

T.C  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GIARDİASİS TANILI HASTALARDAN İZOLE EDİLEN *Giardia intestinalis* SUŞLARININ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU-  
RESTRİKSİYON FRAGMENT LENGTH POLYMORPHİSM (PCR-  
RFLP) YÖNTEMİ İLE GENOTİPLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Nurdan GÜNGÖR**

**Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü  
BİLİM UZMANLIĞI  
Olarak Hazırlanmıştır**

**KOCAELİ**

**2021**



T.C  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GIARDİASİS TANILI HASTALARDAN İZOLE EDİLEN *Giardia intestinalis* SUŞLARININ POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU-  
RESTRİKSİYON FRAGMENT LENGTH POLYMORPHİSM (PCR-  
RFLP) YÖNTEMİ İLE GENOTİPLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nurdan GÜNGÖR

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü

BİLİM UZMANLIĞI

Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Erdener BALIKÇI

Bu Çalışma Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi

(Proje No: TYL-2020-2151) Tarafından Desteklenmiştir.

Etik Kurul Onay No: KÜ GOKAEK 2020/17

KOCAELİ

2021

## SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: Giardiasis Tanılı Hastalardan İzole Edilen *Giardia intestinalis* Suşlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Yöntemi İle Genotiplerinin Araştırılması

Tez Yazarı: Nurdan GÜNGÖR

Tez Savunma Tarihi: 15.06.2021

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Erdener BALIKÇI

Bu çalışma, sınav kurumumuz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI tezi olarak kabul edilmiştir.

### Onay

Bu tez Kocaeli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla onaylanmıştır.

.... /.... /20...

Prof. Dr. Sema Aşkın KEÇELİ

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

### **Giardiasis Tanılı Hastalardan İzole Edilen *Giardia intestinalis* Suşlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Yöntemi İle Genotiplerinin Araştırılması**

**Amaç:** Bu çalışmada; Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına parazit şüphesi ile gönderilen ve giardiasis tanısı konulan hastaların dışkı örneklerinde saptanan *G. intestinalis* suşlarının genotiplerinin belirlenmesi ve bölgesel olarak hangi genotipin yaygın olduğunun saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Şubat 2020- Aralık 2020 tarihleri arasında parazit şüphesi ile gönderilen 1356 dışkı örneği nativ Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemleri uygulanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Mikroskopik inceleme ile *Giardia intestinalis* saptanan dışkı örneklerinden QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Beta giardin gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçası PCR ile çoğaltılmıştır. Oluşan PCR ürünleri HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimi ile muamele edilerek RFLP yöntemi uygulanmıştır.

**Bulgular:** Çalışmamıza dahil edilen 36 giardiasis tanılı hastaların (hastanın) dışkı örneklerinin 29'unda B genotipi (%80,4) 7'inde A genotipi (%19,6) olduğu saptanmıştır. Semptomatik 35 hastanın 29'unda B genotipi, 6'sında A genotipi, asemptomatik bir hastada ise A genotipi saptanmıştır.

**Sonuç:** Bu tez çalışmasında B genotipi baskın olarak saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Giardia intestinalis*, Giardiasis, Beta giardin, PCR-RFLP, İnsan

## ABSTRACT

### **Inverstigation of Genotypes Of Giardia intestinalis Strains Isolated From Patients With Giardiasis By Polmerase Chain Restriction-Fragment Length polymorphism (PCR-RFLP) Method.**

**Objective:** In this study; It was aimed to determine *G. intestinalis* genotypes by applying PCR-RLPF method in stool samples of patients diagnosed with giardiasis from the stool samples sent to the Microbiology Laboratory of Kocaeli University Research and Application Hospital with suspicion of parasites, by applying the PCR-RFLP method in the stool samples and to determine which genotype is common locally.

**Method:** 1356 stool samples sent to Kocaeli University Research and Application Hospital Microbiology Laboratory with suspicion of parasites between February and December 2020 were examined under a light microscope by applying native Lugol and formol ethyl acetate precipitation methods. DNA isolation was performed using the QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit from stool samples detected with *G. intestinalis* by microscopic examination. The 753 bp long fragment of the beta giardin gene region was amplified by PCR. RFLP method was applied by treating PCR products with HaeIII (BsuRI) restriction enzyme.

**Results:** In the stool samples of 36 giardiasis patients included in our study, 29 (80.4%) had B genotype and 7 (19.6%) had A genotype. Of the 35 symptomatic patients, 29 had B genotype, 6 had A genotype, and an asymptomatic patient had A genotype.

**Conclusions:** In this thesis study, B genotype was determined as dominant.

**Keywords:** *Giardia intestinalis*, Giardiasis, Beta giardin, PCR-RFLP, Human

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın tasarlanmasından sonlanmasına kadar her aşamasında her türlü destek veren, maddi ve manevi her zaman yardımcı olan, yol gösteren ve birçok konuda kendisini örnek aldığım ve iyi ki tanıdığım dediğim değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Erdener BALIKÇI'ya,

Tez çalışmam boyunca karşılaştığım sorunların üstesinden gelmemde yardımcı olan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Fetiye KOLAYI ve Prof. Dr. Murat HÖKELEK'e

Yüksek lisans eğitimimin boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ, Prof. Dr. Devrim DÜNDAR, Prof. Dr. Fatma BUDAK, Prof. Dr. Sema KEÇELİ, Prof. Dr. Zeki YUMUK'a,

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca yardım, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Doğanhan Kadir ER, Arş. Gör. Eda YAZICI ÖZÇELİK, Arş. Gör. Dr. Elif OKUMUŞ başta olmak üzere Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm asistan arkadaşlarıma, Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin UZUNER'e ve Tıbbi Lab. Tek. Özkan KIZILAĞIL'a

Tez çalışmasında kullanıldığım örneklerin toplanmasında yardımcı olan Tıbbi Lab. Tek. Duygu AKBAŞ'a,

Çalışmamın istatistiksel hesaplamaları için yardımcı olan Prof. Dr. Canan BAYDEMİR'e

Tez çalışmamın gerçekleşmesinde sağladığı maddi destekleri (Proje No: TYL-2020-2151) için üniversitemizin Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Dostluklarıyla her zaman yanında olan Esra MUTLU, Zeynep KAYA KÖKTÜRK, Burcu KARPUZ ve Elif Aysu ÖZKÖK'e

Eğitim hayatım boyunca gösterdikleri anlayış, hoşgörü ve her zaman moral veren, yanımda olan canım babam Hamza GÜNGÖR, annem Medine GÜNGÖR ve abim Rıdvan GÜNGÖR'e

TEŞEKKÜR EDERİM.

.....2021

NURDAN GÜNGÖR

## BEYAN

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bilim Uzmanlığı tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Giardiasis Tanılı Hastalardan İzole Edilen *Giardia intestinalis* Suşlarının Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Yöntemi İle Genotiplerinin Araştırılması” başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin vb.) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

..... / ..... / 20....

Nurdan GÜNGÖR

İmza



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
BEYAN .....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER.....	xiii
TABLolar.....	xiv
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Parazitoloji Tarihi.....	1
1.1.2 Giardia Tarihi.....	1
1.2 Sınıflandırma.....	3
1.3 Tür Ayrımı.....	3
1.4 Evrim.....	6
1.5 Morfoloji .....	7
1.5.1 Trofozoit (Vejetatif) Formu.....	7
1.6 İnce Yapı.....	9
1.6.1 Trofozoit Şeklinin İnce Yapısı.....	9
1.6.2 Kist Şeklinin İnce Yapısı.....	11
1.7 Endosimbiyont .....	12
1.8 Konaklar .....	12
1.9 Antijenik Yapısı ve Varyasyonları .....	13
1.10 Yaşam Döngüsü.....	14
1.12 <i>G. intestinalis</i> GENOTİPİ.....	17
1.13 <i>G. intestinalis</i> 'in MOLEKÜLER YAPISI .....	18
1.14 <i>G. intestinalis</i> 'in Epidemiyolojisi .....	19
1.15 Bulaşma Yolları.....	20
1.15.1 Fekal- Oral Yol ile Bulaş .....	20
1.15.2. Çevresel Faktörler ile (Su- Gıda) Bulaş .....	21
1.15.3 Zoonotik Bulaş.....	21
1.16 Patogenez .....	22
1.17 İmmunoloji .....	23
1.18 Klinik.....	24

1.18.1. Asemptomatik Taşıyıcılık .....	25
1.18.2 Akut Giardiasis.....	25
1.18.3 Kronik Giardiasis .....	25
1.19 TANI .....	26
1.19.1 Etyolojik Tanı .....	27
1.19.1.1 Dışkının Makroskopik Olarak İncelenmesi .....	27
1.19.1.1 Dışkıda Etkensel Tanı .....	27
1.19.1.1.1 Direkt Bakı (Nativ-Lugol) Yöntemi .....	27
1.19.1.2.2 Çoklaştırma (Konsantrasyon) Yöntemleri .....	28
1.19.1.2.2.1 Çöktürme (Sedimentasyon) Yöntemi .....	28
1.19.1.2.2.2 Yüzdürme (Flatasyon) Yöntemi.....	29
1.19.1.2.3 Boyama Yöntemleri .....	29
1.19.1.2.3.1 Giemsa Boyama .....	30
1.19.1.2.3.2 Trikrom Boyama .....	30
1.19.1.2.3.3 Demirli Hematoksilen Boyama .....	30
1.19.1.2.4 Kültür Yöntemler .....	31
1.19.1.3 Duodenal Sıvıda Etkensel Tanı .....	31
1.19.1.3.1 Duodenal Aspirasyon.....	31
1.19.1.3.2 Duodenal Biyopsi .....	32
1.19.1.3.3 Entero-Test .....	32
1.19.1.4. Saklama Solüsyonları .....	32
1.19.1.4.1 Formaldehit Solüsyonu.....	32
1.19.1.4.2 Merthiolate-İodine –Formalin (MIF) Solüsyonu .....	32
1.19.1.4.3 Polivinil Alkol (PVA) Solüsyonu .....	33
1.19.1.4.4 Sodyum Asetat-Asetik Asit- Formaldehit (SAF) Solüsyonu .....	33
1.19.2 Dolaylı (İndirekt) Tanı Yöntemleri .....	33
1.19.2.1 İndirekt İmmunofluoresans (IFA) tekniği .....	33
1.19.2.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) .....	33
1.19.2.3 Monoklon Antikorlar .....	34

1.19.3 Genetik Esaslı Tanı Yöntemleri.....	34
1.19.3.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) .....	34
1.19.3.2 Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi / Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (RFLP).....	34
1.20 Tedavi.....	36
1.21 Korunma.....	37
2.AMAÇ.....	38
3. YÖNTEM .....	40
3.1 Dışkı Örneklerinin Mikroskopik İncelenmesi.....	40
3.1.1 Nativ inceleme.....	40
3.1.2 Lugol inceleme .....	40
3.1.3 Formol-Etil Asetat Çöktürme Yöntemi.....	41
3.2 DNA İzolasyonu .....	42
3.3 <i>G. intestinalis</i> 'in $\beta$ -giardin(bg) Gen Bölgesinin Amplifikasyonu.....	54
3.3.1 $\beta$ -giardin(bg) geninin 753 bp'lık uzun parçasının elde edilmesi.....	54
3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (PCR- RFLP).....	59
3.4.1 Agaroz Jelin Hazırlanması ve RFLP Ürünlerin Yüklenmesi .....	63
3.5 İstatistiksel Analiz.....	67
4. BULGULAR .....	71
4.1 PCR-RFLP BULGULARI .....	73
4.1.1 Beta- Giardin Geninin 753 bp'lik Uzun Parçasının PCR ile Çoğaltılması ..	73
4.1.2. Beta Giardin Gen Bölgesinin 753 bp'lık Uzun Parçasının PCR-RFLP'si ..	74
5. TARTIŞMA.....	77
6. SONUÇ ve ÖNERİLER .....	85
7. KAYNAKLAR.....	86
8. ÖZGEÇMİŞ .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.6
9. EKLER .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
9.1 Etik Kurul.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

## SİMGELER ve KISALTMALAR

Bp: Basepair

cm: Santimetre

dk: Dakika

dH<sub>2</sub>O: Distile su

ELISA: Enzym Linked Immuno Sorbent Assay

GC: Guanin-sitozin

g: gram

HCl: Hidroklorikasit

IgG: İmmünglobulin G

IgA: İmmünglobulin A

IgM: İmmünglobulin M

kDa: kilodalton

kg: kilogram

Mb: Megabaz

mg: miligram

ml: mililitre

mm: milimetre

nm: Nanometre

NaCl: Sodyum klorür

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

U: Unit

UV: Ultraviyole

yy: Yüzyıl

x g: Gravite

$\mu$ l: mikrolitre

$\mu$ m: Mikrometre

$\alpha$ : Alfa

$\beta$ : Beta

$^{\circ}$ C: Santigrat derece

%: Yüzde



## ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Lambl'ın <i>Cercomonas intestinalis</i> adını verdiği organizma.....	2
Şekil 1.2. <i>G. intestinalis</i> 'in trofozoit şekli .....	8
Şekil 1.3. <i>G. intestinalis</i> 'in kist şekli.....	8
Şekil 1.4. <i>G. intestinalis</i> 'in trofozoitinin kesiti .....	10
Şekil 1.5. <i>G. intestinalis</i> trofozoitin yüzeyindeki varyanta sfesifik yüzey proteinleri (VSP) .....	14
Şekil 1.6. <i>G. intestinalis</i> 'in yaşam döngüsü .....	16
Şekil 1.7. Formol eter yöntemiyle hazırlanmış Lugolle boyanmış <i>G. intestinalis</i> kist formu .....	29
Şekil 1.8. Trikrom boyası ile boyanmış <i>G. intestinalis</i> 'in kist formu .....	30
Şekil 3.1. Nativ-Lugol (Direkt Bakı) Yöntemi.....	41
Şekil 3.2. Formol-Etil Asetat Çöktürme yöntemi.....	42
Şekil 3.3. DNA izolasyon aşamaları.....	44
Şekil 3.4. NanoDrop Cihazı.....	53
Şekil 3.5. İzole edilen DNA'ların jelde görünümü.....	54
Şekil 3.6. PCR aşamaları .....	55
Şekil 3.7. RFLP yönteminin aşamaları .....	60
Şekil 3.8. Agaroz jelin hazırlanması ve ürünlerin yüklenmesi.....	64
Şekil 4.1. Beta Giardin gen bölgesinin 753 bp'lik uzun parçasının jel görüntüsü .....	73
Şekil 4.2. Beta Giardin gen bölgesinin 753 bp'lik uzun parçasının RFLP jel görüntüsü....	74

## TABLULAR

Tablo 1.1. Giardia türleri .....	5
Tablo 1.2. <i>G. intestinalis</i> 'in genotipleri ve konakları.....	12
Tablo 1.3. <i>G. intestinalis</i> 'in tanı yöntemlerinin karşılaştırılması .....	35
Tablo 1.4. Giardiasis tedavisinde kullanılan ilaçların yetişkin ve çocuk enfeksiyonlarındaki etkinliği.....	37
Tablo 3.1. <i>G. intestinalis</i> DNA'sında beta giardin gen bölgesinin 753 bp uzun parçasının belirlenmesinde kullanılan primerler.....	54
Tablo 3.2. $\beta$ -giardin(bg) uzun parçasını elde etmek için kullanılan PCR program.....	55
Tablo 4.1. Hastaların cinsiyete göre dağılımı ve yüzdeleri .....	70
Tablo 4.2. Hastaların yaş dağılımları ve yüzdeleri.....	71
Tablo 4.3. Giardiasis hastaların mikroskopik olarak dışkı inceleme yöntemleri .....	71
Tablo 4.4. <i>G. intestinalis</i> 'in direkt mikroskopik bakışındaki formları ve yüzdeleri .....	71
Tablo 4.5. Giardiasis hastaların klinik belirtileri ve yüzdeleri .....	72
Tablo 4.6. Giardiasis tanısı konulan kadın ve erkek hastaların klinik belirtileri.....	72
Tablo 4.7. Yaş ve klinik belirti .....	72
Tablo 4.8. PCR-RFLP 'de elde edilen genotipler.....	74
Tablo 4.9. PCR-RFLP'de elde edilen genotipleri cinsiyet ile dağılımı.....	75
Tablo 4.10. PCR-RFLP'de elde edilen genotiplerin yaş ile dağılımı.....	75
Tablo 4.11. Giardiasis hastaların tanısı ile genotip dağılımı .....	76
Tablo 4.12. Giardiasis hastalarının klinik belirti ile genotip dağılımı.....	76
Tablo 5.1. <i>Giardia intestinalis</i> ' in prevalans sonuçları.....	77

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Parazitoloji Tarihi

Göz ile görülebilen parazitler ve yaptıkları hastalıklar eski zamanlardan beri insanların dikkatini çekmişlerdir (Özcel, 2007). Parazitoloji tarihinin daha iyi anlaşılabilmesi için, parazitoloji tarihi, eski periyod ve yeni periyod olmak üzere 2 kısımda incelenmektedir.

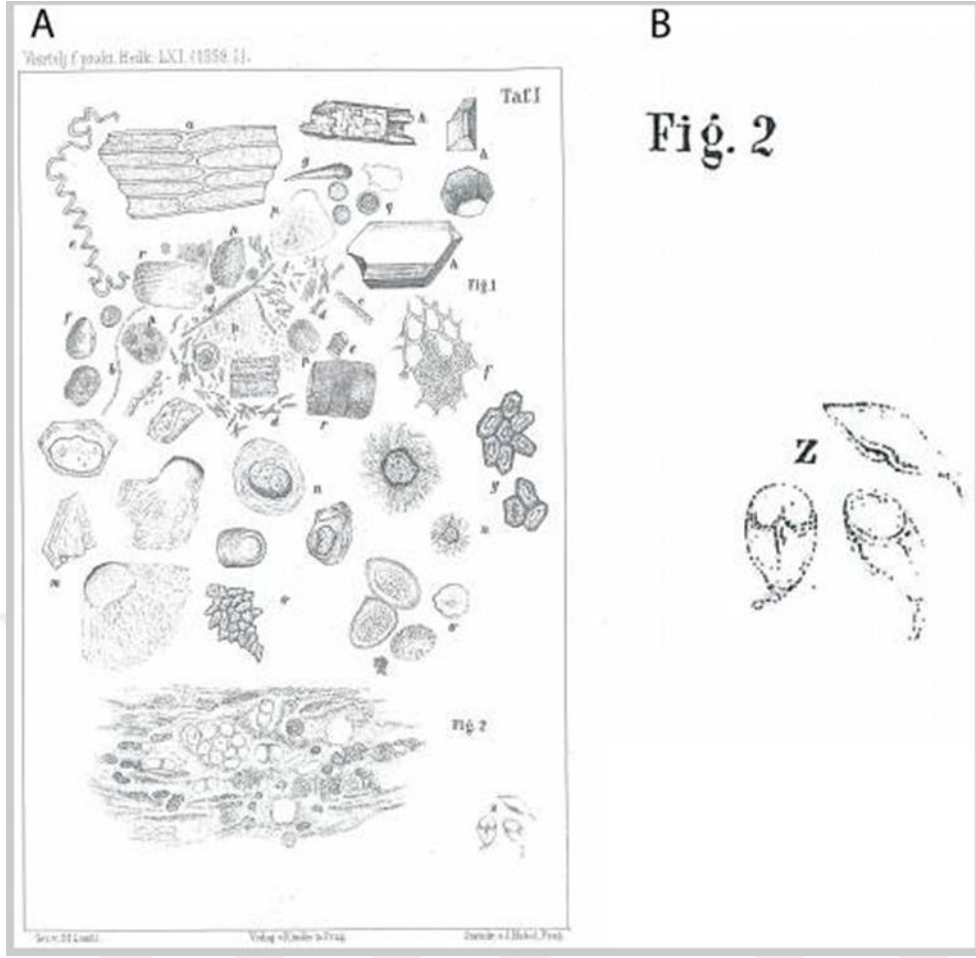
Eski periyod 16. yy. sonuna kadar sürmekte olup bu dönemde canlı ve hareketli olan, insan vücudu üzerinde yaşayan zooparazitler gözlemlenmiş, çizimleri ve isimlendirmeleri yapılarak kitabelerde, eserlerde yer almaktadır (Oytun, 1968).

Yeni periyod 18 yy.'da Francesco Redi'nin araştırmaları ile başlamaktadır. Bu dönemde Helmintoloji ve Parazitoloji sahasında keşifler yapılmıştır (Oytun, 1968; Özcel, 2007).

### 1.1.2. *Giardia spp.*'nin Tarihi

Antonie van Leeuwenhoek 1681 yılında Royal Society yazdığı bir mektupta kendi ishali dışkısını kendi el yapımı lenslerinden birini kullanarak mikroskopik olarak incelemiş ve gözlemlerini bildirmiştir. Net görüntü elde edememesi nedeni ile organizmaların tanımlanmasını tam yapamadığı gibi çizimlerini de gerçekleştirememiştir. Ancak sözel ifadelerine bakıldığında Antonie van Leeuwenhoek'in trofozoit açıklaması; ventral diski, şekli, boyutu ve hareketli flagella varlığını ifade ettiği anlaşılmaktadır. *Giardia intestinalis* (*G. intestinalis*)'in görüntüsel ilk tanımlanması; Lambl tarafından 1859 yılında organizmayı daha ayrıntılı olarak, tanımlamış ve organizmanın çizimlerini yayınlamıştır. Lambl *Cercomonas intestinalis* adını verdiği organizmanın *Cercomanas* cinsine ait olduğunu bildirmiştir (Ivanov, 2010; Farthing, 1996; Meyer & Radulescu, 1979). Şekil 1.1'de gösterilmiştir.





**Şekil 1.1** Lambl'ın *Cercomonas intestinalis* adını verdiği organizma (Lipoldová, 2014).

Aynı dönemde Grassi (1879) kemirgenlerde bulduğu bir organizmayı *Dimorphus muris* olarak adlandırmıştır. Kunstler 1882'de kurbağa yavrularındaki bir organizmayı *Giardia* olarak adlandırmasından sonra *Giardia* bir cins adı olarak tanımlanmış ve kullanılmaya başlanmıştır.

Daha sonraki dönemde adlandırmalarda Blanchard 1888'de *Lambliia intestinalis*'i önermiş, Stile 1902' de Blanchard'ın önerdiği *Lambliia intestinalis*'i *Giardia duodenalis* olarak değiştirmiştir. Kofoid ve Christiansen 1915 yılında *Giardia lamblia* ve 1920 yıllarında *Giardia enterica* türlerini adlandırmışlardır (Adam, 2001; Farthing, 1996).

Simon ise *Giardia lamblia* ve *Giardia muris* arasında ayırım yapmak için morfolojik kriterler kullanması sonucunda insan formu için *Giardia lamblia* adını kabul etmiştir. 1970'lerden sonra da bu adlandırma (*G. lamblia*) yaygın olarak kabul görmüştür. Ancak 1980'lerden sonra bazı araştırmacılar *Giardia duodenalis* isminin kullanılmasını teşvik

ederlerken bazı araştırmacılar da 1990'lardan sonra *G. intestinalis* isminin diğerlerine göre daha kullanılabilir olduğunu iddia etmektedirler (Adam, 2001).

Hem Antonie van Leeuwenhoek hem de Lambl ishali dışkılarındaki parazitleri tanımlasa da *Giardia spp.*'nin gerçek bir enteropatojen mi yoksa sadece zararsız bir kommensal mi olduğu tartışması uzun yıllar boyunca devam etmiştir. Daha sonraki yıllarda ise, *Giardia spp.*'nin semptomatik insan enfeksiyonu ile ilgili çok sayıda klinik rapor bildirilmiş ve insanda *Giardia spp.* enteropatojen olarak kabul edilmiştir (Farthing, 1996).

## 1.2. Sınıflandırma

*G. intestinalis*'in bugün geçerli olan sistematik sınıflandırması aşağıda gösterildiği gibidir (Daldal & Özensoy, 1997).

<b>Kingdom</b>	Protista
<b>Phylum</b>	Protozoa
<b>Subphylum</b>	Sarcomastigophora
<b>Superclassis</b>	Zoomastigophora
<b>Ordo</b>	Diplomonadida
<b>Family</b>	Hexamitidae
<b>Genus</b>	Giardia

## 1.3. Tür Ayrımı

*Giardia* türleri (*G. duodenalis*, *G. muris*, *G. agalis*, *G. ardeae*, *G. peramelis*, *G. microti* ve *G. psittaci*. ve *G. cricetarum*) memelileri, amfibileri ve kuşlara kadar çok sayıda konağı enfekte etmektedirler. *Giardia spp.*'nin yapısal ayrımlarında 40'dan fazla tür saptanmıştır; bu ayırımında trofozoit şekilleri, boyutları, median cisimlerinin yapılarındaki değişiklikler ve konak özgülükleri incelenmiştir (Daldal & Özensoy, 1997). Örneğin Francis Filice 1952 yılında; *Giardia*'yı median cisimciklerindeki değişikliklerine, trofozoit şekline ve ventral diskin uzunluğuna göre *G. duodenalis*, *G. muris* ve *G. agalis* olarak 3 morfolojik şekle göre sınıflandırmıştır (Mahbubani et al., 1992; Monis et al., 2003).

Son kaynaklar *Giardia* tür sayısını 8 olarak kabul etmektedir. Bunlar; *G. duodenalis*, *G. muris*, *G. agalis*, *G. ardeae*, *G. peramelis*, *G. microti* ve *G. psittaci*. ve *G. cricetarum*'dır (Ryan & Zahedi, 2019). İnsanlardan izole edilen *Giardia* türü (*G. duodenalis*, *G. intestinalis*,

*G. lamblia* ve *Lambliia intestinalis*) yukarıda da belirttiğimiz gibi farklı adlandırmalar altında tek türdür (Mahbubani et al., 1992).

Yukarıda belirttiğimiz kriterler göre *Giardia* türlerini sınıflandırdığımızda;

***Giardia duodenalis - lamblia - intestinalis***: Trofozoit şekli armut şeklindedir. Trofozoit şeklinin boyutu bulunduğu konağa göre 11-16 µm X 5-9 µm arasında değişiklik göstermektedir. Median cisim iki tane bazen bir tane bulunabilmektedir. Median cisim tırnak, virgül veya pençe şeklindedir. *G. duodenalis* insan, kuş, kemirgen ve sürüngen gibi değişik konaklarda görülmektedir (Adam, 2001; Daldal & Özensoy, 1997).

***Giardia agilis (G. agilis)***: Trofozoit şekli uzun, dar 20 µm X 4,5 µm boyutunda, median cisim uzun ve gözyaşı şeklindedir. *G. agilis* türü amfibilerde görülmektedir (Adam, 2001; Ak et al., 2007; Daldal & Özensoy, 1997; Meyer & Radulescu, 1979).

***Giardia muris (G. muris)***: Trofozoit şekli armut şeklindedir. 10 µm X 12 µm uzunluğunda, 5- 7 µm enindedir. Median cisim merkezde yer alıp iki küçük yuvarlak şeklindedir. *G. muris* türü kemirgen, sürüngen ve kuşlarda görülmektedir (Adam, 2001; Daldal & Özensoy, 1997; Friend, 1966).

***Giardia psittaci (G. psittaci)***: Trofozoitleri yaklaşık 14 µm uzunluğunda 6 µm genişliğinde armut şeklindedir. Median cisim pençe şeklindedir. *G. psittaci* muhabet kuşlarında bulunmaktadır. Ventro-lateral yaka bulunmamaktadır (Erlandsen & Bemrick, 1987).

***Giardia ardea (G. ardea)***: Trofozoit uzunluğu 3,3 µm – 10,5 µm arasında değiştiği bildirilmiştir. Gözyaşı şeklinde çekirdekleri bulunmaktadır. Median cisim küçük yuvarlak ya da pençe şeklindedir. Tek bir kaudal fallagelluma sahiptir. *Giardia ardea* türü büyük mavi balıkçılarda bulunmaktadır (Daldal & Özensoy, 1997; Erlandsen et al., 2017).

***Giardia microti (G. microti)***: Trofozoit uzunluğu 12 µm -15 µm uzunluğunda, 6 µm- 8 µm genişliğindedir. Trofozoit formu *G. duodenalis*'e benzemektedir. *Giardia microti* kemirgenlerde bulunur (Monis et al., 2009).

***Giardia peramelis (G. peramelis)***: *G. peramelis* kistlerinin uzunluğu ortalama 12,68 µm'dır. Kist genişliği ortalama 7,88 µm'dır. *G. peramelis* kistleri *G. duodenalis*'in kistlerinden morfolojik olarak ayırt edilemez. *G. peramelis* keseli hayvanlarda bulunur (Hillman et al., 2016).

***Giardia cricetidarum* (*G. cricetidarum*):** Trofozoit uzunluğu 12 µm -18 µm uzunluğunda 8 µm- 12 µm genişliğindedir. Trofozoitlerinde dört çift flagella bulunur ve armut şeklindedir. Kist formları ise 9 µm- 12 µm uzunluğunda ve 10 µm genişliğinde oval şekillidir. *G. cricetidarum* hamsterlarda görülür (Lyu et al., 2018).

**Tablo 1.1.** *Giardia* türleri (Adam, 2001; Daldal & Özensoy, 1997; Hillman et al., 2016; Lyu et al., 2018).

<i>Giardia</i> Türü	Konak Tercihi	Ayırt Edici Morfolojik Özellik		Moleküler Veri
		Işık Mikroskobu	Elektron mikroskobu	
<i>G. duodenalis</i>	Memeliler	Median cisim pençe şeklindedir.		Farklı genotipleri bulunmaktadır.
<i>G. agalis</i>	Amfibiler	Median cisim uzun ve damla şeklindedir		-
<i>G. muris</i>	Kemirgenler	Median cisim iki küçük yuvarlak şeklindedir.		<i>G. duodenalis</i> 'den uzaktır.
<i>G. psittaci</i>	Muhabbet kuşlarında	Median cisim pençe şeklindedir.	Ventrolateral yaka gelişmemiş ve marjinal oluk yok.	-
<i>G. ardeae</i>	Büyük Mavi Balıkçıl	Median cisim küçük yuvarlak ya da pençe şeklindedir. Tek bir kaudal flagelluma sahiptir.	Ventral disk ve kaudal flagella <i>G. muris</i> 'e benzemektedir.	<i>G. duodenalis</i> 'e <i>G. muris</i> 'den daha yakındır.

**Tablo 1.1.** *Giardia* türleri (Adam, 2001; Daldal & Özensoy, 1997; Hillman et al., 2016; Lyu et al., 2018).Devam)

<i>Giardia</i> Türü	Konak Tercihi	Ayırt Edici Morfolojik Özellik		Moleküler Veri
		Işık Mikroskobu	Elektron mikroskobu	
<i>G. microti</i>	Kemirgenler	<i>G. duodenalis</i> 'e benzemektedir.	Kistler olgun ventral diskli iki trofozoit içermektedir	<i>G. duodenalis</i> genotiplerine benzemektedir.
<i>G. peramelis</i>	Keseli Hayvanlar	<i>G. duodenalis</i> 'e benzemektedir.		<i>G. intestinalis</i> ve <i>G. microti</i> 'den uzaktır.
<i>G. cricetarum</i>	Hamster	<i>G. muris</i> 'e benzemektedir.	Trofozoitleri diğer <i>Giardia spp.</i> 'lere göre daha geniş ve kalındır.	<i>G. muris</i> 'e benzemektedir.

#### 1.4. Evrim

Protozonlar içerisinde bulunan *Giardia* türleri prokaryot ve ökaryot arasında bir bağlantı olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, *Giardia*'nın birçok yönden tipik bir ökaryot olduğuna dair kanıtlar vardır. Yapılan moleküler araştırmalarda (sekanslama) şaperon ve valil-transfer RNA sentetaz gibi mitokondriyal genler keşfedilmiştir. Mitokondriyal tip ısı şok proteinlerini (mt-hsp 70) kodlayan genler izole edilmiş ve sekanslanmıştır. Ayrıca, çekirdek histonlar H2a, H2b, H3 ve H4'ü kodlayan genler sıralanmıştır ve diğer ökaryotlardaki homologlarına benzer oldukları gösterilmiştir (Syed & David; 2003).

Monoksen bir parazit olan *G. intestinalis*, farklı çekirdeğe, nükleer zara, hücre iskeleti ve endomembran sistemine sahip olması nedeniyle tipik bir ökaryotik organizmadır, ancak nükleoller ve peroksizomlar gibi ökaryotlarda bulunan diğer organelleri bulunmamaktadır. Mitokondri veya oksidatif fosforilasyon bileşenlerinden herhangi biri olmadığı için anaerobiktir (Adam, 2001; Miman & Saygı, 2017).

## 1.5. Morfoloji

*G. intestinalis*'in trofozoit ve kist olmak üzere iki iki formu bulunmaktadır (Chandra, 1982).

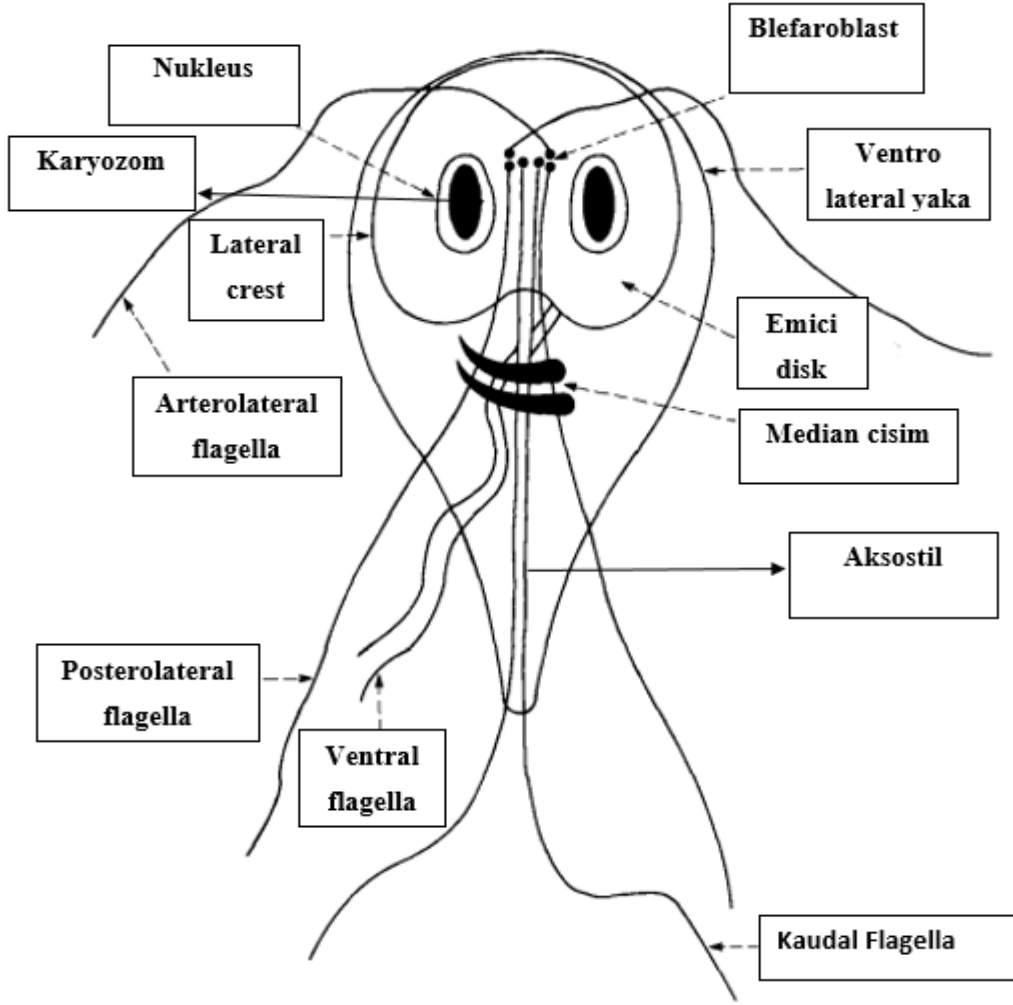
*G. intestinalis*, endoplazmik retikulum (ER) ile bağlantılı nükleer zarflara sahip iki çekirdek, plazma zarının altında bulunan çok karmaşık bir hücre iskeleti, lizozom benzeri periferik vakuoller (PV'ler) gibi ökaryotik hücrelerin bazı temel özelliklerine sahiplerken ancak klasik mitokondri, peroksizomlar ve morfolojik olarak belirgin bir golgi aygıtı gibi daha yüksek ökaryotlara özgü organelleri bulundurmamaktadır bu nedenle ilkel ökaryot olarak kabul edilirler (Carranza & Lujan, 2010).

### 1.5.1. Trofozoit (Vejetatif) Formu

*G. intestinalis*'in trofozoiti (vejetatif); 12-15 µm uzunluğunda, 5-7 µm genişliğine 1-2 µm kalınlığın da olup armut şekline benzemektedir. Trofozoit'in ön kısmı yuvarlak arka kısmı dardır, çevresinde yanal flanş olarak bilinen düz bir yapı bulunur. Yandan görünüşü karın tarafı konkav, sırt yüzü konveks görünümünde, ön kısmının tamamı emici disk (ventral disk) ile kaplıdır. Emici diskin arkasında, hücre döngüsü boyunca bozulmadan vücut uzunluğunun ¼'ü kadarı olan nükleer zarla çevrili ve simetrik yerleşimli, ön uca yakın, içerisinde karyozomları görünen iki nükleus yer almaktadır. Ortada trofozoit'in gergin olmasını sağlayan iki tane büyük aksostil bulunmaktadır. İki nükleusun ortasında flagellanın oluşumunu sağlayan kinetosomal kompleksler bulunmaktadır. Hücre gövdesinde; ventral, anteriolateral, posteriolateral ve kaudal olmak üzere dört çift flagella, median cisim ve emici disk bulunmaktadır (Carranza & Lujan, 2010; De Souza et al., 2004; Merdivenci, 1981). Flagella, eksitasyon işlemi sırasında parazit motilitesi için önemlidir ve ventral disk altında negatif basınç oluşturarak parazitin bağırsak epitel yüzeyine bağlanmasında ve *G. intestinalis*'in trofozoiti'nin hareketinden sorumludur (Carranza & Lujan, 2010).

Emici diskin arkasında bulunan, kaudal kamçıyı çaprazlayan, kıvrık çomak şeklinde bir çift median cisim (orta cisim ya da parabasol cisim) bulunur. Mikrotübüler yapıdaki median cisimler *G. intestinalis*'de bir çift ve pençe şeklindedir. Merkezi eksene dik olarak bulunmakta olan median cismin işlevi bilinmemektedir (Carranza & Lujan, 2010; Piva & Benchimol, 2004).

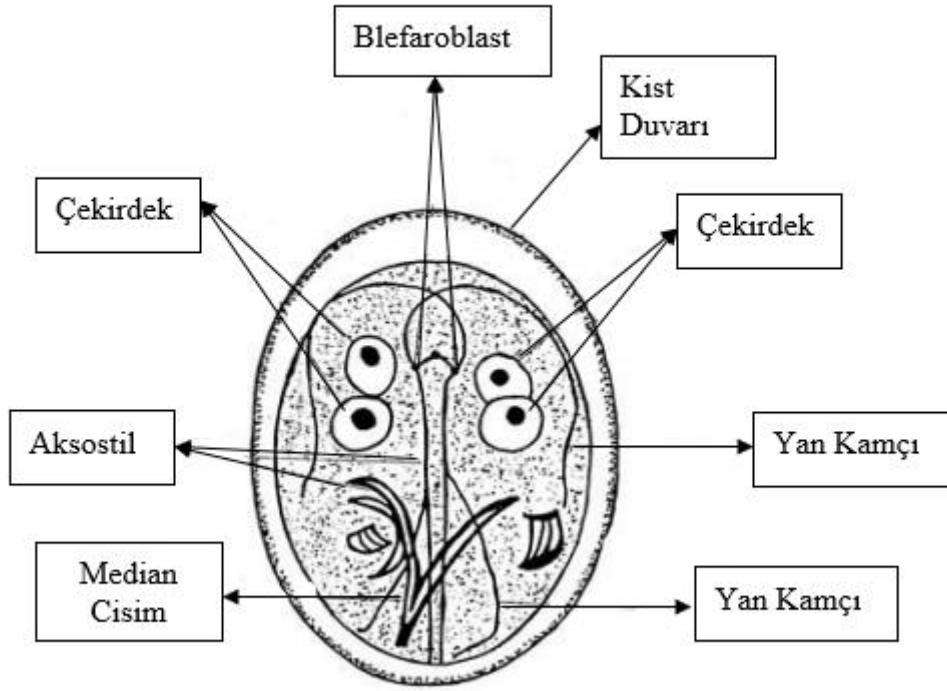
Emici disk *G. intestinalis*'in ince bağırsağın duodenum kısmında bulunan epitellerdeki mikrovillüslara tutunmasında görev almaktadır (Daldal & Özensoy, 1997; Merdivenci, 1981).



Şekil 1.2. *G. intestinalis*'in trofozoit şekli (Faubert, 2000)

### 1.5.2. Kist Formu

*G. intestinalis*'in kist formu 9-15  $\mu\text{m}$  uzunluğunda 6-9  $\mu\text{m}$  genişliğinde oval yapıya sahiptir. Sitoplazma ince granüllüdür. Sitoplazma ile kist duvarı arasında boşluk bulunmaktadır. İçerisinde median cisim, flagella, nukleus ve diğer hücre organel kalıntıları bulunmaktadır. Yeni oluşan kistte iki, olgun kistte dört nukleus bulunmakta ve kistin bir ucunda toplanmış olarak bulunmaktadır (Daldal & Özensoy, 1997; Kılıçturgay, 1996). Median cisimler kavisli ve doğrusal aksonemleri içerir (Wolfe, 1992).



**Şekil 1.2.** *G. intestinalis*'in kist şekli (Daldal & Özensoy, 1997)

## 1.6. İnce Yapı

### 1.6.1. Trofozoit Şeklinin İnce Yapısı

*G. intestinalis*'in ince yapısında;

#### a) Hücre İskeleti

*Giardia* hücre iskeleti, karmaşık mikrotübüler yapıda dört organel sistemden oluşur. Bunlar emici disk, bazal cisimler (aksonemler ve kamçı), median cisimler ve kaudal aksonemlerle ilişkili fibrillerdir. Tubulin *G. intestinalis*'in iskelet yapısında bulunan en önemli proteindir (Dawson & House, 2010; Thompson & Reynoldson, 1994).

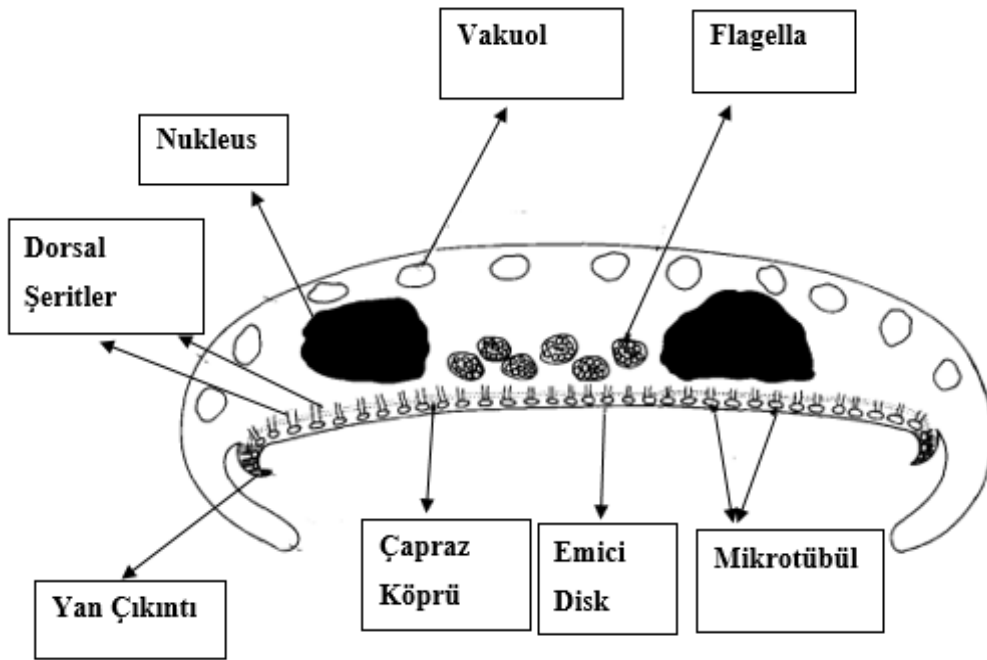
#### b) Emici Disk

Emici disk; konkav ve sert yapıda, sitoplazmaya dorsal olarak karşılıklı köprülerle birbirlerine bağlı mikro şeritler şeklinde uzanmakta ve birkaç yapısal elementten oluşmaktadır. Plazma membranına komşu olan mikrotübüllere ventral olarak bağlandığı söylenmektedir (Daldal & Özensoy, 1997). Fibröz yapıdan oluşan emici disk, dışarıya çıkıntı yapan kenarı, plazma membranın yan çıkıntısına sıkıca bağlanmaktadır (Ak et al., 2007). Sert bir yapıda olan emici disk, ventral plazma zarının sitoplazmik yüzüne kısa liflerle



bağlanan mikrotübüllerden oluşur. Emici diskte bulunan proteinler alfa tubulin, beta-tubulin ve beta-giardin'dir. Mikro şeritler giardin adı verilen farklı bir protein içermektedir ve bu proteinler *G. intestinalis*'in emici diskine özgüdür ve 29-38 kDa arasında farklılık göstermektedir ( Daldal & Özensoy, 1997; Palm et al., 2005; Peattie, 1990).

Emici disk, trofozoitin ventral tarafının ön yarısını kaplamaktadır. Parazit ince bağırsakta bulunan epitel mikrovilluslara tutunmasını sağlamaktadır, ayrıca bu yapının nükleer bölünmede rol aldığı bilinmektedir (Carranza & Lujan, 2010).



**Şekil 1.4.** *G. intestinalis*'in trofozoitinde bulunan emici diskin kesiti (Thompson & Reynoldson, 1994)

### c) Median cisim

Mikrotübül demetlerinden oluşan çifleştirilmiş median cisimleri emici disk oluşumunda rol aldığı bildirilmesine rağmen işlevi tam olarak bilinmemektedir (Ak et al., 2007; Thompson & Reynoldson, 1994).

#### **d) Sitoplazma**

İyi gelişmiş endoplazmik retikuluma sahip olan sitoplazma ince granüller görünümünde ve vakuolsüzdür. Endozomlar ve lizozomlar olarak işlev gören çok sayıda vezikül ve tübül, periferik vakuoller hücre sitoplazmasında ve plazma membranına bitişik (emici disk bölgesi hariç) bulunmaktadır (Carranza & Lujan, 2010). Ancak mitokondri, peroksizomlar, glikozomlar ve hidrojenozomlar gibi daha yüksek ökaryotlarda bulunan organeler bulunmamaktadır (Piva & Benchimol, 2004; Thompson & Reynoldson, 1994).

#### **e) Nukleus**

Boyutu birbiriyle aynı olan morfolojik olarak birbirleriyle ayırt edilemeyen simetrik iki nukleusun DNA yapılarının aynı olduğu düşünülen sonuçların bulunmasına rağmen DNA analizleri ve kromozom sayı analizleri ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (Ak et al., 2007; Thompson & Reynoldson, 1994).

#### **1.6.2. Kist Şeklinin İnce Yapısı**

Kist duvarı 0,25 µm kalınlığında olan *G. intestinalis*'in dışı lifli, içi çift membranlı olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır (Adam, 2001; Chávez-Munguía et al., 2004; Erlandsen et al., 1996). Kist duvarının dış kısmı, 7 ila 20 nm kalınlığında filamentlerden oluşan bir ağ ile kaplıdır (Adam, 2000; Adam, 2001). Parazitin kist duvarı plazma zarından peritrofik boşlukla ayrılmış iki hücre zarından oluştuğu bilinmektedir.

Kistin sitoplazmasında, yuvarlak veya tübüler şekillere sahip bol miktarda periferik vezikül bulunmakta olup kist duvarları N-asetil galaktoz amin yapısında karbonhidratlardan ve kist duvar proteinlerinden (CWPs) oluşan filamentli yapıdadır (Adam, 2001; Chávez-Munguía et al., 2004; Lanfredi-Rangel et al., 2003). Dış kist duvarında 29, 75, 88 ve 102 kDa boyutunda dört ana protein tanımlanmıştır (Adam, 2001; Lanfredi-Rangel et al., 2003). Biyokimyasal gaz kromatografisi ve kütle spektrometrisi kullanılarak yapılan çalışmalarda hem *G. intestinalis* hem de *G. muris* kistlerinin saflaştırılmış, izole edilmiş, filamentöz kist duvarlarının kuru ağırlığının yaklaşık %43'u karbonhidrattan oluştuğu ve galaktozamin tanımlanan ana amino şeker olduğu gösterilmiştir (Erlandsen et al., 1996).

*G. intestinalis* kisti, tipik nukleer zarfla çevrilmiş, 4 tane yuvarlak oval şekilli nukleus, kistin sitoplazmasında rastgele dağılma göstermiş, dikey şeritler formunda, paralel mikrotübül dizileri bulunmakta ve trofozoit formunda bulunan emici diskin birleşmemiş parçalarını oluşturmaktadır. Orta yoğunlukta nukleoplazma içeren nukleusları

bulunmaktadır. Nukleus çevresinde flagellaların aksonemleri bulunaktadır (Ak et al., 2007).

### 1.7. Endosimbiont

*G. intestinalis*'in trofozoit ve kist formlarında çeşitli bakteriler, mikoplazma ve viral inklüzyonlar (viruslar) tespit edilmiştir. Bu viral inklüzyonlar; 32 nm çapında, 7 kilobazlık segmentsiz çift sarmallı RNA (dsRNA) genomuna sahip, 100 kDa'lık büyük bir kapsid proteini içeren, küçük bir ikosahedral virüsdür. *G. intestinalis*'i enfekte ettiği için *Giardia* virüsü (GLV) olarak tanımlanmıştır. Enfekte olmamış *Giardia* izolatlarını transfekte edebilir ve *in vitro* trofozoitlerin yapışması ve büyüme oranının azalmasıyla ilişkilidir (Thompson & Reynoldson, 1994).

### 1.8. Konaklar

Kedi, köpek, kunduz ve sığır gibi memelilerde de görülen *G. intestinalis*'in esas konağı insandır (Gardner & Hill, 2001). *G. intestinalis*'in genotipleri ve konakları Tablo 1.2 'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.2.** *G. intestinalis*'in genotipleri ve konakları (Cacciò et al., 2018; Jerlströmet al., 2010; Ryan & Cacciò, 2013).

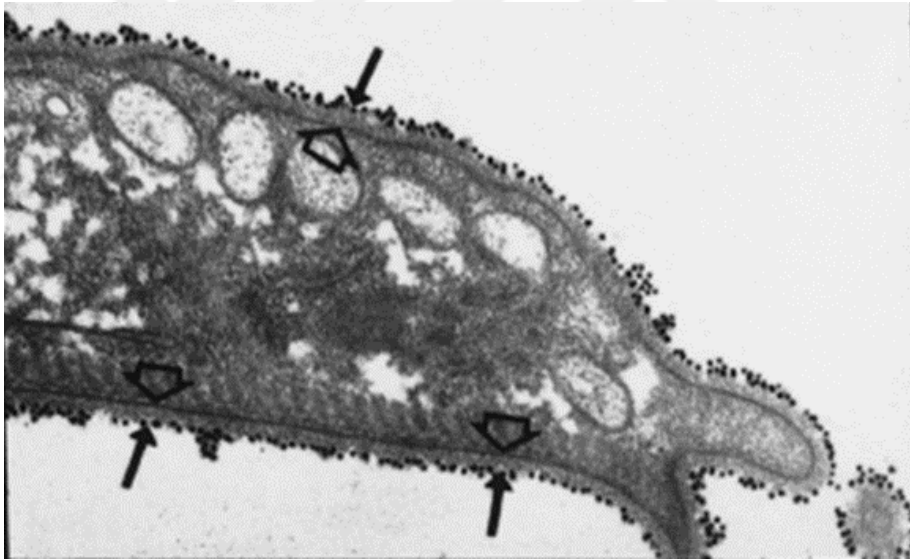
<b><i>G. intestinalis</i> Genotipi</b>	<b>Konaklar</b>
<b>Genotip A</b>	<b>İnsanlar ve diğer primatlar, köpekler, kediler ve bazı vahşi memeli türleri</b>
<b>Genotip B</b>	<b>İnsanlar ve diğer primatlar, köpekler, kediler ve bazı vahşi memeli türleri</b>
<b>Genotip C</b>	<b>Köpeklerde</b>
<b>Genotip D</b>	<b>Köpeklerde</b>
<b>Geneotip E</b>	<b>Çiftlik hayvanlarında</b>
<b>Genotip F</b>	<b>Kedilerde</b>
<b>Genotip G</b>	<b>Kemirgenlerde</b>
<b>Genotip H</b>	<b>Foklarda</b>

### 1.9. Antijenik Yapısı ve Varyasyonları

*G. intestinalis*'in trofozoitlerinin emici disk ve flagella dahil olmak üzere tüm yüzeyinde varyanta spesifik sistein açısından zengin proteinler (VSP'ler) bulunmaktadır (Yang & Adam, 1995). VSP'ler seyrek glikosile edilir ve 22,3 ila 200 kDa moleküler ağırlıklara sahip proteinlerdir (Nash, 2003).

*G. intestinalis*, VSP'nin ekspresyonunu sürekli değiştirerek antijenik varyasyona uğratmaktadır. *G. intestinalis*'in genomunun %2'lik kısmı VSP içermektedir ve 150 farklı VSP geni bulunmaktadır. VSP, sık CXXC motiflerini göstermektedir (C:sistein ve X: herhangi bir amino asittir). VSP'lerde N terminal ve C terminal olmak üzere iki bölge bulunmaktadır. N-terminal bölgesi oldukça değişkenlik gösterirken C-terminal bölgesi ise yüksek derecede homoloji göstermektedir (Prucca & Lujan, 2009).

Elektron mikroskopunda, VSP'lerin *G. intestinalis*'in ana yüzey proteini olduğunu ve yüzeyinde yoğun bir tabaka oluşturduğu görülmektedir (Şekil 1.4) (Singer, Elmendorf, Conrad, & Nash, 2001).



**Şekil 1.5.** *G. intestinalis* trofozoitin yüzeyindeki varyanta spesifik yüzey proteinleri (VSP) (Nash, 2002).

VSP'lerin çok çeşitliliği, *G. intestinalis*'i konağın doğal ve adaptif bağışıklık sisteminden uzaklaşmasını, konakçı hücrelerle etkileşmesini ve parazitin yüzeyinde birçok biyolojik görevlerin yürütülmesi işlevini kazandırmaktadır (Singer et al., 2001).

### **1.10. Yaşam Döngüsü**

*G. intestinalis* trofozoitleri, konağın ince bağırsağının mukozal yüzeyinde hızla çoğalan noninvaziv yapı iken *G. intestinalis* kistleri dışkıyla bulaşan doğrudan veya dolaylı olarak iletilebilen, çevreye dirençli basit bir yaşam döngüsüne sahiptir (Monis et al., 2009). *G. intestinalis* insandan insana, kontamine içme suyu ve yiyeceklerle, bulaşlı parmaklarla veya ters cinsel ilişkide anal yolla kişiden kişiye bulaştığı bildirilmiştir (Ali & Nozaki, 2007; Eckmann, 2003; Turhan et al., 2009; Vurupalmaz & Öter, 2016). *G. intestinalis*'in ince bağırsağa kolonizasyonu ve yaşam döngüsünün tamamlanması dört aşamalı bir işlemdir. Birinci aşama ekskistasyon, ikinci aşama bağırsak epiteline bağlanma, üçüncü aşama *G. intestinalis*'in trofozoitin çoğalması ve dördüncü aşama enkistasyon aşamasından oluşmaktadır (Farthing, 1996).

#### **a) Ekskistasyon**

Yutulan *G. intestinalis*'in kistleri, konağın midesinde bulunan, mide asidi ortamından geçtikten sonra ince bağırsağın üst kısmına gelerek oradan proksimale geçmektedir. Burada pH 6.8 ila 7.0 arasındadır ve mide asidi, karbondioksit ve pankreatik sekresyonlara maruz kaldıktan sonra, kist duvarı parçalanır ve hareketli trofozoit oluşarak ekskistasyon süreci başlamaktadır (Ali & Nozaki, 2007; Daldal & Özensoy, 1997; Farthing, 1996; Gülel et al., 2015). Eksistasyon, *in vitro* ortamda mide asidi, karbondioksit ve pankreatik sekresyonlara maruz bırakıldığında 5 ila 10 dk. içinde başlamaktadır (Farthing, 1996).

#### **b) *G. intestinalis*'in Bağırsak Epiteline Bağlanması**

*G. intestinalis* trofozoitinin yapısında bulunan emici disk ile bağırsağın epitel yüzeyine güçlü bir şekilde yapışabilmekte veya lümen içerisinde serbestçe hareket edebilmektedir. *G. intestinalis* trofozoitleri dokulara geçmemektedir (Vurupalmaz & Öter, 2016; Wolfe, 1992). Giardin proteinleri özellikle alfa, beta, delta ve gama giardinler trofozoitlerin epitel hücrelerine yapışmasında anahtar rol oynamaktadır (Cotton et al., 2011).

#### **c) Trofozoitin Çoğalması**

Aside dirençli kistler yutulduktan sonra mideden duodenuma gelip burada, ekskistasyona uğradıktan sonra aseksüel yol ile hızla çoğalmaktadırlar. Oluşan trofozoitler 5 saat de bir sırayla ilk önce iki nukleus sonra hareket organelleri ve ventral disk en son ise sitoplazma hızlı ve çok sayıda bölünmekte ve bu şekilde parazit oluşmaktadır (Daldal & Özensoy, 1997; Flanagan, 1992; Thompson, 1994). Oluşan trofozoitler tekrar bağırsak epitel hücrelerine tutunmaktadır. Trofozoit bağırsak epitelinden ayrıldıkça gastrointestinal

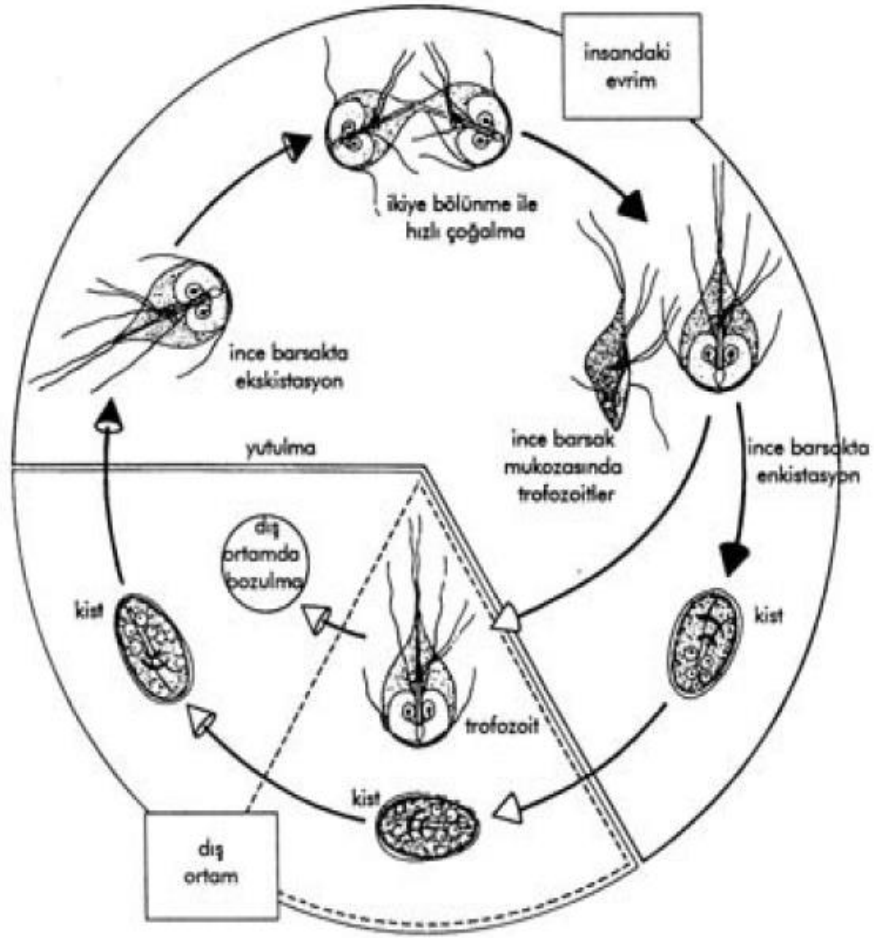
sistemin peristaltiziminin etkisiyle sürüklenerek dışkı ile atılmaktadır (Ak et al., 2007). Trofozoitler hassasdır, sadece ishali dışkılarda görülürler ve uzun süre canlı kalamamaktadırlar (Thompson, 1994).

#### **d) Enkistasyon**

*G. intestinalis*'in trofozoit formu ince bağırsaktan aşağıya doğru taşındığında replikatif olmayan kist formuna dönüşüm başlamakta ve bu dönüşüme enkistasyon adı verilmektedir (Ak et al., 2007; Palm et al., 2005).

Enkistasyon sonrası dönüşümde ilk aşamada *G. intestinalis*'in trofozoit formunda bulunan flagellalar kısaltmaya başlar ve hareket yetenekleri yavaşlamaktadır (Ivanov, 2010). Enkistasyona özgü veziküller (ESV'ler, kist duvarı proteinlerini parazit yüzeyine taşıyan veziküller) gelişir ve olgunlaşmaktadır (Einarsson et al., 2016). Enkistasyona başladığında duvar yapısını oluşturan N-asetilgalaktozamin sentezi artmaktadır ve *G. intestinalis*'de bulunan farklı genlerin up-regülasyonu da gerçekleşmektedir. Bu farklı genler içerisinde kist duvarı yapısında bulunan CWP proteinleri ekspresyonunu gerçekleştiren genler bulunmaktadır (Yaman et al., 2014). Sitoplazma yoğunlaşıp, kalın hyalin kist duvarı oluşmaya başlamaktadır. İki nukleuslu olan trofozoit formu iki nukleuslu kist formuna dönüşmektedir. Kistin içerisinde bulunan iki nukleusun her biri bölünerek dört nukleuslu kistler oluşmaktadır. Kist duvarı oluşumu yaklaşık 4 ila 70 saat içinde tamamlanmaktadır (Ivanov, 2010). Oluşan kistlerin enfektif olup olmadığı bilinmemektedir ama bazı kistler enfekte olmadan yedi gün bir olgunluk süreci geçirdiği bildirilmiştir (Thompson & Reynoldson, 1994). *G. intestinalis*'in dışarıya atılan kistleri diğer konaklar tarafından alınarak bu siklus devam etmektedir (Daldal & Özensoy, 1997).

*G. intestinalis*'in trofozoitleri dış ortamda yaşamlarını yitirirken kistler uzun süre canlılığını korumaktadır (Vurupalmaz & Öter, 2016). Enfeksiyon, *G. intestinalis* kist formlarının çoğunlukla kontamine içme suyu yoluyla alınmasıyla oluşmaktadır (Kraft et al., 2017). İnsanlarda, *G. intestinalis*'in enfektif dozu yaklaşık 10-100 kisttir (Ryan & Cacciò, 2013). *G. intestinalis*'in yaşam döngüsü Şekil 1.5 'de gösterilmiştir.



Şekil 1.6. *G. intestinalis* 'in yaşam döngüsü (Daldal & Özensoy, 1997)

### 1.11. Yaşayış, Beslenme ve Enerji Kaynakları

*G. intestinalis*'in trofozoit formları kamçılarıyla kayarak, bükülerek düzensiz ve seri şekilde hareket etmektedir. Trofozoit formlarının yapısında bulunan emici disk ile ince bağırsaktaki epitel hücrelerine sıkıca bağlanmaktadır. Bazen bağırsak salgı bezlerinin içine girebildiği gibi bazen de safra kanallarına geçer ve safra kesesinde de görülebilmektedir. *G. intestinalis* konakta bağırsakta erimiş halde bulunan maddeleri absorbe ederek beslenmektedir (Ak et al., 2007; Altıntaş, 2002).

Kistler serin, nemli alanlarda aylarca bulaşıcı kalmaktadır ve çevrede hızla birikmektedir. Musluk suyunda *G. intestinalis* 'in kistleri, 0 ila 4 °C'de 56 gün, 20 ila 28 °C'de 14 gün boyunca bulaşıcıdır. Göl suyu içinde benzer sonuçlar elde edilmiştir; 0 ila 4 °C veya 6 ila 7 °C arasında 56 gün ve 17 ila 20 °C'de 28 gün kistler hayatta kalabilmektedir. Nehir suyunda daha uzun sağ kalım fark edilmiştir, 0 ila 4°C' de 84 gün ve 20 ila 28 °C'de 28 gün

kistler hayatta kalabilmektedir. Deniz suyunda *G. intestinalis*'in kistleri 4 °C'de 65 günden fazla hayatta kalabildiği gözlemlenmiştir (Yaoyu & Xiao, 2011). *G. intestinalis*'in kistleri su ortamlarında kademeli sıcaklığa bağlı olarak 2-3 ay kadar yaşayabilmektedir. *G. intestinalis* kistleri klor gibi oksidatif dezenfektanlara karşı dirençlidir bu nedenle su, yiyecek veya yüzeylerde uzun süre hayatta kalabilmektedir (Adam, Yoder, Gould, Hlavsa, 2016; Fathi et al., 2020).

*G. intestinalis* anaerobik ve ilkel ökaryotik olduğundan mitokondri ve oksidatif fosforilasyon mekanizmaları bulunmamaktadır ve gerekli enerjiyi substrat level fosforilasyon yolu ile sağlamaktadır (Yukarı & Şahinduran, 2016). *G. intestinalis*'in trofozoitlerinin büyüebilme, gelişebilme ve üreyebilmesi için glikoza gereksinim duymaktadır (Ak, 1997b). Glikoz metabolizması d-glikoz ile sınırlıdır ve arginin, alanin ve bir çok animoosit, *G. intestinalis*'in besiyerinde üremesi için enerji metabolizmasına katılmaktadır (Ak, 1997b; Yukarı & Şahinduran, 2016).

### **1.12. *G. intestinalis* Genotipi**

*G. intestinalis*'in genotipleri, alt tipleri (A'dan H'ye), virulans faktörleri, patojenitesi, taksonomisini, genetik popülasyonu, epidemiyolojisi ve *G. intestinalis* genotiplerinin morfolojik olarak özdeş olduklarını tanımlamak ve genotiplendirmek için moleküler yöntemler kullanılmaktadır.

Bunlar gerçek zamanlı PCR, PCR-RFLP yöntemi, enzim elektroforez paternleri glutamat dehidrogenaz (gdh), beta-giardin (bg), trioz fosfat izomeraz (tpi), uzama faktörü-1 alfa, 16S rRNA genlerinin dizi analizi ile yapılabilmektedir (Çiçek & Şakru, 2015; Ertuğ et al., 2016; Jerlström-Hultqvist et al., 2010; Ryan & Zahedi, 2019). *G. intestinalis*'in genetik çeşitliliği başlangıçta tek bir lokus kullanılarak PCR tabanlı moleküler araştırma ile incelenmiştir. Son zamanlarda ise multilokus genotipleme (MLG) ile SSU-rRNA, glutamat dehidrojenaz (gdh), B-giardin (bg) ve trioz fosfat izomeraz (tpi) genlerine dayanan *G. intestinalis* gruplarını ayırmak için kullanılmaktadır (Mirrezaie et al., 2019).

En yaygın kullanılan lokuslar 18S rRNA, glutamat dehidrojenaz (gdh), uzama faktörü 1-alfa (e11- $\alpha$ ), trioz-fosfat izomeraz (tpi) ve  $\beta$ -giardin (bg) 'dir (Ryan & Zahedi, 2019).

*G. intestinalis*'in A ve B grupları izoenzim ve genetik analizlere göre, alt gruba ayrılmaktadır. A1 esas olarak zoonotiktir AII ise çoğunlukla antropotiktir; ancak, AII'in hayvanlarda da görüldüğüne dair çalışmalar bildirilmiştir (Mirrezaie et al., 2019). Genotip B ise; B3 ve B4 olarak ayrılmaktadır (Ryan & Zahedi, 2019). Genotip A1, A2 ve B esas



olarak insanlarda bulunsa da, bazen kunduzlar, kediler ve köpekler dahil olmak üzere diğer memelilerde de bulunmuştur (Cooper et al., 2010).

*G. intestinalis*'in genotiplerindeki görülen bu farklılık; *G. intestinalis*'in fenotipi, biyokimyası, metabolizması, çoğalma hızı, ilaç duyarlılığı, besiyeri pH tercihi, *G. intestinalis* virusuna duyarlılığı, enfeksiyonların kliniğinde etkili olduğu söylenmektedir (Ertuğ et al., 2016). *G. intestinalis*'in ailesi morfolojik olarak çok az değişiklik gösteren bir tür kompleksi olarak kabul edilmektedir ancak protein veya DNA dizisi polimorfizmlerine dayanarak en az sekiz farklı genetik grup veya assemblages (A ile H) tanımlanmıştır (Cacciò & Ryan, 2008; Šoba et al., 2015). *G. intestinalis*'in genotipleri ve bulunduğu konaklar Tablo 1.2' de gösterilmiştir.

Bugüne kadar sadece A ve B grupları insan ve hayvan enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir (Tamer et al., 2015; Vanni et al., 2012). Şu ana kadar A grubu WB, B grubu GS ve E grubu P15 olmak üzere üç farklı *G. intestinalis* genom türü ortaya çıkarılmış ve 2007 yılında yayımlanmıştır (Buret et al., 2020; Jerlström-Hultqvist et al., 2010).

### **1.13. *G. intestinalis*'in Moleküler Yapısı**

*G. intestinalis*, ökaryotların kromozomal DNA yapısına benzer doğrusal kromozomlar içerdiği görülmektedir. Ökaryotların kromozomal DNA'sı, nükleozomları oluşturmak için dört tane çekirdek histon proteini (H2a, H2b, H3 ve H4) ve bir bağlayıcı histon proteini (H1) ile birleşerek kromatin oluşturmakta iken *G. intestinalis*'in çekirdeği histonlarının tümünü içermekte olup ökaryot canlılardaki çekirdek histonlarına benzerdir (Adam, 2001).

*G. intestinalis*'in trofozoitinde boyutları 1,6 ila 3.8 Mb arasında değişen beş kromozoma sahip olduğu PFGE (Pulsed- field jel Elektroforez) yöntemi ile gösterilmiştir. Bu beş ana kromozoma ek olarak değişebilen küçük yardımcı kromozomlar mevcuttur. Bu yardımcı kromozomlar, bazı durumlarda uzun rRNA gen dizilerini taşıyan ana kromozomların kopyaları gibi görünmektedir (Upcroft et al., 2010).

*G. intestinalis* trofozoit'in 5 kromozomu ve genom boyutu yaklaşık 11,7 Mb, yapılan moleküler çalışmalarda da GC içeriği %49 olarak bulunmuştur (Adam, 2001; Laishram et al., 2012).

En çok çalışılan *G. intestinalis* genomu A grubu WB'dir. Haploid genoma sahiptir. Parazitin replikasyon aşaması olan trofozoitler çoğunlukla tetraploiddir (Upcroft et al., 2010).

#### 1.14. *G. intestinalis*'in Epidemiyolojisi

Günümüzde her yıl yaklaşık olarak 200 milyon kişide görülen yeryüzünde en yaygın ve önemli bir protozoal bağırsak paraziti olan *G. intestinalis* hem ılıman hem de tropik bölgelerde protozoan ishallerinin başlıca etkenlerdendir (Aw et al., 2019; Leung et al., 2019; Mizuno et al., 2020). Altyapı problemi olan ülkelerde yeterli sanitasyonun sağlanamaması ve kişisel hijyenin yetersiz olması, bulaşı fekal, oral, kontamine su ve yiyecekler ile olan *G. intestinalis* 'i önemli bir enterik problem yapmıştır (Yaman et al., 2014).

Her yaştaki insanı etkileyen ve halk sağlığı açısından ciddi risk teşkil eden giardiasisin patojen etkileri genellikle gelişmekte olan sanayileşmemiş ülke insanlarında, endemik bölgelere seyahat eden turistlerde uzun süreli ishaller ile immün direnci (bağışıklık sistemi) bozuk olan kişiler ve okul öncesi çocuklarda (en riskli grup 10 yaşından küçük çocuklar) yaygın görülmektedir (Gardner & Hill, 2001; Cama & Blaine, 2016; Wang et al., 2019; Yağci et al., 2013). Giardiasis vakalarının çoğu yaz mevsiminde ve sonbahar mevsiminin başlarında görülmektedir (Leung et al., 2019).

*G. intestinalis*'in bazı özellikleri, enfeksiyonun epidemiyolojisini etkilemektedir. Bu özellikler:

- (i) insanlarda enfektif dozu yaklaşık 10-100 kisttir,
- (ii) kistler dışkıyla atıldığında hemen bulaşıcıdır ve kişiden kişiye ya da hayvandan hayvana temas yoluyla bulaşabilir,
- (iii) kistleri dayanıklıdır ve çevrede haftalarca hatta aylarca yaşayabilir,
- (iv) çevresel yayılım ile içme suyu ve yiyeceklerin kirlenmesine yol açabilir (Cacciò & Ryan, 2008).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre, dünyada her yıl 500.000 semptomatik Giardiasis vakası rapor edilmektedir. Gelişmiş ülkelerde Giardiasis prevalansı %0,4-%7,5 ve gelişmekte olan ülkelerde Giardiasis prevalansının %8-%30 olduğu bildirilmiştir. DSÖ tarafından Giardiasis 2004 yılından günümüze yoksullukla ihmal edilmiş bir hastalık olarak kabul edilmiştir (Mirrezaie et al., 2019).

### 1.15. Bulaşma Yolları

*G. intestinalis* protoozonun rezervuarı insandır ve ara konağı bulunmamaktadır. Protozoal bağırsak parazitlerin bulaş formları kistler olup, *G. intestinalis*'in kistleri insandan insana fekal oral yolla, su bazen de gıda yoluyla olmaktadır (Gülel et al., 2015; Kılıçturgay, 1996; Wolfe, 1992). Adam ve arkadaşları 1971'den 2011'e kadar CDC 'e bildirilen yaklaşık 41,000 kişiyi etkileyen 242 giardiasis salgının verilerini analiz etmişler ve salgınların % 74.8 su kaynaklı, % 15.7 gıda kaynaklı, % 2.5 kişiden kişiye bulaştığını ve % 1.2'sinde hayvan temasından kaynaklandığını bulmuşlardır (Leung et al., 2019). Bulaşmada sinek ve farelerde mekanik taşıyıcı olarak görev aldığı bildirilirken hayvanlarda bulunan *Giardia* türlerinin insanları enfekte edebileceği yapılan çalışmalarda iddia edilmiş olup *Giardia spp.*'nin zoonotik olarak bulaşabileceği söylenmektedir (Kılıçturgay, 1996; Üner & Ertuğ, 1997).

#### 1.15.1. Fekal- Oral Yol ile Bulaş

*G. intestinalis*'in bulaşı genellikle fekal ve oral kontaminasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle enfeksiyon, özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde, zayıf hijyen ve sanitasyon koşullarından dolayı oldukça yüksektir (Ivanov, 2010). *G. intestinalis* enfeksiyonlarının en sık çocuklarda görülmesinin altında yatan nedenler; kreşlerde, anaokullarında, ilkokullarda yetersiz hijyen koşulları, eğitim eksikliği ve kalabalık çocuk popülasyonu örneğin, gündüz bakım merkezlerine gelen, özellikle 3 yaşın altındaki çocuklarda *G. intestinalis* enfeksiyonu sıklıkla gözlemlenmiştir (Ivanov, 2010). Bu yetersiz koşullarda enfekte olan çocuklar evlerinde aile bireylerine bulaştırarak salgınlara veya endemik yayılımlara neden olmaktadır (Wolfe, 1992). Zihinsel engelli insanlarda fekal-oral yolla bulaş olurken, anal ilişki yaşayan kişilerde de kişiden kişiye cinsel yolla bulaşma görülmektedir (Ali & Nozaki, 2007).

Kötü aşırı kalabalık alanlarda yaşam, yetersiz beslenme, evde evcil hayvan besleme, düşük sosyoekonomik sınıf, ve ebeveyn eğitiminin yetersiz olması gibi diğer predispozan faktörler fekal oral yolla bulaşma sıklığını artırdığı gibi salgınlara da neden olabilmektedir (Leung et al., 2019).

### 1.15.2. Çevresel Faktörler ile (Su- Gıda) Bulaş

Gelişmekte olan ülkelerde temel bulaş yolu çevresel faktörler olup bunda da önemli etkenler su ve gıdadır. Alt yapının yetersiz olduğu, içme ve atık sularının birbirlerine karıştığı, hayvanlarında su ihtiyaçlarının buralardan karşılandığı ve hayvan dışkılarının bulaşının engellenemediği yerleşim alanlarında hastalık bulaşmış konakçı hem insan hem de hayvan olsun dışkılarıyla çok sayıda kist atarak çevresel kirlilik meydana getirmektedir. Tüm bunların sonucunda bulaşma hem zoonotik hem de antropotik bir döngü ile sürdürülmektedir (Ali & Nozaki, 2007; Cacciò et al., 2003).

2004 yılında Norveç'te içme suyunda su kaynaklı giardiasis salgını meydana gelmiş ve bu salgında yaklaşık 1500 kişi etkilemiş olup filtrelenmemiş yüzey sularının yanı sıra eksik kanalizasyon sistemlerinden sızan yeraltı sularının kullanılması veya kirliliği artırılmamış bir havuzda veya eğlence amacı tatlı sularda yüzerken kirliliği taşıyan suyun yutulması ile ortaya çıktığı bildirilmiştir (Karaman et al., 2017; Leung et al., 2019; Marshall et al., 1997; Plutzer et al., 2010; Thompson, 2004). İlk bulaşın 1981 yılında kontamine ev yapımı somon yemeğinden olduğu bildirilmiştir. Gıda kaynaklı giardiasis olgularında genellikle gıda sektöründe çalışan insanların hijyen koşullarına dikkat etmemeleri sonucunda kontamine elle tutmaları ve hazırlamaları, çiğ olarak tüketilen gıda mahsullerinin kontamine sularla yıkanması etkin bulaş yollarıdır. Meyve, sebze ve kabuklu deniz hayvanlarının *G. intestinalis*'in kistleri ile kontaminasyonu önemli bir halk sağlığı sorunudur, çünkü bu ürünler genellikle termal işlem görmeden çiğ olarak tüketilmektedir (Leung et al., 2019; Plutzer et al., 2010; Porter et al., 1990; Terzi, 2005; Thompson, 2004).

### 1.15.3. Zoonotik Bulaş

Hayvanlardan insanlara giardiasisin bulaşmasındaki epidemiyolojik rolünü anlamak, *Giardia* türlerinin konak özgüllüğünün olup olmadığını veya insanlardan hayvanlara bulaşın gerçekleşip gerçekleşmediğini araştırmak için yapılan çalışmalardan elde edilen deneysel bulgular *Giardia* spp.'lerin hayvanlardan insanlara zoonotik geçişini destekler niteliktedir (Üner & Ertuğ, 1997). Bazı *Giardia* türlerinin veya *Giardia* genotiplerinin zoonotik geçişi deneysel olarak gösterilmiştir, ancak doğal koşullar altında oluşumu ve klinik önemi belirsizliğini sürdürmektedir (Mohamed et al., 2014). Zoonotik bulaşma riskinin en büyük kısmı köpek ve kediler gibi evcil hayvanlardan geldiği söylenmektedir (Roxström et al., 2006). *G. intestinalis*'in zoonotik potansiyeli konusunda hala tartışmalar sürmektedir. Örneğin *Giardia*'nın kunduzlardan insanlara içme suyu yoluyla bulaşması öne sürülmüştür (Sprong, Cacciò, & Giessen, 2009).

İnsanlardan elde edilen *Giardia*'ların mongolian gerbillere çapraz bulaşımı yapılan araştırmalarda deneysel olarak gösterilmiş, neonatal fareler ve neonatal sıçanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda çapraz bulaşım mümkün olduğunu ortaya çıkarmıştır (Üner & Ertuğ, 1997).

### 1.16. Patogenez

*G. intestinalis*'in patogenezinde; alınan kist sayısı, suşu, gastrointestinal sistemdeki antikör olmayan koruyucu faktörler ve konağın immün yanıtı önemli faktörlerdir (Pickering & Engelkirk, 1988).

Oral yolla alınan *G. intestinalis*'in kisti ince bağırsakta trofozoit forma dönüşür ve trofozoitler emici disk ve flagellalarıyla ince bağırsağın proksimal bölümünden bağırsak mukozasındaki epitellere güçlü bir şekilde yapışır (Certad et al., 2017; Kanra & Ecevit, 1988). Bağırsaklarda mukozal irritasyona sebep olan *G. intestinalis* bağırsak yüzeyindeki epitellere emici diskte bulunan giardinlerle yapışmakta (özellikle alfa, beta, delta ve gama giardinler),bunun yanı sıra kontraktil proteinler, reseptör ligand ilişkisi, emici diskin mikrotübüler yapısındaki tubulinleri, yüzey membranında bulunan lektin proteinleri epitellere yapışmada önemli fonksiyonları bulunmaktadır ( Alkan, 1997; Cotton et al., 2011; Üstün et al., 2012).

*G. intestinalis* 'in patogenezinde enterosit hasarı, ince bağırsağın epitel hücrelerinin fırça kenarının kaybı, mikrovillusun kısalması, epitelyal bariyer fonksiyonunun ve yağ emilimi için gerekli bağırsak içi komponentlerin bozulması ile nedeni tam olarak bilinmeyen ishal ve steatorenin oluşumunda birçok faktörün rol aldığı bilinmektedir (Üstün et al., 2012; Vivancos & Bermejo, 2018). *G. intestinalis* ve konağın besin için yarışa girmesi, artan mukus sekresyonu, parazitin salgıladığı bir toksinin bağırsak üzerine etkisi, mukozanın ve mukozal epiteldeki kanalların çok fazla sayıda parazit ile mekanik olarak tıkanması gibi bazı mekanizmalar öne sürülmektedir (Ak et al., 2007; Vivancos & Bermejo, 2018).

En son çalışmalara göre, giardiasis patofizyolojik değişikliklerin bir kompleksidir. Bunlardan biri, parazit metabolitlerinin sitopatolojik etkisinden kaynaklanan enterositlerin geçirgenliğinin değişmesidir. Periferik membran proteinleri, özellikle epitel geçirgenliğinin düzenlenmesi için önemli olan zonula occludin-1 (ZO-1), F-aktin ve Alfa aktin hücre iskelet proteinleri yok edilir. Sonuç olarak, enterotik fırça kenar hasar görmektedir, bağırsak epitel geçirgenliği artmaktadır, transepitelyal direncin azalmasına bu da iltihap ve gastrointestinal sorunlara neden olmaktadır. *G. intestinalis* ayrıca, epitel bariyer fonksiyonunun kaybına

neden olan apoptozu tetikler. Apoptoz ve hastalığın şiddeti, parazitin suşuna ve konağın fizyolojik ve immünolojik durumu belirlemektedir (Ivanov, 2010; Certad et al., 2017).

*G. intestinalis*'in enfeksiyonunun patogenezi ile ilgili hayvan modelleri ve *in vitro* kültür çalışmaları yapılmıştır. *G. intestinalis* bağırsak fırça kenar mikro villusuna zarar verdiğini, malabsorpsiyon ve maldigestiyon ile sonuçlanan bağırsak bariyer fonksiyonunu sınırladığı gösterilmiştir. Bu tür gözlenen değişiklikler, *G. intestinalis* enfeksiyonunda diyarenin nasıl ortaya çıkabileceğini anlamaya yardımcı olsa da hayvan modellerinde açıklanan patofizyolojik değişikliklerin insanlara ve diğer omurgalı konakçılara nasıl sonuçlanacağı açık değildir, çünkü enfeksiyon klinik semptomlara neden olmayabilmektedir. Semptomlar ayrıca tür / konakçı türü, *Giardia* topluluğu, yaş, bağışıklık sistemi, enfeksiyon sıklığı, beslenme ve eş zamanlı enfeksiyonlardan da etkilenmektedir (Thompson & Monis, 2012).

Giardiasis, villöz atrofi ile birlikte mikrovillus fırça kenar kaybı, pankreatik enzimlerin aktivitesinde azalma, disakkaridaz yetersizliklerinden ve besinlerin malabsorpsiyonundan sorumludur, sonuçta ozmotik ishale neden olmaktadır. D-xylose, yağ, vitamin A ve B<sub>12</sub> vitamini ile folik asit malabsorpsiyonu meydana geldiği söylenmektedir (Certad et al., 2017; Kanra & Ecevit, 1988). Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda, *G. intestinalis*'in, bağırsak epitellerindeki emici yüzey alanı kaybından dolayı glikoz, sodyum ve suyun malabsorpsiyonuna ve disakkaridaz aktivitesinde azalma olduğunu ortaya çıkarılmıştır (Buret, 2007).

### **1.17. İmmunoloji**

*Giardia* tür ayrımı önceleri parazitin morfolojisine ve enfekte ettiği konağın türüne göre yapılırken, günümüzde ise antijenlerine, izoenzimlerine, DNA analizlerine ve kemoterapötik ajanlara karşı duyarlılıklarına göre yapılmaktadır, ayrıca bu yöntemler izolatlar arasındaki biyokimyasal farklılıklar da ortaya koyabildiği söylenmektedir (Ak, 1997b; Altıntaş & Korkmaz, 1997).

*G. intestinalis* enfeksiyonu bazı insanlarda ishal, karın ağrısı, kilo kaybı, halsizlik ve diğer klinik belirtileri gösterirken bazı insanlarda hiçbir belirti göstermemekte ve birkaç haftada kendiliğinden iyileşmekte iken ihmal edilen enfeksiyonlar kronikleşebilmektedir. (denHollander et al., 1988).

Semptomlarının değişken olmasının bir diğer nedeni konağın parazite karşı gösterdiği dirençtir. *G. intestinalis* enfeksiyonundan korunmada, parazitin temizlenmesinde ve hastalığın oluşmasında immün sistem önemli rol almaktadır (Altıntaş & Korkmaz, 1997). *G. intestinalis* enfeksiyonunda protozoona karşı konağın humoral ve hücre sel bağışıklık sistemi önemli rol almaktadır. Konakta bulunan salgısal IgA parazite karşı savunmada ve parazitin eradike edilmesinde etkindir (Assafa et al., 2004).

İnsanlarda *G. intestinalis* enfeksiyonunu artıran en önemli etki konağın midesindeki HCl miktarının azalması veya yokluğu ve gammaglobulin bozukluğudur. Giardiasis'li hastaların bağırsaklarında önce IgM sonra IgA ve IgG'nin arttığı ve ayrıca kanda da *G. intestinalis*'e karşı antikor oluştuğu ELİSA ile gösterilmiştir (Unat et al., 1995).

Giardiasis'li olgu sonrası konak kanında oluşan IgG, polimorf ve makrofajlar, *G. intestinalis*'nin trofozoit formunu ortadan kaldırılmasında opsonin görevi görmekte ve hücre aracılığıyla oluşan bağışıklıktan daha önemli olduğu bildirilmiştir Giardiasis'li konaklarda kandaki limfositler *G. intestinalis*'in trofozoit formları ile birleşerek trofozoitleri yok ettiği görülmüştür (Unat et al., 1995).

*G. intestinalis* ile enfekte olmuş hastaların enfeksiyonu, yakın zamanda mı, ya da geçmişte mi geçirdiği ayırmada serumda bulunan IgM ve IgG antikorların seviyelerinin ELİSA ile tespiti tanıda önemlidir (Wolfe, 1992).

Anne sütünde bulunan ve safra tuzlarını stimüle olmasını sağlayan lipazın ve süt gliseridlerinden açığa çıkan serbest yağ asitlerinin içerdiği salgısal IgA *in vitro* olarak *G. intestinalis* trofozoitlerini öldürdüğü kaydedilmiştir (Altıntaş, 2015; Kanra & Ecevit, 1988).

### **1.18. Klinik**

*Giardia* suşlarının virölansı ve patojenisitesindeki farklılıklar, konakçının bağışıklık ve beslenme durumu, yaşı, sosyo-ekonomik koşulları enfeksiyonun seyrinde önemli rol oynamaktadır (Homan & Mank, 2001; Smith & Mank, 2011).

*G. intestinalis* enfeksiyonları genellikle asemptomatik geçirilmekte ve dünyada çok yaygın görülmekte olup bunun yanı sıra semptomatik geçirilen giardiasiste ise klinik semptomlar kistlerin alınmasından 1 ila 3 hafta sonra başlar.

*G. intestinalis* semptomlarında ishal, iştahsızlık, halsizlik, şişkinlik, yağlı dışkı, karın ağrısı ve kilo kaybı görülürken nadiren kusma, ateş kanlı veya mukuslu dışkılama görülür. Hastalık tedavi edilmezse enfeksiyon birkaç ay sürebilir (Gardner & Hill, 2001). İnkübasyon

süresi genellikle 1-2 haftadır. Ortalama olarak, prepatent periyod 9 gündür. Şiddetli enfeksiyonlarda diyareli dışkıda 14 milyar parazit oluşabilirken, orta dereceli enfeksiyonda 300 milyon parazit oluşabilir (Smith & Mank, 2011).

Giardiasis enfeksiyonlarında asemptomatik taşıyıcılık, akut ve kronik enfeksiyon gibi klinik tablolar bulunmaktadır (Costache et al., 2020).

### **1.18.1. Asemptomatik Taşıyıcılık**

Asemptomatik olan portörler sürekli kist yayarak, çevreye bulaşta önemli rol oynamaktadır (Bayramoğlu et al., 2013). Enfeksiyonun hastalık şeklinde ortaya çıkmamasının nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, konağın immun sisteminin etkili olduğu düşünülmektedir. Hastalığın asemptomatik geçirilen döneminde, çocuklarda ve yetişkinlerde aralıklı diyare görüldüğü bunun da ciddi sıvı kaybı oluşturmadığı bildirilmiştir (Ak et al., 2007; Farthing, 1996).

### **1.18.2. Akut Giardiasis**

Akut giardiasis'in klinik belirtilerinde ishal, iştahsızlık, halsizlik, abdominal distansiyon ve kramp, gaz, bulantı, kötü kokulu yağlı dışkı, kilo kaybı, kusma, ateş ve kabızlık görülmektedir (Pickering & Engelkirk, 1988).

Semptomlar genellikle yüksek riskli bölgeye varıştan 3 ila 20 (ortalama 7) gün içinde başlamaktadır. Çoğunlukla hastalık 2 ila 4 haftalık bir süre içinde kendi kendine iyileşebilmektedir. Akut giardiasis daha çok yurtdışı seyahat edenlerde ortaya çıkmaktadır. Tanısı konulmamış *G. intestinalis* ile enfekte turistlerin % 25'nde semptomlar tedavi edilmediğinde 7 hafta veya daha fazla sürebildiği gibi kendiliğinden de iyileşebilmektedir (Farthing, 1996; Küçüködük & Şahinoğlu, 1989). Bazı hastalarda akut evre aylarca sürebilmekte, bu da düzensiz beslenme, steatore, halsizlik ve kilo kaybına yol açmaktadır (Erlandsen & Meyer 1984).

### **1.18.3. Kronik Giardiasis**

Sağlıklı insanların çoğunda giardiasis hastalığı kendiliğinden iyileşme göstermektedir. Ancak giardiasis'in kronik aşaması dediğimiz, olguların %30 ila %50'sinde kronik ishal, kilo kaybı, steatore, yağ, karbonhidrat, protein ve yağda eriyen vitaminlerin emiliminde bozulma, anemi gibi belirtilerin yanı sıra yorgunluk, baş ağrısı ve miyalji gibi belirtiler görülmektedir (Ak et al., 2007). *Giardia* enfeksiyonlarında kolesistit ve pankreatit, ürtiker ve anjiyoödem gibi alerjik cilt belirtileri de tanımlanmıştır. Çocuk kronik giardiasis enfeksiyonlarında ise büyüme ve gelişme problemleri görülebilmekte iken yetişkinlerde yağ,



A ve B12 vitamini, karbonhidrat, folik asit ve protein enerji malabsorbsiyonu görülmektedir (Kanra & Ecevit, 1988; Laishram et al., 2012; Unat et al., 1995; Wolfe, 1992).

### 1.19. Tanı

Klinik belirtileri birçok protozoonlara (*Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli*, *Dientamoeba fragilis*, *Cryptosporidium spp.*, *Blastocystis hominis*, *Cyclospora spp.*, *Microsporidia spp.*, *Isospora belli*, *Balantidium coli*) ve diğer parazitler etkenlere (*Trichuris trichiura*, *Hymenolepis nana*, *Taenia saginata*, *Taenia solium*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichinella spiralis*, *Schistosoma mansoni*, *Capillaria philipiensis*) benzerlik gösteren giardiasis'in doğru ve erken tanısı hastanın tedavisi ve parazitin yayılmasının önlenmesi açısından anlamlı ve önemlidir (Farthing, 1996; Hooshyar et al., 2019; Öztürk, 2001).

*G. intestinalis*'in tanısında direkt, indirekt ve moleküler tabanlı testler kullanılmaktadır.

*G. intestinalis*'in tanısı çoğunlukla dışkı örneğinin incelenmesi ile konulmaktadır (Erlandsen & Meyer, 1984; Verweij et al., 2003). Mikroskopik olarak dışkı örneklerinde, *G. intestinalis*'in tanısı altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu yöntem *G. intestinalis*'in kist ve trofozoit formlarını tespit etmek için yapılmaktadır (Hooshyar et al., 2019).

#### a) Dışkı Örneğinin Alınması

İncelenecek dışkı örneğinin miktarı değişkenlik göstermektedir. Şekli dışkılarda 20-40 g arasında (ortalama ceviz büyüklüğü kadar) sulu dışkılarda ise 5-6 yemek kaşığı (ortalama 25 ml kadar) örnek alınmalıdır. Dışkı örneği bir bebekten alınacak ise bebek bezi ters bağlanmalı ve dışkı bebek bezinden bir spatül yardımı ile dışkı kabına konulmalı ya da bez doğrudan laboratuvara götürülmelidir. Alınan dışkı örnekleri idrar, su, yağ ve diğer yabancı maddeler ile karışmaması gerekmektedir. Baryum, bizmut veya mineral yağları kullanan hastaların dışkı örnekleri inceleme için uygun değildir çünkü parazitlerin trofozoit formları bozulmaktadır. Dışkı örneği alınacak kişi antibiyotik kullanıyorsa bitiminden 2 hafta sonra dışkı örneği alınmalıdır (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları 2014)

*G. intestinalis*'in trofozoit formlarında bulunan emici diskleri ile bağırsak mukozasına çok sıkı bir şekilde tutundukları için arka arkaya alınan seri dışkı incelemelerinde *G. intestinalis*'in bulunmasında zorlanılmaktadır. Semptomatik belirti gösteren hastaların ilk dışkı incelemelerinde *G. intestinalis*'in kist ve trofozoit formları görülebilirken, asemptomatik olan kişilerde ve giardiasis'den şüphe edildiği durumlarda, 10 gün içinde üç

sefer dışkı örneği alınıp incelenmesi gerekmektedir (Özbel & Dağcı, 1997; Yaman et al., 2014).

*G. intestinalis* 'li olgularda kist atılımındaki düzensizlikten dolayı tek dışkı örneğinin incelenmesi vakaların %50'sini tespit edilmesini sağlar. (Goka et al., 1990). Parazit şüpheli olguların katı dışkılarında çoğunlukla *G. intestinalis* 'in kist formu görülürken, sulu dışkılarda trofozoit formu görülmektedir (Miman & Saygı, 2017).

İshalli dışkılarda protozoonların trofozoit formlarının bozulmaması ve hareketlerinin yavaşlamaması için ishallerin en geç 30 dk. içerisinde incelenmesi gerekmektedir. Eğer bu zaman içerisinde incelenemeyecek ise boyama, çöktürme yöntemleri yapılacak ise dışkı çeşitli saklama solüsyonlar kullanılarak saklanabilmektedir (Daldal, Atambey, Çelik 2002; Özbel & Dağcı, 1997).

### **1.19.1. Etyolojik Tanı**

#### **1.19.1.1. Dışkının Makroskobik Olarak İncelenmesi**

Makroskobik incelenmede dışkının kıvamına (şekli, yumuşak gevşek veya sulu), kokusuna, kan, mukus, helmint larva veya erişkinlerini içerip içermediğine bakılmalıdır (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları 2014).

#### **1.19.1.1. Dışkıda Etkensel Tanı**

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

Nativ yöntem; plastik bir karıştırıcı yardımıyla dışkının değişik yerlerinden pirinç tanesi büyüklüğü kadar alınan dışkı temiz bir lam üzerine konulur. Lamın üzerine 1 damla %0,9 NaCl (serum fizyolojik) çözeltisi ile homojen bir şekilde karıştırılarak üzerine temiz bir lamel kapatılarak hazırlanmaktadır. Hazırlanan preparat ışık mikroskobunda 10X ve 40X büyütmelerinde parazitlerin varlığı açısından incelenmektedir (Chakarova, 2010; Daldal et al., 2002).

Lugol yöntemi ise nativ incelemeden sonra lamelin kenarında bir damla Lugol damlatılarak ya da Lugol ile yeniden preparat hazırlanarak mikroskopta incelenen yöntemdir. Lugol, genellikle kist formları ayırt etmekte yardımcı olmaktadır. Lugol kist formların nükleus ve morfolojik görünümünü daha belirgin hale getirirken trofozoit formlarını ise öldürmekte ve şeklini bozmaktadır (Özbel & Dağcı, 1997).

Dışkının Nativ-Lugol yöntemi ile incelenmesinin amacı parazitin morfolojik yapısını diğer dışkı elemanlarından rahatlıkla ayırarak saptamaktır (Daldal et al., 2002). Taze diyareli

dışkı örneğinin doğrudan serum fizyolojik damlatılarak hazırlanan preparatının incelenmesi, hareketli trofozoit formlarının görülmesini sağlamaktadır (Hooshyar et al., 2019; Ok et al., 1997). Taze olmayan sulu dışkı örneklerinde trofozoitler fazla rastlanmamaktadır. İncelenecek dışkı örneği kanlı, mukuslu dışkı ise direkt mikroskopik bakısında trofozoitlerin varlığı açısından incelenmelidir (Ok et al., 1997).

Nativ–Lugol yöntemi kullanılarak dışkı örneklerinin direkt mikroskopik incelenmesinde, parazit yoğunluğunun az olduğu durumlarda bu yöntem etkin tanılama için yetersiz kalmakta ve yanlış negatif sonuçlara neden olabilmektedir. Bu sebepten dolayı çoklaştırma yöntemlerinden faydalanılmaktadır (Karaman et al., 2018).

#### **1.19.1.2.2. Çoklaştırma (Konsantrasyon) Yöntemleri**

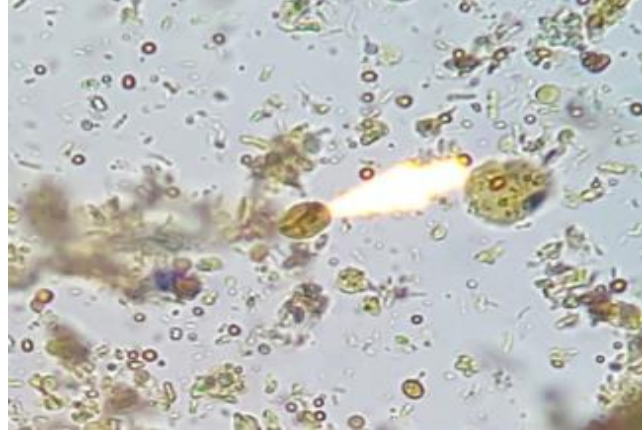
Dışkı örneklerinin incelenmesinde çoklaştırma yöntemlerinin kullanılmasının en önemli avantajı, direkt yaymalarda ve kalıcı boyalı preparatlar hazırlanıp incelendiğinde gözden kaçabilecek parazitlerin ortaya çıkarmasında yardımcı olmasıdır (Ok et al., 1997). Çoklaştırma yöntemleri santrifüj yardımıyla dışkı artıklarında bulunan parazitlerin özgül ağırlıklarındaki farklardan dolayı ayırabilen yöntemlerdir (Özbel & Dağcı, 1997). Çoklaştırma yöntemlerinde uygulanan işlemlere trofozoit formları dayanamayıp parçalanmaktadır bu nedenle trofozoit formlar çoklaştırma yöntemlerinde rastlanmamaktadır (Miman & Saygı, 2017).

Çoklaştırma yöntemi yüzdürme (flotasyon) ve çöktürme (sedimentasyon) olarak ikiye ayrılmaktadır (Çöplü et al., 2007).

##### **1.19.1.2.2.1. Çöktürme (Sedimentasyon) Yöntemi**

Çöktürme yöntemi santrifüj ile yapılan bir yöntemdir. Bu yöntemin avantajı dışkıda bulunan tüm parazitler sedimentte bulunması ve hem taze hem de saklanmış dışkı materyallerinde kullanılabilmesidir. Yöntemin dezavantajı ise, sedimentte fazla miktarda dışkı atıklarının bulunması ve dışkı atıkları dışkıda bulunan parazitlerin varlığını maskeleyesidir (Özbel & Dağcı, 1997).

Formol–eter yöntemi en çok kullanılan yöntemdir. Dışkı solüsyon içerisinde karıştırılarak süspanse edilmekte ve sonra santrifüj edilmektedir. Daha sonra çökeltiden lam lamel arası preparat hazırlanarak mikroskopun 10X ve 40X’lık büyütmeleri kullanılarak incelenmektedir (Miman & Saygı, 2017).



**Şekil 1.7.** Formol etil asetat yöntemiyle hazırlanmış ve Lugolle boyanmış *G. intestinalis* kist formu

#### **1.19.1.2.2.2. Yüzdürme (Flotasyon) Yöntemi**

Protozoonların kist formlarının yüksek özgül ağırlıklı solüsyonlar içerisinde yüzdürülme işlemidir. Bu yöntemde en yaygın yüksek özgül ağırlıklı solüsyonlar olarak doymuş tuzlu su, Sheather'in şekerli eriyiği ve çinko-sülfat solüsyonları kullanılmaktadır (Miman & Saygı, 2017).

Yüzdürme yöntemleri içerisinde en çok tercih edilen çinko-sülfat solüsyonunun kullanıldığı yöntemdir (Özbel & Dağcı, 1997). Dışkıda bulunan parazitler yüzey tabakada, artıklar tüpün dip kısmında kalmaktadır. Bu yöntem çöktürme yöntemine oranla daha temiz bir preparat hazırlanması sağlamaktadır (Ertabaklar, 2007b).

#### **1.19.1.2.3. Boyama Yöntemleri**

*Giardia* spp.'nin trofozoit ve kist formlarının tanımlanması morfolojik karakterlerine bağlıdır. Bazen bu morfolojik karakterlerin direkt bakı, çöktürme ve yüzdürme yöntemlerinde gözden kaçabileceği, doğru tanımlanması ve organizmanın bazı ayrıntılarını ortaya çıkarmak için kalıcı boya ile hazırlanan preparatların incelenmesine ihtiyaç duyulabilmektedir. *Giardia intestinalis* için bazı kalıcı boyalar kullanılmaktadır. Bu kullanılan kalıcı boyalar; Giemsa boyama, trikrom boyama ve demirli hematoksilin boyalarıdır (Ertabaklar, 2007a; Hooshyar et al., 2019).

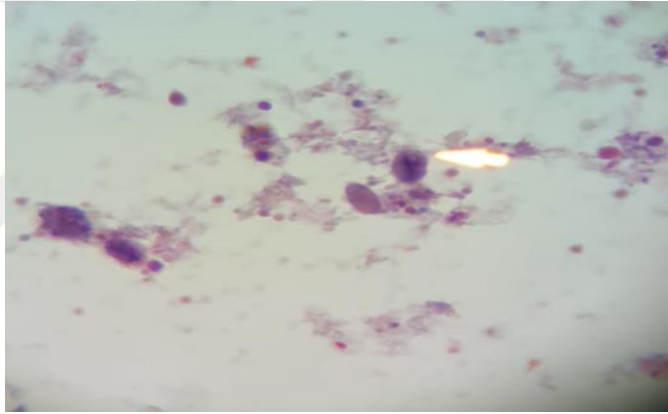
#### 1.19.1.2.3.1. Giemsa Boyama

Rutin klinik laboratuvar kullanımı kolay ve kalıcı bir boyama yöntemidir. Bu boyamada, protozoonun kamçı ve çekirdekleri kırmızimsı pembe renkte, sitoplazma ise gri-mavi renkte boyanmaktadır (Hooshyar et al., 2019).

#### 1.19.1.2.3.2. Trikrom Boyama

Trikrom boyama yöntemi, dışkı örneklerinden yayma hazırlanması için kolay ve çabuk bir yöntemdir. Yöntemin avantajları boyama işleminin çabuk, kolay ve boyanın uzun süre dayanmasıdır (Özbel & Dağcı, 1997).

Trikrom boyamada protozoonun sitoplazması mavi-yeşilden morumsu bir renge boyanırken çekirdek kromatini, kromatoid cisimler, diğer inklüzyonlar kırmızı veya kırmızimsı mor bir renkte, maya ve küf içeren arka zemin ise genellikle mavimsi yeşil bir renkte boyanır (Ok et al., 1997).



Şekil 1.8 Trikrom boyası ile boyanmış *G. intestinalis*'in kist

#### 1.19.1.2.3.3. Demirli Hematoksilen Boyama

Demirli hematoksilen boyama yöntemi trikrom boyama yönteminden biraz daha uzun süre almaktadır.

Bu boyama yönteminde boyama düzgün olarak yapıldığında; zemin mavi açık gri bir renk ile boyanırken trofozoit formunun sitoplazması mavimsi gri, kist formları ise daha koyu mavi, nükleus ve inklüzyonları ise koyu gri mavi bazen de siyah renkte boyanmaktadır (Özbel & Dağcı, 1997).

#### **1.19.1.2.4. Kültür Yöntemler**

Hastalardan izole edilen *Giardia* suşları, seroloji ve immunolojik testlerde kullanılan antijeni elde etmek, genetik, biyokimyasal ve ilaç çalışmaları gibi amaçlarla kullanılmaktadır (Daldal, Özensoy, Aksoy, Akısü 1997; Özbel & Dağcı, 1997).

Karapetyan, HPS-1, HPS-2, TPS-1 TYI-S-33, gibi besiyerleri *G. intestinalis*'in kültürü için kullanılmaktadır (Ak et al., 2007; Budak, 1995). Bu besiyerlerine ekim yapılabilmesi için ilk önce kistlerin saf olarak elde edilmesi gerekmektedir. Bu işlem dört basamaktan oluşmaktadır.

- 1) Kistlerin sukroz gradiyent santrifüj yöntemi ile dışkı artıklarından ayrılması ve konsantre edilmesi
- 2) Asidik solüsyon içerisinde ekskistasyonun sağlanması
- 3) Karapetyan HPS-1, HPS-2, TPS-1, TYI-S-33 gibi besiyerlerinde kültüre edilmesi
- 4) Aksenizasyonun sağlanması amacıyla uygun besiyerine antibiyotik ve antimikotik solüsyonların eklenmesi (Özbel & Dağcı, 1997).

Kültür yöntemleri *Giardia* 'nın tespiti ve teşhisi için yararlı bir yöntemdir ama klinik tanı laboratuvarlarında rutin olarak kullanılmamaktadır (Hooshyar et al., 2019). *G. intestinalis* trofozoitleri ilk olarak aksenik kültürde HSP-1 besiyerinde Meyer tarafından 1976 yılında yapılmıştır (Keister, 1983).

#### **1.19.1.3. Duodenal Sıvıda Etkensel Tanı**

##### **1.19.1.3.1. Duodenal Aspirasyon**

*G. intestinalis* şüpheli olan insanlardan enfeksiyon etkenini saptamada her zaman rutin dışkı inceleme yöntemleri yeterli değildir. Bu sebepten dolayı gerektiğinde duodenal aspirasyon sıvı örneklerinin incelenmesi faydalı olmaktadır.

Duodenal aspirasyon sıvısı endoskopi yöntemi ile *G. intestinalis* şüpheli hastalardan ortalama 0,5 ml ile 3 ml arasında alınarak (steril bir tüpün içerisine konularak) hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Laboratuvara gelen duodenal aspirasyon sıvısından direkt olarak preparat hazırlanarak hareketli trofozoitlerin olup olmadığı mikroskopta inceleneceği gibi aynı zamanda 500 x g devirde 3 ila 5 dk. santrifüje tabi tutulduktan sonra oluşan sedimentten preparat hazırlanıp incelenmektedir. Eğer duodenal aspirasyon sıvısı az ise direkt preparat hazırlamak yerine kalıcı olması sebebiyle boyalı preparat hazırlanması tercih edilmelidir (Budak et al., 1997).

### **1.19.1.3.2. Duodenal Biyopsi**

Çoklu dışkı muayenesi ve bağırsak aspirasyon sıvısının incelenmesinden sonra enfeksiyonun doğrulanmadığı *G. intestinalis* pozitif vakalarında, ince bağırsak biyopsisi ile tanı konabilmektedir (Erlandsen & Meyer, 1984).

Endoskopi yöntemi ile yapılan duodenal biyopsi işleminde ince bağırsağın mukozasında bulunan epitellerin morfolojik değişiklikleri gözlemlendiği gibi aynı zamanda *G. intestinalis*'de gösterilebilmektedir. Duodenal biyopsi örneğinden preparat hazırlanıp boyanarak *G. intestinalis*'in trofozoit formları araştırılmaktadır (Ak et al., 2007).

### **1.19.1.3.3. Entero-Test**

Rutin laboratuvar yöntemleriyle enfeksiyonun doğrulanmadığı bazı giardiasis vakalarında, duodeno-jejunal'dan endoskopi veya ip testi (entro-test) kullanılarak elde edilen sıvıların incelenmesi *G. intestinalis* trofozoitlerini ortaya çıkarmak için yararlı olabilmektedir.

Entero-test, 90 veya 140 cm uzunluğunda naylon ip içeren kurşun ağırlıklı jelatin kapsülden oluşmaktadır. Hasta tarafında bir bardak su ile yutulduktan sonra kapsül midede çözülmekte ve naylon ipin ucundaki ağırlık peristaltik etki ile duodenuma ulaşmaktadır (Hooshyar et al., 2019; Paniker & Ghosh, 2013). İp, bu alanda en az 4 saat kalması tavsiye edilmektedir ve süre dolduktan sonra ip çekilmektedir. İp ve ucundaki kurşun ağırlık çekme sırasında kolayca birbirinden ayrılmaktadır (Burke, 2016). Safrayla boyanmış ve ipliğe bulaşmış mukus dışarıya çıkartılarak mikroskopta incelenir (Hooshyar et al., 2019).

### **1.19.1.4. Saklama Solüsyonları**

#### **1.19.1.4.1. Formaldehit Solüsyonu**

Formalin, protozoan kistleri için uygun çok amaçlı bir fiksatif olarak kullanılmaktadır. %5'lik veya %10'luk formaldehit konsantrasyonları yaygın olarak kullanılmaktadır (Martin, 2003). 3 kısım fiksatif ve 1 kısım dışkı olacak şekilde karıştırılır ve daha sonra incelenmek için saklanmaktadır (Martin, 2003; Özbel & Dağcı, 1997).

#### **1.19.1.4.2. Merthiolate-İodine –Formalin (MIF) Solüsyonu**

Dışkıda bulunan parazitler için iyi bir koruyucudur (Özbel & Dağcı, 1997). Özellikle saha araştırmaları için kullanışlıdır. Rutin klinik laboratuvarında daha az kullanılmaktadır. Dışkı dışında aspirat örneği de saklanabilmektedir. MIF koruyucusu iki stok çözeltisinde hazırlanmakta ve ayrı olarak saklanmaktadır. Kullanımdan hemen önce karıştırılmaktadır (Martin, 2003).

#### **1.19.1.4.3. Polivinil Alkol (PVA) Solüsyonu**

PVA solüsyonu, intestinal protoozonların trofozoit formları için iyi fiksatifdir ve bu fiksatifde saklanan dışkıdan, daha sonra yapılan kalıcı preparatta parazitin boyanma kalitesinin fazla olduğu gösterilmiştir. PVA fiksatifinde saklanan dışkılardan hazırlanan yayma preparatların hemen veya aylar sonra boyanabilmesi bu fiksatifin en önemli avantajlarında biridir. Bu fiksatifde saklanan örneklerden çoklaştırma yöntemleri de uygulanabilmektedir (Özbel & Dağcı, 1997).

#### **1.19.1.4.4. Sodyum Asetat-Asetik Asit- Formaldehit (SAF) Solüsyonu**

Sıvı olarak bulunan ve yumuşak fiksatif olarak adlandırılan SAF içerisinde saklanmış örnekten hem kalıcı boyalı preparat hazırlanabilmekte hem de konsantrasyon teknikleri kullanılarak incelenebilmektedir. SAF saklama solüsyonunun içerisinde toksik civa bileşenlerini barındırmaması sebebiyle bazı yerlerde tercih edilme sebebi olmaktadır. MIF solüsyonuna göre SAF solüsyonu, protozoonlar için yüksek duyarlılığa sahiptir (Özbel & Dağcı, 1997).

#### **1.19.2. Dolaylı (İndirekt) Tanı Yöntemleri**

Dışkı incelemelerinin yetersiz, duodenum aspirasyonu ve biyopsi yöntemlerinin invaziv olması ve kültür yöntemlerinin zor ve yetersiz olması nedeniyle bazı zamanlarda indirek tanı yöntemlerine başvurulmaktadır (Budak, 1995). Kanda *G. intestinalis*'e karşı oluşmuş antikorların tespit edilmesi, dışkı örneğinde immünolojik yöntemler kullanılarak *G. intestinalis* antijeninin gösterilmesi gibi yöntemler olabilmektedir. IFA, ELISA, Western Blot gibi serolojik ve immünolojik yöntemler *G. intestinalis*'in tanısında kullanılmaktadır (Ak et al., 2007).

##### **1.19.2.1. İndirekt İmmunofluoresans (IFA) tekniği**

İndirekt İmmunofluoresans (IFA) tekniği seri incelemelerinin yapılması sırasında ekipmanların maliyetli olması, okuma ve pozitiflik oranlarının sınırlarının belirlenememesi testin dezavantajlarını oluşturmaktadır (Özcel et al., 1997).

##### **1.19.2.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

ELISA, virüs, bakteri ve parazitlere ait antijen, antikor gibi büyük molekül ağırlığına sahip proteinlerin araştırılması için kullanılan bir yöntemdir. Yöntemin avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Hem epidemiyolojik hem de tanı değeri taşıyan ELISA yöntemi %100 spesifik ve %98 duyarlılığa sahip, uygulaması kolay, enzim işaretli substrat kullanılarak sonuç verebilmesi, testte kullanılan immun ayraçların uzun süre saklanabilir



olması avantajlarıdır. Pahalı, deneyimli personelin bulunması ve bazı özel cihazlara gereksinim bulunması testin dezavantajlarıdır (Ak, 1997a; Altıntaş, 2002).

### **1.19.2.3. Monoklon Antikorlar**

Ticari olarak satılmakta olan monoklon antikor testleri, aseton ile fikse edilmiş örneklerin direkt boyamasında kullanılır. Floresan ile işaretli olan fare monoklon antikorları *G. intestinalis* kist duvarına spesifik olarak bağlanmaktadır (Özbel & Dağcı, 1997).

### **1.19.3. Genetik Esaslı Tanı Yöntemleri**

*G. intestinalis*'in moleküler tanısı rutin tanı laboratuvarlarında kullanılmamaktadır. PCR tabanlı yöntemler genellikle araştırma laboratuvarları ile sınırlıdır ve çoğunlukla *G. intestinalis*'in tür ve alt türlerinin belirlenmesi için kullanılmaktadır (Hooshyar et al., 2019; Özbel & Dağcı, 1997).

#### **1.19.3.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), *in vitro* ortamda deoksiribonükleik asit (DNA) zincirinin iki parçası arasında uzanan özel bir DNA bölümünün enzimatik olarak çoğaltıldığı bir yöntemdir. PCR ilk kez 1985 yılında Kary Mullis tarafından keşfedilmiştir (Kahya et al., 2014). PCR, DNA sentezi için uygun malzemelerin bulunması halinde karşıt sıralarını sentezleyebilme yeteneğinden faydalanılarak yapılan bir yöntemdir. PCR yöntemi üç aşama ile gerçekleşmektedir. İlk aşama denatürasyon aşamasıdır. Bu aşamada çift iplikli olan DNA yüksek sıcaklıkta denatüre olarak ikiye ayrılmaktadır. Denatüre olan DNA tek iplikli hale gelmektedir. İkinci aşama primerlerin bağlanması aşamadır. Ortamda bulunan primerler belirli sıcaklıkla DNA ipliğinin 3' - ucuna bağlanmaktadır. Üçüncü aşama uzama aşamasıdır. Ortamda bulunan DNA polimeraz enzimi primerler ve tek iplikli DNA'yı kalıp olarak kullanarak çift iplikli DNA'nın sentezlenmesidir (Süheyla & Esendal, 2002).

#### **1.19.3.2. Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi / Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (RFLP)**

Restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA'nın farklı büyüklüklere sahip fragmentlere ayrılması ve ayrılan fragmentlerin jel elektroforez tekniği kullanılarak görüntülenmesi işlemine RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism/Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) olarak isimlendirilmektedir. RFLP yöntemi yapıldıktan sonra ortaya çıkan ürünler ethidium bromidle boyanmış agaroz jelle yüklenip jel elektroforezde yürütülmektedir. UV altında ortaya çıkan bantlar ve büyüklükleri incelenir (Kolören et al., 2017).

RFLP yöntemi kolay bir yöntem olmasına karşın uygun restriksiyon enziminin kullanılması önemlidir. Eğer uygun olmayan restriksiyon enzimleri kullanırsa jel elektroforezde yürütüldüğünde ortaya çıkan bantlar çok sayıda ve birbirine yakın olarak gözükmekte ve bu şekilde doğru değerlendirme yapılamamaktadır (Kolören et al., 2017).

*G. intestinalis*'in tanısında kullanılan yöntemlerin avantaj ve dezavantajları Tablo 1.3'de karşılaştırılmıştır.

**Tablo 1.3.** *G. intestinalis*'in tanı yöntemlerinin karşılaştırılması (Alkan et al., 1997)

Yöntem	Avantaj	Dezavantaj
<b>Moleküler Yöntemler</b>	1) Doğrudan paraziti saptamaya yönelik bir yöntemdir. 2) Varyant araştırılmasında, tür ve alt tür ayırımında kullanılmaktadır.	1) Pahalı bir yöntemdir. 2) Çok aşamalı bir yöntemdir. 3) Çalışma örneğinde bulunan inhibitörler nedeni ile PCR'ın yanlış negatif sonuç vermesi 4) Kontaminasyon nedeni ile PCR'ın yanlış pozitif sonuç vermesi
<b>Kültür Yöntemleri</b>	1) Virulans çalışmalarında kullanılmaktadır. 2) Canlı parazitin saptanmasında kullanılmaktadır.	1) Pahalı bir yöntemdir. 2) Parazitin kültürde üremesi için bekleme süresi vardır. 3) Türler arasında varyasyonu saptamamaktadır.

**Tablo 1.3.** *G. intestinalis*'in tanı yöntemlerinin karşılaştırılması (Alkan et al., 1997)  
(Devam)

Yöntem	Avantaj	Dezavantaj
<b>Mikroskopik İnceleme</b>	1) Basit bir yöntemdir. 2) Parazitin direkt araştırılmasında kullanılmaktadır.	1) Yavaştır. 2) Zahmetli ve yorucudur. 3) Parazit sayısının az olduğu durumlarda düşük duyarlılık göstermektedir. 4) Deneyimli personele ihtiyaç duyulmaktadır.
<b>Serolojik İnceleme</b>	1) Basit ve hızlı bir yöntemdir. 2) Çok sayıda örnek incelenebilmektedir.	1) Özel ekipmanlara gereksinim duyulması 2) Standardize edilmiş ayraçların bulunması

### 1.20. Tedavi

Septomatik hastalarda ve asemptomatik taşıyıcılarda tedavi önemlidir (Miman & Saygı, 2017). *G. intestinalis*'in tedavisinde farklı ilaçlar kullanılmaktadır, bunlardan Metronidazol ilk seçenektir (Rumsey & Waseem, 2020). Nitroimidazol türevlerinden tinidazol, ornidazol ve seknidazol, 9-aminoakridin türevlerinden kinadrin, nitrofuran türevi olan furazolidon giardiasis tedavisinde kullanılan diğer ilaçlardır.

Benzimidazol grubu ilaçları olan albendazol, mebendazol ve fenbendazol giardiasis tedavisinde kullanılan alternatif ilaçlardır. Gebelik esnasında inatçı giardiasis enfeksiyonları tedavisinde aminoglikozid grubunda yer alan paramomisin tercih edilmektedir (Ak et al., 2007; Aksoy & Özkoç, 2005). Giardiasis tedavisinde kullanılan ilaçların dozları ve etkinlikleri Tablo 1.4'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.4.** Giardiasis tedavisinde kullanılan ilaçların yetişkin ve çocuk enfeksiyonlarındaki etkinliği (Gardner & Hill, 2001).

İLAC	DOZ	ETKİNLİK (%)
<b>Metronidazol</b>	500–750 mg/gün 3 5–10 gün	60-95
	2,0–2,4 g, tek doz	36-60
	2,0–2,4 g, Günde bir kez X 2 gün	67-80
	2,0–2,4 g, Günde bir kez X 3 gün	93-100
	15–22,5 mg/kg/gün X 5–10 gün (Çocuklarda)	80-100
<b>Tinidazol</b>	300 mg/gün X 7 gün	74-100
	1,0-2,0 g, tek doz	86-100
	50 mg/kg tek doz (Çocuklarda)	80-96
<b>Ornidazol</b>	1,0–2,0 g, Tek doz	96-100
	40–50 mg/kg, tek doz (Çocuklarda)	92-100
<b>Seknidazol</b>	2,0 g, tek doz	86-100
	30 mg/kg, 1 veya 2 doz (Çocuklarda)	88-100
<b>Kinakrin</b>	300 mg/gün X 5–7 gün	95-100
	6–8 mg/kg/gün X 5–10 gün (Çocuklarda)	92-95
<b>Furazolidon</b>	400 mg/gün X 7–10 gün	80-85
	8 mg/kg/gün X 7–10 gün (Çocuklarda)	81-96
<b>Albendazole</b>	200–800 mg/gün X 1–3 gün	24-81
	200–400 mg/gün X 5–7 gün	94-100
<b>Paromomisin</b>	10–50 mg/kg/gün veya 1,500 mg/gün X 5–10 gün	55-88
<b>Basitrasin</b>	240,000 U/gün X 10 gün	95

### 1.21. Korunma

Dışkı ile atılan kistlerin direkt temas ile doğrudan insandan insana bulaşabileceği gibi besin ya da su ile sindirim yoluyla alınması sonucunda *G. intestinalis* bulaşabilmektedir (Çetin et al., 1985). Gastrointestinal şikayetleri olan insanlarda giardiasis düşünülmeli ve çocukların dışkı kontrolleri sık sık yapılmalıdır. *G. intestinalis* kistleri dışkı örneklerinde zaman zaman görülemediği için dışkının incelenmesi en az 3 kez yapılmalıdır (Altıntaş, 2015). Sanitasyonun yetersiz ve kalabalık olması sebebiyle yurtlarda, kreşlerde, cezaevlerinde ve akıl hastanelerinde *G. intestinalis* prevalansı aynı bölgedeki popülasyona göre daha yüksek olmaktadır. Hastalığın kontrol edilmesinde en iyi korunma yöntemi kontamine olan dışkının bertaraf edilmesiyle ve kişisel hijyen ile mümkündür. Toprağın ve suyun insan ve hayvan dışkısı ile kontamine olması engellenmelidir. Kistlerin klora karşı dirençli olmaları nedeniyle içme ve kullanma sularının filtrasyon sistemleri kullanılarak

dezenfekte edilmesi gerekmektedir (Ali & Nozaki, 2007; Miman & Saygı, 2017). Suların, insan veya hayvan dışkı ile kontamine olduğu düşünülüyorsa kaynatılması gerekmektedir. Kaynatmanın mümkün olmadığı durumlarda baz klorla halojenizasyon (Halozone her 1 litreye 5 tablet/30 dakika, klorlu çamaşır suyu %5,25'likten galon başına 5 ml) veya baz iyot (her 1 litreye 1 tablet/30 dakika) satüre kristal iyot (her 1 litreye 12,5 ml/30 dakika) preparatları kullanılmaktadır (Kuman, 1997). Dezenfektan olarak tercih edilen ozon, *G. intestinalis* kistleri üzerinden klordan daha etkili olduğu saptanmıştır. Ultraviyole ışık ve ozon su arıtma tesislerinde *G. intestinalis*'i inaktive etmek için potansiyel kullanıma sahiptir. Kistler +4-6°C'de saklanan su ve yiyeceklerde canlılığını koruduklarından çiğ olarak tüketilen yiyecekler bol su ile yıkanmalı ve ellerin temizlenmesine dikkat edilmelidir (Altıntaş, 2002; Hill, 2003).

Hastalık daha çok çocuklarda görülmesinden dolayı çocuklara ve bakıcılara kişisel hijyen kurallarının öğretilmesi korunmada önem taşımaktadır. Yiyecek ve içeceklerin kirlenmesini önlemek için yiyecek içecek hazırlayan ve satan kişiler muayene edilmelidir. Hastalar ve asemptomatik taşıyıcılar tedavi edilmelidir (Çetin et al., 1985).

Gezilen yerlerde ve piknik alanlarında bilinmeyen kaynak suları içilmemeli ve kullanılmamalıdır. Mekanik taşıyıcı görevi gören karasinek ve hamam böcekleri ile mücadele edilmelidir. Anne sütünün koruyuculuğundan dolayı bebek emzirme sağlanmalıdır (Altıntaş, 2015).

## 2. AMAÇ

*G. intestinalis* çeşitli memelilerde bulunan bir bağırsak protozoonudur. Hastalık, kistlerinin yutulması ile oluşmaktadır (Amar et al., 2002). Enfeksiyon semptomatik veya asemptomatik olarak görülmektedir (Us & Başustaoğlu, 2016). Moleküler olarak incelendiğinde 8 farklı genotipi (A-H) olduğu saptanmıştır. Bu genotiplerden genotip A ve genotip B insanlarda giardiasis enfeksiyonundan sorumludurlar (Mizuno et al., 2020).

Türkiye’de *G. intestinalis*’in prevalansı ile ilgili çok sayıda çalışma varken genotiplendirme ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Aydın et al., 2004; Balcioglu et al., 2012; Ertuğ et al., 2016).

Bu çalışmada; Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına parazit şüphesi ile gönderilen dışkı örneklerinden giardiasis tanısı konulan hastaların dışkı örneklerinde PCR-RFLP yöntemi uygulanarak genotiplerinin belirlenmesi ve bölgesel olarak hangi genotipin yaygın olduğunu saptanması amaçlanmıştır.

### **3. YÖNTEM**

Çalışmaya başlamadan önce Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan (Karar No: KÜ GOKAEK 2020/17 Proje No: 2020/10 Tarih: 21/01/2020) izni alındı. Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Şubat-Aralık 2020 tarihleri arasında parazit şüphesi ile gönderilen 1356 dışkı örneği nativ- Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemi ile incelendi. Giardiasis şüpheli olgulardan 3 gün üst üste dışkı alınıp mikroskopta incelendi ve giardiasis tanısını konulan 36 hastanın dışkısıyla çalışıldı. Çalışmaya alınan hastaların anamnezileri alınarak kaydedildi.

#### **3.1. Dışkı Örneklerinin Mikroskopik İncelenmesi**

##### **3.1.1. Nativ İnceleme**

Temiz bir lamin (Isotherm 76X26 mm) üzerine hastanın adı yazıldıktan sonra, tahta çubuk ile dışkı örneğinin birkaç farklı yerine birkaç kez daldırılıp çıkarılarak pirinç tanesi büyüklüğü kadar alınan dışkı örneğine 1 damla %0,9 NaCl damlatıldı. Yuvarlak hareketler yapılarak dikkatlice karıştırıldı. Üzerine lamel (Edolab 20X20 mm) kapatılarak ışık mikroskopunun (Olympus CX31) 10X ve 40X'lık büyütmelerinde incelendi ve sonuçlar kaydedildi (Şekil 3.1) (Daldal et al., 2002).

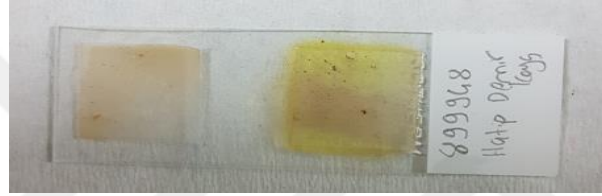
##### **3.1.2. Lugol İnceleme**

###### **%2'lık Lugol Solüsyonunun Hazırlanması**

Toz halindeki iyot kristallerinden 2 g Potasyum iyodür 'den 4 g tartıldı ve 100 ml saf suyun içinde eritildi. Ağzı kapalı ve koyu renkli şişede kullanılmak üzere saklandı.

###### **Yöntem**

Temiz bir lamin üzerine hastanın adı yazıldıktan sonra, tahta çubuk ile dışkı örneğinin birkaç farklı yerinden birkaç kez daldırılıp çıkarılarak pirinç tanesi büyüklüğü kadar alınan dışkı örneğine 1 damla %0,9 NaCl damlatıldı yuvarlak hareketler yapılarak dikkatlice karıştırıldı ve üzerine lamel kapatıldı. Lamelin kenarından hazırlanan %2'lık Lugol solüsyonundan 2 damla damlatıldı ve Lugol yavaş yavaş dışkı ile difüze olması sağlandı (Şekil 3.1). Hazırlanan preparat ışık mikroskopunun 10X ve 40X'lık büyütmelerinde incelendi ve sonuçlar kaydedildi (Daldal et al., 2002).



**Şekil 3.1.** Nativ-Lugol (Direkt Bakı) Yöntemi

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

#### **%10'luk Formol 'ün Hazırlanması**

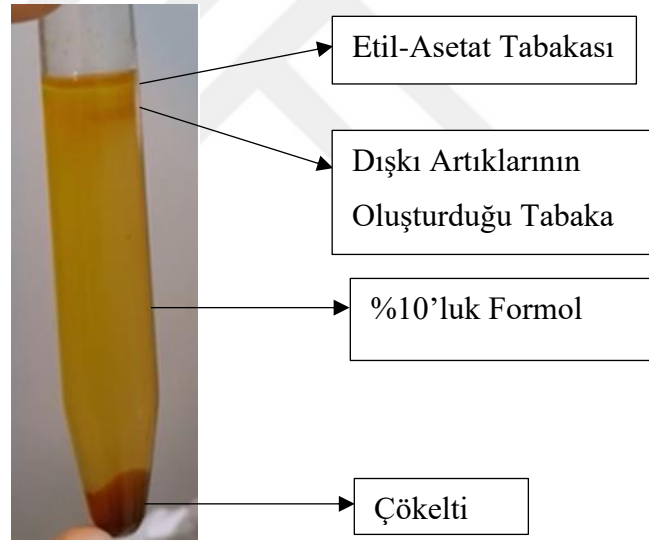
%35'lik stok formaldehitten (Merck 1.04002.2500) 285 ml alınarak ağzı kapaklı bir şişenin içerisine konuldu. Üzerine 715 ml saf su konularak karıştırıldı ve %10'luk formol hazırlandı.

#### **Yöntem**

- 1) İşleme başlamadan önce nitril eldiven giyildi.
- 2) Tahta çubuk ile taze dışkı örneğinden 1-2 g alınarak 10 ml'lik %10'luk formol bulunan bir kap içerisinde ezildi.
- 3) 30 dk. bekletildi.
- 4) Elde edilen süspansiyon iki katlı gazlı bezden süzüldü ve 15 ml'lik santrifüj tüplerine aktarıldı.



- 5) Tüpteki sıvının üzerine 3 ml Etil-Asetat eklendi ve tüpün ağzı elle kapatılarak 30 sn. hızlıca karıştırıldı. Ara ara tüpün ağzı açılarak gaz çıkışına izin verildi.
- 6) Süspansiyon 1000 x g'de 3 dk. santrifüj (nüve NF 800) edildi. Tüp santrifüjden çıkartıldığında yukarıdan aşağıya doğru 4 tabaka tespit edildi (Şekil 3.2):
- Etil-asetat tabakası
  - Tüpün duvarlarına yapışan dışkı artıklarının oluşturduğu tabaka
  - Formol tabakası
  - Çökelti
- 7) İlk 3 tabaka tüpten dikkatli bir şekilde dökülerek çökelti kısmına ulaşıldı. Pastör pipeti ile dipteki çökelti karıştırıldı. Çökeltiden hem boyasız hem de Lugol ile incelemek için preparat hazırlandı. Işık mikroskobununun 10X ve 40X' lık büyütmeleri kullanılarak incelendi, çıkan sonuçlar kaydedildi (Kilimcioğlu & Ok, 2011).



Şekil 3.2. Formol-Etil Asetat Çöktürme yöntemi

Nativ-Lugol ve Formol-Etil Asetat çöktürme yönteminde *G. intestinalis* trofozoit ve/veya kist formu saptanan dışkı örnekleri üzerinde hasta bilgileri yazılan mikro santrifüj tüplerinin içerisinde 180-220 mg arasında hassas terazide (Denver Instrument Aps-200) tartıldı ve DNA izolasyonu yapılana kadar -80°C'de saklandı.

### 3.2. DNA İzolasyonu

Dışkıdan *G. intestinalis*'in genomik DNA'sını elde etmek için QIAamp Fast DNA Stool Mini Kiti (Qiagen) kullanıldı. DNA izolasyon işlemi biyogüvenlik kabininde (Teistar Bio-II-A) gerçekleştirildi. DNA izolasyon aşamaları şu şekildedir (Şekil 3.3).

- 1) DNA izolasyonu için  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan dışkı örnekleri çıkartılarak buz üzerine yerleştirildi.
- 2) Dışkı örnekleri bulunan mikrosantrifüj tüplere 1 ml InhibitEX buffer eklendi ve 1 dk. örnekler vortekslendi (Fisher Scientific FB 15013 TopMix). Süre bittikten sonra örneklerin homojen olup olmadığı kontrol edildi ve çözünmeyen örnekler, homojen bir görünüm elde edilene kadar vorteks işlemine devam edildi.
- 3) Örnekler  $95^{\circ}\text{C}$ 'de ayarlanmış termal ısı bloğunda (Eppendorf Thermo Stat plus 1,5 ml) 5 dk. ısıtıldı.
- 4) Süre bittikten sonra termal ısı bloğundan alınan örnekler 15 sn. vortekslendi.
- 5) Örnekler 1 dk.  $20000 \times g$ 'de santrifüj (MPW Centrifuge MPW-260R) edildi.
- 6) Yeni 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüp açılarak içerisine  $15 \mu\text{l}$  Proteinaz K ve üzerine 5. adımda santrifüj edilen örneğin süpernatantından  $200 \mu\text{l}$  konuldu.
- 7) Proteinaz K ve süpernatant bulunan süspansiyonun üzerine  $200 \mu\text{l}$  Buffer AL eklenerek 15 sn. vortekslendi.
- 8) Elde edilen karışım önceden  $75^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış termal ısı bloğunda 10 dk. bekletildi.
- 9) Süre bittikten sonra karışıma  $200 \mu\text{l}$  etanol (Merck 1.00983.2511) konuldu ve 15 sn. vortekslendi.
- 10) Kit kutusunun içinde bulunan QIAamp spin column'a  $600 \mu\text{l}$  karışım dikkatli bir şekilde aktarıldı ve kapağı kapatılarak 1dk.  $20000 \times g$ 'de santrifüj edildi. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra QIAamp spin columnlar kit kutusunun içerisinde bulunan  $2 \text{ ml}$ 'lik mikro santrifüj tüplerinin içerisine yerleştirildi.
- 11) Kit kutusunun içinde bulunan mikro santrifüj tüplerine yerleştirilen spin columnların kapakları açılarak  $500 \mu\text{l}$  Buffer AW1 konuldu ve 1dk.  $20000 \times g$ 'de santrifüj edildi. Spin columnlar yeni  $2 \text{ ml}$ 'lik mikro santrifüj tüplerine yerleştirildi. Eski filtrat içeren tüpler atıldı.
- 12) Yeni mikro santrifüj tüplerine yerleştirilen spin columnların kapakları açılarak  $500 \mu\text{l}$  Buffer AW2 konuldu ve 3 dk.  $20000 \times g$ 'de santrifüj edildi. Eski filtrat içeren tüpler atıldı.
- 13) Spin columnlar yeni mikro santrifüj tüplerine yerleştirdi.  $20000 \times g$ 'de 3 dk. santrifüj edildi. Eski tüpler atıldı.
- 14) İki ml'lik mikro santrifüj tüplerine yerleştirilen spin columnların kapakları açılarak  $200 \mu\text{l}$  Buffer ATE konuldu.  $20000 \times g$ 'de 1 dk. santrifüj edildi spin columnlar atılarak mikro santrifüj tüplerinin kapakları kapatıldı.

15) Oda ısısında 1 dk. bekletildi. DNA izolasyon işlemi tamamlanmış olup PCR işlemini uygulamak üzere hazır hale getirildi.



180-220 mg dışkı  
örneğinin üzerine  
1ml InhibitEX buffer  
eklendi.



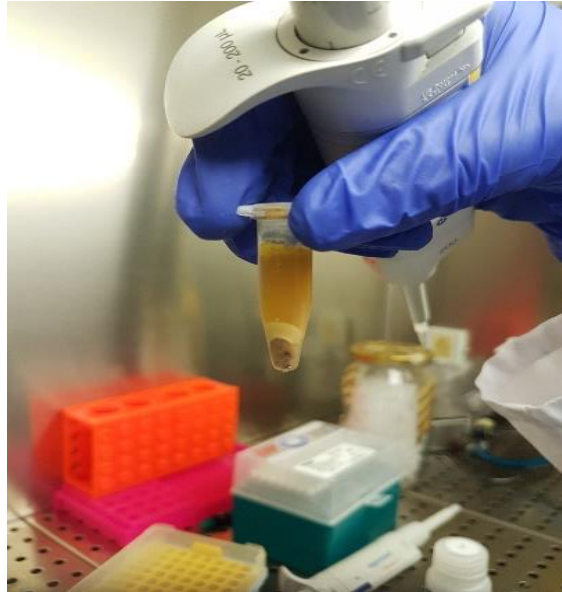
Vorteks işlemini  
yapıldı.



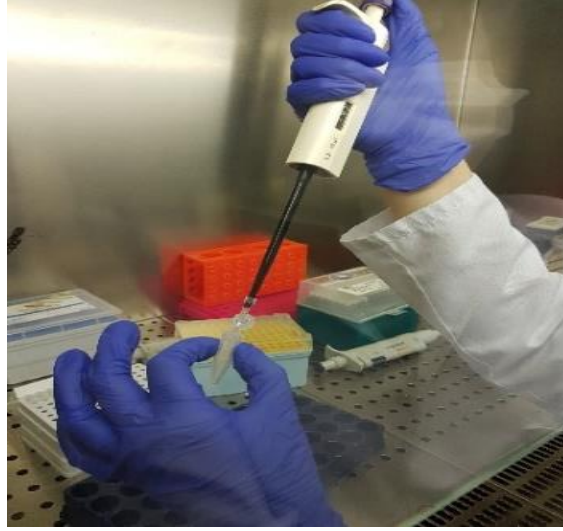
95°C'de ısıtıldı.



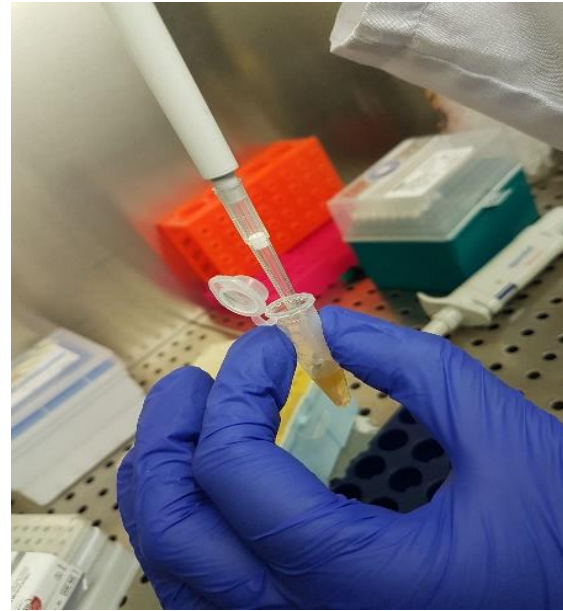
Santrifüj edildi.



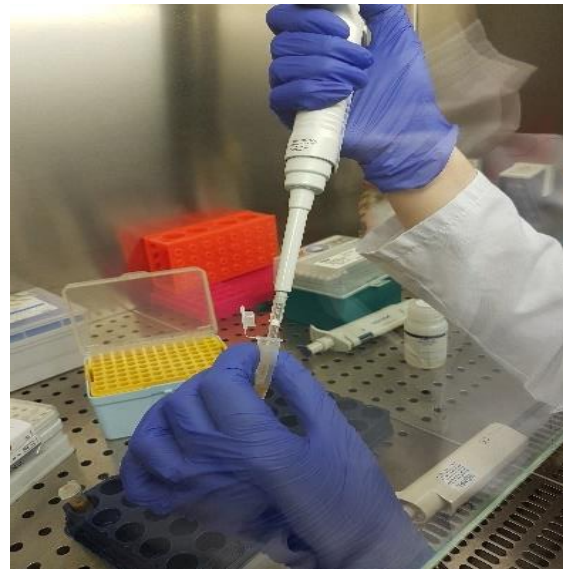
Santrifüj sonrası görünümü.



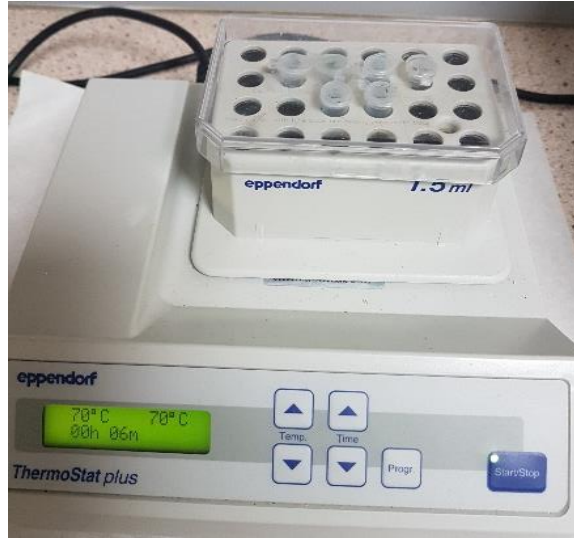
Yeni bir mikrosantrifüj tüpünün içine Proteinaz K konuldu.



Santrifüj edilen örnekten konuldu.



Buffer AL konuldu.



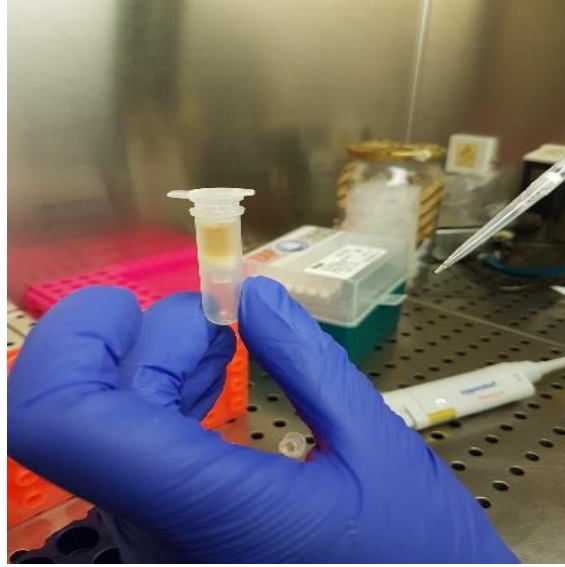
70°C'de ısıtıldı.



Vorteks işlemi yapıldı.



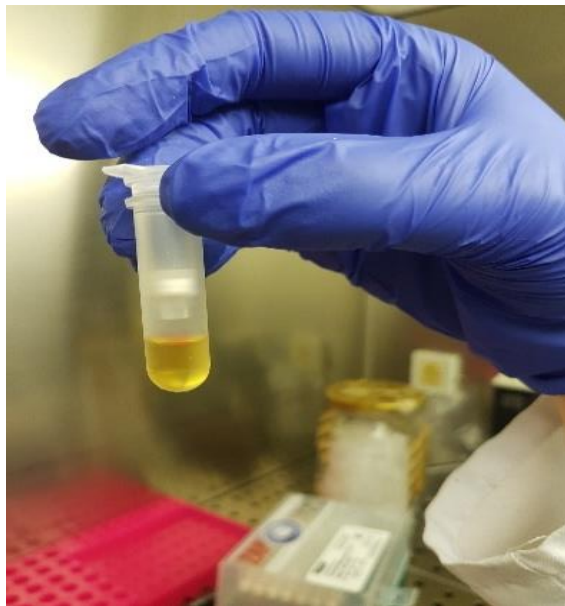
Etanol konuldu.



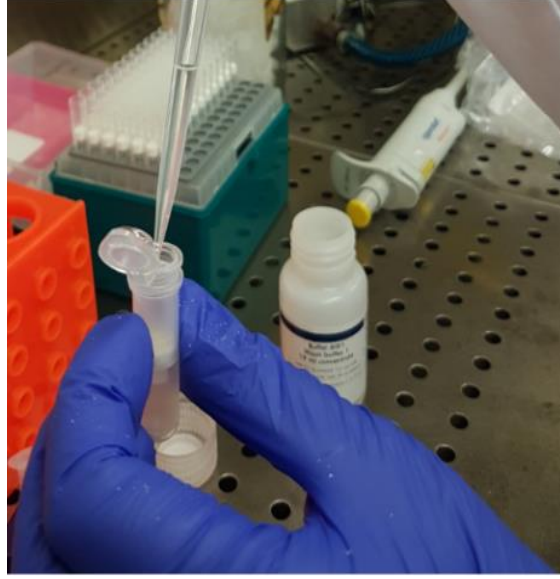
Karışım kit  
kutusunda  
bulunan QIAamp  
spin column  
aktarıldı.



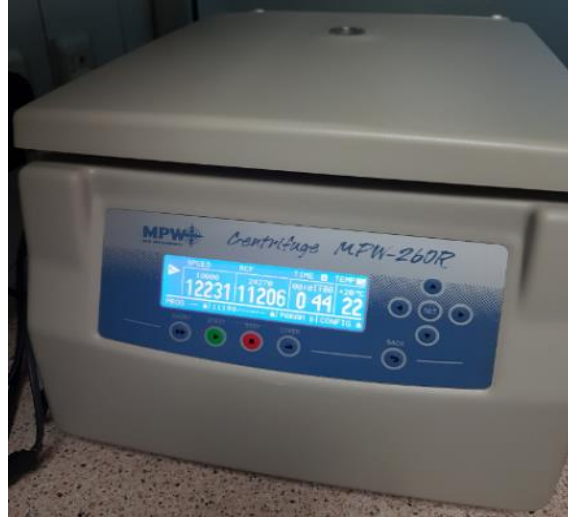
Santrifüj edildi.



Santrifüj sonrası  
görünümü.



Buffer AW1  
konuldu.

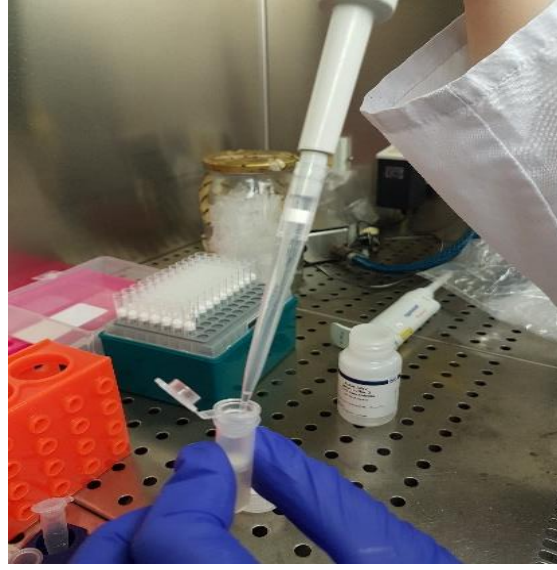


Santrifüj edildi.



Santrifüj sonrası  
görünümü.

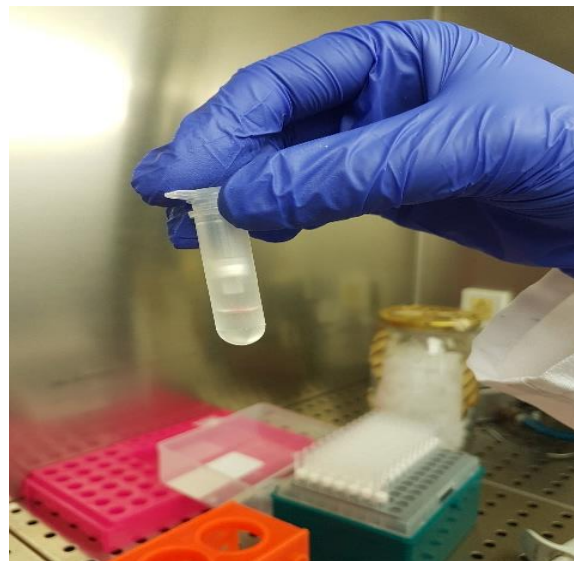




Buffer AW2  
konuldu.



Santrifüj edildi.



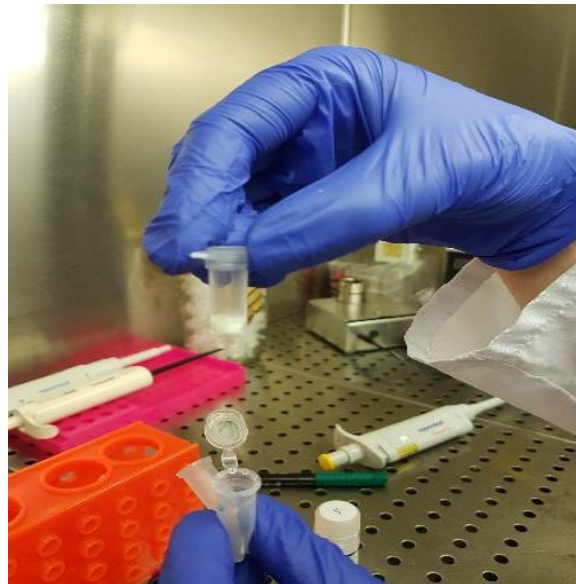
Santrifüj sonrası  
görünümü.



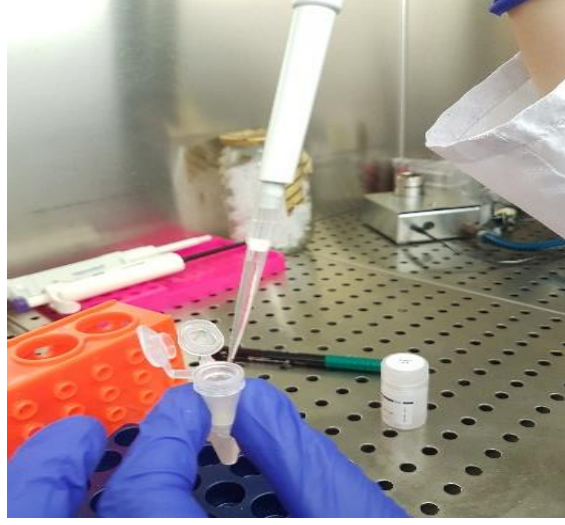
Santrifüj edildi.



Santrifüj sonrası görünümü.



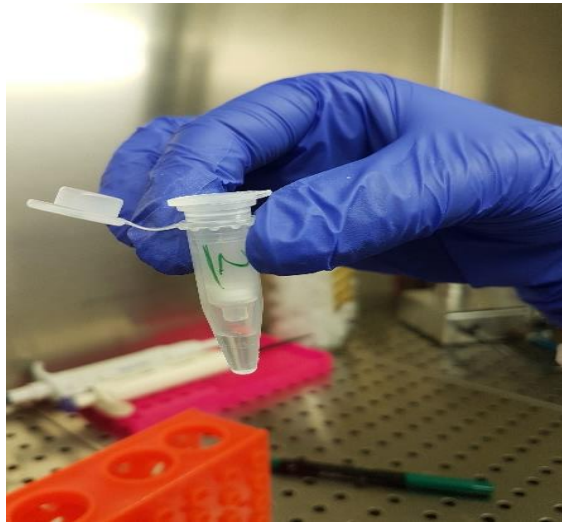
QIAamp spin columnlar yeni bir mikrosantrifüj tüpünün içerisine yerleştirildi.



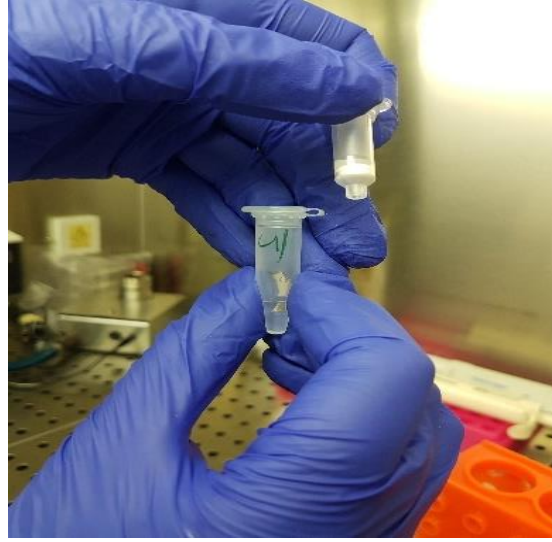
QIAamp spin  
columnlara TEA  
konuldu.



Santrifüj edildi.



Santrifüj sonrası  
görünümü.



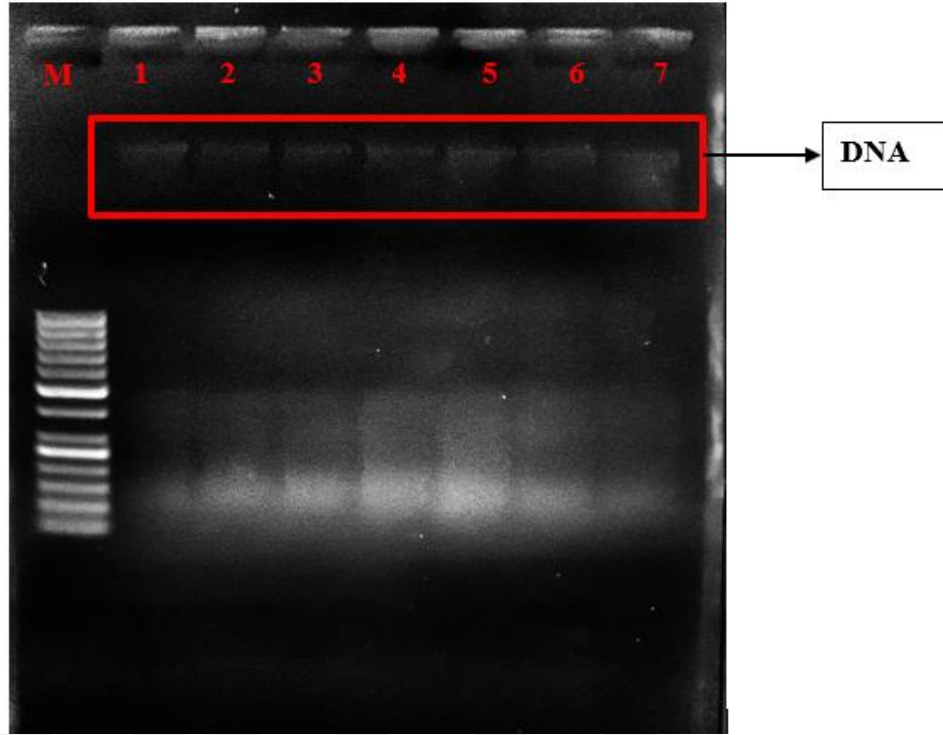
DNA izolasyon  
işlemi  
tamamlanmış  
oldu.

**Şekil 3.3.** DNA izolasyon aşamaları

QIAamp Fast DNA Stool Mini Kiti (Qiagen) kullanılarak izole edilen DNA'ların kalitesi ve miktarları NanoDrop (Thermo Scientific) (Şekil 3.4) cihazı ile ölçüldü. İzole edilen DNA'lar %3'lük jel hazırlanarak 90 Voltta 30 dk. yürütülmüştür. Şekil 3.5.'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.4** NanoDrop cihazı



**Şekil 3.5.** İzole edilen DNA'ların jelde görünümü, M: Marker, 1-7: İzole edilen DNA'lar

### 3.3. *G. intestinalis*'in $\beta$ -giardin(bg) Gen Bölgesinin Amplifikasyonu

$\beta$ -giardin (bg) geninin 753 bp'lık uzun parçası için Cacciò ve arkadaşlarının (Cacciò et al., 2002) kullandığı primerler kullanıldı. Primerler Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Primerler <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> programıyla kontrol edildi.

**Tablo 3.1.** *G. intestinalis* DNA'sında beta giardin gen bölgesinin 753 bp uzun parçasının belirlenmesinde kullanılan primerler

PRİMER ADI	PRİMER DİZAYNI
<b>G7</b>	<b>5'-AAGCCCGACGACCTCACCCGCAGTGC-3'</b>
<b>G759</b>	<b>5'GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC-3'</b>

#### 3.3.1. $\beta$ -giardin(bg) geninin 753 bp'lık uzun parçasının elde edilmesi

$\beta$ -giardin (bg) geninin 753 bp'lık uzun parçasını elde etmek için G7 ve G759 primerleri, Hot Start Green Maxter Mix ve dH<sub>2</sub>O kullanıldı. PCR tüpünün içerisine 12,5  $\mu$ l Master Mix (2X), 1  $\mu$ l Forward Primer G7, 1  $\mu$ l Revers Primer G759 ve 8,5  $\mu$ l dH<sub>2</sub>O konuldu. Hazırlanan karışıma 2  $\mu$ l DNA (dışkılardan izole edilen DNA) eklendi ve 25  $\mu$ l PCR karışımı hazırlandı

(Şekil 3.6). Hazırlanan PCR karışımı Cycler cihazına (Biorad iCycler) yerleştirildi ve Tablo 3.2’de gösterilen PCR programı uygulandı.

**Tablo 3.2.**  $\beta$ -giardin(bg) uzun parçasını elde etmek için kullanılan PCR program

SICAKLIK	SÜRE	DÖNGÜ SAYISI
94	5 dakika	1
94	30 saniye	40
65	30 saniye	40
72	1 dakika	40
72	7 dakika	1



PCR’da kullanılacak olan malzemeler -20 °C’den çıkaltıldı.



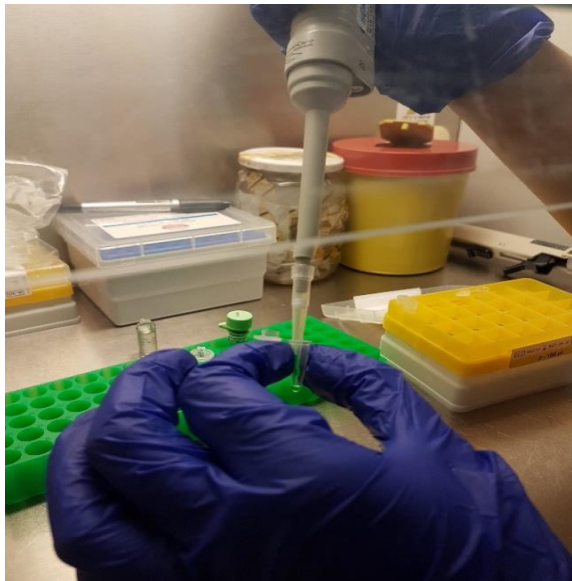
PCR’da kullanılacak olan distile su alındı.



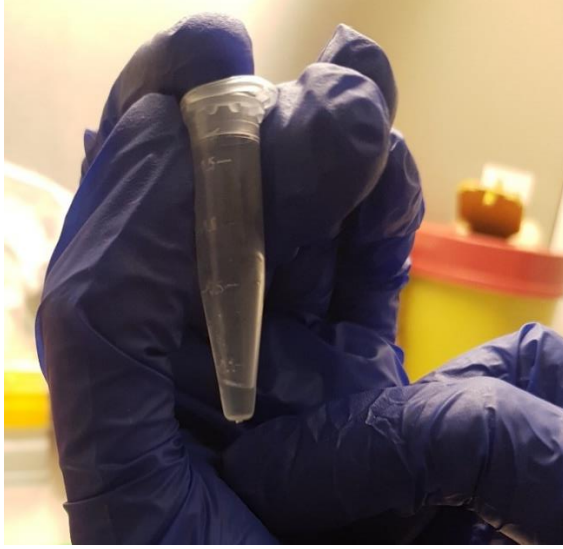
PCR tüpünün  
içerisine distile su  
konuldu.



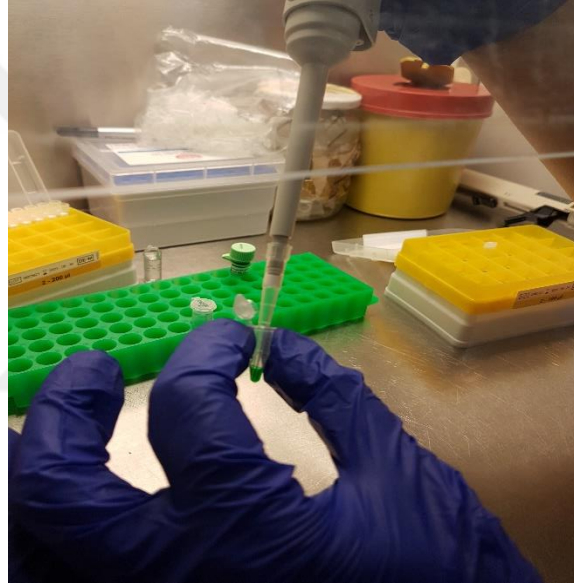
PCR'da kullanılan  
Master Mix'den  
alındı.



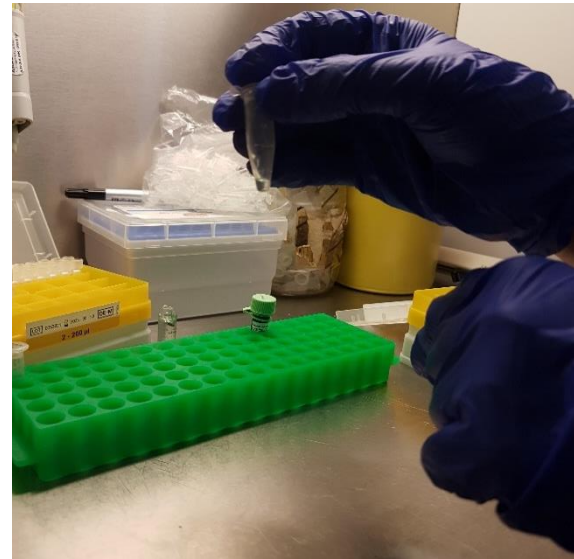
Master Mix PCR  
tüpünün içerisine  
konuldu.



G7 primerinden  
alındı.

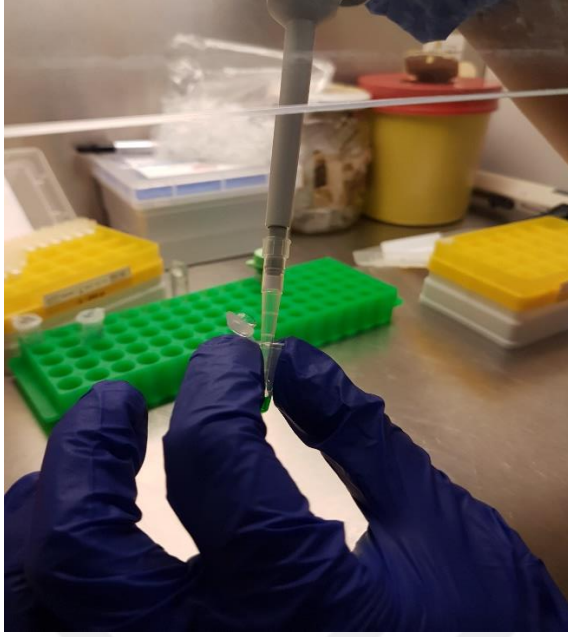


G7 primeri PCR  
tüpünün içersine  
konuldu.

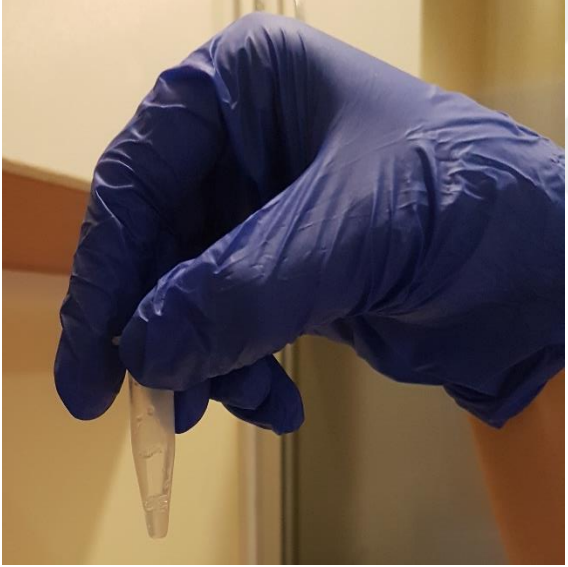


G759 primerinden  
alındı.

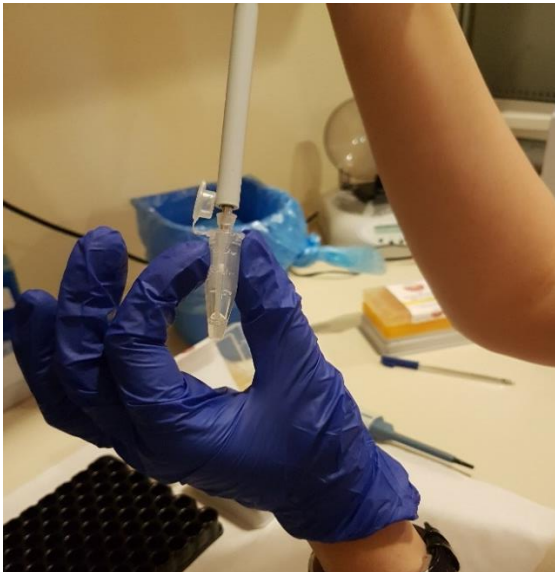




G759 primeri PCR  
tüpünün içerisine  
konuldu.



İzole edilen DNA.



İzole edilen DNA  
örneğinden alındı.



DNA örneği  
hazırlanan PCR  
karışımının  
içerisine konuldu.



PCR tüpü Cycler  
cihazına yerleştirildi.  
Tablo 3.2 gösterilen  
program  
uygulanarak cihaz  
çalıştırıldı.

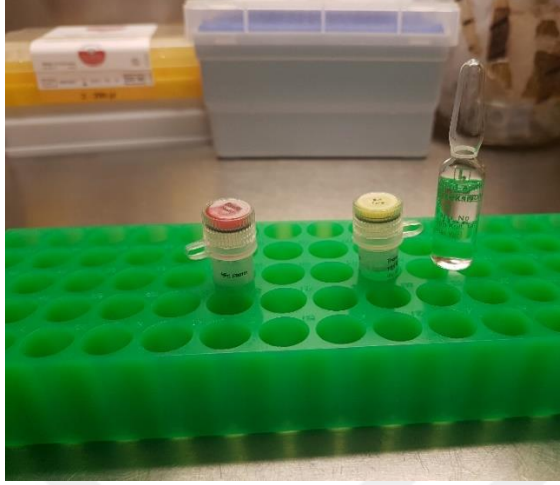
### Şekil 3.6. PCR aşamaları

#### 3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (PCR-RFLP)

Çalışmada  $\beta$ -giardin (bg) geninin 753 bp'lık uzun parçasına uygulanacak olan PCR-RFLP yöntemi Cacciò ve arkadaşlarının (Cacciò et al., 2002) yapmış olduğu protokol doğrultusunda yapıldı. Bg geninin, 753 bp'lık uzun parçasının kesimi için HaeIII (BsuRI) restiriksiyon enzimi kullanıldı.

Bg geninin 753 bp'lık uzun parçasının kesimi, HaeIII restiriksiyon enziminin satın alındığı üretici firmanın önerdiği talimatlar doğrultusunda yapıldı. PCR tüpünün içerisine 10  $\mu$ l PCR ürünü, 2  $\mu$ l Buffer Tango, 1  $\mu$ l (20 U) HaeIII (BsuRI) restiriksiyon enzimi (Thermo

Scientific) ve 18 µl dH<sub>2</sub>O konuldu. Karışım 4 saat 37°C’de bekletildi (Şekil 3.7). %3’luk jel hazırlanarak jel elektroforezde yürütüldü ve UV altında incelendi.



RFLP’de kullanılacak malzemeler -20°C’den çıkartıldı.



RFLP’de kullanılacak olan distile su alındı.



PCR tüpünün içerisine distile su konuldu.



Buffer Tango



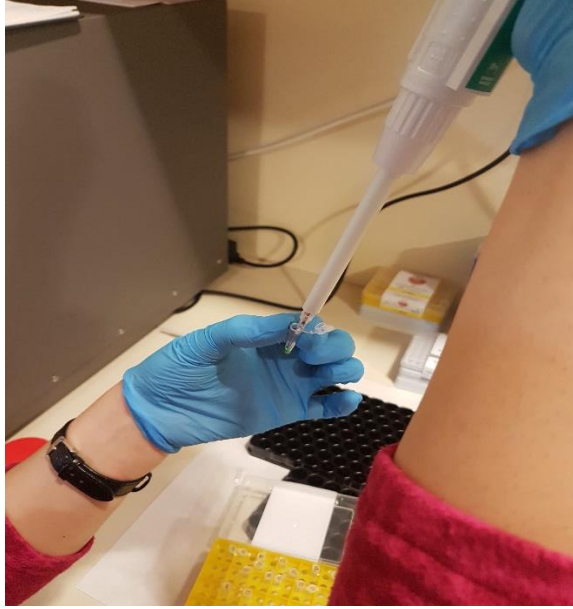
PCR tüpünün  
içerisine Buffer  
Tango konuldu.



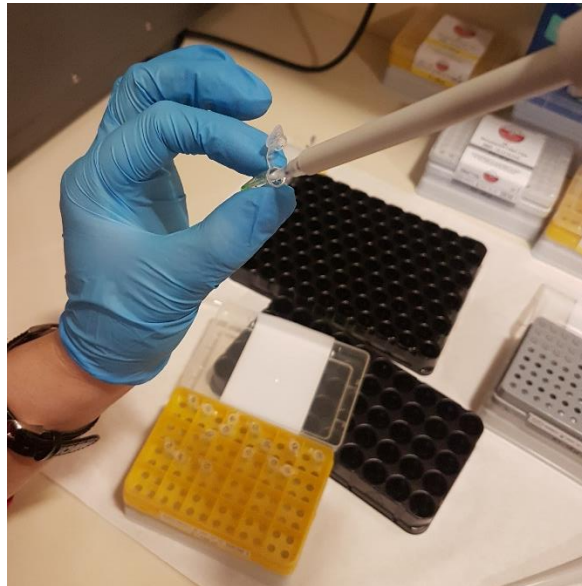
HeaIII  
restriksiyon  
enzimi



PCR tüpünün  
içerisine HeaIII  
restriksiyon  
enzimi konuldu.



PCR ürünü



Hazırlanan karışım  
içerisine PCR  
ürününden eklendi.



Hazırlanan karışım  
37°C'de 4 saat  
bekletildi.

**Şekil 3.7.** RFLP yönteminin aşamaları

### **3.4.1. Agaroz Jelin Hazırlanması ve RFLP Ürünlerinin Yüklenmesi**

PCR-RFLP yapıldıktan sonra oluşan ürünleri incelemek için %3'lük agaroz jel hazırlandı. Hassas terazide 3 g agaroz (PanReac AppliChem A2114,0100) tartıldı ve erlenin içeresine konuldu. Üzerine 100 ml 1X TAE (Tris-Asetik asit-EDTA) eklenerek çalkalandı ve ağzı kapatılarak mikrodalga fırında (BEKO MD 1500) agarın erimesi sağlandı. Soğutulduktan sonra 1 µl ethidium bromide (10mg/ml) (Biotechnology Grade A2510-5 ml) eklendi ve karıştırılarak agar karışımının içinde dağılması sağlandı.

Elektroforezde PCR ürünlerini koyulacak kuyu oluşturmak için, tarak konularak hazırlanan kaba, agar döküldü. Donduktan sonra tarak dikkatli bir şekilde çıkartıldı. Jel, elektroforez tankının (Thermo Electron Corporation EC320) içeresine yerleştirildi. Tankın içeresine 1X TAE konuldu. İlk kuyucuğa 5 µl 50 bp'lık marker (thermo scientific), ikinci kuyuca 5 µl pozitif kontrol, diğer kuyucuklara sırasıyla 5 µl PCR-RFLP ürünü ve son kuyucuğa 5 µl negatif kontrol (distile su) dikkatli bir şekilde agarı delmeden pipetle konuldu (Şekil 3.8). Tankın kapağı kapatılarak 90 voltta 40 dk. yürütüldü. PCR-RFLP ürünleri UV altında görüntülendi ve 50 bp'lık markerle karşılaştırılarak büyüklüğü belirlendi.

Pozitif kontrol (Portland-1 suşu (ATCC 30888D™ LGC Promochem)) Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalından Arş. Gör. Dr. Doğanhan Kadir ER' den temin edildi. Negatif kontrol olarak distile su kullanıldı.



1X'lik TAE  
mezürde  
ölçüldü.



Agar terazide  
tartıldı.



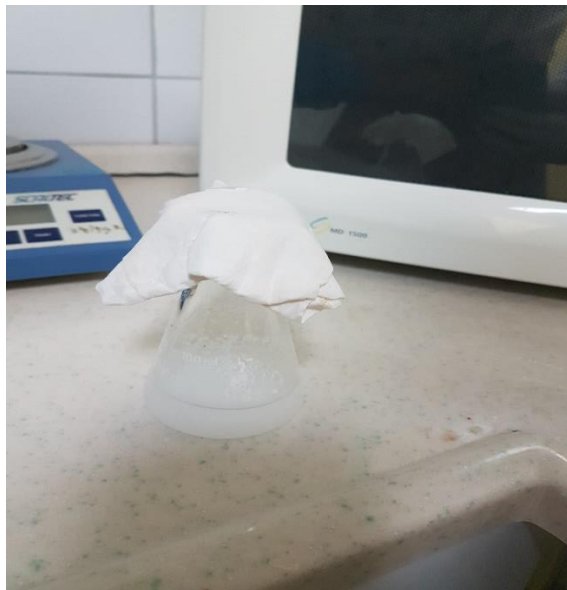
Erlenin içersine  
mezürde ölçülen  
1X'lik TEA'nın  
yarısı konuldu.



Terazide tartılan agar konuldu. Erlen çalkalarak karıştırıldı.



Erlenin içerisine mezürde kalan 1X'lik TEA'nın tamamı döküldü.



Erlenin ağzı kapatıldı.

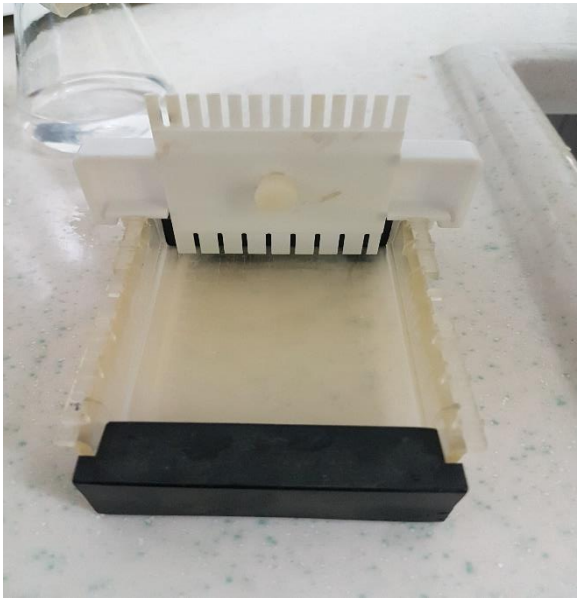




Mikrodalga  
fırında ısıtılarak  
agarın erimesi  
sağlandı.



Agarın eriyip  
erimeediği  
kontrol edildi.



Kuyucuk  
oluşturmak için  
düzenek  
hazırlandı.



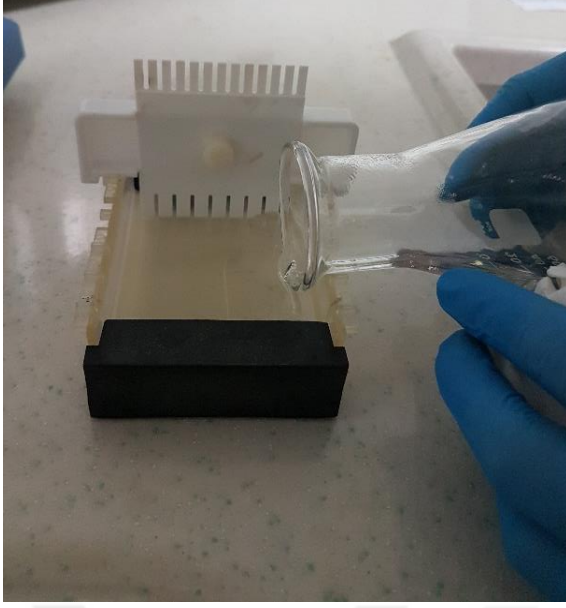
Etidyum bromür



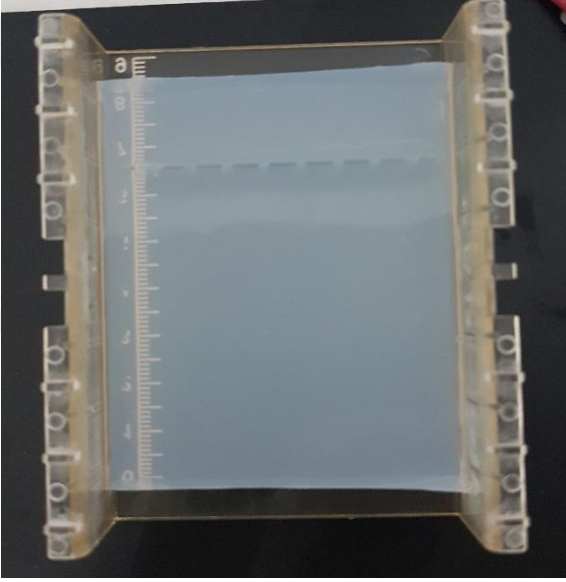
Agar suğuduktan  
sonra etidyum  
bromür eklendi.



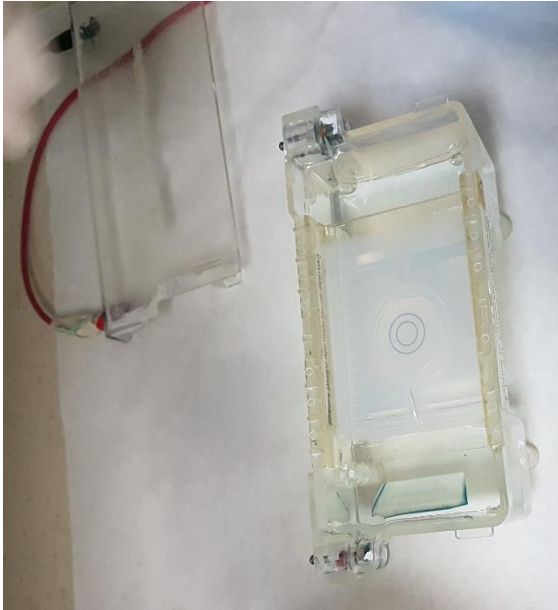
Çalkalandı.



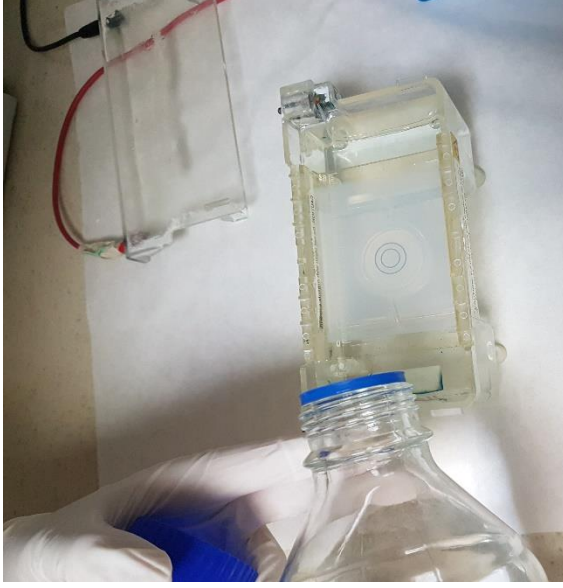
Hazırlanan  
düzeneğe  
dikkatli bir  
şekilde döküldü.



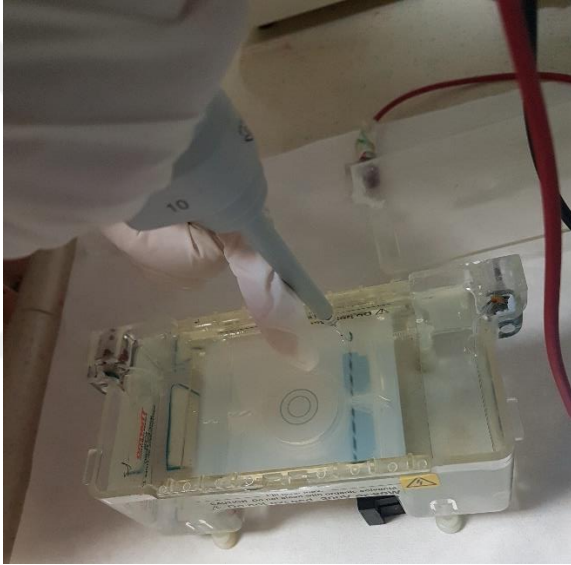
Dolduktan sonra  
tarak çıkartıldı.



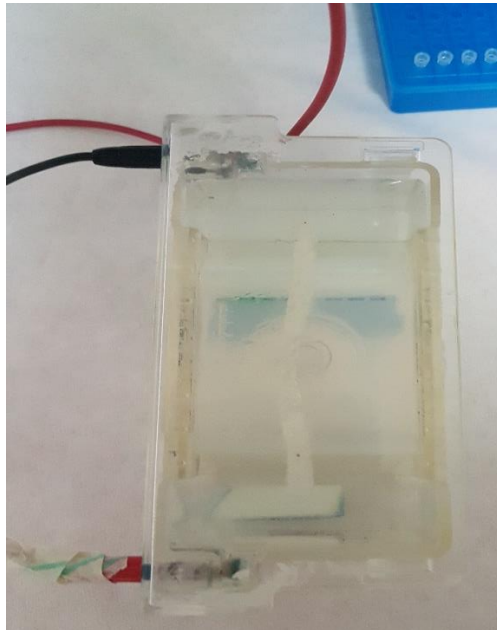
Agar jel  
elektroforez  
tankının  
içerisine  
yerleştirildi.



Üzerine 1X'lık  
TEA döküldü.



Oluşan  
kuyucuklara  
PCR ürünleri  
yüklandı.



Tankın kapağı  
kapatıldı. Cihaz  
çalıştırıldı.

**Şekil 3.8.** Agaroz jelin hazırlanması ve ürünlerin yüklenmesi

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk testi Shapiro Wilk Testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren nümerik değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma, kategorik değişkenler frekans (%) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olmayan nümerik değişkenler için Mann Whitney U testi ile test edildi. Kategorik değişkenler için Fisher Exact Testi ve Monte Carlo kıkare testi ile gruplar arası farklılıklar test edildi. İki yönlü hipotezlerin testi için  $p < 0.05$  istatistiksel önemlilik için yeterli kabul edildi.



#### 4. BULGULAR

Çalışmada Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesini Mikrobiyoloji Laboratuvarına Şubat-Aralık 2020 tarihleri arasında gönderilen 1356 parazit şüpheli dışkı örneklerinden giardiasis şüpheli olgulardan 3 gün üst üste dışkı alınıp nativ Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemleri ile mikroskopik olarak incelenmiştir. Giardiasis tanısı alan 36 hasta dışkısından DNA izolasyonu yapılarak Beta giardin gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçası PCR ile çoğaldı. PCR ürünleri HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimi ile kesilerek RFLP yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen RFLP ürünleri %3'lük agaroz jelde 90 volta 40 dk. yürütüldü ve UV altında görüntülendi.

Giardiasis tanısı alan hasta sayısı ve cinsiyetleri Tablo 4.1 da gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Hastaların cinsiyete göre dağılımı ve yüzdeleri

Cinsiyet	Olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
Kadın	12	33,3
Erkek	24	66,7
Toplam	36	100

Giardiasis tanısı alan hastaların yaş ortalaması 27,56 dir. Yaş dağılımları Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.2.** Hastaların yaş dağılımları ve yüzdeleri

Yaş	Olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
0-10	3	8,3
11-17	9	25
18-30	12	33,3
31-44	7	19,4
45- 45+	5	13,9
Toplam	36	100

Nativ Lugol ve formol etil asetat çöktürme yönteminde 36 tane hastanın dışkısında *G. intestinalis* kist ve/veya trofozoit formları saptanmıştır (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** Giardiasis tanısı alan hastaların mikroskopik olarak dışkı inceleme yöntemleri

<b>Mikroskopik Yöntem</b>	<b>Pozitif</b>	<b>Negatif</b>
<b>Nativ Lugol</b>	<b>36</b>	<b>0</b>
<b>Formol-etilasetat</b>	<b>36</b>	<b>0</b>
<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>0</b>

Hastaların dışkıları mikroskopik olarak incelendiğinde 30 hastada *G. intestinalis*'in kist formu, 6 hastada kist ve trofozoit formu görülmüştür (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4.** *G. intestinalis*'in direkt mikroskopik bakısındaki formları ve yüzdeleri

<b>Morfolojik Şekil</b>	<b>Pozitif</b>	<b>Yüzde (%)</b>
<b>Trofozoit</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Kist</b>	<b>30</b>	<b>83,3</b>
<b>Trofozoit ve kist</b>	<b>6</b>	<b>16,7</b>
<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>100</b>

Giardiasis tanısı konulan 36 hastanın 35'nde semptomatik belirtiler bulunurken 1 olguda herhangi bir belirti (asemptomatik) bulunmamaktadır (Tablo 4.5). Kadın hastaların 12'i semptomatik, erkek hastaların 23'ü semptomatik ve 1 olgu asemptomatiktir (Tablo 4.6).

**Tablo 4.5.** Giardiasis tanısı konulan hastaların klinik belirtileri ve yüzdeleri

<b>Klinik Belirti</b>	<b>Olgu Sayısı</b>	<b>Yüzde (%)</b>
<b>Semptomatik</b>	<b>35</b>	<b>2,8</b>
<b>Aseptomatik</b>	<b>1</b>	<b>97,2</b>
<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>100</b>

**Tablo 4.6.** Giardiasis tanısı konulan kadın ve erkek hastaların klinik belirtileri

<b>Cinsiyet</b>	<b>Aseptomatik</b>	<b>Semptomatik</b>
<b>Kadın</b>	<b>0</b>	<b>12</b>
<b>Erkek</b>	<b>1</b>	<b>23</b>
<b>Toplam</b>	<b>1</b>	<b>35</b>

Giardiasis tanısı konulan hastaların yaş ve klinik belirtileri Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

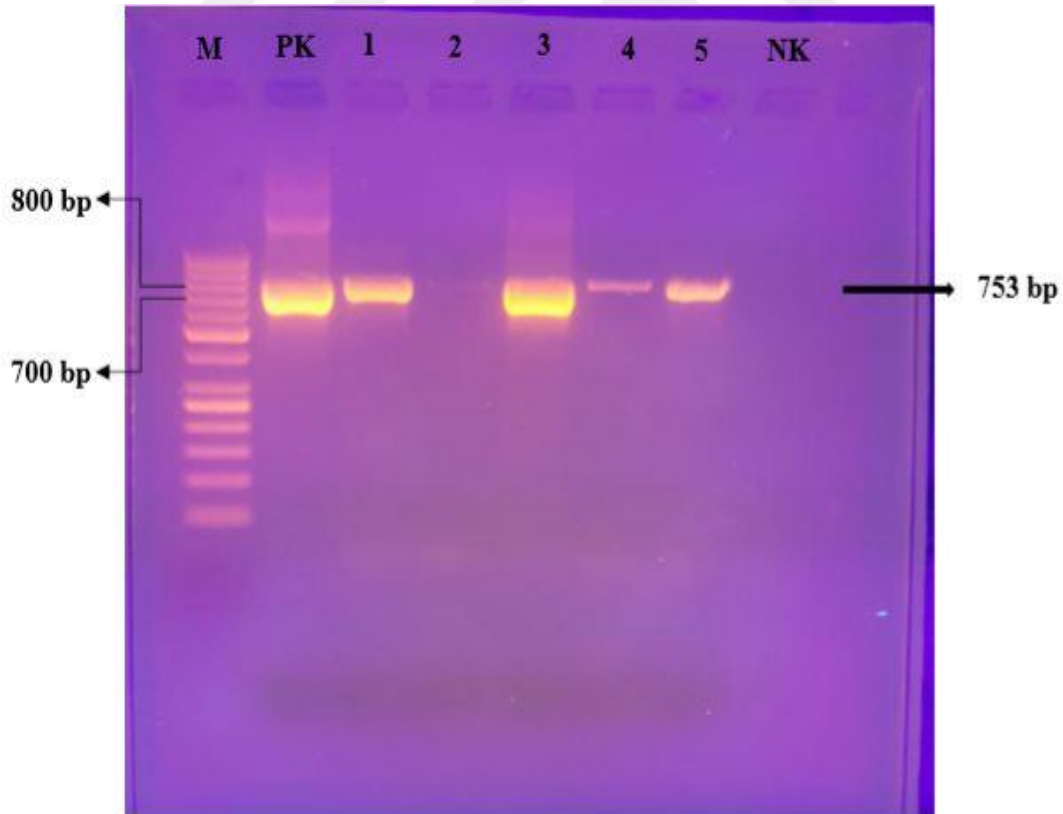
**Tablo 4.7.** Yaş ve klinik belirti

Yaş	Aseptomatik	Semptomatik
0-10	0	3
11-17	0	9
18-30	1	11
31-44	0	7
45- 45+	0	5
<b>Toplam</b>	<b>1</b>	<b>35</b>

#### 4.1. PCR-RFLP Bulguları

##### 4.1.1. Beta- Giardin Geninin 753 bp'lik Uzun Parçasının PCR ile Çoğaltılması

Mikroskopik inceleme sonucu *G. intestinalis* pozitif saptanan dışkı örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı. G7 ve G759 primerleri kullanılarak Beta Giardin gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçası PCR ile çoğaltıldı. PCR ürünleri jel elektroforezde yürütüldü, UV altında görüntülendi ve 36 hastada 753 bp'lık bant görülmüştür (Şekil 4.1).

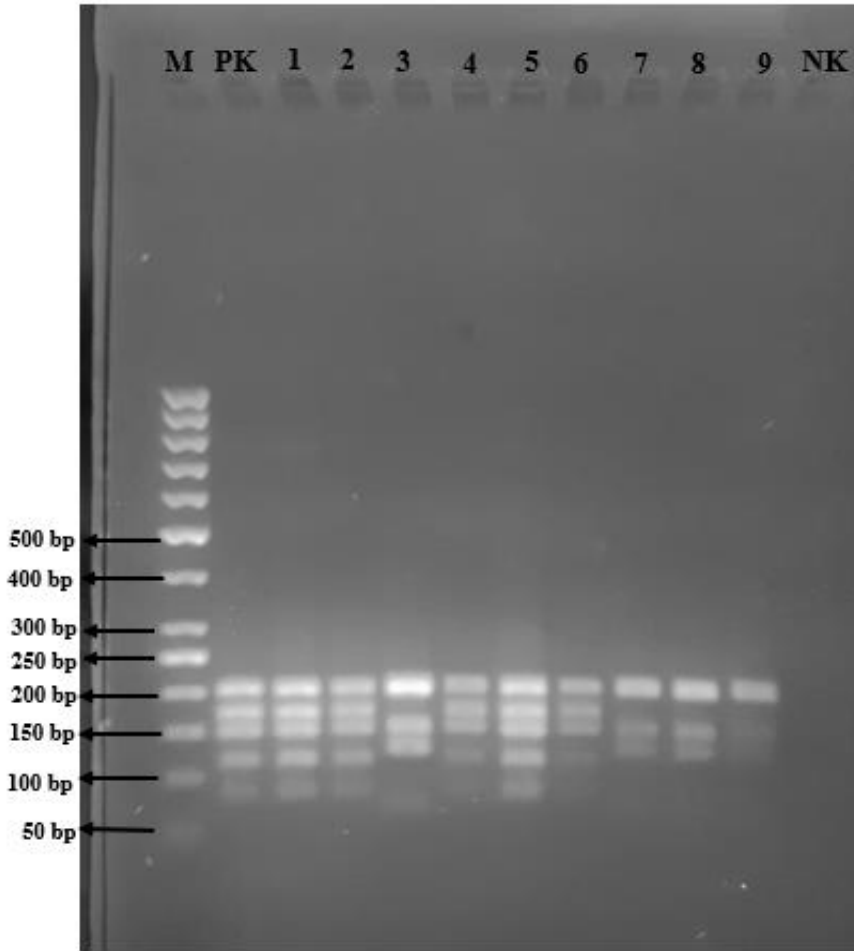


**Şekil 4.1.** Beta giardin gen bölgesinin 753 bp'lik uzun parçasının jel görüntüsü M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, 1-5: Pozitif Hastalar NK: Negatif Kontrol



#### 4.1.2. Beta Giardin Gen Bölgesinin 753 bp'lık Uzun Parçasının PCR-RFLP'si

G7 ve G759 primerleri kullanılarak Beta giardin gen bölgesinin uzun parçası PCR ile çoğaltıldı. PCR ürünü HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimi ile 37°C'de 4 saat bekletip kesilerek RFLP yöntemi uygulandı. Elde edilen RFLP ürünler %3'lük agaroz jelde 90 voltta 40 dk. yürütüldü ve UV altında görüntülendi. HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimi ile A, B ve E genotipi belirlenmektedir. A genotipinde; 202, 201, 150, 126, 74 bp büyüklüklerinde, B genotipinde; 202, 176, 150, 117, 84, 24 bp büyüklüklerinde ve E genotipinde; 202, 186, 150, 102, 74, 24 ve 15 bp büyüklüklerinde bantlar görülmektedir.



**Şekil 4.2.** Beta Giardin gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçasının RFLP jel görüntüsü

M: Marker, PK: Pozitif Kontrol, 1-9: Pozitif Hastalar NK: Negatif Kontrol

Çalışmada yaptığımız PCR-RFLP sonucunda 7 hastada A genotipi 29 hastada ise B genotipi saptandı (Tablo 4.8).

**Tablo 4.8.** PCR-RFLP 'de elde edilen genotipler

<b>Genotip</b>	<b>Olgu Sayısı</b>	<b>Yüzde (%)</b>
<b>A Genotipi</b>	<b>7</b>	<b>19,4</b>
<b>B Genotipi</b>	<b>29</b>	<b>80,6</b>
<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>100</b>

Kadın hastaların 2'nde A, 10'unda B Genotipi, erkek hastaların 5'nde A, 19'unda B Genotipi saptanmıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.9).

**Tablo 4.9.** PCR-RFLP'de elde edilen genotiplerin cinsiyet ile dağılımı

<b>Cinsiyet</b>	<b>A Genotipi</b>	<b>B Genotipi</b>
<b>Kadın</b>	<b>2</b>	<b>10</b>
<b>Erkek</b>	<b>5</b>	<b>19</b>
<b>Toplam</b>	<b>7</b>	<b>29</b>

PCR-RFLP sonucunda elde edilen genotiplerin yaşa göre dağılımı Tablo 4.10'da gösterilmiştir ( $p>0,05$ ).

**Tablo 4.10.** PCR-RFLP'de elde edilen genotiplerin yaş ile dağılımı

<b>Yaş</b>	<b>A Genotipi</b>	<b>B Genotipi</b>
<b>0-10</b>	<b>0</b>	<b>3</b>
<b>11-17</b>	<b>3</b>	<b>6</b>
<b>18-30</b>	<b>3</b>	<b>9</b>
<b>31-44</b>	<b>0</b>	<b>7</b>
<b>45- 45+</b>	<b>1</b>	<b>4</b>
<b>Toplam</b>	<b>7</b>	<b>29</b>

Giardiasis hastaların, tanısı ve hangi genotipin görüldüğü tablo 4.11'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.11.** Giardiasis hastaların tanısı ile genotip dağılımı

	<b>Genotip A</b>	<b>Genotip B</b>
<b>Karın Ağrısı</b>	<b>2</b>	<b>8</b>
<b>İshal</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>Karın Ağrısı ve İshal</b>	<b>1</b>	<b>8</b>
<b>Bulantı ve Kusma</b>	<b>1</b>	<b>4</b>
<b>Vitamin B12 Eksikliği</b>	<b>0</b>	<b>2</b>
<b>Dermatolojik Problemler</b>	<b>0</b>	<b>2</b>
<b>Büyüme ve Gelişme Problemleri</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Endokrin Bozukluklar</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>Baş Ağrısı</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Enfeksiyon Hastalıkları</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Böbrek Yetmezliği</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Lenfoid Lösemi</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Aseptomatik</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>Toplam</b>	<b>7</b>	<b>29</b>

Giardiasis hastaların, klinik belirtileri ile hangi genotipin görüldüğü tablo 4.12’de gösterilmiştir ( $p>0,05$ ).

**Tablo 4.12.** Giardiasis hastalarının klinik belirtisi ile genotiplerinin dağılımı

<b>Klinik Belirti</b>	<b>A Genotipi</b>	<b>B Genotipi</b>
<b>Aseptomatik</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
<b>Semptomatik</b>	<b>6</b>	<b>29</b>
<b>Toplam</b>	<b>7</b>	<b>29</b>

## 5. TARTIŞMA

Giardiasis, en etkin enterik protozoal enfeksiyonlar içerisinde dünyanın her yerinde yaygın olup Asya, Afrika ve Latin Amerika gibi gelişmekte olan ülkelerde sık görülmektedir. *G. intestinalis*, üst ince bağırsağı kolonize eden ve epitellere yapışan kamçılı bir protozoondur, semptomatik klinik belirtileri arasında iştahsızlık, bulantı, gaz, ishal veya yağlı dışkı, karın krampları ve kilo kaybı yer alırken, birçok *Giardia* enfeksiyonu asemptomatik seyretmektedir (Fathi et al., 2020).

Türkiye’de *G. intestinalis* ile yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı bölgelerde *G. intestinalis*’in %0,8 ile % 54,8 arasında değişen oranlarda olduğu söylenmektedir (Karadam et al., 2016). Ülkemizde çeşitli illerde yapılan çalışmalar Tablo 5.1.’de gösterilmiştir.

**Tablo 5.1.** *Giardia intestinalis*'in prevalans sonuçları

Referans	İL	SONUÇ (%)
(Çelik et al., 2006)	Malatya	26,3
(Düzyol et al., 2012)	Manisa	1,96
(Doğan et al., 2008)	Eskişehir	18,8
(Alver et al., 2012)	Bursa	38,8
(Tanrıverdi et al., 2017)	Samsun	48,17
(Kaya et al., 2014)	Isparta	1,66
(Ulusan et al., 2019) (Bayındır & Yetik, 2019)	İzmir	3,9 11,4
(Uyar et al., 2014)	Kayseri	1,17
(Öncel, 2018)	Şanlıurfa	5,7
(Çiçek et al., 2013)	Rize	0,30
(Çulha & Gülkan, 2011)	Hatay	18,1
(Değirmenci et al., 2007)	Sivas	3,7
(Uzun et al., 2004)	Diyarbakır	30,82
(Bayram, 2013)	Van	4,7

**Tablo 5.1.** *Giardia intestinalis* 'in Prevalans Çalışması (Devam)

Referans	İL	SONUÇ (%)
(Tamer et al., 2008)	Kocaeli	24,95
(Gülmez et al., 2013)	Ankara	18,9
(Polat et al., 2020)	İstanbul	17,6

Dünyadaki çalışmalara baktığımızda giardiasis prevalansı: Tayland'da, farklı popülasyonlarda ve bölgelerde % 0,4- %37,7 arasında (Pintong et al., 2020), Hollanda'da örneklenen popülasyona bağlı olarak % 2 ila %14 arasında (Homan & Mank, 2001), İran'ın farklı bölgelerinde %1,2 ila %38'e arasında (Hooshyar et al., 2019), Bulgaristan'da ise ortalama % 0,34 olduğu bildirilmiştir (Rainova et al., 2018).

Dışkıda bulunan bakteri, mantar, mukus, lipit, safra tuzları, polisakkaritler inhibitör etkileri nedeniyle PCR'da negatif sonuçların alınmasına sebep olmaktadır. Babaei ve ark. iki farklı yöntemi karşılaştırarak yaptıkları DNA izolasyonu çalışmasında QIAamp Stool Mini kiti ile DNA ekstraksiyonunun daha etkili bir protokol olduğunu bildirmişlerdir (Babaei et al., 2011). Bizde çalışmamızda QIAamp Fast DNA Stool Mini Kiti kullanarak başarılı bir şekilde 36 dışkı örneğinden DNA izolasyonu yaptık.

*G. intestinalis*'in A ile H arasında olmak üzere 8 genotipi bulunmaktadır (Fink & Singer, 2017). Genotip A ve B; insan ve çeşitli memeli canlılarda bulunurken genotip C; köpek, kanguru sığır, domuz genotip D; köpek, kanguru, sığır genotip E; çiftlik hayvanlarında genotip F; kedi, domuz genotip G; sıçan, fare; genotip H; Fok ve martılarda bulunmaktadır (Heyworth, 2016). Biz çalışmamızda insanlarda en çok *G. intestinalis*'in A ve B genotipleri görüldüğü için A ve B genotiplerini araştırdık.

*G. intestinalis*'in genotipik tayininde; küçük alt birim (SSU) rRNA, glutamat dehidrojenaz (gdh), trioz fosfat izomeraz (tpi), uzama faktörü 1 alfa (ef1  $\alpha$ ),  $\beta$ -giardin(bg), varyant yüzey protein (*vsp*) genlerin dizi analizleri yapılmaktadır (Yaoyu & Xiao, 2011). Biz çalışmamızda  $\beta$ -giardin (bg) gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçasını PCR ile çoğalttık. PCR ürününü HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimi ile keserek UV altında görüntüleyerek RFLP yöntemini uyguladık.

Türkiye’de *G. intestinalis* genotiplerinin moleküler yöntemlerle araştırıldığı ilk çalışma 2004 yılında Aydın ve arkadaşları tarafından Ankara’da yapılmıştır. Yapılan çalışmada, mikroskopik inceleme sonucunda *G. intestinalis* pozitif saptanan 20 semptomatik ve 24 asemptomatik toplam 44 hastaya ait dışkı, 6 semptomatik, 6 asemptomatik 12 duodenal aspirasyon örnekleri olmak üzere toplam 56 hasta örneği ile çalışmışlardır. Örneklerden DNA izole edilmiş, tpi gen bölgesi PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmıştır. Semptomatik hastaların dışkı örneklerinin 17’si (%85) A genotipi, asemptomatik hastaların dışkı örneklerinin 22’si (%92) B genotipi olarak kaydedilmiştir. Duodenal aspirat örneklerinden semptomatik hastaların 5’nde A genotipi, asemptomatik vakaların 5’nde B genotipi saptanmıştır. Sonuç olarak A genotipi ishal ile ilişkilendirilirken B genotipi asemptomatik hastalar ile ilişkilendirilmiştir (Aydın et al., 2004). Biz çalışmamızda, nativ Lugol ve formol etil-asetat çöktürme yöntemi ile mikroskopik olarak *G. intestinalis* pozitif bulduğumuz 36 hastanın dışkı örnekleri ile çalıştık. Örneklerden DNA izole ederek Beta giardin gen bölgesine PCR-RFLP yöntemi uyguladık. PCR-RFLP ürünleri UV altında görüntüledik. Hastaların 29’nda B genotipi (%80,4) 7’nde ise A genotipi (%19,6) olduğu saptadık. Semptomatik hastaların 29’nda B genotip, 6’nda A genotipi, asemptomatik hastada ise A genotipi bulduk.

Küçük ve ark.’nın 2009 yılında yaptığı çalışmada; Tekirdağ Merkez Devlet Hastanesi’nde mikroskopi incelemesi sonucunda pozitif buldukları 26 *G. intestinalis* pozitif ve 64 giardiasis şüpheli toplam 90 hastanın dışkı örnekleriyle çalışmışlardır. Dışkı örneklerinde DNA izolasyonu yapılmış Nested PCR ile doğrulanmış ve 27 örnek pozitif saptanmıştır. Pozitif bulunan PCR ürünleri Healll restriksiyon enzimi ile kesilerek SDS-PAGE’de yürütülmüştür. Örneklerin 15’nde A genotipi, 10’unda B ve E genotipi 2’nde ise B genotipi olarak kaydedilmiştir (Küçük et al., 2019).

Ertuğ ve ark.’nın 2011-14 yılları arasında Adnan Menderes Üniversitesi Parazitoloji laboratuvarında, mikroskopi incelemeleri sonucunda, *G. intestinalis* pozitif saptanan 40 dışkı örneği ile çalışmışlardır. Dışkılarından DNA izole edilmiş 16S rRNA gen bölgesi ve Beta Giardin gen bölgesi çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri jel elektroforezde yürütülerek görüntülenmiş ve PCR ürünleri sekanslatılmıştır. Sekanslama sonucunda 40 izolatdan 10 tanesinin genotipi belirlenmiş; 3’nde A1 genotipi, 3’nde A2 genotipi, 2’nde A3 genotipi ve 2’nde B genotipi saptanmıştır (Ertuğ et al., 2016).

Demirci ve ark.'nın 2016-18 yılları arasında yapmış oldukları çalışmada giardiasis şüpheli olan hastaların dışkılarını mikroskopi yöntemi ile incelenmişlerdir. *G. intestinalis* pozitif saptadıkları 50 hastanın dışkılarından DNA izole etmişlerdir. Real Time PCR ile hastaların 28'nde A genotipi, 17'nde B genotipi ve 5'nde A+B genotipi bulunmuştur. (Demirci et al., 2018).

Vurupalmaz ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Parazitoloji Laboratuvar'ına başvuran giardiasis ön tanılı hastaların dışkı örneklerini nativ-Lugol ve çoklaştırma yöntemi (Modifiye Ritchie) ile mikroskopta incelemişlerdi. *G. intestinalis* pozitif bulunan 69 semptomatik ve 6 asemptomatik toplam 75 hastanın dışkı örneğinden QIAamp DNA Mini Stool Kit (QIAGEN GmbH 40724 Hilden) kullanılarak DNA izolasyonu yapmışlardır. TPI gen bölgesine PCR-RFLP yöntemini uygulamışlar ve kapiller jel elektroforez ile görüntülemişlerdir. Semptomatik hastaların 67'sinde A genotipi 2'nde B genotipi, 6 asemptomatik hastada ise B genotipi olduğu kaydedilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda Vurupalmaz ve arkadaşları incelenen olgu sayısında semptomatik hastalarla genotip A'nın anlamlı olarak fazla olduğunu, asemptomatik hastalıkla genotip B'nin ilişkili olduğunu saptamışlardır. (Vurupalmaz & Öter, 2016).

Sivas'ta Değerli ve ark. yapmış oldukları çalışmada Mayıs 2003 ve Eylül 2005 yılları arasında 10 dışkı, 3 eksitasyon sonrası(kültürden) ve 4 duodenal aspirasyon örneği olmak üzere toplam 17 *G. intestinalis* trofozoiti ile çalışmışlardır. Örneklerden DNA izolasyonu yapılmış, tpi ve gdh gen bölgelerine PCR-RFLP yöntemini uygulanmışlardır. Örneklerin 9'unda A genotipi (%53), 4'nde B genotipi (%23,5) ve 4'u (%23,5) ise değerlendirilememiştir (Değerli et al., 2012).

Tamer ve ark.'nın 2013-14 yılları arasında Kocaeli Üniversite Hastanesinin Parazitoloji laboratuvarında; 145 çocuk hastanın dışkılarını mikroskopi yöntemi ile incelemiş ve 34 çocuk hastanın dışkı örneklerinden DNA izolasyonu yapmışlardır. Beta giardin gen bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri jel elektroforezde yürütülerek görüntülemiş ve 22 çocuk hastanın PCR ürünlerinden sekans analizi yapmışlardır. Çocuk hasta dışkıların 11'nde A genotipi (%50), 7'nde B genotipi (%31,8) ve 4'nde A+B genotipi (%18,2) tespit edilmiştir Bu çalışmanın sonucundan Sönmez ve arkadaşları yaş ile AB genotipi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğunu, genotip ile semptomlar ve klinik enfeksiyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkinin olmadığını saptanmıştır (Tamer et al., 2015).

Biz çalışmamızda 2020 yılında Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinin Mikrobiyoloji laboratuvarına parazit şüphesi ile gönderilen 1356 hastanın dışkıları nativ Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemi ile incelemiş ve giardiasis tanısı alan 36 hastanın dışkı örneklerinden DNA izole edilmiştir. Beta giardin gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçası PCR ile çoğaltılmış, PCR ürünleri HaeIII restriksiyon enzimi ile kesilerek RFLP yöntemi yapılmıştır ve kesilen ürünler UV altında görüntülenmiştir. Çalışmamıza katılan çocuk hastaların 9'unda B genotipi 3'ünde A genotipi, yetişkin hastaların 4'ünde A genotipi 20'sinde B genotipi olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda herhangi bir yaş kısıtlaması yapılmamıştır.

Djelfa (Cezayir)'da Rebih ve ark. 3 okulda yaşları 6-11 arasında değişen 355 dışkı örneği toplamışlar, Lugol yöntemi ile mikroskopta incelemişler ve 30 çocuğun *G. intestinalis* ile enfekte olduğunu saptamışlardır. Dışkılarından DNA, QIAamp DNA dışkı mini kitini kullanılarak izole edilmiştir. Dışkı örneklerin 28'nde Beta giardin gen bölgesinin amplifikasyonunu gerçekleştirilirken 2'nde amplifikasyon gerçekleştirilememiştir. PCR'da 20 dışkı örneğinde güçlü bant saptandığından 20 örneğe PCR-RFLP yöntemi uygulanmış, 16'nda genotip A, 4'nde genotip B olduğu kaydedilmiştir (Rebih et al., 2020).

Şam'da (Suriye) yapılan bir çalışmada Skhal ve ark. 3 farklı hastanenin dahiliye kliniğine başvuran 40 hastadan dışkı örneği toplamışlar ve Lugollu preparat hazırlayarak ışık mikroskopunda incelemişlerdir. Hastaların 25'i 4 ay-10 yaş, 11'i 11-15 yaş ve 4'ü 16 yaş ve üzerindedir. Tüm pozitif örneklerden DNA izole edilerek Beta giardin gen bölgesine PCR-RFLP yöntemini uygulamışlardır. Hastaların 27 (67.5%)'nde A genotipi, 4'nde (10%) B genotipi ve 9'nda (22.5%) A+B genotipi olduğu kaydedilmiştir (Skhal, Aboualchamat, & Al Nahhas, 2016).

Balcıoğlu ve ark. Manisa yöresinden Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gelen *Giardia lamblia* pozitif olan 63 hastanın dışkı örneklerinde DNA izolasyonu yapmışlardır. Tpi gen bölgesi PCR ile çoğaltılmış, 54 dışkı örneğine RFLP yöntemini uygulamışlardır. RFLP uygulanan 54 örneğin 38'nde (%70,37) A genotipi 16'nda (%29,63) B genotipi saptanmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda Balcıoğlu ve arkadaşları kadın hasta sayısının B genotipinde anlamlı düzeyde daha fazla olduğu, ayrıca hastalarda birlikte bulunan karın ağrısı ve ishal yakınması ile *G. lamblia* B genotipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu saptanmışlardır (Balcioğlu et al., 2012).



Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine başvuran ve parazit şüphesi ile Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 1356 hastanın dışkı örnekleri ilk önce nativ Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemi ile mikroskopik olarak incelendi. Giardiasis tanısı alan 36 örnekte DNA izole edildi, izole edilen DNA'lerden Beta giardin gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçasına PCR-PFLP yöntemi uygulandı. Bu uygulama sonucunda örneklerin 29'nda B genotipi (%80,4) 7'nde A genotipi (%19,6) saptandı.

Suudi Arabistan (Al- Asha)'da yapılan bir çalışmada Muhammed, yaşları 6-12 arasında değişen 1500 ilkokula giden çocuk dışkı örneklerini toplamış, Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemi ile ışık mikroskopunda incelemiştir. Dışkı örneklerinde tek patojen olarak *G. intestinalis* kist / trofozoitleri saptanan 97 çocuktan sadece 40'ı çalışmaya alınmıştır. Dışkı örneklerin 12'nde A1 genotipi (%30), 11'nde A2 genotipi (%27,5) 15'nde B genotipi (%37,5), 2'nde (%5) A1, A2 ve B genotipinin varlığı tespit edilmiştir. Semptomlarla ilişkisine bakıldığında ise A1 genotipinin 4'u (%16,7) semptomatik, 8'i (%50) asemptomatiktir, AII genotipinin 3'u (%12,5) semptomatik, 8'i (%50) asemptomatik, B genotipinin 15 (%62,5)'i semptomatik olduğunu bildirilmiştir (Mohammed, 2011).

Bahia (Brezilya)'da yapılan bir çalışmada Pacheco ve ark. 2020 yılında iki gündüz bakım merkezinden toplam 71 ve Bahia Federal Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Klinik Analiz laboratuvarından 39 olmak üzere 110 *Giardia duodenalis* pozitif dışkı örneği ile çalışılmışlardır. Dışkı örneklerinden QIAamp DNA Stool Mini Kit ile DNA izolasyonu yapılmış, Beta giardin ve GDH gen bölgesi PCR ile çoğaltılmış ve RFLP yöntemini uygulamışlardır. Dışkı örneklerinin 80'i genotiplendirilmiş, 62'nde A genotipi (%72,5), 18'nde B genotipi (%22,5) olarak kaydedilmiştir (Pacheco et al., 2020).

Kathmandu (Nepal)'da Singh ve ark. Tribhuvan Üniversitesi Eğitim Hastanesi ve Chhauni Askeri Hastanesinden 12 yaşından büyük, ishal ve gastrointestinal şikayetleri bulunan, 1096 hasta dışkı örneği ile çalışmışlardır. Dışkı örnekleri nativ Lugol yöntemi ile mikroskopta incelenmiş ve 45 hastada *G. intestinalis* pozitif saptamışlardır. Dışkılarından DNA, QIAamp DNA Dışkı Mini Kiti kullanılarak izole edilmiştir. Mikroskopi incelemesi sonucunda pozitif bulunan *G. intestinalis*'i doğrulamak için 18S rRNA gen bölgesi gerçek zamanlı PCR ile çalışılmış ve 35 hastada *G. intestinalis* pozitif saptanmıştır. Pozitif saptanan hastaların PCR ürünlerine RFLP yöntemini uygulanmıştır. Hastaların 7'nde A genotipi (%20), 26'nda B genotipi (%74) ve 2'nde A+B genotipi (%6) olduğu kaydedilmiştir (Singh et al., 2009). Biz *Giardia intestinalis* pozitif 36 dışkıdan DNA izolasyonu yaparak Beta

giardin gen bölgesinin 753 bp'lık uzun parçasını PCR- RFLP yöntemini uyguladık. Dışkıların 29'nda B genotipi (%80,4) 7'inde A genotipi (%19,6) olduğunu saptadık.

Şam'da (Suriye) yapılan bir diğer çalışmada Skhal ve ark. 3 hastaneden aldıkları semptomatik Giardiasis'li 40 hastanın dışkı örneklerini Lugol yöntemi ile mikroskopta incelemişlerdir. Dışkılarından DNA izolasyonu yapılmış, izole edilen DNA'lardan Beta giardin ve gdh gen bölgesine PCR-RFLP yöntemini uygulamışlardır. Hasta dışkıların 18'nde A2 genotipi (%45) 8'nde A1 genotipi (%20), 5'nde B4 genotipi (%12,5), 2'nde B3 genotipi (%5), 4'nde B3+B4 genotipi (%10), 2'nde A2+B3 genotipi (%5) ve 1'nde A1+B4 genotipi (%1) olduğunu kaydetmişlerdir (Skhal, Aboualchamat, Al Mariri, et al., 2016).

Etiyop'da yapılan bir çalışmada Gelanew ve ark. Black Lion Hastanesi, Jimma Hastanesi, gündüz bakım merkezi ve kırsal alanlarda yaşayan insanların dışkı örneklerinde, yaptıkları mikroskopik incelemede 80 dışkıda *G. intestinalis* kist benzeri görüntü saptamışlardır. *G. intestinalis* kisti olduğu düşünülen 80 dışkı Fast DNA Extraction kiti (Qiagen) kullanılarak DNA izolasyon işleminden sonra PCR uygulanmış olup 59 örnekte *G. intestinalis* pozitif bulunmuştur. PCR' da pozitif saptanan 59 örneğin Beta giardin gen bölgesine PCR-RFLP yöntemi uygulanmışlardır. İncelenen 59 dışkının 31'nde (%52) A genotipi, 13'nde (%22) B genotipi, 7'nde A+F genotipi, 8'nde A+B genotipi tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda Gelanew ve ark. semptom varlığı ile genotip B arasında güçlü bir korelasyon olduğunu belirtmişlerdir (Gelanew et al., 2007).

Bir başka çalışmada ise Puebla ve ark. Havana (Küba) William Soler Pediatrik Eğitim Hastanesine gelen 286 çocuk hastanın dışkı örneklerinde Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemlerini kullanarak yaptıkları mikroskopik incelemede 27 dışkıda *G. intestinalis* pozitif saptamışlardır. Pozitif saptadıkları 27 dışkıdan DNA izolasyonu yapılmış, Beta giardin gen bölgesine PCR-RFLP yöntemini uygulamışlardır. Pozitif bulunan dışkıların 19'nda B genotipi (%70,4) 8'nde A genotipi (%29,6) olduğunu kaydedilmiştir (Puebla et al., 2016).

Hindistan'ın Chandigarh eyaletinde Thakur ve ark. Ağustos-Aralık 2019 tarihleri arasında PGIMER, Chandigarh Tıbbi Parazitoloji Bölümü Rutin Laboratuvarında, mikroskopik olarak inceleyerek 40 pozitif *G. intestinalis* dışkı örneği toplamışlardır. Dışkı örneklerinden DNA, QIAmp Fast DNA Stool Mini Kiti ile izole edilmiş ve GDH (GLUD1) gen bölgesine PCR kurulmuştur. Dışkı örneklerin 32'si başarılı bir şekilde ampifiye edilmiş

ve sekanslanmıştır. Çalışma sonucunda Thakur ve ark. dışkı örneklerinin 27 (%84,37)'nde B genotipi, 5 (%15,6)'nde A genotipi olduğunu saptamışlardır (Thakur et al., 2021).

Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Çocuk Hastalıkları ve Sağlığı, Dahiliye, Gastroenteroloji, Hematoloji, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji, Dermatoloji, Aile Hekimliği, Nöroloji, Nefroloji, Psikiyatri, Anestezi, Romatoloji, Kardiyoloji, Kadın Hastalıkları ve Doğum, Üroloji, Endokrinoloji ve Diyabet, Onkoloji, Kalp ve Damar Cerrahisi kliniklerinden Mikrobiyoloji Laboratuvarına Şubat-Aralık 2020 tarihleri arasında gönderilen 1356 parazit şüpheli dışkı örneklerinden giardiasis şüpheli olgulardan 3 gün üst üste dışkı alınıp nativ Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemleri ile mikroskopik olarak incelenmiştir. Giardiasis tanısı konulan 36 hastanın dışkı örnekleri DNA izolasyonu yapılana kadar -80°C'de saklanmıştır. Dışkı örneklerinden DNA, QIAmp Fast DNA Stool Mini Kiti kullanılarak izole edilmiştir. Beta giardin geninin 753 bp'lık uzun parçası PCR ile çoğaltılmış ve PCR ürünleri *HeaIII* (*BsuRI*) restriksiyon enzimi ile kesilerek RFLP yöntemi uygulanmıştır. Giardiasis tanısı konulan 36 hastanın dışkı örneklerinin 29'unda B genotipi (%80,4) 7'sinde A genotipi (%19,4) saptanmıştır.

Türkiye'de *G. intestinalis*'in genotipi ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, A genotipinin B genotipine göre daha çok olduğu gözlemlenmiştir. Biz yaptığımız çalışmada B genotipini, A genotipine göre daha fazla olduğunu saptadık. Giardiasis tanısı konulan hastaların, dışkı örnekleri topladığımız, Kocaeli Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi merkezi konuma sahip bir hastanedir. Kocaeli dışında çevre illerden de (İstanbul, Sakarya gibi) hasta kabulü yapmaktadır. Kocaeli saniye şehridir. Yaz mevsiminde; İç Anadolu, Güney Doğu Anadolu, Doğu Anadolu Bölgelerinden Kocaeli iline mevsimsel işçi göçü olmaktadır. Kocaeli'ne gelen bu insanlar hastalandıklarında Kocaeli Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesinin klinik birimlerine başvurumaktadırlar. Yaptığımız çalışmada, Kocaeli ilinde *Giardia intestinalis*'in B genotipinin bu nedenle yoğun olduğunu düşünmekteyiz. Genotipik değişiminin olup olmadığının belirlenmesi için çalışmanın belli zaman aralıklarında ve daha fazla örnek toplanarak çalışması gerekmektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesini Mikrobiyoloji Laboratuvarına Şubat-Aralık 2020 tarihleri arasında parazit şüphesi ile gönderilen 1356 dışkı örneği nativ Lugol ve formol etil asetat çöktürme yöntemi ile incelendi ve giardiasis tanısını konulan 36 hastanın dışkısıyla çalışıldı.

Giardiasis hastaların 7'nde A genotipi (%19,6) 29'nda B genotipi (%80,4) bulunmuştur. Çalışmada B genotipi baskın olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar farklı ülkelerde yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir ( Puebla et al., 2016; Singh et al., 2009; Thakur et al., 2021).

PCR-RFLP yöntemiyle yaptığımız çalışma, 2013-14 yılları arasında Tamer ve ark.'nın Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yaptığı, PCR ve sonrasında sekanslama çalışması ile karşılaştırıldığında; aynı bölge olmasına rağmen Tamer ve ark.'nın bulduğu sonuçlara göre farklılık göstermektedir. Bölgesel olarak genotiplerde değişimler olabilmektedir. Genotipik değişimlerin olup olmadığının gözlemlenmesi için bu çalışmaların belli zaman aralıklarında tekrarlanması önerilmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- Adam, R. D. (2000). The *Giardia lamblia* genome. *Int J Parasitol* 30(4), 475–484. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00191-5](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00191-5)
- Adam, R. D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. *CLIN. MICROBIOL. REV.* 14(3), 447–475. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.447>
- Ak, M. (1997a) (1997). Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Özcel M. A., Altıntaş N. (Ed), *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:15
- Ak, M. (1997b). *Giardia intestinalis*'in Biyokimyası. Özcel, M. A., Üner, A. (Ed.), *Giardiasis*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No 14
- Ak, M., Türk, M., & Güneş, K. (2007). GIARDIOSIS. Özcel, M. A. (Ed.), *ÖZCEL'İN Tıbbi Parazit Hastalıkları*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No 22
- Aksoy, Ü., & Özkoç, S. (2005). Barsak ve Genital Protozoon Hastalıklarında Tedavi. Akısü, Ç., Korkmaz M. (Ed.), *Tıbbi Parazitolojide Tedavi*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 20
- Al-Mohammed, H. I. (2011). Genotypes of *Giardia intestinalis* clinical isolates of gastrointestinal symptomatic and asymptomatic Saudi children. *Parasitol Res.* 108(6), 1375–1381. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2033-5>
- Ali, V., & Nozaki, T. (2007). Current therapeutics, their problems, and sulfur-containing-amino-acid metabolism as a novel target against infections by “amitochondriate” protozoan parasites. *C CLIN.MICROBIOL.REV.* 20(1), 164–187. <https://doi.org/10.1128/CMR.00019-06>
- Allan, L., T. (Ed.) (2003). *Manual of Commercial Methods in Clinical Microbiology*. (Second Edition)
- Alkan, M. Z. (1997). Giardiasis'de Patogenez. Özcel M. A., Üner, A. (Ed.), *Giardiasis*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 14
- Alkan, Z., Özbel, Y., Özensoy, S., & Atambay, M. (1997). Moleküler Biyolojik Yöntemler. Özcel, M. A., Altıntaş N (Ed), *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:15
- ALTINTAŞ, K. (2002). TIBBİ PARAZİTOLOJİ. MN Medikal Nobel
- Altıntaş, N. (2015). GIARDIOSIS. N. ALTINTAŞ (Ed.), *TIBBİ PARAZİTOLOJİ (HEMŞİRELİK FAKÜLTESİ VE SAĞLIK MESLEK YÜKSEK OKULLARI İÇİN DERS KİTABI)* İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.
- Altıntaş, N., & Korkmaz, M. (1997). Giardiasis'in İmmunolojisi. Özcel, M. A., A. Üner (Eds.), *Giardiasis* İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 14
- Alver, O., Özakin, C., & Töre, O. (2012). Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine 2005-2008 Yılları Arasında Başvuran Kişilerde Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parasitol Derg* 36(1), 17–22. <https://doi.org/10.5152/tpd.2012.05>
- Amar, C. F. L., Dear, P. H., Pedraza-Díaz, S., Looker, N., Linnane, E., & McLauchlin, J. (2002). Sensitive PCR-restriction fragment length polymorphism assay for detection and genotyping of *Giardia duodenalis* in human feces. *J. CLIN.MICROBIOL* 40(2), 446–452. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.2.446-452.2002>
- Assafa, D., Kibru, E., Nagesh, S., Gebreselassie, S., Deribe, F., & Ali, J. (2004). *Medical Parasitology*. Ethiopia. Ethiopia Public Health Training Initiative.
- Aw, J. Y. H., Clarke, N. E., Mccarthy, J. S., Traub, R. J., Amaral, S., Huque, H., ... Nery, S. V. (2019). *Giardia duodenalis* infection in the context of a community - based deworming and water, sanitation and hygiene trial in Timor - Leste. *Parasites Vectors*, 12(491), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3752-9>
- Aydin, A. F., Besirbellioglu, B. A., Avci, I. Y., Tanyuksel, M., Araz, E., & Pahsa, A. (2004). Classification of *Giardia duodenalis* parasites in Turkey into groups A and B using restriction fragment length polymorphism. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 50(2), 147–151. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2004.06.001>

- Babaei, Z., Oormazdi, H., Rezaie, S., Rezaeian, M., & Razmjou, E. (2011). *Giardia intestinalis*: DNA extraction approaches to improve PCR results. *Experimental Parasitology*, 128(2), 159–162. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.02.001>
- Balcioglu, C., Kurt, O., Sevil, N., Dagci, H., Tetik, A., Ergunay, K., ... Ozensoy Toz, S. (2012). Genotyping of giardia lamblia in a cohort of turkish patients: A search for a relationship between symptoms and genotypes. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 18, 125–131. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2011.5968>
- Bayındır B, F., & Yetik, M. (2019). Bağırsak Parazitlerinin Epidemiyolojisi: Beş Yıllık Değerlendirme. *İKSSTD 11*(3), 184–189. <https://doi.org/10.5222/iksstd.2019.54376>
- Bayram, Y. (2013). Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde *Giardia intestinalis* ve *Entamoeba histolytica/dispar* prevalansı: Dört yıllık izlem. *Dicle Tıp Derg*, 40(1), 40–44. <https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2013.01.0221>
- Bayramoğlu, Ö., Pekmezci, D., & Başarı, F. (2013). Adana İli Gıda Çalışanlarında *Giardia* ve *Cryptosporidium* Prevalanslarının Farklı Yöntemler ile Araştırılması. *Türkiye Parazit Derg.* 37(1), 4–8. <https://doi.org/10.5152/tpd.2013.02>
- Budak, S. (1995). GIARDIOSIS. ÖZCEL, M. A. (Ed), *GÜNEYDOĞU ANADOLU PROJESİ'Nİ TEHDİT EDEN PARAZİT HASTALIKLARI*. İzmir
- Budak, S., Akisü, Ç., & Dağcı, H. (1997). Diğer Tanı Materyalleri ve Uygun Tanı Yöntemleri. ÖZCEL M.A., N. ALTINTAŞ (Ed), *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir
- Buret, Andre G. (2007). Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. *Gut*, 56(3), 316–317. <https://doi.org/10.1136/gut.2006.107771>
- Buret, André G., Cacciò, S. M., Favennec, L., & Svärd, S. (2020). Update on *Giardia*: Highlights from the seventh International *Giardia* and *Cryptosporidium* Conference. *Parasite*, 27(49), 1–7. <https://doi.org/10.1051/parasite/2020047>
- Burke, J. A. (2016). The clinical and Laboratory Diagnosis of Giardiasis. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci.* 7(4), 373–391. <https://doi.org/10.3109/10408367709151690>
- Cacciò, S. M., De Giacomo, M., Aulicino, F. A., & Pozio, E. (2003). *Giardia* cysts in wastewater treatment plants in Italy. *APPL ENVIRON MICROBIOL.* 69(6), 3393–3398. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.6.3393-3398.2003>
- Cacciò, S. M., De Giacomo, M., & Pozio, E. (2002). Sequence analysis of the  $\beta$ -giardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *Int J Parasitol*, 32(8), 1023–1030. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(02\)00068-1](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00068-1)
- Cacciò, S. M., Lalle, M., & Svärd, S. G. (2018). Host specificity in the *Giardia duodenalis* species complex. *Infect Genet Evol.* 66, 335–345. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.12.001>
- Cacciò, S. M., & Ryan, U. (2008). Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol Biochem Parasitol*, 160(2), 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2008.04.006>
- Carranza, P. G., & Lujan, H. D. (2010). New insights regarding the biology of *Giardia lamblia*. *Microbes Infect.* 12(1), 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.09.008>
- CDC. (2021). Pparasite- *Giardia*. <https://www.cdc.gov/parasites/giardia/index.html>
- ÇELİK, T., DALDAL, N., KARAMAN, Ü., AYCAN, Ö. M., & ATAMBAY, M. (2006). Malatya İli Merkezinde Üç İlköğretim Okulu Çocuklarında Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 30(1), 35–38.
- Certad, G., Viscogliosi, E., Chabé, M., & Cacciò, S. M. (2017). Pathogenic Mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends Parasitol*, 33(7), 561–576. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.02.006>
- Çetin, E. T., Anđ, Ö., & Törenci, K. (1985). *Tıbbi Parazitoloji* (4.Baskı). Bayda Basım Yayın: Yayın No:15

- Chakarova, B. (2010). COMPARATIVE EVALUATION OF THE DIAGNOSTIC METHODS FOR DETECTION OF GIARDIA INTESTINALIS IN HUMAN FECAL SAMPLES. *Trakia Journal of Sciences*, 8(2), 174–179.
- Hareesh, I., DESAI & Chandra, R. K. (1982). Giardiasis. *Critical Reviews in Tropical Medicine*.
- Chávez-Munguía, B., Cedillo-Rivera, R., & Martínez-Palomo, A. (2004). The Ultrastructure of the Cyst Wall of *Giardia lamblia*. *J. of Eukaryot. Microbiol.*, 51(2), 220–226. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2004.tb00549.x>
- Çiçek, A. Ç., Direkel, Ş., Gündoğdu, D. Z. U., Ertürk, A., & Sarı, A. (2013). Rize İlinde Üniversite ve Devlet Hastanelerine Başvuran Hastalarda Görülen Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Int J Basic Clin Med*, 1(2), 78–82.
- ÇİÇEK, C., & ŞAKRU, N. (2015). Genotyping of *Giardia intestinalis* Isolates in the Thrace Region, Turkey. *Mikrobiyol Bul.*, 49(4), 576–585. <https://doi.org/10.5578/mb.10107>
- Cooper, M. A., Sterling, C. R., Gilman, R. H., Cama, V., Ortega, Y., & Adam, R. D. (2010). Molecular analysis of household transmission of *Giardia lamblia* in a region of high endemicity in Peru. *J Infect Dis*. 202(11), 1713–1721. <https://doi.org/10.1086/657142>
- Çöplü, N., Gözalan, A., & Akin, L. (2007). Gaitada Parazit İncelemede Kullanılan Yoğunlaştırma Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Türkiye Parazit Derg.*, 31(2), 123–128.
- Costache, C., Kalmár, Z., Colosi, H. A., Baciu, A. M., Opriş, R. V., Györke, A., & Colosi, I. A. (2020). First multilocus sequence typing (MLST) of *Giardia duodenalis* isolates from humans in Romania. *Parasit Vectors.*, 13(387), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04248-2>
- Cotton, J. A., Beatty, J. K., & Buret, A. G. (2011). Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. *Int J Parasitol*. 41(9), 925–933. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.05.002>
- Çulha, G., & Gülkan, B. (2011). 2006-2010 yıllarında Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 68(4), 165–174.
- Daldal, Nilgün, Atambay, M., & Çelik, T. (2002). İshalli Olgularda Bağırsak Protozoonlarının Tanısında Nativ-Lugol Ve Trikróm Boyama Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *İnonü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(3), 175–178.
- Daldal, Nilgün, Özensoy, S., Aksoy, Ü., & Akısü, Ç. (1997). Besiyeri ve Hayvan İnokülasyonları. Özcel, M. A., Altıntaş N (Ed), Parazit Hastalıklarında Tanı. İzmir Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:15
- Daldal, N. & Özensoy, S. (1997). *Giardia intestinalis*'in Morfolojisi ve Evrimi. Özcel, M. A, Üner, A. (Ed.), Giardiosis. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No 14
- Dawson, S. C., & House, S. A. (2010). Imaging and Analysis of the Microtubule Cytoskeleton in *Giardia*. *Methods Cell Biol*, 97:307-39. doi: 10.1016/S0091-679X(10)97017-9.
- De Souza, W., Lanfredi-Rangel, A., & Campanati, L. (2004). Contribution of microscopy to a better knowledge of the biology of *Giardia lamblia*. *Microsc. Microanal.*, 10(5), 513–527. <https://doi.org/10.1017/S1431927604040954>
- Değerli, S., Değerli, N., Çeliksöz, A., & Özçelik, S. (2012). Genotyping of *Giardia intestinalis* isolated from people living in Sivas, Turkey. *Turk J Med Sci*, 42(1), 1268–1272. <https://doi.org/10.3906/sag-1104-32>
- DEĞİRMENCİ, A., SEVİL, N., GÜNEŞ, K., YOLASIGMAZ, A., & TURGAY, N. (2007). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı nda 2005 Yılı Boyunca Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parazit Derg.*, 29(2), 116–119.
- Demirci, M., Yiğın, A., Demir, C., & Acel, D. P. (2018). *Giardia intestinalis* Genotiplerinin, Real-Time PCR Yöntemi ile Dışkı Örneklerinden Belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 48(3), 187–191. <https://doi.org/10.5222/tmcd.2018.187>
- denHollander, N., Riley, D., & Befus, D. (1988). Immunology of Giardiasis. *Parasitol Today*, 4(5), 124–131. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(88\)90186-X](https://doi.org/10.1016/0169-4758(88)90186-X)

- Doğan, N., Demirüstü, C., & Aybey, A. (2008). Eskişehir Osmangazi Üniversitesinin Beş Yıllık Bağırsak Paraziti Prevalansının Türlerine ve Cinsiyetlere Göre Dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg.*, 32(2), 120–125.
- Düzyol, D., Kilimcioğlu, A. A., Ozyurt, B. C., Ozkan, H., & Girginkardeşler, N. (2012). Incidence of intestinal parasites detected in the Department of Parasitology in Celal Bayar University Hospital between 2006 and 2010. *Türkiye Parazitol Derg.* 36(3), 147–151. <https://doi.org/10.5152/tpd.2012.35>
- E. A. Adam, J. S. Yoder, L. H. Gould, M. C. Hlavsa, and J. W. G. (2016). Giardiasis outbreaks in the United States, 1971–2011. *Epidemiol Infect*, 144(13), 2790–801. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Eckmann, L. (2003). Mucosal defences against Giardia. *Parasite Immunol* 25(5), 259–270. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3024.2003.00634.x>
- Einarsson, E., Ma'ayeh, S., & Svärd, S. G. (2016). An up-date on Giardia and giardiasis. *Curr Opin Microbiol* 34, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.07.019>
- Erlandsen, S. L., & Bemrick, W. J. (1987). SEM evidence for a new species, *Giardia psittaci*. *J. Parazitol.*, 73(3), 623–9.
- Erlandsen, S. L., Bemrick, W. J., Wells, C. L., Feely, D. E., Campbell, S. R., Keulen, H. Van,... Jarroll, E. L. (1990). Axenic Culture and Characterization of *Giardia ardeae* from the Great Blue Heron ( *Ardea herodias* ) *J Parasitol*, 76(5):717-24
- Erlandsen, S. L., Macechko, P. T., Keulen, H. V., & Jarroll, E. L. (1996). Formation of the Giardia Cyst Wall: Studies on Extracellular Assembly Using Immunogold Labeling and High Resolution Field Emission SEM. *J. Euk. Microbiol.*, 43(5), 416–429. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1996.tb05053.x>
- Erlandsen, L. S. & Meyer, A. E. (1984). *Giardia and Giardiasis*. New York: Springer Science Media
- Ertabaklar, H. (2007a). Dışkı Örneklerinin Mikroskopik İncelemesi: Kalıcı Yayma Boyanması (Trikróm). Başustaoğlu, A., Yıldran, Ş. T. (Ed.), *Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El kitabı* (3 Baskı).
- Ertabaklar, H. (2007b). Dışkı Örneklerinin Mikroskopik İncelemesi:Çinko Sülfat Yüzdürme İle Yoğunlaştırma. Başustaoğlu, A., Yıldran, Ş. T. (Ed.), *Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El kitabı* (3 Baskı).
- Ertuğ, S., Ertabaklar, H., Ozlem Çalışkan, S., Malatyali, E., & Bozdoğan, B. (2016). Aydın'da insanlardan izole edilen giardia intestinalis suşlarının genotiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 50(1), 152–158. <https://doi.org/10.5578/mb.10387>
- Farthing, M. J. G. (1996). Giardiasis. *Gastroenterol Clin North Am*, 25(3), 493–515. [https://doi.org/10.1016/S0889-8553\(05\)70260-0](https://doi.org/10.1016/S0889-8553(05)70260-0)
- Fathi, N., El, A., Hend, L., El, A., Ahmed, T., Aziza, G., Salem, I., Hamdi, A., Abd, M., & Malek, E. (2020). Molecular Characterization of Giardia intestinalis Detected in Humans and Water Samples in Egypt. *Acta Parasitol*, 65:(2) 482-489. <https://doi.org/10.2478/s11686-020-00176-4>
- Faubert, G. (2000). Immune response to Giardia duodenalis. *Clin Microbiol Rev*, 13(1), 35–54. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.1.35-54.2000>
- Figueiredo Pacheco, F. T., Novaes Rodrigues Silva, R. K., Souza de Carvalho, S., Carvalho Rocha, F., Trindade das Chagas, G. M., Chagas Gomes,... Aquino Teixeira, M. C. (2020). The Predominance of Giardia duodenalis AII sub-assemblage in young children from Salvador, Bahia, Brazil. *Biomedica*, 40, 557–568. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5161>
- Fink, M. Y. & Singer, S., M. (2017). The Intersection of Immune Responses, Microbiota and Pathogenesis in Giardiasis. *Trends Parasitol*, 33(11), 901–913. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Flanagan, P. A. (1992). Giardia-diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. *Epidemiol. Infect.*, 109(1), 1–22.
- Friend, D. S. (1966). The fine structure of *Giardia muris*. *J Cell Biol*, 29(2), 317–332. <https://doi.org/10.1083/jcb.29.2.317>
- Gardner, T. B., & Hill, D. R. (2001). Treatment of giardiasis. *Clin Microbiol Rev* 14(1), 114–28. <https://doi.org/10.1007/s11938-005-0047-3>



- Gelanew, T., Lalle, M., Hailu, A., Pozio, E., & Cacciò, S. M. (2007). Molecular characterization of human isolates of *Giardia duodenalis* from Ethiopia. *Acta Trop*, 102(2), 92–9. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.04.003>
- Goka, A. K. J., Rolston, D. D. K., Mathan, V. I., & Farthing, M. J. G. (1990). The relative merits of faecal and duodenal juice microscopy in the diagnosis of giardiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 84(1), 66–7. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(90\)90386-S](https://doi.org/10.1016/0035-9203(90)90386-S)
- Gülel, G. T., Çadırcı, Ö., Gücükoğlu, A., & Alişarlı, M. (2015). Gıda Yoluyla Bulaşan Paraziter Hastalıklar. *Türkiye Klinikleri*, 1(3), 109–16.
- Gülmez, D., Saribaş, Z., Akyön, Y., & Ergüven, S. (2013). Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2003-2012 Yılları Sonuçları: 10 Yıllık Değerlendirme. *Türkiye Parazitol Derg*, 37(2), 97–101. <https://doi.org/10.5152/tpd.2013.23>
- Heyworth, M. F. (2016). *Giardia duodenalis* genetic assemblages and hosts. *Parasite*, 23(13), 1–5. <https://doi.org/10.1051/parasite/2016013>
- Hillman, A., Ash, A., Elliot, A., Lymbery, A., Perez, C., & Thompson, R. C. A. (2016). Confirmation of a unique species of *Giardia*, parasitic in the quenda (*Isoodon obesulus*). *Int J Parasitol Parasites Wildl*, 12 5(1), 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.01.002>
- Homan, W. L., & Mank, T. G. (2001). Human giardiasis: Genotype linked differences in clinical symptomatology. *Int J Parasitol.*, 31(8), 822–6. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00183-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00183-7)
- Hooshyar, H., Rostamkhani, P., Arbabi, M., & Delavari, M. (2019). *Giardia lamblia* infection: Review of current diagnostic strategies. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 12(1), 3–12. <https://doi.org/10.22037/ghfbb.v0i0.1414>
- Ivanov, A. I (2010). *Giardia* and Giardiasis. *Bulg. J. Vet. Med.*, 32(2), 65–80. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60207-9](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60207-9)
- Jerlström-Hultqvist, J., Ankarklev, J., & Svärd, S. G. (2010). Is human giardiasis caused by two different giardia species? *Gut Microbes*, 1(6), 379–382. <https://doi.org/10.4161/gmic.1.6.13608>
- Kahya, S., Buyukcangaz, E. & Carli, T., (2014). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Optimizasyonu. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med*, 32(1), 31–38.
- Kanra, G., & Ecevit, Z. (1988). GİARDİAZİS. *Mikrobiyol Bült*, 22, 276–283.
- Kaplan K, S., Akyıldız, G., Bircan, R., Yilmazer, N., Gargılı, A., & Kar, S. (2019). Identification and Assemblage Types of *Giardia duodenalis* from Patients in Thrace, Turkey. *Infect Dis Clin Microbiol*, 1(1), 6–13. <https://doi.org/10.5152/idcm.2019.19001>
- Karadam, S. Y., Ertuğ, S., & Ertabaklar, H. (2016). Dışkıda *Giardia intestinalis* Tanısında Üç Yöntemin (Mikroskopik İnceleme, Direkt Fluoresan Antikor Testi, İmmunokromatografik Yöntem) Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg*, 40(1), 22–25. <https://doi.org/10.5152/tpd.2016.4366>
- Karaman, Ü, Kaçmaz, G., Kesti, S., Akdemir, C., Direkel, Ş., & Kolören, Z. (2018). Parazitlerin Kist, Yumurtalarının, Modifiye Çinko Sülfat Yüzdürme Yöntemi İle Değerlendirilmesinde Bozulma Sürelerinin Belirlenmesi. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 13–17.
- Karaman, Ülkü, Kolören, Z., & Gülabi, B. B. (2018). Formol ile Tespit Edilmiş Dışkı Örneklerinde Moleküler Yöntemler Kullanılarak *Blastocystis spp.* 'nin ve *Giardia İntestinalis* Pozitifliğinin Araştırılması. *Smyrna Tıp Dergisi*, 1–4.
- Kılıçturgay, K (1996). *TEMEL MİKROBİYOLOJİ VE PARAZİTOLOJİ*. Bursa Güneş Nobel Tıp Kitapevleri
- Kaya, S., Ergün, A., Aynali, A., Öztürk, T., & Özseven, A. (2014). Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Labortuvarına Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 21(1), 16-19
- Keister, D. B. (1983). Axenic culture of *Giardia lamblia* in TYI-S-33 medium supplemented with bile. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 77(4), 487–8. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(83\)90120-7](https://doi.org/10.1016/0035-9203(83)90120-7)

- Kilimcioğlu, A. A., & Ok, Ü. Z. (2011). Yoğunlaştırma Yöntemleri. Korkmaz, M., Ok, Ü. Z. (Ed), *PARAZİTOOJİDE LABORATUVAR*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 23
- Kolören, Z., Çil, E., Ayaz, E., & Karaman, Ü. (2017). RFLP Yönteminin Parazitolojide Uygulama Alanları. *Ordu Üniv. Bil. Tek. Derg*, 7(2), 215–225. <http://btd.odu.edu.tr/files/6-D2.pdf>
- Kraft, M. R., Klotz, C., Bücker, R., Schulzke, J., & Aebischer, T. (2017). *Giardia* 's Epithelial Cell Interaction *In Vitro*: Mimicking Asymptomatic Infection? *Front Cell Infect Microbiol.* 26, 7:421 1–13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00421>
- Küçüködük, Ş., & Şahinoğlu, M. (1989). GİARDİASİS. *Ondokuz Mayıs Üni. Top Fak. Derg.* 6(3) 435-444
- Kuman, H. A. (1997). Giardiosis Sağaltımı. Özcel, M. A, Üner, A. (Ed.), Giardiosis. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No 14
- Laishram, S., Kang, G., & Ajampur, S. S. R. (2012). Giardiasis: A review on assemblage distribution and epidemiology in India. *Indian J Gastroenterol*, 31(1), 3–12. <https://doi.org/10.1007/s12664-012-0161-9>
- Lanfredi-Rangel, A., Attias, M., Reiner, D. S., Gillin, F. D., & De Souza, W. (2003). Fine structure of the biogenesis of *Giardia lamblia* encystation secretory vesicles. *J Struct Biol*, 143(2), 153–163. [https://doi.org/10.1016/S1047-8477\(03\)00123-0](https://doi.org/10.1016/S1047-8477(03)00123-0)
- Leung, A. K. C., Leung, A. A. M., Wong, A. H. C., Sergi, C. M., & Kam, J. K. M. (2019). Giardiasis: an overview. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 13(2), 134–143. <https://doi.org/10.2174/1872213x13666190618124901>
- Lipoldova, M. (2014). *Giardia* and Vilém Dušan Lambl. *PLoS Negl Trop Dis.*, 8(5) 1-4. doi: 10.1371/journal.pntd.0002686
- Lyu, Z., Shao, J., Xue, M., Ye, Q., Chen, B., Qin, Y., & Wen, J. (2018). A new species of *Giardia* Künstler, 1882 (Sarcocystidophora: Hexamitidae) in hamsters. *Parasit Vectors*, 20;11(1), :202 <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2786-8>
- Mahbubani, M. H., Bej, A. K., Perlin, M. H., Schaefer, F. W., Jakubowski, W., & Atlas, R. M. (1992). Differentiation of *Giardia duodenalis* from other *Giardia spp.* by using polymerase chain reaction and gene probes. *J Clin Microbiol.*, 30(1), 74–8. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.1.74-78.1992>
- Marshall, M. M., Naumovitz, D., Ortega, Y., & Sterling, C. R. (1997). Waterborne Protozoan Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 10(1), 67–85.
- Merdivenci, A. (1981). *MEDİKAL PROTOZOLOJİ Ders Kitabı* (2.Baskı). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları.
- Meyer, E. A., & Radulescu, S. (1979). *Giardia* and Giardiasis. *Adv Parasitol*, 17(1), 1–47. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60548-5](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60548-5)
- Miman, Ö., & Saygı, G. (2017). *TEMEL TIBBİ PARAZİTOLOJİ*. İstanbul Tıp Kitapevleri
- Mirrezaie, E., Beiromvand, M., Tavalla, M., Teimoori, A., & Mirzavand, S. (2019). Molecular Genotyping of *Giardia duodenalis* in Humans in the Andimeshk County, Southwestern Iran. *Acta Parasitol*, 64(2) 376-383. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00051-x>
- Mizuno, T., Matey, E. J., Bi, X., Songok, E. M., Ichimura, H., & Tokoro, M. (2019). Extremely diversified haplotypes observed among assemblage B population of *Giardia intestinalis* in Kenya. *Parasitol Int.*, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.102038>
- Mohamed, A. S., Levine, M., Camp, J. W., Lund, E., Yoder, J. S., Glickman, L. T., & Moore, G. E. (2014). Temporal patterns of human and canine *Giardia* infection in the United States: 2003-2009. *Prev Vet Med.*, 113(2), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.11.006>
- Monis, P. T., Andrews, R. H., Mayrhofer, G., & Ey, P. L. (2003). Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infect Genet Evol.* 3(1), 29–38. [https://doi.org/10.1016/S1567-1348\(02\)00149-1](https://doi.org/10.1016/S1567-1348(02)00149-1)
- Monis, P. T., Caccio, S. M., & Thompson, R. C. A. (2009). Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends Parasitol.*, 25(2), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.11.006>

- Murray, R., P. Tıbbi Mikrobiyoloji. (Çev) Us, A. D., Başustaoğlu, A. Çev Ed (Us, A. D., Başustaoğlu, A.).Pelikan Yayıncılık
- Nash, T. E. (2002). Surface antigenic variation in *Giardia Lamblia*. *Mol Microbiol.*, 45(3), 585–90. doi: 10.1046/j.1365-2958.2002.03029.x.
- Ok, Ü. Z., Girginkardeşler, N., Kilimcioğlu, A., & Limoncu, E. (1997). Dışkı İnceleme Yöntemleri. Özcel M. A., Altıntaş N. (Ed), Parazit Hastalıklarında Tanı. İzmir Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:15
- Oytun H. Ş (1968). *Tıbbi Parazitoloji*. Ankara Üniv. Tıp Fak., Ankara.
- Öncel, K. (2018). Distribution of Intestinal Parasites Detected in Şanlıurfa Mehmet Akif Inan Education and Research Hospital Between October 2015 and October 2016. *Turkiye Parazitol Derg.* 42(1), 20–27. <https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5718>
- Özbel, Y., & Dağcı, H. (1997). Giardiosis'in Laboratuvar Tanısı. Özcel, M. A., Üner, A. (Ed.), Giardiosis. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No 14
- Özcel, M. A. (2007). GENEL PARAZİTOLOJİ. Özcel, M. A. (Ed.), ÖZCEL'İN Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No 22
- Özcel, M. A., Üner, A., & Ertuğ, S. (1997). Immunfloresans Yöntemi. Özcel M. A., Altıntaş N. (Ed), Parazit Hastalıklarında Tanı. İzmir Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:15
- Öztürk, R. (2001). Akut Diyare. *İ.Ü. Cerrahpafta Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Sempozyumu*, 27–56.
- Palm, D., Weiland, M., McArthur, A. G., Winiecka-Krusnell, J., Cipriano, M. J., Birkeland, S. R., ... Svärd, S. (2005). Developmental changes in the adhesive disk during *Giardia* differentiation. *Mol Biochem Parasitol*, 141(2), 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2005.03.005>
- Paniker CK, J., & Ghosh, S. (2013). Intestinal, Oral and Genital Flagellates. S. Ghosh (Ed.), *Paniker's Textbook of MEDICAL PARASITOLOGY* (8th ed.). London: The Health Sciences Publisher
- Peattie, D. A. (1990). The Giardins of *Giardia lamblia*: Genes and proteins with promise. *Parasitol Today*. 6(2), 52–56. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(90\)90070-K](https://doi.org/10.1016/0169-4758(90)90070-K)
- Pickering, L. K., & Engelkirk, P. G. (1988). *Giardia lamblia*. *Pediatr Clin North Am.* 35(3), 565–77. [https://doi.org/10.1016/S0031-3955\(16\)36472-0](https://doi.org/10.1016/S0031-3955(16)36472-0)
- Pintong, A., Ruangsittichai, J., Ampawong, S., Thima, K., Sriwichai, P., Komalamisra, N., & Popruk, S. (2020). Efficacy of Ageratum conyzoides extracts against *Giardia duodenalis* trophozoites: an experimental study. *BMC Complement Med Ther.* 20(1):63, 1–9.
- Piva, B., & Benchimol, M. (2004). The median body of *Giardia lamblia*: An ultrastructural study. *Biol Cell*, 96(9), 735–746. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.05.006>
- Plutzer, J., Ongerth, J., & Karanis, P. (2010). *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *Int J Hyg Environ Health*, 213(5), 321–333. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2010.06.005>
- Polat, E., Özdemir, S., & Sirekbasan, S. (2020). İstanbul'da Bir Üniversite Hastanesine Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı: Yedi Yıllık Retrospektif Analiz. *Turkiye Parazitol Derg*, 44(3), 139–142. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2020.6653>
- Porter, J. D. H., Gaffney, C., Heymann, D., & Parkin, W. (1990). Food-borne outbreak of *Giardia lamblia*. *Am J Public Health.* 80(10), 1259–1260. <https://doi.org/10.2105/AJPH.80.10.1259>
- Prucca, C. G., & Lujan, H. D. (2009). Antigenic variation in *Giardia lamblia*. *Cell Microbiol*, 11(12), 1706–1715. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01367.x>
- Puebla, L. E. J., Núñez, F. A., Rivero, L. R., Silva, I. M., Valdés, L. A., Millán, I. A., & Müller, N. (2016). Distribution of *Giardia duodenalis* Assemblages by PCR-RFLP of  $\beta$ -Gardin Gene in Cuban Children. *J Pediatr Infect Dis*, 11(1), 6–12. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1586212>

- Rainova, I., Harizanov, R., Kaftandjiev, I., Tsvetkova, N., Mikov, O., & Kaneva, E. (2018). Human parasitic diseases in Bulgaria in between 2013-2014. *Balkan Med J*, 35(1), 61–67. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.2017.0167>
- Rebih, N., Boutaiba, S., Aboualchamat, G., Souttou, K., Hakem, A., & Al Nahhas, S. (2020). Molecular and epidemiological characterization of *Giardia intestinalis* assemblages detected in Djelfa, Algeria. *J Parasit Dis*, 44(2), 281–288. <https://doi.org/10.1007/s12639-020-01206-8>
- Roxström-Lindquist, K., Palm, D., Reiner, D., Ringqvist, E., & Svärd, S. G. (2006). *Giardia* immunity- An update. *Trends Parasitol*, 22(1), 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2005.11.005>
- Rumsey, P., & Waseem, M. (2020). *Giardia lamblia* Enteritis. *NCBI Bookshelf*, 1–5.
- Ryan, U., & Cacciò, S. M. (2013). Zoonotic potential of *Giardia*. *Int J Parasitol.*, 43(12–13), 943–956. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.001>
- Ryan, U., & Zahedi, A. (2019). Molecular epidemiology of giardiasis from a veterinary perspective. *Adv Parasitol*, 106; 209-254. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2019.07.002>
- Singer, S. M., Elmendorf, H. G., Conrad, J. T., & Nash, T. E. (2001). Biological Selection of Variant-Specific Surface Proteins in *Giardia lamblia*. *J Infect Dis*, 183(1), 119–124. <https://doi.org/10.1086/317659>
- Singh, A., Janaki, L., Jr, W. A. P., & Houpt, E. R. (2009). *Giardia intestinalis* Assemblages A and B Infections in Nepal Anjana. *Am J Trop Med Hyg.*, 81(3), 538–539.
- Skhal, D., Aboualchamat, G., Al Mariri, A., & Al Nahhas, S. (2017). Prevalence of *Giardia duodenalis* assemblages and sub-assemblages in symptomatic patients from Damascus city and its suburbs. *Infect Genet Evol*, 47, 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.11.030>
- Skhal, D., Aboualchamat, G., & Al Nahhas, S. (2016). *Giardia duodenalis* in Damascus, Syria: Identification of *Giardia* genotypes in a sample of human fecal isolates using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analyzing method. *Acta Trop*, 154, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.10.008>
- Smith, H. V., & Mank, T. G. (2011). Diagnosis of Human Giardiasis. Smith, H. V., Mank, T. G. (Eds.), *Giardia*. Springer-Verlag/Wien
- Spong, H., Cacciò, S. M. & Giessen, J., W. B. V. D. (2009). Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. *PLoS Negl Trop Dis*, 1;3(12), 1-12. doi: 10.1371/journal.pntd.0000558
- Šoba, B., Islamovic, S., Skvarc, M., & Cacciò, S. M. (2015). Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* (Lambl, 1859) from symptomatic human infections in Slovenia. *Folia Parasitol (Praha)*, 62(062), 1–6. <https://doi.org/10.14411/fp.2015.062>
- Süheyla, T., & Esendal, Ö. M. (2002). POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU ve MİKROBİYOLOJİDE KULLANIM ALANLARI. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 8(1), 71–76.
- Syed, A. A. & David, R. H. (2003). *Giardia intestinalis*. *Curr Opin Infect Dis*, 32(4), 522–529. doi: 10.1097/00001432-200310000-00012
- Tamer, G. S, Çalışkan, Ş., & Willke, A. (2008). Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 32(2), 126–129.
- Tamer, Gulden Sonmez, Kasap, M., & Er, D. K. (2015). Genotyping and phylogenetic analysis of giardia duodenalis isolates from Turkish children. *Med Sci Monit*, 21, 526–532. <https://doi.org/10.12659/MSM.892318>
- Tanrıverdi Çaycı, Y., Hacıeminoğlu, K., & Birinci, A. (2017). Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarında 2014-2016 Yılları Arasında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(3), 6–8. <https://doi.org/10.30934/kusbed.335174>
- Terzi, G. (2005). Gıda Kaynaklı Protozoon Enfeksiyonların İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16(2), 47–55.

- Thakur, S., Kaur, U., & Sehgal, R. (2021). Genetic diversity of *Giardia* isolates from patients in Chandigarh region: India. *BMC Res Notes*, *14*(1), 26, 1–5. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-05419-1>
- Thompson, R. C. A. (2004). The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Vet Parasitol*, *126*, 15–35. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.008>
- Thompson, R. C. A., & Monis, P. (2012). *Giardia*-From Genome to Proteome. *Adv Parasitol*, *78*, 57-95. doi: 10.1016/B978-0-12-394303-3.00003-7.
- Walterspiel JN, Pickering LK. (1994). *Giardia* and giardiasis. *Prog Clin Parasitol*, *4*:1-26.
- THOMPSON, S. C. (1994). *Giardia lamblia* in children and the child care setting: A review of the literature. *J. Paediatr. Child Health*, *30*(3), 202–209. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1754.1994.tb00620.x>
- Turhan, E., İnandı, T., Çetİn, M., & Taş, S. (2009). Hatay İli Çocuk Esirgeme ve Yetiştirme Kurumlarında Kalan Çocuklarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parazitol. Derg.*, *33*(1), 59–62.
- Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi. (2014). CİLT III Ankara
- Uluslan, Ö., Zorbozan, O., Yetismis, K., Töz, S., Ünver, A., & Turgay, N. (2019). The Distribution Of The Intestinal Parasites Detected In Ege University Medical Faculty Parasitology Direct Diagnosis Laboratory; 10-Years Evaluation. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg.* *49*(2):86. doi:10.5222/TMCD.2019.086
- Unat, E. K., Yücel, A., Altaş, K., & Samastı, M. (1995). UNAT'ın TIP PARAZİTOLOJİSİ (5 Baskı). Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfı Yayınları: 15
- Üner, A., & Ertuğ, S. (1997). Giardiosis'in Epidemiyolojisi. Özcel, M. A., Üner, A. (Ed.), Giardiosis. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No 14
- Upcroft, J. A., Krauer, K. G., & Upcroft, P. (2010). Chromosome sequence maps of the assemblage A *Giardia lamblia* isolate WB. *Trends Parasitol*, *26*(10), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Uyar, Y., Yuruk, M., Erdogan, E., Kuk, S., Sahin, I., & Yazar, S. (2014). Distribution of intestinal parasites in patients presenting at the Erciyes University Medical School Parasitology Laboratory between 2011 and 2013. *Turk Hij Den Biyol Derg*, *71*(3), 125–130.
- Uzun, A., Tekay, F., Kardeşahin, Ö., Yeşilmen, S., Topçu, M., & Gül, K. (2004). Diyarbakır İl Merkezinde Farklı Bölgelerdeki Beş İlköğretim Okulunda Bağırsak Parazitlerinin Araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg.*, *28*(3), 133–135.
- Üstün, Ş., Oruç, N., & İter, T. (2012). *Giardia intestinalis* ve gaitada total yağ tayini. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, *11*(1), 7–10.
- Vanni, I., Cacciò, S. M., van Lith, L., Lebbad, M., Svärd, S. G., Pozio, E., & Tosini, F. (2012). Detection of *Giardia duodenalis* Assemblages A and B in Human Feces by Simple, Assemblage-Specific PCR Assays. *PLoS Negl Trop Dis*, *6*(8), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001776>
- Verweij, J. J., Schinkel, J., Laeijendecker, D., Van Rooyen, M. A. A., Van Lieshout, L., & Polderman, A. M. (2003). Real-time PCR for the detection of *Giardia lamblia*. *Mol Cell Probes*, *17*(5), 223–225. [https://doi.org/10.1016/S0890-8508\(03\)00057-4](https://doi.org/10.1016/S0890-8508(03)00057-4)
- Vitaiano A. Cama, D., & Blaine A. Mathison, B. (2016). Infections by Intestinal Coccidia and *Giardia duodenalis*. *Clin Lab Med.*, *35*(2), 2–24. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.010>.Infections
- Vivancos, V., & Bermejo, M. (2018). Giardiasis: Characteristics, Pathogenesis and New Insights About Treatment. *Curr Top Med Chem*, *18*(15), 1287–1303. <https://doi.org/10.2174/1568026618666181002095314>
- Vurupalmaz, Y., & Öter, V. (2016). GİARDİASİS TANILI HASTALARIN DIŞKI ÖRNEKLERİNDE TPI GEN LOKUSU HEDEFLEREN G. *intestinalis* GENOTİPLERİNİN PCR – RFLP YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI. *Kocatepe Tıp Dergisi*, *17*(4), 109–117. <https://doi.org/10.18229/kocatepetip.289092>
- Wang, Y., Moreno, O. G., Roellig, D. M., Oliver, L., Huguet, J., & Guo, Y. (2019). Epidemiological distribution of genotypes of *Giardia duodenalis* in humans in Spain. *Parasit Vectors*, *12*(1), 432 6–15. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3692-4>
- Wolfe, M. S. (1992). Giardiasis. *Clin Microbiol Rev*, *5*(1), 93–100. doi: 10.1128/cmr.5.1.93.

Yağci, Ş., Takmaz, S., Ekşi, F., Balci, I., & Özen, D. (2013). Dışkı Örneklerinde *Giardia intestinalis*'in Araştırılmasında Direkt Mikroskopi, ELISA ve Direkt Floresan Antikor Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Türkiye Klinikleri*, 33(5), 1308–1315. <https://doi.org/10.5336/medsci.2013-34075>

Yaman, K., Özkan, A. T., Akarsu, G., Babür, C., & Mungan, M. (2014). *Giardia intestinalis*' in Taze Dışkı Örneklerinde Mikroskopi ve EIA Yöntemleri Kullanılarak Araştırılması. *FLORA*, 19(1), 54–58.

Yaoyu, F., & Xiao, L. (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev*, 24(1), 110–140. <https://doi.org/10.1128/CMR.00033-10>

Yukarı, B. A., & Şahinduran, Ş. (2016). GIARDIOSIS. Özcel, M. A. (Ed.), *Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları*. İzmir. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:24

