

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

79473

**ELAZIĞ YÖRESİNDE GIARDİOSİS
PREVALANSININ İNDİREKT İMMÜN FLUORESAN
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dr. MUSTAFA KAPLAN

F.Ü. TIP FAKÜLTESİ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

79473

DANIŞMAN

Y. Doç. Dr. AHMET GÖDEKMERDAN

ELAZIĞ-1998

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
I- ÖNSÖZ	
II- GİRİŞ	1
GIARDİOSİS.....	2
1- TANIM.....	2
2- TARİHÇE.....	2
3- SINIFLANDIRMA.....	2
4- SUŞ VE ANTİJENİK FARKLILIKLAR.....	4
5- YAPI.....	4
6- YAŞAM DÖNGÜSÜ.....	6
7- EPİDEMİYOLOJİ.....	7
8- PATOGENEZ VE PATOLOJİ.....	10
9- İMMÜNOLOJİ.....	13
10- KLİNİK.....	16
11- TANI.....	18
12- SAĞALTIM.....	22
13- KORUNMA.....	22
III- GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	25
1- HASTALAR.....	25
2- İFA TESTİ İÇİN ANTİJEN HAZIRLAMA.....	25
3- İFA TESTİ İÇİN ÖN ÇALIŞMALAR.....	27
4- İFA TESTİNİN UYGULANMASI.....	29
5- VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	31
IV- BULGULAR.....	33
V- TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41
VI- ÖZET.....	50
VII- SUMMARY.....	52
VIII- KAYNAKLAR.....	54
IX- ÖZGEÇMİŞ.....	68
X- TEŞEKKÜR.....	69
XI- EKLER.....	70

Giardiosiste sistemik immün yanıtın varlığı 1970'li yıllarda ortaya konmuş olmasına rağmen, son yıllara kadar bu konunun üzerinde gereği kadar durulmamıştır. Günümüzde *Giardia*'ya karşı tipik immün cevap olduğu bilinmekte ve buna dayalı serolojik tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Serolojik yöntemlerle yapılan çalışmalar, IgG ve IgA antikorlarının geçici ya da kısmi bir bağışıklık oluşturduğunu, IgM antikorlarının ise akut enfeksiyonları ayırtmede kullanılabileceğini ortaya koymuştur (15, 17, 25, 64, 71, 83, 91).

Tanı ve araştırma amacıyla kullanılan serolojik yöntemlerin son derece duyarlı ve özgül oldukları görülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmalarının çok faydalı olabileceği sık sık vurgulansa da bu alanda araştırmalar henüz çok azdır (79, 88, 89, 100).

Bu nedenle, çalışmamızda IFA yöntemiyle *G. intestinalis* kist ve trofozoit antijenlerine karşı oluşan IgG ve IgM antikor cevaplarını inceleyerek giardiosis seroprevalansını saptamayı amaçladık.

II. GİRİŞ

Giardia intestinalis, insan ve diğer memelilerin incebarsağında yerleşerek, asemptomatik hastalıktan şiddetli ishal, malabsorbsiyon ve kilo kaybına kadar değişik hastalık tabloları oluşturabilen, flagellalı bir barsak protozoonudur.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, giardiosisin ülkemizin bir çok bölgesinde çocuklarda en sık rastlanan parazit hastalığı olduğunu ortaya koymuştur. Giardiosisin uzun süre devam etmesi veya reenfeksiyonlarla yenilenmesi sindirim işlevini bozmaktadır. Özellikle yeterli ve dengeli beslenemeyen toplumlarda giardiosis, çocuklarda bedensel ve zihinsel gelişme bozukluklarına neden olmaktadır (71).

Giardiosise karşı konağın immun yanıtı henüz her yönüyle aydınlatılamamıştır. Toplumun değişik kesimlerinde seroprevalansın ve bunu etkileyen faktörlerin saptanması ile giardiosis immünolojisi ve epidemiyolojisinde yeni açılımlar sağlanacağı kanısındayız. Ayrıca, seroepidemiolojik çalışmalar, hastalığın kontrol altına alınması için yeni stratejiler geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

GIARDİOSİS

1. TANIM

Giardiosis; *G. intestinalis*'in insan incebarsağında, çoğunlukla duodenumda, bazen safra kesesi ve safra yollarında yerleşmesi ile oluşan ve sindirim bozuklukları ile ortaya çıkan bir protozoon enfeksiyonudur.

2. TARİHÇE

G. intestinalis'ten ilk olarak 1681'de A. Van Leuwenhock söz etmiş ancak, 1859'da Willem Dusen Lambl tarafından tanımlanmıştır. 1882'de Kustler tarafından Alfred Giard anısına "*Giardia*" olarak adlandırılmıştır (56). 1950'lere kadar gastrointestinal sistemde apatojen parazit olarak kabul edilmiş, 1954 yılında Rendtorff tarafından patojenitesi ortaya konmuştur. Parazitin kültürü ilk kez 1960'da Karapetyan tarafından yapılmış ve aksenik kültürler 1976 yılında Meyer tarafından HPS-1 besiyerinde başarılmıştır. Daha sonra Visvesvara TPS-1 besiyerinde ve Keister TYI-S-33 besiyerinde kültürlerinin başarılı olduğunu bildirmişlerdir (54). 1974'de, Thomas ve arkadaşları enterotestin giardia tanısında kullanılabileceğini göstermişlerdir. 1976 da Ridley ve Ridley tarafından anti*giardia* antikorlarının varlığı ve IFA'nın tanıda kullanılabileceği gösterilmiştir. Smith ve Gillin ise 1991 de ELISA yöntemlerini tanıda kullanmışlardır (71).

3. SINIFLANDIRMA

Giardia türlerinin ayırımında kullanılan ribozomal RNA sekans analizlerinin sonuçları ve ökaryotik hücrelere özgü pek çok organelin

bulunmaması göz önüne alınarak *Giardia*'nın en ilkel ökaryotlardan olduğu bildirilmiştir. Ancak bu konuda ileri biyokimyasal çalışmaların yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (94).

Giardia cinsinin sınıflandırılması

Evren	: Protista
Şube	: Protozoa
Alt şube	: Sarcomastigophora
Üst sınıf	: Mastigophora
Sınıf	: Zoomastigophora
Takım	: Diplomonadida
Aile	: Hexamitidae
Cins	: Giardia
Tür	: Giardia intestinalis

Giardia cinslerini gruplara ayırmada önce morfoloji, deneysel bulaşım ve konak özgüllüğü, in vivo ve in vitro büyüme ve gelişme, infektivite, virülans ve patojenite, ilaçlara duyarlılık ve antijenik özellikler gibi kriterler esas alınmıştır. Daha sonra protein ve enzim elektroforezi sonuçları, DNA hibridizasyon testleri ve moleküler karyotiplendirme çalışmaları da bu amaçla kullanılmıştır (36, 51, 92). *Giardia* cinsi, parazitin orta cisim şekilleri ile trofozoitinin şekli ve büyüklüğü dikkate alınarak *Giardia agilis*, *Giardia muris*, *Giardia duodenalis*, *Giardia intestinalis* (*G. lamblia*), *Giardia psittaci* ve *Giardia ardeae* olmak üzere altı türe ayrılmıştır (56, 71).

4. SUŞ VE ANTİJENİK FARKLILIKLAR

Farklı coğrafya ve değişik konaklardan elde edilen izolatlar arasında karyotip çeşitlilikleri gösterilmiş ve bu izolatların virulanslarında da farklılık olduğu ortaya konmuştur (2, 6, 13, 37, 51, 52, 59, 60, 62, 63, 84, 86). *G. intestinalis* trofozoitlerinin in vitro çoğalmaları sırasında da spontan antijenik varyasyonlar olduğu saptanmıştır (24). Buna rağmen, bu çeşitliliğin ayrı suşlardan söz etmek için yeterli olmadığı görüşü hakimdir (64, 90).

***Giardia intestinalis*'in eş adları:**

Cercomonas intestinalis, *Megastoma enterica*, *Lambliia intestinalis*, *Giardia enterica* ve *Giardia lamblia* şeklinde değişik soy ve tür adlarıyla tanımlanmıştır. Günümüzde bu protozoona, batı yarımküre ve Batı Avrupa'da *Giardia lamblia*; Fransa, eski Sovyetler Birliği ve Doğu Avrupa'da ise *Lambliia intestinalis* adı verilmektedir. Ülkemizde *Giardia intestinalis* adı yerleşmiştir (55, 71, 96).

5. YAPI

Giardia'nın diğer hastalık etkeni barsak protozoonlarından çok farklı ve daha gelişmiş bir yapısı vardır. *G. intestinalis*, tüm organellerinin çift ve simetrik olması, endoplazmik retikulum, blefaroblast, aksostil, parabazal cisimler ve emici diskinin olması ile diğer protozoonlardan ayrılır (71). *G. intestinalis*'in trofozoit ve kist şekilleri bulunmaktadır.

Trofozoit şekli, parazitin vejetatif formu olup, 9-21µm uzunluğunda, 5-15 µm genişliğinde, 2-4 µm kalınlığındadır. Trofozoitler bilateral simetrik olup

dorsal yüzü konveks, ventral yüzü düz ve vücudu dorso-ventral basıktır. Trofozoidin ön kısmı yuvarlak ve geniş olup arka uca doğru daralır, uzunluğuna ortadan kesilmiş armuda benzetilebilir. Ventral yüzünde, vücudun 3/4 kısmını kaplayan kenarları kabarık emici disk vardır. Emici disklerin arka kısmında aksonemleri çaprazlayan bir çift orta cisim bulunur. Bunlar *Giardia* cinsine özgü olup türlere göre hafif kıvrık, sosis, eğri çomak ve pençe gibi değişik şekillerde bulunabilirler. Sitoplazma, ince granüllü ve vakuolsüzdür. Ön uca yakın, belirgin merkezi karyozomu olan iki oval nükleusu vardır. 4 çift kamçısı vardır. Kamçılar, nükleusların arasındaki kinetozomal kompleksten çıkarlar, hareket etmeye ve tutunmaya yararlar. Karın kamçı çifti senkronik çarpma hareketi yaparak çekme gücü oluştururken diğerleri yer değiştirmeye yarayan dönme hareketi yaparlar (46).

Kist şekli, düzgün yüzeyli, oval şekilli ve ince duvarlı olup 8-12µm uzunluğunda 7-10 µm genişliğindedir. Fibröz proteinöz yapıda ve 0.3 µm kalınlığında hyalin kist çeperi ile çevrilidir. Kist çeperi ve sitoplazma bir boşlukla ayrılır. Sitoplazma, plazma membranı ile çevrili olup ince granüllüdür. Sitoplazmanın plazma membranına yakın bölgelerinde fonksiyonları henüz belirlenemeyen vakuollere rastlanır. Sitoplazma içinde aksonemler (8 adet), kamçılar, emici diskin birleşmemiş parçaları ve nükleuslar bulunur. Nükleuslar, yuvarlak veya oval şekilli olup tipik nükleer zarfla çevrilidir. Merkezi konumda, nükleolusu düşündüren yoğun granüler yapı görülür. Nükleer bölünmenin dönemine göre genellikle 2-4 nükleus vardır, bazen 8-16 nükleuslu kistlere de

rastlanır (82). Olgun kistlerde organeller çift sayıda bulunur ve kistten çıkacak olan trofozoitin hemen bölünebileceği yapıdadır. (46).

6. YAŞAM DÖNGÜSÜ

G. intestinalis ara konağa ihtiyaç göstermeyen monoksen bir parazittir. Hayat döngüsü kist ve trofozoit dönemlerinden oluşur. Enfeksiyon, kistlerin ağızdan alınmasıyla başlar (46). Alınan kistler mide asidi, pankreatik salgılar ve CO₂ gibi faktörlerin başlattığı kist açılımı (ekskistasyon) sonucu duodenumda rüptüre olur. Çıkan trofozoitler ince barsak epiteline ulaşırlar ve emici diskleri aracılığıyla duodenum ve jejunum mukozasındaki epitel hücrelerine yapışırlar. İleumun üst kısmı ile safra kesesi ve safra yollarının epitel yüzeylerine de yerleşebilirler. Yapışma fonksiyonunda parazitin yüzeyindeki lektinin rol aldığı düşünülmektedir (22, 56). Trofozoitler barsaktaki erimiş halde bulunan maddeleri absorbe ederek beslenmektedir. Kamçıları vasıtasıyla çeşitli yönlere hareket edebilen trofozoitler ağır enfeksiyonlarda bütün epitel hücrelerinin serbest yüzlerini kaplayabilmektedir. Trofozoitler hücrelere tutundukları için dışkıda nadiren görülürler. Epitel yüzeyinden uzaklaşıp barsak içeriğine karışınca kistleşme (enkistasyon) başlar. İlk olarak şekilleri yuvarlaklaşır. Kist duvarının oluşması, kamçı ve aksonemlerin içeri çekilmesi, sitoplazmada yoğunlaşma ve ince hyalin zar salınması ile kistleşme (enkistasyon) tamamlanır. Enkistasyon en fazla duodenum ve ince barsağın 1/4 üst kısmında oluşur. Bu bölgede bulunan lipolitik ürünler ve yüksek safra konsantrasyonlarının kistleşmeyi uyardığı bildirilmiştir (26). Dışkıyla atılan

kistler, 7-15 gün kadar süren olgunlaşma dönemi geçirerek enfektif hale gelmektedir. Giardiosiste dışkının her gramında 21 milyon, bir günde 14 milyar kist atılmaktadır (35, 46, 71). Kistler ortamın ısı ve nem durumuna bağlı olarak aylarca canlı kalabilirler. Olgun kistlerin uygun bir konak tarafından alınması ile yaşam döngüsü devam etmektedir.

Çoğalma: Trofozoitler longitudinal şekilde ikiye bölünerek aseksüel olarak çoğalmaktadır. Çoğalma hızını konağın beslenme durumu ve immünitesi ile suşların infektivite oranı etkilemektedir. İn vitro deneysel çalışmalarda bölünme zamanı toplam 15 saat, S periyodu ortalama 1.8, G₁ periyodu ortalama 8.5, G₂ periyodu ortalama 3 ve ayrılma periyodu ortalama 1.7 saat olarak belirlenmiştir (99).

7. EPİDEMİYOLOJİ

G. intestinalis'e tropikal, subtropikal ve ılıman iklim kuşaklarında daha sık olmak üzere dünyanın her bölgesinde rastlanmaktadır (55). Hastalık her mevsimde görülebilir. Ancak, etkenin çevreye yayılma olasılığının arttığı sıcak ve yağışlı mevsimlerde daha sık rastlanır. Giardiosis, sosyoekonomik ve kültürel düzeye bağlı olarak, gerikalmış ve gelişmekte olan ülkelere gelişmiş ülkelere göre daha yaygındır (3).

Giardiosis, ırk ve cinsiyetin etkisi olmaksızın her yaşta rastlanan bir hastalıktır. Ancak, parazit daha çok 2-12 yaşlar arası çocuklarda enfeksiyona neden olur. Endemik bölgelerde seropozitiflik 6 aylık çocuklar da bile

saptanmaktadır (3, 58, 71, 96). Yaşın ilerlemesi ile gelişen direnç ve temizliğe verilen önemin artması nedeniyle ileri yaşlarda insidans düşer.

Giardiosisin dünyadaki prevalansı, araştırılan bölgeye, kullanılan yöntemle, incelenen yaş gruplarına, iklim şartları ve çevresel hijyene bağlı olarak %2-25 arasında değişmektedir (46). Giardiosis prevalansı; ABD'de %1.5-20, Orta Avrupa'da %1-10, İtalya'da %18-39, Bulgaristan'da %8.1, Finlandiya'da %2-25, Avustralya'da %5-36, Çin'de %7-25 ve Mısır'da %44 oranlarındadır (73). Türkiye'de de enfeksiyon oranı bölgelere göre farklılıklar göstermekte olup %10-39 arasındadır (46, 73, 74).

Giardiosis hijyen koşullarının bozuk olduğu yerlerde geniş yayılıma neden olur. Bulaş kaynağı enfekte insanlar ve bunların atıklarıyla kirlenen yiyecek ve içeceklerdir. Homoseksüel ve oral ilişkiler sonucu cinsel yolla bulaştığı da bilinmektedir (46, 55, 80).

Evcil ve yabani pek çok hayvanda *Giardia* enfeksiyonu ya doğal olarak bulunmuş ya da deneysel olarak oluşturulabilmiştir (2, 9, 16, 53, 86, 93). Hayvan kaynaklı izolatlarla gönüllülerde deneysel enfeksiyon oluşturulmuştur (50). Bu nedenle zoonotik bulaşmanın da olabileceği ileri sürülmektedir (20). İnsan ve hayvanlar arasında yapılan çapraz bulaşma ile ilgili çalışmalar, *Giardia* türlerinin konak spesifikliğı olmadığı iddialarını destekler niteliktedir. Ancak, bir çok delile rağmen çapraz bulaşmanın insan ve bazı hayvanlarda ortak bulunan *Giardia* türleriyle olabileceği de öne sürülmektedir (20, 35).

Giardia kistlerinin çevre şartlarına dirençli olması ve düşük ısıdaki sulara uzun süre canlı kalabilmesi nedeniyle su kaynakları da potansiyel bulaşma kaynağıdır (11, 40, 55). Göl ve nehirler gibi yüzey sularında %33-80 arasında değişen oranlarda *Giardia* kisti bulunmuştur. ABD'de 1965 yılından bu yana su kaynaklı 100'den fazla salgın görüldüğü bildirilmiştir. Kanada, Avustralya, Yeni Zelanda, İngiltere, İsveç ve İngiliz Kolombiyası'nda da bir çok bölgede su kaynaklı giardiosis salgını saptanmıştır (11, 40, 98). Kesin olarak kanıtlanamamış olsa da giardiosisin su yoluyla bulaşmasında, insan ve hayvan dışkılarıyla kontamine olan su kaynakları, hala akla gelen ilk nedendir (35, 98).

Su kaynaklı giardiosisten genellikle kanalizasyon sistemleri sorumlu tutulmaktadır. *Giardia*'nın doğal lağım sistemlerinde, arıtma yapılan lağım sistemlerindeki oranla daha az canlı kalabildikleri gözlenmiştir. Bir çalışmada kanalizasyon sularının litresinde 9.6×10^3 ve 2.4×10^5 yoğunlukta *Giardia* kistleri olan iki ayrı bölgede giardiosise sırasıyla %1 ve %25 sıklıkta rastlandığı bildirilmiştir. ABD'de 1971-86 yılları arasında oluşan salgın hastalıkların %71'inin ve olguların %84'ünün su kaynaklarının kanalizasyon ile kirlenmesi sonucu oluştuğu bildirilmektedir (98).

G. intestinalis kistleri dış ortama kısmen dirençlidir. Kuruluk ve ısıya dayanıksızken, sulara ortam ısısına bağlı olarak 4-84 gün ve 0.05 ppm klor içeren 20-28°C'deki sulara 7-14 gün canlı kalabilirler. Kistlerin enfektivitesi 4°C'deki sulu dışkıda bir yıl kadar sürer. Kaynatma ile trofozoite dönüşme

yeteneğinin hemen yok olduğu, donma ve çözünme ile canlılığın %99 oranında kaybolduğu bilinmektedir. Sinek barsağında 24 saat canlı kalabildiği için karasinek ve hamam böceği gibi arthropodlar da mekanik bulaştırıcı olabilirler (16, 19, 46, 73).

8. PATOGENEZ VE PATOLOJİ

Giardiosisin patogenezinin *Giardia*'nın trofozoit şekli sorumludur (81). Enfeksiyon, olgun kistlerin ağız yoluyla alınmasıyla başlar. Kistler mide asidinden etkilenmeden geçer. İncebarsağın üst kısmında ekskistasyon sonucu oluşan trofozoitler çoğalarak diskleri aracılığıyla epitel hücrelerine yapışır. Bunda spesifik reseptör-ligand ilişkisi yanısıra, disk yapısındaki tubulinler, kontraktil proteinler ve parazit yüzey membranındaki lektinler rol alır (12, 22, 36).

Giardiosiste kliniğin oluşması parazitin suşu, sayısı, konak-parazit ilişkisi ve konağın immun durumu gibi değişik faktörlere bağlıdır. Giardiosiste görülen semptomlara enflamasyon sonucu oluşan mukoza değişiklikleri, mukus sekresyonu ve intestinal enzimlerde ortaya çıkan yetersizlik neden olur (12, 36, 73).

Hayvan deneyleri ile biyopsi ve otopsi materyallerinde yapılan çalışmalar, trofozoitlerin mukozada akut enflamasyon oluşturduğunu ortaya koymuştur. Trofozoitlerin epitel hücrelerine yapışması ile lamina propriada, kriptalarda ve villus epitelinde fokal akut enflamasyon oluşur. Lamina propriada lenfosit, eozinofil ve plazma hücrelerinde, kriptalar ve villus epitelinde ise polimorf

nüveli lökosit ve eozinofillerde artış olur. Enflamasyon sonucu mikrovilluslarda kısalma ve kalınlaşma, epitel hücrelerinde vakuolizasyon ve kompresyon oluşur. Hücre turnoverindeki artış immatür enterositlere neden olur (36, 93, 101).

Giardia'nın mukozadaki bu değişikliklere yol açabilecek bir enterotoksininin olup olmadığı henüz tespit edilememiştir. Ancak, kabul edilen görüşe göre; konak tripsini ile sitoplazmik pro-lectin şekline dönüşen parazitin yüzey lektini mukoza değişikliğinden sorumludur. Mekanizması henüz tam açıklanmamış olmakla birlikte lektinin, mukoza yapısında şu iki mekanizma ile değişikliğe yol açabileceği sanılmaktadır:

1- Hayvan deneylerinde bitkisel kaynaklı lektinlerin direkt olarak enterositlerde hasar yapabildiği saptanmıştır. Bu hasar giardiosisde görülen fırçamsı kenar anomalilerine benzer. Bu nedenle, mikrovillus membran yüzey proteinlerine lektin bağlanmasının, en azından hasarın bir kısmından sorumlu olabileceği belirtilmiştir.

2- Lektinin Concovalin A'ya çok benzemesi, enterosit turnoverini artıran bir mitojen olarak rol oynayabileceğini düşündürmektedir (12, 35).

Ayrıca konağın immün cevabının da mukoza değişikliklerinden sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir. Lektinlerle uyarılan T lenfositler, insan ince barsağında villus atrofisine yol açar. Serum antikor seviyeleri ile mukozadaki lezyonların ciddiyeti arasında bir ilişki bulunması da bu görüşü desteklemektedir (12, 79, 101).

Giardiosiste absorpsiyon bozukluğu olur. Bu duruma mukoza değişikliği nedeniyle yzey alanının azalması yanı sıra, parazitlerin epitel hzrelerine yoğun olarak yapışması ve mukus salgısının da etkili olduğu bilinmektedir. *G. intestinalis* jejunum mukus sekresyonunda hem nitelik hem de miktar olarak değişiklikler oluşturur. Enfeksiyonun erken dzeminde tzm mukoza yapışkan bir mukusla kaplanır ve enfeksiyon kronikleştikze mukus sertleşerek psedomembran gdrnzmz alır (71).

Giardiosisli hastalarda maltaz, sukraz, laktaz, sakkaraz ve alkalen fosfataz gibi mukozal enzimlerde ve tripsin, kemotripsin, lipaz ve amilaz gibi luminal enzimlerde yetmezlik gdrzlr. İnce barsaklarda oluşan mukoza değişiklikleri sekretin, pankreozimin ve kolesistokinin gibi hormonların salınımını azalır. Bunun sonucunda pankreatik ekzokrin yetmezliği, daha sonra amilaz, proteaz ve lipaz yetmezliği ve sonuğa da karbonhidrat, yağ ve protein malabsorpsiyonu oluşur (79).

Bazı yazarlara gze giardiosisin fizyopatolojisinde villus atrofisinin, kriptalardaki hiperplazinin ve enterositlerdeki inkomplet maturasyonun ozemli rolz olmadığı, disakkaridaz ve luminal enzim yetmezliklerinin asıl rolz oynadığı ileri srzrlmzşttr. Barsak yzey alanında azalma olması ve mikrovillus kntleşmesi sonucu; elektrolit, eriyik besinler ve su malabsorpsiyonlarının patogeneizde temel mekanizma olduğu bildirilmektedir (71).

9. İMMÜNOLOJİ

Giardia enfeksiyonu insanlarda oldukça değişik klinik görünümle ortaya çıkar. Asemptomatik, akut ve kronik enfeksiyon tabloları oluşturabilir. Semptomların oluşmasında kişilerin direnç durumları önemli rol oynar (76).

Konak direnci özgül ve özgül olmayan faktörlerle sağlanabilir. Özgül olmayan koruyucu faktörlerden bazıları; bakteriyel flora, peristaltizm ve silier hareket, gastrik asit, safra asitleri, mukus salgısı, laktoferrin, laktoperoksidaz ve lizozimler gibi enzimlerdir. Ancak, *Giardia*'nın barsaklardan temizlenmesinde, reenfeksiyona karşı korunmada ve hastalığın oluşmasında konağın özgül bağışık yanıtı daha önemlidir. Bu hem sıvısal hem de hücrel bağışıklıkla sağlanmaktadır (5, 14, 25, 28, 32, 33, 43, 46, 55, 61, 64, 71, 82, 83).

Sıvısal bağışıklık: Giardiosiste anti-giardia antikorların varlığı 1970'li yıllardan beri bilinmektedir. *Giardia* enfeksiyonunda tipik antikor yanıtı oluşur. Anti-giardia IgG, IgM, ve IgA sınıfı antikorlar enfeksiyonun 2-3. haftalarında saptanır ve enfeksiyondan en az iki ay sonrasına kadar giderek artar (43, 46, 61). İlk oluşan anti-giardia IgM antikorları olup 2-3 hafta içinde kaybolur. Kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlarda artmaz (15, 38, 47, 64). IgG antikorları ise daha geç oluşur, kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlarda artar ve beş yıl kadar uzun süre saptanabilir. IgA antikorları da erken oluşup kısa sürede kaybolur. Asıl fonksiyonu intestinal kanalda bulunan sekretuar IgA formu görür.

Trofozoit yüzeyine bağlanan intestinal antikorlar enfeksiyonun temizlenmesinde önemli rol oynar. IgG3 ve IgM kompleman varlığında

trofozoitleri öldürür (14, 25, 33, 71, 82, 83). Sekretuar-IgA (sIgA) ile opsonize olan parazitler barsaktaki fagositler tarafından sindirilir. Ancak, parazitin barsaktan temizlenmesinde IgA'nın asıl etkisi *Giardia*'nın tutunmasını sağlayan yüzey proteinini bağlayarak kolonizasyonunu önlemektir (25). Giardiosiste komplemanın klasik yolla uyarılması da parazitin lizisiyle sonuçlanır (14).

Giardiosiste oluşan anti-giardia antikörlerin enfeksiyondan koruma özellikleri ve tekrarlayan enfeksiyonlardaki rolleri konusunda farklı görüşler vardır. Yüksek titrede anti-giardia antikörleri saptanan birçok hastada kist çıkarmanın sürdüğü ve koruyucu olmadığı bildirilmektedir (88). Buna karşılık, suya bağlı giardiosis salgınlarında önceden oluşan anti-giardia antikörlerin koruyucu olabildiği ileri sürülmektedir (38). Ayrıca, yenidoğan döneminde giardiosisin sık görülmediği, bunun giardiosisli anneden bebeğe geçen IgG antikörleri ve anne sütü ile salgılanan sIgA'nın koruyucu etkisi nedeniyle olabileceği belirtilmiştir (39, 57, 65, 75).

Giardiosiste IgE antikörleri yüksek olup, ürtiker ve ekzema gibi alerjik olaylardan sorumlu tutulmaktadır (24, 34).

Sitokinler: *Giardia*'ya karşı immün cevapta sitokinlerin rolü henüz tam araştırılmamıştır. Mevcut bir çalışmada Belosevic ve ark. (70), rekombinant sitokinler ile kemik iliği kökenli makrofajları aktive ederek bunların *G. intestinalis* trofozoitlerini fagositoz edebilme kapasitelerini değerlendirmişlerdir. Sekiz sitokin (γ -IFN, IL2, IL3, IL4, IL5, GM-CSF, CSF-1,

TNF- α) test edilmiş ve yalnız γ -IFN'nun makrofaj aktivitesini artırabildiğini ve lipopolisakkaritin (LPS) γ -IFN'a sinerjik etki yaptığını belirlemiştir.

Hücre sel bağışıklık: B hücre defektli hastalarda saptanan bulgular ve fare modelleri ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar *Giardia*'ya karşı hücre sel bağışıklığın önemli olduğunu ortaya koymuştur (33, 73, 83).

Giardia'ya karşı hücre sel immün cevap, intestinal mukoza düzeyinde olur (24). CD4 T lenfositler lokal ve sistemik humoral immü nitenin regülasyonunu sağlar. E ffektör hücreler ise monosit ve makrofajlardır. Bunlar parazite karşı lamina propria düzeyinde sitotoksik etki gösterir (24, 71).

Histopatolojik incelemeler giardiosiste, lamina propriada CD4 T lenfosit, eozinofil ve plazma hücrelerinde, kriptalar ve villus epitelinde ise polimorf nüveli lökosit ve eozinofillerde artış olduğunu göstermektedir. Deneysel çalışmalar sonucu; makrofajların, monositlerin, nötrofillerin ve mast hücrelerinin anti-giardial aktiviteleri gösterilmiştir (10, 83). İnsan monosit kökenli makrofajlarla yapılan bir çalışmada, makrofajların trofozoitleri fagosite ettikleri ve intraselüler parazit ölümünün oksidatif mikrobisidal mekanizmalarla olduğu gösterilmiştir (85). *Giardia* enfeksiyonunun akut ve latent fazlarında intraepitelial ve lamina propriadaki lenfosit popülasyonunda CD8 T lenfositlerin arttığı, iyileşme fazında ise bunların azalıp, CD4 T lenfositlerin arttığı belirlenmiştir. CD4 T lenfositleri azalmış veya anti-CD4 antikoru verilen farelerde, intestinal antikor yanıtının bozulduğu bildirilmiştir (24).

Periferik kan hücreleri olmalarına karşılık migrasyonla dokulara geçerek orada fonksiyon gösteren nötrofillerin de trofozoitlere karşı in vitro anti-Giardial aktiviteleri gösterilmiştir (10, 83). Mast hücreleri ve lokal anaflaksi de intestinal enflamatuar olaylara katkıda bulunabilirler. Mast hücre yetmezlikli farelerin *G. muris* enfeksiyonuna daha hassas oldukları ve deneysel enfeksiyonların histamin/serotonin antagonisti olan Cyproheptadin ile uzatılabildiği gösterilmiştir (64).

10. KLİNİK

Giardiosis çok farklı klinikle ortaya çıkabilir. Yetişkinlerde ve endemik bölgelerde tekrarlayan enfeksiyonlar sonucunda genellikle asemptomatik enfeksiyon gelişirken, çocuklarda ve endemik bölgelere giden turistlerde akut ve semptomatik tablolar oluşur (24, 73).

Akut giardiosiste semptomlar genellikle 3-20 gün (ort. 7 gün) içinde başlar. Hastaların çoğunda, enfeksiyon 2-4 haftalık bir dönemde kendi kendini sınırlar. Ancak enfekte olanların %25'inden fazlasında semptomlar 7 haftayı aşabilir ve bunların da yaklaşık %30'unda kronik giardiosise gidiş olur (23, 35, 101).

Genel belirtiler: Çocuklarda halsizlik, yorulma, anemi, kilo kaybı ve gelişme geriliği, yetişkinlerde ise nadiren ateş ve daha çok diz eklemine tutan sinovitler görülür.

Sindirim sistemi belirtileri: Giardiosiste en sık rastlanan bulgu ishaldir. Çocuklarda erişkinlere göre daha fazla görülür. Parazit sayısına paralel olarak,

akut ve sulu karakterli, kötü kokulu ve alkali bir ishal oluşur. 1-4 hafta süren akut dönemden sonra ishal-kabızlık periyotlarının birbirini takip ettiği kronik dönem başlar. Kronikleşen olgularda dışkı, püre kıvamında, bazen mukuslu, nadiren kan görülebilen, parlak kahverenkli, yağlı bir görünüme dönüşür (46).

Halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma, hazımsızlık, gaz oluşumu, geğirme, şişkinlik ve abdominal kramplar görülen diğer semptomlardır. Semptomatik hastaların %50 kadarında yağ emilimi bozulur. Beraberinde yağda eriyen vitaminler, folik asit, B12 vitamini, Fe, Zn ve Se eksikliği oluşur ve makrositik anemi ile sonuçlanabilir. Hastalarda %10-20 oranlarında kilo kaybı olur. Gastrointestinal sistemden protein kaybında artış sonucu hipoalbuminemi gelişebilir. Giardiosiste protein sindiriminin bozulduğunu gösteren bulgular da vardır (35, 36, 101).

G. intestinalis, kolesistit, kolanjiolit ve tıkanma sarılığına yol açabilir. Aklorhidri hastalarda gastrik enfeksiyon oluşturabilir. Aklorhidri, hipogamaglobinemi, barsakta sekretuar IgA'nın yetmezliği ve karbonhidrattan zengin diyet de semptomatik giardiosise zemin hazırlar (36, 71).

Sinir sistemi belirtileri: Giardiosiste; ajitasyon, migren tarzı baş ağrıları, melankoli, gece işemesi, periferik nörit ve epilepsi krizi görülebilir (46).

Alerjik belirtiler: Giardiosiste ürtiker ve ekzema sık görülür (44). Kronik ürtikerlerin %25.9'u giardiosise bağlıdır. Rinit, rinofarenjit, laringobronşit, faringobronşit, bronşit, astım bronşiale görülebilir. Spastik öksürük, balgam çıkarma, dispne, Quink ödemi ve nazal kaşıntı olabilir (46).

11. TANI

Giardiosis, olguların çoğunda klinik belirti vermeden seyredildiği gibi mide, duodenum, safra kesesi ve safra yollarının çeşitli hastalıkları ile karıştırılabilir. Özellikle oyun çağı ve ilkokul çocuklarında günde 3-4 kez ishal, epigastrium ve/veya sağ hipokondriumda ağrı giardiosisini düşündürmelidir (46).

Giardiosis düşünülen olgularda ya etkenin gösterilmesi ile veya serolojik yöntemlerle tanı konur (23, 46, 96).

Giardiosiste tanı yöntemleri üç ana grupta toplanabilir:

I. Etkene yönelik direkt tanı yöntemleri

1. Dışkıda etkensel tanı: Örneklerde kist ve trofozoitlerin görülmesi için mikroskopla inceleme yöntemidir. En iyi sonuç için en az üç ayrı dışkı örneğinin incelenmesi önerilir. Bir kez dışkı incelemesinin %73, üç kez dışkı incelemesinin % 85 tanı değeri olduğu saptanmıştır (71). Bu yöntemler:

a- Direkt bakı: Nativ-lugol inceleme, basit ve etkili bir yöntem olup halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak, parazit sayısal olarak az ise, bu yöntemle saptanması zor olabilir. Taze dışkıdan hazırlanan preparatların nativ incelenmesinde, kistler ve hareketli olarak trofozoitler görülebilir. Lugol ile yapılan direkt incelemede ise kist duvarından ayrılmış olarak sitoplazma ve içinde fibriller görülebilir.

b- Çoklaştırma yöntemleri: Özgül ağırlıklarındaki farklılıklardan yararlanarak parazitleri dışkı artıklarından ayırma ve bir araya toplayarak görülme şansını artırma düşüncesiyle geliştirilen yöntemlerdir. Az sayıda kist

çıkarılan durumlarda faydalıdır. Bu amaçla; Otto'nun çinko sülfat ile yüzdürme yöntemi, Ritchie'nin formaldehit-eter yöntemi ve Merthiolat-Iodine-Formaldehit (MIF) konsantrasyon yöntemleri kullanılabilir. Bu yöntemle elde edilen örneklerle direkt olarak nativ-lugol inceleme ve kalıcı boyama işlemleri uygulanabilir.

c- Boyama yöntemleri: Dışkı artıklarıyla parazitler arasında renk kontrastı sağlayarak organizmaların morfolojilerini ayrıntılı olarak inceleme olanağı sağlayan yöntemlerdir. Parazitin görülüp tanınmadığı şüpheli durumlarda ve sürekli preparat elde etmek için uygulanır. Bu amaçla, Giemza, trikrom veya He- idenhain'in demir-hematoksilen boyama yöntemleri kullanılabilir.

2. Duodenal sıvıda etkensel tanı: Dışkı incelemelerinin yetersiz olduğu ancak, kliniği giardiosis düşündürülen olgularda, duodenal sıvıda etkenin aranması yöntemleri uygulanabilir. Sadece duodenal aspiratların incelenmesi halinde tanı oranının %44 olduğu ve direkt bakı yöntemleri ile birbirini tamamladığı bildirilmiştir (71). Duodenal sıvıda etkenin aranması yöntemleri:

a- Duodenum aspirasyon sıvısının incelenmesi, invaziv bir yöntem olsa da etkenin duodenuma yerleşmesi nedeniyle tanı şansı yüksek bir uygulamadır. Dışkının direkt bakı incelemesi ile birlikte değerlendirildiğinde duyarlılığı daha çok artar. Duodenum aspirasyonu ile elde edilen materyal direkt bakı, çoklaştırma veya boyama yöntemleri ile incelenebilir.

b- Duodenal kapsül yöntemi (Entero-test), duodenum aspirasyon yöntemine göre daha az invaziv bir uygulamadır (102). Jelatin bir kılıf içinde

ucuna ağırlık takılmış bir ip içerir. İpin kapsül dışındaki ucu tespit edilerek kapsül yutturulur. Midede eriyen kapsülden çıkan ip, ucundaki ağırlığın etkisi ile duodenuma kadar ulaşır. Yutturma işleminden 4-5 saat sonra ip çekilip uç kısmı lam üzerine sürülerek direkt veya boyama yöntemleri ile incelenir.

c- İnce barsak biyopsi materyallerinde histopatolojik inceleme ve mukoza sürüntü materyalin incelenmesi de invaziv bir girişimdir. Ancak, kliniği giardiosisi düşündürdüğü halde, dışkıda kist çıkarımının çok az ve aralıklı olduğu olgularda ya da kist çıkarmanın nadir olduğu kriptik giardiosis durumlarında etkili bir yöntemdir (18, 29, 30, 102). Ayrıca bu yöntemle histopatolojik inceleme sonucu benzer klinik bulguları veren hastalıklarla giardiosisin ayırıcı tanısı da olasıdır.

3- Kültür Yöntemleri: *G. intestinalis* kültürü pek kolay olmadığından tanı değeri sınırlıdır. Şüpheli durumlarda duodenum sıvılarının ve dışkının direkt besiyerine inokülasyonu ile tanıda kullanılabileceği bildirilmiştir. Kültür için Karapetyan, HPS-1, HPS-2, TPS-1 ve TYI-S-33 besiyerleri kullanılabilir (54, 71, 89, 102).

II- Serolojik tanı yöntemleri: Antijen-antikor ilişkilerinin invitro olarak incelendiği yöntemlerdir. Özgül anti-giardia antikorları içeren serumlarla *Giardia* antijenlerinin aranması veya belirli bir *Giardia* antijeni ile hasta serumu ya da vücut sıvılarında buna uygun anti-giardia antikorların aranması esasına dayanır. Bu yöntemler, kliniği giardiosis düşündürdüğü halde rutin laboratuvar yöntemlerle sonuç alınamayan olgularda, sağaltımın takibinde ve araştırma

amacıyla kullanılmaktadır. Bunlardan *Giardia* antijenlerinin aranması için kullanılanlar:

1- ELISA yöntemleri

- a. Direkt ELISA yöntemi
- b. İndirekt ELISA yöntemi
- c. Kompetitif ELISA yöntemi
- d. Dot-ELISA yöntemi

2- Direkt Fluoresan Antikor Testi

Hasta serum ve vücut sıvılarında anti-*giardia* antikorlarının aranması için kullanılanlar ise:

- 1- İmmunodiffüzyon testi,
- 2- İmmünoelektroforez yöntemi
- 3- İndirekt Fluoresan Antikor Testi,
- 4- ELISA yöntemleri
 - a. Katı ortamda sandviç yöntemi
 - b. Sandviç inhibisyon yöntemidir.

III- DNA esaslı tanı yöntemleri

Polymerase chain reaction (PCR): Bu yöntem hastadan alınan örneklerde *Giardia*'ya ait belirli nükleik asit dizilerinin DNA polimeraz enzimi kullanılarak çoğaltılması ve agaroz jel elektroforezi ile gösterilmesi esasına dayanır. Tanıdan daha çok *G. intestinalis* genotiplerinin araştırılması kullanılmaktadır.

Dışkı örneklerinde inhibitör maddelerin ve yabancı DNA'ların çokluğu ve kistlerin zor erimesi gibi zorlukları vardır (71).

12. SAĞALTIM

Giardiosis sağaltımında etkene yönelik sağaltımın yanısıra semptomatik sağaltım da verilmelidir. Sadece proteinden zengin diyet verilmesi bile dışkıda kistlerin kaybolmasını sağlayabilir. Ancak, son yıllarda kronik giardiosisin serbest radikal hastalıkları içinde yer aldığı ve demir eksikliğine bağlı anemi gözlenen olgularda semptomatik sağaltım için demirli preparatların verilmemesi gerektiği bildirilmektedir (3).

Özellikle çocuklarda olmak üzere bazı hastalarda enfeksiyonun kronikleştiği, beslenme ve gelişme bozukluklarına yol açtığı bilinmektedir. Bu nedenle asemptomatik bile olsalar hastalara mutlaka sağaltım verilmelidir.

Etkene yönelik sağaltımda en çok kullanılan ilaçlar 5-Nitroimidazole türevleri olan Metronidazole, Ornidazole, Tinidazole, Nimorazole ve Secnidazole'dür. Nitrimidazine, Atebrin ve Acranil ve Nitrofuran türevi olan Furazolidine de etkili diğer ilaçlardır (36, 46, 57, 71, 73).

13. KORUNMA

Giardiosisten korunmada kişisel ve toplumsal hijyen önemlidir. Ekonomik, sosyal, kültürel ve çevresel şartlar göz önüne alınarak oluşturulan korunma önlemleri aralıksız uygulanmalı, toplum eğitimi ve sağlıklı bir çevre oluşturmada halkın katkıları sağlanmalıdır. Giardiosisten korunmada alınabilecek önlemlerden bazılarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- 1- Semptomatik veya asemptomatik bütün hastalara sağaltım verilmelidir.
- 2- Hastaların aileleri Őikayetleri olmasa da kontrol edilmelidir.
- 3- Özellikle risk gruplarında olmak üzere sık sık kitle taramaları yapılmalıdır.
- 4- Halkın tuvalet kullanma alışkanlığı geliştirilmeli, kanalizasyon sistemleri geliştirilerek dışkıların çevreye bulaşması ve gübre olarak kullanılması önlenmelidir.
- 5- Sağlıklı içme ve kullanma suyu temin edilmeli, su kaynaklarının ve su şebekelerinin kirliliğe karşı korunması sağlanmalı ve kirlilik ihtimalinde klorlamanın yetersiz olacağı, filtrasyon ya da kaynatmanın gerekeceği unutulmamalıdır.
- 6- Piknik ve geziler esnasında kaynağı bilinmeyen sular içilmemeli ve kullanılmamalıdır.
- 7- Okullar, kreşler, çocuk bakım yuvaları, huzur evleri, akıl hastaneleri ve hapisaneler gibi toplu yaşanan yerlerde periyodik kontroller yapılmalı ve koruyucu önlemler alınmalıdır.
- 8- Gıda yapım, dağıtım ve satış yerlerinin hijyen kurallarına uygunluğu sağlanmalı, denetlenmeli ve bu işlerde çalışan kişilerin düzenli olarak kontrolleri ve eğitimleri yapılmalıdır.
- 9- Kötü koşullarda giardiosisin veneral bulaşabileceği unutulmamalıdır.
- 10- Bulaşmada karasinek ve hamamböceklerinin rolü olabileceği için bu gibi arthropodlarla mücadele edilmelidir.

- 11- Yeni yerleşim yerlerinin inşası esnasında, ilerde çevre ve sağlık sorunları oluşturmaması için uzman kişilerin görüş ve uyarıları dikkate alınmalıdır.
- 12- Her türlü yayın aracı ile hastalık ve korunma yolları konularında halka bilgi verilmeli ve sağlıklı bir çevre oluşturmada katkıları sağlanmalıdır (46, 57, 71).



III. GEREÇ VE YÖNTEMLER

1. Hastalar:

F.Ü. Tıp Fakültesi Fırat Tıp Merkezi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon hastalıkları laboratuvarlarına herhangi bir yakınmayla başvuran hastalar çalışmaya alındı. Her hastaya ek-1'de örneği verilen bilgi formu dolduruldu.

Çalışma grubundaki her kişiden aseptik olarak 5 ml'lik enjektörle steril tüplere antekubital bölgeden 3-5 ml venöz kan alındı, pıhtılaşmaya bırakıldı. Aynı günün sonunda 5000 devirde 3 dakika santrifüjleyerek serumları başka bir steril tüpe alındı, etiketlendi ve çalışma gününe kadar -20°C'de bekletildi.

2. IFA Testi İçin Antijen Hazırlanması:

G. intestinalis kistleri giardiosisli hastaların dışkılarından saflaştırıldı, trofozoitler ise deneysel olarak enfekte edilen farelerin ince barsağından in vivo olarak elde edildi.

***G. intestinalis* kistlerinin saflaştırılması:** Giardiosisli 4 hastanın dışkısı çeşme suyu ile süspanse edilip birkaç katlı gazlı bezden geçirilerek katı ve büyük parçalardan arındırıldı. Süzüntü 2000 devirde 2 dakika santrifüjlenip çöken kısım alındı. Distile su ile yeniden süspanse edilerek 2000 devirde 2 dakika santrifüjlenip üstteki sıvı atıldı. Bu işlem üst sıvı berraklaşınca kadar 5 kez tekrar edildi. Son çökelti distile su ile süspanse edildi ve bir santrifüj tüpü içerisinde bulunan 5 ml'lik 1 M sukroz çözeltisi üzerine karışmadan tabaka

oluşturacak şekilde konuldu, 1500 devirde 15 dakika santrifüjlendi. Dışkı süspansiyonu ile sukroz çözeltisi ara yüzeyinde tabaka oluşturan kist kısmı alındı. Başka bir tüpte distile su ile süspansiyon edilip, 2000 devirde 2 dakika santrifüjlenerek kistler çöktürüldü. İki kez uygulanan bu yıkama işleminden sonra daha ileri saflaştırma elde etmek ve lipid artıkları uzaklaştırmak için 5 ml kist süspansiyonu, tüpte hazırlanan 7 ml'lik etil etere eklenip çalkalandı. Daha sonra 2000 devirde 2 dakika santrifüjlenip kistler alınarak distile suyla 2 kez yıkandı. Son yıkamadan sonra kistler distile suyla yeniden süspansiyon edilip, yoğunluğu X400 büyütmede her mikroskop alanında 15-20 adet kist olacak şekilde ayarlanarak, indirekt fluoresan antikor testinde kullanılmak üzere teflon kaplı lamlara yayıldı. Preparatlar oda ısısında kurutulup saf asetonla 10 dakika tespit edilerek pelur kağıtlara sarılıp kullanılacağı zamana kadar -20°C'de bekletildi. (4, 30, 82, 86, 88).

Trofozoit antijeninin hazırlanması: Bu amaçla Elazığ Veteriner Araştırma Enstitüsü'nden alınan 4 adet BALB/c türü, 6-8 haftalık dişi fareler kullanıldı. Fareler, enfekte edilmeden önce dışkı incelemeleri ile sağlıklı oldukları teyid edildi. Her bir fareye oral yoldan, ucu topuzlu iğne ile yaklaşık 10^4 kist içeren 0.1 ml kist süspansiyonu verildi. Günlük dışkı incelemeleri ile farelerin kist çıkarıp çıkarmadıkları kontrol edildi. 17-20. günlerde kist çıkarmaya başladılar. Fareler 30. gün deserebre edilerek karın boşlukları açıldı ve ince barsakları duodenumdan kolona kadar çıkarıldı. Barsaklar 37°C'de, PH 7.4 olan steril serum fizyolojik bulunan bir kaba kondu. Steril bir makasla ince

barsaklar uzunlamasına kesilerek açıldı ve steril bir fırça ile mukoza yüzeyi hafifçe fırçalandı. Bu işlem sonucunda elde edilen yıkama sıvısı steril olarak tüplere alındı ve 1500 devirde 2 dakika santrifüjlenip sıvı kısım atıldı, çöken trofozoitler steril serum fizyolojik ile iki kez yıkandı. Son yıkamadan sonra trofozoitlerin mikroskopta morfolojik kontrolleri yapılarak yoğunluğu X400 büyütmede her mikroskop alanında 15-20 adet trofozoit olacak şekilde ayarlanarak teflon kaplı lamlara yayıldı. Lamalar oda ısısında kurutulup saf asetonla 10 dakika tespit edilerek pelur kağıtlara sarılıp kullanılıncaya kadar -20°C'de bekletildi (52).

3. IFAT için ön çalışmalar:

Pozitif kontrol serumu saptamak için dışkı incelemelerinde *Giardia* kist ve trofozoitleri bulunan semptomatik hastaların serumlarından dördü kullanıldı. Negatif kontrol serumu saptamak için ise üç kez yapılan dışkı incelemeleri ile *G. intestinalis* kist ve trofozoiti saptanmayan ve hastalık öyküsü olmayan sağlıklı kontrol serumları alındı. Bu serumların PBS (PH'ı 7.4) ile 1/2-1/1024 arasında sulandırılmaları hazırlandı. Lamalar çıkarılıp kurulandı ve antijen kaplanmış çukurlarına serumlardan 12.5 µl damlatıldı. Lamalar 37°C'ye ayarlı su banyosunda 30 dakika bekletildi. Daha sonra içinde PBS bulunan kaplar içinde 2 kez 5'er dakika yıkanarak oda ısısında kurutuldu. Fluorescein isothiocyanate (FITC) (Sigma Chemical Co.) ile işaretli konjugatlardan anti-human IgG (γ-chain specific) için 1/75 oranında, anti-human IgM (µ-chain specific) için 1/50

oranında sulandırılıp, kuruyan lamalar üzerine 12.5 µl damlatıldı. Lamlar 37°C'ye ayarlı su banyosunda 30 dakika bekletilip 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı. Lamlar kurumadan üzerine 1 ölçü PBS ve 9 ölçü gliserinden oluşan kaplama solüsyonundan 2-3 damla damlatılıp lamelle kapatıldı ve floresan mikroskobu ile incelendi. Bu ön çalışma ile serumların kist ve trofozoit antijenlerine karşı reaksiyon verdikleri dilüsyon oranları saptandı. 1/512 ve daha fazla dilüsyonda pozitif bulunan serumlar pozitif kontrol olarak, reaksiyon vermeyen serumlar ise negatif kontrol olarak ayrıldı.

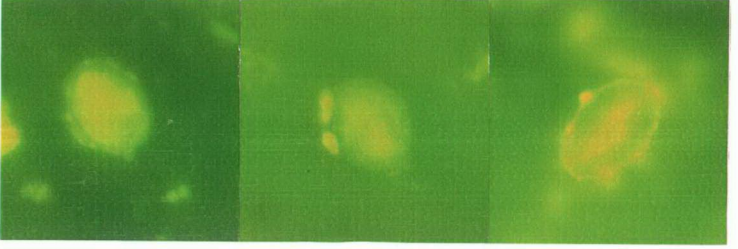
Konjugatların optimum dilüsyonlarını belirlemek için fluorescein isothiocyanate (FITC) ile işaretli anti-human IgG ve anti-human IgM konjugatlarının PBS ile 1/32'den başlayan dilüsyonları hazırlandı. Pozitif kontrol olarak 1/256 dilüsyonda hasta serumu; negatif kontrol olarak negatif kontrol serumu ve PBS ile çalışıldı. Antijen kaplı lamaların çukurlarına pozitif kontrol serumu ve negatif kontrol serumlarının her birinden 12.5 µl damlatıldı. Lamlar 37°C'ye ayarlı su banyosunda 30 dakika bekletildi. Daha sonra içinde PBS bulunan kaplar içinde 2 kez 5'er dakika yıkanarak oda ısısında kurutuldu. 1/32, 1/64, 1/128, 1/254 ve 1/512 dilüsyonlardaki konjugatlardan 12.5 µl damlatılarak 37°C'ye ayarlı su banyosunda 30 dakika bekletilip PBS ile yıkandı. Lamlar kurumadan üzerine 1 ölçü PBS ve 9 ölçü gliserinden oluşan kaplama solüsyonundan 2-3 damla damlatılıp lamelle kapatıldı ve floresan mikroskobu ile incelendi. Bu çalışma sonunda, anti-human IgG ve IgM konjugatlarının en iyi sonucu 1/128 dilüsyonlarda verdiği saptandı.

4. İndirekt Floresan Antikor Yönteminin Uygulanması:

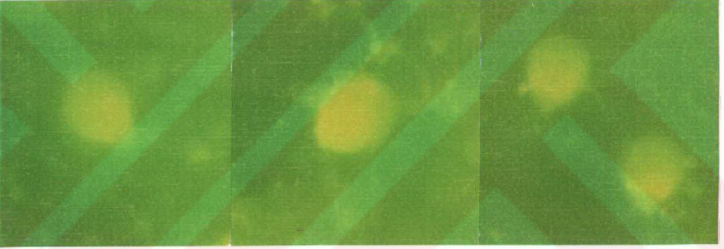
Antijen kaplı lamalar oda ısısına çıkarılıp kurulandı ve çukurlarına, PH'ı 7.4 olan PBS solüsyonu ile 1/16, 1/32, 1/64 ve 1/128 titrelerinde sulandırılan serumlardan 12.5 µl damlatıldı. Lamlar 37°C'ye ayarlı su banyosunda 30 dakika bekletildi. Daha sonra içinde PBS bulunan kaplar içinde 2 kez 5'er dakika yıkanarak oda ısısında kurutuldu. Kuruyan lamaların üzerine fluorescein isothiocyanate (FITC) ile işaretli konjugatlar; anti-human IgG için 1/128 oranında, anti-human IgM için 1/128 oranında sulandırılıp 12.5 µl damlatıldı. 37°C'ye ayarlı su banyosunda 30 dakika bekletildi ve PBS ile yıkandı. Lamlar kurumadan üzerine 1 ölçü PBS ve 9 ölçü gliserinden oluşan kaplama solüsyonundan 2-3 damla damlatılıp lamelle kapatıldı ve floresan mikroskobu ile incelendi (18, 88, 89, 97, 100). Floresan şiddeti 0-4+ arasında derecelendirildi. En az %75 organizmanın floresan vermesi +1 olarak değerlendirildi. Pozitif floresan veren en yüksek serum dilüsyonu antikor titresi olarak kaydedildi (77, 97).

IFA testinin her uygulamasında, negatif kontrol olarak dışkı incelemeleri ile *Giardia* kist ve trofozoiti saptanmayan ve hastalık hikayesi olmayan sağlıklı kontrol serumları ve PBS ile pozitif kontrol serumları kullanıldı.

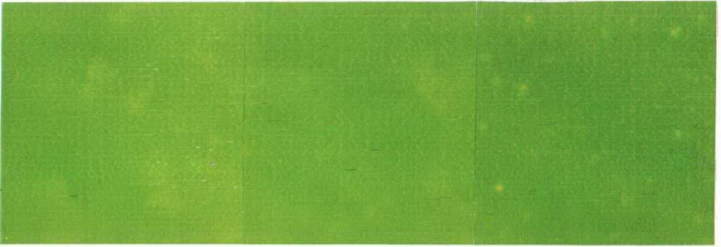
Kist ve trofozoit antijenlerinin IFA testinde saptanan pozitif (floresan boyanan) ve negatif (floresan boyanmayan) görünüşleri Resim 1, Resim 2 ve Resim 3'de sunuldu.



Resim 1. IFA testinde kist antijeninin pozitif görünümü (X400)



Resim 2. IFA testinde trofozoit antijeninin pozitif görünümü (X400)



Resim 3. IFA testinde her iki antijeninin negatif görünümü (X200)

5. Verilerin değerlendirilmesi:

Antijen türüne göre saptanan seropozitiflikler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığını saptamak için, kist antijenine karşı saptanan IgG ve IgM seropozitiflikleri ile trofozoit antijenine karşı saptanan IgG ve IgM seropozitiflikleri karşılaştırıldı. Her iki antijene karşı yaş gruplarında saptanan IgG ve IgM seropozitiflikleri arasında fark olup olmadığını saptamak için, her bir yaş grubunda saptanan IgG ve IgM seropozitiflikleri, diğer yaş gruplarında saptanan seropozitifliklerle karşılaştırıldı. Antijen türüne bakılmaksızın antikor cevabında anlamlı bir fark olup olmadığını saptamak için, kist ve/veya trofozoit antijenlerine karşı saptanan IgG seropozitifliği ile IgM seropozitifliği karşılaştırıldı. Antijen farkına bakılmaksızın yaş gruplarındaki antikor cevabında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olup olmadığını saptamak için, her bir yaş grubunda kist ve/veya trofozoit antijenlerine karşı saptanan IgG seropozitiflikleri ile IgM seropozitiflikleri karşılaştırıldı. Antijen ya da antikor ayrımı yapmaksızın her türlü pozitifliği seropozitif olarak kabul edersek, yaş grupları arasında seropozitiflik yönünden anlamlı bir farkın olup olmadığını saptamak için her bir yaş grubunda bulunan seropozitiflik, diğer yaş gruplarında saptanan seropozitifliklerle karşılaştırıldı. Seropozitiflik yönünden her iki cins arasında istatistiksel bir fark olup olmadığını saptamak için erkeklerde bulunan seropozitiflik, bayanlarda bulunan seropozitiflikle karşılaştırıldı. Ayrıca yaşanılan yere, eğitim durumuna, birlikte yaşanan kişi sayısına ve kullanılan tuvalet türüne göre saptanan seropozitifliklerin, kendi grupları içinde saptanan

diğer seropozitifliklerle arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını saptamak için kendi gruplarında saptanan diğer seropozitifliklerle karşılaştırıldı.

İstatistiksel analizi ki kare testi ile yapıldı.



IV. BULGULAR

Çalışmaya alınan olguların 152'si bayan (%50), 152'si erkek (%50) olup yaşları 0-79 arasında (26.8 ± 15) değişiyordu. Yaş gruplarına göre; 29'u (%9.5) 0-6, 46'sı (15.1) 7-15, 72'si (23.6) 16-25 ve 157'si (51.6) 26 ve üzeri yaş grubunda yer alıyordu.

Kist antijenlerine karşı, IgG: 79 (%26), IgM: 45 (%14.8) ve IgG+IgM: 33 (%10.8) olguda; trofozoit antijenlerine karşı ise IgG: 54 (%17.7), IgM: 54 (%17.7) ve IgG+IgM: 30 (%9.8) olguda pozitif bulundu (Tablo 1). Olguların 18'inde (%5.9) ise her iki antijene karşı IgG+IgM pozitif idi. Kist antijenine karşı saptanan IgG seropozitifliği, hem kist antijenine karşı saptanan IgM, hem de trofozoit antijenine karşı saptanan IgG ve IgM seropozitifliklerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$). Kist ve trofozoit antijenlerine karşı seropozitiflik saptanan olguların yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 1'de sunuldu. Kist antijenlerine karşı en yüksek seropozitiflik oranlarını IgG için 7-15, IgM için 16-25 yaş gruplarında; trofozoit antijenlerine karşı ise hem IgG hem de IgM için 7-15 yaş grubunda saptandı. Bu yaş gruplarındaki seropozitiflik diğer yaş gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek idi ($p < 0.05$).

Tablo 1. Seropozitif olgularda yaş gruplarına göre kist ve trofozoit antijenlerine karşı saptanan antikorların dağılımı

Yaş	IgG-kist				IgG-trofozoit				IgM-kist				IgM-trofozoit			
	Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0-6	9	31	20	69	3	10.3	26	89.7	3	10.3	26	89.7	3	10.3	26	89.7
7-15	17	37*	29	63	10	21.7	56	78.3	17	37*	29	63	15	32.6*	31	67.4
16-25	19	26.3	53	73.7	18	25*	54	75	11	15.2	61	84.8	16	22.6	56	77.3
26 ve üzeri	34	21.6	123	78.4	23	14.6	134	85.4	14	8.9	143	91.1	20	12.7	137	87.7
Toplam	79*	25.9	225	74.1	54	17.7	250	82.3	45	14.8	259	85.2	54	17.7	250	82.3

*p<0.05

Kist ve/veya trofozoit antijenlerine karşı IgG seropozitifliği 86 (%28.2), IgM seropozitifliği ise 65 (%21.3) olguda saptandı. Tüm olgularda saptanan IgG seropozitifliği ile IgM seropozitifliği karşılaştırıldığında; IgG seropozitifliği, IgM seropozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p<0.05).

IgG ve IgM seropozitifliği açısından yaş grupları değerlendirildiğinde; her iki antikor için de en yüksek seropozitiflik değerleri 7-15 yaş grubunda bulundu. IgG seropozitifliği açısından yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, 7-15 yaş grubundaki IgM seropozitifliği 0-6 ve 26 yaş üzeri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p<0.05). En yüksek seropozitiflik değerlerinin bulunduğu 7-15 yaş grubunda,

IgG ile IgM seropozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark yoktu ($p>0.05$).

Kist ve/veya trofozoit antijenlerine karşı saptanan IgG ve/veya IgM antikorlarından herhangi birinin pozitif olduğu olgular seropozitif olarak değerlendirildiğinde; 304 olgunun 105'inde (%34.5) seropozitiflik olduğu görüldü. Bunlardan 10'u (%34.4) 0-6, 24'ü (%52.2) 7-15, 26'sı (%36.2) 16-25 ve 45'i (%28.7) 26 ve üzeri yaş grubunda idi (Tablo 2). Seropozitiflik yönünden yaş grupları karşılaştırıldığında; 7-15 yaş grubunda elde edilen seropozitifliğin 26 yaş ve üzeri grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$).

Tablo 2. Yaş gruplarına göre IgG, IgM ve IgG ve/veya IgM Seropozitifliğinin dağılımı

Yaş	Olgular		IgG		IgM		IgG ve/veya IgM	
			Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
	n	(%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
0-6	29	(9.5)	9 (31.0)	20 (68.9)	5 (17.2)	24 (82.7)	10 (34.5)	19 (65.5)
7-15	46	(15.1)	19 (41.3)	27 (58.6)	18 (39.1)*	28 (60.8)	24 (52.1)*	22 (47.8)
16-25	72	(23.6)	22 (30.5)	50 (69.4)	18 (25.0)	54 (75.0)	26 (36.1)	46 (63.8)
26 ve üzeri	157	(51.6)	36 (23.0)	121 (77.0)	24 (15.7)	133 (84.7)	45 (28.6)	112 (71.3)
Toplam	304	(100.0)	86 (28.2)*	218 (71.7)	65 (21.3)	239 (78.6)	105 (34.5)	199 (65.4)

* $p<0.05$

Cinsiyete göre seropozitiflik incelendiğinde; erkeklerde bayanlara göre daha yüksek olduğu saptandı. Ancak, her iki cinste saptanan seropozitiflik değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Sonuçlar Tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 3. Seropozitif olguların cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Olgular		IgG		IgM		IgG ve/veya IgM	
			Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
	n	(%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Erkek	152	50	49 (32.2)	103 (67.7)	39 (25.6)	113 (74.3)	58 (38.1)	94 (61.8)
Bayan	152	50	37 (24.3)	115 (75.6)	26 (17.1)	126 (82.9)	47 (30.9)	105 (69.0)
Toplam	304	100	86 (28.2)	218 (71.7)	65 (21.3)	239 (78.6)	105 (34.5)	199 (65.4)

G. intestinalis'in epidemiyolojik özellikleri dikkate alınarak; yaşanan yer, eğitim durumu, ailede yaşayan kişi sayısı, içme suyu ve kullanılan tuvalet yapısının seropozitiflik üzerine etkisi değerlendirildi.

Yaşanılan yere göre; olgularımızın 265'i (%87.1) ilde, 29'u (%9.5) ilçede ve 10'u (%3.2) köyde yaşıyordu. Şehirde yaşayanların 85'i (%32), ilçede yaşayanların 14'ü (%48.3) ve köyde yaşayanların 6'sında (%60) seropozitiflik saptandı. Köy ve ilçede yaşayanlarda seropozitiflik, şehirde yaşayanlara göre yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4).

Tablo 4. Yaşanılan yere göre seropozitifliğin dağılımı

Yaşanılan yer	Olgular		Seropozitif (IgG ve/veya IgM pozitif)		Seronegatif (IgG ve/veya IgM negatif)	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
İl	265	(87.1)	85	(32.0)	180	(67.9)
İlçe	29	(9.5)	14	(48.2)	15	(51.7)
Köy	10	(3.2)	6	(60.0)	4	(40.0)
Toplam	304	(100.0)	105	(34.5)	199	(65.4)

Eğitim durumu incelendiğinde; olgularımızın 46'sı (%15.1) okur yazar değildi, 73'ü (%24.0) ilkokul, 36'sı (%11.8) ortaokul, 85'i (%27.9) lise ve 64'ü (%21.0) yüksekokul eğitimi almış ya da almaktaydı. Seropozitif olguların 17'si (%37) okur yazar olmayan, 29'u (%39.8) ilkokul, 16'sı (%44.5) ortaokul, 23'ü (%27) lise ve 20'si (%31.3) yüksekokul eğitimi alan gruplarda idi. En yüksek seropozitiflik oranı ortaokul eğitimi olanlarda saptandı. Ancak, eğitim durumuna göre gruplar arasında seropozitiflik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Eğitim durumuna göre seropozitifliğin dağılımı

Eğitim Durumu	Olgular		Seropozitif (IgG ve/veya IgM pozitif)		Seronegatif (IgG ve/veya IgM negatif)	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Okur-yazar değil	46	(15.1)	17	(36.9)	29	(63.0)
İlkokul	73	(24.0)	29	(39.7)	44	(60.2)
Ortaokul	36	(11.8)	16	(44.4)	20	(55.5)
Lise	85	(27.9)	23	(27.0)	62	(72.9)
Y.Okul	64	(21.0)	20	(31.2)	44	(68.7)
Toplam	304	(100.0)	105	(34.5)	199	(65.4)

Olgularımızın birlikte yaşanan kişi sayısına göre dağılımı incelendiğinde; 227'sinin (% 74.6) 1-5 kişi, 55'inin (% 18) 6-10 kişi ve 22'sinin (%7.2) ise 11 ve daha fazla kişi ile birlikte yaşadığı belirlendi. Seropozitif olguların 65'i (%29.7) 1-5, 28'i (%51) 6-10 ve 12'si (%54.5) 11'den fazla kişinin yaşadığı gruplarda idi. Seropozitiflik oranlarının birlikte yaşanan kişi sayısı ile paralel olarak arttığını ve farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu saptandı ($p<0.01$) (Tablo 6).

Tablo 6. Birlikte yaşanan kişi sayısına göre seropozitifliğin dağılımı

Birlikte yaşanan kişi sayısı	Olgular		Seropozitif (IgG ve/veya IgM pozitif)		Seronegatif (IgG ve/veya IgM negatif)	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
0-5 kişi	227	(74.6)	65	(28.6)	162	(71.3)
6-10 kişi	55	(18.0)	28	(50.9)*	27	(49.0)
11 ve üzeri	22	(7.2)	12	(54.5)*	10	(45.4)
Toplam	304	(100.0)	105	(34.5)	99	(65.4)

*p<0.05

İçme ve kullanma suyu olarak olgularımızın 293'ü (%96.3) şebeke, 4'ü (%1) kaynak ve 7'si (%2) kuyu suyu kullanıyordu. Seropozitif olguların 99'u (%35.8) şebeke, 2'si (%50) kaynak ve 4'ü (%57.2) kuyu suyu içenlerde idi. Kaynak ve kuyu suyu içen olgularımızın sayıları yetersiz olduğu için gruplar arasında istatistiksel değerlendirme yapılamadı (Tablo 7).

Tablo 7. İçme ve kullanma suyu durumuna göre seropozitifliğin dağılımı

İçme suyu	Olgular		Seropozitif (IgG ve/veya IgM pozitif)		Seronegatif (IgG ve/veya IgM pozitif)	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Şebeke	293	(96.3)	99	(33.7)	194	(66.3)
Kaynak	4	(1.3)	2	(50.0)	2	(50.0)
Kuyu	7	(2.3)	4	(57.1)	3	(42.8)
Toplam	304	(100.0)	105	(34.5)	199	(65.4)

Kullanılan tuvalet yapısına göre; olgularımızın 287'si (%94,4) kanalizasyona bağlı ve 17'si (%5.5) foseptik çukura bağlı tuvalet kullanıyordu. Seropozitif olgulardan 95'i (%43.2) kanalizasyona bağlı tuvalet kullanan 10'u (%59) ise foseptik çukura bağlı tuvalet kullananlarda olup, foseptik çukura bağlı tuvalet kullananlarda seropozitifliğin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8. Kullanılan tuvalet yapısına göre seropozitifliğin dağılımı

Kullanılan tuvalet türü	Olgular		Seropozitif (IgG ve/veya IgM pozitif)		Seronegatif (IgG ve/veya IgM negatif)	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Kanalizasyona bağlı	287	(94.4)	95	(33.1)	192	(66.8)
Foseptik çukura bağlı	17	(5.5)	10	(58.8)*	7	(41.1)
Toplam	304	(100.0)	105	(34.5)	199	(65.4)

* $p<0.05$

V. TARTIŞMA VE SONUÇ

Giardiosisde İFA yönteminin tanı değerinin araştırıldığı değişik çalışmalarda bu testin özgülüğünün %79.5-90, duyarlılığının ise %92.5-96 arasında bulunduğu, gerek tanı ve gerekse epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabileceği bildirilmiştir (79, 95, 97, 100). *G. intestinalis* için uygulanan İFA yönteminde intakt antijenler kullanılabilir (18, 31, 43, 77, 79). Bu durum testin kolay ve çabuk değerlendirilebilmesine olanak tanır. Ayrıca, her yerde kolayca hazırlanabilmesi ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle çalışmamızda İFA'yı seçtik.

Giardia cinslerini gruplara ayırma ölçütlerinden birisi de parazitin antijenik özellikleridir (18, 31, 43, 77, 79). *G. intestinalis* trofozoitlerinin in vitro çoğalmaları sırasında da spontan antijenik değişikliklerin olduğu bildirilmiştir (71). Ancak, farklı coğrafi bölgeler ve konaklardan elde edilen *Giardia* izolatları arasında değişik suşlardan söz edecek kadar antijenik farklılığın olmadığı ve ortak antijenlerin çokluğu ortaya konmuştur (2, 6, 13, 37, 51, 52, 59, 60, 62, 63, 84, 86, 90). İFA'nın kullanıldığı değişik çalışmalarda, antijen olarak hastaların dışkı ve duodenum sıvılarından izole edilen *Giardia* kist ve trofozoitleri kullanıldı (18, 31, 43, 77, 79). Çalışmamızda antijen olarak, hastalardan izole ettiğimiz kistleri ve bunlarla enfekte edilen farelerden elde ettiğimiz trofozoitleri kullandık.

Giardiosis tanısında IFA testinin kullanıldığı çalışmalarda, hangi antikor titresinin pozitiflik alt sınırı olarak kabul edileceği konusunda henüz bir standart belirlenmemiştir (18, 39, 43, 77, 79, 88, 89, 97). Araştırmacıların bir kısmı pozitiflik alt sınırını 1/2 olarak değerlendirirken, bir kısmı da 1/32 olarak değerlendirmişlerdir (32, 89, 100). *G. intestinalis*'in diğer inestinal parazitlerle çapraz reaksiyonlarının araştırıldığı çalışmalarda 1/16-32 altındaki titrelerde çapraz reaksiyonların sık olduğu bildirilmiştir (18, 28, 31, 79, 97, 100). Çalışmamızda, çapraz reaksiyonları en aza indirmek amacıyla serum sulandırılmalarını 1/32'den başlattık.

Şaşmaz ve arkadaşları (89), trofozoit formun daha çok yüzey antijenlerine sahip olması nedeniyle giardiosis hastalarında yüksek titrede antikor cevabı oluşturduğunu, bu nedenle trofozoit formun kiste göre daha antijenik olduğunu belirtmişlerdir. Jakopii ve arkadaşları (43) ise bu konudaki farklı çalışmalarda kist ve trofozoit antijenleri ile alınan sonuçları değerlendirerek, trofozoit antijeni ile yalancı pozitifliklerin daha fazla görüldüğünü, bu nedenle kist antijenine karşı alınan sonuçların daha sağlıklı olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda enfeksiyon araştırmadık. Seroprevalans çalışmalarında antikor pozitifliği dikkate alındığından, kuvvetli antijene karşı antikor yanıtındaki titre artışı önemli değildir. Ayrıca, çapraz reaksiyonları en aza indirmek için pozitiflik alt sınırını 1/32 olarak aldık. Bu nedenle trofozoit antijenleri için olabilecek yalancı pozitiflikleri en aza indirgediğimizize inanıyoruz. Olgularımızda her iki antijene karşı IgG ve IgM seropozitiflikleri değerlendirildiğinde sadece kist antijenine

karşı IgG seropozitifliğinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık olduğunu saptadık ($p<0.05$). Kist antijenlerine karşı oluşan IgG antikoru serumda uzun süre pozitif kaldığından bu beklenen bir sonuçtur.

Dünyanın değişik ülkelerinde yapılan çalışmalarda, %18-77 arasında değişen oranlarda giardiosis seroprevalansı bildirilmiştir. Seroprevalansın ülkeler arasında farklılık gösterdiği, bu farklılığın sosyoekonomik durum ve hijyen koşullarının düşüklüğü, beslenme durumları ve nüfus yoğunluğu ile yakından ilişkili olduğu görülmektedir (57, 58, 79, 88). Türkiye’de ise sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalardan %3-30 arasında değişen seropozitiflik oranları bildirilmiştir (18, 89).

Çalışmamızda giardiosis seroprevalansını %34.5 olarak saptadık. Bu oran ülkemizden bildirilen oranlarla uyum göstermektedir. Araştırma yapılan grupların ve kullanılan yöntemlerin farklı olması nedeniyle, değerlendirme yapmak güç olsa da, bizim saptadığımız seroprevalansın yüksek olduğu söylenebilir. Çalışmamızda *G. intestinalis*’in kist ve trofozoitlerine karşı IgG ve IgM antikoru ayrı ayrı araştırdık. Seroprevalansı yüksek bulmamızın nedeni kist ve trofozoit antijenlerinden herhangi birine karşı saptanan IgG ve/veya IgM pozitifliğini seropozitif olarak değerlendirmemiz olabilir. Ayrıca, olgularımızda eğitim seviyelerinin düşük, şehirde yaşayanların ve genç nüfus oranlarının yüksek olmasının da sonucun yüksek çıkmasında etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Giardiosis daha çok çocukluk yaşlarında görülür (36, 38, 43, 46, 55, 71, 96). Bunun, çocuklarda hücrel ve humoral immünitinin immatür oluşuna ve özellikle giardiosisin endemik olduğu yerlerde enfeksiyona yakalanma riskinin yüksek olmasına bağlı olduğunu bildiren görüşler vardır (38). Farklı ülke ve bölgelerde, değişik yöntemlerle yapılan çalışmalarda yaş gruplarına göre en yüksek seropozitiflik oranlarının 6 ay-20 yaşlarında saptandığı ve bu oranın %3-77 arasında değiştiği bildirilmiştir. Giardiosis prevalansının yüksek olduğu toplumlarda çocukların enfeksiyonu kazanma yaşının düştüğü, bunda çevre koşulları ve beslenme durumlarının etkili olabileceği belirtilmiştir (38, 57, 58, 79, 83). Çalışmamızda en yüksek seropozitiflik oranının 7-15 yaş grubunda (%52.2) olduğu, ve bu yaş grubundaki seropozitifliğin erişkin yaş grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$). Bu durum, beklediğimiz bir sonuçtur. Çünkü, özellikle okul çağı çocuklarda olmak üzere, giardiosisin çocukluk yaşlarında daha sık görüldüğü bilinmektedir (36, 43, 46, 55, 71, 94, 96). Bununla birlikte bu yaş grubu için saptadığımız seroprevalansın yüksek olduğu düşünülebilir. Ancak, bu oranın belirlenmesinde kist ve trofozoit antijenlerinden herhangi birine karşı gelişen IgG ve/veya IgM pozitifliği değerlendirilmiştir. IgG ve IgM pozitifliği ayrı ayrı incelendiğinde seropozitiflik oranlarının sırasıyla %41.3 ve %39.1 olduğu görülmektedir. Bu oranlar kist ve trofozoit antijenlerinden herhangi birine karşı saptanan IgG ve/veya IgM pozitifliğini dikkate alarak saptadığımız orandan düşüktür. Gerçek

seroprevalansın belirlenmesinde kist ve trofozoitlere karşı gelişen IgM ve IgG antikorlarının ayrı ayrı araştırılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

7-15 yaş grubunda saptanan IgG seroprevalansı (%41.3), diğer yaş gruplarına göre yüksek olmakla birlikte, yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark saptanmadı ($p>0.05$). Serumda anti-giardia IgG antikorları enfeksiyonun ikinci haftasında saptanır ve uzun süre pozitif kalmaya devam eder. Kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlarda bu süre daha da uzar (5, 17, 28, 43, 55, 71). Isaac-Renton ve arkadaşları (38), Aynı bölgede beş yıl ara ile oluşan iki giardiosis salgınını araştırdıkları çalışmalarında, ilk salgında enfekte olan olgulardan ikinci salgında enfekte olanların oranını önemli derecede düşük bulmuş ve IgG antikorlarının en az beş yıl etkili olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda, IgG seroprevalansının yaş grupları arasında farklı olmaması, anti-giardia IgG antikorlarının serumda yıllarca pozitif kalması ile açıklanabilir. Anti-giardia IgM antikorlarının primer enfeksiyonun erken döneminde yükseldiği, 2-3 hafta kadar kısa bir sürede kaybolduğu, kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlarda artmadığı bilinmektedir (15, 38, 64, 71, 83). Birkhead ve arkadaşları (11), Vermont'da suya bağlı giardiosis salgınından sonra Anti-giardia IgG, IgA ve IgM antikorlarını araştırdıkları çalışmalarında, IgM titrelerinde artış saptayamayışlarının, çalışmaya salgından birkaç hafta sonra başlamalarına ve bu sürede IgM seviyelerinin düşmüş olabileceğine bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda, 7-15 yaş grubunda saptadığımız IgM seroprevalansı (%39.1), diğer yaş gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$).

Anti-giardia IgM antikorlarının serumda kısa sürede kaybolmasına rağmen, bu yaş grubunda saptadığımız IgM seroprevalansının diğer yaş gruplarına göre istatistiksel olarak yüksek olması, giardiosisin bu yaş grubunda daha sık görülmesi ile açıklanabilir (36, 43, 46, 71, 94, 96).

Giardiosis'e karşı doğal direnç yoktur ve cinsiyet farkı gözetmez (46). *Giardia* seropozitifliğinin cinsiyete göre farklılık gösterdiğini bildiren çalışmaların yanında, farklılığın saptanmadığı çalışmalar da mevcuttur (18, 43, 94). Cinsiyet farkının saptandığı çalışmalarda bu farkın seçilen çalışma grupları ve bu grupların çalışma ortamlarından kaynaklandığı bildirilmiştir (94). Çalışmamızda, erkeklerde %38.2, bayanlarda ise %31 oranında saptadığımız *Giardia* seropozitifliğinin istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olmadığını bulduk ($P>0,05$). Bizim çalışmamızda cinsiyet farkının olmayışı, çalışma grubumuzun %87.1'inin şehirde yaşıyor olması ve her iki cinsin benzer çevre koşullarına maruz kalmasıyla açıklanabilir.

Giardiosis prevalansının nüfus yoğunluğunun fazla, eğitim seviyesinin düşük ve sanitasyonun bozuk olduğu bölgelerde yüksek olduğu bilinmektedir (36, 38, 96, 103). Şehir ve kırsal bölgelerde yaşayan kişiler arasında giardiosis riski açısından farklılıklar vardır ve şehirde yaşayanlarda risk yüksektir. Bu riskin özellikle gecekondu bölgeleri olmak üzere kentlerdeki nüfus yoğunluğu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (35, 38, 49, 104). Nüfus yoğunluğunun fazla olduğu bölgelerde ve kalabalık ailelerde giardiosis prevalansının yüksek olması, kişiler arası yakın temasın artmasına bağlıdır (35, 38, 49). Çalışmamızda,

olgularımızın birlikte yaşadıkları kişi sayısına göre seropozitiflik incelendiğinde, kalabalık ailelerde veya ortamlarda (yurt, kışla, vb) yaşayanlarda seropozitifliğin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Bizim elde ettiğimiz bu sonuç kaynaklarla uyumludur.

Çalışmamızda, olgularımızın yaşadığı yerlere göre seropozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulamadık ($p>0.05$). Olgularımızın %87.1'nin ilde yaşıyor olması dikkate alınır, bu gruptaki seropozitifliğin yüksek olması beklenirdi. Ancak, çalışmamızı üniversite hastanesinde yaptığımız için, olgularımız arasında sosyoekonomik düzeyi düşük olanların az olması olasılığı fazladır. Sosyoekonomik düzeyi yüksek toplum kesimlerinden oluşan olgularımızda *Giardia* seroprevalansında, kırsal kesime göre fark olmaması beklenen bir sonuçtur.

Giardiosis prevalansını artıran faktörlerden biri eğitim seviyesi düşüklüğüdür (45, 48). Ancak, eğitim seviyesi ile ilişkili olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (66). Biz de, çalışmamızda eğitim durumlarına göre gruplar arasında seropozitiflik yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık ($p>0.05$).

Giardia kistlerinin çevre şartlarına dirençli olması, düşük ısıdaki sularda uzun süre canlı kalabilmesi, su kaynaklarını potansiyel bulaşma kaynağı haline getirmektedir (55, 98). Klorlamanın *Giardia* kistlerine yeterince etkili olmaması, kaynatma veya filtrasyon gibi yöntemlerin her zaman uygulanamaması nedeniyle suya bağlı giardiosis salgınları görülebilmektedir (11, 40, 79, 91).

Çalışmamızda, olgularımızın %96.3'ünün şebeke suyu kullanması nedeniyle, içme suyu ile seropozitiflik ilişkisini istatistiksel olarak araştıramadık. Ancak şebeke suyu kullanmayan 11 olgudan 6'sının (%54.5) seropozitif olması dikkat çekicidir. Bozuk kanalizasyon sistemlerinin suların kontaminasyonundan birinci derecede sorumlu olduğu bildirilmiştir (98). Kanalizasyon sistemi olmayan bölgelerde seroprevalansın yüksek olması beklenen bir bulgudur. Çalışma grubumuzda, kullandıkları tuvalet türüne göre seropozitiflik incelediğinde, tuvaletleri foseptik çukura bağlı olan grupta saptanan seropozitifliğin, kanalizasyona bağlı olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Bu da, olgularımızın kullandıkları su yönünden uygun dağılım göstermeleri halinde, şebeke suyu kullanmayan grupta seropozitifliklerin yüksek olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç:

1. Elazığ yöresinde giardiosis seroprevalansı %34.5 olarak saptandı.
2. En yüksek seropozitiflik oranının 7-15 yaş grubunda (%52.2) olduğu, ve bu yaş grubundaki seropozitifliğin erişkin yaş grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$).
3. 7-15 yaş grubunda IgG ve IgM pozitifliği ayrı ayrı incelendiğinde, seropozitiflik oranlarının sırasıyla %41.3 ve %39.1 olduğu görülmüştür.
4. 7-15 yaş grubunda IgM seroprevalansının (%39.1), diğer yaş gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı($p<0.05$).

5. Erkeklerde %38.2, bayanlarda ise %31 oranında saptanan *Giardia* seroprevalansının istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olmadığı saptandı ($P>0,05$).

6. Birlikte yaşadıkları kişi sayısına göre seropozitifliğin, kalabalık ailelerde veya ortamlarda (yurt, kışla, vb) yaşayanlarda arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$).

7. Olguların yaşadığı yer ve eğitim durumlarına göre seropozitiflik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olmadığı saptandı ($p>0.05$).

8. Kullanılan tuvalet türüne göre, tuvaletleri foseptik çukura bağlı olan grupta saptanan seropozitifliğin, kanalizasyona bağlı olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$).

VI. ÖZET

Bu çalışmada, *G. intestinalis* kist ve trofozoit antijenlerine karşı oluşan IgG ve IgM seropozitifliklerinin, IFA yöntemiyle incelenerek giardiosis seroprevalansının saptaması amaçlanmıştır.

F.Ü. Tıp Fakültesi Fırat Tıp Merkezi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları laboratuvarlarına herhangi bir şikayetle başvuran ve yaşları 0-79 arasında (27±15) değişen 304 hasta çalışmaya alındı. IFA testinde antijen olarak, giardiosisli hastaların dışkılarından saflaştırılan *G. intestinalis* kistleri ve deneysel olarak enfekte edilen farelerin ince barsağından in vivo olarak elde edilen trofozoitler kullanıldı. Hasta serumlarının 1/32, 1/64, 1/128 ve 1/256 sulandırılmaları, negatif kontrol olarak sağlıklı kontrol serumu ve PBS, pozitif kontrol olarak giardiosisli hastadan alınan ve titresi belirlenen serum ile çalışıldı.

Kist antijenlerine karşı, IgG: 79 (%26), IgM: 45 (%14.8) ve IgG+IgM: 33 (%10.8) olguda; trofozoit antijenlerine karşı ise IgG: 54 (%17.7), IgM: 54 (%17.7) ve IgG+IgM: 30 (%9.8) olguda pozitif bulundu. Olguların 18'inde (%5.9) ise her iki antijene karşı IgG+IgM pozitif idi. Kist ve/veya trofozoit antijenlerine karşı IgG seropozitifliği 86 (%28.2), IgM seropozitifliği ise 65 (%21.3) olguda saptandı. IgG seropozitifliği, IgM seropozitifliğine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0.05$). Her iki antikor için de en yüksek seropozitiflik değerleri 7-15 yaş grubunda bulundu. Yaş grupları arasında, IgG seropozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir

fark bulunmazken, 7-15 yaş grubundaki IgM seropozitifliği 0-6 ve 26 yaş üzeri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0.05$).

Kist ve/veya trofozoit antijenlerine karşı saptanan IgG ve/veya IgM antikorlarından herhangi birinin pozitif olduğu olgular seropozitif olarak değerlendirildiğinde; 304 olgunun 105'inde (%34.5) seropozitiflik olduğu, en yüksek seropozitifliğin 7-15 yaş grubunda ve bu yaş grubunda elde edilen seropozitifliğin 26 yaş ve üzeri grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$). Seropozitiflik yönünden, cinsiyet, yaşanan yer ve eğitim düzeyine göre anlamlı fark olmadığı ($p>0.05$), ancak birlikte yaşanan kişi sayısı ile paralel olarak arttığını ve foseptik çukura bağlı tuvalet kullananlarda kanalizasyona bağlı olanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$).

Elazığ bölgesinde giardiosis seroprevalansı ve buna etkisi olabilecek bazı faktörler ortaya konmuştur. Yöntem ve içerik olarak bölgemizdeki ilk seroprevalans çalışmasıdır. Farklı serolojik yöntemlerle değişik toplum kesimlerinde yapılacak seroprevalans araştırmaları sonucunda hastalığın kontrol altına alınması için yeni stratejiler geliştirilebileceği kanısındayız.

VII. SUMMARY

The aim of this study was to determine the giardiasis seroprevalence. For this purpose, both *G. intestinalis* cyst and trophozoite antigen specific antibodies either in IgG or IgM class were analysed in immunofluorescent antibody assay.

A total of 304 serum samples obtained from subjects applied to Firat Medical Center Clinical Microbiology and Infectious Disease Laboratory was used in the study. Subjects had complaints of various diseases. Ages of the subjects ranged from 0 to 79 (mean 27 ± 15). In IFA, *G. intestinalis* cyst purified from the stools of giardiasis patients and trophozoite obtained from small intestines of experimentally infected mice were used as antigen. Serum samples were diluted to 1/32, 1/64, 1/128 and 1/256. Serum from healthy subjects and PBS were used as negative control and as positive control serum from giardiasis patients with predetermined seropositivity was used.

The number of seropositive samples against cyst antigens were as follow, IgG 79 (26.0 %), IgM 45 (14.8 %), and IgG plus IgM 30 (10.8 %). The number of samples which were seropositive against trophozoite antigens were 54 for IgG (17.7 %), 54 for IgM (17.7 %) and 30 for IgG plus IgM (9.8 %). In 18 case (5.9 %), IgG plus IgM were detected against both cyst and trophozoite antigens. IgG seropositivity was 21.3 % (65 samples). IgG seropositivity was higher than that of IgM seropositivity for both antibodies

classes was noticed in the subject again 7 to 15. There was no statistically significant difference between age groups interns of IgG class. However, IgM seropositivity in samples from 7-15 age group subjects was significantly higher than in samples form subjects 0-6 and over 26 years old ($p<0.05$).

When the presence of either IgG or IgM class antibodies against either of the antigens is considered as seropositivity, 104 samples (34.5 %) were classified as seropositive, and the highest seropositivity was noticed in samples from 7-15 age group. Seropositivity in 7-15 age group compared to the samples from subjects over 26 years old was significantly higher ($p<0.05$). There was no significant difference in subjects according to the gender, living place and educational status ($p>0.05$). However, the seropositivity increased as the number of people with whom the subject lived together increased ($p<0.05$). Furthermore in subjects using toilets connected to city savage system, seropositivity was significantly lower ($p<0.05$).

In this study, seroprevalence of giardiasis in Elazig region, and some of the factors which might influence the seroprevalence were determined. This study represents one of the first studies performed in this region in terms of methodology and content. Similar studies carried out in different communities in the general population might help devise new strategies for controlling giardiasis.

VIII. KAYNAKLAR

- 1- Addiss, D.G. Mathews, H.M. Stewart, J.M. et. al. (1991). Evaluation of a commercially available ELISA for *G. lamblia* antigen in stool. J. Trop. Med. Hyg. 29, 1137-1142.
- 2- Aggarwal, A. and Nash, T.E. (1987). Comparison of two antigenically distinct *G. lamblia* isolates in gerbils. Am. J. Trop. Med. Hyg. 36, 325-332.
- 3- Altıntaş, K. (1997). Tıbbi Genel Parazitoloji ve Protozooloji. 1. Baskı. MN Medikal ve Nobel. Ankara.
- 4- Al-tukhi, M.H. Al-ahdal, N.M. and Peters, W. (1991). A simple method for excystation of *Giardia lamblia* cysts. Ann. Trop. Med. Parasitol. 85, 427-31.
- 5- Al-tukhi, M.H. Ackers, J.P. Al-ahdal, N.M. et. al. (1993). ELISA for detection of anti-Giardia specific IgM: Response in serum. J. Trop. Med. Hyg. 96, 333-336.
- 6- Andrews, R.H. Adams, M. Boreham, P.F.L. et. al. (1989). *G. intestinalis*: Electrophoretic evidence for a species complex. International J. For Parasitology. 19, 183-190.
- 7- Aşçı, Z. Yılmaz, M. Ay, S. ve Barlas, H.H. (1991). Harput Çocuk Yuvası 6-12 yaş grubu çocuklarında parazitolojik incelemeler. T. Parazitol. Derg. 15, 83-87.

- 8- Ay, S. Yılmaz, M. Aşçı, Z. Barlas, H.H., ve ark. (1991). F.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına başvuran hastalarda barsak parazitlerinin dağılımı. T. Parazitol. Derg. 15, 88-91.
- 9- Belosevic, M. Faubert, G.M. MacLean, J.D. et. al. (1983). *Giardia lamblia* infections in mongolian gerbils: An animal model. J. Infect. Diseases. 147, 222-226.
- 10- Belosevic, M. and Daniels, CW. (1992). Phagocytosis of *G. lamblia* trophozoites by cytokine activated macrophages. Clin. Exp. Immunals. 87, 304-309.
- 11- Birkhead, G. Janoff, E.N. Vogt, R.L. et. al. (1989). Elevated levels of immunoglobulin A to *G. lamblia* during a waterborne outbreak of gastroenteritis. J. Clin. Microbiol. 27, 1707-1710.
- 12- Buret, A. (1994). Pathogenesis- How does *Giardia* cause disease? 293-316. Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: *Giardia: from molekules to disease*. CAB International. Cambridge, England.
- 13- Campbell, S.R. Keulen, H.V. Erlandsen, S.L. et. al. (1990). *Giardia sp.*: Comparison of electrophoretic karyotypes. Experimental Parasitol. 71, 470-482.
- 14- Char, S. Cevalles, A.M. Yamsen, P. et. al. (1993). Impaired IgA response to *Giardia* heat shock antigen in children with persistent diarrhoea and Giardiosis. Gut. 34, 38-40.

- 15- Chaudhuri, PP. Sengupta, K. Manna, B. et al. (1992). Detection of specific anti-giardia antibodies in the serodiagnosis of symptomatic giardiasis. J. Diarrhoeal Dis. Res. 10, 151-155.
- 16- Craft, J.C. (1982). Experimental infection with *G. lamblia* in rats. J. Infect. Dis. 145, 495-498
- 17- Craft, J.C. and Nelson, J.D. (1982). Diagnosis of Giardiasis by counterimmunoelectrophoresis of feces. J. Infect. Diseases. 145, 499-504.
- 18- Çakıroğlu A. ve Altıntaş, N. (1994). *Giardia intestinalis* tanısında duodenal sıvı, dışkı incelemesi ve indirekt fluoresans antikor (IFA) yönteminin değerlendirilmesi. Ege Tıp Derg. 33, 173-178.
- 19- Daldal, N. ve Özbilgin, A. (1990). *G. intestinalis* kistlerinin çeşitli ortamlardaki dayanıklılığı üzerine bir çalışma T. Parazitol. Derg. 14, 53-58.
- 20- Erlandsen, SL. (1994) Biotic transmission- is Giardiasis a zoonosis? 83-98. Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: Giardia: from moleküles to disease. CAB International. Cambridge, England.
- 21- Erlandsen, S.L. Bemrick, W.J. Wells, C.L. et. al. (1990). Axenic culture and characterization of *G. ardeae* from great blue heron (*ardea herodias*). J. Parasitol. 76, 717-724.
- 22- Farthing, M.J.G. Pereira, M.E.A. and Keusch, G.T. (1986). Description and characterization of a surface lectin from *G. lamblia*. Infection and Immunity. 51, 661-667.

- 23- Farthing, MJG. (1994). Giardiasis as a disease. 15-37. Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: *Giardia: from molecules to disease*. CAB International. Cambridge, England.
- 24- Faubert, G. (1996). The Immun Response to *Giardia*: An Overview. 155-164. Ed. Özcel, M.A. In: *New Dimensions in Parasitology*. Acta Parasitol. Turcica. 20 (Suppl. 1),
- 25- Faubert, G.M. (1996). The immune response to *Giardia*. Parasitol. Today. 12, 140-145.
- 26- Gillin, DF. Reiner, DS. Gault, MJ. et al. (1987). Encystation and expression of cyst antigens by *G. lamblia* in vitro. Science. 235, 1040-1043.
- 27- Goldin, A.J. Apt, W. Aguilera, X. et. al. (1990). Efficient diagnosis of giardiasis among nursery and primary school children in Santiago, Chile by capture ELISA for the detection of fecal *Giardia* antigens. Am. J. Trop. Med. Hyg. 42, 538-545.
- 28- Goka, A.K.J. Rolston, D.D.K. Mathan, V.I. et. al. (1986) Diagnosis of Giardiasis by specific IgM antibody enzyme-linked immunosorbent assay. Lancet. July 26, 184-186.
- 29- Gordts, B. Retore, P. Cadranel, S. et. al. (1984). Routine culture of *G. lamblia* trophozoites from human duodenal aspirates. Lancet. July 21, 137-138.
- 30- Gordts, B. Hemelhof, W. Van tilborgh, K. et all. (1985). Evaluation of a new method for routine in vitro cultivation of *G. lamblia* from human duodenal fluid. J. Clin. Microbiol. 22, 702-704.

- 31- Haralabidis, S.T.H. (1984). Immunodiagnosis of Giardiasis by ELISA and studies on cross-reactivity between the anti-*Giardia lamblia* antibodies and some heterologous parasitic antigens and fractions. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 78, 295-300.
- 32- Heyworth, M.F. (1986). Antibody response to *G. muris* trophozoites in mouse intestine. *Infection and Immunity.* 52, 568-571.
- 33- Hill, DR. Burge, JJ. and Pearson, RD. (1984). Susceptibility of *Giardia lamblia* trophozoites to the lethal effect of human serum. *J. Immunol.* 132, 2046-2052.
- 34- Hill, DR. and Pearson, RD. (1987). Ingestion of *G. lamblia* trophozoites by human mononuclear phagocytes. *Infection and Immunity.* 55, 3155-3161.
- 35- Hill, A. *Giardia* infections: (1994). Epidemiology and nutritional consequences. 253-280. Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: *Giardia: from molecules to disease.* CAB International. Cambridge, England.
- 36- Hill D.R. (1995). *Giardia lamblia.* 2487-2491. Mandel G.L. Benett J.E. Dolin R. eds. In: *Principles and Practice of Infectious Disease.* Wiley Medical Publications. New York.
- 37- Idezulu, I.A. Visvesvara, G.S. Moss, D.M. et. al. (1992). Isolation of two *Giardia lamblia* (WB strain) clones with distinct surface protein and antigenic profiles and differing infectivity and virulence. *Infection and Immunity.* 60, 2274-2280.

- 38- Isaac-Renton, J.L. Lewis, L.F. Ong, C.S. et al. (1994). A second community outbreak of waterborne giardiasis in Canada and serological investigation of patients. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 88, 395-399.
- 39- Islam, A. Stoll, B.J. Ljungström, I. et al. (1983). *G. lamblia* infections in a cohort of Bangladeshi mothers and infants followed for one year. *J. Pediatr.* 103, 996-1000.
- 40- Ístre, G.R. Dunlop, T.S. Gaspard, G.B. et al. (1984). Waterborne Giardiasis at a Mountain resort: Evidence for acquired immunity. *Am. J. Public Health.* 74, 602-604.
- 41- Janoff, E.N. Smith, P.D. and Blaser, M.J. (1988). Acute antibody responses to *G. lamblia* are depressed in patients with AIDS. *J. Infect. Diseases.* 157, 798-804.
- 42- Janoff, E.N. Craft, J.C. Pickering, L.K. et al. (1989). Diagnosis of *G. lamblia* infections by detection of parasite-specific antigens. *J. Clin. Microbiol.* 27, 431-435.
- 43- Jokipii, L. Miettinen, A. and Jokipii, A.M.M. (1988). Antibodies to cysts of *G. lamblia* in primary Giardiasis and in the absence of Giardiasis. *J. Clin. Microbiol.* 26, 121-125.
- 44- Kamath, K.R. and Murugasu, R. (1974). A comparative study of four methods for detecting *G. lamblia* in children with diarrheal disease and malabsorption. *Gastroenterology.* 66, 16-21.

- 45- Koksai, I. Malkoç, CH. Ozergin, O. et al. (1992). The prevalence of intestinal parasites in primary school students in Trabzon and the importance of education of parasite patients. *Microbiyol. Bul.* 26, 155-162.
- 46- Kuman, H.A. ve Altıntaş, N. (1996). *Protozoon Hastalıkları*. 1. Baskı. Ege Üniversitesi Basımevi. Bornova- İzmir
- 47- Lascurain, LR. Mora, JME. Acosta, AG. et al. (1993). The prevalence of antibodies against *Giardia lamblia* in umbilical cord serum and in maternal peripheral blood. *Bol. Med. Hosp. Infant Mex.* 50, 27-31.
- 48- Lerman, Y. Slepon, R. and Cohen, D. (1994). Epidemiology of acute diarrheal diseases in children in a high standad of living rural settlement in Israel. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 13, 116-122.
- 49- Mahmud, MA. Chappell, C. Hossain, MM. et al. (1995). Risk factors for development of first syntomatic *Giardia* infections among infants of a birth cohort in rural Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 53, 84-88.
- 50- Majewska, AC. (1994). Successful experimental infections of a human volunteer and Mongolian gerbils with *Giardia* of animal origin. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 88, 360-362.
- 51- Meloni, B.P. Lymbery, A.L. and Thompson, R.C.A. (1989). Characterization of *Giardia* izolates using a non-radiolabeled DNA probe, and correlation with the results of isoenzyme analysis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 40, 629-637.

- 52- Meloni, B.P. Lymbery, A.J. and Thompson, R.C.A. (1988). Isoenzyme electrophoresis of 30 isolates of *Giardia* from humans and felines. Am. J. Trop. Med. Hyg. 38, 65-73.
- 53- Meyer, E.A. (1965). Culture in vitro of *Giardia* trophozoites from the rabbit and chinchilla. Nature. 207, 1417-1418.
- 54- Meyer, E.A. (1976). *Giardia lamblia*: Isolation and axenic cultivation. Experimental Parasitology. 39, 101-5.
- 55- Meyer, E.A. and Jarroll, E.L. (1980). Giardiasis. Am. J. Epidemiology. 111, 1-12.
- 56- Meyer, E.A. (1994). *Giardia* as an organism. 3-14. Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: *Giardia: from molecules to disease*. CAB International. Cambridge, England.
- 57- Miotti, P.G. Gilman, R.H. Pickering, L.K. et. al. (1985). Prevalence of serum and milk antibodies to *G. lamblia* in different populations of lactating women. J. Infect. Diseases. 152, 1025-1031.
- 58- Miotti, P.G. Gilman, R.H. Santosham, M. et. al. (1986). Age-related rate of seropositivity of antibody to *Giardia lamblia* in four diverse populations. J. Clin. Microbiol. 24, 972-975.
- 59- Nash, T.E. and Keister, D.E. (1985). Differences in excretory-secretory products and surface among 19 isolates of *Giardia*. J. Infect. Dis. 152, 1166-1171.

- 60- Nash, T.E. McCutchan, T. Keister, D. et. al. (1985). Restriction-Endonuclease analysis of DNA from 15 *Giardia* isolates obtained from humans and animals. *J. Infect. Dis.* 152, 64-73.
- 61- Nash, T.E. Herrington, D.A. Losonsky, G.A. et all. (1987). Experimental human enfections with *G. Lamblia*. *J. Infect. Dis.* 156, 974-984.
- 62- Nash, T.E. Banks, S.M. Alling, D.W. et. al. (1990). Frequency of variant antigens in *Giardia lamblia*. *Experimental Parasitol.* 71, 415-421.
- 63- Nash, T.E. Merritt, J.M. and Conrad, J.T. (1991). Isolate and epitope variability in susceptibility of *G. lamblia* to intestinal proteases. *Infection and Immunity.* 59, 1334-40.
- 64- Nash, TE. (1994). Immunology: The role of the parasite. 139-154. Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: *Giardia: from moleküles to disease*. CAB International. Cambridge, England.
- 65- Nayak, N. Ganguly, N.K. Walia, N.S. et. al. (1987). Specific secretory IgA in the milk of *G. lamblia*-infected and uninfected women. *J. Infect. Diseas.* 155, 724-727.
- 66- Omar, MS. Mahfouz, AA. and Abdel-Moneim, M. (1995). The relationship of water sources and other determinants to prevalence of intestinal protozoal infections in a rural community of Saudi Arabia. *J. Community Health.* 20, 433-440.

- 67- Orak, S. Ay, S. Aşçı, Z. ve ark. (1988). Elazığ 13-18 yaş grubu erkek bakım yurdu çocuklarında kopro-parazitolojik bir çalışma. T. Parazitol. Derg. 12, 11-16.
- 68- Orak, S. Ay, S. Aşçı, Z. ve ark.. (1988). F.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına başvuran hastalarda kopro-parazitolojik çalışmanın sonuçları. T. Parazitol. Derg. 12, 17-25.
- 69- Orak, S. Yılmaz, M. Erol, G. ve ark. (1989). Elazığ ili anasınıf öğrencilerinde koproparazitolojik bir çalışma. T. Parazitol. Derg. 13, 81-86.
- 70- Orhan, V. Güneş, A.T. Özşahin, F. ve ark. (1991). Çeşitli dermatozlarda *G. intestinalis* insidansı ve Ornidazol ile tedavisinden alınan sonuçlar. T. Parazitol. Derg. 15, 12-19.
- 71- Özcel, M.A., Üner, A. (1997). Giardiosis. 1. Baskı. Ege Üniversitesi Basımevi. Bornova- İzmir.
- 72- Özcel, MA. (1995). İmmun yetmezlikte önemi artan parazit hastalıkları. 1. Baskı. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova İzmir.
- 73- Özcel, M.A. (1995). Güneydoğu Anadolu Projesini Tehdit Eden Parazit Hastalıkları. 1. Baskı. Ege Ü. Basımevi Bornova- İzmir.
- 74- Özkeklikçi A. (1997). *G. intestinalis* tanısında rutin ve ELISA yöntemlerinin karşılaştırılması. Fırat Ü Tıp Fak. Parazitoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Elazığ.

- 75- Perez, O. Lastre, M. Bandera, F. et al. (1994). Evaluation of the immune response in symptomatic and asymptomatic human giardiasis. *Arch. Med. Res.* 25, 171-177.
- 76- Rabbani, GH. and Islam, A. (1994). Giardiasis in humans: Populations most at risk and prospects for control. 217-249. Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: *Giardia: from molekules to disease*. CAB International. Cambridge, England.
- 77- Radulescu, S. Iancu, L. and Simionescu, O. (1983). Serum antibodies in Giardiosis. *J. Clin. Pathol.* 29, 863.
- 78- Rice, E.W. and Schaffer III, F.W. (1981). Improved in vitro excystation procedure for *Giardia lamblia* cysts. *J. Clin. Microbiol.* 14, 709-10.
- 79- Ridley, M.J. and Ridley, D.S. (1976). Serum antibodies and jejunal histology in Giardiosis associated with malabsorption. *J. Clin. Pathol.* 29, 30-34.
- 80- Schmerin, M.J. Jones, T.C. and Klein, H. (1988). Giardiosis: Association with homosexuality. *Ann. Internal med.* 88, 801-803.
- 81- Schupp, D.G. Januschka, M.M. Sherlock, L.A.F. et al. (1988). Production of viable *Giardia* cysts in vitro: Determination by fluorogenic dye staining, excystation, and animal infectivity in the mouse and mongolian gerbil. *Gastroenterology.* 95, 1-10.
- 82- Sheffield, H.G. and Bjorvatn, B. (1977). Ultrastructure of the cyst of *G. lamblia*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 26, 23-30.

- 83- Shetty, N. Narasimha, M. Elliott, E. et al. (1992). Age-specific seroprevalance of amoebiasis and giardiasis in southern Indian infants and children. *J. Trop. Pediatr.* 38, 57-63.
- 84- Smith, P.D. Gillin, F.D. Kaushal, N.A. et. al. (1982). Antigenic analysis of *G. lamblia* from Afghanistan, Puerto Rico, Ecuador, and Oregon. *Infection and Immunity.* 36, 714-9.
- 85- Smith, PD. Keister, DB. and Elson, CO. (1983). Human host response to *Giardia lamblia*. II. Antibody-dependent killig in vitro. *Cellular Immunology.* 82, 308-315.
- 86- Stranden, A.M. Eckert, J. and Köhler, P. (1990). Electrophoretic charecterization of *Giardia* izolated from humans, cattle, sheep, and a dog in Switzerland. *J. Parasitol.* 76, 660-668.
- 87- Stibbs, H.H. Samadpour, M. and Manning, J.F. (1988). Enzyme immunoassay for detection of *G. lamblia* cyst antigens in formalin-fixed and unfixed human stool. *J. Clin. Microbiol.* 26, 1665-69.
- 88- Sullivan, R.M.D. Linneman, C.C. Clark, C.S. et al. (1987). Seroepidemiologic study of Giardiosis patients and high-risk groups in a Midwstern City in the United States. *Am. J. Public Health.* 77, 960-963.
- 89- Şaşmaz, E. Hashempoor, G.R. Açıkgoz, M. ve ark. (1995). Giardiosis'li hasta serumlarında *G. lamblia* kist ve trofozoitlerinin karşılaştırmalı antijenik analizi. *T. Parazitol. Derg.* 19, 6-13.

- 90- Taylor, G.D. and Wenman, W.M. (1987). Human immune response to *Giardia lamblia* infection. J. Infect. Diseases. 155, 137-40.
- 91- Tellez, A. Morales, W. Rivera, T. et al. (1997). Prevalence of intestinal parasites in the human population of Leon, Nicaragua. Acta Trop. 66, 119-125.
- 92- Tibayrenc, M. (1994). How many species of *Giardia* are there ? 41-48. Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: *Giardia: from moleküles to disease*. CAB International. Cambridge, England.
- 93- Thomson, R.I.C. Stevens, D.P. Mahmoud, A.A.F. et. al. (1976). Giardiasis in the mouse: an animal model. Gastroenterology. 71, 57-61.
- 94- Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. (1994). *Giardia: from moleküles to disease*. CAB International. Cambridge, England.
- 95- Torres, ID. Matamoros, VM. Rojas, RL. et al. (1993). Assessment of the antibody response in patients with giardiasis. Rev. Cubana Med. Trop. 45, 27-31.
- 96- Unat E.K. Yücel A, Altaş K, Samastı M. (1995). Unat'ın Tıp Parazitolojisi. İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan hastalıkları. 5. Baskı. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları. İstanbul.
- 97- Visvesvara, G.S. Smith, P.D. Healy, G.R. et. al. (1980). An immunofluorescence test to detect serum antibodies to *G. lamblia*. Ann. Inter. Med. 93, 802-5.

- 98- Wallis, PM. (1994). Abiotic transmission- is water really significant? 99-122.
Ed: Thompson, R.C.A. Reynoldson, J.A. and Lymbery, A.J. In: Giardia: from moleküles to disease. CAB International. Cambridge, England.
- 99- Wieseahn, G.P. Jarroll, E.L. Lindmark, D.G. et. al. (1984). *Giardia lamblia*: Autoradiographic analysis of nuclear replication. Experimental Parasitol. 58, 94-100.
- 100- Wittner, M. Maayan, S. Farrer, W. et. al. (1983). Diagnosis of Giardiasis by two methods. Arch. Pathol. Lab. Med. 107, 524-527.
- 101- Wright, S.G. Tomkins, A.M. and Ridley, D.S. (1977). Giardiasis: Clinical and therapeutic aspects. Gut. 18, 343-350.
- 102- Yılmaz, M. ve Saygı, G. (1986). Yurdumuzda ilk defa Entero-test'in giyardiya tanısında kullanımı. T. Parazitol. Derg. 9, 97-102.
- 103- Yılmaz, M. Kökçam, İ. Ay, S. ve ark. (1989). Elazığ Akıl ve Sinir Hastalıkları Hastanesi'ndeki hastalarda barsak parazitlerinin dağılımı. T. Parazitol. Derg. 13, 51-53.
- 104- Yılmaz, M. Ay, S. Kılıç, S.S. ve ark. (1989). Elazığ merkez ve bazı köy okullarında barsak parazitlerinin dağılımı. T. Parazitol. Derg. 13, 55-58.

IX. ÖZGEÇMİŞ

27. 2. 1961 tarihinde Konya'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi burada tamamladıktan sonra yüksek öğrenimime 1978 yılında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde başladım. 1984 yılında bu fakülteden mezun oldum. Trabzon'un Akçaabat ilçesinde zorunlu hizmetime başladım. 1989-1990 yılları arasında askerlik hizmetimi İzmit'te 15. Kolordu'ya bağlı 1. İstikam taburunda yedek subay olarak yaptım. Dokuz yıl Akçaabat'ta görev yaptıktan sonra 1993 yılında Fırat üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları bölümünde doktora programına başladım. Daha sonra, bu programdan aynı enstitünün Parazitoloji doktora programına yatay geçiş yaptım. Şu anda Elazığ Verem Savaşı Dispanserinde görev yapmaktayım.

XI. EKLER**1. Hasta bilgi formu****Elazğ bölgesinde giardiosis seroprevalansının İndirekt İmmün Fluoresan yöntemi ile
araştırılması bilgi formu**

Protokol no: Tarih: / / .

Hastanın

Adı soyadı:

Yaşı:

Cinsiyeti:

Eğitimi:

Adresi:

Yaşadığı yer İl: İlçe: Köy:

Birlikte yaşadığı kişi sayısı 1-5 kişi:

6-10 kişi:

11 ve üzeri:

İçme ve kullanma suyu Şebeke suyu:

Kaynak suyu:

Kuyu suyu:

Kullanılan tuvalet Kanalizasyona bağlı:

Fosseptik çukura bağlı:

IFA sonucu Kist antijeni- IgG:

Kist antijeni- IgM:

Trofozoit antijeni-IgG:

Trofozoit antijeni-IgM: