği öğrenilmiştir. Yaşanılan yer ve *D. fragilis* varlığı ki-kare testi ile karşılaştırılmış $P = 0,074$ olarak bulunmuştur (χ^2 : 5,205, $P > 0,05$). İncelenen tüm olguların cinsiyet ve yaşadıkları yer açısından karşılaştırması ve yapılan ki-kare testi ile elde edilen P değerleri Tablo 16'da ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 16. *Dientamoeba fragilis* saptanan ve saptanmayan olguların cinsiyet ve yaşadıkları yer açısından karşılaştırılması

		<i>Dientamoeba fragilis</i>						
		Pozitif (n=42)		Negatif (n=106)				
		Sayı	%	Sayı	%	Toplam	χ^2	P
Cinsiyet	Erkek	25	59,52	56	52,83	81	0,544	0,460
	Kadın	17	40,48	50	47,17	67		
Yerleşim	İl	18	42,86	26	24,52	44	5,205	0,074
	İlçe	12	28,57	46	43,39	58		
	Köy	12	28,57	34	32,09	46		

Tüm olgular anket formu ile semptomlar açısından değerlendirilmiştir. Parazit saptanan 42 olgunun %28,5’inde karın ağrısı, %28,5’inde kaşıntı, %23,8’inde iştahsızlık, %19’unda şişkinlik, %14’28’inde bulantı-kusma, %7,14’ünde konstipasyon, %4,76’sında diyare ve %4,76’sında ise kilo kaybı şikayetlerinin bulunduğu anket sonuçlarında görülmüştür. Tüm olgulara ait semptomlar Tablo 17’de özetlenmiştir. *Dientamoeba fragilis* pozitif ve negatif olgular semptomlar açısından ki-kare testi ile karşılaştırılmış, bulunan p değerleri Tablo 17’de verilmiştir.

Tablo 17. *Dientamoeba fragilis* saptanan ve saptanmayan olgularda semptomların karşılaştırılması

<i>Dientamoeba fragilis</i>							
Semptom	Pozitif (n=42)		Negatif (n=106)		Toplam	χ^2	p
	Sayı	%	Sayı	%			
Karın ağrısı	12	40	18	60	30	2,500	0,113
Kaşıntı	12	21,05	45	78,05	57	1,139	0,237
İştahsızlık	10	21,27	37	78,73	47	1,709	0,191
Şişkinlik	8	33,33	16	66,66	24	0,346	0,556
Bulantı-Kusma	6	33,33	12	66,66	18	0,247	0,618
Konstipasyon	3	50	3	50	6	1,438	0,230
Kilo kaybı	2	15,38	11	84,62	13	1,183	0,276
Diyare	2	16,66	10	83,33	12	0,881	0,347

5. TARTIŞMA

İnsan kalın bağırsak lümeninde yerleşen, kamçılı bir protozoon olan *D. fragilis* ilk kez 20.yy başlarında patojenitesi belirsiz bir amip olarak tanımlanmıştır. Yaklaşık olarak 5-15 µm büyüklüğünde amip benzeri bir morfolojiye sahip olan protozoon insan dışkıında sıklıkla (%60-80) iki çekirdekli trofozoit formuyla saptanmaktadır. Tanımlanmasını takiben günümüze kadar yapılan morfolojik, immünolojik ve moleküler çalışmalar parazitin trikomonad kamçılılar ile filogenetik olarak yakın ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Girinkardeşler ve Kurt, 2007; Stark ve ark, 2016). Parazitin tartışılacağı konularından biri olan kist formunun bulunmayışı son on yılda yapılan çalışmalar ile aydınlığa kavuşmuş ve kist formunun saptanmasıyla birlikte bulaş yolu hakkında da yeni fikirler ortaya çıkmıştır. Kist formunun saptanmasına kadar geçen sürede parazitin bulaş yolu hakkında yaygın olarak kabul edilen görüş *D. fragilis* trofozoitlerinin *E. vermicularis* yumurtaları içerisinde taşındığı hipotezi olmuştur. Dış ortam koşullarına karşı oldukça dayanıksız olan *D. fragilis* trofozoitlerinin, *E. vermicularis* yumurtalarının içerisinde kendini koruduğu ve oral bulaş sonrasında mide asidinden de zarar görmeden geçip bağırsağa ulaştığı kabul görmüştür (Girinkardeşler ve Kurt, 2007). Kist formunun saptanmasından sonra ise parazitin kist formunun fekal-oral yolla bulaşabildiğini gösteren hayvan deneylerinin başarıya ulaştığı bildirilmiştir (Stark ve ark, 2016).

Dientamoeba fragilis hakkında erken tarihli yapılan çalışmalarda kümes hayvanlarında sık görülen bir kamçılı protozoon olan *Histomonas melagridis* ile yakın benzerlik nedeniyle parazitin bulaş yollarının da benzer olabileceği düşünülmüştür. İlk kez Dobell (1940) *D. fragilis*'in *Ascaris* veya *Trichuris* benzeri bir nematod ile taşınabileceği fikrini ortaya atmıştır. Burrows ve Swerdlow (1956) gerçekleştirdikleri çalışmada 1518 apendiks kesitini incelemiş ve incelenen apendiks kesitlerinde *E. vermicularis* ile *D. fragilis* insidanslarını sırasıyla %2,90 ve %1,45 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Birbiriyle ilişkisiz iki organizma için bu insidansların çarpımı teorik olarak parazitlerin bir arada görülme sıklığını gösterdiği ve bu değerin 0,04 olarak hesaplandığı belirtilmiştir. Fakat incelenen 1518 apendiks kesitinde *E. vermicularis* ile *D. fragilis* bir arada görülme oranı 0,79 olarak bulunmuş olup bu değerin beklenen değerin yaklaşık 20 katı olduğu vurgulanmıştır (Burrows ve Swerdlow, 1956). Daha sonra Cerva ve ark (1991) 414 apendiks kesitini inceledikleri çalışmada kesitlerin %4,8' inde *D. fragilis*, %8,7'sinde ise *E. vermicularis* saptadıklarını ve

iki parazitin birlikte görülme olasılığının %50 olduğunu bildirmişlerdir. *Dientamoeba fragilis*'in bulaşında *E. vermicularis* yumurtalarının rolünün araştırıldığı çalışmada Ockert (1972), *E. vermicularis* yumurtalarını saflaştırarak oral yolla almış ve sonrasında kendi dışkısında *D. fragilis* trofozoitlerini saptamıştır. Avusturya'da 2012-2017 yılları arasında PZR testi uygulanarak *D. fragilis* saptanmış 163 olgunun geriye dönük olarak değerlendirildiği çalışmada, olguların %23,3'ünde aynı zamanda *E. vermicularis* saptandığı bildirilmiştir (Menendez ve ark, 2019). Ayrıca diğer parazitlerle birlikteliğin de incelendiği bu çalışmada *D. fragilis* saptanan 163 olgunun %18,8'inde *Blastocystis hominis*, %11,7'sinde *Strongyloides stercoralis*, %6'sında *Entamoeba spp.* ve %2,4'ünde *Giardia intestinalis* birlikteliğinin olduğu belirtilmiştir. Ogren ve ark (2013), *E. vermicularis* yumurtalarında *D. fragilis* DNA'sını araştırdıkları çalışmalarında 21 olgudan *E. vermicularis* yumurtası topladıklarını ve yumurtaları saflaştırdıktan sonra Gerçek Zamanlı PZR testi ile yumurtaların 18'inin içerisinde *D. fragilis* DNA'sı tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada *D. fragilis* ve *E. vermicularis* birlikteliğini araştırmak amacıyla ardışık 3 gün boyunca selofan bant ve dışkı örneği toplanmış, olgular ilk tanı aldıkları parazite göre iki farklı gruba ayrılarak incelenmiş, *D. fragilis* grubunu (DG) 187, *E. vermicularis* grubunu (EG) ise 126 kişinin oluşturduğu bildirilmiştir. Parazitlerin birlikteliği incelendiğinde DG'de bulunan 187 olgunun %25,4'ünde, EG'de bulunan 126 olgunun ise %9,6'sında her iki parazitin saptandığı belirtilmiştir. Aynı zamanda parazitlerin birlikteliğinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir (Girginkardeşler ve ark, 2008). Bizim çalışmamızda ise, *E. vermicularis* pozitif 74 olgunun 28'inde (%37,83) ve *E. vermicularis* negatif 74 olgunun 14'ünde (%18,91) *D. fragilis* saptanmıştır. *E. vermicularis*'li olguların dışkılarında *D. fragilis* görülme oranı kontrol grubuna göre iki kat fazla olup fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). İki parazitin birlikteliği hakkında yapılan tüm çalışmalarda çıkan ortak sonuç *E. vermicularis* ile *D. fragilis* arasında beklenenden daha fazla birliktelik olduğunun görülmesidir. Bu konuda yapılan çalışmalar *E. vermicularis* yumurtalarının *D. fragilis* bulaşında rol aldığı hipotezini desteklemektedir (Ockert, 1972; Girginkardeşler ve ark, 2008; Ogren ve ark, 2013).

Dientamoeba fragilis'in tanımlanmış iki genotipi vardır ve yapılan çalışmalar ışığında genotip 1'in genotip 2'ye oranla daha fazla saptandığı bilinmektedir (Johnson ve ark, 2004; Barrat ve ark, 2011a; David ve ark, 2015; Windsor ve ark, 2004). İki genotipin 18S rRNA dizisinde yaklaşık %2-3 gibi küçük oranda farklılıkların bulunduğu bildirilmektedir (Garcia, 2016). Bu gen bölgesi dışında ITS gen bölgesi de parazitin genotiplendirilmesi için kullanılmış, fakat 18S rRNA ile yapılan çalışmalardan farklı bir sonucun elde edilemediği belirtilmiştir (Windsor ve ark, 2006).

Dientamoeba fragilis'in bazı sağlıklı bireylerde herhangi bir semptomla neden olmadan yaşamını devam ettirmesi fakat aynı zamanda başka hiçbir sebebe bağlanamayan klinik olgularda *D. fragilis*'e özgü tedavi ile olgulardaki semptomların iyileşmesi, parazitin patojen ve apatojen alt tiplerinin bulunma olasılığını akla getirmektedir (Barrat ve ark, 2011; Stark ve ark, 2016; David ve ark, 2015). Günümüzde *D. fragilis* genotiplendirmesi bu konuda yetersiz olarak görülmektedir. Yapılan çalışmalarda semptomlarla ilişkili veya ilişkisiz *D. fragilis*'lerin aynı genotipe sahip olması, bu konuda yapılacak yeni çalışmaların gerekliliğini göstermekte, bu zamana kadar çalışılmamış gen bölgelerinin farklılığın temeli olabileceği görüşü bildirilmektedir (Stark ve ark, 2016). Brezilya'da 2015 yılında yapılan bir çalışmada sağlıklı 126 olguda *D. fragilis* varlığı araştırılmış ve 19 olguda *D. fragilis* DNA'sı saptanmış olup tüm *D. fragilis*'lerin genotip 1 olduğu ortaya konmuştur (David ve ark, 2015). *Dientamoeba fragilis* genotiplerinin araştırıldığı bir çalışmada 111 *D. fragilis* pozitif olgunun dışkı örneği çalışmaya alınmış ve izolatlarda SSU rRNA analizi yapılarak bulunan *D. fragilis*'in alt tiplerinin belirlendiği bildirilmiştir (Simone ve ark, 2016). Olgu dışkılarının 37'sinin İtalya'dan, 25'inin Danimarka'dan, 30'unun Avustralya'dan ve 19'unun Brezilya'dan olduğu bildirilen bu çalışmada, bir olgu dışında kalan 110 olguda saptanan *D. fragilis*'lerin genotip 1 olarak belirlendiği vurgulanmıştır.

Ülkemizde *D. fragilis* alt tiplerinin araştırıldığı bir araştırmada 53 olguda *D. fragilis* DNA'sının saptandığı ve bu örneklerin 18'inin sekans analiziyle alt tiplerinin belirlendiği bildirilmiştir. Yapılan analiz sonucunda 3 farklı dizinin elde edildiği, dizilerden ilkinin genotip 1 ile %100 benzer olduğu, ikinci dizinin genotip 1 ile %99 benzer olduğu ve genotip 1 olarak kabul edildiği belirtilmiştir. Genotip 1 olarak saptanan dizilerin semptomatik olgulardan elde edildiği, üçüncü dizinin ise genotip 2 ile %100 benzer bulunduğu ve bu örneğin asemptomatik bir olguda saptandığı bildirilmiştir (Yalçın, 2010). Çalışmamızda Dünya'da ve Türkiye'de yapılan çalışmalara benzer olarak sadece genotip 1 saptanmış olup genotip 2'ye rastlanmamıştır. Genotip 2'nin az görülmesi nedeniyle bu alt tipin saptanması amacıyla örneklem büyüklüğünün genişletilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Tanımlandığı günden günümüze kadar patojen olduğuna dair net bir kanıtın sunulamamış olması *D. fragilis*'in ihmal edilmiş organizmalar arasında kalmasındaki en büyük etken olarak görülmektedir. Parazitin patojenitesine yönelik yapılmış olan yetersiz sayıdaki çalışmalar tartışmalara yönelik net cevaplar sunamamış olmakla birlikte farklı görüşlerin ortaya çıkmasına ve parazit yapısının daha ayrıntılı şekilde öğrenilmesine katkıda bulunmuştur (Johnson ve ark 2004). *Dientamoeba fragilis*'in patojenitesi hakkında yapılan ilk çalışmaların ardından geçen yaklaşık 100 yıllık süre boyunca bu konuda yapılmış olan sınırlı

sayıdaki araştırma parazitin potansiyel patojenitesi hakkında bilgi vermektedir. Farklı coğrafyalarda farklı tarihlerde yapılan klinik çalışmalarda *D. fragilis*'in ishal, karın ağrısı, bulantı-kusma ve şişkinlik gibi gastrointestinal sistem rahatsızlıklarıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir. (Windsor ve Macfarlane, 2005; Stark ve ark, 2010). Windsor ve ark. Umman'da yaptıkları çalışmalarında diğer etkenler dışlandığında parazit enfekte kişilerin %83'ünde karın ağrısının görüldüğünü belirtmişlerdir. (Windsor ve ark, 1998). İtalya'da ayaktan tedavi edilen 1989 olgu üzerinde yapılan bir çalışmada, *D. fragilis* ile enfekte olan olgulardaki klinik semptomların *Giardia* saptanan olgulara oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir (Crotti ve ark, 2005). Vandenberg ve ark, GIS semptomları olan 448 olgu üzerinde yaptıkları Brüksel merkezli çalışmalarında *Dientamoeba fragilis* (% 6,3) ve *Giardia*'nın (% 7,1) yakın prevalanslarda saptandıklarını bildirmiş olup, en sık rastlanan semptomları *D. fragilis* pozitif olgularda karın ağrısı ve ishal olarak belirtmiştir (sırasıyla% 69,2 ve% 61,5). Bununla birlikte, *D. fragilis* saptanan olgularda bulantı ve/veya kusma, anoreksi ve kilo kaybı görülme oranının daha düşük olduğu vurgulanmıştır (Vandenberg ve ark, 2006). Ayrıca *D. fragilis*'in IBS ile sıklıkla benzer semptomlara yol açtığı ve çoğu zaman herhangi bir neden bulunamayan gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında yanlış olarak IBS tanısı alan olguların *D. fragilis* varlığı açısından incelenmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Stark ve ark, 2010).

Sağlıklı bireylerde *D. fragilis* varlığının araştırıldığı Brezilya merkezli çalışmaya Porto Said (PS) bölgesinden 88, Santa Maria (SM) bölgesinden ise 38 birey olmak üzere toplam 126 olgu dahil edilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu ile olguların dışkısında *D. fragilis* DNA'sı araştırılmış, PS bölgesinin %13,6'sında, SM bölgesinin ise %18,4'ünde parazit saptanmıştır (David ve ark, 2015). Semptomatik ve sağlıklı kişilerden oluşan 892 olguda *D. fragilis* varlığı araştırılan bir çalışmada 163 olguda parazitin saptandığı ve *D. fragilis* taşıyan 50 (%30,7) olgunun herhangi bir semptomunun bulunmadığı belirtilmiştir (Menendez ve ark, 2019). Aynı çalışmada karın ağrısı en sık rastlanılan (%36,2) semptom olarak bildirilmiş olup bunu sırasıyla kronik diyare (%12,3) ve anal kaşıntının (%10,4) izlediği belirtilmiştir. Ayrıca, *D. fragilis* varlığı ile semptomlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değer bulunamadığı vurgulanmıştır.

Sağlıklı 77 olgu ile GIS semptomları olan 132 olgunun dışkısında *D. fragilis* varlığının gerçek zamanlı PZR ile araştırıldığı Hollanda'da yapılan çalışmada sağlıklı olguların %50,6'sında, semptomatik olguların ise %43,2'sinde parazit saptanmış olup istatistiksel olarak *D. fragilis* varlığı ile semptomlar arasında anlamlı bir ilişkinin bulunamadığı tespit edilmiştir (De Jong ve ark, 2014). Vietnam'da semptomatik 180 ve sağlıklı 88 olguda Gerçek Zamanlı PZR uygulanarak *Dientamoeba fragilis* varlığının araştırıldığı bir çalışmada

semptomatik olguların %2,1'inde sağlıklı olguların ise %2,3'ünde *D. fragilis* DNA'sının saptandığı belirtilmiştir. Semptomlar ile *D. fragilis* varlığı arasında anlamlı bir birlikteliğin bulunmadığı vurgulanmıştır (Ogren ve ark, 2016).

Ülkemizde *D. fragilis* saptanan olguların klinik bulgularının araştırıldığı çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Diğer etkenlerin dışlandığı *D. fragilis* saptanan 32 olgunun değerlendirildiği çalışmada dünya genelinde yapılan diğer araştırmalara benzer olarak en sık saptanan semptom karın ağrısı (%81,3) olurken bunları diyare (%71,9) ve iştah azalmasının (%15,6) izlediği bildirilmiştir (Girginkardeşler ve Kurt, 2007). İzmir'de 2010 yılında yapılan çalışmada, *D. fragilis* saptanan olgularda ürtikeryal kaşıntının 15-64 yaş gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu belirtilmiştir (Yalçın, 2010). Çalışmamızda ise yapılan diğer klinik çalışmalara benzer şekilde, *D. fragilis* ile enfekte olgularda karın ağrısı en sık görülen semptom (%28,5) olmakla birlikte diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında bu oranın daha az olduğu dikkati çekmektedir. Yalçın (2010)'a benzer olarak çalışmamızda da kaşıntı sık rastlanılan bir semptom (%28,5) olup bu konuyla ilgili daha fazla çalışma yapılmasının gerektiği düşünülmektedir. Parazit ile enfekte olanlar ve olmayanlar arasında semptomların görülmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ($P > 0,05$). Araştırmamızın üniversite hastanesine gelen semptomatik olgulardan seçilmiş olması ve *D. fragilis* saptanmış/saptanamamış tüm olguların en az bir semptomunun bulunması, *D. fragilis* varlığı ile semptomlar arasında olan ilişkiye yönelik değerlendirmemizin eksik yönünü oluşturmaktadır. Bu durumun parazit ile semptomlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değer bulunamamasının nedeni olabileceği düşünülmüştür.

Dientamoeba fragilis varlığı ile cinsiyet arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çok çalışma bulunmaktadır. Çalışmaların bir kısmında erkek cinsiyetin *D. fragilis* taşıma olasılığını artırdığı belirtilirken, bunun tersinin de ortaya konduğu pek çok çalışma mevcuttur (Kean ve Malloch, 1966; Grendon ve ark, 1995; Rayan ve ark, 2007; Crotti ve D'Annibale, 2007; Stark ve ark, 2010). Ayrıca yapılan bu çalışmalarda, *D. fragilis* varlığı ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin bulunmadığı belirtilmiştir. (Yalçın ZG, 2010; Stark ve ark, 2010). Sidney'de 750 olgunun dahil edildiği bir çalışmada olguların 39'unda *D. fragilis* saptanmış olup bunların 21'ini erkeklerin, 18'ini ise kadınların oluşturulduğu belirtilmiş, cinsiyet ve *D. fragilis* varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değer bulunmadığı vurgulanmıştır (Stark ve ark, 2010). Crotti ve ark. (2007) yılında yaptıkları çalışmalarında saptadıkları 57 *D. fragilis*'li olgunun %42,1'inin erkeklerin, %57,9'unu ise kadınların oluşturduğunu, cinsiyet ile parazitin varlığı arasında anlamlı bir ilişki

saptamadıklarını bildirmişlerdir (Crotti ve ark. 2007). Toplam 237 olgunun incelendiği 1985-1986 yıllarını kapsayan farklı bir çalışmada *D. fragilis* saptanan olguların çoğunluğunu kadın cinsiyetin oluşturduğu belirtilmiş olup (%56) istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı ortaya konmuştur (Grendon ve ark, 1995).

Yukarıdada görüldüğü gibi çeşitli coğrafyalarda yapılan *D. fragilis* varlığı ile cinsiyet arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmaların ortak noktası, parazitin varlığı ile cinsiyet arasında anlamlı bir farkın saptanamamasıdır. Yaptığımız çalışmada, *D. fragilis* saptanan 42 olgu incelendiğinde olguların 25'ini erkekler, 17'sini ise kadınlar oluşturmuştur. Bu konuda yapılan araştırmalara benzer olarak çalışmamızda da cinsiyet ile *D. fragilis* varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Farklı tanı yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalarda parazitin prevalansının % 0.2 ile % 82 gibi çok değişken bir aralıkta olduğu ve diğer bağırsak protozoonları için gözlemlenenden farklı olarak, genellikle gelişmiş ülkelerde daha yüksek oranda saptandığı bildirilmektedir. Ancak çalışmalarda kullanılan tanı yöntemlerinin farklı duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması nedeniyle, saptanan prevalans verilerinin güvenilirliği tartışmalıdır. Ayrıca çalışmalarda kullanılan farklı tanı yöntemleri, çalışmaya dahil edilen olgu grupları vb. gibi değişkenlerin de bu sonuçlarda etkili olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, sadece moleküler testlerin kullanıldığı epidemiyolojik çalışmalar dikkate alındığında, Avrupa, Orta Doğu ve Güney Amerika'daki ülkeler de dahil olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde prevalansın oldukça yüksek (>% 20) olduğu görülmektedir (Incani ve ark, 2017; Holtman ve ark, 2017; David ve ark, 2015; Yakoob ve ark, 2010; Öğren ve ark, 2015). Stark ve ark (2010) semptomatik ve asemptomatik olgulardan oluşan 750 olguda *D. fragilis* prevalansını araştırmışlar ve %5,2 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. İtalya'da 2010 yılında yapılan bir çalışmada *D. fragilis* prevalansı araştırılmış ve 492 olgunun dışkı örneğinde Gerçek Zamanlı PZR ile %21 sıklıkta *D. fragilis* DNA'sı saptandığı bildirilmiştir (Calderaro ve ark, 2010). Danimarka'da çok sayıda kişinin dahil edildiği ve Gerçek Zamanlı PZR kullanıldığı geniş kapsamlı bir araştırmada, 9945 olgunun %43'ünde *D. fragilis* DNA'sı saptandığı bildirilmiştir (Röser ve ark, 2013).

Lübnan'da iki farklı okuldaki toplam 249 öğrenciden yaygın görülen parazitlerin prevalanslarının araştırılması amacıyla dışkı toplanmış ve PZR uygulanarak *D. fragilis* varlığı araştırılmıştır (Osman ve ark, 2016). Bu çalışmada, *D. fragilis* prevalansı %60,6 olarak saptandığı, *B. hominis*'in %63, *G. duodenalis*'in %28,5 ve *Cryptosporidium* spp. 'un %10,4 sıklıkta görüldüğü tespit edilmiştir.

Türkiye’de boyama yöntemleri kullanılarak yapılan prevelans çalışmalarında *D. fragilis* sıklığının %0,2 ile %9 arasında değiştiği görülmektedir (Mumcuoğlu ve ark, 2013, Gülmez ve ark, 2013). Çalışmamıza benzer şekilde, Celal Bayar Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvar’ına gönderilen 400 dışkı örneğinde *D. fragilis* varlığı araştırılmış ve incelenen örneklerin %8.8’inde *D. fragilis* saptandığını belirtilmiştir (Girginkardesler 2003). Bizim çalışmamızda ise boyama yöntemi ile incelediğimiz 148 gaita örneğinin %2,7’sinde *D. fragilis* saptanmış olup Türkiye’de yapılan diğer çalışmalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Fakat, kullanılan yöntem PZR olarak seçildiğinde bu oranın yükseldiği görülmektedir. İzmir’de yapılan bir çalışmada 292 olgunun dışkı örneği PZR yöntemi ile *D. fragilis* varlığı açısından incelenmiş ve olguların %18,2’sinin pozitif olduğu saptanmıştır (Yalçın, 2010). Çalışmamızda ise olgu örnekleri PZR yöntemi ile çalışıldığında %28,37 oranında *D. fragilis* saptandığı görülmüştür. Çalışma grubumuzun yarısını *Enterobius vermicularis* pozitif olguların oluşturması bulduğumuz *D. fragilis* pozitif olgu sayısının diğer çalışmalardan daha yüksek oranda çıkmasının nedeni olabileceği düşünülmüştür. *Enterobius vermicularis* negatif olgulardan oluşan 74 kişilik kontrol grubumuzda *D. fragilis* saptanma oranı %18,9 olarak bulunmuş ve 2010 yılında komşu ilimiz İzmir’de yapılan çalışma ile çok yakın sonuçların çıkması dikkati çekmiştir.

Çalışmamıza benzer şekilde farklı tanı yöntemlerinin bir arada kullanıldığı araştırmalarda, kullanılan yöntemle bağlı olarak *D. fragilis* saptanma oranının ciddi şekilde değiştiği görülmektedir. Sivcan ve ark (2018) 121 olguya ait gaita örneğinde farklı tanı yöntemleri ile *D. fragilis* sıklığını araştırmışlardır. Trikrom boyama yöntemi, PZR ve Gerçek Zamanlı PZR yöntemlerinin *D. fragilis* tanısındaki başarısının araştırıldığı bu çalışmada, 121 örnekte, trikrom boyama yöntemi ile iki (%1,7) , PZR ile 7 (%5,7) ve Gerçek Zamanlı PZR ile 13 (%10,7) olguda *D. fragilis* saptanmıştır.

Parazitin morfolojik yapısı nedeniyle, direkt mikroskopik tanısının oldukça zor olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, *D. fragilis*’in tanısında kültür, boyama yöntemleri, moleküler yöntemler ve immunolojik testler kullanılmaktadır. Günümüzde klinik tanı laboratuvarlarında en sık kullanılan yöntemler kalıcı boyama yöntemleridir (Barratt ve ark, 2011b). Trikrom ve demir hemotoksilen gibi boyama yöntemleriyle parazitin morfolojik yapısı net olarak görülebilmekle birlikte, bu yöntemlerin düşük duyarlılığa sahip oluşu nedeniyle parazitin tanısında zorluklara yol açtığı bilinmektedir. *Dientamoeba fragilis* tanısında boyama yöntemlerinin kullanılmasının kendine özgü dezavantajları mevcuttur. Parazitin çoğunlukla trofozoit formda atılması ve bu formun dış ortama oldukça dayanıksız yapısı, dışkıda bulunan trofozoitlerin laboratuvara gelene kadar canlılığını kaybetmesine ve tanının olanaksız hale

gelmesine neden olmaktadır. Ayrıca boyama yöntemleri ile tanıda hazırlanan preparatın deneyimli bir laboratuvar çalışanı tarafından incelenmesi gerekmektedir. Tanıda kullanılan bir diğer yöntem ise dışkının kültür ortamına alınarak parazitin üretilmesidir. Ancak, *D. fragilis* 'e özgü kültür ortamlarının hazırlanmasının zahmetli ve sonuç verme süresinin uzun olması nedeniyle laboratuvarlar tarafından tercih edilmemektedir (Stark ve ark, 2016).

Günümüzde moleküler yöntemlerin gelişmesi ile birlikte *D. fragilis* tanısında da bu yöntemlerin kullanılmaya başlandığı görülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde PZR, Gerçek Zamanlı PZR ve Nested PZR'nin *D. fragilis* tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllük seviyesine sahip oldukları dikkati çekmektedir. Bununla birlikte parazitin ihmal edilen organizmalar içinde olması ve moleküler yöntemlerin yüksek maliyeti nedeniyle tanısız laboratuvarlar tarafından bu yöntemler çok sık kullanılamamaktadır (Barratt ve ark, 2011b).

Calderaro ve ark (2010) 959 dışkı örneğinde farklı tanı yöntemleriyle *D. fragilis* varlığını araştırmışlar, 58 örnekte kültür yöntemiyle, 8 örnekte mikroskopik bakı ile, 3 örnekte de hem kültür hem mikroskopi yöntemi olmak üzere toplam 69 örnekte *D. fragilis* saptadıklarını belirtmişlerdir. Araştırmanın devamında Gerçek Zamanlı PZR ile tüm örnekler tekrar incelenmiş ve geleneksel yöntemlerle saptanan 69 örneğin hepsinde *D. fragilis* DNA'sı saptanmıştır. Buna ek olarak geleneksel yöntemler kullanılarak negatif sonuç verilmiş 117 örneğin de *D. fragilis* DNA'sı içerdiği belirtilmiştir. Çalışmada, Gerçek Zamanlı PZR'nin duyarlılığı %100 olarak tespit edilirken, geleneksel yöntemlerin bir arada değerlendirildiğinde duyarlılığının %37,1 olduğu bildirilmiştir.

Komşu ülkemiz İran'da farklı kliniklerden gönderilen toplam 1000 olgu dışkısının dahil edildiği çalışmada, *D. fragilis* varlığı öncelikle direkt mikroskopi ve kalıcı boyama yöntemleriyle incelenmiş ve direkt mikroskopik incelemede olguların hiç birinde *D. fragilis* saptanamadığı ortaya konmuştur (Sarafraz ve ark, 2013). Kalıcı boyama yöntemleriyle yapılan incelemede ise 21 olguda *D. fragilis* saptanmış olup, 26 olgu ise şüpheli pozitif olarak yorumlanmıştır. Çalışmanın devamında parazit saptanan 21 dışkı örneği, şüpheli 26 örnek ve rastgele seçilen negatif 55 dışkı örneği PZR ve Nested PZR ile kontrol edilmiş, PZR ile yapılan incelemede boyama yöntemiyle *D. fragilis* saptanan 21 olgunun 17'sinde, Nested PZR ile ise tamamında *D. fragilis* DNA'sının varlığı teyit edilmiştir. Ayrıca, Nested PZR ile şüpheli dışkılardan 3'ünün *D. fragilis* DNA'sı içerdiği belirtilmiştir.

Dientamoeba fragilis saptanmasında farklı tanı yöntemlerinin kullanıldığı Hollanda'da yapılan bir çalışmada, Ocak 2007- Nisan 2007 tarihleri arasında gastrointestinal sistem rahatsızlıkları olan 397 olgudan dışkı örneği toplanmış ve mikroskopi ile PZR testi

uygulanarak parazit varlığı araştırılmıştır. Direkt mikroskopik incelemede, 397 olgunun 5'inde *D. fragilis* saptanırken, PZR ile yapılan taramada ise 58 olgunun dışkısında *D. fragilis* DNA'sının olduğu rapor edilmiştir (Bruijnesteijn ve ark, 2009). Bizim çalışmamızda da kullanılan moleküler yöntemlerin boyama yöntemine göre daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu ile incelediğimiz toplam 148 dışkı örneğinin 42'sinde *D. fragilis* saptanırken aynı örneklerde trikrom boyama yöntemi ile sadece 4 örnekte parazit belirlenmiştir. Çalışmamızda PZR duyarlılığı %100 bulunmuş olup yapılan diğer çalışmalarla benzer olduğu dikkati çekmektedir. *Dientamoeba fragilis* tanısında direkt mikroskopinin yeri olmamakla birlikte boyama yöntemlerinin duyarlılıklarının da yetersiz kaldığı, bu nedenle rutin incelemelerde PZR yönteminin kullanılabilceği düşünülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ve sonuçlarla bağıntılı önerilerimiz maddeler halinde aşağıda belirtilmiştir.

- ✓ Trikrom boyama yöntemi ile incelenen 148 olgunun dördünde *D. fragilis* saptanmış olup bu örneklerin tamamında (%100) PZR yöntemi ile de parazitin varlığı doğrulanmıştır.
- ✓ Trikrom boyama yöntemi ile *D. fragilis* saptanamayan 38 olgunun dışkı örneğinde PZR yöntemi ile parazit DNA'sı saptanmıştır.
- ✓ Polimeraz zincir reaksiyonu ile toplam 148 dışkı örneğinin 42'sinde (%28,37) *D. fragilis* DNA'sı saptanmıştır
- ✓ Trikrom boyama yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde PZR yönteminin duyarlılık/özgüllük değerleri %100/%73,61 olarak bulunmuştur.
- ✓ Polimeraz zincir reaksiyonu altın standart olarak kabul edildiğinde trikrom boyama yönteminin duyarlılık/özgüllük değerleri %9,52/%100 olarak bulunmuştur.
- ✓ *Enterobius vermicularis* ve *D. fragilis* birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$)
- ✓ Sekans analizi yapılan 26 PZR ürününün tamamı Genotip 1 olarak bulunmuştur.
- ✓ *Dientamoeba fragilis* varlığı ile klinik semptomlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır
- ✓ *Dientamoeba fragilis* varlığı ile cinsiyet, kırsal-kentsel bölgede yaşama arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır
- ✓ *Dientamoeba fragilis* tanısında sıklıkla kullanılan boyama yöntemlerinin duyarlılığının yetersiz kaldığı görülmüş ve rutin tetkiklerde PZR kullanılabileceği görüşüne varılmıştır.
- ✓ *Enterobius vermicularis* saptanan olgularda *D. fragilis*'in eşlik edebileceği dikkati çekmektedir.
- ✓ *Dientamoeba fragilis* varlığı ile klinik semptomlar arasında anlamlı bir ilişkinin bulunamamış olması, parazitin apatojen ve patojen alt tiplerinin bulunabileceği fikrini destekler nitelikte olup, daha önce çalışılmamış gen bölgelerinin kullanılarak genotiplendirme yapılmasının uygun olacağı düşünülmüştür.
- ✓ *Dientamoeba fragilis* saptanan olgularda en sık görülen iki semptomdan biri olan kaşıntı ile ilgili çok az bildirilen çalışma bulunmakta olup bu konuda daha fazla araştırmanın yapılması gerektiği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

Ayadi A, Bahri I. *Dientamoeba fragilis*: pathogenic flagellate? *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 1999, 92,299–301.

Balamuth W. Improved egg yolk medium for cultivation of *Entamoeba histolytica* and other intestinal protozoa. *American Journal of Hygiene* 1946, 16,80–384.

Barratt JL, Banik GR, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. Newly defined conditions for the in vitro cultivation and cryopreservation of *Dientamoeba fragilis*: new techniques set to fast track molecular studies on this organism. *Parasitology* 2010, 137,1867–1878.

Barratt JL, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. A review of *Dientamoeba fragilis* carriage in humans: several reasons why this organism should be considered in the diagnosis of gastrointestinal illness. *Gut Microbes* 2011a, 2, 3-12.

Barratt JL, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. The ambiguous life of *Dientamoeba fragilis*: the need to investigate current hypotheses on transmission. *Parasitology* 2011b, 138,557–572.

Bart A, van der Heijden HM, Greve S, Speijer D, Landman WJ, van Gool T. Intragenomic variation in the internal transcribed spacer 1 region of *Dientamoeba fragilis* as a molecular epidemiological marker. *Journal of Clinical Microbiology* 2008, 46,3270–3275.

Boeck WC, Drbohlav J. The cultivation of *Entamoeba histolytica* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1925, 11,235–238.

Borody TJ, Warren EF, Wettstein A, Robertson G, Recabarren P, Fontella A, Surace R. Eradication of *Dientamoeba fragilis* can resolve IBS-like symptoms. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2002, 17, A103.

Bosman DK, Benninga MA, van de Berg P, Kooijman GC, van Gool T. *Dientamoeba fragilis*: possibly an important cause of persistent abdominal pain in children. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde* 2004, 148,575–579.

Bruijnesteijn van Coppentraet LE, Wallinga JA, Ruijs GJ, Bruins MJ, Verweij JJ. Parasitological diagnosis combining an internally controlled real-time PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. *Clinical Microbiology and Infection* 2009, 15,869–874.

Burrows RB. A new fixative and technics for the diagnosis of intestinal parasites. *Tech Bull Regist Med Technol* 1967, 37,208–212.

Burrows RB, Swerdlow M. *Enterobius vermicularis* as a Probable Vector of *Dientamoeba fragilis*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1956, 5(2), 258-65.

Caccio SM. Molecular epidemiology of *Dientamoeba fragilis*. *Acta tropica* 2018, 184, 73-77.

Caccio SM, Sannella AR, Bruno A, Stensvold CR, David EB, Guimarães S, Maserati R. Multilocus sequence typing of *Dientamoeba fragilis* identified a major clone with widespread geographical distribution. *International journal for parasitology* 2016, 46(12), 793-798.

Caccio SM, Sannella AR, Manuali E, Tosini F, Sensi M, Crotti D, Pozio E. Pigs as natural hosts of *Dientamoeba fragilis* genotypes found in humans. *Emerging Infectious Diseases* 2012,18,838–841.

Calderaro A, Gorrini C, Montecchini S, Peruzzi S, Piccolo G, Rossi S, Gargiulo F, Manca N, Dettori G, Chezzi C. Evaluation of a real-time polymerase chain reaction assay for the detection of *Dientamoeba fragilis*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2010, 67,239–245.

Calderaro A, Montecchini S, Rossi S, Gorrini C, De Conto F, Medici MC, Arcangeletti M C. Intestinal parasitoses in a tertiary-care hospital located in a non-endemic setting during 2006–2010. *BMC infectious diseases* 2014,14(1), 264.

Calik S, Karaman U, Colak C. Prevalence of microsporidium and other intestinal parasites in children from Malatya, Turkey. *Indian Journal of Microbiology* 2011, 51,345–349.

Camp RR, Mattern CF, Honigberg BM. Study of *Dientamoeba fragilis* Jepp & Dobell. I. Electronmicroscopic observations of the binucleate stages. II. Taxonomic position and revision of the genus. *The Journal of protozoology* 1974, 21 (1), 69-82.

Cengiz ZT, Akbayram S, Cicek M, Yilmaz H. Intestinal parasitoses detected in primary schoolchildren in the Van Province. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2009, 33, 289–293.

Cerva L, Schrottenbaum M, Kliment V. Intestinal parasites: a study of human appendices. *Folia parasitologica* 1991, 38(1), 5-9.

Chan FT, Guan MX, Mackenzie AM. Application of indirect immunofluorescence to detection of *Dientamoeba fragilis* trophozoites in fecal specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 1993, 31, 1710–1714.

Chan F, Stewart N, Guan M, Robb I, Fuite L, Chan I, Diaz-Mitoma F, King J, MacDonald N, Mackenzie A. Prevalence of *Dientamoeba fragilis* antibodies in children and recognition of a 39 kDa immunodominant protein antigen of the organism. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 1996, 15, 950–954.

Church C, Neill A, Schotthoefer AM. Intestinal infections in humans in the Rocky Mountain region, United States. *Journal of Parasitology* 2010, 96, 194–196.

Clark CG, Roser D, Stensvold CR. Transmission of *Dientamoeba fragilis*: pinworm or cysts? *Trends in Parasitology* 2014, 30, 136–140.

Cleveland LR, Collier J. Various improvements in cultivation of *Endamoeba histolytica*. *American journal of hygiene* 1930, 12, 606–613.

Crotti D, D’Annibale ML. *Dientamoeba fragilis* and dientamoebiasis: aspects of clinical parasitology and laboratory diagnosis. *Parassitologia* 2001, 43, 135–138.

Crotti D, D’Annibale ML. Role of *Dientamoeba fragilis* in human bowel infections. *Le Infezioni in Medicina* 2007, 15, 30-9.

Crotti D, D’Annibale ML, Fonzo G, Lalle M, Caccio SM, Pozio E. *Dientamoeba fragilis* is more prevalent than *Giardia duodenalis* in children and adults attending a day care centre in central Italy. *Parasite* 2005, 12, 165–170.

Crotti D, Sensi M, Crotti S, Grelloni V, Manuali E. *Dientamoeba fragilis* in swine population: a preliminary investigation. *Veterinary Parasitology* 2007, 145, 349–351.

David ÉB, Guimarães S, Oliveira AP, Oliveira-Sequeira TCG, Bittencourt GN, Nardi ARM, Bella A. Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. *Parasites & vectors* 2015, 8(1), 103.

De Canale E, Biasolo MA, Tessari A, Bettanello S, Besutti V, Mengoli C. Real time PCR for *Dientamoeba fragilis*: a comparison between molecular and microscopical approach. *Journal of Medical Microbiology* 2009, 24, 133–138.

De Jong M J, Korterink JJ, Benninga MA, Hilbink M, Widdershoven J, Deckers-Kocken JM. *Dientamoeba fragilis* and chronic abdominal pain in children: a case–control study. *Archives of disease in childhood* 2014, 99(12), 1109-1113.

Diamond LS. A new liquid medium for xenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other lumen-dwelling protozoa. *The Journal of Parasitology* 1982, 68, 958–959.

Diamond LS, Clark CG. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 1993, 40, 340–344.

Dobell C, O'Connor FW. The intestinal protozoa of man. J. Bale, Sons, and Danielson 1921.

Dobell C. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man. X. The life history of *Dientamoeba fragilis*: observations, experiments and speculations. *Parasitology* 1940, 32, 417-461.

Dogan N, Oz Y, Kocman NU, Nursal AF. Comparison of individual differences in the direct microscopic examination in the diagnosis of intestinal parasites. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2012, 36, 211–214.

Garcia JA, Cimerman S. Detection of *Dientamoeba fragilis* in patients with HIV/AIDS by using a simplified iron hematoxylin technique. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2012, 45,156–158.

Garcia LS. *Dientamoeba fragilis*, one of the neglected intestinal Protozoa. *Journal of clinical microbiology* 2016, JCM-00400.

Gijsbers CF, Benninga M, Buller H. Clinical and laboratory findings in 220 children with recurrent abdominal pain. *Acta Paediatrica* 2011, 100, 1028–1032.

Girginkardesler N, Coskun S, Cuneyt Balcioglu I, Ertan P, Ok UZ. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. *Clinical microbiology and infection* 2003, 9, 110–113.

Girginkardeşler N, Kurt Ö. Dientamoebiosis. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları, 1. baskı. İzmir: Meta Basım 2007, s. 415

Girginkardeşler N, Kurt Ö, Kilimcioglu AA, Ok ÜZ. Transmission of *Dientamoeba fragilis*: evaluation of the role of *Enterobius vermicularis*. *Parasitology international* 2008, 57(1), 72-75.

Gonzalez-Moreno O, Domingo L, Teixidor J, Gracenea M. Prevalence and associated factors of intestinal parasitisation: a crosssectional study among outpatients with gastrointestinal symptoms in Catalonia, Spain. *Parasitology Research* 2011, 108, 87–93.

Grendon JH, DiGiacomo RF, Frost FJ. Descriptive features of *Dientamoeba fragilis* infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1995; 98, 309-15.

Guidetti C, Ricci L, Vecchia L. Prevalence of intestinal parasitosis in Reggio Emilia (Italy) during 2009. *Le Infezioni in Medicina* 2010, 18, 154–161.

Gulmez D, Saribas Z, Akyon Y, Erguven S. The results of Hacettepe University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory in 2003 2012: evaluation of 10 years. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2013, 37, 97–101.

Haughwout FG, Horrilleno FS. The intestinal animal parasites found in one hundred sick Filipino children. *Philippine Journal of Science* 1920, 16, 1-73.

Hiatt RA, Markell EK, Ng E. How many stool examinations are necessary to detect pathogenic intestinal protozoa? *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1995, 53, 36–39.

Holtman G A, Kranenberg JJ, Blanker MH, Ott A, Lisman-van Leeuwen Y, Berger MY. *Dientamoeba fragilis* colonization is not associated with gastrointestinal symptoms in children at primary care level. *Family practice* 2016, cmw111.

Hussein EM, Al-Mohammed HI, Hussein AM. Genetic diversity of *Dientamoeba fragilis* isolates of irritable bowel syndrome patients by high-resolution melting-curve (HRM) analysis. *Parasitology Research* 2009, 105, 1053– 1060.

Incarni RN, Ferrer E, Hoek D, Ramak R, Roelfsema J, Mughini-Gras L, Pinelli E. Diagnosis of intestinal parasites in a rural community of Venezuela: Advantages and disadvantages of using microscopy or RT-PCR. *Acta tropica* 2017, 167, 64-70.

Ito R, Sakagami J, Kataoka K, Nakamura H. Chronic diarrhea and proteinlosing gastroenteropathy caused by *Dientamoeba fragilis*. *Journal of Gastroenterology* 2004, 39(11), 1117-9.

Jepps MW, Dobell C. *Dientamoeba fragilis* ng, n. sp., a new intestinal amoeba from man. *Parasitology* 1918, 10(3), 352-367.

Jimenez-Gonzalez DE, Martinez-Flores WA, Reyes-Gordillo J, Ramirez-Miranda ME, Arroyo-Escalante S, Romero-Valdovinos M, Stark D, Souza-Saldivar V, Martinez-Hernandez F, Flisser A, OlivoDiaz A, Maravilla P. Blastocystis infection is associated with irritable bowel syndrome in a Mexican patient population. *Parasitology Research* 2012, 110, 1269–1275.

Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. Emerging from obscurity: biological, clinical, and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. *Clinical microbiology reviews* 2004, 17(3), 553-570.

Júlio C, Furtado C, Rocha R, Escobar C, Brito MJ, Oleastro M. Detection of *Dientamoeba fragilis* in Portuguese children with acute gastroenteritis between 2011 and 2013. *Parasitology* 2015, 142(11), 1398-1403.

Kaminsky RG. Parasitism and diarrhoea in children from two rural communities and marginal barrio in Honduras. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1991, 85, 70–73.

Karaman U, Atambay M, Aycan O, Yologlu S, Daldal N. Incidence of intestinal parasites in municipal sanitary workers in Malatya. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2006, 30, 181–183.

Karaman U, Turan A, Depecik F, Gecit I, Ozer A, Karci E, Karadan M. Frequency of intestinal parasites among administrators and workers in sanitary and non-sanitary institutions. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2011, 35, 30–33.

Kassem HH, Zaed HA, Sadaga GA. Intestinal parasitic infection among children and neonatus admitted to Ibn-Sina Hospital, Sirt, Libya. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 2007, 37, 371–380.

Kean BH, Malloch CL. The neglected ameba: *Dientamoeba fragilis*. *Digestive Diseases and Sciences* 1966, 11(9), 735-746.

Keystone JS, Yang J, Grisdale D, Harrington M, Pillon L, Andreychuk R. Intestinal parasites in metropolitan Toronto day-care centres. *Canadian Medical Association Journal* 1984, 131(7), 733.

Kofoid CA, Komhauser SI, Plate JT. Intestinal parasites in overseas and home service troops of the U.S. Army. *JAMA* 1919, 72, 1721-1724.

Kurt O, Girginkardesler N, Balcioglu IC, Ozbilgin A, Ok UZ. A comparison of metronidazole and single-dose ornidazole for the treatment of dientamoebiasis. *Clinical Microbiology and Infection* 2008,14, 601–604.

Lainson R, da Silva BA. Intestinal parasites of some diarrhoeic HIV-seropositive individuals in North Brazil, with particular reference to *Isospora belli* Wenyon, 1923 and *Dientamoeba fragilis* Jepps & Dobell, 1918. *The Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1999, 94, 611–613.

Maas L, Dorigo-Zetsma JW, de Groot CJ, Bouter S, Plotz FB, van Ewijk BE. 17 October Detection of intestinal protozoa in paediatric patients with gastrointestinal symptoms by multiplex real-time PCR. *Clinical Microbiology and Infection* 2013

McHardy IH, Wu M, Shimizu-Cohen R, Couturier MR, Humphries RM. Detection of intestinal protozoa in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* 2014, 52, 712–720

Mendez OC, Szmulewicz G, Menghi C, Torres S, Gonzalez G, Gatta C. Comparison of intestinal parasite infestation indexes among HIV positive and negative populations. *Medicina Buenos Aires* 1994, 54, 307–310.

- Menéndez C, Fernández-Suarez J, Ribeiro JAB, Rodríguez-Pérez M, Vázquez F, Gonzalez-Sotorrios N, Rodríguez-Guardado A.** Epidemiological and clinical characteristics of *Dientamoeba fragilis* infection. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica* 2019, 37(5), 290-295.
- Menghi CI, Iuvaro FR, Dellacasa MA, Gatta CL.** Survey of intestinal parasites among an aboriginal community in Salta. *Medicina Buenos Aires* 2007, 67, 705–708.
- Meropol SB.** Health status of pediatric refugees in Buffalo, NY. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine* 1995, 149, 887–892.
- Millet V, Spencer MJ, Chapin M, Stewart M, Yatabe JA, Brewer T, Garcia LS.** *Dientamoeba fragilis*, a protozoan parasite in adult members of a semicomunal group. *Digestive Diseases and Sciences* 1983, 28, 335–339
- Muller R, Lillywhite J, Bending JJ, Catford JC.** Human cysticercosis and intestinal parasitism amongst the Ekari people of Irian Jaya. *The Journal of tropical medicine and hygiene* 1987, 90, 291–296.
- Mumcuoglu I, Coskun FA, Aksu N, Purnak T, Gungor C.** Role of *Dientamoeba fragilis* and Blastocystis spp. in irritable bowel syndrome. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2013, 37, 73–77.
- Munasinghe VS, Stark D, Ellis JT.** New advances in the in-vitro culture of *Dientamoeba fragilis*. *Parasitology* 2012, 139, 864–869.
- Munasinghe VS, Vella NG, Ellis JT, Windsor PA, Stark D.** Cyst formation and faecal-oral transmission of *Dientamoeba fragilis*—the missing link in the life cycle of an emerging pathogen. *International journal for parasitology* 2013, 43(11), 879-883.
- Nagata N, Marriott D, Harkness J, Ellis JT, Stark D.** Current treatment options for *Dientamoeba fragilis* infections. *The International Journal for Parasitology – Drugs and Drug Resistance* 2012, 2, 204–215.
- Norberg A, Nord CE, Evengard B.** *Dientamoeba fragilis*-a protozoal infection which may cause severe bowel distress. *Clinical Microbiology and Infection* 2003, 9(1), 65-8.

Ockert G. Epidemiology of *Dientamoeba fragilis* Jepps and Dobell, 1918. 2. Attempt at species transfer with *Enterobius* eggs. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and immunology* 1972, 16(2), 213-221.

Ogren J, Dienus O, Löfgren S, Einemo IM, Iveroth P, Matussek A. *Dientamoeba fragilis* prevalence coincides with gastrointestinal symptoms in children less than 11 years old in Sweden. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2015, 34(10), 1995-1998.

Ogren J, Dienus O, Lofgren S, Iveroth P, Matussek A. *Dientamoeba fragilis* DNA detection in *Enterobius vermicularis* eggs. *Pathogens and Disease* 2013, 69, 157–158.

Osman M, El Safadi D, Cian A, Benamrouz S, Nourrisson C, Poirier P, Wawrzyniak I. Prevalence and risk factors for intestinal protozoan infections with *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Blastocystis* and *Dientamoeba* among schoolchildren in Tripoli, Lebanon. *PLoS neglected tropical diseases* 2016, 10(3), e0004496.

Oxner RB, Paltridge GP, Chapman BA, Cook HB, Sheppard PF. *Dientamoeba fragilis*: a bowel pathogen? *New Zealand Medical Journal* 1987, 100, 64–65.

Ozcakir O, Gureser S, Erguven S, Yilmaz YA, Topaloglu R, Hascelik G. Characteristics of *Blastocystis hominis* infection in a Turkish university hospital. *Turkiye Parazitoloji Dergisi* 2007, 31, 277–282.

Peek R, Reedeker FR, van Gool T. Direct amplification and genotyping of *Dientamoeba fragilis* from human stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 42, 631–635.

Preiss U, Ockert G, Bromme S, Otto A. *Dientamoeba fragilis* infection, a cause of gastrointestinal symptoms in childhood. *Klinische Pädiatrie* 1990, 202, 120–123.

Rayan HZ, Ismail OA, El Gayar EK. Prevalence and clinical features of *Dientamoeba fragilis* infections in patients suspected to have intestinal parasitic infection. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 2007, 37, 599–608.

Robinson GL. Laboratory cultivation of some human parasitic amoebae. *Journal of general microbiology* 1968, 53, 69–79.

Roser D, Simonsen J, Nielsen HV, Stensvold CR, Molbak K. *Dientamoeba fragilis* in Denmark: epidemiological experience derived from four years of routine real-time PCR. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2013, 32, 1303–1310.

Sarafraz S, Farajnia S, Jamali J, Khodabakhsh F, Khanipour F. Detection of *Dientamoeba fragilis* among diarrheal patients referred to Tabriz health care centers by nested PCR. *Tropical biomedicine* 2013, 30, 113–118.

Sargeant PG, Williams JE, Kumate J, Jimenez E. The epidemiology of *Entamoeba histolytica* in Mexico City. A pilot survey I. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1980, 74, 653–656.

Sargeant PG, Williams JE, Jackson TF, Simjee AE. A zymodeme study of *Entamoeba histolytica* in a group of South African schoolchildren. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1982, 76, 401–402.

Sawangjaroen N, Luke R, Prociw P. Diagnosis by faecal culture of *Dientamoeba fragilis* infections in Australian patients with diarrhoea. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1993, 87, 163–165.

Schuster H, Jackson RS. Prevalence of *Dientamoeba fragilis* among patients consulting complementary medicine practitioners in the British Isles. *Journal of Clinical Pathology* 2009, 62, 182–184.

Siala E, Guidara R, Ben Abdallah R, Ben Ayed S, Ben Alaya N, Zallaga N, Bouratbine A, Aoun K. The intestinal parasites in the food handlers of Tunis area: study of 8502 stool samples (1998-2008). *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis* 2011, 88, 77–84.

Silberman JD, Clark GC, Sogin ML. *Dientamoeba fragilis* shares a recent common evolutionary history with the trichomonads. *Molecular and biochemical parasitology* 1996, 76.1-2, 311-314.

Sivcan E, Charyyeva A, Ceylan ŞS, Yürük M, Erdoğan E, Şahin İ. *Dientamoeba fragilis* infection in patients with gastrointestinal system complaints. *Mikrobiyoloji bülteni* 2018, 52(2), 166-179.

Staat MA, Rice M, Donauer S, Mukkada S, Holloway M, Cassedy A, Kelley J, Salisbury S. Intestinal parasite screening in internationally adopted children: importance of multiple stool specimens. *Pediatrics* 2011, 128, e613–e622

Stark D, Barratt J, Chan D, Ellis JT. *Dientamoeba fragilis*, the neglected trichomonad of the human bowel. *Clinical microbiology reviews* 2016, 29(3), 553-580.

Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. A review of the clinical presentation of dientamoebiasis. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 2010, 82(4), 614-619.

Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Detection of *Dientamoeba fragilis* in fresh stool specimens using PCR. *The International Journal for Parasitology* 2005b, 35, 57–62.

Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis JT, Harkness J. Dientamoebiasis: clinical importance and recent advances. *Trends in Parasitology* 2006a, 22(2), 92-96.

Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Evaluation of three diagnostic methods, including real-time PCR, for detection of *Dientamoeba fragilis* in stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 2006b, 44, 232–235.

Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Prospective study of the prevalence, genotyping, and clinical relevance of *Dientamoeba fragilis* infections in an Australian population. *Journal of Clinical Microbiology* 2005a, 43, 2718–2723.

Stark D, Fotedar R, van Hal S, Beebe N, Marriott D, Ellis JT, Harkness J. Prevalence of enteric protozoa in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative men who have sex with men from Sydney, Australia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007b, 76, 549–552.

Stark D, Garcia LS, Barratt JL, Phillips O, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis JT. Description of *Dientamoeba fragilis* cyst and precystic forms from human samples. *Journal of Clinical Microbiology* 2014, 52, 2680–2683.

Stark D, Van Hal S, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Irritable bowel syndrome: a review on the role of intestinal protozoa and the importance of their detection and diagnosis. *International journal for parasitology* 2007a, 37(1), 11-20.

Stark D. Dientamoeba. In: Liu D, editor. *Molecular Detection of Human Pathogenic Parasites*. Boca Raton, FL, CRC Press 2012. p. 53-62.

Steinitz H, Talis B, Stein B. Entamoeba histolytica and *Dientamoeba fragilis* and the syndrome of chronic recurrent intestinal amoebiasis in Israel. *Digestion* 1970, 3, 146–153

Stensvold CR, Arendrup MC, Molbak K, Nielsen HV. The prevalence of *Dientamoeba fragilis* in patients with suspected enteroparasitic disease in a metropolitan area in Denmark. *Clinical Microbiology and Infection* 2007, 13, 839–842.,

Stensvold CR, Clark CG, Roser D. Limited intra-genetic diversity in *Dientamoeba fragilis* housekeeping genes. *Infection, Genetics and Evolution* 2013, 18, 284– 286.

Stumpel OFB, Tolboom JJM, Warris A, Beckers PJA. *Dientamoeba fragilis*, vooral bij kinderen pathogeen. *Tijdschrift voor infectieziekten* 2006; 1(4), 155-9

Taliaferro WH, Becker ER. A note on the human intestinal amoeba, *Dientamoeba fragilis*. Reprinted from: *The American Journal of Hygiene* 1924, Vol. 4, no. 1.

Tavarez LA, Pena F, Placencia F, Mendoza HR, Polanco D. Prevalence of protozoans in children with acute diarrheal disease. *Archivos Dominicanos De Pediatría* 1991, 27, 43–47.

Thomson JG, Robertson A. *Dientamoeba fragilis*, Jepps and Dobell, 1917. A case of human infection in England. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1923, 26, 135-136.

Van Gool T, Weijts R, Lommerse E, Mank TG. Triple faeces test: an effective tool for detection of intestinal parasites in routine clinical practice. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2003, 22(5), 284-290.

Van Hellemond JJ, Molhoek N, Koelewijn R, Wismans PJ, van Genderen PJ. Is paromomycin the drug of choice for eradication of *Dientamoeba fragilis* in adults? *The International Journal for Parasitology – Drugs and Drug Resistance* 2012, 2, 162– 165.

Vandenberg O, Peek R, Souayah H, Dediste A, Buset M, Scheen R, Retore P, Zissis G, van Gool T. Clinical and microbiological features of dientamoebiasis in patients suspected of suffering from a parasitic gastrointestinal illness: a comparison of *Dientamoeba fragilis* and *Giardia lamblia* infections. *The International Journal of Infectious Diseases* 2006, 10, 255–261.

Verweij JJ, Mulder B, Poell B, van Middelkoop D, Brienen EAT, van Lieshout L. Real-time PCR for the detection of *Dientamoeba fragilis* in fecal samples. *Molecular and Cellular Probes* 2007, 21, 400–404.

Walker JC, Bahr G, Ehl AS. Gastrointestinal parasites in Sydney. *Medical Journal of Australia* 1985, 143, 480.

Willhoeft U, Hamann L, Tannich E. A DNA sequence corresponding to the gene encoding cysteine proteinase 5 in *Entamoeba histolytica* is present and positionally conserved but highly degenerated in *Entamoeba dispar*. *Infection and Immunity* 1999, 67, 5925–5929.

Windsor JJ, Clark CG, Macfarlane L. Molecular typing of *Dientamoeba fragilis*. *British Journal of Biomedical Science* 2004, 61, 153–155.

Windsor JJ, Johnson EH. *Dientamoeba fragilis*: the unflagellated human flagellate. *British journal of biomedical science* 1999, 56, 293–306.

Windsor JJ, Macfarlane L. Irritable bowel syndrome: the need to exclude *Dientamoeba fragilis*. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 2005, 72.5, 501–501.

Windsor JJ, Macfarlane L, Clark CG. Internal transcribed spacer dimorphism and diversity in *Dientamoeba fragilis*. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 2006, 53, 188–192

Windsor JJ, Macfarlane L, Hughes-Thapa G, Jones SK, Whiteside TM. Detection of *Dientamoeba fragilis* by culture. *British Journal of Biomedical Science* 2003, 60, 79–83.

Windsor JJ, Rafay AM. Laboratory detection of *Dientamoeba fragilis*. *British Journal of Biomedical Science* 1997, 54, 223–224.

Windsor JJ, Rafay AM, Shenoy AK, Johnson EH. Incidence of *Dientamoeba fragilis* in faecal samples submitted for routine microbiological analysis. *British Journal of Biomedical Science* 1998, 55, 172–175.

Yakoob J, Jafri W, Beg MA, Abbas Z, Naz S, Islam M, Khan R. Blastocystis hominis and *Dientamoeba fragilis* in patients fulfilling irritable bowel syndrome criteria. *Parasitology research* 2010, 107(3), 679-684.

Yang J, Scholten T. *Dientamoeba fragilis*: a review with notes on its epidemiology, pathogenicity, mode of transmission, and diagnosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1977, 26, 16–22.

Yalçın ZG. İmmun yetmezliği olan ve olmayan ishallerde *Dientamoeba fragilis*'in görülme sıklığının araştırılması ve genotip profilinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir 2010, 127.

Ek 1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 25/08/2017-E.47685



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : 53043469-050.04.04
Konu : Kararlar

Sayın Prof.Dr. Hatice ERTABAKLAR
Öğretim Üyesi

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 24.08.2017 tarihinde yapılan olağan toplantısında çalışmanızla ilgili alınan 24 nolu karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize sunarım

e-imzalıdır

Prof.Dr. Mustafa Selim ÖZKÖK
Kurul Başkanı

KARAR 24

Protokol No : 2017/1218
Sorumlu Yürütücü : Prof.Dr. Hatice ERTABAKLAR
Parazitoloji AD

Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Hatice ERTABAKLAR'ın "*Enterobius vermicularis* saptanan olguların dışkılarında PZR yöntemi ile *Dientamoeba fragilis* varlığının araştırılması" başlıklı klinik araştırmasının 10.08.2017 tarihli kurul kararında eksiklikler saptanmıştır. 22.08.2017 tarihli gelen dilekçesi ve ekleri görüldü.

Sonuçta, klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Yine sorumlu araştırmacıya; Form 2'nin 14.1.'in son bölümünde taahhüt edilen çalışma bittikten sonra nihai raporun, [Sonuç Raporu (web'te), BGOF (Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu-gönüllüler tarafından bizzat kendilerinin kendi adı-soyadını yazması ve imzalamasının sağlanması ile adreslerinin eksiksiz olarak formlara yazılmasına dikkat edilmelidir.) ve ORF (Olgu Rapor Formu/Anket)] gönderilmesi gerektiğinin hatırlatılmasına ve sorumlu yürütücülerinin bu hususa özen göstermesi gerektiğinin bir kez daha vurgulanmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : YILDIZ, İbrahim
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Söke / 12.10.1988
Telefon :+90 543 310 28 12
E-mail : dr.ibrahimyildiz@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce, İspanyolca

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi ,Parazitoloji Anabilim Dalı	...
Lisans	Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi	2012

BURSLAR ve ÖDÜLLER:

1. **İbrahim YILDIZ**, Evren TİLEKLİOĞLU, Özge YILMAZ, Serhan SAKARYA, Hatice ERTABAKLAR, Doğada Serbest Yaşayan tehlikeli Parazit "Acanthamoeba spp." ile mücadelede yeni bir ajan; Stabilize Hipokloröz Asit (2. Uluslararası Şehir Çevresel Sağlık Kongresi Sözlü Sunum Ödülleri, Üçüncülük ödülü, II. Uluslararası Şehir, Çevre ve Sağlık Kongresi 16-20 Nisan Kapadokya, Nevşehir)

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2012-2014	Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Pratisyen Hekim
2014-2015	Eskişehir Anadolu Üniversitesi	Arş. Gör. Dr
2014-2015	Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı	Arş. Gör. Dr

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

1. **Yıldız I**, Yılmaz O, Tileklioglu E, Sakarya S, Ertabaklar H, (2018). Stabilised hypochlorous acid: a new therapeutic strategy against dangerous parasitic eye infection agent *Acanthamoeba* spp. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 19(3), 1397-1404.
2. Aynur ZE, Güçlü Ö, **Yıldız İ**, Aynur H, Ertabaklar H, Bozdoğan B, Ertuğ S, (2019). Molecular characterization of Blastocystis in cattle in Turkey. *Parasitology Research*, 1-5.
3. Malatyalı E, **Yıldız İ**, Tileklioglu E, Ertabaklar H, Ertuğ S, (2019). Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2007-2017 Yılları Arası *Toxoplasma gondii* Seroloji Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 43(1), 1-4.
4. Ertabaklar H, **Yıldız İ**, Malatyalı E, Tileklioglu E, Çalışkan SÖ, Ertuğ S, (2019). Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 2005-2017 Yılları Arasında Kistik Ekinokokkozis Şüphesiyle Başvuran Olguların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 43(3):118-22

2. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

1. Ertabaklar H, Soyder A, Malatyalı E, Tileklioglu E, **Yıldız İ**, Ertuğ S, The Evaluation of a Rapid Diagnostic Test Among Radiologically-Confirmed Cystic Echinococcosis Patients, 8th National and 1st International Congress of Hydatidology. 13-15 Nisan 2017, Çorum.(Poster)
2. Ertabaklar H, **Yıldız İ**, Özlem Çalışkan S, Ertuğ S, Retrospective Analysis of *Echinococcus granulosus* Serology Results in Adnan Menderes University Training and Research Hospital Parasitology Laboratory Between 2005 and 2015. 8th National and 1st International Congress of Hydatidology.13-15 Nisan 2017 Çorum. (Poster)

3. Ertabaklar H, **Yıldız İ**, Özün Özbay EP, Ertuğ S, Malatyalı E, Bozdoğan B, Güçlü Ö, *Trichomonas vaginalis* suşlarının polimorfik mikrosatellit lokusları kullanılarak genotiplendirilmesi. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi. 29 Haziran-1 Temmuz 2017, AYDIN (Sözlü Bildiri)
4. Ertuğ S, Tileklioğlu E, **Yıldız İ**, Malatyalı E, Ertabaklar H, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvar'ın da 2008-2015 yılları arasında *Demodex* spp. saptanan olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi. 29 Haziran-1 Temmuz 2017, AYDIN (Sözlü Bildiri)
5. Ertabaklar H, **Yıldız İ**, Malatyalı E, Tileklioğlu E, Ertuğ S, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvar'ın da son sekiz yılda kutanöz leishmaniasis tanısı almış olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. Adnan Menderes Üniversitesi 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi. 29 Haziran-1 Temmuz 2017, AYDIN (Sözlü Bildiri)
6. Ertuğ S, Tileklioğlu E, **Yıldız İ**, Malatyalı E, Ertabaklar H, Adnan Menderes Üniv. Eğitim ve Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvar'ına *Demodex* spp araştırılması için gönderilen semptomatik olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) 25 – 29 Eylül 2017, Eskişehir. (Poster)
7. Ertabaklar H, **Yıldız İ**, Malatyalı E, Tileklioğlu E, Ertuğ S, Adnan Menderes Üniv. Uygulama ve Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvar'ın da Ocak 2009-Temmuz 2017 tarihleri arasında kutanöz leishmaniasis tanısı almış olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) 25 – 29 Eylül 2017, Eskişehir (Sözlü Bildiri)
8. Tileklioğlu E, **Yıldız İ**, Bozkurt Kozan F, ERTUĞRUL M B, Ertabaklar H, Yara Myiazisi: Olgu sunumu. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) 25 – 29 Eylül 2017, Eskişehir. (Poster)
9. Ertabaklar H, **Yıldız İ**, Özün Özbay E.P, Ertuğ S, Malatyalı E, Bozdoğan B, Güçlü Ö, *Trichomonas vaginalis* suşlarının polimorfik mikrosatellit lokusları kullanılarak genotiplendirilmesi. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) 25 – 29 Eylül 2017, Eskişehir. (Poster)
10. Ertabaklar H, Soyder A, Malatyalı E, Tileklioğlu E, **Yıldız İ**, Ertuğ S, Comparison Of A Rapid Diagnostic Test And ELISA In Radiologically-Confirmed Cystic Echinococcosis Cases, XXVII World Congress of Echinococcosis, 4-7 October 2017 (Poster)

11. Ertabaklar H, Tileklioğlu E, Gülşen H Ş, Hazır C, Ertuğ S, **Yıldız İ**, Çimen H, Hazır S, Evaluation of Anti-Leishmanial activity of Photorhabdus and Xenorhabdus cell-free bacterial supernatants, 8. Global Summit on Microbiology And Infectious Diseases (Uluslararası Katılımlı) 23-23 February 2018, Paris, France. (Poster)
12. Tileklioğlu E, **Yıldız İ**, Bozkurt Kozan F, Ertuğrul M B, Ertabaklar H, Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kronik Yara ve Enfeksiyonları Bakım Ünitesinde Saptanan Dört Miyaz Olgusu, V. Ulusal Diyabetik Ayak İnfeksiyonları Simpozyumu (Uluslararası Katılımlı) 3-6 Mayıs 2018, Selçuk İzmir. (Sözlü)
13. Yılmaz Ö, **Yıldız İ**, Tileklioğlu E, Ertabaklar H, Sakarya S, Trichomonas vaginalis İle Mücadelede Yeni Bir Ajan; Stabilize Hipokloröz Asit, XIX. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (Klimik 2018), 28-31 Mart 2018, Belek/Antalya. (poster)
14. **Yıldız İ**, Tileklioğlu E, Yılmaz Ö, Sakarya S, Ertabaklar H, Önemli Bir Sağlık Sorunu Oluşturan Tehlikeli Parazit Acanthamoeba Spp. ile Mücadelede Yeni Bir Ajan; Stabilize Hipokloröz Asit, XIX. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (Klimik 2018), 28-31 Mart 2018, Belek/Antalya.(poster)
15. Tileklioğlu E, **Yıldız İ**, Malatyalı E, Ertuğ S, Ertabaklar H, Şehirlerde Değişen Çevre, İnsan, ve Bağırsak Parazitleri: Aydın örneği II. Uluslararası Şehir, Çevre ve Sağlık Kongresi 16-20 Nisan Kapadokya/ Nevşehir. (Sözlü)
16. Malatyalı E, **Yıldız İ**, Tileklioğlu E, Ertabaklar H, Ertuğ S, Toxoplasma Gondii: A Parasite from Environment to Human Cell II. Uluslararası Şehir, Çevre ve Sağlık Kongresi 16-20 Nisan Kapadokya/ Nevşehir. (Sözlü)
17. **Yıldız İ**, Tileklioğlu E, Yılmaz Ö, Sakarya S, Ertabaklar H, Doğada Serbest Yaşayan tehlikeli Parazit "Acanthamoeba spp." ile mücadelede yeni bir ajan; Stabilize Hipokloröz Asit II. Uluslararası Şehir, Çevre ve Sağlık Kongresi 16-20 Nisan Kapadokya/Nevşehir. (Sözlü)
18. **Yıldız İ**, Tileklioğlu E, Malatyalı E, Ertabaklar H, Ertuğ S, Elden Ele Enterobius Vermicularis II. Uluslararası Şehir, Çevre ve Sağlık Kongresi 16-20 Nisan Kapadokya, Nevşehir. (Sözlü)
19. **Yıldız İ**, Ucuz Konaklama hijyeni, II. Uluslararası Şehir, Çevre ve Sağlık Kongresi 16-20 Nisan Kapadokya, Nevşehir. (Davetli konuşmacı)
20. Ertabaklar H, **Yıldız İ**, Ozun Ozbay E, Ertuğ S, Malatyalı E, Bozdoğan B, Güçlü Ö MT10 is the most common Microsatellite Type (MT) among *Trichomonas vaginalis* isolates from Aydın, Turkey. 28th Annual Meeting Of The German Society For Parasitology, 21-24 March 2018 Berlin, Germany. (Poster)

21. **Yıldız İ**, Ertabaklar H, Current Developments in Molecular Biology of *T. Vaginalis*, 2nd International Health Sciences and Life Congress 24-27 April 2019 Burdur/Turkey. (Sözlü/ Tam metin)
22. **Yıldız İ**, Ertuğ S, Current status of *Enterobius vermicularis* infection in Aydın, 2nd International Health Sciences and Life Congress 24-27 April 2019 Burdur/Turkey (Sözlü/ Tam metin)
23. Malatyali E, Güçlü Ö, **Yıldız İ**, Ertuğ S, Ertabaklar H, Aydın ilinde izole edilen *Trichomonas vaginalis* izolatlarının multilokus sekans tiplendirme (MLST) yöntemi ile genotiplendirilmesi, 21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül- 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir, Türkiye.
24. **Yıldız İ**, Ertabaklar H, Tileklioglu E, Malatyali E, Ertuğ S, *Enterobius vermicularis* pozitif olguların dışkılarında *Dientamoeba fragilis* sıklığının PCR ile Araştırılması, 21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül- 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir, Türkiye.
25. Tileklioglu E, **Yıldız İ**, Bozkurt Kozan F, Ertuğrul MB, Ertabaklar H, Miyazis deneyimi: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nazlı-Selim Eren Kronik Yara ve İnfeksiyonları Bakım Ünitesi, 21. Parazitoloji Kongresi 28 Eylül- 3 Ekim 2019, Çeşme, İzmir, Türkiye.