

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

GASTROİNTESTİNAL ŞİKAYETİ OLAN HASTALARDA
***DIENTAMOEBİ FRAGİLİS*'İN ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan
Eda SİVCAN

Danışman
Prof. Dr. İzzet ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2015
KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

GASTROİNTESTİNAL ŞİKAYETİ OLAN HASTALARDA
***DIENTAMOEBİ FRAGİLİS*'İN ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan
Eda SİVCAN

Danışman
Prof. Dr. İzzet ŞAHİN

Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2015-5707 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Ağustos 2015
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgileri, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Eda SİVCAN

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

**“Gastrointestinal Şikayeti Olan Hastalarda *Dientamoeba fragilis*’in Araştırılması”
Adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma
Yönergesi’ne Uygun Olarak Hazırlanmıştır.**

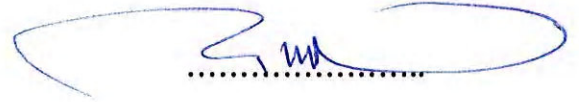
Hazırlayan**Eda SİVCAN****Danışman****Prof. Dr. İzzet ŞAHİN****Anabilim Dalı Başkanı****Prof. Dr. Süleyman YAZAR**

Prof. Dr. İzzet ŞAHİN danışmanlığında Eda SİVCAN tarafından hazırlanan “**Gastrointestinal Şikayeti Olan Hastalarda *Dientamoeba fragilis*’in Araştırılması**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

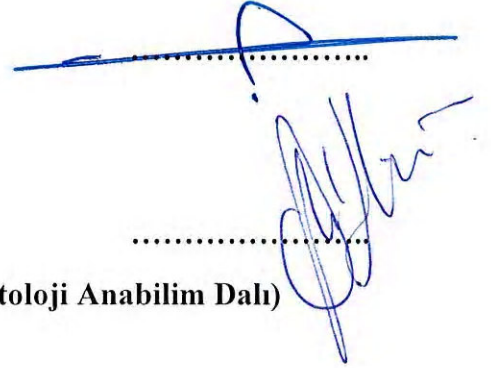
19/08/2015

JÜRİ**İmza**

Danışman : Prof. Dr. İzzet ŞAHİN
(Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)



Üye : Prof. Dr. Süleyman YAZAR
(Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)



Üye : Doç. Dr. Özlem MİMAN
(Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı)

**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tıbbi parazitoloji Anabilim Dalında lisansüstü eğitimim boyunca, desteğini hissettiğim çalışmalarına büyük bir özveri ile katkıda bulunan tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. İzzet Şahin'e,

Lisansüstü eğitimim boyunca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, akademik bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarına büyük bir özveri ile gerek manevi gerekse bilimsel desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Süleyman YAZAR ve Prof. Dr. Salih KUK'a,

Tezimin laboratuvar çalışmalarında beni yalnız bırakmayan bana yardımcı olan desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Şirin Sahra CEYLAN, Arzuv CHARYYEVA, Tuba ŞABANOĞLU, diğer lisansüstü öğrencilerine ve parazitoloji çalışanlarına,

İstatiksel çalışmalarda yardımcı olan Doç.Dr. İskender GÜN'e,

Çalışma süresince TYL-2015-5707 kodlu proje ile maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeler Birimi'ne,

Büyük bir fedakarlık ve anlayışla her konuda olduğu gibi yüksek lisans eğitimim boyunca da beni destekleyen ve yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için değerli aileme teşekkür ederim.

Eda SİVCAN
KAYSERİ, Temmuz 2015

GASTROİNTESTİNAL ŞİKAYETİ OLAN HASTALARDA *DIENTAMOEB* *FRAGILIS*'İN ARAŞTIRILMASI

Eda SİVCAN

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Parazitoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2015

Danışman: Prof. Dr. İzzet ŞAHİN

ÖZET

Bu çalışmada; gastrointestinal şikayeti olan hastalarda *D.fragilis*'in farklı tanı yöntemleri ile yaygınlığının araştırılması ve tanıda kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya çeşitli kliniklerden gelen ve gastrointestinal şikayeti olan 101 hastanın dışkı örneklerinin incelenmesinde Robinson kültür, demir hematoksilin boyama, trikrom boyam, PCR ve Real-Time PCR yöntemleri kullanılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarından oluşan 121 dışkı örneği nativ-lügol yöntemi ile incelenmiştir. Dışkı örneklerinin robinson besiyerine kültürü yapılmıştır. Kullanılan boyama yöntemleri, PCR ve Real-Time PCR yöntemleri ile araştırma grubunda ve kültür grubunda Dientamoeba bakımından pozitiflik oranları belirlenmiştir. Hasta grubunun 13'ü (%10,7) demir hematoksilin boyamayla, 2'si (%1,7) ise trikrom boyamayla, PCR yöntemi ile 7'si (% 5,7), Real-Time PCR ile 13'ü (%10,7) pozitif olarak tespit edilmiştir. İncelemesi yapılan kültür örneğinden 7'si (%5,8) demir hematoksilin boyamayla, 4'si (%3,3) trikrom boyamayla, PCR yöntemiyle 2'si (%1,7), Real-Time PCR'da 3'ü (%2,5) pozitif olarak tespit edilmiştir. Demir hematoksilin boyama sonucunda, ishali dışkılarda pozitif örneğe rastlanmazken, ishali olmayan örneklerin 13'ü (%10,7) pozitif bulunmuştur. İshali dışkıların trikrom boyama yöntemi ile boyanması sonucunda pozitif örneğe rastlanmamıştır. İshali olmayan dışkılarda ise trikrom boyamayla 2'si (%1,7) pozitif bulunmuştur. PCR yöntemi ile ishali dışkıların 1'i (% 1) pozitifken, ishali olmayan dışkıların 6'sı (% 4,9) pozitif bulunmuştur. Real-Time PCR yönteminde ise ishali dışkılarda pozitif örneğe rastlanmazken, ishali olmayan dışkılardan 13'ü (%10,7) pozitif olarak tespit edilmiştir. İncelenen dışkı örneklerinde Real-Time PCR yöntemi esas alınarak yapılan sensivite ve spesifite değerleri sırasıyla demir hematoksilinde %46 ve %93, trikrom boyamada %0 ve %99, PCR'da %54 ve %100 olarak bulunmuştur. Real-Time PCR yöntemi esas alınarak yapılan kültür örneklerine ait sensivite ve spesifite değerleri sırasıyla; demir hematoksilinde %67 ve %96, trikrom boyamada %33 ve %98, PCR'da %67 ve %100 olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Dientamoeba, *D.fragilis*, Tanı, Kayseri

INVESTIGATION OF *DIENTAMOEBIA FRAGILIS* IN PATIENTS WITH GASTROINTESTINAL SYSTEM COMPLAINTS

Eda SIVCAN

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Parasitology

Master Thesis, July 2015

Supervisor: Prof. Dr. Izzet SAHIN

ABSTRACT

In this study; we aimed that investigate the prevalence of *D.fragilis* with different diagnostic methods in patients with gastrointestinal symptoms and determine the sensitivity and specificity of this diagnostic methods have been used. 101 patients who were coming from various clinics and had gastrointestinal complaints were included and fecal samples examined with Robinson culture, iron hematoxylin staining, trichrome dye, PCR and Real-Time PCR methods. Patients and the control groups consisting of 121 stool samples were examined by native-iodine method. Stool samples that examined were cultured with Robinson medium. Positivity rate of the research group and culture group was determined using the dyeing methods, PCR and Real-Time PCR. 13 patients (10.7%) with iron hematoxylin staining, 2 patients (1.7%) with trichrome staining, 7 patients (5.7%) by PCR and 13 patients (10.7%) by Real-Time PCR were positive. Culture samples were positive with iron hematoxylin staining, trichrome staining, PCR and Real-Time PCR 7 (5.8%),4 (3.3%), 2 (1.7%), 3 (2.5%) rates, respectively. While diarrheal stool samples were not found as positive with iron hematoxylin staining, 13 samples of non-diarrheal stool samples (10.7%) were positive. Diarrheal stool samples with trichrome staining method were not identified any positive samples, as 2 (1.7%) of non-diarrheal stool samples were found positive. 1 (1%) of the diarrheal stools were identified as positive, while 6 (4.9%) of non-diarrheal stools were positive by PCR. The diarrheal stools were not positive, while 13 (10.7%) of non-diarrheal stools were positive by Real-Time PCR. Sensitivity and specificity were found to be values of 46% and 93% in iron hematoxylin staining, 0% and 99% in trichrom staining, 54% and 100% by PCR at examined stool samples based on Real-Time PCR method. Sensitivity and specificity were found to be values of 67% and 96% in iron hematoxylin staining, 33% and 98% in trichrom staining, 67% and 100% by PCR at culture samples based on Real-Time PCR method.

Key Words: Dientamoeba, *D.fragilis*, Diagnosis, Kayseri

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	iii
ONAY	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR.....	x
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. TARİHÇE ve SİSTEMATİK.....	3
2.2. MORFOLOJİ.....	5
2.3. HAYAT DÖNGÜSÜ.....	6
2.4. EPİDEMİYOLOJİSİ.....	7
2.4.1. Hastalığın Bulaşması ve Bulaşma Yolları	7
2.4.2. Dünyadaki Dağılımı	9
2.4.3. Türkiye'deki Dağılımı	9
2.5. PATOGENEZ VE KLİNİK BELİRTİLER	10
2.6. TANI.....	10
2.7. TEDAVİ.....	12
2.8. KORUMA VE KONTROL.....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI.....	14
3.2. ÖRNEKLERİNİN KONVANSİYONEL YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ	14
3.2.1. PVA Fiksatifinin Hazırlanışı.....	15

	Sayfa No
3.2.1.a. Modifiye Schaudinn Fiksativ	15
3.2.1.b. PVA Karışımı	15
3.2.2. SAF Fiksativinin Hazırlanışı	15
3.2.3. Robinson Kültürü	16
3.2.3.a. Pirinç Nişastasının Hazırlanışı	16
3.2.3.b. Robinson Besiyeri	16
3.2.3.d. Dışkı Ekimi	17
3.2.4. Boyama Yöntemleri	18
3.2.4.1. Demir Hematoksilen Boyama (DHB) Yöntemi	18
3.2.4.2. Trikrom Boyama (TB) Yöntemi	19
3.3. MOLEKÜLER YÖNTEMLER	21
3.3.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu	21
3.3.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)	22
4.BULGULAR	26
4.1.DIŞKI ÖRNEKLERİN KONVENSİYONEL YÖNTEMLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ	26
4.2.DIŞKI ÖRNEKLERİNİN <i>DİENTAMOEBA FRAGİLİS</i> AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ	27
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	39
6.KAYNAKLAR	44
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

µl:	Mikrolitre
AIDS:	Acquired Immune Deficiency Syndrome
bç:	Baz çifti
<i>D.fragilis:</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i>
DHB:	Demir Hematoksilen Boyama
dk:	Dakika
EIA:	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
g:	Gram
GIS:	Gastrointestinal Sistem
HgCl₂:	Civa klorür
HIV:	Human Immunodeficiency Virus
IBD:	Inflammatory bowel disease
IBS:	Irritable bowel syndrome
kg:	Kilogram
MBD:	Modified Boeck ve Drbohlav's Medium
mg:	Miligram
MIF:	Mertiyolat-Iyot-Formol
ml:	Mililitre
mM:	Milimolar
PCR:	Polymerase Chain Reaction
PVA:	Polivinil Alkol
SAF:	Sodyum Asetat-Asetik Asit-Formol
SSU rDNA:	Small-Subunit Ribosomal deoxyribonucleic acid
TB:	Trikrom Boyama
UPL:	Universal Probe Library

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1 2012 yılında Hastalık Kontrol Merkezi tarafından <i>Dientamoebiasis</i> 'in tedavisi için önerilen tedavi seçenekleri listesi	13
Tablo 3.1 <i>D.fragilis</i> 'i belirlemek için PCR' da kullanılan primerler	22
Tablo 3.2 PCR reaksiyonu için kullanılan bileşenler ve miktarları	23
Tablo 3.3 Amplikasyon için gerekli PCR şartları	23
Tablo 3.4 Real-Time PCR reaksiyonu için kullanılan bileşenler ve miktarları	24
Tablo 3.5 Amplikasyon için gerekli Real-Time PCR şartları	25
Tablo 4.1 Dışkı örneklerinde nativ-lügol yöntemi ile belirlenen parazitlerin; hasta grubu, kontrol grubu ve ishal durumuna göre dağılımı	27
Tablo 4.2 Farklı tanı yöntemleri ile elde edilen <i>D.fragilis</i> pozitifliğinin araştırma grubuna göre dağılımı	28
Tablo 4.3 Farklı tanı yöntemleri ile elde edilen <i>D.fragilis</i> pozitifliğinin kültür grubuna göre dağılımı	32
Tablo 4.4 Farklı tanı yöntemleri ile elde edilen <i>D.fragilis</i> pozitifliğinin ishal durumuna göre dağılımı	36
Tablo 4.5 Araştırma grubuna ait demir hematoksilen, trikrom boyama, PCR ve Real-Time PCR yöntemlerinin sensitivite ve spesifiteleri	37
Tablo 4.6 Kültür grubuna ait demir hematoksilen, trikrom boyama, PCR ve Real-Time PCR yöntemlerinin sensitivite ve spesifiteleri	37
Şekil 2.1 <i>Dientamoeba fragilis</i> ' in trofozoit formu	6
Şekil 2.2 <i>Dientamoeba fragilis</i> ' in hayat döngüsü	7
Şekil 3.1 <i>D.fragilis</i> 'in tanısında kullanılan primer ve prob	24
Şekil 4.1 Demir hematoksilen boyama sonucu dışkı örneklerinde tespit edilen <i>Dientamoeba fragilis</i> 'in görüntüsü	29
Şekil 4.2 Trikrom boyama sonucu tespit edilen <i>Dientamoeba fragilis</i> 'in görüntüsü	30
Şekil 4.3 PCR yöntemi ile <i>Dientamoeba fragilis</i> açısından pozitif olarak belirlenen bazı örneklerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü.	31

Sayfa No

Şekil 4.4 Dışkı örneklerinde <i>Dientamoeba fragilis</i> SSU rRNA gen bölgesini hedef alan prob bazlı Real-Time PCR sonuçları	31
Şekil 4.5 Demir hematoksilin boyama sonucu kültür örneklerinde tespit edilen <i>Dientamoeba fragilis</i> 'in görüntüsü	33
Şekil 4.6 Trikróm boyama sonucu kültür örneklerinde tespit edilen <i>Dientamoeba fragilis</i> 'in görüntüsü	34
Şekil 4.7. PCR yöntemi ile <i>Dientamoeba fragilis</i> açısından pozitif olarak belirlenen bazı kültür örneklerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü.	35
Şekil 4.8 Kültür örneklerinde <i>Dientamoeba fragilis</i> SSU rRNA gen bölgesini hedef alan prob bazlı Real-Time PCR sonuçları	35

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Dientamoeba fragilis insanların kalın bağırsağında yaşayan, psödopodlarıyla hareket eden, amibe benzeyen patojen bir bağırsak protozoonudur (1).

Dientamoeba fragilis'in dış ortamda hayatta kalması için kist formunun bulunması gerektiği düşünülürken, bu zamana kadar pseudokist, prekist ve kist için yapılan denemler başarısız olmuş ve kist formu olmayan parazit olarak kabul edilmiştir. Kist formu olmadığı için bulaşın besin-su bulaşından ziyade fekal-oral yolla olduğu düşünülmektedir (2). Aynı zamanda da bulaşın *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura* ve *Ascaris lumbricoides* gibi helmint yumurtaları vasıtasıyla da bulaşabileceği düşünülmüştür (3).

Bu parazit ile enfekte bireylerde en sık görülen belirtiler; karın ağrısı, şişkinlik, yorgunluk, iştahsızlık, ishal ve bulantı olmakla birlikte eozinofilinin de görülebileceği bildirilmiştir (4-7).

Dientamoeba fragilis'in dünyadaki prevalansı kullanılan tanı yöntemine göre %0,3-%52 arasında değişiklik göstermektedir (18,20,21). *D. fragilis*'i sadece taze dışkılarda değil boyama yöntemi ile bile teşhis etmek zordur (9).

Dientamoeba fragilis'in belirlenmesinde kullanılan en yaygın boyama yöntemi demir-hematoksilen ve trikrom boyama yöntemidir (10). Boyama yöntemi öncesinde trofozoitler hızlı bir şekilde dejenere olduğu için dışkının uygun fiksatiflerle fikse edilmesi gerekmektedir (11).

Dientamoeba fragilis'in tanımlanmasında ksenik kültür yöntemleri kullanılmaktadır. Ksenik kültür yöntemleri içerisinde Boeck ve Drbohlav besiyeri, Robinson besiyeri, Dobell ve Laidlow besiyeri, Cleveland-Collier besiyeri, Balamuth besiyeri ve TYGM-9 besiyeri yer almaktadır (10).

Konvansiyonel tanı yöntemlerinin yanı sıra moleküler tanı yöntemi olarak PCR ve Real-Time PCR yöntemleri kullanılmaktadır. Real-Time PCR yönteminin konvansiyonel yöntemlerden daha hassas ve spesifik olduğu görülmüştür (12).

Bu çalışmada; gastrointestinal şikayeti olan hastalarda, önceleri patojen olmadığı düşünülen fakat bugün patojen olduğu bilinen, akut veya kronik GİS hastalık sebebi olan *D.fragilis*'in farklı tanı yöntemleri ile yaygınlığının araştırılması ve tanıda kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE ve SİSTEMATİK

Dientamoeba fragilis, ilk kez 1907 yılında Wenyon adlı bir İngiliz mikrobiyolog tarafından parazitolojik preparatlarda gözlenmiştir (13). 1918 yılında, Jepps ve Dobell adlı araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır (14).

Jepps ve Dobell adlı araştırmacılar, bu parazitin yeni bir tür ve aynı zamanda yeni bir cins olduğunu savunmuş, iki nükleuslu formunun bulunduğunu ve kist şekline sahip olmadığını tespit etmişlerdir. *Dientamoeba fragilis*'i Entamoebidae familyası içerisinde sınıflandırmışlardır (2).

Dobell, ışık mikroskobu, boyama ve kültür tekniklerini kullanarak, *D.fragilis*'in amoeboflagellat olan *Histomonas meleagridis*'e yapısal olarak benzerliklerini farketmiştir. 1953 yılında, *D.fragilis* Entamoebidae familyasından çıkarılmıştır ve *Histomonas meleagridis*'in de içinde yer aldığı Dientamoebidae familyası içinde sınıflandırılmıştır (11).

Çalışmalarda kullanılan immünoelektroforez teknikleri ile Trichomonas, Histomonas ve Dientamoeba arasındaki immünolojik ilişkiler incelendiğinde, bu üç parazitin birbiriyle yakın antijenik ilişkisi olduğu gözlenmiştir (11).

1974 yılında, elektron mikroskobu kullanarak, *D.fragilis* ve Histomonas arasında çarpıcı benzerlikler bulunmuştur ve Dientamoeba'nın taksonomik konumu yeniden düzenlenmiştir (15).

1980 yılında Dientamoeba, Histomonas, Monocercomonas ve Trichomonas ile birlikte Trichomonadida takımı içinde yeniden sınıflandırılmıştır. Trichomonadida ve Hypermastigida ise Parabasabidea üst takımı içinde gruplandırılmıştır (16).

1996 yılından sonra moleküler teknikler Dientamoeba taksonomik konumunu belirlemek için, geleneksel markırlara alternatif olarak kullanılmaya başlamıştır (17).

Silberman ve ark. (17), birçok trichomonad grupları ve çeşitli ökaryotların SSU rDNA sekanslarının tamamı göz önüne alındığında, *D.fragilis*'le diğer parabazal flagellatların benzerlik gösterdiğini kanıtlamışlardır.

Mikroskopi, antijen analizleri ve *D.fragilis*'in SSU rDNA moleküler karakterizasyonu ele alındığında, trichomonad olan *H. meleagridis* ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Günümüzde tüm deliller, *D.fragilis*'in yaşam döngüsünün tüm aşamalarında kamçı ve kinetozomunu kalıcı olarak kaybetmiş bir Trichomonad olduğunu göstermektedir (11).

D.fragilis'e ait bugün hala kullanımda olan sınıflandırma şu şekilde yapılmaktadır (11).

Alem: Protista

Altalem: Protozoa

Şube: Sarcomastigophora

Altşube: Mastigophora

Sınıf: Zoomastigophora

Takım: Trichomonadida

Aile: Monocercomonadidae

Cins: Dientamoeba

Tür: *Dientamoeba fragilis*

2.2. MORFOLOJİ

Dientamoeba fragilis, 4-20 µm arasında değişen bir pleomorfik trofozoite sahiptir. Kültürde (20 µm- 40µm) çok daha büyük boyutları tespit edilmiştir (2). *D.fragilis*'in çekirdeği nativ-lügol yöntemi kullanılarak hazırlanan preparatlarda görülmez iken, besin vakuolü veya inklüzyon cisimcikleri görülebilir (11).

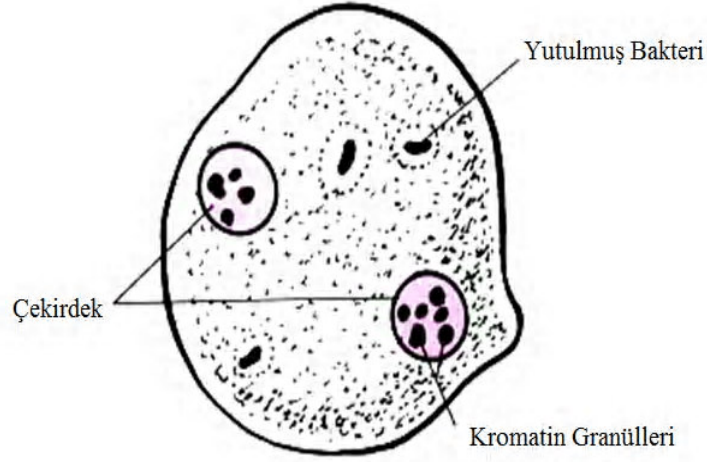
Sitoplazması ince granüler yapıya sahiptir ve sitoplazma içinde bakteri veya maya bulunan çok sayıda besin vakuolu yer alabilir (Şekil 2.1). Hem taze dışkı örneklerinde hem de kültürde, pseudopodlarının yardımıyla *D.fragilis* hareketli olarak gözlemlenebilir (10).

Çekirdek zarında periferik kromatin görülmezken, çekirdekçik tipik olarak oldukça geniş ve merkezi yerleşimli genellikle dört ila sekiz granülden meydana gelmektedir (10,11).

Dientamoeba fragilis trofozoitleri kalıcı boyalı preparatlarda %60-80 oranında iki, %20-40 oranında bir çekirdekli (11). *D.fragilis*'in iki çekirdekli formu en sık gözlenen formudur. *D.fragilis*'in tek çekirdekli trofozoitleri ise genellikle ikiye bölünme işlemi esnasında görülür ve iki çekirdekli formundan daha küçük yapıya sahiptir (2). Ancak daha az sıklıkta görülmekle birlikte, bazı trofozoitler en fazla dört ya da beş çekirdekli olabilmektedir. Çekirdeklerin çapı trofozoit büyüklüğüne bağlı olarak 1-3 µm arasında değişiklik göstermektedir (2).

İki çekirdek arasında uzanan ve aynı zamanda polar komplekslerden kökenlenen yapılar bulunmaktadır. Bu yapılar hypermastigotlar olarak tanımlanan atractophoreslerin homologudur. Parabazal filamentler atractophoresin dış yüzeyine yanal olarak uzanır. Bu parabazal yapı trichomonad ve hypermastigotlarda görülen parabazal yapıyla benzerlik göstermektedir. Golgi kompleksi ise bu parabazal filamentlerin üzerini örtmektedir (2).

Kromatin cisimciği veya granüller çekirdek plazmasında görülmektedir ve çekirdek zarı iki membrandan oluşmaktadır. Granüler halde bulunan sitoplazma içerisinde, fagositozla hücre içerisine myelin, bakteriler ya da pirinç nişastası bulunabilmektedir ve atık ürünler ise ekzositoz yoluyla hücre dışına salınmaktadır (2).



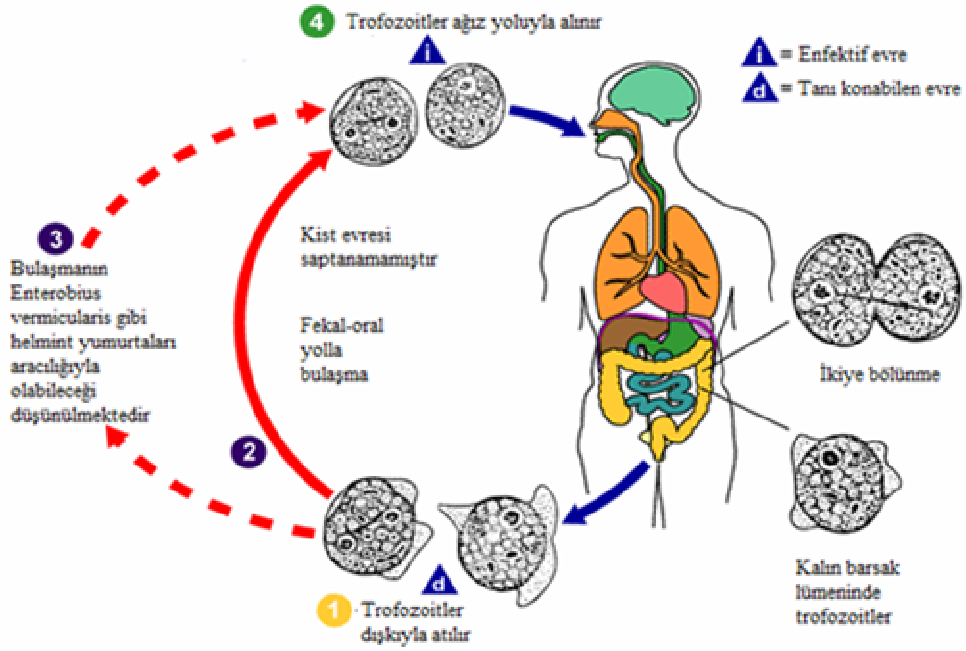
Şekil 2.1: *Dientamoeba fragilis*' in trofozoit formu (75)

2.3. HAYAT DÖNGÜSÜ

Dientamoeba fragilis'in monoksen (tek konaklı) bir parazit olduğu ve yaşadığı tek konağın insan olduğu düşünülmektedir. *D.fragilis*'in Habeş maymunu, şempanze, goril ve koyunlarda yetiştirilmesi denenmiş olsa da henüz uygun bir hayvan modeli bulunamamıştır (10).

Kist şekli bulunmayan bir organizmanın insandan insana bulaşı trofozoit şeklinin fekal-oral yolla alınmasıyla olmaktadır. Trofozoit şekilleri dış ortama dayanıklı değildir ve kolayca parçalanabilmektedir. Adını bu kırılabilir ve hassas yapısından almaktadır (10).

Parazit insan vücudunda çekum veya kalın bağırsak lümenine yerleşerek dientamoebiosis neden olmaktadır (10).



Şekil 2.2: *Dientamoeba fragilis*' in hayat döngüsü (72)

- 1- Trofozoitler dışkı ile dışarı atılır.
- 2- Bulaş fekal-oral yolla gerçekleşir (Kist evresi saptanamamıştır).
- 3- Bulaş aynı zamanda *E.vermicularis* gibi helmint yumurtaları aracılığıyla olabilmektedir.
- 4- Trofozoitlerin ağız yolu ile alınmasıyla bulaş gerçekleşir.

2.4. EPİDEMİYOLOJİSİ

Dientamoeba fragilis ilk kez 1918 yılında tanımlanmasına rağmen dünyada bu paraziti üzerine yapılan çalışmalar oldukça azdır. *D.fragilis* çok farklı insidanslarda görülmektedir ve bu oran kullanılan yöntemlere göre değişiklik göstermektedir. Enfeksiyon hem ekonomik gelişmekte olan hem de sanayileşmiş ülkelerde oldukça yaygındır (34).

2.4.1. Hastalığın Bulaşması ve Bulaşma Yolları

Kist formunun olmaması genellikle direkt fekal-oral bulaşmayı akla getirmektedir (24). Dobell, kültüre edilmiş *D.fragilis* trofozoitlerini oral yolla alarak kendi dışkısında paraziti görmeyi amaçlamıştır; fakat dışkısında parazite rastlamamıştır (25). İnsan olmayan primatlarda da enfeksiyon aynı şekilde başarısız olmuştur. Bunun üzerine Dobell, hindilerin paraziti olan ve kist şekli bulunmayan, fakat bir kuş nematodu olan

Heterakis gallinae'nin yumurtaları ile taşınan Histomonas ile Dientamoeba'nın benzerlik gösterebileceğini dile getirmiştir. *D.fragilis*'in insan nematod yumurtası ile taşınabileceğini söylemiştir. Histomonas ile Dientamoeba arasında ki bu benzerlik small subunit ribosomal RNA (17) ve son zamanlarda ise aktin ve elongation factor 1 α sekanslarının filogenetik analizleri sonucunda doğrulanmıştır (26).

Dientamoeba fragilis'in Trichuris, Ascaris ve Enterobius yumurtası aracılığıyla taşınabileceği öne sürülmüştür ve bu parazitler arasında ise Enterobius'un özellikle çocuklar arasında sık görülmesiyle parazitin taşınmasında daha önemli bir vektör olduğu bildirilmektedir (27).

Röser ve ark. tarafından kıl kurdu yumurtalarında *D.fragilis*'e ait DNA'nın olup olmadığının araştırılmıştır. Bireysel yumurtalardan DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra *D.fragilis* ve *E.vermicularis*-spesifik primerler kullanılarak PCR yöntemi kullanılmıştır. *D.fragilis* durumu bilinmeyen 64 hastadan alınan selofan bant örneklerindeki yumurtaların 12/238 (%5)'inde ve *D.fragilis* durumu bilinen bir hastada ise yumurtaların 39/99 (% 39)'unda *D.fragilis* DNA'sı belirlenmiştir (28).

Ögren ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise Real-Time PCR kullanarak, dışkıda *D.fragilis* bulunan hastalardan toplanan *E. vermicularis* yumurtası 21 örneklerinin 18 (%85) *D.fragilis* DNA'sı tespit edilmiştir (29).

Bu çalışmalar sonucunda, *E.vermicularis*'in, *D. fragilis*'in taşınmasında önemli bir role sahip olduğunu desteklemektedir (29).

Munasinghe ve ark. tarafından yapılan kist çalışmalarında *D.fragilis* yaşam döngüsü içinde bir kist evresinin olduğunu bildirmektedirler. Rodent deneylerinde Koch's postulate'nin üç kriterini uygulamışlardır. Kistler ağızdan verildiğinde farelerde ya da sıçanlarda yeni bir enfeksiyona neden olabilmektedir. *D.fragilis* ise enfekte edilmiş farelerde kalın bağırsak mukozasında hafif enflamasyon ve aynı zamanda önemli ölçüde geçici kilo kaybı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra enfekte olan farelerin dışkılarında calprotectin seviyesinde artış da gözlemlenmiştir (30). Aynı zamanda IBD ve IBS gibi bağırsak bozuklukları olan hastalarda da Calprotectin artışının olduğu bildirilmekle birlikte (31) *D.fragilis*'in IBS için etiyolojik bir ajan olduğu bilinmektedir (32).

Bu yeni bulgular üzerine *D.fragilis*'in kist evresinin olması ile fekal-oral yolla aktarılması, Dientamoebiasis'in zoonotik bir hastalık olduğunu güçlendirmektedir (33).

2.4.2. Dünyadaki Dağılımı

Jepps ve Dobell daha önce Dientamoeba'nın yaygın bir parazit olmadığını ileri sürmüşlerdir (1). Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda, Dientamoeba'nın prevalansının %52 gibi yüksek oranda olabileceğini bildirilmiştir (8). Çalışmaların çoğunda, PCR ve kültür yöntemine göre daha az hassas olan ışık mikroskopunun kullanıldığı bildirilmektedir (18). Mikroskopi ile birlikte diğer tekniklerin bir arada kullanılması Dientamoeba'nın görülebilirliği büyük ölçüde arttırdığını gösterilmiştir (18,20,22,23).

Dientamoeba'nın sero-prevalansının Giardia ve Cryptosporidium sero-prevelansından yüksek olduğu ileri sürülmüştür (19). Dientamoeba'nın prevalansı tanı yöntemine bağlı olarak %0.3 ile %52 oranında değişebilmektedir (18,20,21). Yaş, cinsiyet, İBS, HIV enfekte hastalar arasında bir ilişki oluşu düşünülmekle birlikte diğer enterik protozoonlar gibi gruplar arasında çeşitli bir ilişkisinin olduğu söylenmektedir (8).

İnsanlar dışında; memeliler, kuşlar ve primatlarda (goriller, macaques ve babunların) da tanımlanmıştır. Son zamanlarda en yüksek yaygınlık İtalya'da %43.8 oranında domuzlarda bildirilmiştir (34).

2.4.3. Türkiye'deki Dağılımı

Yurdumuzda bağırsak parazitlerinin araştırılmasında sırasında *D.fragilis*'in saptandığı az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Girginkardeşler ve ark. (35) tarafından yapılan çalışmada, diyare ve karın ağrısı şikayeti ile koproloji polikliniğine başvuran 400 hastanın %8.8'inde; Tanyüksel ve ark. (36) tarafından yapılan amoebiasisin tanısı için mikroskopi ve EIA testlerinin karşılaştırıldığı çalışmada 380 hastanın %2.3'nde; Karaman ve ark. (37) tarafından yapılan çalışmada 241 temizlik işçisinden alınan selofan bant ve dışkı incelemeleri sonucu 2 kişide; Taş ve ark. (38) tarafından ilköğretim okullarında öğrenim gören öğrencilerde bağırsak parazitlerinin yayılışını belirlemek amacıyla, nativ-Lugol, flotasyon ve trikrom yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada, 2975 öğrencinin %4'ünde; Karaman ve ark. (39) tarafından nativ-lugol, trikrom ve asit-fast boyama yöntemleri kullanılarak yapılan, sihi ve gayri sihi müesseselerdeki işletmeci ve

çalışanlardaki bağırsak parazitlerinin sıklığının incelendiği çalışmada 2264 hastanın, %0.9'unda; Çalık ve ark. (40) tarafından yapılan, diğer intestinal parazitlerin ve mikrosporidyanın prevalansının araştırıldığı ve çeşitli boyama yöntemlerinin kullanıldığı çalışmada 1,181 hastanın %0.7'inde; Doğan ve ark.(41) tarafından yapılan intestinal parazitlerin direkt mikroskopisinin incelenmesiyle, 225 dışkı örneğinin intestinal parazitler açısından 161'i negatif iken, 64'ü pozitif olan hastalardan 3'ünde; Gülmez ve ark. (42) tarafından yapılan retrospektif çalışmada incelenen 85,707 dışkı örneğinin %9'unda *D. fragilis*'e rastlanmıştır.

2.5. PATOGENEZ VE KLİNİK BELİRTİLER

Dientamoeba ile enfekte hastalarda en sık görülen belirtiler karın ağrısı ve ishaldir (31,43) ve hastaların %32 si kronik semptomlara sahiptir. Diğer belirtiler ise ishal, bulantı, kusma, iştahsızlık, kilo kaybı ve ateştir (6,31). Ayrıca Dientamoeba taşıyan hastalarda eozinofiliye de rastlanmaktadır (6,31,46-49). Bazı hastalarda *D. fragilis* iki yıla kadar sürmektedir (31,44,45).

Bazı araştırmacılar kolit, fibroz ve diğer inflamatuvar hastalıkların nedeni olarak Dientamoeba'yı tanımlayan çalışmaları gösterirken (53), aynı zamanda Dientamoeba ile oluşan semptomların kolit (50) ve akut appendisite (51) benzediğini de öne sürmüşlerdir. Bunun yanı sıra Dientamoeba'nın seyahat dönüşü rastlanan bağırsak hastalığının nedenleri arasında olduğu bildirilmiştir (53).

2.6. TANI

Kullanılan tanı yöntemleri ile *D. fragilis*'in başarılı bir şekilde belirlenebilmesi, hem raporların doğruluğu hem de raporların yorumlanması üzerinde önemli etkiye sahiptir (2).

Dientamoeba fragilis'in iki çekirdekli yapısı hazırlanan preparatlarda nonspesifik bir kütle olarak görüldüğü için, nativ-lugol yöntemi ile tanımak zordur. Trofozoitler hızla dejenere olduğundan dolayı numunenin hızlı tespit edilmesi gerekmektedir (2). Bu nedenle kalıcı boyama yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir (10,54).

Dientamoeba fragilis'in tanısı için yaygın olarak kullanılan boyama yöntemleri; demir hematoksilin ve trikrom boyama yöntemi iken, polivinil alkol (PVA), sodyum asetat

asetik asidin formalin (SAF), modified Schaudinn's fixative ve fenol-alkol formalin ise yaygın olarak kullanılan fiksatifler içerisinde yer almaktadır (2,55-58).

Kültür yöntemleri *D.fragilis*'in tanımlanmasında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (20,59). Yapılan bir çalışmada kültür yöntemi olarak kullanılan ve ksenik bir kültür olan Robinson besiyeriyle *D.fragilis*'in tanımlama oranının arttığı belirtilmiştir (20). Akselik kültür sistemlerinde ise *D.fragilis*'in kültüre edilmesi başarısız olmuştur (61,62).

Luminal parazitik protistlerin ekim teknikleri zor, zaman alıcı ve genellikle olumsuz sonuçlanabilmektedir. Bu nedenle de, bu teknikler genellikle uzman parazitoloji laboratuvarlar sınırlı olmakla birlikte rutin teşhis laboratuvarları tarafından uygulanmamaktadır. *D.fragilis* uzun süreli olarak kültürünü yapmak zordur (60). Pozitif kültürler oda sıcaklığında 24 saat ya da 4° C'de 24 saat muhafaza edilebileceği düşünülmektedir. Fakat yapılan bir çalışmada *D.fragilis*'in oda sıcaklığında 24 saat, 4° C'de ise sadece 10 saat saklanabilen dışkıların kültüre edilebildiği belirtilmiştir (59).

Dientamoeba fragilis için özel immünolojik testler henüz mevcut değildir. İlk kez Chan ve ark.(61) saklanmış fekal örneklerinde *D.fragilis* trofozoitlerini belirlemek için bir immünoflüoresan yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemle dokuz pozitif dışkı örneğinden yedisi pozitif olarak doğrulanırken, iki tanesi şüpheli sonuçlar vermiştir. Daha sonraki çalışmalarda, Chan ve ark.(19) immüno blot yöntemini kullanmış ve *D.fragilis* enfeksiyonu teyit edilmiş hastaların serumlarından 39kDa'luk *D.fragilis* proteini elde edilmiştir. Ancak bu proteinin hastalığın patogeneğinde öneminin ne olduğu, herhangi bir immüno profilaktik özelliklere sahip olup olmadığı açıklanamamıştır.

Dientamoeba fragilis'in tanısı için Stark ve ark.(63), *D.fragilis* SSU rRNA geni hedef geleneksel PCR geliştirilmiştir. Mikroskopisi pozitif olan 31 örneğin 29'unun PCR'da pozitif olduğu saptanmış ve diğer protozoon parazitlerle çapraz reaksiyon vermediği belirtilmiştir. Aynı zamanda PCR yönteminin %100 özgüllük ve %93,5 duyarlılık göstermesi ve *D.fragilis*'in klinik örneklerinde birkaç saat gibi daha hızlı sonuç vermesi tanıda önemli ölçüde yararlı olacağı belirtilmiştir. Bu nedenle kültür yöntemleri ile ilgili teknik zorluklar ortadan kalkmış olacaktır (64).

Son zamanlarda Real-Time PCR, dışkı örneklerindeki *D.fragilis*'i tanımlamak için geliştirilen moleküler yöntemlerden birisidir. Bu yöntemde hedef rDNA, TaqMan® prob ve primerler kullanılarak, LightCycler© sistemi ile gerçekleştirilir (64).

Real-Time PCR yöntemi ile dışkı örneklerinde %100 duyarlılık ve özgüllük elde edilirken aynı zamanda iki saat gibi daha kısa bir sürede, daha hızlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu yöntem, hem tanı süresi hem de kontaminasyon riski azaltılmasıyla konvansiyonel PCR üzerinde avantajlı hale gelmiştir (65,66).

2.7. TEDAVİ

Yapılan çalışmalarda, *D. fragilis*'in tedavisinde etkili olan bazı antimikrobiyal maddelerin mevcudiyeti ortaya konmuştur.

Dientamoeba fragilis enfeksiyonlarını tedavi etmek için özellikle Kuzey Amerika'da yaygın olarak Iodoquinol (diiodohydroxyquin) (67) kullanılmaktadır. Aynı zamanda *D.fragilis* enfeksiyonlarının tedavisinde metronidazol (68) de kullanılmaktadır. Paromomisin'in (69) kullanılması ile semptomların başarılı şekilde ortadan kaldırıldığı ve parazit tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir.

Türkiye'de yapılan bir çalışmada; *D.fragilis* enfeksiyonu olan 35 hastada nitroimidazol türevinin olan seknidazolün kullanımı sonucunda *D.fragilis* enfeksiyonunun ortadan kaldırıldığı bildirilmiştir (35).

Yapılan çalışmalar sonucunda *D.fragilis* enfeksiyonunun tedavisinde metronidazol, paromomisin, iodoquinol ve tetrasiklin gibi antimikrobiyal maddelerin etkili olduğu belirtilmektedir (Tablo 2.1) (70).

Tablo 2.1. 2012 yılında Hastalık Kontrol Merkezi tarafından Dientamoebiasis'in tedavisi için önerilen tedavi seçenekleri listesi (70).

İlaç seçenekleri	Alternatif ilaçlar
<i>Iodoquinol</i>	<i>Paromomycin</i>
Yetişkinlerde: 650 mg 20 gün Çocuklarda: 30–40 mg/kg/gün (max.2 g) 3 doz x 20 gün	Yetişkinlerde: 25–35 mg/kg/gün, 3 doz x 7 gün Çocuklarda: 25–35 mg/kg/gün, 3 doz x 7 gün
	<i>Tetracycline</i> Yetişkinler: 500 mg, 10 gün Çocuklarda: 40 mg/kg/gün (max. 2 g), 4 doz x 10 gün
	<i>Metronidazole</i> Yetişkinler: 500–750 mg PO 10 gün Çocuklarda: 35–50 mg/kg/gün, 3 Doz 10 gün

2.8. KORUMA VE KONTROL

Geçiş yolunun kesinlik kazanmamasına rağmen, hijyen ve sanitasyonun yetersiz olduğu veya yakın temasın bulunduğu durumlarda fekal-oral geçişin olabildiği görülmektedir (8,71).

Bulaşın bir helmint yumurtası aracılığı ile olduğu düşünüldüğünde; olası fekal-oral geçişi engellenmeye çalışmalı, ağız yoluyla alınan maddelerin dışkıyla bulaşı önlenmeli ve toplum hijyen ve sanitasyon konusunda eğitilmelidir (71).

Dientamoeba fragilis'in yüksek oranda görülebildiği çocuk bakım yuvaları, akıl hastaneleri, ve cezaevleri gibi birçok kişinin bir arada kaldığı ve kişisel hijyen ve sanitasyon kurallarına dikkat edilmeyen yerlerde endemi ve epidemileri önlemek için tedbirler alınmalıdır (71).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul tarafında incelenerek 22.11.2013 tarihinde onaylanmıştır (Ek: 1). Çalışmada kullanılacak olan dışkı örnekleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher Nesibe Hastanesi'nin çeşitli polikliniklerine başvuran ve tetkik için Parazitoloji Anabilim Dalı'na gelen hastalar ile sağlıklı gönüllülerden oluşan kontrol grubundan alınmıştır. Dışkı örneği alınan hastalar ile sağlıklı gönüllüler "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" (Ek:2) ile bilgilendirilip yazılı onayları alındıktan sonra çalışmaya dahil edilmişlerdir. Çalışmaya çeşitli kliniklerden gelen ve gastrointestinal şikayeti olan 101 hasta dahil edilmiştir. Hasta grubunda 15 ishalleri hasta bulunmaktadır. Kontrol grubu olarak ise, herhangi bir kronik rahatsızlığı ve gastrointestinal şikayeti bulunmayan 20 kişiden oluşan sağlıklı gönüllüler çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubunda ishalleri hasta bulunmamaktadır.

3.2. ÖRNEKLERİNİN KONVANSİYONEL YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

Toplanan dışkı örnekleri ilk olarak nativ-lügol yöntemi ile incelenmiştir. İncelenen dışkı örneklerinden bir miktar alınarak Robinson kültürüne ekim yapılmıştır. Aynı zamanda dışkı örneklerinden trikrom boyama (TB) yöntemi için PVA fiksatif içeriğine, demir hematoksilin boyama (DHB) yöntemi için ise SAF fiksatif içeriğine bir miktar dışkı (dışkı: 1 hacim, fiksatif: 3 hacim) eklenmiştir. Kalan örnekler DNA izolasyonunda kullanılmak üzere -20°C' de muhafaza edilmiştir.

3.2.1. PVA Fiksatifinin Hazırlanışı

Kullanılacak maddeler

- Civa Klorür (HgCl_2) kristalleri
- %95 Etil Alkol
- Glasiyal asetik Asit
- Gliserin
- PVA tozu

3.2.1.a. Modifiye Schaudinn Fiksatif

Kapaklı cam bir kapta 4,5 g civa klorür 31 ml %95 etanol içinde çözdürülüp, cam kap çalkalanırken içerisine 5 ml glasiyal asetik asit eklenmiştir. Solüsyon oda ısısında saklanmıştır.

3.2.1.b. PVA Karışımı

5g PVA tozu üzerine 1,5 ml gliserin eklenerek, bütün partiküller gliserinle kaplanacak şekilde karıştırılmıştır. Karışıma 62,5 ml distile su eklenere cam beher içerisine eklenmiştir. Behere in kapağı kapatılarak 1 gece oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.

PVA karışımını içeren ağzı gevşek kapalı cam beher 70-75°C'de su banyosunda 10 dk bekletilmiştir. PVA tozunun çoğu eridiğinde, üzerine Modifiye Schaudinn fiksatif solüsyonu eklenmiştir. PVA tamamen eriyene kadar solüsyon karıştırılmıştır. PVA fiksatif daha sonra cam kapaklı beher içerisine alınarak saklanmıştır. Elde edilen PVA fiksatif oda ısısında saklanmıştır (73).

3.2.2. SAF Fiksatifinin Hazırlanışı

Kullanılacak maddeler

- Sodyum Asetat
- Glasiyal Asetik Asit
- Formol (Ticari şekli %37'lik olan solüsyon %100 olarak kabul edilerek hazırlanmıştır)

1,5 g Sodyum Asetat, 2 ml Glasiyal Asetik Asit, 4 ml formol 92 ml distile su içerisinde karıştırılmıştır. Elde edilen SAF fiksativi oda ısısında saklanmıştır (73).

3.2.3. Robinson Kültürü

3.2.3.a. Pirinç Nişastasının Hazırlanışı

Vida kapaklı cam kültür tüpleri içerisine 500mg pirinç unu eklenmiştir. Tüp içerisindeki pirinç unu pastör fırınında yatay olarak 150°C’ de 2,5 saat steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası tüpler içerisine 9,5 ml distile su eklenerek pirinç unu sulandırılmıştır. Sulandırılan pirinç unu, 1,5ml’lik tüplere 1’er ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Tüpler -20°C’ kullanılmak üzere saklanmıştır.

3.2.3.b. Robinson Besiyeri

- i. **%0.5 Eritromisin Solüsyonu:** 500 mg eritromisin, 20 ml %70’lik etanol eklenerek vortekslenmiştir. Solüsyonun +4°C’de 2 saat bırakılarak tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Çözüldükten sonra solüsyon üzerine 30 ml distile su eklenmiştir. Solüsyon filtreden geçirilerek steril edildikten sonra -20°C’de saklanmıştır.
- ii. **%20 Bacto Pepton Solüsyonu:** 20 g Bacto Pepton üzeri 100ml distile su ile tamamlanmıştır. 121°C’de 15 dk otoklav edildikten sonra +4°C’de saklanmıştır.
- iii. **10x Fitalat Stok Solüsyonu:**
 - 102 g Potasyum Hidrojen Fitalat
 - 50 ml %40 Sodyum Hidroksit
 - 1000ml distile su

Karışımın pH’sı 6.3’e ayarlanarak 121°C’de 15 dk otoklav edildikten sonra oda sıcaklığında saklanmıştır. Kullanmadan önce 1:10 oranında sulandırılmıştır.

Stok Fitalat-Bacto Pepton: 1x fitalat solüsyonunun her 100 ml için %20 Bacto Pepton Solüsyonundan 1,25 ml eklenmiştir. 50ml lik tüplere dağıtılarak -20°C’de saklanmıştır.

iv. **10x R Stok Besiyeri:**

- 25 g Sodyum Klorid
- 10 g Sitrik asit
- 25 g Potasyum Fosfat Monobazik

- 5 g Amonyum Sülfat
- 0,25 g Magnezyum Sülfat (7 sulu)
- 20 ml %85 Laktik Asit
- 500 ml distile su

Karışımın pH'sı 7'ye ayarlanmıştır. Stok solüsyon 1:10 oranında distile su ile dilüe edilmiştir. Sulandırma sonrası solüsyon 20 ml olacak şekilde vida kapaklı cam tüplere paylaştırılmıştır. Tüpler 121°C'de 15 dk otoklav edildikten sonra oda sıcaklığında saklanmıştır.

vi. BR Besiyeri: 1x R besiyeri içerisine *E.coli* inoküle edilerek 48 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Besiyeri oda sıcaklığında saklanmıştır.

vii. BRS Besiyeri: BR besiyeri içerisine, eşit miktarda inaktive edilmiş FBS eklenerek 24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Besiyeri oda sıcaklığında saklanmıştır.

3.2.3.c. Yatık Agar'ın Hazırlanışı

- % 1,5 Bacto-Agar
- % 7 NaCl
- 100 ml distile su

Karışım 3'er ml olacak şekilde vida kapaklı cam tüplere dağıtıldıktan sonra 121°C'de 15 dk otoklav edilmiştir. Otoklav sonrası cam tüpler henüz sıcakken alınıp, eğim oluşturularak soğumaya bırakılmıştır.

3.2.3.d. Dışkı Ekimi

Yatık agar tüpleri içerisine;

- 3 ml Bacto-Pepton Fitalat Solüsyonu
- 2 ml BRS Solüsyonu
- 200 µl Pirinç Unu
- 75 µl Eritromisin eklenmiştir.

Tüp içerisine; dışkının farklı yerlerine değdirilerek alınan bezelye büyüklüğündeki dışkılar konup yavaşça karıştırılmıştır. Tüpler ağzı kapatılarak 37°C’de 48 saat inkübe edilmiştir (74).

Pasaj İçin: Ekimi yapılan her bir örnek için 2 farklı tüp hazırlanmıştır. Dışkı ekiminde tüp içerisine eklenen solüsyonlar miktarınca solüsyonlar eklenmiştir. Pirinç ununun bulunduğu sedim örneği iki tüp içerisine eşit miktarda dağıtılmıştır. Haftada 3 kez pasaj yapılmıştır.

Dışkı ekilen besiyerlerinin kontrolünde 3. pasaj sonrasında kültür örnekleri 275g’ de 10 dk santrifüj edilerek oluşan sedim örneğinin bir kısmı kalıcı boyama preparatları hazırlanması için PVA ve SAF fiksatifleri içerisine alınmıştır. Kalan dışkı ise DNA izolasyonu için -20°C’de saklanmıştır.

3.2.4. Boyama Yöntemleri

3.2.4.1. Demir Hematoksilen Boyama (DHB) Yöntemi

a. Stok A solüsyonu: 100ml %95 alkol içerisinde 1g hematoksilen kristalleri çözdürülerek hazırlanmıştır. Solüsyon 1 hafta güneş ışığında bekletildikten sonra filtreden geçirilmiştir.

b. Stok B solüsyonu: 1 g ferröz amonyum sülfat, 1 g ferrik amonyum sülfat, 1ml hidroklorik asit 97 ml distile su içerisinde çözdürülmüştür.

* *Demir Hematoksilen çalışma solüsyonunun hazırlanması:* Boyama yöntemini uygulamadan önce stok solüsyonlardan 25’er ml alınarak çalışma solüsyonu hazırlanmıştır. Çalışma solüsyonu boyama yapmadan en az 3-4 saat önce hazırlanmıştır.

* *Pikrik asit solüsyonunun hazırlanması:* 7 g pikrik asit %95’lik alkol içerisinde çözdürülmüştür. Oluşan solüsyondan 2 hacim, %95’lik alkolden 1 hacim alınarak karışım elde edilmiştir.

Yöntem:

SAF içerisine alınan dışkı ve kültür örnekleri boyama yapılmadan en az 30 dk öncesinde Mayer albümini (Eşit miktarda yumurta akı ile gliserin karıştırılarak elde edilmiştir) ile bir damla dışkı örneği karıştırılarak lam üzerine yayılmıştır. Kuruyan preparatlar aşağıdaki basamaklar uygulanarak boyanmıştır.

1. Kuruyan preparatlar %70 alkolde 5 dk bekletilmiştir.
2. Preparatlar %50 alkolde 2 dk bekletilmiştir.
3. Preparatlar musluk suyunda 5 dk bekletilmiştir.
4. Preparatlar Demir Hematoksilen boyasında 10 dk bekletilmiştir.
5. Preparatlar distile su içerisinde 1 dk bekletilmiştir.
6. Preparatlar pikrik asit solüsyonunda 1 dk bekletilmiştir.
7. Preparatlar akan musluk suyu altında 10 dk bekletilmiştir.
8. Preparatlar 1 damla amonyak içeren %70 alkol içerisinde 5 dk bekletilmiştir.
9. Preparatlar %95 alkol içerisinde 5 dk bekletilmiştir.
10. Preparatlar iki ayrı %100 alkol içerisinde 5'er dk bekletilmiştir.
11. Preparatlar iki ayrı ksilen içerisinde 5'er dk bekletilmiştir.

Ksilen içerisinde çıkarılan preparatlar Entellan kaplanarak üzerleri lamelle ile kapatılmıştır. Kapatılan preparatlar daha sonra immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskobu altında x1000'lik büyütmede incelenmiştir. Preparatlarda zemin mavi-gri boyanmıştır. Çekirdek yapıları ve inklüzyon cisimciklerinin etrafı ise sitoplazmaya oranla daha koyu boyanmıştır (75).

3.2.4.2. Trikrom Boyama (TB) Yöntemi (Wheatley Modifikasyonu)

Kullanılacak Maddeler

- Chromotrope 2R
- Light green SF
- Fosfotungstik asit
- Glasiyal Asetik Asit
- %90'lık Etanol
- D'Antoni'nin İyot Solüsyonu
- Ksilen ya da Toluen

Hazırlanılacak Solüsyonlar

1. Trikrom Boyası:

6 g Chromotrope 2R, 3 g Light green SF, 7 g Fosfotungstik asit ve 10 ml Glasiyal Asetik Asit cam bir beher içerisinde karıştırılmıştır. Karışım 30 dk bekletilmiştir. Karışıma 1000 ml distile su eklenip iyice karıştırılmıştır. Koyu mor bir renk alan boya cam kapaklı şişe içerisinde saklanarak, sulandırma yapılmadan boyama işleminde kullanılmıştır.

2. %90 Asit Alkol

995.5ml %90 etanole 4,5 ml Glasiyal Asetik Asit eklenerek solüsyon hazırlanmıştır.

3. D'Antoni'nin İyot Solüsyonu

1 g Potasyum iyodür (KI) 100 ml distile su içerisinde çözdürülmüştür. Elde edilen solüsyona 1,5 g iyot kristali eklenerek kırmızımsı kahverengi renk alana dek çalkalanarak solüsyon hazırlanmıştır.

Yöntem:

PVA içerisine alınan dışkı ve kültür örnekleri lam üzerine yayılarak 1 gece oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kuruyan preparatlar aşağıdaki basamaklar uygulanarak boyanmıştır.

1. PVA ile fikse edilmiş preparatlar %70' lik etanolde 2 dk bekletilmiştir.
2. %70' lik etanole demli çay rengine solüsyon elde edilene kadar D'Antoni'nin İyot Solüsyonu eklenmiş, preparatlar bu sosyonda 5 dk bekletilmiştir.
3. Preparatlar iki ayrı %70' lik etanolde 3'er dk bekletilmiştir.
4. Preparatlar trikrom boyasında 10 dk bekletilmiştir.
5. Trikrom boyasından çıkarılan lamlar fazla boyanın giderilmesi için birkaç kez kağıt havluya değdirildikten sonra preparatlar %90 asit alkolde 2-3 saniye bekletilmiştir.
6. Preparatlar sırasıyla %95, %100 alkolde çalkalandıktan sonra ikinci kez %100 alkolde çalkalanarak boyama işleminin durması sağlanmıştır.

7. Preparatlar iki ayrı %100 alkolde 5'er dk bekletilmiştir.
8. Preparatlar iki ayrı %100 ksilende 5'er dk bekletilmiştir.

Ksilen içerisinde çıkarılan preparatlar Entellan kaplanarak üzerleri lamelle ile kapatılmıştır. Kapatılan preparatlar daha sonra immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskobu altında x1000'lik büyütmede incelenmiştir. Organizmanın sitoplazması genellikle mavi yeşilden mora çalan bir renkle boyanırken, çekirdek kromatini ve inklüzyon cisimcikleri kırmızımsı mor renkle boyanmıştır (73).

3.3. MOLEKÜLER YÖNTEMLER

3.3.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu

Dışkı ve kültür örneklerinden DNA ekstraksiyonu, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Moleküler Parazitoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır. -20°C'de saklanan dışkı örneklerinden 180- 220 mg tartılarak 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne alınmıştır. Tüpler ekstraksiyon öncesinde buz üzerine alınarak QIAamp Fast Stool Mini Kit (QIAGEN, Almanya) ile aşağıdaki gibi yapılmıştır.

1. Buz üzerindeki örneklerin her birinin içerisine 1 ml InhibitEX Buffer eklenmiştir. Dışkı ve kültür örnekleri tamamen homojenize olana kadar 1 dk boyunca vortekslenmiştir.
2. Örnekler 70°C'de 5 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası her bir örnek 15 sn vortekslenmiştir.
3. Örnekler 14000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
4. 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine 15 µl Proteinaz K ve üzerine 200 µl santrifüj edilen örneklerin üst sıvısından eklenmiştir.
5. Proteinaz K+ örnekten oluşan karışımın üzerine 200 µl AL Buffer eklenerek her bir örnek 15 sn vortekslenmiştir.
6. Tüpler 70°C'de 10 dk inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonrası örneklerin üzerine 200 µl %96-100'lük etanol eklenerek vortekslenmiştir.

8. Vorteksleme işlemi sonrasında elde edilen karışım spin koluna (kit içerisindeki) aktarılmış ve 14000 rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir.
9. QIAamp spin kolumu yeni bir toplama tüpüne yerleştirdikten sonra üzerine 500 µl Buffer AW1 eklenmiş ve 14000 rpm’de 1 dk santrifüj edilmiştir.
10. QIAamp spin kolumu yeni bir toplama tüpüne yerleştirdikten sonra üzerine 500 µl Buffer AW2 eklenmiş ve 14000 rpm’de 3 dk santrifüj edilmiştir.
11. QIAamp spin kolumu yeni bir toplama tüpüne yerleştirdikten sonra 1dk 14000 rpm’de 1 dk boş santrifüj edilmiştir.
12. QIAamp spin kolum yeni bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirdikten sonra kolum içerisindeki membranın direkt olarak üzerine gelecek şekilde 100 µl ATE buffer eklenmiştir.
13. Kolum oda sıcaklığında 3 dk inkübe edildikten sonra 14000 rpm’de 1 dk santrifüj edilerek elüsyon sağlanmıştır.
14. Elde edilen DNA kullanılabildiği kadar -20°C’de saklanmıştır.

3.3.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR

Bu çalışmada; primer dizaynında, Röser ve ark.(29) tarafından karakterize edilen ve AY730405 GenBank aksesyon numarası ile bildirilen SSU rRNA geninin 5’ucu bölgeleri kullanılmıştır. Primerler ve özellikleri Tablo 3.1 de verilmiştir.

Tablo 3.1. *D. fragilis*’i belirlemek için PCR’ da kullanılan primerler ve özellikleri

Primer	Uzunluk	Tm	%GC	Sekans (5’-3’)
DFpn_1f	20	60.5	55	GCC AAG GAA GCA CAC TAT GG
DFpn_364r	18	56.1	55.56	GTA AGT TTC GCG CCT GCT

Bu primerler *D. fragilis* türü için 364 bp’lik bölgeyi amplifiye etmektedir. Reaksiyon için 25 µl’lik bir karışım hazırlanmıştır. Bu reaksiyon karışımında kullanılan bileşenler ve bu bileşenlere ait miktarlar Tablo 3.2’ de verilmiştir.

Tablo 3.2. PCR reaksiyonu için kullanılan bileşenler ve miktarları

Bileşen	Miktar (µl)
10x Buffer *	2,5
25 mM MgCl ₂ *	2
10 mM dNTP mix *	0,5
20 pmol/ µl F primer	1
20 pmol/ µl R primer	1
Taq DNA polimeraz * (5u/ µl)	1
gDNA	5
Distile su	12
Toplam	25

*, Thermo Scientific, USA

PCR reaksiyonu için hazırlanan karışım 0,2 ml'lik DNase ve RNase free PCR tüpleri içerisinde hazırlanmıştır. Tüpler thermal cycler (SENSEQUEST, Almanya) cihazına yerleştirilmiştir. Amplikasyon için gerekli PCR şartları Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3. Amplikasyon için gerekli PCR şartları

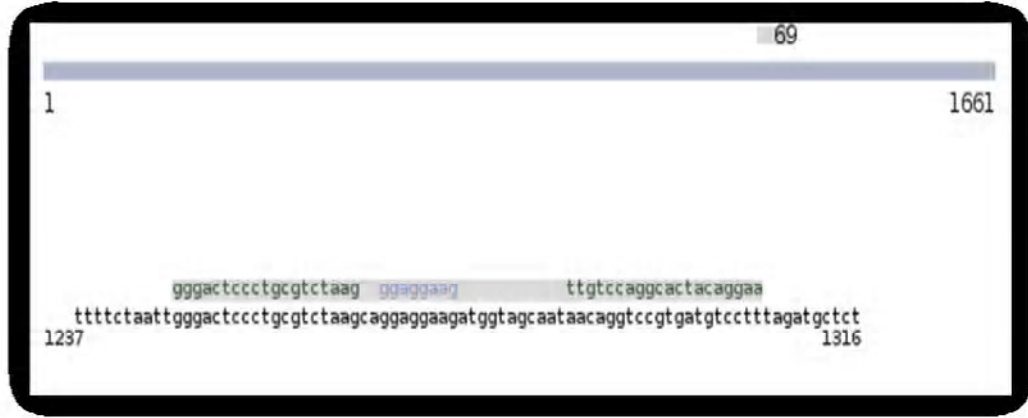
Reaksiyon		
95°C	15 dk	1 döngü
94°C	30 sn	
65°C	30 sn	
72°C	30 sn	35 döngü
72°C	5 dk	

Bu prosedürle elde edilen PCR ürünü, 5 µl Etidyum Bromid ile boyanmış %2'lik agaroz jelde DNA Ladder eşliğinde elektroforezde yürütülmüştür. Bio-Rad Chemidoc MP (ABD) jel görüntüleme cihazı ile görüntülenmiştir.

Real-Time PCR

Elde edilen genomik DNA ekstraktları, *D.fragilis* için AY730405 GenBank aksesyon numarası ile bildirilen SSU rRNA gen bölgesi hedef alınmıştır. Roche Diagnostics Universal Probe Library (UPL) Assay Design Center programı kullanılarak uygun

primer ve prob dizayn edilmiştir. Dizayn edilen ve çalışmada kullanılan primer ve prob Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *D.fragilis*'in tanısında kullanılan primer ve prob.

Elde edilen genomik DNA ekstraktları, *D.fragilis* için dizayn edilen spesifik primer ve UPL prob kullanılarak Light Cycler 480 (Roche Diagnostic, Almanya) cihazında Real-Time PCR ile analiz edilmiştir.

Real-Time PCR analizlerinde kullanılacak bileşenler ve miktarları Tablo 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4. Real-Time PCR reaksiyonu için kullanılan bileşenler ve miktarları

Bileşen	Miktar (µl)
2x Probes Master Mix *	10
UPL Probe *	0,4
F primeri	1
R primeri	1
gDNA	5
Distile su	2.6
Toplam	20

Real-Time PCR için kullanılan bileşenler 96'lık (Roche Diagnostic, Almanya) steril playtlerde hazırlanmıştır. Playt, Light Cycler 480 (Roche Diagnostic, Almanya) cihazındaki playt için ayrılmış olan hazneye yerleştirilmiştir. Amplikasyon için gerekli Real-Time PCR şartları Tablo 3.5'de verilmiştir.

Tablo 3.5. Amplikasyon için gerekli Real-Time PCR şartları

Reaksiyon		
95°C	10 dk	1 döngü
95°C	10 sn	
60°C	30 sn	
72°C	1 sn	45 döngü
40°C	30 sn	1 döngü

4.BULGULAR

4.1.DIŞKI ÖRNEKLERİN KONVANSİYONEL YÖNTEMLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmaya; gastrointestinal Şikayeti olan toplam 101 hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak herhangi bir kronik rahatsızlığı olmayan, sağlıklı gönüllülerden oluşan toplam 20 kişi bu gruba katılmıŐtır.

Hasta ve kontrol gruplarından oluşan 121 dışkı örneği ilk olarak nativ-lügol yöntemi ile incelenmiştir. İncelenen dışkı örneklerinde; nativ-lügol yöntemi ile *D.fragilis* dışında belirlenen parazitler ve ishal durumuna göre dağılımı Tablo 4.1' de verilmiştir.

Tablo 4.1. Dışkı örneklerinde nativ-lügol yöntemi ile *D.fragilis* dışında belirlenen parazitlerin; hasta grubu, kontrol grubu ve ishal durumuna göre dağılımı

GRUP	<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Entamoeba coli</i>	<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Enterobius vermicularis</i>
Hasta Grubu	26	-	1	1
Kontrol Grubu	7	1	-	-
TOPLAM	33	1	1	1
İshal Durumu	-	-	-	-
TOPLAM	-	-	-	-

4.2.DIŞKI ÖRNEKLERİNİN *DIENTAMOEBEA FRAGILIS* AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dışkı örneklerinin *D.fragilis* açısından değerlendirilmesinde; demir-hematoksilen boyama, trikrom boyama, PCR ve Real-Time PCR yöntemi kullanılmıştır. *D.fragilis*'in tanısında kullanılan yöntemlerle elde edilen pozitiflik oranlarının araştırma grubuna (Tablo 4.2) göre dağılımı verilmiştir.

Tablo 4.2. Farklı tanı yöntemleri ile elde edilen *D.fragilis* pozitifliğinin araştırma grubuna göre dağılımı

Yöntem	Araştırma Grubu				Toplam	
	Hasta Grubu		Kontrol Grubu			
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
DHB	12	% 11,8	1	% 5	13	% 10,7
TB	2	% 1,9	-	-	2	% 1,7
PCR	6	% 5,9	1	% 5	7	% 5,7
Real-Time PCR	12	% 11,8	1	% 5	13	% 10,7

DHB; Demir Hematoksilen Boyama

TB; Trikrom Boyama

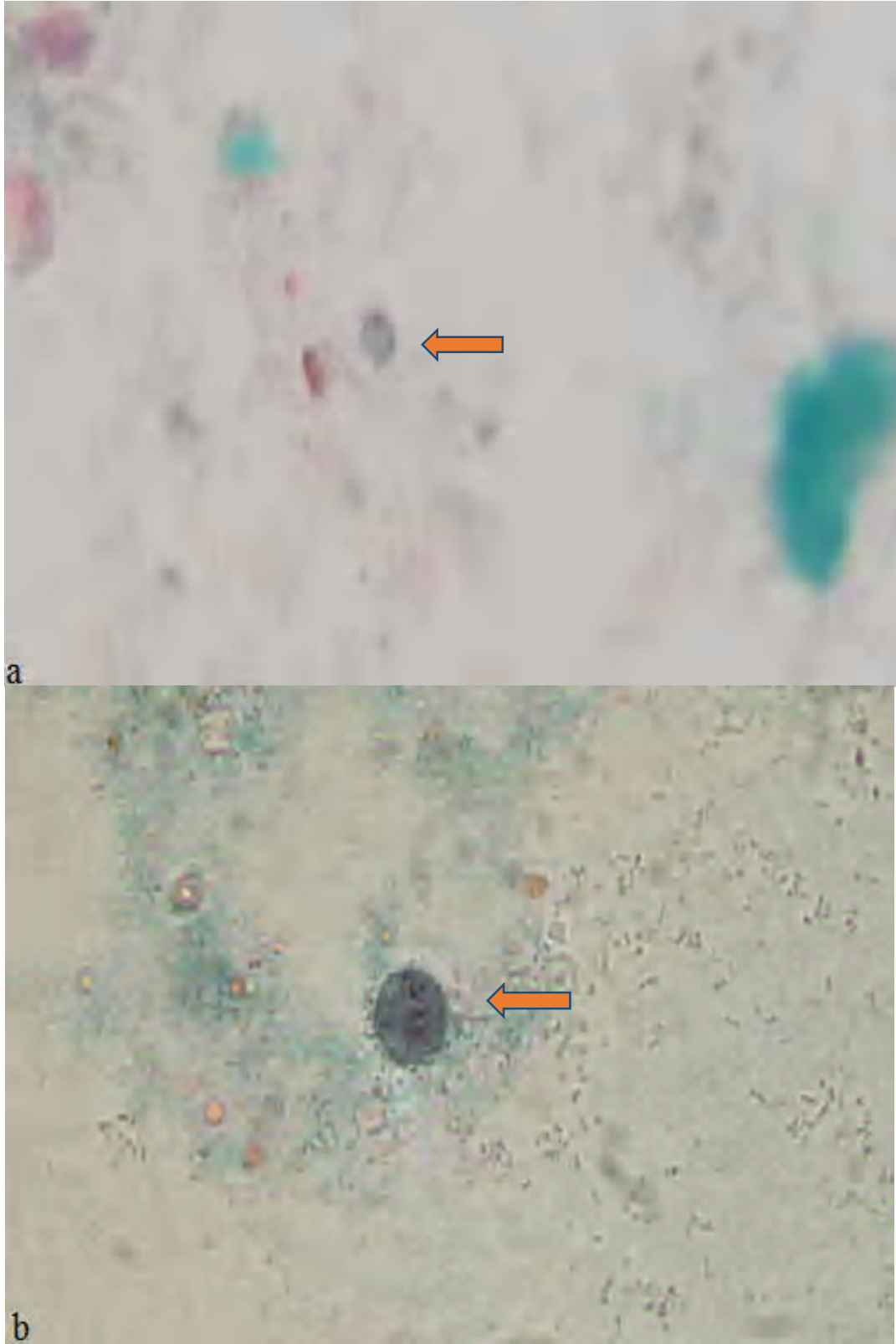
İncelemesi yapılan toplam 121 dışkı örneğinden 13 (%10,7)'ü demir hematoksilen (Şekil 4.1) boyama açısından, 2 (%1,7)'si ise trikrom boyama (Şekil 4.2) açısından pozitif olarak tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada kullanılan PCR yöntemi (Şekil 4.3) ile 121 dışkı örneğinden toplamda 7 (%5,7)'i, Real-Time PCR (Şekil 4.4)'da ise 13 (%10,7)'ü pozitif olarak tespit edilmiştir. Kullanılan yöntemlerde elde edilen pozitiflik oranları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görülmüştür ($\chi^2=0,505$, $p \geq 0,05$).

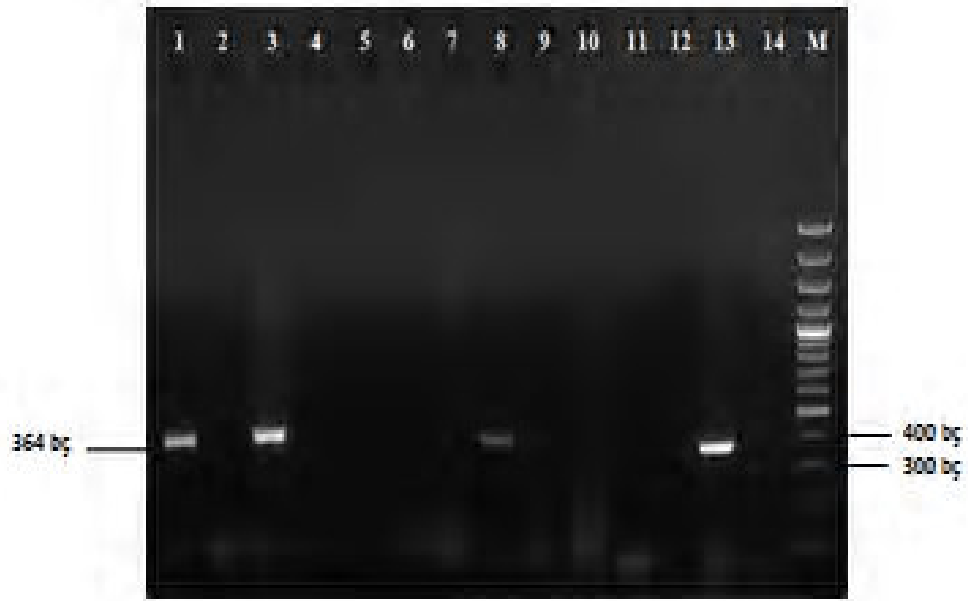
D.fragilis'in tanısında kullanılan yöntemlerle elde edilen pozitiflik oranlarının kültür grubuna (Tablo 4.3) göre dağılımı verilmiştir.



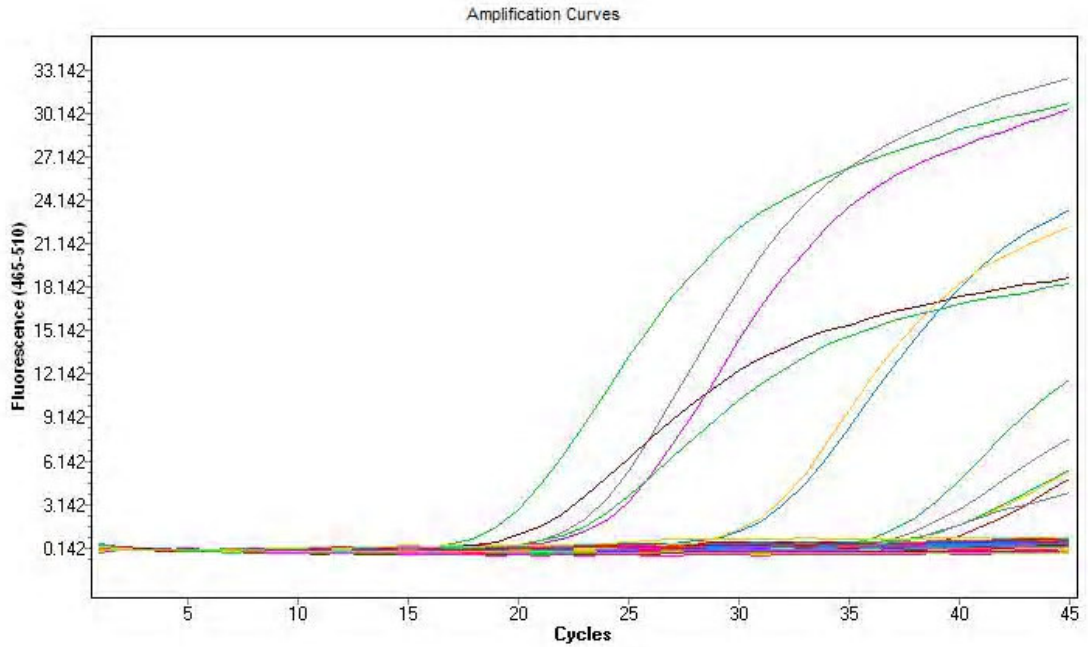
Şekil 4.1. Demir hematoksilin boyama sonucu dışkı örneklerinde tespit edilen *Dientamoeba fragilis*'in görüntüsü (a,b) (x1000)



Şekil 4.2. Trikrom boyama sonucu tespit edilen *Dientamoeba fragilis*'in görüntüsü (a,b) (x1000)



Şekil 4.3. PCR yöntemi ile *Dientamoeba fragilis* açısından pozitif olarak belirlenen bazı örneklerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. 1,3,8 pozitif örnekler, 2,4-7,9-12 negatif örnekler, 13-pozitif kontrol, 14-negatif kontrol, M- Marker (Thermo Scientific, ABD. 100 bç)



Şekil 4.4. Dışkı örneklerinde *Dientamoeba fragilis* SSU rRNA gen bölgesini hedef alan prob bazlı Real-Time PCR sonuçları

Tablo 4.3. Farklı tanı yöntemleri ile elde edilen *D.fragilis* pozitifliğinin kültür grubuna göre dağılımı

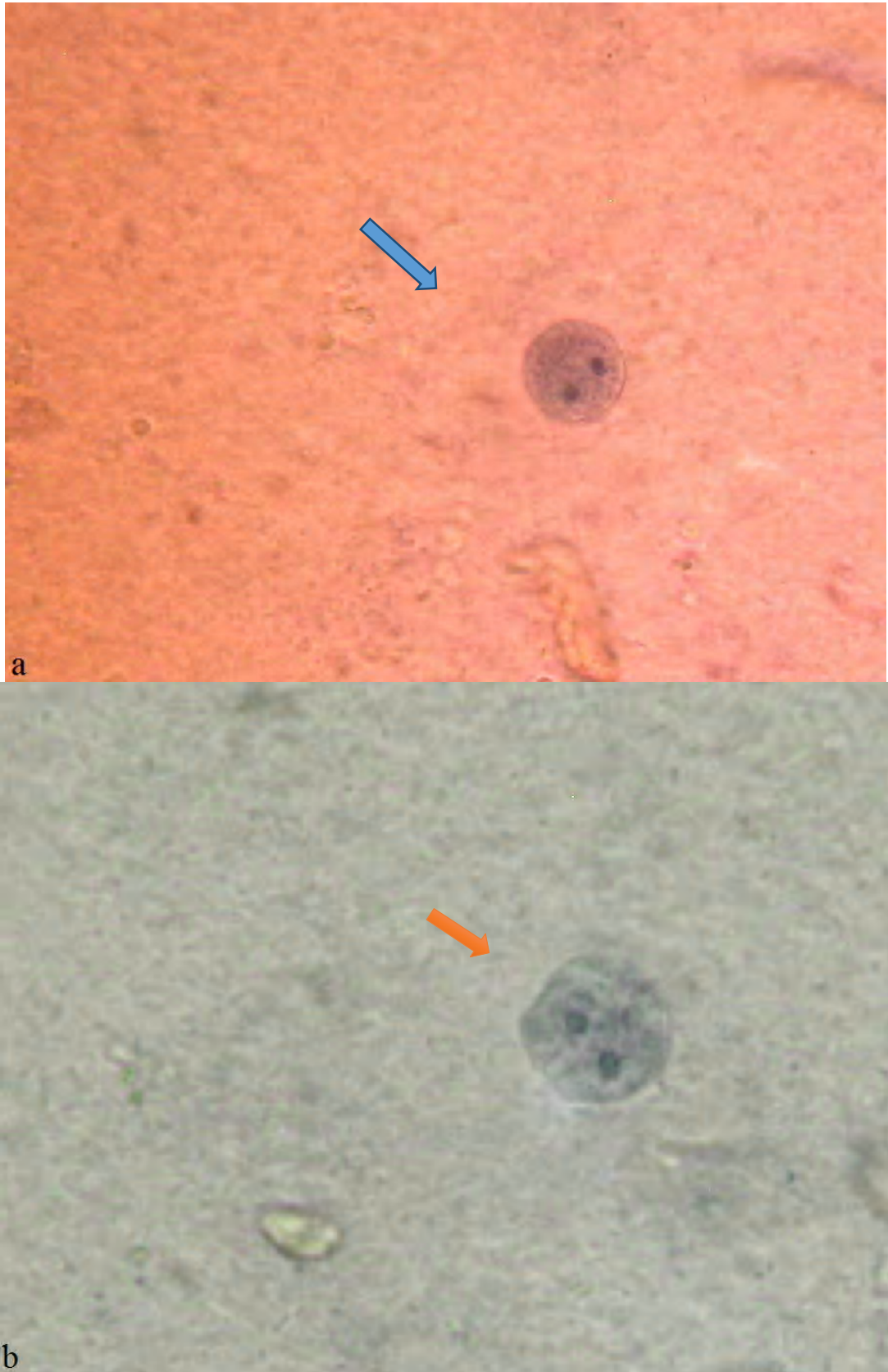
Yöntem	Kültür Grubu					
	Hasta		Kontrol		Toplam	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
DHB	6	% 5,9	1	% 5	7	% 5,8
TB	4	% 3,9	-	-	4	% 3,3
PCR	2	% 1,9	-	-	2	% 1,7
Real-Time PCR	3	% 2,9	-	-	3	% 2,5

DHB; Demir Hematoksilen Boyama

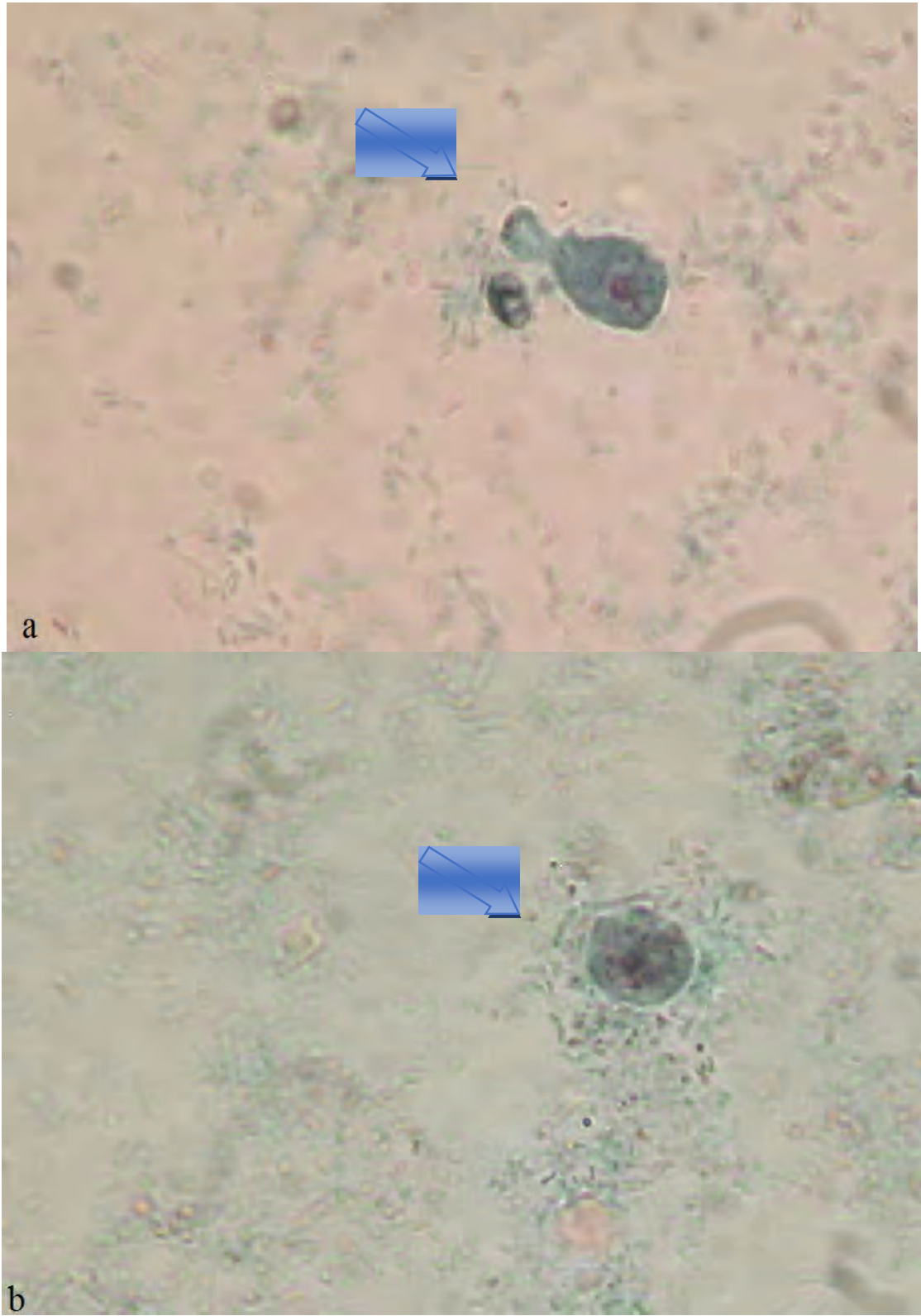
TB; Trikrom Boyama

İncelemesi yapılan toplam 121 kültür örneğinden 7 (%5,8)'ü demir hematoksilen (Şekil 4.5) boyama açısından, 4 (%3,3)'si ise trikrom boyama (Şekil 4.6) açısından pozitif olarak tespit edilmiştir.

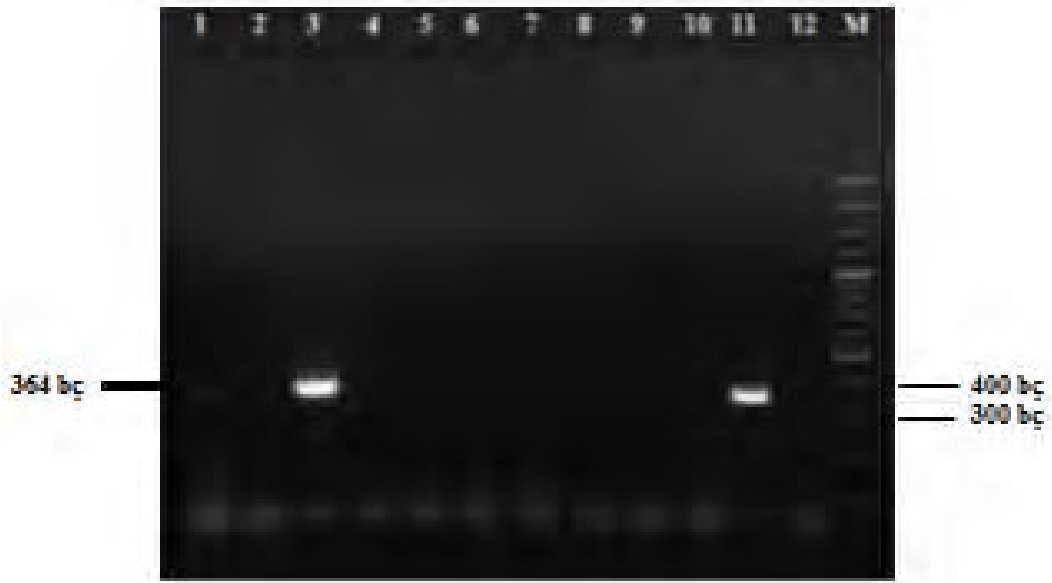
Yapılan çalışmada kullanılan PCR yöntemi (Şekil 4.7) ile 121 dışkı örneğinden toplamda 2 (%1,7)'u, Real-Time PCR (Şekil 4.8)'da ise 3 (%2,5)'ü pozitif olarak tespit edilmiştir. Kullanılan yöntemlerde elde edilen pozitiflik oranları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görülmüştür ($\chi^2=1,371$, $p \leq 0,05$).



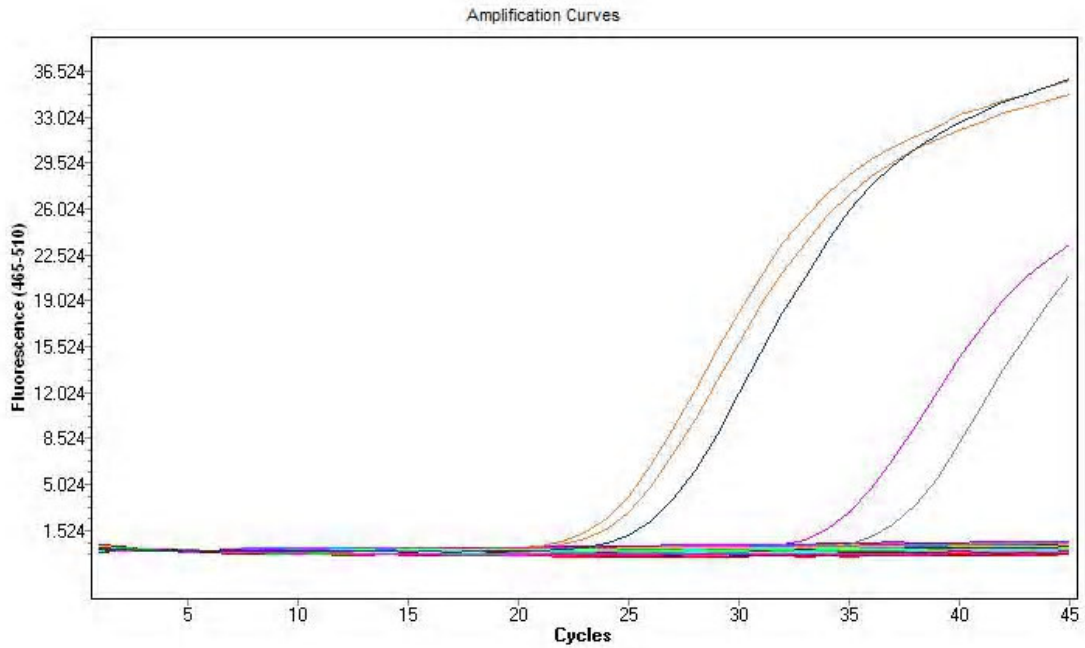
Şekil 4.5. Demir hematoksilin boyama sonucu kültür örneklerinde tespit edilen *Dientamoeba fragilis*'in görüntüsü (a,b) (x1000)



Şekil 4.6. Trikrom boyama sonucu kültür örneklerinde tespit edilen *Dientamoeba fragilis*'in görüntüsü (a,b) (x1000)



Şekil 4.7. PCR yöntemi ile *Dientamoeba fragilis* açısından pozitif olarak belirlenen bazı kültür örneklerinin agaroz jel üzerindeki görüntüsü. 1,3- pozitif örnekler, 2,4-10 negatif örnekler, 11-pozitif kontrol, 12-negatif kontrol, M- Marker (Thermo Scientific, ABD 100 bç)



Şekil 4.8. Kültür örneklerinde *Dientamoeba fragilis* SSU rRNA gen bölgesini hedef alan prob bazlı Real-Time PCR sonuçları

Tablo 4.4. Farklı tanı yöntemleri ile elde edilen *D.fragilis* pozitifliğinin ishal durumuna göre dağılımı

Yöntem	İshal durumu				Toplam	
	Var		Yok			
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
DHB	-	-	13	% 12,2	13	% 10,7
TB	-	-	2	% 1,9	2	% 1,7
PCR	1	% 6,6	6	% 5,7	7	% 5,8
Real-Time PCR	-	-	13	% 12,2	13	% 10,7

DHB; Demir Hematoksilen Boyama

TB; Trikrom Boyama

İncelemesi yapılan toplam 121 dışkı örneğinin 15'inin ishalleri tespit edilmiştir. Tespit edilen ishalleri dışkılarından, demir hematoksilen boyama sonucunda pozitif örneğe rastlanmamıştır. Fakat ishalleri olmayan örneklerin 13'ü (%10,7) demir hematoksilen boyama yöntemi ile pozitif bulunmuştur. İshalleri dışkıların trikrom boyama yöntemi ile boyanması sonucunda pozitif örneğe rastlanmamıştır. İshalleri olmayan dışkılarda ise trikrom boyama açısından 2 (%1,7)'si pozitif bulunmuştur.

Yapılan çalışmada kullanılan PCR yöntemi ile ishalleri dışkıların 1'i (%6,6) pozitif iken, ishalleri olmayan dışkıların 6'si (%5,7) pozitif bulunmuştur. Real-Time PCR yönteminde ise ishalleri dışkılarda pozitif örneğe rastlanmaz iken, ishalleri olmayan dışkılarından 13'ü (%10,7) pozitif olarak tespit edilmiştir. Kullanılan yöntemlerde elde edilen pozitiflik oranları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görülmüştür ($\chi^2=2,244$, $p \leq 0,05$).

Prob bazlı Real-Time PCR'da elde edilen sonuçlarına göre hem araştırma grubuna (Tablo 4.4) hem de kültür grubuna (Tablo 4.5) ait demir hematoksilen, trikrom boyama, PCR ve Real-Time PCR yöntemlerinin sensitivite ve spesifiteleri hesaplanmıştır.

Tablo 4.5. Araştırma grubuna ait demir hematoksilen, trikrom boyama, PCR ve Real-Time PCR yöntemlerinin sensitivite ve spesifiteleri

Yöntem		Real Time PCR		Sensitivite	Spesifite
		Pozitif	Negatif		
DHB	Pozitif	6	8	%46	%93
	Negatif	7	100		
TB	Pozitif	-	1	%0	%99
	Negatif	13	107		
PCR	Pozitif	7	-	%54	%100
	Negatif	6	108		

DHB; Demir Hematoksilen Boyama

TB; Trikrom Boyama

İncelenen 121 dışkı örneğinden 6'sı (%5) hem DHB'de hem de Real-Time PCR'da pozitif belirlenirken, 7 (%5,7)'i Real-Time PCR'da pozitif iken DHB' de negatif olarak belirlenmiştir. Dışkı örnekleri hem trikrom boyamada hem de Real-Time PCR'da negatif belirlenirken, trikrom boyamada negatif belirlenen örnekler, Real-Time PCR'da 13 (%10,7)'ü pozitif olarak belirlenmiştir. İncelenen dışkı örneklerinden 7 (%5,7)'i hem PCR'da hem de Real-Time PCR'da pozitif, 6 (%5)'sı PCR'da negatif iken, Real-Time PCR'da pozitif olarak değerlendirilmiştir.

İncelenen dışkı örneklerinde Real-Time PCR yöntemi esas alınarak yapılan sensitivite ve spesifite değerleri sırasıyla demir hematoksilende %46 ve %93, trikrom boyamada %0 ve %99, PCR'da %54 ve %100 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.6. Kültür grubuna ait demir hematoksilen, trikrom boyama, PCR ve Real-Time PCR yöntemlerinin sensitivite ve spesifiteleri

Yöntem		Real Time PCR		Sensitivite	Spesifite
		Pozitif	Negatif		
DHB	Pozitif	2	5	%67	%96
	Negatif	1	113		
TB	Pozitif	1	3	%33	%98
	Negatif	2	115		
PCR	Pozitif	2	-	%66	%100
	Negatif	1	108		

DHB; Demir Hematoksilen Boyama

TB; Trikrom Boyama

İncelenen 121 dışkı örneğinden elde edilen kültür örneklerinin 2 (%1,6)'si hem DHB'de hem de Real-Time PCR'da pozitif belirlenirken, 1 (%0,8)'i Real-Time PCR'da pozitif iken DHB'de negatif olarak belirlenmiştir. Kültür örneklerinin hem TB'de hem de Real-Time PCR'da 1 (%0,8)'i pozitif belirlenirken, 2 (%1,6)'si TB'de negatif, Real-Time PCR'da ise pozitif olarak belirlenmiştir. İncelenen kültür örneklerinden 2 (%1,6)'si hem PCR'da hem de Real-Time PCR'da pozitif, 1 (%0,8)'i PCR'da negatif iken, Real-Time PCR'da pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Real-Time PCR yöntemi esas alınarak yapılan kültür örneklerine ait sensivite ve spesifite değerleri ise sırasıyla demir hematoksilende %67 ve %96, trikrom boyamada %33 ve %98, PCR'da %67 ve %100 olarak bulunmuştur.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Dientamoeba fragilis, insanlarda gastrointestinal sisteme yerleşen ve gastrointestinal sistem hastalığına sebep olan patojen bir parazittir. Patojen protozoonlar içerisinde, hakkında az bir bilgiye sahip olunması, özellikle yaşam döngüsünde ve taşınmasındaki bilgi eksikliği, yeterli tanı testlerinin olmaması ve aksenik kültürde üretilmemesi epidemiyolojik çalışmaların artmasında etkili olmuştur (63,65,76-78). Parazitin hem taze dışkılarda hem de boyama yöntemleri ile teşhisi zor olması sebebiyle ve kullanılan tanı yöntemlerine göre dünyadaki prevalansı değişiklik göstermektedir (9,18,20,21).

Bu çalışmada; *Dientamoeba*'nın gastrointestinal şikâyeti olan hastalarda yaygınlığının araştırılması, tanıda kullanılan farklı yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda; gastrointestinal şikâyeti olan hasta grubu ve sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubu örneklerinin incelenmesinde *Dientamoeba*'nın tanısında kullanılan 5 farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden Real-Time PCR ile elde edilen sonuçlar referans alınarak diğer yöntemlerin duyarlılıkları ve özgüllükleri belirlenmiştir. Kullanılan yöntemler içerisinde DHB yöntemi, TB yöntemi, Robinson kültür yöntemi, PCR ve Real-Time PCR yer almaktadır.

Crotti ve D'Annibale (79) tarafından yapılan çalışmada toplanan 151 (105'i ishalleri grub ve 46 şekilli dışkılarından oluşan iki gruba ayrılmıştır) dışkı örneği direk nativ-lügol içerisinde ve daha sonra Dobell solüsyonunda yayılarak, MIF ve Giemsa boyaları ile boyanmıştır, sadece ihtiyaç halinde demir hematoksilin ve trikrom boyam yöntemine başvurulmuştur. İshalleri grub içerisindeki oran %7,6, diğer grup içerisinde oran %13,8 iken, toplamda preparatlarda %11,3 oranında *D.fragilis* gözlemlenmiştir. Ribes ve

ark.(80) tarafında intestinal coccidianları belirlemek için yapılan çalışmada, 351 dışkı örneği Kinyoun modifiye asit fast boyama yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Rutinde kullanılan trikrom boyama ile karşılaştırıldığında ise 15 hasta örneğinin bir veya birden fazla intestinal parazit içerdiği belirlenmiştir. Bunlardan 2'si *D.fragilis* açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir. Garcia ve Cimerman (81) tarafından yapılan çalışmada 82 HIV/AIDS enfekte hastaya ait dışkı örnekleri demir hematoksilin ile boyanmış ve *D.fragilis*'i belirlemede diğer tekniklere oranla 2,7 kat daha iyi olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda gastrointestinal şikayeti olan hastalardan elde edilen örnekler ile kontrol grubu örneklerinin hem demir hematoksilinle boyanması hem de trikron boyama yöntemi ile boyanmasında, her iki grupta da demir hematoksilin boyama yönünden yüksek oranda pozitiflik tespit edilmiştir. Trikrom boyama, demir hematoksilin boyamaya göre daha kısa zaman alması açısından avantajlı olmasına rağmen, demir hematoksilin boyama yönteminin parazitin morfolojik açıdan tanınması yönünden daha avantajlı olduğunu düşünmekteyiz. Aynı zamanda kültüre edilen hasta grubu ve kontrol grubu örnekleri içerisinde de demir hematoksilin boyama yönünden pozitiflik tespit edilmiştir. Araştırma grubu ile kültür grubu karşılaştırıldığında pozitiflik oranı kültür grubuna oranla düşüş göstermektedir. Bu durumda kullanılan kültür yönteminin sadece *D.fragilis*'i üretmek için kullanılan yöntem değil amiplerin üretilmesi için kullanılan yöntem olması ve parazitin kültürünün uzun süre devam ettirilememesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kullanılan moleküler yöntemler içerisinde PCR ve Real-Time PCR yöntemleri yer almaktadır. Moleküler yöntemler üzerine yapılan çalışmalar oldukça artış göstermektedir. Stark ve ark. (82) tarafından gastrointestinal şikayeti olan hastalarda yapılan çalışmada mikroskobisi pozitif 31 hastanın 29 PCR' da pozitif bulunmuştur. PCR yönteminin %100 spesifite ve %93,5 sensivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Stark ve ark. (12) tarafından yapılan bir diğer çalışmada 6750 dışkı örneği incelenmiş ve kalıcı boyama yöntemi ile pozitif bulunan 60 dışkı örneği PCR yöntemi ile doğrulanmıştır. Hastaların 32'sinin diyare ve abdominal karın ağrısı şikayeti bulunan kronik semptomlu hastalar olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan boyama yöntemlerini PCR yöntemleri ile karşılaştırdığımızda; mikroskobide pozitif olan dışkı ve kültür örneklerinin miktarı PCR yöntemi ile elde edilen pozitif örneklerden azdır. Bu durumun dışkıda bulunan parazit sayısının az

olmasından kaynaklandığını, kültür örneklerinde ise kültürün uzun süre devam ettirilememesi sonucu parazit miktarının kültür sırasında azalmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Aynı zamanda *Dientamoeba fragilis*'in boyama yöntemlerinde, PCR yönteminin boyama yöntemine göre daha hassas olmasına rağmen pozitif oranların fazla görülmesinin; *D.fragilis*'in morfolojik olarak birbirlerine benzerlik gösteren parazitlerle karıştırılabileceği ve kültür yönteminin sadece bu parazit için spesifik olmadığı gibi birçok parazitin besiyerinde üremesinin yanlış pozitifliğe neden olacağını düşünmekteyiz.

Real-Time PCR yöntemi ile dışkı örneklerinde %100 duyarlılık ve özgüllük göstermesi, aynı zamanda iki saat gibi daha kısa bir sürede, daha hızlı sonuçlar elde edilmesi, bu yöntemin hem tanı süresi hem de kontaminasyon riski azaltılmasıyla konvansiyonel PCR üzerinde avantajlı hale gelmiştir (65,66). Calderaro ve ark. (83) tarafından yapılan ve *D.fragilis* 5.8S rDNA'sını hedef alan Real-Time PCR yöntemi ile kültür yöntemi uygulanan intestinal parazit şüpheli 491 hastadan alınan 959 dışkı örneği karşılaştırılmıştır. Bunun sonucunda kültür yöntemine ek olarak Real-Time PCR'da 117 örneğin daha pozitif olduğu belirlenmiştir. Maas ve ark. (84) tarafından gastrointestinal şikayeti olan ve yaşları 0-18 arasında değişen çocuk hastalarda bulunan intestinal protozoonları belirlemek için yaptıkları çalışmada, 163 çocuk hastanın 114'ünün multipleks Real-Time PCR'da pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Çocuk hastaların 49'unun ise *Blastocystis hominis* ile enfekte iken 47'sinin ise her iki parazit ile enfekte olduğu bildirilmiştir. Jong ve ark. (85)'nin retrospektif olarak yaptıkları çalışmada, 132 kronik karın ağrısı olan ve 77 gastrointestinal şikayeti olmayan çocuklarda multipleks Real-Time PCR yöntemini kullanarak *D.fragilis*'i belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu çalışmada 132 hastanın 57'sinin, kontrol grubunda ise 77 kişiden 39'unun pozitif olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda PCR yöntemi ile Real-Time PCR'ı kıyasladığımızda, PCR'da negatif olarak bulduğumuz örneklerin Real-Time PCR'da pozitif olduğu görülmüştür. Bu durumda PCR'da elde edilen DNA miktarının agaroz jelde görülemeyecek kadar düşük olması ve PCR yönteminin Real-Time PCR yöntemi kadar hassas olmamasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Dientamoeba fragilis enfeksiyonu ile ishal arasındaki ilişkiyi araştırmak için Al-Hindi ve Shammala (86) tarafından Al-Nuseirate Mülteci Kampı Kliniğinde yapılan

çalışmaya yaşları 1-75 arasında değişen, ishal ve karın ağrısı şikayeti olan kişiler dahil edilmiştir. Yapılan çalışmada; *Dientamoeba fragilis* ile enfekte 28 kişinin, %96.4'ü karın ağrısı ve %71.4'ü ishal şikayeti olduğu belirtilmiştir. 2013-2011 yılları arasında akut gastroenteritli çocuklarda *Dientamoeba fragilis*'in belirlenmesi için Júlio ve ark. (87) tarafından yapılan çalışmada, 103'ü (%58.5) erkek, 144'ü (%81.8) 0 ve 5 yaş arasında olan ve 32'si (%18.2) 6 yaş üstü olan toplam 176 çocuk çalışmaya dahil edilmiştir. Çocuk hastaların %6.3'ü (11/176) *Dientamoeba fragilis* açısından pozitif bulunmuş ve enfekte hastalarda kusma, karın ağrısı, ateş ile birlikte ishalin gözlemlendiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda incelemesi yapılan toplam 121 dışkı örneğinin 15'inin ishalleri olduğu tespit edilmiştir. İshalleri olan dışkılarından 1'inin (%6,6) sadece PCR yöntemiyle pozitif olduğu saptanmıştır. Bu durum gastrointestinal şikayeti olan hastalarda ishalin görülmesi durumunda, tanı için sadece bu belirtinin yeterli olmayacağını düşünmekteyiz.

Çeşitli çalışmalarda konvansiyonel çalışmalar ile moleküler yöntemlerin sensitivite ve spesifitesinin kıyaslanması yapılmıştır. D. Stark ve ark. (12) tarafından yapılan ve 3 tanı metodunun değerlendirildiği çalışmada, SSU rRNA genini hedef alan 5'nükleaz (TaqMan)-bazlı Real-Time PCR geliştirilmiş, konvansiyonel PCR ve modifiye edilmiş demir hematoksilin boyama yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Toplamda çalışılan 200 örnek için bu 3 metod uygulanmıştır. Mikroskopi de 200 hastanın 50'si (%92.4 duyarlılık ve %98.7 özgüllük), konvansiyonel PCR'da 48'i (%88.9 duyarlılık ve %100 özgüllük), Real-Time PCR'da ise 51'inin (%100 duyarlılık ve özgüllük) pozitif olduğu bildirilmiştir. D. Stark ve ark. (9) yapmış olduğu bir diğer çalışmada, 650 dışkı örneğine demir hematoksilin boyam yöntemi, modifiye edilmiş Boeck ve Drbohlav'ın besiyeri (MBD) ve TYGM-9 besiyeri, PCR ve Real-Time PCR yöntemi uygulanmıştır. 650 dışkının 35'i (%5.4) *D. fragilis* açısından pozitif bulunmuştur. Real-Time PCR'da 35 dışkı pozitif iken, konvansiyonel PCR'de 15, MBD besiyerinde 14, TYGM-9 besiyerinde 10, mikroskobide ise 12 örnek pozitif bulunmuştur. Diğer tanı yöntemleri ile kıyasla Real-Time PCR'da daha fazla pozitif örnek bildirilmiştir. Diğer metodlarla karşılaştırıldığında sensitivite ve spesifitelerinin sırasıyla, Real-Time PCR'da %100, konvansiyonel PCR'da %42.9 ve %100, MBD kültüründe %40 ve %100, TYGM-9 besiyerinde %28.6 ve %100, mikroskobide ise %34.3 ve %99 olduğu gösterilmiştir.

İncelenen dışkı örneklerinde Real-Time PCR yöntemi esas alınarak yapılan sensivite ve spesifite değerleri sırasıyla demir hematoksilende %46 ve %93, trikrom boyamada %0 ve %99, PCR'da %54 ve %100 olarak bulunmuştur. Real-Time PCR yöntemi esas alınarak yapılan kültür örneklerine ait sensivite ve spesifite değerleri ise sırasıyla demir hematoksilende %67 ve %96, trikrom boyamada %33 ve %98, PCR'da %67 ve %100 olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak;

Bu çalışmada *Dientamoeba fragilis*'in farklı tanı yöntemleri ile yaygınlığının araştırılması ve tanıda kullanılan yöntemlerin sensivite ve spesivitelerin ve belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bulgular sonucunda hasta grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklı olduğu gözlemlenmiştir. Diğer taraftan *Dientamoeba fragilis*'in tanısında konvansiyonel yöntemlerin yetersiz kaldığı ve bu yöntemlerin düşük sensivite ve spesifiteye sahip olduğundan yanlış pozitiflik veya negatiflik verme olasılığının olması nedeniyle, ayrıca daha kısa zamanda tanının konulması ve tedaviye başlanması açısından Real-Time PCR yönteminin kullanılmasının isabetli olacağı, Real-Time PCR'ın bulunmadığı durumlarda ise hem demir hematoksilin boyama hem de konvansiyonel PCR'ın birlikte kullanılmasının gerektiğinin sonucuna varılmıştır.

Dientamoeba üzerine yapılacak olan çalışmalarla, Türkiye genelinde epidemiyolojik verilerin ortaya konması ile bilime katkı sağlayacağı açıktır. *Dientamoeba fragilis*'in hayat döngüsü içerisinde; bulaş ve taşınmasında bilinmeyenlerin olması sebebiyle ileriki çalışmalarda bulaş ve taşınma konusunda araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu kanaatindeyiz.

6.KAYNAKLAR

1. Girginkardeşler N, Kurt Ö, Dientamoebiosis. Özcel MA (ed), Özcelin Tibbi Parazit hastalıkları. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir. 2007; ss:411-421.
2. Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. et al. Emerging from obscurity: biological, clinical, and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. Clin Microbiol Rev 2004;17:553-570.
3. Burrows RB and Swerdlow MA. *Enterobius vermicularis* as a probable vector of *Dientamoeba fragilis*. Am J Trop Med Hyg 1956;5:258-265.
4. Katz DE and DN Taylor. Parasitic infections of the gastrointestinal tract. Gastroenterol. Clin North Am 2001;30:797-815.
5. Preiss U, Ockert G, Broemme S, Otto A. On the clinical importance of *Dientamoeba fragilis* infections in childhood. Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology, and Immunology 1991;35: 27.
6. Cuffari C, Olin L, Seidman EG. *Dientamoeba fragilis* masquerading as allergic colitis. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 1998;26:16–20.
7. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. A review of the clinical presentation of *dientamoebiasis*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2010;82:614–619.
8. Barratt JL, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D et al. A review of *Dientamoeba fragilis* carriage in humans: several reasons why this organism

- should be considered in the diagnosis of gastrointestinal illness. *Gut Microbes* 2011;2:3-12.
9. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. Comparison of microscopy, two xenic culture techniques, conventional and Real-Time PCR for the detection of *Dientamoeba fragilis* in clinical stool samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:411-416.
 10. Windsor JJ, Johnson EH. *Dientamoeba fragilis*: the unflagellated human flagellate. *Br J Biomed Sci* 1999;56:293-306.
 11. Stark DJ, Beebe N, Marriott D, Ellis JT, Harkness J. *Dientamoebiasis*: Clinical importance and recent advances. *Trends Parasitol* 2000;22:92-96.
 12. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J and Harkness J. Evaluation of Three Diagnostic Methods, Including Real-Time PCR, for Detection of *Dientamoeba fragilis* in Stool Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 2006;44:232-235.
 13. Güreşer AS, Ergüven S. *Dientamoeba fragilis* (Derleme). *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004;35:168-170.
 14. Mumcuoğlu İ, Coşkun FA, Aksu N, Purnak T, Güngör Ç. İBS'de *D. fragilis* ve *Blastocystis* spp. Rolü. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2013;37:73-7.
 15. Camp RR, Mattern CF, Honigberg BM. et al. Study of *Dientamoeba fragilis* Jepps and Dobell. I. Electron microscopy observations of the binucleate stages. II. *J Protozool* 1974;21:69-82.
 16. Levine ND. A new revised classification of the protozoa. *J Protozool* 1980;27:37-58.
 17. Silberman JD, Clark CG, Sogin ML. et al. *Dientamoeba fragilis* shares a recent common evolutionary history with the trichomonads. *Mol Biochem Parasitol* 1996;76:311-314.
 18. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. Comparison of microscopy, two xenic culture techniques, conventional and Real-Time PCR for the detection of *Dientamoeba fragilis* in clinical stool samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:411-6.
 19. Chan F, Stewart N, Guan M, Robb I, Fuite L, Chan I, et al. Prevalence of *Dientamoeba fragilis* antibodies in children and recognition of a 39 kDa immunodominant protein antigen of the organism. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:950-4.

20. Windsor JJ, Macfarlane L, Hughes-Thapa G, Jones SK, Whiteside TM. Detection of *Dientamoeba fragilis* by culture. *Br J Biomed Sci* 2003;60:79-83.
21. Verweij JJ, Mulder B, Poell B, van Middelkoop D, Brienen EA, van Lieshout L. Real-Time PCR for the detection of *Dientamoeba fragilis* in fecal samples. *Mol Cell Probes* 2007;21:400-4.
22. Rayan HZ, Ismail OA, El Gayar EK. Prevalence and clinical features of *Dientamoeba fragilis* infections in patients suspected to have intestinal parasitic infection. *J Egypt Soc Parasitol* 2007;37:599-608.
23. Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Wallinga JA, Ruijs GJ, Bruins MJ, Verweij JJ. Parasitological diagnosis combining an internally controlled Real-Time PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. *Clin Microbiol Infect* 2009;15:869-74.
24. Clark CG, Röser D, Stensvold CR. et al. Transmission of *Dientamoeba fragilis*: pinworm or cysts? *Trends Parasitol* 2014;30:136-140.
25. Dobell, C. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man. X. The life history of *Dientamoeba fragilis*: observations, experiments, and speculations. *Parasitology* 1940;32:417-461.
26. Stensvold CR, Clark CG, Röser D. et al. Limited intra-genetic diversity in *Dientamoeba fragilis* housekeeping genes. *Infect Genet Evol* 2013;18:284-286.
27. Burrows RB and Swerdlow MA. *Enterobius vermicularis* as a probable vector of *Dientamoeba fragilis*. *Am J Trop Med Hyg* 1956;5:258-265.
28. Röser D, Nejsum P, Carlsberg AJ, Nielsen HV, Stensvold CR. et al. DNA of *Dientamoeba fragilis* detected within surface-sterilized eggs of *Enterobius vermicularis*. *Exp Parasitol* 2013;133:57-61.
29. Ögren J, Dienus O, Löfgren S, Iveroth P, Matussek A. et al. *Dientamoeba fragilis* DNA detection in *Enterobius vermicularis* eggs. *Pathog Dis* 2013;69:157-158.
30. Munasinghe VS, Vella NG, Ellis JT, Windsor PA, Stark D et al. Cyst formation and faecal–oral transmission of *Dientamoeba fragilis* – the missing link in the life cycle of an emerging pathogen. *Int J Parasitol* 2013;43:879-883.
31. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. A review of the clinical presentation of *dientamoebiasis*. *Am J Trop Med Hyg* 2010b;82:614-619.

32. Costa F, Mumolo M, Bellini M, Romano M, Ceccarelli L, Arpe P, Sterpi C, Marchi S, Maltinti G. Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation. *Dig Liv Dis* 2003;35:642-647.
33. Barratt JLN, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. The ambiguous life of *Dientamoeba fragilis*: the need to investigate current hypotheses on transmission. *Parasitology* 2011;138:557-572.
34. Caccio SM, Sannella AR, Manuali E, Tosini F, Sensi M, Crotti D, Pozio E. Pigs as natural hosts of *Dientamoeba fragilis* genotypes found in humans. *Emerg Infect Dis* 2012;18:838-841.
35. Girginkardesler N, Coskun S, Balcioğlu C, Ertan P, Ok U. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. *Clinical Microbiology and Infection* 2003;9:110-113.
36. Tanyuksel M, Yilmaz H, Ulukanligil M, Araz E, Cicek M, Koru O, Tas Z, Petri WA Jr. Comparison of two methods (microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of amebiasis. *Exp Parasitol* 2005;110:322-6.
37. Karaman U, Atambay M, Aycan O, Yologlu S, Daldal N. Incidence of intestinal parasites in municipal sanitary workers in Malatya. *Turkiye Parazitol Derg* 2006;30:181-3.
38. Taş Cengiz Z, Akbayram S, Çiçek M, Yilmaz H. [Intestinal parasitoses detected in primary schoolchildren in the Van province]. *Turkiye Parazitol Derg* 2009;33:289-93.
39. Karaman U, Turan A, Depecik F, Geçit I, Ozer A, Karcı E, Karadan M. Frequency of intestinal parasites among administrators and workers in sanitary and non-sanitary institutions. *Turkiye Parazitol Derg* 2011;35:30-3.
40. Calik S, Karaman U, Colak C. Prevalence of microsporidium and other intestinal parasites in children from Malatya. *Indian J Microbiol* 2011;51:345-9.
41. Doğan N, Oz Y, Koçman NU, Nursal AF. Comparison of individual differences in the direct microscopic examination in the diagnosis of intestinal parasites. *Turkiye Parazitol Derg* 2012;36:211-4.
42. Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. The results of Hacettepe University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory in 2003-2012: evaluation of 10 years. *Turkiye Parazitol Derg* 2013;37:97-101.

43. Norberg A, Nord CE, Evengard B. *Dientamoeba fragilis* a protozoal infection which may cause severe bowel distress. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:65-8.
44. Grendon JH, DiGiacomo RF, Frost FJ. Descriptive features of *Dientamoeba fragilis* infections. *J Trop Med Hyg* 1995;98:309-15.
45. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Prospective study of the prevalence, genotyping and clinical relevance of *Dientamoeba fragilis* infections in an Australian population. *J Clin Microbiol* 2005;43:2718-23.
46. Spencer MJ, Garcia LS, Chapin MR. *Dientamoeba fragilis*. An intestinal pathogen in children? *Am J Dis Child* 1979;133:390-3.
47. Preiss U, Ockert G, Broemme S, Otto A. On the clinical importance of *Dientamoeba fragilis* infections in childhood. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1991;35:27-34.
48. Preiss U, Ockert G, Bromme S, Otto A. *Dientamoeba fragilis* infection, a cause of gastrointestinal symptoms in childhood. *Klin Padiatr* 1990;202:120-3.
49. Windsor JJ, Johnson EH. *Dientamoeba fragilis*: the unflagellated human flagellate. *Br J Biomed Sci* 1999;56:293-306.
50. Shein R, Gelb A. Colitis due to *Dientamoeba fragilis*. *Am J Gastroenterol* 1983;78:634-6.
51. Schwartz MD, Nelson ME. *Dientamoeba fragilis* infection presenting to the emergency department as acute appendicitis. *J Emerg Med* 2003;25:17-21.
52. Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. Emerging from obscurity: biological, clinical and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:553-70.
53. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. *Dientamoeba fragilis* as a cause of travelers' diarrhea: report of seven cases. *J Travel Med.* 2007; 14:72-3.
54. Spencer MJ, MR Chapin and LS Garcia. *Dientamoeba fragilis*: a gastrointestinal protozoan infection in adults. *Am J Gastroenterol* 1982;77:565-569.
55. Burrows RB. A new fixative and technics for the diagnosis of intestinal parasites. *Tech Bull Regist Med Technol* 1967;37:208-212.
56. Goldman M and MM Brooke. Protozoans in stools unpreserved and preserved in PVA fixative. *Public Health. Rep* 1953;68:703-706.
57. Scholten T. An improved technique for the recovery of intestinal protozoa. *J Parasitol* 1972;58:633-634.

58. Yang J and T Scholten. A fixative for intestinal parasites permitting the use of concentration and permanent staining procedures. *Am J Clin Pathol* 1977; 67:300-304.
59. Sawangjaroen N, Luke R, Prociv P. et al. Diagnosis by faecal culture of *Dientamoeba fragilis* infections in Australian patients with diarrhoea. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993;87:163-165.
60. Clark CG and Diamond L. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:329-341.
61. Chan FT, Guan MX, Mackenzie AM. et al. Application of indirect immunofluorescence to detection of *Dientamoeba fragilis* trophozoites in faecal specimens. *J Clin Microbiol* 1993; 31:1710-1714.
62. Chan FT, Guan MX, Mackenzie AM, Diaz-Mitoma F. et al. Susceptibility testing of *Dientamoeba fragilis* ATCC 30948 with iodoquinol, paromomycin, tetracycline and metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:1157-1160.
63. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. et al. Detection of *Dientamoeba fragilis* in fresh stool specimens using PCR. *Int J Parasitol* 2005;35:57-62.
64. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Evaluation of three diagnostic methods, including Real-Time PCR, for detection of *Dientamoeba fragilis* in stool specimens. *J Clin Microbiol* 2006;44:232-5.
65. Peek R, Reederker FR, van Gool T. et al. Direct amplification and genotyping of *Dientamoeba fragilis* from human stool specimens. *J Clin Microbiol* 2004;42:631-635.
66. van Gool T, Weijts R, Lommerse E, Mank TG. et al. The triple faeces test: an effective tool for the detection of intestinal parasites in routine clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:284-290.
67. Butler WP. *Dientamoeba fragilis*. An unusual intestinal pathogen. *Dig Dis Sci* 1996;41:1811-1813.
68. Norberg A, Nord CE, Evengard B. et al. *Dientamoeba fragilis* – a protozoal infection which may cause severe bowel distress. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:65-68.

69. Cuffari C, Oligny L, Seidman EG. et al. *Dientamoeba fragilis* masquerading as allergic colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;26:16-20.
70. Nagata N, Marriott D, Harkness J, Ellis JT, Stark D. Current treatment options for *Dientamoeba fragilis* infections. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2012;3:204-15.
71. Millet VE, Spencer MJ, Chapin MR, Garcia LS, Yatabe JH, Stewart ME. Intestinal protozoan infection in a semicomunal group. *Am J Trop Med Hyg* 1983;32:54-60.
72. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Dientamoeba.htm> Erişim Tarihi 02.02.2015
73. Korkmaz M, Ok ÜZ. *Parazitolojide Labotavuar. Meta Basım, İzmir. 2011; ss:12-13.*
74. Clark CG, Diamond S. Methods for Cultivation of Luminal Parasitic Protists of Clinical Importance *Clinical Microbiology Reviews* 2002;329-341.
75. <http://www.studydroid.com>. Erişim Tarihi 13.01.2015.
76. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. et al. A prospective study on the prevalence, genotyping and clinical relevance of *Dientamoeba fragilis* infections in an Australian population. *J Clin Microbiol* 2005;43:2718-2723.
77. Johnson J A and Clarke GC. Cryptic genetic diversity in *Dientamoeba fragilis*. *J Clin Microbiol* 2000;38:4653-4354.
78. Windsor JJ, Clark CG, Macfarlane L et al. Molecular typing of *Dientamoeba fragilis*. *Br J Biomed Sci* 2004;61:153-155.
79. Crotti D, D'Annibale ML. [*Dientamoeba fragilis* and dientamoebiasis: aspects of clinical parasitology and laboratory diagnosis]. *Parassitologia* 2001;43:135-8.
80. Ribes JA, Seabolt JP, Overman SB. Point prevalence of *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, and *Isospora* infections in patients being evaluated for diarrhea. *Am J Clin Pathol* 2004;122:28-32.
81. Garcia JA, Cimerman S. Detection of *Dientamoeba fragilis* in patients with HIV/AIDS by using a simplified iron hematoxylin technique. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012;45:156-8.
82. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Detection of *Dientamoeba fragilis* in fresh stool specimens using PCR. *Int J Parasitol* 2005;35:57-62.

83. Calderaro A1, Gorrini C, Montecchini S, Peruzzi S, Piccolo G, Rossi S, Gargiulo F, Manca N, Dettori G, Chezzi C. Evaluation of a RT-polymerase chain reaction assay for the detection of *Dientamoeba fragilis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;67:239-45.
84. L Maas, JW Dorigo-Zetsma, CJ de Groot, S Bouter, FB Ploetz and BE van Ewijk. Detection of intestinal protozoa in paediatric patients with gastrointestinal symptoms by multiplex Real-Time PCR. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:545-550.
85. de Jong MJ, Kortering JJ, Benninga MA, Hilbink M, Widdershoven J, Deckers-Kocken JM. *Dientamoeba fragilis* and chronic abdominal pain in children: a case-control study. *Arch Dis Child* 2014;99:1109-13.
86. Al-Hindi AI, Shammala BM. *Dientamoeba fragilis* in Gaza Strip: a Neglected Protozoan Parasite. *Iran J Parasitol* 2013;8:249-55.
87. Júlio C, Furtado C, Rocha R, Escobar C, Brito MJ, Oleastro M. Detection of *Dientamoeba fragilis* in Portuguese children with acute gastroenteritis between 2011 and 2013. *Parasitology* 2015;21:1-6.

YER KURULUM ADI	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İLİM VE İKTİSADİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ
ACİL İLETİŞİM	Uludağ Üniversitesi Yaşam Bilimleri Enstitüsü (0312) 361 00 00
TELEFON	(0312) 361 00 00
FAX	(0312) 361 00 00
E-POSTA	uludag@uludag.edu.tr

DENEYİMİN TANIMLAMA	BAŞVURU NO	Deneyimlerin başlatma tarihi hakkında Deneyimci ile ilgili olarak		
	BAŞVURU NO (ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ)			
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ	Yerli / Yabancı		
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ	Yabancı		
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ	Yerli / Yabancı		
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ	Uludağ Üniversitesi Yaşam Bilimleri Enstitüsü (0312) 361 00 00		
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ			
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ			
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ			
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ			

DENEYİMİN TANIMLAMA	SINIF NO	Sınıf	Yerli / Yabancı	SINIF		
				Sınıf	Sınıf	Sınıf
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ			Sınıf	Sınıf	Sınıf
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ			Sınıf	Sınıf	Sınıf
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ			Sınıf	Sınıf	Sınıf
	ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ			Sınıf	Sınıf	Sınıf

DENEYİMİN TANIMLAMA	SINIF NO	SINIF					
		ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ					
		ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ					
		ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ					
		ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ					
		ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ					
		ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ					
		ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ İZMİR EKONOMİK VE İŞLETİM FAKÜLTESİ					



DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	ÜYERLİK BELGELERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER	<input type="checkbox"/>	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2019/636	Karar Tarihi : 22.11.2019	Fakülte Şefi
	<p>Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırmaya başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekliliği, amaç, yöntem ve yönetimi dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıyla katılan Etik Kurul üye tam sayısının oy birliği ile karar verilmiştir.</p>		

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESADI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İy Klinik Uygulamalar Kılavuzu
----------------------	---

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADISOYADI : Prof. Dr. Rahan DÜŞÜNSEL

ETİK KURUL ÜYELERİ						
Ünvanı / Adı Soyadı / Ek Ünvanı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Disciplin	İşletme (%)	Katılım (%)	İmza
Prof. Dr. Rahan DÜŞÜNSEL	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Kadirahmet YEDEĞİ	Anest. ve Rean.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. SİBHAN KUR	Tıbbi Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İsmail DEMİR	Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mustafa KARAKURUCU	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hakan ERİNÇ	Kardiyoloji	Kayseri Eğitim Hastanesi	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Erdem KILIÇ	Ağz. Diş ve Çene Cerrahisi	E.Ü. Diş Hek. Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayhan ÖNAL	İç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yardımcı Doç. Dr. Ayta YILDIRIM	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yardımcı Doç. Dr. Zeynep SEZER	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yardımcı Doç. Dr. Feriye GÜMÜŞ	Biyo kimya	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Av. Zeynep Tuğrul SARMSIZAN	Avukat	Hukuk Müşaviri	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Em. Şekir TERZİ	İktisadi	Seküler Ekonomi	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Şekir KARACA	İktisadi	Öğretmeni	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> X <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOE)

Bu çalışmada; Gastrointestinal şikayeti olan hastalarda *Dientamoeba fragilis*'in araştırılması amaçlanmıştır.

Alınan dışkı örnekleri, direkt mikroskopik inceleme kültür yöntemi, boyama yöntemleri ve moleküler yöntemlerle incelenecektir.

Alternatif tedavi veya girişimler olmayacak; aynı zamanda araştırma sırasında karşılaşılabileceğiniz riskler yoktur.

Araştırmaya katılmak isteğinize bağlı olup, bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmayacak ve hiçbir hakkınızı kaybetmeyeceksiniz. Araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan istediğiniz zaman çekilebilirsiniz;

Kimliğiniz gizli tutulacak; kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde bile kimliğiniz gizli kalacaktır.

Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabileceğiniz Kişi:

Prof. Dr. İzzet Şahin, Tel: 2076666 / Dahili: 23400

GÖNÜLLÜ OLURU

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama, aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi ve kendi isteğime baktılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Adı Soyadı

İmza

Tarih

Gönüllünün:

Açıklamaları Yapan Kişi:

Gerekliyse Tamk Olan Kişi:

Gerekliyse Yasal Temsilcinin:

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Eda SIVCAN
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 09.02.1989
Tel : 530 770 37 31
E-mail : edasvcn_38@hotmail.com

Öğrenim durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Fen-edebiyat Fakültesi/Biyoloji	Erciyes Üniversitesi	2007-2011
Yüksek lisans	Tıbbi Parazitoloji ABD	Erciyes Üniversitesi	2011/2012- devam ediyor

Tez danışmanı: Prof. Dr. İzzet ŞAHİN

Bilimsel Kuruluşa Üyelikler:

Türkiye Parazitoloji Derneği

Türkiye Hidatoloji Derneği

ESERLER

Posterler

- 1- S Kuk, Cetinkaya U, Yazar S, **Sivcan E**, Sahin I. The High Prevalence of E.intestinalis in Patients Receiving Chemoterapy and Growth Retardation Children. IFIC-HISI, 21-24 March 2015. New Delhi, India.
- 2- Yazar S, **Sivcan E**, Şakalar Ç, Kuk S. Türkiye’de insandan elde edilen Taenia cinsi sestodların, cox1, coxb ve its-1 genleriyle moleküler karakterizasyonu. 29 Eylül-5 Ekim 2013. Denizli.

Katıldığı Kongreler:

18.ULUSAL Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim 2013/ Denizli