

**T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SAMSUN İLİNDEN ALINAN SU ÖRNEKLERİNDE *Blastocystis*
TÜRLERİNİN MOLEKÜLER TEKNİKLER KULLANILARAK
ARAŞTIRILMASI**

BERİVAN BAŞAK GÜLABİ

Yüksek Lisans Tezi

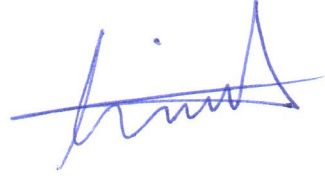
ORDU 2016

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi BERİVAN BAŞAK GÜLABİ tarafından hazırlanan ve DOÇ. DR. ZEYNEP KOLÖREN danışmanlığında yürütülen“Samsun'dan Alınan Su Örneklerinde *Blastocystis* Türlerinin Moleküler Teknikler Kullanılarak Araştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 30/05/2016 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN

Başkan : Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN
Biyoloji Anabilim dalı, Ordu Üniversitesi



Üye : Yard. Doç. Dr. Ülkü KARAMAN
Parazitoloji Anabilim dalı, Ordu Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Halil İbrahim KILIÇ
Biyoloji Anabilim dalı, Gaziantep Üniversitesi

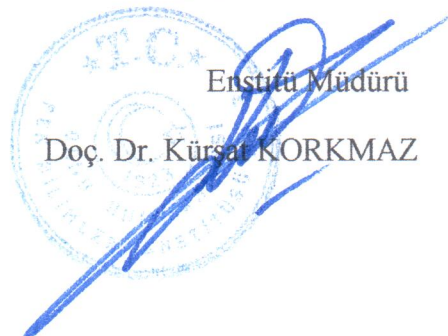


ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 02/06/2016 tarih ve 2016/272 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

30/06/2016.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Kürsat KORKMAZ



TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İmza

Berivan Başak GÜLABİ

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET
SAMSUN İLİNDEN ALINAN SU ÖRNEKLERİNDE *Blastocystis*
TÜRLERİNİN MOLEKÜLER TEKNİKLER KULLANILARAK
ARAŞTIRILMASI

BERİVAN BAŞAK GÜLABİ

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı, 2016
Yüksek Lisans, 80s.

Danışman: Doç Dr. Zeynep KOLÖREN

Bu çalışmada, 2012- 2014 yılları arasında Samsun il ve ilçelerinde belirlenen toplam 37 istasyondan 75 çevresel, 25 içme suyu örneği alınmıştır. Alınan su örneklerinden DNA izole edilerek Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile smallsub-unitribosomal RNA [(SSU)rRNA] geni kullanılarak *Blastocystis* türlerinin varlığı araştırılmıştır. Kullanılan metotla alınan 25 içme suyu örneğinin hiç birinde *Blastocystis* DNA'sına rastlanılmamıştır. Samsun il ve ilçelerinden alınan 75 çevresel su örneğinin 3'ü (% 4) PZR yöntemi ile *Blastocystis* spp.'nin varlığı açısından pozitif bulunmuştur.

Araştırma alanından alınan çevresel su örneklerinden elde edilen PZR ürünleri sekans analizine gönderilmiştir. Sekansa gönderilen ürünlerden Kürtün ve Miliç Çayı'na ait örneklerin *Blastocystis* alttür ST1, Mert Çayı'na ait örneğin ise *Blastocystis* alttür ST3 olduğu belirlenmiştir.

Samsun il sınırlarında yer alan çevresel ve içme suyu kaynaklarında su kökenli protozoonlar ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmayla araştırma alanında su kirliliğine neden olan su kökenli protozoon *Blastocystis* türlerinin tespiti moleküler tekniklerle sağlanmıştır. İçme ve kullanma sularının temiz olarak temini ve yeryüzü sularının kirletilmeden korunması halk sağlığını korumak için gerekli temel sağlık prensiplerindedir. Gerek bölgedeki halk sağlığı için tehlikeli protozoonun varlığının tespitiyle halk sağlığını korumaya yönelik temel bir çalışma olması gerekse yapılacak diğer çalışmalar için kaynak oluşturması bu çalışmanın önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis* spp., Moleküler teknikler, Samsun,

ABSTRACT

BERİVAN BAŞAK GÜLABİ

Ordu University

Institute of Science and Technology

Department of Biology, 2016

Master's thesis (Msc.), 80p.

Advisor: Doç Dr. Zeynep KOLÖREN

In this study, 75 environmental, 25 drinking water samples were collected from 37 sampling sites in Samsun Province and its boroughs between the years 2012-2014. DNA was isolated from water samples and the presence of *Blastocystis* spp. was investigated by small sub-unit ribosomal RNA [(SSU)rRNA] gene polymerase chain reaction (PCR). None of the 25 drinking water samples has been found *Blastocystis* DNA with this method. Three (4%) of 75 environmental water samples collected from Samsun Province and its boroughs were found positive by PCR. The products of PCR for *Blastocystis* (SSU)rRNA target gene were sequenced and the water samples from Kurtun River and Milic Stream were found ST1 *Blastocystis* sub species where as Mert Stream was ST3. The studies related with water-borne protozoan parasites in environmental and drinking water sources located in Samsun Province and around has been quite limited. Determination of the water-borne protozoan *Blastocystis* spp. causing water pollution in their investigated areas was provided by molecular techniques.

The supply of clean drinking water and protection of uncontaminated surface water are some of the basic principles of health necessary for protection of public health. It is emphasized in this study both a basic work to protect public health with the detection of the presence of dangerous protozoan and create a resource for other work to be done.

Keywords: *Blastocystis* spp., Molecular techniques, Samsun

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve çalışmanın yürütülmesinde her türlü bilgi ve deneyimlerini sabırla benimle paylaşan yüksek lisans öğrencisi olduğum ilk günden beri bütün şımarıklığımı çeken başta danışman hocam Sayın Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Parazitoloji konusunda bütün bilgi birikimini bıkmadan bana anlatan değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ülkü KARAMAN'a tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tezime katkı sağlayan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde görev yapan Doç. Dr. Funda Doğurman AL hocama teşekkürlerimi sunarım.

Öğretim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve eğitimime her zaman destek olan annem ve babam Zeynep, Hüseyin GÜLABİ'ye ve her düştüğümde elimden tutan abim Barış GÜLABİ' ye yürekten teşekkür ederim.

Moleküler Biyoloji Laboratuvarına geldiğim ilk günden beri bütün bilgi ve birikimlerini bıkmadan usanmadan bana aktaran Onuralp SEFEROĞLU' na ve her ne kadar geç tanımış olsam da hayatta çok anı biriktirdiğim ailemin bir parçası olan her zaman yanımda olan Elif ÇİFTÇİ' ye, laboratuvarımızın panik atağı temizlik hastası olan, telefonda da çözüm bulan ve her şekilde karnımızı doyuran ama kendi çikolatadan başka birşey yemeyen Emine AYAZ' a sonsuz teşekkür ederim.

Üniversite hayatım boyunca tanımakta geciktiğim ama tanıdıktan sonra ekip olarak mucizeler yarattığımız DOYLİGEM grubu üyelerine, tüm yüksek lisans, doktora arkadaşlarıma ve Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nün tüm hocalarına teşekkür ederim.

BERİVAN BAŞAK GÜLABİ

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ.....	I
ÖZET.....	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ	1
1.1. Su Kirliliği.....	1
1.2. Su Kalite Standartları	3
1.3. Su Kirliliği ve Halk Sağlığı.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Tarihçe.....	8
2.2. Sınıflandırma.....	8
2.3. Morfoloji	9
2.3.1. Vakuoler Form	9
2.3.2. Granüler Form.....	10
2.3.3. Ameboid Form	11
2.3.4. Kist Form	11
2.3.5. Multivakuoler ve Avakuoler Formlar	12
2.4. Hayat Döngüsü.....	14
2.5. Blastocystosis.....	16
2.6. Epidemiyolojisi	17
2.7. Tanı Yöntemleri	18
2.7.1. Mikroskopik Tanı.....	18
2.7.2. Kültür	18
2.7.3. Seroloji.....	19

2.7.4. Moleküler Tanı.....	20
2.8. Tedavi.....	21
2.9. Korunma.....	21
3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	22
3.1. Yurtdışında Yapılan Çalışmalar.....	22
3.2. Ülkemizde yapılan çalışmalar.....	27
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
4.1. MATERYAL.....	32
4.1.1. Araştırma Bölgesinin Tanıtımı.....	32
4.1.2. Örneklerin Toplandığı İstasyonlar.....	34
4.2. YÖNTEM.....	40
4.2.1. Örneklerin Toplanması ve Alüminyum Sülfat İle Çöktürülmesi.....	40
4.2.2. Örneklerin Saflaştırılması (SükrozGradient Yöntemi).....	40
4.2.3. DNA İzolasyonu.....	41
4.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tekniği.....	41
4.2.5. Sekans Analizi.....	42
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	43
5.1. <i>Blastocystis</i> spp.'in Moleküler Yöntemlerle Tespit Edilmesi.....	43
5.1.1. PZR Metodunun Hassasiyeti.....	43
5.1.2. PZR Metodunun Özgünlüğü.....	43
5.2. Samsun İl ve İlçelerinden Alınan Su Örneklerinin, PZR ve Sekans Analiz Sonuçları.....	44
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
7. KAYNAKLAR.....	59
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Blastocystis spp. alttür 4 elektron mikrografi.....	12
Şekil 2.2. Blastocystis spp. alttür 4, fazkontrast mikroskopis	13
Şekil 2.3. Blastocystis spp.'nin hayat döngüsü	15
Şekil 4.1. Araştırma alanını oluşturan Samsun ilindeki istasyonların konumu	33
Şekil 4.2. Samsun ili Terme ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar	35
Şekil 4.3. Samsun ili Terme ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar	36
Şekil 4.4. Samsun ili Tekkeköy ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar	37
Şekil 4.5. Samsun ili Merkez ilçelerinden alınan su örneklerine ait istasyonlar	38
Şekil 4.6. Samsun ili Bafra ilçelerinden alınan su örneklerine ait istasyonlar.....	39
Şekil 5.1. PZR tekniğiyle çoğaltılan Blastocystis DNA'sı eklenmiş doğadan	43
alınan su örneklerini agaroz jeldeki görüntüsü	43
Şekil 5.2. Blastocystis geninin PZR ile özgünlüğünün agaroz jeldeki	44
Şekil 5.3. Samsun ilinden alınan su örneklerine ait Blastocystis PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	46
Şekil 5.5. Tüm Blastocystis alttürlerinin (SSU)rRNA gen bölgesine ait NJ filogeni ağacı..	52
Şekil 5.6. Blastocystis ST1 ve ST3 referansları ile Kürtün, Mert ve Miliç Irmak örneklerine ait (SSU)rRNA gen bölgesinin kıyaslandığı NJ filogeni ağacı.....	53

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. İTASHY'e Esaslarına Göre İçme ve Kullanma Sularında Aranılan mikrobiyolojik parametreler.....	5
Çizelge 2.1. <i>Blastocystis</i> 'in sınıflandırılması.....	9
Çizelge 4.1. <i>Blastocystis</i> spp. İçin PZR Koşulu	41
Çizelge 5.1. Samsun il merkezi ve ilçelerinden alınan su örneklerinde <i>Blastocystis</i> 'in varlığının gösterilmesi	45
Çizelge 5.2. Samsun ilinden alınan yüzeysel ve içme sularına uygulanan PZR sonuçları ile PZR ürünlerinin sekans sonuçları.....	47
Çizelge 5.3. <i>Blastocystis</i> alttürlerine ait genlerin referans numaraları.....	48
Çizelge 5.4. Gen bankasından alınan <i>Blastocystis</i> alttürlerine ve su örneklerine ait (SSU) rRNA gen bölgesi yüzde benzerlik ve evrimsel uzaklık ilişkisi.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSİ	: Devlet Su İşleri
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü (WHO)
EDTA	: Ethylenedi aminetetra aceticacid disodium salt dihydrate
ELISA	: Enzim Linked İmmunosorbent Assay
FIB	: Fekal İndikatör Bakteriler
g	: Gram
Ig	: İmmünoglobulin
İTASHY	: İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki Yönetmelik
km	: Kilometre
L	: Litre
µm	: Mikrometre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
NJ	: Neighbour Joining
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriksüyon fragment length polymorphism
RNA	: Ribonükleik Asit
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SKKY	: Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği
TAE	: Tris-asetad-EDTA
TE	: Tris-EDTA
TS	: Türk Standartları
UV	: Ultra Viyole

1. GİRİŞ

Su; insan hayatı için olduğu kadar tabiat ve diğer canlılar için de en temel ihtiyaçtır. Farklı tipteki hücre ve dokularda farklı oranlarda bulunan su, genel olarak insan vücudunun %65-70'ini oluşturmaktadır. Ayrıca su, besin maddesi olmasının yanında, içerisinde bulundurduğu mineral ve bileşiklerle vücudumuzdaki her türlü biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesinde inanılmaz derecede etkin rol oynamaktadır. Vücudumuzun pH dengesinin korunmasından başlayarak, hücrelerdeki organellere kadar yayılır ve besinlerin, artık maddelerin vücut içinde taşınmasında görev alır (Akın ve Akın, 2007).

Doğada daima bir döngü halinde bulunan suyun, denizlerden, göllerden güneş ısı ile buharlaşarak havaya karışmasına sonra tekrar toprağa ulaşmasına hidrolojik döngü denir. Meteorolojik olaylarla dünya üzerine ulaşan yağışların bir kısmı toprağa sızar ve yeraltı sularını meydana getirir. Toprağın alamadığı sular ise yüzey sularını oluşturur (çay, nehir, dere, göl, deniz suları). Yüzey sularından buharlaşma ile su tekrar atmosfere yükselir ve hidrolojik döngü tamamlanır (Aysal, 2004).

Çevre kirliliği sonucunda su kaynakları gün geçtikçe kirlenmekte ve uygun kalitede su kaynaklarının bulunması zor hale gelmektedir. Elverişli su kaynaklarının bulunduğu durumlarda ise, suların arıtımındaki ve dağıtımındaki aksaklıklar ile su temin kaynaklarının gereğince korunamaması gibi nedenlerle içme suyu kalitesinde sorunlar yaşanmaktadır (Öner ve Öztürk, 2009). Suyla bulaşan enfeksiyonların önüne geçilebilmesi için suyun bakteriyel kirliliğinin önlenmesi ve suyun dezenfekte edilmesi gerekmektedir (Anonim, 2013b).

1.1. Su Kirliliği

Yaşamın vazgeçilmez bir parçası olan su, ekolojik, biyolojik, sosyolojik, kültürel yönden büyük bir önem taşımaktadır. Su, insanların, bitkilerin ve hayvanların yaşamlarını sürdürebilmeleri için gereksinim duydukları da bir madde olmanın yanı sıra, ekonomik gelişmede ve toplumların kültürel değerlerinde bütünleyici bir rol oynamaktadır (Baysal, 1989; Himes, 1991; Benjamin ve ark., 1997; Akın ve ark., 2005; Atabey, 2005).

Dünyadaki toplam su miktarı 1.4 milyar km³ 'tür. Bu suların % 97.5'i tuzlu su, % 2.5'i ise tatlı su olarak bulunmaktadır. Az olan tatlı su kaynaklarının da % 90'ının kutuplarda ve yeraltında bulunması sebebiyle insanoğlunun kolaylıkla yararlanabileceği kullanılabilir tatlı su miktarının az olduğu anlaşılmaktadır. Dünya nüfusunun çok hızlı artışı, sanayi ve teknolojinin aşırı gelişmesi, ayrıca çevre bilincinin yeterince yerleşmemesi veya yaygınlaşmaması gibi nedenler dünyada kullanılabilir su miktarının giderek azalmasına sebep olmaktadır (Haviland,2002; Dağlı,2005; Atalık, 2006).

İçilebilir su kaynaklarının sorumsuzca kirletilmesi ileride geri dönüşümü mümkün olmayan sorunların yaşanmasına sebep olmaktadır (Haviland,2002;Dağlı,2005; Atalık, 2006).

Tatlı su kaynaklarında mikrobiyolojik kirlenme ise dünyanın birçok bölgesinde büyük bir sorun oluşturmaktadır. Endüstriyel, tarımsal ve evsel artıklarla kontamine olmuş sular hiçbir işleme tabi tutulmadan dere ya da göllere boşaltılmaktadır. İnsanların ve hayvanların gastrointestinal sistemine yerleşen fekal indikatör bakteriler (FIB), içme ve kullanma sularının mikrobiyal güvenliğini belirlemede en çok kullanılan kriterlerdendir (Haller ve ark., 2009).

İçme suları kaynaktan dağıtım noktalarına kadar bir bütündür. Arıtımı, dağıtım şebekesini, muslukları, su depolarını ve su borularını da içerisine dahil edecek şekilde bahsi geçen her bir bölüm içme suyunun miktar, kalite ve bu suyu tüketen kişilerin sağlıkları üzerinde çeşitli etkileri bulunmaktadır (Anonim, 2016).

Son yıllarda büyük şehirlerimizde şebeke suları, mikrobiyolojik kalitelerinin yanı sıra fizikokimyasal özellikleri yönünden de değerlendirilmektedir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre; ülke genelinde il merkezlerinden alınan şebeke sularının % 17'si, kaynak sularının % 31.4'ü; ilçelerden alınan şebeke sularının %36.6'sı, kaynak sularının ise % 36.3'ü standartlara uygunluk göstermemiştir (Alemdar ve ark., 2009).

Toplumun içme ve bir takım ihtiyaçları için kullandığı (yemek yapma, temizlik ve benzeri) şehir şebekeleri, kuyu, çeşme ve gene aynı amaçlarla kullanmak üzere teknik metotlarla tasfiye edilmiş dere, nehir ve göl suları içilebilir su olarak ifade edilmektedir. Su hijyeni; sadece içme için kullanılan suyun nitelikleri ile ilgilenmez.

Aynı zamanda mutfak ve ev işlerinde kullanılacak suların niteliklerinin tespiti, su kirlenmesinin önlenmesi ile de ilgilidir (Anonim, 2014b).

Su kirliliğine neden olan faktörler aşağıdaki gibi sıralanabilir (Güler ve Çobanoğlu, 1994).:

1. Endüstriyel kirlilik
2. Kentsel kirlilik
3. Kombine lağım tesisatlarına ait kirlilik
4. Tarımsal kirleticiler
5. İmar çalışmalarına ait kirlilik
7. Doğal kaynakların eldesine ait kirlilik.
8. Atık yok etme uygulamalarına ait kirlilik
9. Hidrolojik müdahalelere ait kirlilik

1.2. Su Kalite Standartları

Hızla artan dünya nüfusu ve insanoğlunun daha iyi yaşam standartlarını yakalama arzusu nedeniyle doğal kaynakların yanlış kullanımı sonucunda, yaşamın temel unsurları olan hava, su ve toprağın yapısı bozulmaktadır (Özçağlar, 2000).

Türkiye su azlığı yaşayan bir ülke konumundadır. İki bin otuz yılı için nüfus artışıyla birlikte mevcut kaynakların zarar görmeden aktarılacağı düşünülerek yapılan çalışmada; kişi başına düşen kullanılabilir su miktarı su fakirliği sınırında bulunan 1120 m³/yıl olarak hesaplanmıştır (Anonim 2009a). Bin elli üç (1053) sayılı Yasa kapsamında DSİ Genel Müdürlüğü tarafından yapılan tesislerde, 2004 yılı sonu itibariyle, içme suyu standartlarına uygun kalitede, yaklaşık yılda toplam 2.5 milyar m³ içme ve kullanma suyu sağlanmıştır. İnşaatları devam etmekte olan içme suyu projeleri ile kesin projesi biten ya da proje aşaması tamamlanarak hizmete alınacak projelerden elde edilecek su miktarı ile birlikte bu miktarın toplam 5.3 milyar m³'e ulaşması planlanmaktadır (Seferoğlu, 2014).

İnsan sağlığı açısından, içme sularının renksiz, kokusuz, berrak olması gereklidir. Hastalık yapıcı mikroorganizmaları ve zararlı kimyasal maddeleri içermemelidir. Sularda bu şartların sağlanabilmesi ve suda bulunması istenmeyen maddelerin belirli bir seviyenin altında tutulması için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından belirlenen

içme suyu standartları ile bunun yanı sıra ülkemiz de kabul edilen kullanımda olan içme ve kullanma suları standardı TS 266 kullanılmaktadır (Anonim, 1997).

Fekal kirlilik insan ve insan dışı çeşitli kaynaklardan meydana gelmektedir. İnsan kaynaklı fekal indikatörlerin kontaminasyonu insan sağlığı için büyük risk oluşturmaktadır (Scott ve ark., 2003).

Sağlık Bakanlığının (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu) 2005 yılında yürürlüğe giren ve 7 Mart 2013 Perşembe tarih ve 28580 sayılı Resmi Gazetede yenilenen 'İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik' (İTASHY) içme ve kullanma sularının niteliği hakkında bize bilgiler vermektedir. Yeni yönetmeliğe göre içme ve kullanılabilir sularda aranan mikrobiyolojik parametreler ise Çizelge 1.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. İTASHY'e esaslarına göre içme ve kullanma sularında aranan mikrobiyolojik parametreler (Anonim 2013)

Parametre	Parametrik değer sayı/ml
<i>Escherichiacoli (E. coli)</i>	0/250 ml
Enterokok	0/250 ml
Koliform bakteri	0/250 ml
<i>P. aeruginosa</i>	0/250 ml
Anaerob sporlu sülfid redükte eden bakteriler	0/50 ml
Patojen stafilokoklar	0/100 ml
Kaynaktan alınan numunede maksimum:	
22 °C'de koloni sayımı	20/ml
37 °C'de koloni sayımı	5/ml
İmlâhanede ambalajlandıktan sonra alınan numunede	
22 °C'de koloni sayımı	100/ml
37 °C'de koloni sayımı	20/ml
Piyasada satılan ambalajlı sulardan alınan	
Numunede maksimum:	İmlâhane için belirlenen sınır değerinin
22 °C'de koloni sayımı	on katını geçemez.
37 °C'de koloni sayımı	
Parazitler	0/5L

1.3. Su Kirliliği ve Halk Sağlığı

Su insan, hayvan ve bitkilerin yaşayabilmesi için vazgeçilmez temel maddelerdendir. Gelişmiş toplumlar bireylere su sağlanmasını zorunlu bir gereksinim olarak kabul etmekte ve çok fazla miktarda su bu amaçla tüketilmektedir. Su kirliliği ile ilgili kriterlerin temel amacı suyun halk sağlığını tehlikeye düşürebilecek bazı olumsuzluklardan arındırılmasıdır. Suyun sağlığa zararlı maddelerden arındırılması, halk sağlığını tehlikeye düşürebilecek sonuçların engellenebilmesi açısından çok büyük önem taşımaktadır (DSÖ, 1996).

Dünya üzerindeki 1.5 trilyon insan suyla taşınan hastalıklara yakalanmaktadır. Bu nüfusun 3.4 milyonu, patojenler, parazitler ve bakterilerle kontamine olmuş suyu direkt ya da dolaylı olarak kullanarak bu etkenlerle enfekte olma riskiyle karşı karşıya kalmaktadırlar (Wilkes ve ark., 2009). 2008 yılında Dünya Su Haftası'nda bir araya gelen yüzlerce bilim adamı, su sorununu bütün boyutlarıyla ele almış ve yapılan açıklamada her yıl milyonlarca kişinin enfekte sularla bulaşan hastalıklardan öldüğünü bildirilmişlerdir. Artan nüfus ve gelişen endüstrileşme sonucunda yoğunlaşan su kullanımı, ısınan dünyada, yaşamın temel maddelerinden su ihtiyacının nasıl karşılanacağı ve su kaynaklarının nasıl korunacağı gibi konularda çok önemli tartışmaları da beraberinde getirmektedir (Anonim 2008b).

1991 yılından beri yapılan su konferanslarında kirli sular yüzünden milyonlarca insanın bulaşıcı hastalıklara yakalanıp öldüğü dile getirilmekte ve acil eylem planları yapılmaktadır. Ancak bugüne kadar bu eylem planlarından bir sonuç çıkmadığı ve 1 milyar insanın hâlâ içecek tatlı su kaynaklarından uzak yaşadığı, 2.5 milyar insanın da yeterli arıtmadan geçmemiş suları içmeye devam ettiği ve kirli sulardan bulaşan hastalıklar yüzünden insanların öldüğü bildirilmiştir (Anonim 2008b).

Suyun bazı bulaşıcı hastalıkların taşınmasında ve sağlam insanlara bulaşmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Suyun fiziksel ve kimyasal yönden temiz olması her zaman sağlıklı olduğunu göstermemektedir. Bu nedenle içme ve kullanma suyu olarak kullanılacak suyun biyolojik yönden de temiz olması gerekmektedir (Akbaş, 1998).

Su havzalarını besleyen nehir ve dere yataklarındaki yapılaşma, lağımın yeteri kadar arıtılmadan su kaynaklarına boşaltılması sanayi atıklarının nehirlere, derelere boşaltılması, yeraltına gömülen atıkların sızarak yeraltı sularına karışması su kaynaklarının kirliliğini hızlandıran bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır (Kolören ve ark., 2011).

Suyun insan ve hayvan atıkları ile kirlenmesini engellemek mümkün olmazsa tüm enfeksiyon hastalıklarından özellikle gastrointestinal hastalıklardan toplumun korunmasının söz konusu olmayacağı bildirilmiştir. Bebek, çocuk; yaşlı ve düşükün kişiler su kirliliğinden en kolay enfekte olabilecek gruplar olabildikleri saptanmıştır (Güler, 1997).

Suyun hayatımızdaki önemi, su kirliliğinin yaşam kalitesinde meydana getirdiği olumsuz etkiler ve suyun korunması için gerekli önlemler dikkate alınarak bu çalışmayla; "Samsun il ve ilçelerinden alınan yüzeysel ve içme suyu örneklerinde *Blastocystis* türlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kullanılarak tespit edilmesi" amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Blastocystis, ilk kez 1911 yılında Alexeieff tarafından maya mantarı olarak tanımlanmıştır. Daha sonra Brumpt tarafından 1912 yılında farklı konaklarda ve insanda mevcut olan ve günümüzde geçerliliğini koruyan *Blastocystis hominis* olarak adlandırılmıştır (Al ve Hökelek, 2007).

B. hominis, mantar görünümünde olması, ısıtılmadan psödopodların görülememesi, protozoonlardan daha büyük olması, tomurcuklanma ile üremesi nedeniyle önce mantar olarak düşünülmüştür (Zierdt, 1991). Ancak, mantar ve bakteri besiyerlerinde üreyememelerine karşın, bağırsak protozoonları için hazırlanan besiyerlerinde üremesi; hücre kültürlerinde ürerken bakteriye ihtiyaç duyması, 30°C'nin altında ölmesi, protozoon ilaçlarına duyarlıyken bazı antibiyotiklere (amfoterisin) dirençli olması, protozoonların bazı karakteristik özelliklerini (hücre çeperi benzerliği, endodiyogeni ile çoğalma, pseudopodlarının olması) taşıması ve santral cisim olarak adlandırılan üreme organeline sahip olması *B. hominis*'in bir protozoon olarak kabul edilmesine neden olmuştur (Ok, 2007).

Blastocystis birçok hayvan ve insanın gastrointestinal sistemi ile ilişkili bir protozoondur. Tüm dünyada yaygın olarak bulunmaktadır. Bu protozoon 1900'lü yılların başından itibaren bilinmesine rağmen sadece son on yıldır *Blastocystis* biyolojisini açıklayan gelişmeler olmuştur. Bununla birlikte protozoonun pleomorfik yapısı ve standardize edilmiş tetkiklerin bulunmaması verilerde yanlış yorumlamalar ile sonuçlanmıştır. Bu durum protozoonun laboratuvar tanısında ve çoğalması, yaşam döngüsü, prevalans ve patogenezinin anlaşılmasında aksamalara neden olmuştur (Sabuncu, 2014).

2.2. Sınıflandırma

Silberman ve ark.'nın (1996) yaptığı moleküler çalışmalar sonucunda *B. hominis* (SSU)rRNA (smallsub-unitribosomal RNA, ribozomal RNA küçük alt ünitesi) geninin dizi analizleriyle heterojen, tek ve çok hücreli protistaların (kahverengi algler, diatomlar) yer aldığı Stramenopile grubunun içerisinde protozoon olarak gösterilmiştir. Daha sonra Cavalier (1998), Chromista alemininde olduğunu,

Sarcomastigophora sınıfında, Blastocystea takımında Blastocystidae ailesinde *Blastocystis* cinsi ve *hominis* türü olarak tanımlamıştır.

Çizelge 2.1. Blastocystis spp. nin sınıflandırılması (Cavalier, 1998)

Domain	Eukaryota
Kingdom	Chromalveolata
Phylum	Heterokontophyt
Class	Blastocystae
Order	Blastocystida
Family	Blastocystidae
Genus	Blastocystis
Species	<i>Blastocystis hominis</i>

Blastocystis spp. polimorfik bir protozoondur. Literatürlerde genellikle vakuoler, granüler, ameboid ve kist formları olmak üzere dört formu açıklanmıştır. Fakat bu dört formun yanı sıra hayat döngüsünde kısa süreliğine yer alan iki formu daha mevcuttur. Bunlar multivakuoler ve avakuoler formlardır. *Blastocystis* spp.'nin ışık mikroskopundaki morfolojileri, geniş merkezi bir gövde ve bunu çevreleyen sitoplazmadan oluşan küresel hücrelerdir. Hücre çapı genellikle 5-20 µm arasında değişmektedir (Boreham ve ark., 1993).

2.3. Morfoloji

2.3.1. Vakuoler Form

Vakuoler forma aynı zamanda santral vakuoler formda denilmektedir. En çok dışkı ve kültürde rastlanır. Yuvarlak, boyutu büyük farklılıklar gösterecek şekilde ortalama 4-15 µm arasında değişen, hücre hacminin %90'ını kaplayan büyük bir santral vakuol içeren yapılardır. Vakuolün depo görevini sırasıyla periodik asit schiff, sudan Black B boyaları ile karbonhidrat ve lipid varlığı ortaya çıkarılmıştır (Tan, 2008). Vakuoller morfolojik açıdan farklılıklar göstermektedir. Vakuoller çok sayıda granüllerden oluşmakta ve sadece granüler forma geçişte granüllerin gelişmesini sağlayan bir yapı olduğu kabul edilmiştir. Protozonun bu formunda sitoplazma tipik olarak ökaryotlarda bulunan organelleri içermektedir. Transmisyon elektron

mikroskobu (TEM) ile yapılan incelemelerde birden fazla nükleus, mikrotübüler, golgi cisimciği ve mitokondri benzeri organeller izlenmektedir (Sabuncu, 2014).

Protozoon genellikle farklı kalınlıkta yüzeysel kapsülle çevrilidir. Kapsülün organizmayı osmatik basınca karşı korumak, bakterileri tutmak ve plazma membran proteinlerini immün sistemden korumak için bariyer görevi yaptığı düşünülmektedir (Tan, 2008).

B. hominis fekal-oral yolla bulaşır. Kültür ortamlarında en sık rastlanan ve dışkı materyalinde hastalığın tanısında kullanılan form olan vakuoler formdur. Kist formunun farelere oral yolla verilmesinin ardından yapılan otopsilerde çekumda bol miktarda, kalın bağırsakta ise daha az sayıda *B. hominis*'e rastlanmıştır. Vakuoler formdan çok, kist form enfektif potansiyel taşır (Suresh ve ark, 1993; İnceboz ve Usluca, 2009).

2.3.2. Granüler Form

Granuler form, vakuoler forma benzerlik gösterir fakat boyut olarak daha büyüktür. Granüler form vakuoler formdan farklı olmakla birlikte birçok benzerlikleri paylaşmaktadır, pek çok granüller, periferik sitoplazmada ince bant ve çoğunlukla santral vakuol içermektedir. Formun merkezi vakuolünde kristal granüller ve lipid damlacıkları bulunmaktadır. Bu lipid damlacıkları sitoplazmada yer almaktadır (Dunn ve ark., 1989).

Yapılan sitokimyasal çalışmalar sonucunda granüllerin büyük bir kısmının lipitlerden özellikle fosfolipid ve yağ asitlerden oluştuğunu göstermiştir. Bazı hücrelerde ise protein olarak bilinen küçük granüller bulunmaktadır. Granüllerin farklı morfolojiye sahip olmaları farklı bileşenlere sahip olduklarını göstermektedir.

Vakuoler formdan granüler forma dönüşmeyi sağlayan durumlar aşağıda verilmiştir (Boreham ve ark., 1993).:

- I- Kültür ortamında artan serum konsantrasyonları,
- II- MEM (Minimal essentialmedium) ortamına transferi,
- III- Aksenisazyonda bazı antibiyotiklerin kullanılması, özellikle norfloksasin ve amfoterisin B'nin eklenmesi.

Yukarıdaki koşullar vakuoler formun granüler forma dönüşümünün farklı koşullar altında gerçekleştiğini göstermektedir (Boreham ve Stenzel, 1993).

2.3.3. Ameboid Form

Blastocystis spp. 'nin ameboid formuna dışkı ve kültürler içerisinde çok az rastlanılmakta ve 2.6-7.8 mm çapında düzensiz şekilli, sıklıkla psödopodlarıyla tanınmaktadır. Bu form psödopodlarının bulunmasına rağmen hareketsizdirler (Tan, 2008). Santral vakuol yoktur ve hücre merkezine yakın bir veya iki nükleus vardır. Hücreler *Blastocystis* spp. diğer formlarında görünen morfolojik özelliklerin çok azını taşımaktadır. Golgi kompleksi ve mitokondrileri mevcut değildir. Ameboid formlarda düzensiz, lobüllü ve hücre dışına uzanan psödopodlar mevcuttur. Sitoplazmada lizozom benzeri yapıların içinde hücre tarafından sindirilmiş gibi görünen bir bakteri mevcuttur. Ameboid formlar bakterilerle beslenir (İnceboz ve Usluca, 2009).

2.3.4. Kist Form

Kist formunun morfolojik farklılıkları ve hayat döngüsündeki rolleri son zamanlarda keşfedilmiştir. *Blastocystis* spp. 'nin kist formu diğer formlarına göre daha küçük ve kalın hücre duvarına sahiptir. Yoğunlaşmış sitoplazma pek çok küçük vakuol içerir. Glikojen ve lipid parçacıkları sitoplazmada depolanır (İnceboz, ve Usluca, 2009).

Kist formlarına dışkı örneklerinde daha sık rastlanmakta ve bu durumda organizmanın dış ortamda hayatta kalma şansı artmaktadır. Dışkıda görülen kistler, küresel, oval ve çok kenarlı bir kist duvarıyla korunmaktadır. Kistler, 3-10 µm arasında değişmektedir (Sabuncu, 2014).

Hayvan dışkı örneklerinden izole edilen *Blastocystis* kistleri, insan dışkısından izole edilen *Blastocystis* kistleri ile karşılaştırıldığında morfolojik farklılıkların olduğu ortaya konmuş ve hayvan kaynaklı kistlerin daha büyük (15 µm) olduğu belirtilmiştir (Tan ve ark., 2002).

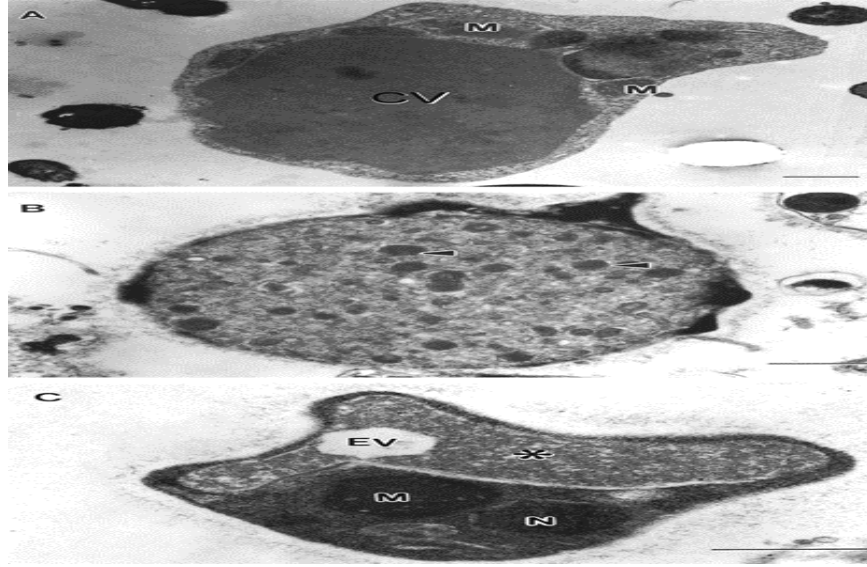
Blastocystis spp. 'nin kist formu olumsuz hava koşullarına ve dezenfektanlara karşı duyarlı oldukları belirlenmiştir. Ancak kistlerin su içerisinde parçalanmadıkları ve oda sıcaklığında 19 güne kadar yaşadıkları bildirilmiştir (Tan ve ark., 2002; Zaman ve Howe, 1995).

Blastocystis spp.'nin kist formu, parazitin dış ortamda hayatta kalma mekanizmasını temin eden ve aynı zamanda insanlar arasında geçişi sağlayan bir formudur.

2.3.5. Multivakuoler ve Avakuoler Formlar

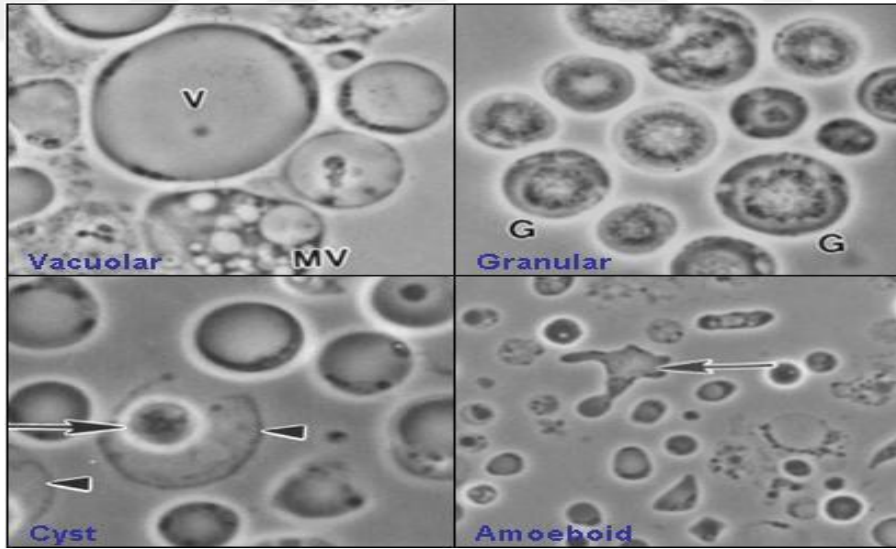
Blastocystis spp.'nin bilinen dört formundan hariç hayat döngüsü içerisinde kısa süreli yer alan multivakuoler form ve kültür ortamında rastlanan avakuoler formları da mevcuttur. Avakuoler formda santral vakuoler yoktur ve organelde matrikse uzanan sayısız krista bulunmaktadır. Kültür formlarda bu yapılar oldukça az sayıda ve kısa tübüler veya kesecik şeklindedirler. Kültürler içerisinde tanımlanamayabilir; çünkü hücrenin dejenere olmasıyla kalıntı halinde bulunan merkezi vakuol diğer hücre kalıntılarıyla karıştırılabilir (Zierdt ve Tan, 1976; Stenzel,1991; Sabuncu, 2014).

Multivakuoler formlar yaklaşık 5–8 µm çapta, tipik vakuoler veya granuler formdan daha küçüktür. Dışkı materyalleri içerisinde tek olarak bulunmaz ve multivakuoler formların dışkı kistlerinin gelişmesinde rol aldığı düşünülmektedir. Çok az rastlanılan bu forma şizont formu da denilmektedir.



Şekil 2.1. *Blastocystis* spp. alttür 4 elektron mikrografi

(A): İnce periferik sitoplazmik bantla çevrili büyük santral vakuol (CV) içeren vakuoler form. (B):Tüm santral vakuolü kaplayan granüllerle kaplı granüler form. (C):Santral vakuol ve boş vakuol içeren (EV) irregüler (düzensiz) şekilli ameboid form. M:Mitokondri benzeri organel. N: Nükleus. Bar, 1 μ m. (Tan, 2008).

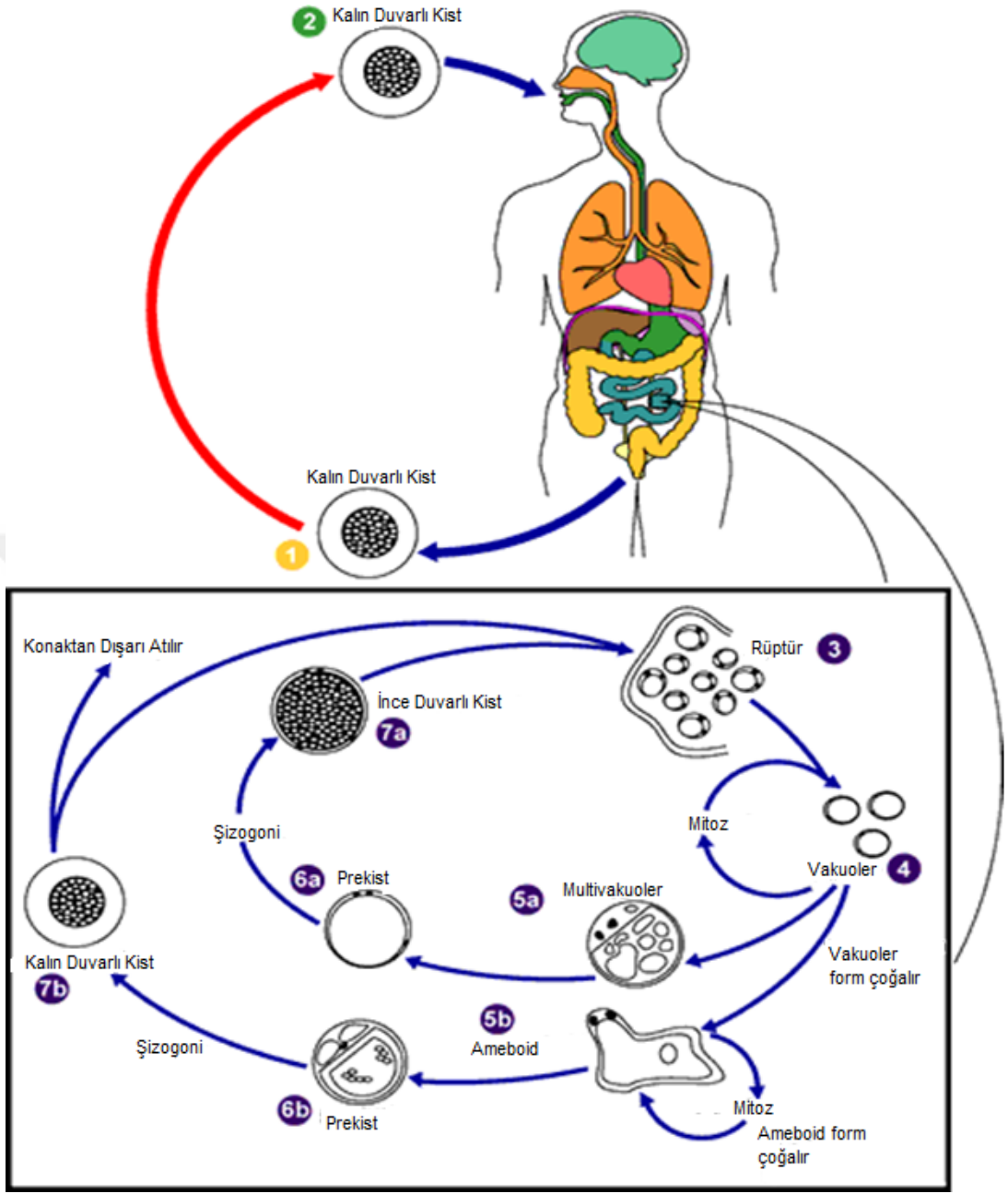


Şekil 2.2. *Blastocystis* spp. alttür 4, fazkontrast mikroskopisi (A): In vitro aksenik kültürde farklı boyutlarda görülen vakuoler formlar ve okla gösterilen fekal kist formları (B): Granüler formlar, santral vakuolle birlikte belirgin granüler inklüzyonlarmevcut.(C):Kültürde psödopod benzeri sitoplazmik uzantılar gösteren ameboidformlar. Bar, 10 μ m. (Tan, 2008)

2.4. Hayat Döngüsü

Blastocystis spp. birbirinden farklı hayat döngüsü açıklanmıştır. Bu farklılığın sebebi ise protozoonun birden fazla üreme şeklinin olması yani pleomorfik yapıda olmasından kaynaklanmaktadır.

Blastocystis spp.'nin yaşam siklusunda ameboid, vakuoler, multivakuoler, kalın ve ince duvarlı kist formlarının olduğu bilinmektedir (Sing ve ark., 1995). Vakuoler form mitoz bölünme ile ya ameboid ya da multivakuoler formu oluşturmaktadır. Ameboid ve multivakuoler formda mitoz bölünme ile çoğalarak prekistleri meydana getirmektedir. Multivakuoler formlardan meydana gelen prekistler şizogoni ile ince duvarlı kistleri oluşturmaktadır. İnce duvarlı kistlerin otoenfeksiyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir (Garcia ve Bruckner, 1997; Sing ve ark., 1995). Ameboid formdan şizogonik çoğalma ile oluşan prekistler ise kalın duvarlı kistleri meydana getirmektedir. Kalın duvarlı kistler dışkıyla konaktan dışarı atılırlar. Dışarı atılan kalın duvarlı kistler su ve besinleri kontamine ederek protozoonun yayılmasına neden olmaktadır. Singh ve ark. kalın duvarlı kistlerin dış bulaştan ve ince duvarlı kistlerin otoenfeksiyondan sorumlu olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 2.3. *Blastocystis* spp.'nin hayat döngüsü (Anonim, 2016)

Blastocystis spp.'nin hayat döngüsü şekil 2.3 de açıklanmıştır. (1,2) Dışkıda bulunan kalın duvarlı kistler, kontamine su ve besinlerle alınarak fekal-oral yolla bulaştan sorumlu olan dönemdir. (3-4) Sindirim kanalının epitel hücrelerini enfekte eder ve aseksüel olarak çoğalır. Vakuolar formdan (5a) multivakuolar ve (5b) ameboid formlar meydana gelir. Multivakuolar formdan prekistler (6a) oluşmakta ve bunlardan da şizogeni ile ince duvarlı kistler (7a) meydana gelir. Ameoid formdan oluşan prekistler (6b) ise şizogeni ile kalın duvarlı kistleri(7b) meydana getirirler.

2.5. Blastocystosis

Blastocystis spp.'nin patojenitesi parazitile ilgili tartışılan konuların başında gelmektedir. Uzun yıllar zararsız kabul edilen bu parazitin gastrointestinal sistem semptomlarını oluşturmadaki rolü ve tedavisi tartışmalıdır. Zuckerman ve ark.(1994) radyoaktif bir belirteç kullanarak yaptıkları araştırmada, *Blastocystis* enfeksiyonu olan hastalarda bağırsak geçirgenliğinin bozulduğunu göstermiştir. Bakteriyel ve viral ajanlar olmaksızın fazla sayıda parazit var ise bunun patojen olduğuna inanılmakta ve tedavi edilmesi gerektiği savunulmaktadır (Örs ve ark., 2011).

Blastocystis spp.'nin insanda meydana getirdiği hastalığa Blastocystosis denmektedir. *Blastocystis* enfeksiyonunda; ishal, karın ağrısı, huzursuzluk, şişkinlik, gaz, kramp, kusma, uykusuzluk, bulantı, iştahsızlık, kilo kaybı, yorgunluk ve kaşıntı gibi semptomlar görülmektedir. Aynı zamanda en sık karşılaşılan semptomların, karın ağrısı, gaz ve ishal olduğu belirtilmiştir. İshalin diğer belirtilerin görülmediği olgularda da görülmesi söz konusudur. Hastalarda ateş, döküntü, baş ağrısı, baş dönmesi gibi çeşitli spesifik ve non-spesifik rahatsızlıklar görülebilir (Hamamcı, 2003). Blastocystosisli hastaların dışkılarında mukus, eritrosit ve lökosit de görülebilir. Hastalarda çok fazla parazitin bulunması gastrointestinal şikayetleri artırmakta ve spesifik semptomlar göstermektedir (Gödekmerdan, 1995).

Blastocystis spp. enfeksiyonunda irritabil bağırsak rahatsızlığı ve non-inflamatuvar bağırsak rahatsızlığı sendromu bildirilmiştir. Çalışmalarda irritabil bağırsak sendromlarında önemli olan *Blastocystis* spp. antijenlerine karşı oluşan IgG2 antikor seviyelerinin yükseldiği, konak immün yanıtı da önce karbonhidrat antijenlerine karşı direkt etki olduğu rapor edilmiştir (Tan ve ark., 2002).

Enfeksiyonlarda yaş faktörünün önemli olduğu, yetişkinlere oranla gençlerin enfeksiyonlardan daha fazla etkilendiği bildirilmektedir. Yetişkinlerde parazit çok yüksek oranda alındığı zaman enfeksiyona karşı direnç sekiz haftada oluşabilmektedir. Enfekte olmuş hastalarda, ilgisizlik, duyarsızlık ve kilo kaybı görülmektedir (Hamamcı, 2003). Parazitin ilaçlarla elemine edilmesi hastalık belirtilerinin ilaçla beraber ortadan kaybolması *Blastocystis* spp 'nin patojen olduğunu göstermektedir, ancak bunu kesin bir olgu olarak değerlendirmenin söz konusu olmadığı bildirilmiştir (Boreham,1993).

2.6. Epidemiyolojisi

Blastocystis spp. tüm dünyada yaygın olarak bulunan ve epidemiyolojik çalışmaların bir çoğunda en sık rastlanılan parazittir (Tan, 2008). Prevalansı ülkeden ülkeye veya aynı ülke içinde farklı topluluklar arasında değişebilmektedir. Bu oran gelişmiş ülkelerde % 1.5 ile % 10, gelişmekte olan ülkelerde ise % 30 ile % 50 arasında değişmektedir. Bunun nedeni düşük hijyen, hayvanlarla temas ve kontamine su ve yiyeceklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Yantıra, 2013). Prevalans Japonya’da % 1 iken (Hirata ve ark., 2007), Brezilya’da % 40.9 (Aguiar ve ark., 2007), Mısır’da % 33.3 (Rayan ve ark., 2007) olarak bildirilmiştir. Ülkemizde bu oran % 5.9 -19.7 arasında değişmektedir (Balcı ve ark., 2009; Özçakır ve ark.,2007; Özyurt ve ark., 2007; Yaman ve ark., 2008).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda; *Blastocystis*’in en çok görülen parazitler arasında yer aldığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda hem çocuklarda hem de erişkin hastalarda prevalansının yüksek olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (Korkmaz, 2012). Yaman ve ark.’nın (2008) Erciyes Üniversitesi’nde yaptığı çalışmada % 19.72 ile en yüksek görülen parazit olarak bildirilmiştir.

Ege Üniversitesi’nde 2005 yılında % 4.96 oranında, 2007 yılında gastrointestinal rahatsızlıklarla hastaneye başvuran çocuk hastalarda % 6.5 oranında tespit edilmiştir. Eskişehir de 2003-2007 yılları arasında % 7 oranı ile en çok görülen üçüncü parazit, Hakkari de bir ilköğretim okulunda % 23.6 ile *G. intestinalis*’ ten dan sonra en sık görülen, Van da bir ilköğretim okulunda % 14.4 oranında saptandığı ve Kayseri’de bir ilköğretim okulunda % 23.5 ile en çok görülen parazit olduğu belirlenmiştir (Değirmenci ve ark., 2007; Çelik ve ark., 2006).

Dünyadaki mevcut su salgınları incelendiğinde; 1920’den 1936’ya kadar 16 sene içinde Amerika Birleşik Devletlerinde 412 su epidemisinde 116.000 kişi enfekte olmuş ve 955’i ölmüştür. Yine 1938 de 21’i gastroenterit, 17’si tifo, 8’i basilli dizanteri olmak üzere 46 su epidemisi olmuş ve 5.600 kişi etkilenmiştir.

ABD 'nde Milwaukee şehrinde su şebekesinde kanalizasyondan kaynaklanan bir kontaminasyon sonucu 43.000 kişi hastalanmış, bu hastaların 100’ü ölmüştür. Yine aynı yıl ABD’ nde Maine’de kontamine elma suyundan (pastörize edilmemiş) 213 kişi hastalanmıştır. Bugüne kadar gıdalar ve içme-kullanma suları dışında;

gübrelenmiş, taze olarak tüketilen yeşil yapraklı sebzelerden kaynaklanan bazı enfeksiyon vakaları da bildirilmiştir. Bu nedenle su yoluyla büyük çapta salgın oluşturma riski taşımaktadırlar (Lucio-Forster ve ark., 2004; Uyar ve Özkan, 2009).

Karaman ve ark. (2013a, 2013b), tarafından Giresun ve Samsun illerinden alınan su örneklerinde su kökenli parazitlerin genel dağılımına bakıldığında bu iki bölgede *Cryptosporidium* spp. *Cyclospora* spp. *Strongyloides*, *Microsporidia*, *Blastocystis*, kancalı kurt ve *Giardia* spp. türlerine rastlanılmıştır.

2.7. Tanı Yöntemleri

2.7.1. Mikroskopik Tanı

Blastocystis tanısı koymanın rutin tanı laboratuvarları için pek çok sıkıntısı vardır. *Blastocystis*' in polimorfik yapısı nedeniyle mantarlarla, *Cyclospora* spp. ve yağ globülleri ile karıştırılması ve aynı zamanda kistik formlarının çok küçük olması tanıda zorluklara yol açmaktadır. Ayrıca *Blastocystis* türlerinin farklı morfolojik şekillerinin ve boyutlarının bulunması tanı koymada sorun olmakta ve deneyimsiz kişilerce yapılan mikroskopik incelemede dışkıda lökosit ve mayalarla karıştırılabilmektedir (Tan, 2008; Poirier ve ark., 2011).

Tanıda en çok kullanılan metod ışık mikroskopunda incelemedir. Bu aşamada yapılan nativ-lugol yöntemi kolay olup en sık kullanılan yöntemdir. Boyalı preparat incelemesinin özellikle de trikrom boyama yöntemi ile hazırlanan preparat incelemesinin çok başarılı olduğu belirtilmektedir (Stenzel ve Boreham, 2001).

Işık mikroskopisinde 3-20 µm boyutlarında tek vakuollü ve bu vakolü çevreleyen dar sitoplazma içerisinde görülen 4 ila 6 noktasal yapı ve en dışta kalın bir duvar yapısı tipik görünümü oluşturmaktadır. Tanı koyarken lökositlerden, *Cryptosporidium* spp. ve özellikle *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba hartmanii* ve *Endolimax nana* gibi diğer protozoon kistlerinden ayırt edilmelidir. Distile su ve diğer protozoonlar için kullanılan konsantrasyon metodları, *Blastocystis*' in vakuollü, granuler ve multivakuollü formlarını parçaladığı için, bunun yerine izotonik tuzlu su kullanılmalıdır (Yantıra, 2013).

2.7.2. Kùltür

Blastocystis anaerobik ortamda üreme gösteren bir parazittir. Kùltürde *Blastocystis*' in üremesi için anaerobik ve 37 °C sıcaklıkta ortam gerekmektedir (Korkmaz, 2012).

Jones besiyeri insan örneklerinden izolasyon için en sık kullanılan ksenik besiyeridir. Yoshikawa ve ark., (2004) tarafından geliştirilen at serumlu asparjinli Ringer solüsyonu bir diğer besiyeridir. Aksenik kùltürler için Modifiye Dulbecco besiyeri veya Locke solüsyonlu bifazik yumurtalı besiyeri kullanılmaktadır (Tan, 2008). Sodyum tiyoglukonat eklenmiş yumuşak agarda veya solid agarda bakteri kolonilerine benzer koloniler yaparlar ve bu koloniler aksenzasyon işleminin için kullanılır (Tan ve ark., 2000). Aksenik kùltürlerin yapılması moleküler ve biyokimyasal çalışmalar için çok önemlidir. Ancak, bakteri ve mantarların uzaklaştırılması için antibiyotik kokteyllerinin kullanılması birkaç hafta sürebilecek uzun bir işlemdir ve kontaminantların uzaklaştırılması garanti değildir. Ayrıca bazı izolatlar bakteri olmaksızın canlılıklarını sürdürememektedirler (Tan ve ark., 2002).

İn vitro kùltür yönteminin dışkıda kistlerin sayıca az olması ve tespit edilmesinin zor olduğu durumlarda tanı için yararlı olacağı bildirilmektedir. Ayrıca in vitro kùltür ve hücre kùltür çalışmaları antiparaziter ilaçların değerlendirilmesinde, *Blastocystis*' in sitopatetikleri, sitokin aktivasyonu, patogenezi, parazitin ilaç direnci ve alttüre göre ilaç tedavisinin araştırılması gibi birçok çalışmada da kullanılmaktadır (Haresh ve ark., 1999; Eroğlu, 2003).

2.7.3. Seroloji

Serolojik yöntemler genellikle araştırma amacıyla kullanılmıştır ve çok düşük oranda başarı göstermiştir. Araştırmacılar İndirekt İmmünfloresan Antikor (IFA) yönteminde kullanılmak üzere hazırladıkları tavşan antiserumları ile santral cisim, amoeboid ve granüler formların immünfloresan boyamalarını yapmışlardır. Elde edilen sonuçlarda fluoressan boyanın başarı ile kullanılabileceği belirtilmiştir (Zierdt ve ark., 1995).

Blastocystis spp.'ye karşı IgG ve IgA yanıtı oluşmaktadır. Bu, IFA ve ELISA testleri ile belirlenmektedir. ELISA titrelerinin yükseldiği ve yüksek titrelerin semptomatik enfeksiyonlarla ilişkili olduğu Zierdt ve ark., (1995) tarafından gösterilmiştir. Bazı

çalışmalarda ise semptomatik hastaların serum titrelerinde çok az bir artış olduğunu bildirilirken, kronik enfeksiyonlarda anlamlı artışın olduğu bildirilmiştir (Zierdt ve ark., 1995; Kaneda ve ark., 2001).

Blastocystis türlerine karşı konak yanıtı ve antijenik farklılıklarla ilgili bilgiler kısıtlı olduğu için, rutin laboratuvar tanısında serolojik yöntemlerin kullanılması önerilmiştir (Tan, 2008).

2.7.4. Moleküler Tanı

Blastocystis'in tanısında moleküler epidemiyoloji çalışmaları için son derece hassas tarama yöntemleri gerekmektedir. *Blastocystis* için en sık kullanılan moleküler yöntemler RFLP (Restriksüyon fragment length polymorphism), alttürlere özđü (SSU)rRNA gen bölgesine ait PZR, (SSU)rDNA, PZR-RFLP (riboprinting), DNA dizi analizi yöntemleridir (Yoshikawa ve ark., 2000; Stensvold ve ark. 2007; Yanıtıra, 2013)

PZR; bakteri, virüs, mantar, parazit ve protozoon gibi hastalık etkenlerine ait hedef nükleik asit zincirlerini, primer olarak adlandırılan kısa oligo nükleotitler ve spesifik ısıya dayanıklı polimeraz enzimleriyle *invitro* olarak çoğaltan özđün, güvenilir ve moleküler biyolojide kullanılan bir yöntemdir (Sabuncu, 2014).

Blastocystis izolatları arasında genetik çeşitlilik olduğu bilinmektedir ve PZR tabanlı metodların alttür tayini, sınıflandırılma ve filogenetik analizler için etkin bir araç olduğu bildirilmektedir (Yakoob ve ark., 2010).

Birçok çalışmada direkt dışkıdan yapılan analizlerde boya ve kültür yöntemleri ile karşılaştırıldığında PZR yönteminin üstün olduğu gösterilmiştir (Stensvold ve ark., 2007) Ancak bazı çalışmalarda direkt dışkıdan alınan örneklere uygulanan PZR yönteminin kültürden alınan örneklere uygulanan PZR yöntemine göre daha düşük performanslı olduğu belirtilmiştir (Termmathurapoj, 2004). Stensvold ve ark. 'nın (2007) yaptığı bir çalışmada dışkıda *Blastocystis* spp. tanısında uygulanan PZR yönteminin % 100 özđüllük gösterdiği, dışkıda az sayıda parazit bulunması ve hatta parazitlerin dejenere olması durumunda olumlu sonuçlar verildi saptanmıştır.

RFLP yöntemi ise dideoksi sekanslama ve intragenik bölgelerin ard arda PZR'sine dayalı bir yöntemdir. PZR-RFLP analiz yöntemi *Blastocystis* (SSU)rRNA gen

bölgesinine dayalı olarak oluşturulmuş ve amplifikasyondaki primerler arasında çeşitlilikler ile tanımlanmamıştır (Tan, 2008)

2.8. Tedavi

Blastocystis ile enfekte kişilerin tedavisi, parazitin kesinleşmemiş patogenezi ve hastalığın kendini sınırlayıcı özelliği nedeniyle tartışmalıdır. Tedavi önerildiğinde en sık tercih edilen ajan metranidazoldür (Nigro ve ark., 2003; Taşova ve ark., 2000). Tedavide çok etkili veya orta düzeyde etkili furazolidon, kinakrin, ornidazol, tinidazol, trimetoprim-sulfametoksazol, kotrimoksazol ve ketokonazol gibi ilaçlar da bildirilmiştir (İnceboz ve Usluca 2009).

Al ve ark., (2012) nın anti-paraziter etkili ilaçların *Blastocystis* izolatlarının canlılıkları üzerine etkilerini Metiltiazol difenil tetrazolyum testi (MTT) ile değerlendirmişlerdir. Farklı izolatların farklı duyarlılık profilleri olduğu belirlenmiştir. Blastosistozda etkin tedavi uygulayabilmek için geliştirilecek standart bir anti-paraziter ilaç duyarlılık testine gereksinim duyulduğu sonucuna varmışlardır (Yakoob ve ark., 2010).

Ülkemizde *Blastocystis* 'e karşı antiprotozoal ilaçların etkisinin araştırıldığı çalışmada en etkili ilaçlar sırasıyla ornidazol, metronidazol, azitromisin, itrakonazol, trimetoprim-sülfametoksazol olarak saptanmıştır (Doğan ve ark. 2008)

2.9. Korunma

B. hominis fekal-oral yolla bulaşır. Bu nedenle *Blastocystis* enfeksiyonundan korunmanın yolu, kişisel hijyenin artırılması, toplumsal eğitim ve su sağaltımı olanaklarını arttırmaktan geçmektedir. Vakuoler ve granuler formların dış koşullara çok duyarlı oldukları bilinmektedir. Bu nedenle bu formların önemli bir kontaminasyon sorunu yaratmadığı düşünülmektedir.

3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

3.1. Yurtdışında Yapılan Çalışmalar

Silberman ve ark.'nın (1996) yaptığı moleküler çalışmalar sonucunda *B. hominis* (SSU)rRNA geninin dizi analizleriyle heterojen, tek ve çok hücreli protistaların (kahverengi algler, diatomlar) yer aldığı Stramenopile grubunun içerisinde protozoon olarak gösterilmiştir.

Cavalier (1998), bu paraziti Chromista alemininde, Sarcocystophora sınıfında, Blastocystea takımında Blastocystidae ailesinde *Blastocystis* cinsi ve *hominis* türü olarak tanımlamıştır. Ancak son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar daha önce *B. hominis* şeklinde ifade edilen bu parazitin kendi içinde genetik farklılık gösteren birden fazla alt türünün bulunmasından dolayı *Blastocystis* spp. şeklinde adlandırılması gerektiği belirlenmiştir.

Am ve ark., (2001) İskenderiye de yapılan araştırmada çeşitli ilçelerinde bulunan evlerin su depolarından alınan su örneklerinde *Giardia* (%56), *Blastocystis* (% 12), *Cryptosporidium* (% 50), *Cylospora* (% 9) bulunmuştur.

Leeleyoove ve ark. (2001), Tayland da yaptıkları çalışmada ordu personelinden alınan dışkı örneklerinde % 36.9 oranında *Blastocystis* saptanmıştır. Araştırmacılar Blastocytosis semptomlarının çeşme suyu içenlerde daha fazla görüldüğünü belirtmiştir. Bu durumun su kaynaklı bulaşımından kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

Mohandas ve ark.'nın (2002), yaptıkları çalışmada da *B. hominis*'in görülme sıklığının cinsiyete değil yaşa bağlı olduğu ve genç erişkinlerde en sık, orta yaşlarda daha az ve geriatric yaşlarda tekrar arttığı bildirilmiştir.

Chen ve ark. (2003), *B. hominis*'in antijenik ve genetik yapısının heterojen olduğunu, bu nedenle virulent ve avirulent suşların ayrımlarının yapılması gerektiğini belirtmişlerdir. *B. hominis* pozitifliği üzerine yaptıkları bir araştırma sonucunda kronik HBV (Hepatit B) enfeksiyonlu hastalarda, daha yüksek oranda *B. hominis* saptamışlardır. Ayrıca gastrik örneklerde *Helicobacter pylori* varlığı ile feçesde *B. hominis* pozitifliği arasında da anlamlı bir birliktelik bulunduğunu ortaya koymuşlardır

Noel ve ark. (2003), *Blastocystis* ile enfekteli insanlardan ve hayvanlardan alınan örneklerin morfolojik olarak birbirinden ayırt edilemediğini ancak moleküler metotların kullanılmasıyla alınan bu örneklerin genetik farklılıklarına bakılarak insan veya hayvan kökenli olup olmadığının ortaya konulabildiğini belirtmişlerdir.

Saksirisampant ve ark. (2003) tarafından Tayland'da yetim çocuklar üzerine yapılan bir araştırmada, % 45.2 ile *B. hominis*'in en sık rastlanan parazit olduğunu göstermişlerdir.

Baldo ve ark. (2004) tarafından Filipinler'de sokak çocukları ve kimsesiz çocukların barındığı birimlerde yapılan bir araştırmada, 172 çocuğun % 40.7'sinde *B. hominis* varlığını belirlemişlerdir. *B. hominis* oranının yüksekliğini içme sularının kalitesizliğine ve genel bir sanitasyon eksikliğine bağlanmışlardır.

Nimri ve Meqdam (2004) Ürdün'de yaptıkları çalışmada, 180 gastroenteritli vakanın 140'ında patojen etken saptamış ve bunlardan 54'ünde etkenlerden biri olarak *B. hominis*, 32'sinde ise etken olarak sadece *B. hominis* bulunduğunu bildirmişlerdir. Yirmi vakada ise non-patojen parazit kabul ettikleri *E. coli* izole etmişlerdir.

Requena ve ark. 'nın (2004), Venezuela'nın Bolivar bölgesinde Caroni Belediye'si gıda çalışanları üzerine yaptıkları prevelans araştırmasında % 25.7 oranında *B. hominis* ile infekte olduğunu saptamışlardır.

Noel ve ark. (2005), İnsanlarda *Blastocystis* infeksiyonlarının çoğunun infekteli primatlar, domuzlar ve kümes hayvanlarıyla temas neticesinde oluştuğunu bu nedenle bu parazitin zoonotik patojen olarak değerlendirilmesi gerektiğini de vurgulamışlardır.

Rhongbutsri (2005), Tayland'da yaptığı çalışmada *B. hominis* enfeksiyonunun özellikle bol yağış alan Temmuz-Eylül aylarında yüksek oranda saptandığını belirtmiştir. Ayrıca, sulardaki fekal kirlilik ve gıda sanitasyonu üzerine ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiğini bildirmiştir. Yağışlı mevsimlerde suların fekal kirlilik oranlarının artmasına paralel *B. hominis* enfeksiyonunun daha yüksek oranda görüldüğünü belirterek, bu durumun su kaynaklı bulaşmadan ortaya çıktığını ileri sürmüştür.

Leeleyoove ve ark.'nın (2005) dışkı örneklerinde *Blastocystis* prevalansı % 18,9 olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada ST1 (% 77,9) ve ST2 (% 22,1) alttür olarak saptanmıştır. Bulaş kaynağının içme suyu olduğu düşünülmüş ve su kaynağı incelenmiştir. Su kaynağında da enfeksiyona sebep olan ST1 alttürü olduğu bildirilmiştir.

Amin (2006), tarafından *B. hominis*'in epidemiyolojisi üzerine Amerika'da yapılan bir çalışmada; vakalardan % 12'sinde tek başına, % 3'ünde diğer parazitlerle birlikte izole edilmiştir. *B. hominis* enfeksiyonlarının özellikle *C. parvum* ile birlikte bulunma olasılığının yüksek olmasının yanı sıra, *E. nana* ve *E.histolytica/E. dispar* türleriyle de birlikte tespit etmiştir.

Yaicharoen ve ark. 'nın (2006) çocuklar üzerinde yaptıkları bir çalışmada *B. hominis* saptanan olgularda diğer bağırsak parazitleri ile karışık enfeksiyon oranlarının % 10.91 olduğu bildirilmiştir. Saptanan diğer parazitler *G. intestinalis* kistleri % 4.55, *T. hominis* trofozoitleri % 1.82, *E. histolytica* kistleri % 0.91, *E. nana* kistleri % 0.91, *Strongiloides stercoralis* larvaları %0.91, kancalı kurt yumurtaları %0.91, *Trichuris trichura* yumurtaları % 0.91 dir.

Li ve ark. (2007), tarafından Çin'de yapılan bir çalışmada domuz sahibi kişilerin *Blastocystis* enfeksiyonu açısından risk oluşturduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca %32.6 oranındaki *Blastocystis* enfeksiyonunun nedeni kaynatılmadan içilen içme suyu ve işlem görmemiş yüzeysel suların kullanılması şeklinde ifade edilmiştir

Stensvold ve ark. (2007), tarafından (SSU)rRNA gen analizleri yapılarak *Blastocystis*'in ST1'den (subtype1) ST9'a kadar alt türleri tanımlanmıştır.

Haider ve Baqai'nın (2008) Amerika'da yaptıkları bir epidemiyoloji çalışmasında *Blastocystis*'in en yüksek görülme oranlarının Temmuz-Ekim periyodunda, en düşük görülme oranlarının ise Şubat ayında olduğu bildirilmiştir.

Leelayoova ve ark. (2008), içme suyunu okuldan temin eden öğrencilerden alınan fekal örneklerde bazı *Blastocystis* alttürlerine rastlamışlardır. Öğrencilerde mevcut *Blastocystis* enfeksiyonunun varlığının kontamine içme suyu kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir.

Azman ve ark. (2009), tarafından Malazya'da yaptıkları çalışmalar sonucunda yerliler ile Malazyalıların hemen hemen yarısı işlem görmemiş veya kaynatılmamış

nehir, kuyu ve yağmur sularını içme-kullanma suyu olarak kullandığını ve bu suların vahşi veya evcil hayvanların fekal atıklarıyla kirlendiğini belirtmişlerdir. Kirlenmiş yüzeysel suların kaynatılmadan tüketilmesinin *Blastocystis* infeksiyonunun yüksek oranda bulunmasına neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Stendvold ve ark. (2009) tarafından Almanya'da yapılan bir çalışmada *Blastocystis* alttür 10 (ST10) hem primatlarda hem de toynaklılarda tespit edilmiştir.

Yoshikawa ve ark. (2009), Nepal'de yaptıkları bir çalışmada ST2 alttürünü lokal Rhesus maymunları ve burada yaşayan çocuklarda tespit etmişler ve bu maymunların ST2 alttürü için kaynak oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Santin ve ark. (2011), tarafından *Blastocystis* türleri tamamen birbirinden bağımsız olmayan kompleks alttürler olarak tanımlanmıştır. *Blastocystis* alttürlerinin tanımlanmasında gen bankasında bulunan tüm *Blastocystis* alttürlerine ait (SSU)rRNA gen bölgesini çoğaltan 500bp'lik PZR protokolü oluşturulmuştur. Bu primerlerin çoğalttığı gen bölgesinin daha önce yayınlanan primerlerden daha hassas ve daha fazla genetik farklılıkları ortaya koyduğu belirtilmiştir. Bu nedenle bu primerlerin kullanılmasının daha avantajlı olduğu düşünülmektedir. Bu primerler infekteli insan, primatlar, kediler, domuzlar ve tavuklardan elde edilen örneklerde *Blastocystis* alttürlerinin tespitinde kullanılmıştır.

Ithoi ve ark.'nın (2011) Malezya'da eğlence amaçlı kullanılan iki nehirde yaptıkları çalışmada *Blastocystis* varlığını araştırmışlardır. Her iki nehirde de *Blastocystis* varlığı % 22.1 - % 33.3 arasında tespit edilmiştir. Bu iki nehirin orta ve alt kısımlarında, insanların eğlence amaçlı sık kullandığı günlerde ve yağışların arttığı mevsimlerde protozoonun varlığının daha yoğun olduğu gözlemlenmiştir.

Banaticia ve Rivera 'nın (2011) Filipin de atık su arıtma tesislerinde invitro kültür yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada pozitif olarak tespit edilen örneklere (SSU) rRNA genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ve dizileme uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara filogenetik ağaç çizilmiş ve karşılaştırma sonucu gen dizileri ST1 ve ST2 ile % 100 benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Abdulsalam ve ark. (2012) tarafından Malazya'da kırsal alanda yaşayan 300 ilkokul öğrencisinde *Blastocystis* infeksiyonu araştırılmıştır. 150 erkek, 150 kız öğrenciden alınan gaita örnekleri direk yayma ve invitro kültür yöntemiyle incelenmiştir. Elde

edile veriler SPSS 13 istatistik analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Örnekler alınırken öğrencilerin sosyo ekonomik durumları kaydedilmiştir. Tüm veriler değerlendirildiğinde % 25.7 oranında *Blastocystis* infeksiyonu tespit edilmiştir. Bu infeksiyonun araştırma alanında yeterli alt yapının bulunmamasından kaynaklı kontamine içme suyu kullanımı ve eğitim seviyesinin çok düşük olması gibi nedenlerden kaynaklandığı belirtilmiştir. *Blastocystis* infeksiyonunun kontamine su kaynaklı olduğunu özellikle vurgulanmıştır.

Forsell ve ark. (2012), İsveç'in Stockholm şehrinde 68 hastadan alınan gaita örneklerinde hem ışık mikroskobu hem de SSUrRNA gen bölgesinin dizi analizlerini yaparak *Blastocystis* alt türlerini araştırmışlardır. 63 hastada ST1 (% 15.9), ST2 (% 14.3), ST3 (% 47.6), ST4 (% 20.6) ve ST (% 1.6) *Blastocystis* alt türleri belirlenmiştir. Dizi analizleri sonucunda erkeklerde ST3 alt türleri, bayanlarda ise ST4 dışında ST1, ST2 ve ST3 alt türleri tespit edilmiştir.

Lee ve ark. (2012), *Blastocystis* türlerinin su kökenli zoonotik organizmalar olduğunu belirtmişlerdir. Kasım 2009 tarihinde Bahunipati ve Nepal'in kırsal kesimlerinden 65 fekal örnek (19'u buffalo, 6'sı inek, 29'u keçi ve 11'i domuzlardan) ve 2 farklı nehirden dört nehir suyu örneği almışlardır. Alınan fekal örnekler % 15.4 oranında *Blastocystis* türleri ile enfekteli bulunup, bunların içinde yaygın alt türün % 40 oranında *Blastocystis* alt tür 4 olduğu belirtilmiştir. Nehir sularının her ikisinin ise *Blastocystis* alt tür 1 ve 4 ile kontamine olduğu PZR yöntemiyle gösterilmiştir.

Safadi ve ark. (2013) Lübnan da yaptığı çalışmada 220 hastadan dışkı örneği alınmıştır ve bunlardan 42'si (% 19) mikroskobik incelemede pozitif olarak belirlenmiştir. pozitif örneklerin 36 sında başarılı şekilde sekans analiz sonucu alınmıştır. Analiz sonucuna göre ST3 (% 33.3), ST2 (% 33.3), ST1 (% 30.6) ve ST4 (% 2.8) tespit edilmiştir.

Meloni ve ark. (2013) *Blastocystis* spp. prevalansını belirlemek için Lübnan da yapılan ilk çalışmada gaita örneklerinde mikroskopi yöntemi ile pozitif olarak belirlenen (SSU) rRNA gen sıralama kullanılarak genotiplendirme yapmışlardır. En yaygın alt tür olarak ST3 ve ST2 olarak belirlemişlerdir.

Abuodeah ve ark.(2015), Bileşik Arap Emirliklerinde 133 kişiden alınan dışkı örneklerinde *Blastocystis* alt türlerinin dağılımını tespit etmek için (SSU)rRNA gen bölgesini incelemişlerdir. 59 (% 44.4) kişide *Blastocystis* varlığı tespit edilmiştir. Bunlardan da 39 unun sekans sonucu başarılı olarak alınmıştır. Sekans sonucuna göre ST3 % 58.9 (23/39) ST1 % 28,2 (11/39) ve ST2 % 7.6 (3/39) olarak tespit edilmiştir.

Duda ve ark. (2015), 2008-2010 yılları arasında Afganistan ve Irak ta bulunan Polonya askeri personelinde *Blastocystis* enfeksiyonu araştırılmıştır. 1826 dışkı örneği incelenmiş ve askerlerin % 17 sinde gastrointestinal parazit tespit edilmiştir. İncelenen dışkı örnekleri en sık *B. hominis* (% 15.3) ve *Entamoeba coli* (% 1.0) ve *Giardia lamblia* (% 0.7) tespit edilmiştir.

Yersal ve ark.'nın (2016), gaitada PZR tekniği ile yaptıkları çalışmada en yaygın alt türü ST1 olarak belirlemişlerdir.

3.2. Ülkemizde yapılan çalışmalar

Ülkemizde *Blastocystis* ile yapılan çalışmalar genellikle insan ve hayvan kökenli *Blastocystis* enfeksiyonlarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Ulaşılan kaynak bilgilerde su örneklerinde *Blastocystis* epidemiyolojisi ile ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Sadece Karaman ve ark. 'nın (2013a, 2013b) Giresun ve Samsun sularında mikroskopik incelemelerinde *Blastocystis* saptadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmalarda sadece direk bakı ve boyama yöntemleri kullanılmıştır.

Ok ve ark. (1996), Yurdumuzda kronik böbrek yetmezliği bulunan hemodiyaliz tedavisi gören olgularda yapılan bir çalışmada % 28.3, kontrol grubunda ise % 23.3 oranında *B. hominis* saptanmıştır.

Doğan (1998)'ın yaptığı çalışmada, *B. hominis* saptanan 88 kişide karın ağrısı, karında gaz hissi, iştahsızlık ve ishal şikayetleri bildirilmiştir.

Koltaş ve ark. (1999) immunitesi baskılanmış 413 olgunun 36'sında (% 7.7) Taşova ve ark. (2000) hematolojik kanserli hastaların % 13'ünde *B. hominis* saptamıştır. Aynı zamanda immun yetmezliği olmayan, ishalleri kontrol grubuyla karşılaştırmalı çalışmalarında, hematolojik malignite nedeniyle kemoterapi alan nötropenik ishalleri hastalarda *B. hominis* insidansında anlamlı artış olduğunu bildirilmişlerdir.

İnceboz ve ark. (2002) Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne 2002 yılında başvuran olguların % 3.4'ünde, 2003–2004 yılında ise % 2.8'inde *B. hominis* bildirilmiştir.

Kaya ve ark. 'nın (2005) yaptığı bir çalışmada *E. coli* saptanan 58 kişi ile *B. hominis* saptanan 34 kişi olmak üzere toplam 92 kişi klinik semptomlar açısından değerlendirilmiştir. *E. coli* saptanan kişilerin % 67.2'sinde ve *B. hominis* saptanan kişilerin % 79.4'ünde intestinal semptomlar görülmüştür. Bu sonuçlara dayanarak bu iki parazitte intestinal semptomların sıklıkla birlikte görülebileceği sonucuna varılmıştır.

Al ve Hökelek'nın (2007) yaptıkları çalışmalar ile *B. hominis*'in insandan insana, insandan hayvana, hayvandan hayvana ve hayvandan insana geçişlerinde rolü olan alt türlerinin tespiti moleküler yöntemlerle gösterilmiştir.

Değirmenci ve ark. (2007), Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarı'na 1 Ocak-31 Aralık 2005 tarihleri arasında gelen 3925 hastadan alınan gaita ve selofan bant preparatları ışık mikroskopuyla incelenmiştir. İncelenen örneklerde toplam 590 (%15.03) örnekte bir veya birden fazla bağırsak paraziti saptanmıştır. En yaygın saptanan 5 parazitin, *B. hominis* (% 4.96), *Cyclospora* spp. (% 1.91), *Enterobius vermicularis* (%1.86), *E. coli* (% 1.78) ve *G. intestinalis* (% 1.78) olduğu görülmüştür

Kaya ve ark. (2007) tarafından sadece *B. hominis* saptanıp başka bir etken saptanmayan 52 olguda intestinal semptom oranının % 88.4 olduğu (46/52) bildirilmiştir.

Özçakır ve ark. 'nın (2007) yaptığı bir çalışmada incelenen örnekler arasında en sık *B. hominis*'e rastlandığı, ayrıca *B. hominis*'in alerjik hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda bulunduğu ifade edilmiştir.

Aycan ve ark. 'nın (2008) incelediği 47 dışkı örneğinin 11'inde (% 23) bağırsak paraziti saptanmıştır. Parazit saptanan örneklerin 6'sında (% 12) *G. intestinalis*, 1'inde (% 2) *E. vermicularis*, 2'sinde (% 4) *E.coli*, 1'inde (% 2) *B. hominis*, 1'inde (% 2) *Iodomoeba butschili* görülmüş ve tedavi uygulanmıştır. Gıda sektöründe çalışan personelde bağırsak parazitlerinin olmaması gerekirken, zorunlu kontrollerin

yapılmaması ya da yeterince ciddi yapılmaması durumunda gıda ile ilgili iş yerlerinin hastalık kaynağı haline gelebileceği görülmüştür.

İnceboz ve Usluca'nın (2009) yaptığı araştırmada, aylara göre bağırsak parazitlerinin dağılımı yapıldığında, tüm parazitlerin ve *B. hominis*'in Şubat-Haziran ayları arasında ve Ağustos ayında en yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir.

İnceboz ve ark. (2011) tarafından Ocak 2005-Aralık 2009 yılları arasında, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Parazitoloji Birimi'ne başvuran 17756 olguda *B. hominis* görülme sıklığı önce nativ-lugol yöntemiyle araştırılmıştır. Daha sonra parakon dışkı konsantrasyon tüpü ile çöktürülüp, şüpheli olgular trikrom ve kinyoun acid-fast boyama yöntemleri ile incelenmiştir. İncelenen olguların 1510'unda (% 8.50) bir veya birden fazla parazit saptanmıştır. Parazitlerin dağılımı *B. hominis* 778 (% 4.38), apatojen amipler 343 (% 1.93), *G. intestinalis* 205 (% 1.15), *E. vermicularis* 46 (% 0.25), *E. histolytica/E. dispar* 34 (% 0.19) ve nadir görülen diğer parazitler ise 104 (% 0.58) oranındadır. Gastrointestinal şikayeti olan hastalardan alınan dışkı örneklerinde en çok *B. hominis*'e rastlanmıştır. *B. hominis* saptanan toplam 778 hastanın 525'inin (% 67.49) vakuoler, 115'inin (% 14.78) granüler, 138'inin ise (% 17.73) hem vakuoler hem granüler formda olduğu belirlenmiştir.

Çetinkaya ve ark.'nın (2012) 2009 Ocak-2010 Aralık tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında yaptığı çalışmadaintestinal şikayetlerle başvuran 16.445 kişiden alınan dışkı örneklerinden nativ-lugol ve sedimentasyon yöntemleri ile hazırlanan preparatlar ve bu hastaların 1.482'sinden alınan anal bant preparatları incelenmiştir. Çalışmaya alınan hastalardan 1.745 (% 10.6)'i erkek, 1.469 'u (% 8.9) kadın olmak üzere toplam 3.214'ünde (% 19.5) bir veya birden fazla türde parazit saptanmıştır. En sık saptanan parazitlerin sırasıyla; *B.hominis* 2.602 (% 15.8), *E. coli* 351 (% 2.1) ve *G. intestinalis* 299 (% 1.9) olduğu tespit edilmiştir.

Uysal ve ark. (2013) tarafından Ocak 1988-Aralık 2012 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi hastanesine başvuran 111.889 olguya ait dışkı örnekleri nativ-lugol ve formol-eter konsantrasyon tekniği ile mikroskopik olarak incelenmiş, olguların perianal bölge incelenmesinde ise selofan bant tekniğinden

yararlanılmıştır. Çalışmada, intestinal parazit prevalansı % 5 (5486/111.889) olarak hesaplanmıştır. En sık rastlanılan 4 tür sırasıyla, *G. intestinalis* (% 62), *Enterobius vermicularis* (% 16), *Ascaris lumbricoides* (% 7) ve *B. hominis* (% 6) olarak belirlenmiştir.

Gülmez ve ark. (2013) 2003-2012 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na gelen 85707 dışkı örneğini incelemiştir. Örneklerden 3681'inde (% 4,2) parazit varlığı tespit edilmiştir. En sık rastlanan parazitler sırasıyla *Giardia intestinalis* (% 40), *Blastocystis* spp. (%22), *E. coli* (% 12), *Dientamoeba fragilis* (% 9), *E. vermicularis* (% 5), *Echinococcus* spp. (% 4) ve *Taenia* spp. (% 3) oldukları saptanmıştır.

Korkmaz ve ark.'nın (2014) gaitada yaptıkları çalışmada nativ-lugol ve trikom boyama yöntemi ile pozitif olarak belirledikleri örnekler kültür ve PZR tekniği uygulamışlardır. *Blastocystis* spp. yönünden pozitif olarak belirledikleri örnekler PZR ile alt tip tayini yapılmış ve en sık tespit edilen alt tip ST3 olduğunu bildirmişlerdir.

Pektaş ve ark. (2015) Ocak 2010-Aralık 2012 tarihleri arasında Konya Eğitim Araştırma Hastanesi Parazitoloji laboratuvarına başvuran toplam 41967 hastanın dışkı örneği mikroskopik olarak nativ lugol ve formol etil asetat yöntemiyle incelenmiştir. Şüpheli örnekler trikom boyama yapılmıştır. Üç yıllık dönemde başvuran 41.967 hastaların 2145'inde (% 5.11) bağırsak paraziti saptanmıştır. Parazit saptanan tüm olgular yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde % 39.4 'ü 0-15 yaş arasında, % 44.3'ü 16-50, % 16.2'si 50 yaş üstündedir. Parazit saptanan olguların % 59.9 'unda *Blastocystis hominis*, % 25'inde *Entamoeba* spp, % 13.7'sinde *Giardia intestinalis* bulunmuştur. *Entamoeba* spp ve *G. intestinalis* en sık 0-15 yaş arasında, *B.hominis* en fazla 15-49 yaş arasında bulunmuştur.

Ertuğ ve ark.'nın (2015) yaptığı çalışmada, *Blastocystis* ile enfekte 61 olgu araştırılmıştır. Direkt mikroskopik incelemede *Blastocystis* kistleri görülen dışkı örnekleri Jones besiyerine ekilmiş ve 37°C'de 72 saatlik inkübasyon ile parazit çoğaltılmıştır. Genomik DNA izolasyonu, besiyerlerinden direkt olarak veya saklanan pelletlerden yapılmıştır. *Blastocystis* genotipleri alt tipe özgül primerlerin kullanıldığı PZR ile araştırılmış ve olgularda görülen semptomlar retrospektif olarak

değerlendirilmiştir. PZR ile 61 *Blastocystis* izolatının 44 (% 72.1)'ünde alt tip tayini yapılabilmüş, 17 (% 27.9) izolat ise tiplendirilememiştir. Örneklerin 17'si (% 38.6) ST3, 13'ü (% 29.5) ST2 ve 9 'u (% 20.5) ST1 olarak saptanmış; 4 (% 9.1) örnekte ST1 ve ST3, 1 (% 2.3) örnekte ise ST1 ve ST2 birlikte tespit edilmiştir.



4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. MATERYAL

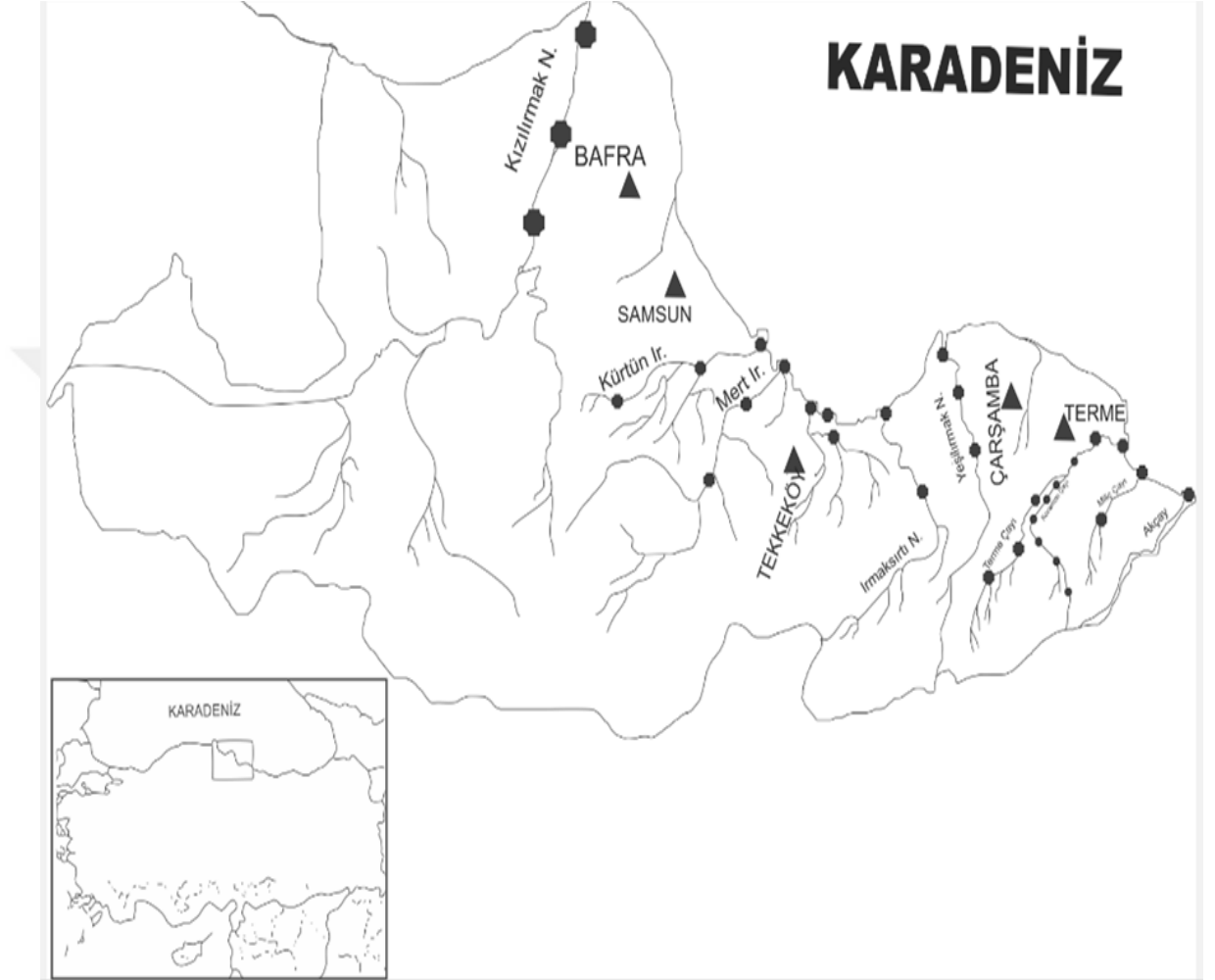
Çalışmanın örnekleme Samsun ili ve ilçelerinden alınan çevresel ve içme suyu örnekleri oluşturmaktadır.

4.1.1. Araştırma Bölgesinin Tanıtımı

Orta Karadeniz bölgesinde Yeşilırmak ve Kızılırmak nehirlerinin Karadeniz'e döküldükleri deltalar arasında yer alan Samsun ili 9.083 km²'lik bir yüz ölçümüne sahiptir. İl coğrafi konum olarak 40° 50' - 41° 51' kuzey enlemleri ve 37° 08' ve 34° 25' doğu boylamları arasında yer almaktadır. Kuzeyinde Karadeniz, güneyinde Tokat, Amasya ve Çorum, batısında Sinop, doğusunda Ordu yer almaktadır. Yeryüzü şekilleri bakımından üç farklı özellik görülmektedir. Birincisi güneyindeki dağlık kesim, ikincisi; dağlık kesimle kıyı şeridi arasında kalan yaylalar, üçüncüsü; yaylalarla Karadeniz arasındaki kıyı ovalarıdır. Karadeniz sahil şeridi üzerinde bulunan Samsun iline ait ilçeler; Alaçam, Asarcık, Ayvacık, Bafra, Çarşamba, Havza, Kavak, Ladik, Ondokuzmayıs, Salıpazarı, Tekkeköy, Terme, Vezirköprü ve Yakakent'tir. Ayrıca Kızılırmak ve Yeşilırmak akarsularının delta alanlarında oluşmuş kıyıları üzerinde yer alan Bafra ve Çarşamba ilçeleri yurdumuzun tarımsal potansiyeli en yüksek ovaları arasında yer almaktadır.

Genellikle ılıman bir iklime sahip olan Samsun ilinin sahil şeridi ve iç kesimlerinde iki farklı iklim özelliği görülmektedir. Sahil şeridinde (Merkez ilçe Terme Çarşamba Bafra Alaçam 19 Mayıs Tekkeköy ve Yakakent) Karadeniz ikliminin etkileri görülüp; yazlar ayları sıcak geçerken kış ayları ile ılık ve yağışlıdır. İç kesimlerde (Vezirköprü Havza Ladik Kavak Asarcık ve Salıpazarı) ise yüksekliği 2.000 metreyi bulan Akdağ ve 1.500 metreyi bulan Canik dağlarının etkisi altında kaldığı için tam tersi bir durum söz konusudur. Dağların etkisi nedeniyle burada kış aylarında soğuk ve bol kar yağışlı günler yaşanırken, yaz ayları ise serin geçer. Yıllık ortalama sıcaklık 15°C'dir. Samsun ili sınırları içerisinde yer alan önemli akarsular; Kızılırmak Nehri, Yeşilırmak Nehri, Terme Çayı, Akçay, Miliç, Irmaksırtı Nehri, Gelemen, Selyeri, Kirazlık, Mert Irmağı, Kürtün Irmağı ve bunların yan kollarından

oluşmaktadır (Delioğlu, 2012). Bu önemli akarsular çalışmanın Samsun ili ve ilçelerindeki istasyonları oluşturmuştur (Şekil4.1.).



Şekil 4.1. Araştırma alanını oluşturan Samsun ilindeki istasyonların konumu

4.1.2. Örneklerin Toplandığı İstasyonlar

Bu çalışma Samsun ilinde 2012-2014 yılları arasında alınan çevresel ve içme suyu örneklerinde yapılmıştır. Toplamda 37 istasyon belirlenmiştir. Samsun ili Terme ilçesinde; Akçay, Miliç Çayı, Miliç Çayı-II, Terme Çayı-I, Terme Çayı-II ,Terme Çayı-III ,Terme Çayı- IV,Teme Çayı-V, Terme Çayı-VI ve Kocaman Çayı-I,Kocamam Çayı-II, Kocaman Çayı-III,Kocaman Çayı-IV,Kocaman Çayı-V,Kocaman Çayı-VI ve içme suyu (Şekil 4.2). Çarşamba ilçesinde; Yeşilirmak-I köprüaltı, Yeşilirmak-II, Yeşilirmak-III, Irmaksırtı Çayı-I, Irmaksırtı Çayı-II ve içme suyu (Şekil 4.3). Tekkeköy ilçesinde; Gelemen Deresi ,Selyeri Deresi, Kirazlık Deresive içme suyu (Şekil 4.4).Samsun il merkezinde; Mert Irmağı-I, Mert Irmağı-II, Mert Irmağı-III, Kürtün Irmağı-I, Kürtün Irmağı-II, Kürtün Irmağı-III ve içme suyu (Şekil 4.5), Bafra ilçesinde; Kızılırmak-I, Kızılırmak-II,Kızılırmak-III ve içme suyudur (Şekil 4.6).



Akçay



Miliç



Terme Çayı



Kocaman Çayı

Şekil 4.2. Samsun ili Terme ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar (Seferoğlu, 2014; Ayaz, 2015)



Irmaksırtı Nehri



Yeşilirmak Nehri

Şekil 4.3. Samsun ili Terme ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonlar (Seferoğlu, 2014; Ayaz, 2015)



Gelemen



Kirazlık



Selyeri

Şekil 4.4. Samsun ili Tekkeköy ilçesinden alınan su örneklerine ait istasyonla (Seferoğlu, 2014; Ayaz, 2015)



Kürtün Irmağı



Mert Irmağı

Şekil 4.5. Samsun ili Merkez ilçelerinden alınan su örneklerine ait istasyonlar (Seferoğlu, 2014; Ayaz, 2015)



Kızılırmak



Şekil 4.6. Samsun ili Bafra ilçelerinden alınan su örneklerine ait istasyonlar (Seferoğlu, 2014; Ayaz, 2015)

4.2. YÖNTEM

4.2.1. Örneklerin Toplanması ve Alüminyum Sülfat İle Çöktürülmesi

Samsun ili ve ilçelerinde belirlenen istasyonlardan 10 L'lik çevresel su örnekleri toplanmıştır. İstasyonlardan alınan 10'ar litrelik su örneklerine materyalin çöktürülmesi için 10'ar ml alüminyum sülfat $Al_2(SO_4)_3$ eklenerek pH 5.4-5.8 olacak şekilde ayarlanmıştır. Çökeltmenin sağlanabilmesi için örnekler karanlık ortamda 20-24 saat bekletilmiştir. Bekletilen örneklerin üstteki sıvı kısım uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen 200 ml'lik çökelti 50 ml'lik falcon tüplerine homojen şekilde konularak ve 2100 x g'de 10 dk 4°C'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüplerde 5 ml örnek kalacak şekilde süpernatantı atılarak vortekslenmiştir. Distile su eklenerek 50 ml'ye tamamlanan örnekler 2100 x g'de 10 dk 4°C'de santrifüj edilip tekrar süpernatantı atılmıştır. Yine 5 ml'lik çökelti vortekslenildikten sonra üzerine 10 ml lizis tamponu eklenip son hacim 50 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır. Örnekler 15 dk'da bir çalkalamak suretiyle 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra örnekler 2 kez 2100 x g'de 10 dk 4°C'de santrifüj edilmiştir. Tüm tüplerin süpernatantı atılıp tüplerde 5 ml örnek bırakılarak son hacim 10 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır. Örnekler daha sonra kullanılmak üzere + 4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

4.2.2. Örneklerin Saflaştırılması (Sükroz Gradient Yöntemi)

Saflaştırma sürecinde 0.1 M PBS (pH: 7.2) ve sükroz çözeltisi (500 g Sükroz, 6.5 g fenol, 320 ml saf su) hazırlanmıştır. Sükroz/PBS oranı farklı iki çözelti (solüsyon A: 1/2, solüsyon B: 1/4) elde edilmiştir. Bu çözeltilere maksimum 4 damla % 1'lik tween 80 damlatılmıştır. Steril 50 ml'lik poliprolen falkon tüpünün içine önce 15 ml solüsyon A konulup üzerine 15 ml solüsyon B eklenerek gözle görülebilir bir faz elde edilmiştir. Bu fazın üstüne 10 ml su örneği dikkatli bir şekilde konularak 2. bir tabaka elde edilmiştir. Santrifüj 1200 x g'de 30 dk 4°C de edilmiş ve en üstte yaklaşık 10ml'lik ilk görünen üst tabaka atılmıştır. Atılan tabakanın altında mevcut olan yaklaşık 5-10 ml'lik ikinci tabaka temiz bir falkon tüpüne alınmıştır. Üzeri saf su ile 50 ml'ye tamamlanıp 2100 x g'de 10 dksantrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra yaklaşık 2 ml'likpellet tüpün dibinde kalacak şekilde süpernatant atılmıştır. Tekrar üzeri saf su ile 50 ml'ye tamamlanıp 2100 x g'de 10 dksantrifüj

edilmiştir. Yaklaşık 2 ml'lik pellet tüpün dibinde kalacak şekilde süpernatant atılmış ve pellet DNA ekstraksiyonunda kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır.

4.2.3. DNA İzolasyonu

Sükroz gradient yöntemiyle saflaştırılan örneklerden DNA izolasyonu QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) protokolü modifiye edilerek Karanis ve ark. (2006) göre yapılmıştır. Buna göre, örneklerin üzerine lizis tamponu eklendikten sonra art arda 15 kez sıvı azot içinde dondurup-çözme işlemi yapılmıştır. Dondurma işlemi örnekler sıvı azot içerisinde 1 dk bekletilerek, çözme işlemi ise kaynama sıcaklığında olan su banyosunda 1dk bekletilerek yapılmıştır. Bu sayede kist duvarlarının tamamen kırılması sağlanmıştır. Bu işlemden sonra sırayla kit protokolü takip edilmiştir. Son olarak DNA 50 µl TE tampon içinde toplanmış ve elde edilen DNA örnekleri, PZR reaksiyonlarında kullanılmak üzere + 4°C'de saklanmıştır.

4.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tekniği

PZR reaksiyon karışımı 25 µl son hacimde hazırlanmıştır. HotStart Taq DNA Polimeraz kiti (10X PZR tamponu, 5X Q solution, 25 mM MgCl₂, 5U hotstarttaq DNA Polimeraz) (Qiagen), 25 mM dNTP mix, 10 pmol (SSU)rRNA genin çoğaltılması için Blastocystis reverse (5' TGC TTT CGC ACT TGT TCATC 3') Blastocystis forward (5' GGA GGT AGT GAC AAT AAATC 3') primerleri ve 5µl DNA kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı vortekslenip PEQlab PZR cihazında inkübasyona bırakılmıştır. PZR çalışmasında çizelgede verilen protokol kullanılmıştır.

Çizelge 4.1. *Blastocystis* spp. için PZR koşulu

PZR Koşulu			
Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı	İşlem
95	15 dk	1	ilkdenatürasyon
94	30 sn	38	Denatürasyon
54	30 sn	38	Annealing (yapışma)
72	30 Sn	38	Extention (uzama)
72	10 dk	1	Final extention (son uzama)

Elde edilen PZR ürünleri +4°C’de kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Her bir test için pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır. Oluşan ürünler Ethidium Bromidle boyanmış % 1.5’luk agaraya yüklenmiştir. Jel elektroforezde 100 V da 60 dk yürütüldükten sonra UV altında (Prizma/Quantum ST4) bantlar görüntülenmiştir.

4.2.5. Sekans Analizi

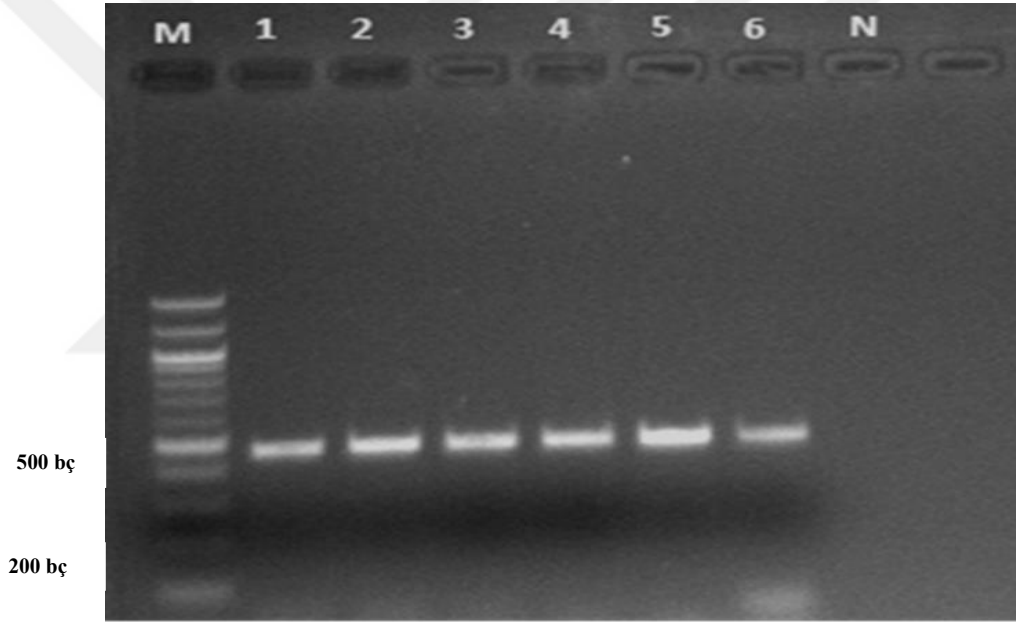
SSU rRNA gen bölgesi için hizalanma işlemi yapılmış ve elde edilen dizi dosyaları BioEdit (Hall, 1999) programıyla açılmıştır. (SSU)rRNA gen bölgesi GenBank’tan temin edilen JQ665863 (ST-1), AM275361 (ST-1), KF306287 (ST-1), KM213435 (ST-1), KF306294 (ST-3), KF242051 (ST-3), AB107963 (ST-3), AM275393 (ST-4), AB091248 (ST-5), AB107972 (ST-6), AB091242 (ST-7), AB107971 (ST-8), AF408425 (ST-9), FM164413 (ST-10), GU256932 (ST-11), GU256905 (ST-12) ve GU256935 (ST-13) kodlu DNA dizileri ile karşılaştırılmış ve hizalama işlemi BioEdit (Hall, 1999) içindeki ClustalW (Thompson ve ark., 1994) modülü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hizalanmış baz dizileri MEGA 5.05 paket programı kullanılarak maksimum olasılık analizleri, genetik uzaklık Kimura-2 parametre modeli ve seç bağla testi (Bootstrapping) 1000 tekrarla hesaplanmıştır. Filogeni ağacı Neighbour Joining (NJ), Maximum - Likelihood (ML), Maximum-Parsimony (MP) algoritmasıyla oluşturulmuştur.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. *Blastocystis* spp.'in Moleküler Yöntemlerle Tespit Edilmesi

5.1.1. PZR Metodunun Hassasiyeti

PZR metodunun hassasiyeti, pozitif olduğu bilinen *Blastocystis* spp. DNA'sı (10 ng) nükleaz içermeyen su kullanılarak 10^{-1} den 10^{-6} 'e kadar seri olarak sulandırılmıştır. Elde edilen farklı konsantrasyonlardaki DNA'lara standart PZR tekniği uygulanmıştır ve elde edilen ürün ethidium bromidli % 1.5'lik agaroz jele yüklenmiştir. Elektroforezde yürütülen DNA'ların UV ışığı altında (Prizma/Quantum ST4) bantları görüntülenmiştir (Şekil 5.1)

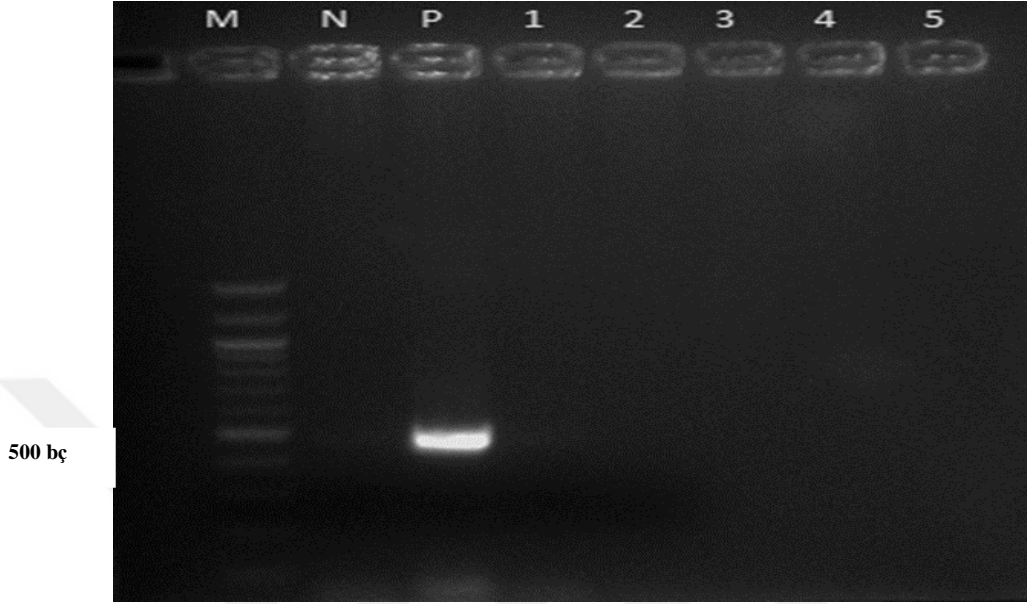


Şekil 5.1. PZR tekniğiyle çoğaltılan *Blastocystis* DNA'sı eklenmiş doğadan alınan su örneklerini agaroz jeldeki görüntüsü. M: 100 bç marker, N: distile su (negatif) 1-6: *Blastocystis* DNA'sı eklenmiş su örnekleri

5.1.2. PZR Metodunun Özgünlüğü

Blastocystis PZR deneyinin özgüllüğünü göstermek için hedef DNA olarak seçilen *Blastocystis*'nin yanı sıra hedef DNA olarak seçilmeyen *C. parvum*, *T. gondii*, *G.intestinalis*, *Babesia bovis* protozoonları kullanılmıştır. *Blastocystis* DNA'sı standart PZR ile 479 bç'de pozitif sonuç vermiştir. Çalışmanın sonucunda standart

PZR reaksiyonuyla *Blastocystis* çoğalırken diğer protozoonlarda herhangi bir çoğalma gözlenmemiştir (Şekil 5.2).



Şekil 5.2. *Blastocystis* geninin PZR ile özgünlüğünün agaroz jeldeki görüntüsü M: 100 bç marker, N:distile su (negatif), P:*B.hominis* DNA 1: *C. parvum* DNA, 2: *T. Gondii* DNA, 3: *G.intestinalis* DNA, 4: *Babesia bovis*

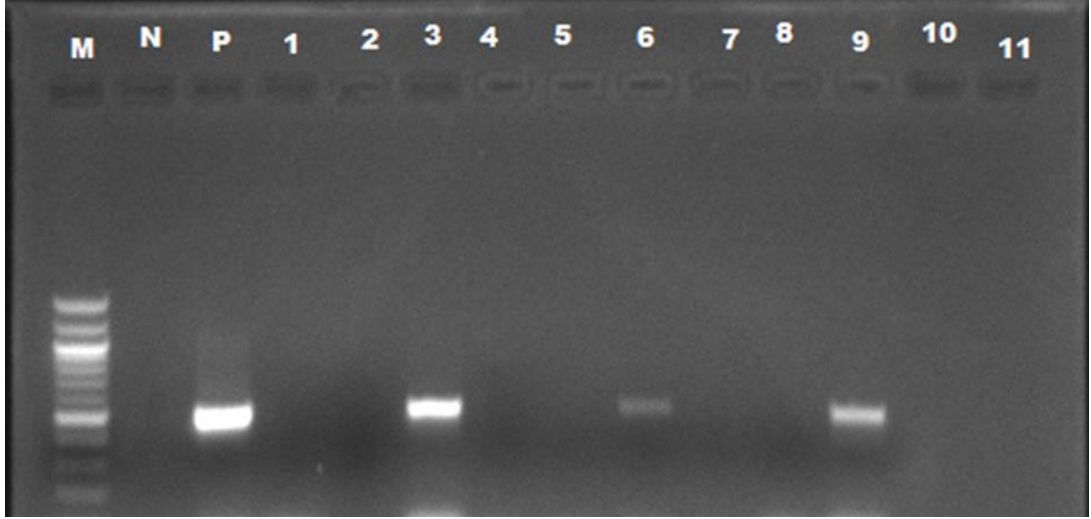
5.2. Samsun İl ve İlçelerinden Alınan Su Örneklerinin, PZR ve Sekans Analiz Sonuçları

Bu çalışmada 2012 – 2014 yılları arasında Samsun ilinden alınan 75 çevresel, 25 içme suyu örnekleri sükröz gradiyent yöntemiyle saflaştırılmıştır. Daha sonra tüm su örneklerinden DNA izole edilmiştir ve izole edilen DNA'lara PZR metodu uygulanmıştır. İçme suyu örneklerinde hiçbir metot ile *Blastocystis* tespit edilememiştir. Toplamda 100 su örneği incelenmiş olup PZR tekniğiyle 3 (% 3) örnek pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1. Samsun il merkezi ve ilçelerinden alınan su örneklerinde *Blastocystis*'in varlığının gösterilmesi

Alınan su tipi	İstasyon	İncelenen örnek sayısı	PZR ile pozitif örnek sayısı
İçme suyu		25	0
Ara toplam % pozitif	Bütün istasyonlar	25	%0
Irmak suyu	Samsun-Merkez	18	2
	Terme	12	1
	Kocaman	9	0
	Çarşamba	15	0
	Tekkeköy	9	0
	Bafra	12	0
Ara toplam % pozitif		75	3 (%4)
Genel Toplam pozitif (%)		100	3 (%3)

Samsun il merkezinden alınan 18 su örneğinin 2'si, Terme ilçesinden alınan 12 su örneğinin 1'inde PZR yöntemiyle *Blastocystis* DNA'sı pozitif olarak tespit edilmiştir. İçme suyu ve çevresel suların genel toplamı değerlendirildiğinde 100 su örneğinin 3'ü (% 3) PZR metodu ile pozitif olarak bulunmuştur. Pozitif tespit edilen istasyonlar Samsun merkezde; Kürtün ve Mert Çayları; Terme ilçesinde ise Miliç Çayı'dır. Samsun ilinden alınan örneklere uygulanan PZR metodunun (Şekil 5.3) agaroz jeldeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 5.3. Samsun ilinden alınan su örneklerine ait *Blastocystis* PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü; M:100 bç DNA marker; N: (distile su) negatif; P:*Blastocystis* DNA'sı, 1-11: çalışılan su örnekleri

Çalışmada elde edilen 3 PZR ürününün sekansı başarılı bir şekilde alınmıştır. Çizelge 5.2. de sekans sonuçları gösterilmiştir.

Çizelge 5.2. Samsun ilinden alınan yüzeysel ve içme sularına uygulanan PZR sonuçları ile PZR ürünlerinin sekans sonuçları

İstasyonlar	PZR sonuçları	Sekans sonuçları
Samsun İl Merkezi		
Mert Irmağı I	-	-
Mert Irmağı II	+	+
Mert Irmağı III	-	-
Kürtün Ir. I	+	+
Kürtün Ir. II	-	-
Kürtün Ir. III		
Terme		
Akçay	-	-
Miliç I	+	+
Miliç II	-	-
Terme Çayı I	-	-
Terme Çayı II	-	-
Terme Çayı III	-	-
Terme Çayı IV	-	-
Terme Çayı V	-	-
Terme Çayı VI	-	-
Kocaman I	-	-
Kocaman II	-	-
Kocaman III	-	-
Kocaman IV	-	-
Kocaman V	-	-
Kocaman VI	-	-
Çarşamba		
Yeşilirmak I	-	-
Yeşilirmak II	-	-
Yeşilirmak III	-	-
Irmaksırtı I	-	-
Irmaksırtı II	-	-
Tekkeköy		
Gelemen	-	-
Selyeri	-	-
Kirazlık	-	-
Bafra		
Kızılırmak I	-	-
Kızılırmak II	-	-
Kızılırmak III	-	-
İşlem Görmemiş Sular		
Samsun Merkez	-	-
Terme	-	-
Çarşamba	-	-
Tekkeköy	-	-
Bafra	-	-

Su örneklerinde PZR tekniği kullanılarak elde edilen 3 ürünün sekans analiz sonuçları Gen bankasından alınan *Blastocystis* alt türlerine ait referanslarla karşılaştırılmıştır. Kullanılan referans numaraları Tablo 5.1. 'de verilmiştir.

Çizelge 5.3. *Blastocystis* alt türlerine ait genlerin referans numaraları

Alt tür	Genbankası Referans Erişim Numarası	Ülke	Konak	Referans
ST-1	JQ665863	Tayland	İnsan	Thathaisong ve ark. (2013)
ST-1	AM275361	Danimarka	İnsan	Stensvold ve ark. (2007)
ST-1	KF306287	Melazya	İnsan	Abdulsalam ve a. k. (2013)
ST-1	KM213435	Meksika	İnsan	Villalobos ve ark. (2014)
ST-3	KF306294	Libya	insan	Abdulsalam ve a. k. (2013)
ST-3	AM779046	Türkiye	İnsan	Özyurt ve ark. (2008)
ST-3	KF242051	Hollanda	İnsan	Bart ve ark. (2013)
ST-3	AM779043	Türkiye	İnsan	Ozyurt ve ark. (2008)
ST-3	AB107963	Japonya	Domuz	Abe (2004)
ST-4	AM275393	Danimarka	İnsan	Stensvold ve ark. (2007)
ST-5	AB091248	Japonya	Domuz	Arisue ve ark. 2003
ST-6	AB107972	Japonya	Kuş	Abe (2004)
ST-7	AB091242	Japonya	Tavuk	Arisue ve ark. 2003
ST-8	AB107971	Japonya	İnsan	Abe (2004)
ST-9	AF408425	Japonya	İnsan	Yoshikawa ve ar c. (2004)
ST-10	FM164413	Danimarka	Sığır	Stensvold ve ark (2009 a, b, c)
ST-11	GU256932	Avustralya	Fil	Parkar (2010)
ST-12	GU256905	Avustralya	Zürafa	Parkar (2010)
ST-13	GU256935	Avustralya	Kısa Kuyruklu Kanguru	Parkar (2010)

Blastocystis pozitif su örnekleri ile gen bankasından alınan referans *Blastocystis* alttürlerine ait (SSU)rRNA gen bölgesi yüzde benzerlik ve evrimsel uzaklık ilişkisi şekil 5.4 gösterilmiştir. Şekle göre; Kürtün çayı için en düşük genetik uzaklık Kürtün ile Miliç arasında 0.0082 değeri ile en yüksek genetik uzaklık ise 1.0422 değeri ile AB107971 (ST8) arasındadır. Kürtün ile JQ665863 (ST-1) arasındaki nükleotit benzerliği % 98.8 dir.

Miliç çayı ile JQ665863 (ST-1), AM275361 (ST-1), KF306287 (ST-1) ve KM213435 (ST-1) arasında en düşük genetik uzaklık 0,0055 değeri bulunmuştur. AB107971 (ST8) ile arasındaki en yüksek genetik uzaklık ise 1,0408 dir. JQ665863 (ST-1) ,AM275361 (ST-1) ve Miliç arasındaki nükleotit benzerliği % 76.6 dır.

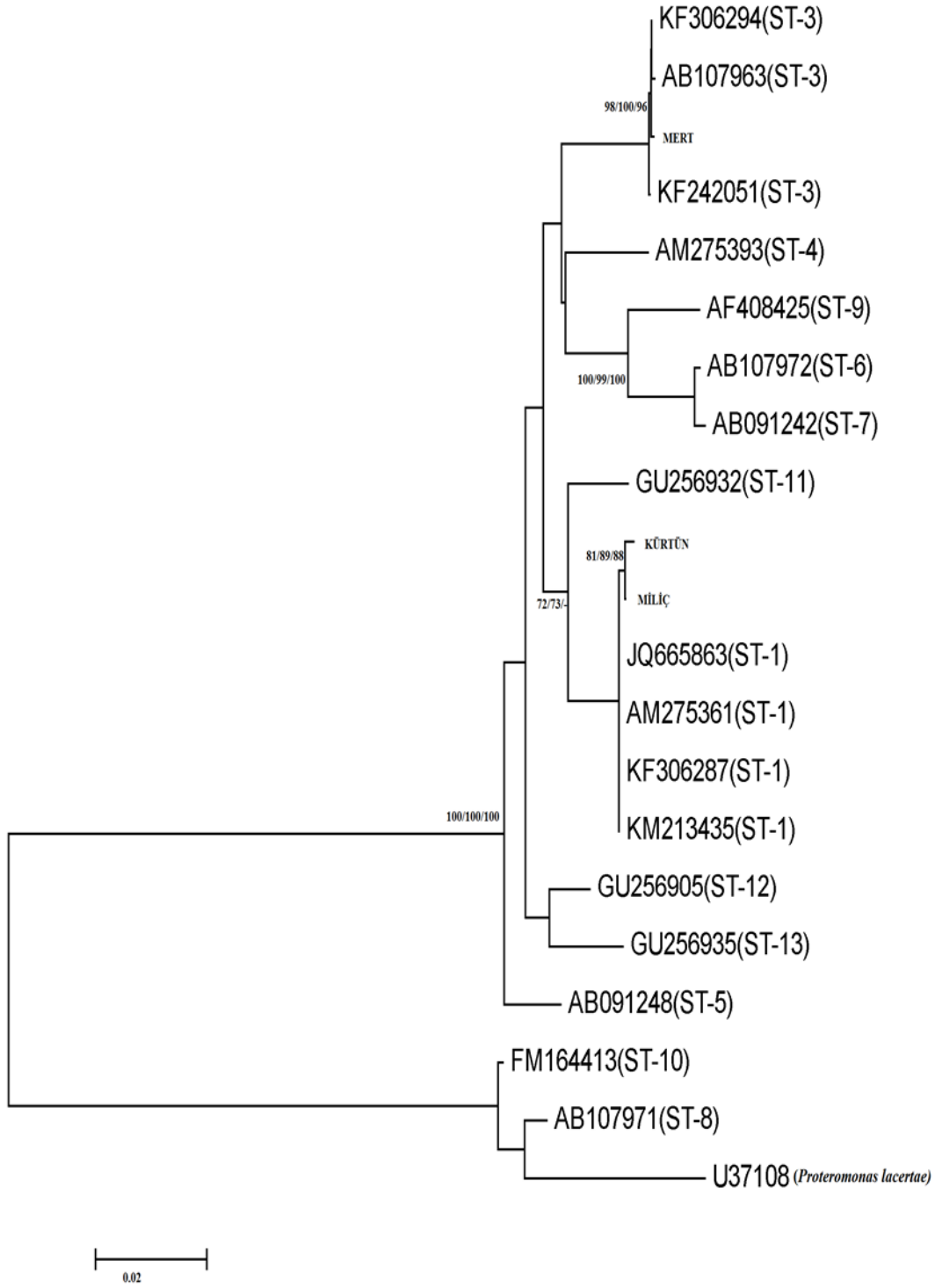
KF306294 (ST-3) ile Mert çayı arasındaki en düşük genetik 0.0027, en yüksek genetik benzerlik AB107963 (ST-3) arasındadır. Nükleotit benzerlik oranı ise KF306294 (ST-3) arasında % 94.2 olarak belirlenmiştir.

Tüm türler için ortalama genetik uzaklık ise 0.394 olarak hesaplanmıştır.

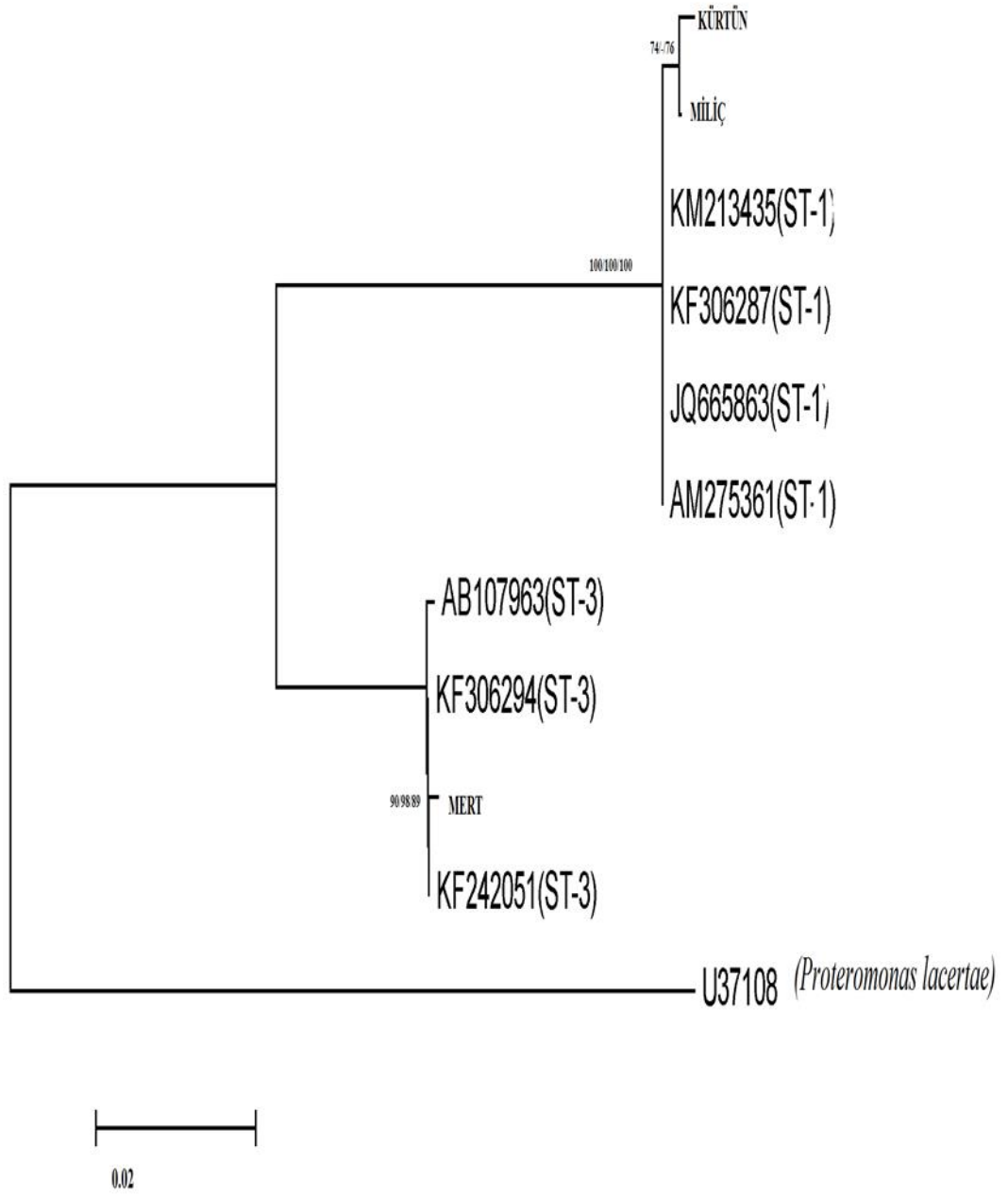
Çizelge 5.4. Gen bankasından alınan Blastocystis alttürlerine ve su örneklerine ait (SSU)rRNA gen bölgesi yüzde benzerlik ve evrimsel uzaklık ilişkisi

	Kurtun	Milic	JQ665863 (ST-1)	AM275361 (ST-1)	KF306287 (ST-1)	KM213435 (ST-1)	Mert	KF306294 (ST-3)	KF242051 (ST-3)	AB107963 (ST-3)	AM275393 (ST-4)	AB091248 (ST-5)	AB107972 (ST-6)	AB091242 (ST-7)	AB107971 (ST-8)	AF408425 (ST-9)	FM164413 (ST-10)	GU256932 (ST-11)	GU256905 (ST-12)	GU256935 (ST-13)	U37108 (<i>Proteromonas lacertae</i>)
Kurtun	ID	0.764	0.988	0.988	0.448	0.437	0.382	0.36	0.394	0.384	0.814	0.494	0.471	0.483	0.175	0.47	0.247	0.874	0.845	0.836	0.177
Milic	0.0082 ID	0.766	0.766	0.584	0.569	0.487	0.459	0.51	0.489	0.632	0.38	0.361	0.371	0.148	0.361	0.321	0.722	0.649	0.644	0.143	
JQ665863 (ST-1)	0.0138 0.0055 ID	1	0.453	0.442	0.383	0.361	0.397	0.385	0.824	0.498	0.475	0.488	0.175	0.475	0.25	0.884	0.851	0.844	0.177		
AM275361 (ST-1)	0.0138 0.0055 0.0000 ID	0.453	0.442	0.383	0.361	0.397	0.385	0.824	0.498	0.475	0.488	0.175	0.475	0.25	0.884	0.851	0.844	0.177			
KF306287 (ST-1)	0.0138 0.0055 0.0000 0.0000 ID	0.974	0.712	0.755	0.769	0.716	0.356	0.211	0.195	0.2	0.099	0.196	0.299	0.409	0.363	0.356	0.093				
KM213435 (ST-1)	0.0138 0.0055 0.0000 0.0000 0.0000 ID	0.694	0.732	0.745	0.694	0.345	0.205	0.189	0.194	0.095	0.191	0.288	0.397	0.352	0.345	0.089					
Mert	0.1719 0.1753 0.1682 0.1682 0.1682 0.1682 ID	0.942	0.901	0.992	0.361	0.228	0.233	0.238	0.105	0.232	0.296	0.374	0.363	0.352	0.099						
KF306294 (ST-3)	0.1683 0.1717 0.1646 0.1646 0.1646 0.1646 0.0027 ID	0.856	0.946	0.34	0.216	0.22	0.225	0.1	0.22	0.283	0.353	0.342	0.331	0.094							
KF242051 (ST-3)	0.1717 0.1683 0.1613 0.1613 0.1613 0.1613 0.0055 0.0027 ID	0.905	0.373	0.217	0.21	0.214	0.104	0.209	0.305	0.393	0.369	0.365	0.099								
AB107963 (ST-3)	0.1717 0.1751 0.1680 0.1680 0.1680 0.1680 0.0055 0.0027 0.0055 ID	0.362	0.229	0.234	0.239	0.105	0.233	0.296	0.376	0.365	0.354	0.099									
AM275393 (ST-4)	0.1745 0.1676 0.1606 0.1606 0.1606 0.1606 0.1643 0.1609 0.1610 0.1642 ID	0.517	0.497	0.512	0.187	0.498	0.23	0.778	0.853	0.838	0.189										
AB091248 (ST-5)	0.1706 0.1707 0.1638 0.1638 0.1638 0.1638 0.1777 0.1742 0.1742 0.1776 0.1846 ID	0.747	0.748	0.175	0.752	0.143	0.473	0.555	0.546	0.186											
AB107972 (ST-6)	0.2092 0.2093 0.2021 0.2021 0.2021 0.2021 0.1985 0.1949 0.1949 0.1985 0.1915 0.2021 ID	0.963	0.167	0.903	0.13	0.449	0.503	0.498	0.173												
AB091242 (ST-7)	0.2128 0.2129 0.2056 0.2056 0.2056 0.2056 0.2092 0.2056 0.2056 0.2092 0.1880 0.2022 0.0137 ID	0.167	0.892	0.133	0.46	0.516	0.51	0.172													
AB107971 (ST-8)	1.0422 1.0408 1.0290 1.0290 1.0290 1.0290 1.0029 1.0147 1.0129 1.0166 1.0528 0.9953 1.2450 1.2415 ID	0.171	0.323	0.177	0.186	0.179	0.447														
AF408425 (ST-9)	0.2207 0.2208 0.2133 0.2133 0.2133 0.2133 0.2057 0.2021 0.2021 0.2056 0.2021 0.2057 0.1274 0.1339 1.1200 ID	0.137	0.445	0.51	0.5	0.174															
FM164413 (ST-10)	0.9833 0.9817 0.9705 0.9705 0.9705 0.9705 0.9773 0.9889 0.9869 0.9910 1.0541 0.9490 1.2393 1.2353 0.0421 1.0797 ID	0.261	0.243	0.231	0.268																
GU256932 (ST-11)	0.1149 0.1053 0.0990 0.0990 0.0990 0.0990 0.1990 0.1954 0.1919 0.1989 0.1639 0.1675 0.1985 0.2056 1.0013 0.2349 0.9455 ID	0.796	0.797	0.171																	
GU256905 (ST-12)	0.1537 0.1537 0.1470 0.1470 0.1470 0.1470 0.1846 0.1811 0.1812 0.1846 0.1709 0.1020 0.2165 0.2203 0.9962 0.1879 0.9503 0.1572 ID	0.929	0.188																		
GU256935 (ST-13)	0.1812 0.1778 0.1708 0.1708 0.1708 0.1708 0.2027 0.1990 0.1955 0.1989 0.2027 0.1158 0.2315 0.2354 1.1215 0.2202 1.0688 0.1676 0.1022 ID	0.182																			
U37108(<i>Proteromonas lacertae</i>)	1.1779 1.1910 1.1777 1.1777 1.1777 1.1777 1.1273 1.1400 1.1524 1.1406 1.2188 1.0820 1.3619 1.3597 0.1810 1.3552 0.1949 1.1648 1.1426 1.2371 ID																				

Blastocystis pozitif su örnekleri (Miliç, Kürtün ve Mert) ve gen bankasından alınan tüm *Blastocystis* alttürlerine (ST1-ST13) ait SSU)rRNA gen bölgesi NJ filogeni ağacı şekil 5.5. de gösterilmiştir. Burada bootstrap değeri % 70 den fazla olan NJ/ML/MP analizleri sırayla ağaç üzerinde gösterilmiştir. Şekil 5.6 da gösterildiği gibi Mert Irmağı ile KF306294 (ST-3), AB107963 (ST-3), KF242051 (ST-3) arasında % 90, % 98 ve % 89 oranında bootstrap değerleriyle NJ, ML, MP filogeni ağaçlarında benzerlik ortaya konulmuştur. Kürtün ve Miliç ırmakları ile KM 213435 (ST-1), KF306287 (ST-1), JQ 665863 (ST- 1), AM275361 (ST-1) arasında % 100, % 100 ve % 100 oranında bootstrap değeriyle NJ, ML ve MP filogeni ağaçlarında benzerlik gösterilmiştir. Sonuç olarak Samsun ilinden alınan su örneklerinde Miliç ve Kürtün istasyonlarından alınan su örnekleri *Blastocystis* tür ST1 olarak belirlenirken, Mert ırmağı istasyonundan alınan su örnekleri *Blastocystis* tür ST3 olarak belirlenmiştir.



Şekil 5.5. Tüm *Blastocystis* alttürlerinin (SSU)rRNA gen bölgesine ait NJ filogeni ağacı



Şekil 5.6. *Blastocystis* ST1 ve ST3 referansları ile Kürtün, Mert ve Miliç Irmak örneklerine ait (SSU)rRNA gen bölgesinin kıyaslandığı NJ filogeni ağacı

Ülkemizde su kökenli *Blastocystis* ile yok denecek kadar az çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalarda genellikle fekal örnekler ve klasik tanı yöntemleri kullanılarak testlenmiştir. Ancak son yıllarda yapılan bazı çalışmalar bu alandaki boşluğu doldurmaya yönelik çalışmalardır. Ülkemizde boyama yöntemiyle su kökenli protozoonları (*Cryptosporidium*, *T. gondii*, *G.intestinalis*) tespit etmede kullanılan çalışmalar mevcutken, dışkı örneklerinin tespitinde daha çok PZR ve Nested PZR yöntemleri kullanılmıştır.

Bu çalışmada ise Samsun il ve ilçelerinde belirlenen farklı istasyonlardan alınan su örneklerinde *Blastocystis* spp. parazitinin moleküler teknikler kullanılarak varlığı ilk kez araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre araştırma alanından bazı istasyonların bu parazit ile kontamine olduğu tespit edilmiştir.

Su kaynaklarına ve sebze yetiştiriciliğine yakın olarak bulunan çiftlik alanları *Blastocystis*'nin yayılmasını hızlandırmaktadır. Yapılan bir çalışmada evcil kedi köpeklerin çoğunun dışkısında *B.hominis*'e rastlanmıştır. Bu durumda evcil hayvanların da insanlar için enfeksiyon kaynağı olabileceği öne sürülmüştür (Duda ve ark.1998). İnsanlar tarafından kullanılan su ve besin maddelerinin kistlerle kontamine olması Blastocystosis enfeksiyonunun yayılmasına neden olmaktadır. Bu durum gözönüne alınarak bu tezin materyalini su örnekleri oluşturmuştur.

Ülkemizde *Blastocystis*'in tespitinde genellikle materyal olarak insanlardan alınan fekal örnekler kullanılmıştır (Ok ve ark. 1996, İnceboz ve ark. 2002, Değirmenci ve ark. 2007, İnceboz ve ark. 2011). İnsan dışkısıyla dışarı atılan kalın duvarlı *Blastocystis* kistlerinin su ve besin yoluyla yayılması muhtemeldir. Bu nedenle bu çalışmada çevresel su örneklerinde *Blastocystis* kistlerinin varlığı araştırılmak istenmiştir.

Ülkemizde *Blastocystis* spp. diğer fekal-oral yolla yayılan parazitlerinde sularda varlığını göstermek için yapılan çalışmalar da sınırlıdır.

Karaman ve ark. (2013a, 2013b) Giresun ve Samsun illerinden aldıkları su örneklerinde su kökenli parazitlerin genel dağılımını standart mikroskop yöntemiyle araştırmışlardır. Her iki bölgede su kökenli parazitlerin genel dağılımı dışında herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *Cryptosporidium* spp. *Cyclospora* spp. *Strongyloides*, *Microsporidia*, *Blastocystis* spp., kancalı kurt ve *Giardia* spp.

türlerine rastladıklarını bildirmişlerdir. Karaman ve ark. (2013a, 2013b) yaptığı çalışmada standart mikroskopi ile direk bakı yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışma ise gerek Karadeniz Bölgesi'nde gerekse ülkemizde yapılan su kökenli *Blastocystis* spp. ile ilgili moleküler düzeydeki ilk çalışmayı oluşturmaktadır.



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada 2012-2014 yılları arasında Samsun ili ve ilçelerinde belirlenen 37 istasyondan toplam 75 çevresel ve 25 içme suyu örneğinde *Blastocystis* spp. varlığı moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 75 çevresel su örneğinin 3 (% 4) tanesinde PZR yöntemi ile pozitiflik belirlenmiştir. Yine aynı dönemde toplanan içme sularının hiçbirinde *Blastocystis* spp. tespit edilmemiştir. Tüm örneklere bakıldığı zaman *Blastocystis* spp. varlığı % 3 olarak tespit edilmiştir.

PZR ürünlerinin sekans analiz sonucuna göre Samsun merkezde; Kürtün ve Mert Çayı, Terme ilçesinde ise Miliç çayının pozitifliği doğrulanmıştır.

Gen bankasından alınan *Blastocystis* alttürlerine ve su örneklerine ait (SSU)rRNA gen bölgesi yüzde benzerlik ve evrimsel uzaklık ilişkisi incelendiğinde Kürtün çayı için en düşük genetik uzaklık Kürtün ile Miliç arasında 0.0082 değeri ile en yüksek genetik uzaklık ise 1.0422 değeri ile AB107971 (ST8) arasındadır. Kürtün ile JQ665863 (ST-1) arasındaki nükleotit benzerliği % 98.8 dir.

JQ665863 (ST-1), AM275361 (ST-1), KF306287 (ST-1), KM213435 (ST-1) ile Miliç çayı arasında en düşük genetik uzaklık 0.0055 değeri bulunmuştur. AB107971 (ST8) ile arasındaki en yüksek genetik uzaklık ise 1.0408 dir. JQ665863 (ST-1), AM275361 (ST-1) ve Miliç arasındaki nükleotit benzerliği % 76.6 dır.

KF306294 (ST-3) ile Mert çayı arasındaki en düşük genetik 0.0027, en yüksek genetik benzerlik AB107963 (ST-3) arasındadır. Nükleotit benzerlik oranı ise KF306294 (ST-3) arasında % 94.2 olarak belirlenmiştir. Tüm türler için ortalama genetik uzaklık ise 0.394 olarak hesaplanmıştır.

Blastocystis pozitif su örnekleri (Miliç, Kürtün ve Mert) ve gen bankasından alınan tüm *Blastocystis* alttürlerine (ST1-ST13) ait (SSU)rRNA gen bölgesi NJ filogeni ağacı şekil 5.5. de gösterilmiştir. Burada bootstrap değeri % 70 den fazla olan NJ/ML/MP analizleri sırayla ağaç üzerinde gösterilmiştir. Şekil 5.6 da ise Mert Irmağı ile KF306294 (ST-3), AB107963 (ST-3), KF242051 (ST-3) arasında % 90, % 98 ve % 89 oranında bootstrap değerleriyle NJ,ML,MP filogeni ağaçlarında benzerlik ortaya konulmuştur. Kürtün ve Miliç ırmakları ile KM 213435 (ST-1), KF 306287 (ST-1), JQ 665863 (ST- 1), AM 275361 (ST-1) arasında % 100, % 100 ve %

100 oranında bootstrap değeriyle NJ, ML ve MP filogeni ağaçlarında benzerlik gösterilmiştir. Çalışmada Samsun ilinden alınan su örneklerinde Miliç ve Kürtün istasyonlarından alınan su örnekleri *Blastocystis* tür ST1 olarak belirlenirken, Mert ırmağı istasyonundan alınan su örnekleri *Blastocystis* tür ST3 olarak belirlenmiştir.

Mikroskopik bakı ucuz ve hızlı bir yöntem olmasına karşın, sonuçlar bakı yapan kişinin tecrübesine bağlı olarak değişebilmektedir. PZR analizi mikroskopik bakıya iyi bir alternatiftir ve analiz aynı zamanda genotipin belirlenebilmesini de mümkün kılmaktadır. PZR mikroskopik bakıya göre daha özgül ve güvenilir bir yöntemdir.

Bu çalışmanın Karadeniz Bölgesi'nde su kökenli *Blastocystis*'in moleküler olarak ilk araştırma olması ve ileride yapılacak diğer çalışmalar için kaynak oluşturması nedeniyle önemli olduğu düşünülmektedir.

Karadeniz yakın bir döneme kadar ekolojik yönden oldukça zengin denizlerden biriyken son yıllarda atık suların hiçbir işleme tabi tutulmadan denizlere ve derelere boşatılması bu kaynakların kirlenmesine yol açmakta ve dolayısıyla su kökenli parazitlerin yayılmasına neden olmaktadır. Derelerdeki suların tarımsal sulamada ve içme suyu kaynağı olarak kullanılması konusunda halkın bilinçlendirilmesi önerilmektedir.

Karadeniz bölgesinde bulunan dere ve akarsuların neredeyse birçoğu su kaynağı olarak kullanılmaktadır. Fakat bölgedeki birçok yerleşim yerinin evsel atık suları ve kanalizasyon suları hiçbir işleme tabi tutulmadan derelere, akarsulara ve dolayısıyla denize akıtılmaktadır. Bu durum kontamine olmuş su yoluyla yayılan enfeksiyon riskinin artmasına sebep olabilir. Aynı zamanda bölgenin aldığı yoğun yağışlar ve seller düşünüldüğünde, enfeksiyon ajanının yayılmasında kontamine suların büyük payı olduğu da anlaşılır.

Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'ndan yayınladığı 'İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkındaki' Yönetmelikte içme ve kullanma suları için gerekli olan şartlarda parazitlere yer verilmemiştir. Su Kalite Kontrol Yönetmeliği'nde de su kaynaklarında bulundurması gereken parametrelerde su kökenli protozoonlar yer almamaktadır. Resmi Gazetede 2012 yılında yayınlanan açık deniz haricindeki bütün yüzeysel sular ile kıyı ve geçiş sularını kapsayan Yüzeysel Su Kalite Yönetimi Yönetmeliğinde çevresel kalite standartlarından bahsedilmektedir. Çevresel kalite

standartları içerisinde mevcut olan biyolojik parametreler kısmında da su kökenli parazitlere yer verilmemektedir. Kıta içi su kaynaklarının hayvansal sulama ve rekreasyonel amaçlı kullanımı dikkate alındığında, bu parazitin gerek bu yönetmelik gerekse SKKY (2004) ve İTASHY' ye (2013) dahil edilmesi önerilmektedir.

Arazi bölgesinde atık su arıtım tesislerinin yetersizliği de göz önünde bulundurularak bölge halkının Blastocystosis hastalığı konusunda bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Kaynağı ve arıtımından emin olunmayan suları tüketmeyerek, sebze ve meyveleri tüketmeden önce bol su ile yıkayarak, Blastocystosis kendimizi korumak mümkündür. Karadeniz Bölgesi'nde risk grubunu oluşturan insanların Blastocystosis konusunda bilgilendirilmesi ve korunma yollarının anlatılması için, bu tez çalışması hazırlanmıştır.

7. KAYNAKLAR

- Abe, N. 2004. Molecular and phylogenetic analysis Of *Blastocystis* Isolates from variou shosts Veterinary Parasitology 120(3):235–242
- Aguiar, J.I, Goncalves, A.Q, Sodre, F.C, Pereira, Sdos, R, Boia, M.N, De Lemos, E.R, Daher, R.R. 2007.Intestinal Protozoa And Helminths Among Terena Indians In The State Of Mato Grosso Do Sul:High Prevalence Of *Blastocystis Hominis*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.;40:631-34.
- Akın, G., Güleç, E., Sağır, M., Gültekin, T., Bektaş Y.,2005.“Yaşlanma Ve Yaşlanmayı Geciktiren Çevresel Etmeler”. III. Ulusal Yaşlılık Kongresi 16-19 Kasım. 127-137, İzmir
- Akın, M., Akın, G. 2007. Suyun Önemi, Türkiye’de Su Potansiyeli Su Havzaları Ve Su Kirliliği. Dil Ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi, 47(2): 105-118
- Al, F.D., Hökelek, M. 2007. *Blastocystis Hominis* Fırsatçı Bir Patojen Mi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 31(1): 28-36.
- Al F.D., Adıyaman, G., Yantra, T.N, Hasgür, S., Bağrıaçık, Ü.2012. Anti-paraziter Etkili İlaçların *Blastocystis* İzolatlarının Canlılıkları Üzerine Etkilerinin MTT Testi ile Belirlenmesi. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 18: A167-A170.
- Alemdar, S., Kahraman, T., Ağaoğlu, S., Alişarlı, M., 2009. Bitlis İli İçme Sularının Bazı Mikrobiyolojik Ve Fizikokimyasal Özellikleri. Ekoloji 19, 73, 29-38
- Alkan, U., Çalışkan, S., Mescioğlu, Ü. 1999. Ulubat Gölü’ Nün Mikrobiyolojik Kirlilik Seviyesinin Belirlenmesi. Çevkor, 9 (33): 3-5.
- Am, K., El,T.M., El, N.2001. Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Alexandria University, Egypt. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 31(2):603-616
- Amin, O.M. 2006. The Epidemiology Of *Blastocystis Hominis* In The United States. Journal Of Parasitology Research, 1: 1-10.
- Anonim 2008.[Http://Www.Cev.Org.Tr/Default.Asp?PageId=18&Nid=741](http://Www.Cev.Org.Tr/Default.Asp?PageId=18&Nid=741) (Erişim Tarihi 10.7.2014)
- Anonim 2016. [Http://Www.Cdc.Gov/Dpdx/Blastocystis/Index.Html](http://Www.Cdc.Gov/Dpdx/Blastocystis/Index.Html).(Erişim Tarihi: 20.4.2016.)
- Anonim, 1997. TS 266 İçme ve Kullanma Suları. Türk Standartları Enstitüsü Başkanlığı, Ankara,
- Anonim, 2009. DSİ Genel Müdürlüğü 2009 Yılı Faaliyet Raporu. [Http://Www2.Dsi.Gov.Tr/Faaliyet_Raporlari/2009_Faaliyet_Raporu.Pdf](http://Www2.Dsi.Gov.Tr/Faaliyet_Raporlari/2009_Faaliyet_Raporu.Pdf) (Erişim Tarihi: 02.08.2014)
- Anonim, 2013. İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik 07.3.2013 Tarihli Ve 28580 Sayılı Resmî Gazete. İTASHY, Ankara.
- Anonim, 2014a. Halk Sağlığı Uzmanları Derneği Türkiye Halk Sağlığı Raporu. [Http://Halksagligiokulu.Org/Anasayfa/Components/Com_Booklibrary/Ebooks/Turkiye ye_Saglik_Raporu_2012.Pdf](http://Halksagligiokulu.Org/Anasayfa/Components/Com_Booklibrary/Ebooks/Turkiye_Saglik_Raporu_2012.Pdf)- (Erişim Tarihi: 15.03.2014).

- Anonim, 2014b. [http://www.diyadinnet.com/YararlıBilgiler933&Bilgi=su-\(Erişim_tarihi:10.7.14\)](http://www.diyadinnet.com/YararlıBilgiler933&Bilgi=su-(Erişim_tarihi:10.7.14))
- Arisue, N., Hashimoto, T., Yoshikawa, H. 2003. Sequence heterogeneity of the small subunit ribosomal RNA Genes among *Blastocystis* isolates. *Parasitology* 126:1-9
- Atabey, E. 2005. Tıbbi Jeoloji. Ankara: TMMOB Jeoloji Mühendisleri Odası Yayınları.
- Atalık, A., 2006, "Küresel Isınmanın Su Kaynakları ve Tarım Üzerine Etkileri". *Bilim Ve Ütopya*, 139: 18-21.
- Ayaz, E. 2015. Samsun Ve Giresun İllerinden Alınan Su Örneklerinde *Cryptosporidium Parvum*'un Moleküler Teknikler Kullanılarak Tespit Edilmesi. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Aycan, Ö.M., Atambay, M., Karaman, Ü., Miman, Ö., Daldal, N. 2008. Malatya'da Gıda İle Uğraşan Bir Şirketin Personelinde Bağırsak Parazitlerinin Araştırılması. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 15(2): 99-10.
- Aysal, S. 2004. Isparta Bölgesindeki Çeşitli Su Kaynaklarında *Cryptosporidium Parvum*, *Giardia Intestinalis*, Entero Hemorrajik, E.coli ve Diğer Entero Patojenlerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta
- Balcı YI, Türk M, Polat Y, Erbil N. 2009. Denizli'deki Çocuklarda İntestinal Parazitlerin Dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*; 33(4): 298 -300.
- Baldo, E.T., Belizario, V.Y., Winifreda, U.L., Kong, H.H., Dong, I.C. 2004. Infection Status Of İntestinal Parasites İn Children Living İn Residential Institutions İn Metro Manila, Philippines. *The Korean Journal Of Parasitology*, 42(2): 67-70..
- Baysal, A. 1989. Genel Beslenme Bilgisi. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
- Benjamin, C.L., Garman, G.R., Funston, J.H. 1997, *Human Biology*, New York. Wcb/Mcgraw-Hill Companies
- Boreham P.F.L., Stenzel D.J. 1993. *Blastocystis* İn Humans And Animals: Morphology, Biology And Epizootiology. *Adv. Parasitol.* 32:1-70.
- Cavalier, S.T. 1998. A Revised six-Kingdoms system Of Life. *Biological Reviews Of The Cambridge Philosophical Society*, 73: 203-266.
- Chen, T.L., Chan, C.C., Chen, H.P., Fung, C.P., Lin C.P., Chan W.L, Liu C.Y. 2003. Clinical Characteristics And Endoscopic Findings Associated With *Blastocystis Hominis* İn Healthy Adults. *American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene*, 69(2): 213-216.
- Çeber, K., Aslan, G., Otağ, F., Delialioğlu, N., Öztürk, C., Babür, C., Babür, C., Emekdaş, G. 2005. Mersin İlindeki İçme Suyu, Kullanma Suyu, Atık Su Ve Deniz Sularında *Cryptosporidium* Spp. Ookistlerinin Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 29(4): 224-22.
- Çelik, T., Daldal, N., Karaman, Ü., Aycan, M.Ö., Atambay, M. 2006. Malatya İli Merkezinde Üç İlköğretim Okulu Çocuklarında Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 30:35-8.
- Çetinkaya, Ü., Yazar, S., Kuk, S., Ateş, S., Hamamcı, B., Gedikbaş, T., Şahin, İ., 2012. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 2009-2010 Yılları Arasında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18: 93-96.

- Dağlı, H., 2005. "İçmesuyu Kalitesi ve İnsan Sağlığına Etkileri" Bizim İller, İller İller Bankası Aylık Yayın Organı. Sayı 3: 16-21.
- Değirmenci, A., Sevil, N., Güneş, K., Yolasığmaz, A., Turgay, N. 2007. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarında 2005 Yılı Boyunca Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 31 (2): 133-135
- Delioglu, B.K. 2012. Yeşilirmak Ve Tersakan Çayı (Samsun-Amasya)'Ndan Alınan Yüzeysel Su Örneklerinde *Cryptosporidium Parvum*'un LAMP Tekniği İle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ordu
- Doğan N, Demirüstü C, Aybey A. 2008; Eskişehir Osmangazi Üniversitesinin Beş Yıllık Bağırsak Paraziti Prevalansının Türlerine Ve Cinsiyetlere Göre Dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 32(2):1205.
- Doğan, N. 1998. Bozan Beldesinde *Blastocystis Hominis* Görülme Sıklığı. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 22(3): 247-250.
- DSÖ, 1996. Guidelines For Drinking Water Quality. 2nd Ed., Vol. I-II, Geneva
- Dunn, L.A., Boreham, P.F.L., Stenzel, D.J.1989. Ultrastructuralvariation Of *Blastocystishominis*stocks İn Culture. International Journal for Parasitology 19:43-56.
- Eroğlu C. 2003.Tüberküloz Tanısında Pcr. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu: 311-6.
- Forsell, J.,Granlund, M., Stensvold, C.R.,Clark, G.C., Evengard, B. 2012. Subtypeanalysis Of Blastocystisisolates in Swedishpatients. Europeanjournal Of Clinical microbiology &Infectious diseases, 31:1689–1696.
- Garcia, L.S, Bruckner, D.A. Diagnostic Medical Parasitology. In: Intestinal Protozoa Amebae. Third Edition American Society For Microbiolgy, Washington DC Press, 1997: 25-30.
- Gödekmerdan, A. 1995.Sağlık Ocağına Başvuran Hastalarda *Blastocystis Hominis*'in Görülme Sıklığı Ve Gastro-İntestinal Şikayetlerle İlişkisi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. 1994. Su Kirliliği. T.C Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Aydoğdu Ofset, Ankara.
- Gülmez, D., Sarıbaş, Z., Akyön, Y., Ergüven, S. 2013. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2003-2012 Yılları Sonuçları: 10 Yıllık Değerlendirme, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 37:97-101.
- Haider, S.S., Baqai, R. 2008. Detection Of *Blastocystis hominis* in humansand poultry. Journal Of Infectious Diseases Of Pakistan, 17: 43-47.
- Haller, L.,Pote', J., Loizeau, J.L., Wildi, W. 2009. Distribution Andsurvival Of Faecalindicatorbacteria İn Thesediments Of The Bay Of Vidy, Lake Geneva. Switzerland. Ecologicalindicators, 9: 540 – 547
- Hamamcı B.2003.*Blastocystis hominis*'in İn Vitro Kültürü Ve Antiprotozoal İlaçların İn Vitro Etkilerinin Araştırılması. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.

- Hareh, K., Suresh, K., Anuar, A.K., Saminathan, S.1999. Isolate Resistance Of *Blastocystis Hominis* To Metronidazole. *Tropical Medicine And International Health* 4(4): 274-7.
- Haviland, W. A., 2002, Kültürel Antropoloji (Çev: Hüsamettin İnaç, Seda Çiftçi). No: 143. Sosyoloji Serisi: 3. İstanbul: Kaktüs Yayınları.
- Himes, J.H. 1991, Anthropometrics Assessment Of Nutritional Status, New York: A John Wileyand Sons. Inc. Publication.
- Hirata T, Nakamura H, Kinjo N, Hokama A, Kinjo F, Yamane N, Fujita J. 2007.Prevalence Of *Blastocystis Hominis* And Strongyloides Stercoralis İnfection İn Okinawa, Japan. *Parasitology Research*. 101:1717-19.
- İnceboz, T., Aksoy, Ü., Akısü, Ç. 2002. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne Başvuranlarda Bağırsak Parazitlerinin Araştırılması. *Türk Parazitoloji Dergisi*, 26: 423-425.
- İnceboz, T., Usluca, S. 2009. *Blastocystis Hominis* Bağırsak Hastalığı İçin Potansiyel Bir Tehlike Olabilir Mi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* Cilt 23, Sayı 1, (Ocak) 2009, S: 37 – 45
- İnceboz, T., Usluca, S., Över, L., Yalçın, G., Tuncay, S., Özkoç, S. 2011. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ne 2005-2009 Yılları Arasında Başvuran Olgularda *Blastocystis Hominis* Epidemiyolojisinin Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 35: 72-76.
- Kaneda, Y., Horik. N., Cheng, X.J., Fujita, Y., Maruyama M, Tachibana H. 2001. Ribodemes Of *Blastocystis Hominis* İolated İn Japan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 65:393-6.
- Karaman, Ü., Kolören, Z., Demirel, E., Ayaz, E., Seferoğlu, O. 2013a. Giresun İlindeki, Sularda Parazitlerin Varlığı. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi,29 Eylül-5Ekim 2013, Denizli.
- Karaman, Ü., Kolören, Z., Seferoğlu, O., Ayaz, E., Demirel., E. 2013b. Samsun İl Ve İlçelerinden Alınan Çevresel Sularda Parazitlerin Varlığı. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi,29 Eylül-5Ekim 2013, Denizli.
- Karanis,P., Sotiriadou, V., Kartashev, C., Kourenti, N., Tsvetkova, K., Stojanova, 2006. Occurrence Of *Giardia And Cryptosporidium* İn Water Supplies Of Russia And Bulgaria. *Enviromental Research*, 102: 260-71.
- Kaya, S., Çetin, E.S., Akçam, Z., Kesbiç, H., Demirci, M. 2005.Entamoebacoli Ve *Blastocystis Hominis* Saptanan Olgularda Klinik Semptomlar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 29(4): 229-231.
- Kaya, S., Çetin, E.S., Aridoğan, B.C., Arikan, S., Demirci, M. 2007. Pathogenicity Of *Blastocystis Hominis*, A Clinical Reevaluation. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31: 184-187.
- Kolören, Z., Avşar, C., Kaya, D. 2012a. Monitoring Of *Cryptosporidium* Species İn Water Supplies Of Sinop, Black Sea, Turkey By Acid-Fast Staining Method. *Journal Of Applied Biological Sciences*, 7(2): 10-13

- Kolören, Z., Demirel, E. 2013b. Investigation On *Toxoplasma Gondii* İn Surface And Drinking Water Samples From Amasya By Nested Polymerase Chain Reaction. Journal Of Applied Biological Sciences, 7 (2): 10-13.
- Kolören, Z., Seferoğlu, O., Delioğlu, B.K.2012b. Yeşilırmak Nehri Ve Tersakan Çayı'ndan (Amasya) Alınan Yüzeysel Su Örneklerinde *Giardia İntestinalis* Yaygınliğının Nested PCR Tekniği İle Tespiti. 2. Ulusal Moleküler Biyoloji Ve Biyoteknoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 15-18 Kasım 2012, Antalya.
- Kolören, Z., Taş, B., Kaya, D. 2011. Gaga Gölü (Ordu, Türkiye)'nün Mikrobiyolojik Kirlilik Seviyesinin Belirlenmesi. Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi The Black Sea Journal Of Sciences, 2(1): 3, 74-85.
- Kolören, Z., Taş, B., Kaya, D. 2011. Gaga gölü (Ordu, Türkiye)'nün Mikrobiyolojik Kirlilik Seviyesinin Belirlenmesi. Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi The Black Sea Journal of Sciences, 2(1): 3, 74-85.
- Koltas, I.S., Özcan, K., Tanriverdi, S., Paydas, Semra, Paydas Saime, Baslamisli,F.1999. The Prevalence Of *Blastocystis Hominis* İn Immuno Supressed Patients. Annals Of Medicaland Health Sciences Research, 8: 117- 119.
- Korkmaz G.2012. Dışkı Örneklerinde *Blastocystis*'in Mikroskopik, Kültür Ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.Yüksek Lisans Tezi.
- Leelayoova S, Siripattanapipong S, Thathaisong U, Naaglor T, Taamasri P, Piyaraj P, 2008. Drinking Water: A Possible Source Of *Blastocystis* Spp. Subtype 1 Infection İn Schoolchildren Of A Ruralcommunity İn Central Thailand. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.; 79(3): 401–6.
- Li, L.H.,Zhou, X.N., Du, Z.W., Wang, X.Z., Wang, L.B., Jiang, J.Y., Yoshikawa,H., Steinmann, P., Utzinger, J., Wu, Z., Chen, J.X., Chen, S.H., Zhang, L. 2007. Molecularepidemiology Of Human *Blastocystis* İn Avillage İn Yunnanprovince, China. Parasitology International, 56:281–286.
- Mohandas, K., Sehgal, R., Sud, A., Malla, N. 2002. Prevalence Of İntestinal Parasitic Pathogens İn HIV-Seropositiveindividuals İn Northernındia. Japanese Journal Of Infectious Diseases, 55: 83-84.
- Nigro L, Larocca L, Massarelli L, Patamia I, Minniti S, Palermo F, Cacopardo B. 2003. A Placebo-Controlled Treatment Trial Of *Blastocystis Hominis* İnfektion With Metronidazole. Journal of Travel Medicine.10:128-30.
- Nimri, L.F., Meqdam, M. 2004. Enteropathogensassociated Withcases Of Gastroenteritis İn A Ruralpopulations İn Jordan. Clinical Microbiology And Infection, 10: 634-639.
- Noel, C., Dufernez, F., Gerbod, D., Edgcomb, V.P., Delgado, V.P., Ho, L.C., Singh, M., Wintjens, R., Sogin, M.L, Capron, M., Pierce, R., Zenner, L., Viscogliosi, E. 2005. Molecular Phylogenies Of Blastocystis İsolates From Differenthosts: İmplications For Geneticdiversity, İdentification Of Species, And Zoonosis. Journal Of Clinical Microbiology, 43:348–355.
- Noel, C., Peyronnet, C., Gerbod, D., Edgcomb, V.P., Delgado, V.P., Sogin, M.L., Capron, M., Viscogliosi, E., Zenner, L. 2003. Phylogenetic Analysis Of Blastocystis İsolates From Differenthostsbased On Thecomparison Of Small-SubunitrRNA Gene Sequences. Molecular And Biochemical Parasitology, 126:119–123.

- Ok, Ü.Z. 2007. Blastocystosis: Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. Editörler: Özcel, M.A., Özbel, Y., Ak, M., İzmir, Meta Matbaa S: 383-386.
- Ok, Ü.Z., Korkmaz, M., Ok G.E., Özkan, A.T., Ünsal, A., Özcel M.A., 1996. Kronik Böbrek Yetmezliğinde Cryptosporodiosis Ve Blastocystosis. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 20: 41-49.
- Öner, B., Öztürk, M. 2009. İçme Suyu Depolarının Temizlenmesi, Dezenfeksiyonu Ve İnsan Sağlığına Etkileri. [Http://Portal.Worldwaterforum5.Org/Wwf5/Enus/Lists/Poster%20presentations/Attachments/19/CLEANING%20AND%20DISINFECTION%20OF%20POTABLE%20WATER%20AND%20EFFECTIONS%20ON%20HUMAN%20HEALTH.Doc](http://Portal.Worldwaterforum5.Org/Wwf5/Enus/Lists/Poster%20presentations/Attachments/19/CLEANING%20AND%20DISINFECTION%20OF%20POTABLE%20WATER%20AND%20EFFECTIONS%20ON%20HUMAN%20HEALTH.Doc). Erişim Tarihi: 30.04.2014
- Örs O.P., Güçlü Y.A., Yılmaz T.T., Öngel K. 2011. Rutin Kontrol Sırasında Saptanan Asemptomatik Bir Olgu: *Blastocystis Hominis* An Asymptomatic Individual Detected During A Routine Control: *Blastocystis Hominis*. Smyrna Tıp Dergisi 43-45.
- Özçağlar, A. 2000. Coğrafyaya Giriş (Sistemik Kavramlar Yöntemler). Ankara.
- Özçakir, O., Güreser, S., Ergüven, S., Yılmaz, Y.A., Topaloğlu, R., Haşçelik, G. 2007. Characteristics Of *Blastocystis Hominis* 'in Fection İn A Turkish University Hospital. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 31: 277-82.
- Özyurt, M., Kurt, Ö., Yaman, O., Ardiç, N., Haznedaroğlu, T 2007. Bir Eğitim Hastanesi Koproloji Laboratuvarında Geçen Dört Yıllık Dönemde Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 31(4):306-308.
- Özyurt, M., Kurt, O., Molbak, K., Nielsen, H.V., Haznedaroglu, T. Stensvold, C.R. 2008. Molecular Epidemiology Of Blastocystis Infections İn Turkey. *International Journal for Parasitology*. 57 (3), 300-306
- Parkar, U., Traub, R.J, Vitali, S., Elliot, A., Levecke, B., Robertson I, Geurden, T., Steele, J., Drake, B., Thompson, R.C. 2010. Molecular Characterization Of Blastocystis Isolates From Zoo Animals And Their Animal-Keeper. *Vetparasitol* 169(1-2):8-17
- Pektaş, B., Gökmen, A.A., İnci, A., Biten, A.A., Keşli, R. 2015. Bir Eğitim Araştırma Hastanesi'nde Üç Yıllık Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı: Retrospektif Bir Çalışma. *Journal Of Clinical And Experimental Investigations*. 6 (3): 269-273
- Poirier P, Wawrzyniak I, Albert A, Alaoui HE, Delbac F, Livrelli V. Development and Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of *Blastocystis* Parasites in Human Stool Samples: Prospective Study of Patients with Hematological Malignancies *Journal of Clinical Microbiology* 2011; 49(3) :975-983.
- Rayan H.Z, İsmail O.A, El Gayar E.K. 2007. Prevalence And Clinical Features Of *Dientamoeba Fragilis* Infections İn Patients Suspected To Have İntestinal Parasitic Infection. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 37:599-608.
- Requena, I., Hernandez, Y., Ramsay, M., Salazar, C., Devera, R. 2004. Prevalence Of Blastocystis Hominis Among Foodhand Lers from Caronimunicipality. Bolivar State, Venezuela. *Cadsaude Publica*, 19(6):1721-7.
- Rhongbutsri, P. 2005. Seasonal Prevalence Of *Blastocystis Hominis* Among Patients attending Thammasat Chalermpraki At Hospital. Pathum Thani Province. *Thailand Journal Of Tropical Medicine And Parasitology*, 28: 39-42.

- Sabuncu, B.S.2014. Blastocystis Spp.'Nin Dışkı Örneklerinde Pcr İle Saptanması. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi
- Saksirisampant, W., Nuchprayoon, S., Wiwanitkit, V., Yenthakam, S., Ampavasiri, A. 2003. Intestinal Parasiticin Festation Samong Children İn An Orphanage İn Pathum Thaniprovince, Journal Of The Medical Association Of Thailand, 86(2): 263-270.
- Santin, M., Munoz, M.T.G., Aguilar, G.S., Fayer, R. 2011. Development Of A New PCR Protocolto Detectand Subtype *Blastocystis* Spp. From Human Sandanimals. Parasitology Research, 109: 205–212
- Scott, T.M., Parveen, S., Portier, K.M., Rose, J.B., Tamplin, M.L., Farrah, S.R., Koo, A., Lukasik, J. 2003. Geographical variation in ribotype profiles of *Escherichia coli* isolates from humans, swine, poultry, beef, and dairy cattle in Florida. Applied and Environmental Microbiology, 69, 1089–1092
- Seferoglu, O., Kolören, Z. 2014. Samsun İli Ve İlçelerinden Alınan Yüzeysel Ve İçme Suyu Örneklerinde *Giardia İntestinalis*'in Nested Peryöntemi İle Araştırılması. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Nisan 2014, Eskişehir
- Seferoğlu, O. ve Kolören, Z. 2012. Ordu İli Melet Irmağı'ndan Alınan Su Örneklerinde *Giardia intestinalis*'in İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) Yöntemiyle Tespit Edilmesi. 21.Ulusal Biyoloji Kongresi. 3-7 Eylül 2012, İzmir, S. 1280.
- Seferoğlu, O., Kolören, Z., Karaman, Ü., Ayaz, E. 2013. Giresun İl Merkezi Ve İlçelerinden Alınan Yüzeysel Su Örneklerinde *Giardia İntestinalis*' İn Nested PZR Yöntemiyle Tespit Edilmesi. 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli.
- Seferoğlu, O. 2014. Samsun Ve Giresun İllerinden Alınan Su Örneklerinde *Giardia intestinalis* 'in Moleküler Teknikler Kullanılarak Tespit Edilmesi. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Silberman, J.D., Sogin, M.L., Leipee, D.D., Clark, C.G., 1996. Human Parasitefinds Taxonomichome. Nature, 380: 398.
- Singh, M., Suresh, K., Ho, L.C., Ng, G.C., Yap, E.H. . 1995 Elucidation Of The Life Cycle Of The İntestinal Protozoan *Blastocystis Hominis*. Parasitology Research;81:446-50.
- Stensvold, C.R., Alfellani, M.A., Norskov, L.S., Prip, K., Victory, E.L., Maddox, C., Nielsen, H.V., Clark, C.G. 2009. Subty Pedistribution Of Blastocystis İsolates From Synan Thropicand Zooanimals And İdentification Of A New Subtype. International Journal For Parasitology, 39: 473–479.
- Stensvold, C.R., Suresh, G.K., Tan, K.S.W., Thompson, R.C.A., Traubr,V. E., Yoshikawa, H., Clark, C.G. 2007. Terminology For Blastocystis Subtypesa Consensus. Trends Parasitology, 23: 93–96.
- Stenzel DJ, Boreham PFL, McDougall R. 1991.Ultrastructure of *Blastocystis hominis* in human stool samples. International Journal for Parasitology; 21: 807–812
- Stenzel, D.J. ,Boreham, R.E., 2001. Blastocystis. Editörler: Gilleppe, S.H., Pearson, R.D. Principlesand Practise of Clinical Parasitology. John Wiley&Sons Ltd. S:355-368.
- Stenzel, D.J., Boreham, P.F.L. 1996. *Blastocystis Hominis* Revisited. Clinical Microbiology Reviews, 9: 563-584

- Suresh K, Howe J, Ng GC, Ho LC, Ramachandran NP, Loh AK, Yap EH, Singh M. 1994. A Multiple Fission-Like Mode of Asexual Reproduction In *Blastocystis Hominis*. Parasitology Research.;80:523-527.
- Suresh K, Ng GC, Ramachandran NP, Ho LC, Yap EH, Singh M.1993. In vitro encystment and experimental infections of *Blastocystis hominis*. Parasitology Research 79: 456-60.
- Tan KSW, Singh M, Yap EH.2002. Recent Advances In *Blastocystis Hominis* Research: Hot Spots In Terra Incognita. International Journal For Parasitoloji; 32: 789–804.
- Tan, K.S. 2008. New Insights On Classification, Identification, And Clinical Relevance Of Blastocystis Spp. Clinical Microbiology Reviews 21: 639–665.
- Tan, K.S.W., Ng, G.C., Quek, E., Howe J, Ramachandran, N.P., Yap, E.H, Singh, M. 2000. *Blastocystis Hominis*: A Simplified, High-Efficiency Method For Clonal Growth On Solid AgarExperimental Parasitology 96:9-15.
- Tasova, Y., Sahin, B., Koltas, S., Paydas, S. 2000. Clinical Significance And Frequency Of *Blastocystis Hominis* in Turkish Patients With Hematological Malignancy. Acta Medica Okayama; 54: 133-136.
- Termmathurapoj, S., Leelayoova, S., Aimpun, P., Thathaisong, U.,Nimmanon, T., Taamasri, P., Mungthin M. 2004. The usefulness of short-term in vitro cultivation for the detection and molecular study of *Blastocystis hominis* in stool specimens. Parasitology Research. 93:445-447.
- Terzi, G. 2005. Gıda Kaynaklı Protozoon Enfeksiyonların İnsan Sağlığı Açısından Önemi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16(2):47-55.
- Thathaisong,U., Siripattanapipong, S., Mungthin, M., Pipatsatitpong, D., Tan-Ariya, P., Naaglor, T., Leelayoova, S. 2013. Identification Of Blastocystis Subtype1 Variants In The Home For Girls, Bangkok, Thailand. The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene_ Feb;88(2):352-8
- Uyar, Y., Özkan, T.A. 2009. Amebiyazis, Giardiyazis ve Kriptosporidiyazis Tanısında Antijen Tarama Yöntemlerinin Yeri. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 33(2): 140-150.
- Uysal, HK., Akgül, Ö., Purisa, S., Öner, YA. 2013. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nde 25 Yıllık İntestinal Parazit Prevalansı: Retrospektif Bir Çalışma, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 38: 97-101.
- Wilkes, G., Thomas, Edge, T., Gannon, V., Jokinenc, C., Lyautey, E., Medeiros, D., Neumann, N., Ruecker, N., Topp, E., R. Lapen, D. 2009. Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenicbacteria, *Cryptosporidium* oocysts, Giardia cysts, andhydrological indices for surface waters within an agricultural landscape. Water Research, 43: 2209–2223.
- Yaicharoen, R.,Ngrenngarmert, W., Wongjindanon, N., Sripochang, S., Kiatfuengfoo, R. 2006. Infection of *Blastocystishominis* in primary school children from Nakhon Pathom province Thailand,Tropical Biomedicine, 23,117-22.
- Yakoob, J., Jafri, W., Beg, M.A., Abbas, Z., Naz, S., Islam, M. 2010. *Blastocystis Hominis* And *Entamoeba Fragilis* In Patients Fulfillingirri Table Bowelsyndrome Criteria. Parasitology Research, 107: 679-84.

- Yaman, O., Yazar, S., Özcan, H., Çetinkaya, Ü., Gözkenç, N., Ateş, S., Şahin, İ. 2008. 2005-2008 Yılları Arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 32(3):266-270.
- Yantıra, T. N. 2013. *Blastocystis* Türlerinde Pirosekans Yöntemiyle Alttür Belirlenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Yoshikawa H, Yoshida K, Nakajima A, Yamanari K, Iwatani S, Kimata I 2004. Fecal-Oral Transmission Of Thecyst Form Of *Blastocystis Hominis* In Rats. *Parasitology Research* 94:391–396
- Yoshikawa, H., Wu, Z., Pandey, K., Pandey, B.D., Sherchand, J.B., Yanagi, T., Kanbara H. 2009. Molecular Characterization Of *Blastocystis* Isolates From Children And Rhesus Monkeys In Katmandu. *Veterinary Parasitology*, 160: 295–300.
- Yumuturuğ, S., 1988. Halk Sağlığı Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 64, Ankara, 225
- Zaman, V., Howe, J., Ng M.L. 1995. Ultrastructure Of *Blastocystis Hominis* Cyst. *Parasitology Research* 81: 465-469.
- Zierdt CH, Tan H. 1976. Ultrastructure And Light Microscope Appearance Of *Blastocystis Hominis* In Patient With Enteric Disease. *Z. Parasitenkunde* 50:277-283.
- Zierdt CH, Zierdt WS, Nagy B. 1995. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay For Detection Of Serum Antibody To *Blastocystis Hominis* In Symptomatic Infections. *International Journal for Parasitology*.;81:127
- Zierdt, C.H, Tan, H.K. 1976 Ultrastructure And Light Microscope Appearance Of *Blastocystis Hominis* In A Patient With Enteric Disease. *Z. Parasitenkd*; 50: 277–283.
- Zierdt, C.H. 1991. *Blastocystis Hominis* Past And Future. *Clinical Microbiology Reviews*, 4: 61–79.
- Zuckerman MJ, Watts MT, Ho H, Meriano FV. 1994. *Blastocystis hominis* infection and intestinal injury. *The American Journal of the Medical Sciences*.308: 96–101.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Berivan Başak GÜLABİ
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 01.03.1990
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : bbasakgulabi@gmail.com
İletişim Bilgileri : 0 531 964 63 22

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	
Lisans	Biyoloji	Ordu Üniversitesi	2009-2013
Y. Lisans	Biyoloji	Ordu Üniversitesi	2013-2016

BİLİMSEL AKTİVİTELER

Ulusal ve Uluslararası Kongrelerde Yayımlanmış Poster Bildiriler

Elif Demirel, Zeynep Kolören, Başak Gülabi, Ülkü Karaman 2014. Samsun İl ve İlçelerinden Alınan Yüzeysel ve İçme Suyu Örneklerinde *Toxoplasma gondii*'nin İlmiğe Dayalı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) Metodu ile Tespiti. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Nisan 2014, Eskişehir.

Ülkü KARAMAN, Zeynep KOLÖREN, Berivan Başak Gülabi 2015. Formol ile Tespit Edilmiş Dışkı Örneklerinde Moleküler Yöntemler Kullanılarak *Blastocystis* spp.'nin ve *Giardia intestinalis* pozitifliğinin Araştırılması. 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi & Uluslararası Katılımlı Ekinokokkozis Sempozyumu. 5-9 Ekim 2015, Erzurum.

Zeynep Kolören, Berivan Başak Gülabi 2015. Sinop İlinden Alınan Deniz Suyu Örneklerinde *Giardia intestinalis*'in Nested PZR Yöntemiyle Tespit Edilmesi. Ekoloji 2015 Sempozyumu. 6-9 Mayıs 2015, Sinop.

Zeynep Kolören, Berivan Başak Gülabi 2016. Investigation of *Blastocystis* spp. In sea water samples collected from Sinop Province by PCR. Second Symposium on EuroAsian Biodiversity. 23-27 Mart 2016, Antalya.

Zeynep Kolören, Berivan Başak Gülabi, Ülkü Karaman 2015. Samsun İli ve İlçelerinden Alınan Çevresel Su Örneklerinde *Blastocystis* spp. 'in PZR Yöntemiyle Tespit Edilmesi. 1st International Blastocystis Symposium. 28-29 Mayıs 2015, Ankara.

