

ORJİNAL ARAŞTIRMA

**BLASTOCYSTIS SPP. SAPTANAN 50 SEMPTOMATİK HASTADA ALT TİP DAĞILIMIN SAPTANMASI**

**SUBTYPE ANALYSES OF 50 BLASTOCYSTIS SPP. ISOLATES FROM SYMPTOMATIC PATIENTS DISTRIBUTION DETERMINATION**

<sup>1\*</sup>Özden Büyükbaba Boral, <sup>1</sup>Deniz Gözde Çelik Payçu, <sup>1</sup>Akın Akgül, <sup>2</sup>Halim İşsever

ÖZET

**Giriş:** *Blastocystis spp.* neden olduğu klinik semptomlar nedeniyle günümüzde önem kazanan enterik bir protozoondur. Prevalansı dünyanın farklı bölgelerinde değişimle birlikte gelişmekte olan ülkelerde daha sık görüldüğü bildirilmektedir. Bugüne kadar insanlarda 9 *Blastocystis spp.* alt tipi saptanmıştır ve bu lerin farklı klinik semptomlar ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür.

**Gereç Yöntem:** Bu çalışmada formol-etil asetat yöntemi ile *Blastocystis spp. varlığı saptanan* 50 semptomatik hastadan elde edilen izolatlarının iki farklı besiyerinde kültürleri yapılmış, bu izolatların alt tip dağılımı sekanslama yöntemi ile belirlenmiş, alt tipler ile klinik bulgular arasındaki ilişkiler incelenmiştir.

**Bulgular:** Örneklerden 40 (%80)'i her iki besiyerinde de üremiş, 5 (%10)'i iki besiyerinde de ürememiş, 5 (%10) örnek ise iki besiyerinden sadece birinde üremiştir. 39 (%78) örnekte tek bir alt tip saptanırken, 11 (%22) örnekte birden fazla alt tip varlığı saptanmıştır. Örnekler arasında en sık ST3 saptanırken bunu sırasıyla ST1, ST5, ST2 ve ST4 takip etmiştir. Karın ağrısı 23 (%46) hastada olmak üzere en sık rastlanan klinik semptom olup, allerjik semptomlar ise 17 (%34) hastada gözlenmiştir. Bunun dışında hastalarda çeşitli gastrointestinal semptomlar ve eklem ağrısı varlığı da gözlenmiştir. Klinik semptomlar ile alt tipler arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

**Sonuç:** Çalışmamızda, gastrointestinal ve allerjik semptomları olan hastalarda ST3 alt tipi en sık saptanmıştır. Ayrıca her ne kadar az sayıda olgu bildirilmiş olsa da bir hastada eklem ağrısı saptanmış olması *Blastocystis spp.*'nin artrit ile ilişkisi olabileceğini ve klinisyenler tarafından göz önünde bulundurulması gerektiğini düşündürmektedir. Her ne kadar çalışmamızda klinik bulgular ile alt tipler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamış olsa da *Blastocystis spp.* alt tiplerinin, klinik bulgularla ilişkilerinin anlaşılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** *Blastocystis spp.*, alt tip, klinik belirtiler

**Introduction:** *Blastocystis spp.* is an enteric protozoon that has grown in importance with recent knowledge of the symptoms, disorders it may cause. Its prevalence varies in different countries, but it is most frequently detected in developing countries. Nine subtypes (ST) of *Blastocystis spp.* have been detected in humans and it is suggested that these subtypes can be related to its varying clinical symptoms.

**Material and Methods:** In this study, stool samples were examined with microscopy after performing formol-ethyl acetate sedimentation for the presence of *Blastocystis spp.* Fifty samples with *Blastocystis spp.* were cultured in 2 different media and underwent subsequent sequencing to determine the subtypes. Relations between clinical symptoms and the subtypes were examined.

**Results:** Fourty (80%) of the samples were positive with both culture media; 5 (10%) showed no growth in any media; 5 (10%) grew in only one. 39 (78%) samples had one subtype while 11 (22%) had mixed subtypes. ST3 was determined as the most common subtype followed by ST1, ST5, ST2, and ST4. Abdominal pain was the most common clinical symptom in 23 (46%) patients, followed by 17 (34%) with allergic symptoms. Others had gastrointestinal symptoms and joint pain. No significant relationship detected between symptoms and subtypes.

**Conclusion:** ST3 was the predominant subtype in patients with gastrointestinal and allergic symptoms. Also, one patient with joint pain suggests that *Blastocystis spp.* could also be related to arthritis, and even though few cases have been reported, this should be considered by physicians. Although we could not determine a relationship between subtypes and clinical symptoms, further investigations are needed to clarify this subject.

**Key Words:** *Blastocystis spp.*, subtype, clinical symptoms

Giriş

*Blastocystis spp.*, insan ve birçok hayvan türünde oldukça sık rastlanan, son zamanlarda meydana getirdiği semptomların daha iyi anlaşılması ile giderek önemi artan enterik bir protozoondur. Fekal-oral yolla bulaşan parazitin prevalansı çeşitli ülkelerde farklılıklar göstermekle birlikte özellikle gelişmemiş ülkelerde kötü hijyenik koşullara bağlı olarak daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Çeşitli ülkelerde prevalansın farklılıklar göstermesi kullanılan tam yöntemlerinin duyarlılıkları arasında farklılıklar olmasına bağlanmıştır.<sup>1</sup> İnsan ve hayvanlarda enfeksiyona neden olan 17 *Blastocystis spp.* alt tipi (ST) bildirilmiştir. Bu alt tiplerin farklı rezervuarları, coğrafik dağılımı ve bulaşma yolları olduğu düşünülmektedir.<sup>1,2</sup> İnsanda ise bugüne kadar 9 alt tip saptanmıştır. Bu alt tipler

arasında sıklıkla görülen tipin ST3 olduğu ve bunu sırasıyla ST1, ST2, ST4, ST7, ST6, ST8, ST5, ST9'un izlediği bildirilmişse de değişik bölgelerden farklı alt tiplerin dominant olduğu yayınlar da vardır.<sup>1</sup> Primatlar ve domuzlarda rastlanan bir alt tip olan ST2, İrlanda'da yapılan bir çalışmada en sık rastlanan tip olarak bildirilmiş, bunu ST3 takip etmiştir.<sup>3</sup> Yakın zamana kadar patojen olarak kabul edilmemesi ve bazı bireylerde enfeksiyonların asemptomatik olması nedeni ile patojenitesi tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla hem asemptomatik hem de semptomatik olgularda rastlanabildiği ve çeşitli gastrointestinal bozukluklara (*Blastocystosis* adı verilen), özellikle irritabl barsak sendromuna ve kutanöz lezyonlara

ABSTRACT

<sup>1</sup> Istanbul University  
Istanbul Medical Faculty  
Medical Microbiology Department  
Fatih-Capa, Istanbul, Turkey

<sup>2</sup> Istanbul University  
Istanbul Medical Faculty  
Department of Public Health  
Fatih-Capa, Istanbul, Turkey

Geliş:  
27.06.2016

Kabul:  
25.09.2016

**Sorumlu Yazar**  
Özden BÜYÜKBABA BORAL  
Istanbul University  
Istanbul Medical Faculty  
Medical Microbiology  
Department  
Fatih-Capa, Istanbul, Turkey

e- posta:  
obboral@yahoo.com

neden olduğu gösterilmiştir.<sup>2</sup> Bu patolojilere bağlı olarak karın ağrısı, gaz, şişkinlik, kusma, akut veya kronik diyare, ürtiker şikayetlerine neden olabilmektedir. Bu şikayetlerin ağırlığı değişebilmekte, akut veya kronik seyirli olabilmektedir. Konak immün sisteminin bu durumla ilgili olabileceği öne sürülmüştür.<sup>4</sup> Ayrıca bu değişikliğin alt tiplerle ilişkili olarak, alt tiplerin farklı virulansa sahip olup farklı patojenitelere neden olabileceği düşünülmektedir.<sup>1</sup> Her ne kadar alt tipler ile semptomlar arasında ilişki saptanamayan çalışmalar olsa da ST4 izolatları İsveç, Danimarka ve İspanya’da semptomatik hastalar arasında sık olduğunu, ST3’ün amoeboid formlarının ürtikere neden olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.<sup>5-11</sup>

Çalışmamızda, *Blastocystis spp* görülen örnekler iki farklı besiyerinde kültüre alınmış ve dizileme yöntemi ile alt tip tayini yapılmıştır. Bu örneklerin besiyerlerindeki üreme durumları gözlenmiş ve alt tip dağılımı sekanslama yöntemi ile araştırılmış, alt tiplerin farklı besiyerlerinde üreme yetenekleri gözlemlenmiş ayrıca klinik bulgular ile alt tipler arasındaki ilişkiler incelenmiştir.

## Gereç Yöntem

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Parazitoloji Bilim Dalı Laboratuvarı’na Mart 2014-Nisan 2015 tarihleri arasında çeşitli polikliniklerden rutin olarak gönderilen dışkı örnekleri formol-etil asetat çöktürme yöntemi uygulanarak incelenmiş ve hazırlanan preparasyonlar modifiye aside dirençli ve trikrom boyama ile tüm parazitler yönünden incelenmiştir. *Blastocystis spp.* görülen örnekler iki farklı besiyerine alınarak kültür yapılmış, ardından alt tiplerin belirlenmesi amacı ile sekanslama işlemi uygulanmıştır.

Jones’ besiyeri standart hazırlama önerisindeki at serumu yerine %20 inaktive Newborn Calf Serum (Sigma-Aldrich Co., St. Louis,USA) eklenerek hazırlanmıştır.<sup>12</sup> Besiyeri, Zaman ve arkadaşlarının<sup>13</sup> çalışmalarında parazitin daha iyi ürediğini belirtmelerinden yola çıkılarak nişasta ilavesi olmadan hazırlanmıştır. İkinci bir besiyeri olan RPMI-Serum-Antibiyotik (RSA) besiyeri; 100ml RPMI-1640 (filtrasyon ile steril edilerek) içine hazırlama önerisinden farklı olarak Fetal Bovine Serumu yerine 5ml Newborn Calf Serum (Sigma-Aldrich Co., St. Louis,USA) ve 1ml antibiyotik (Penisilin-Streptomisin karışımı) olacak şekilde eklenmiştir.<sup>14</sup> Her iki besiyeride 4’er ml olacak şekilde kapaklı tüplere dağıtılarak 4 °C’de saklanmıştır. Besiyerlerine 50 mg dışkı örneği eklenerek 37°C’de anaerob ortamda inkübe edilmiş, 3. gün üremesi mikroskopi ile değerlendirilerek üremeyen örnekler bir haftaya kadar inkübe edilmeye devam edilmiştir.

Genotiplerin belirlenmesi amacı ile yapılan dizileme işleminde, daha yoğun üremenin gözlemlendiği besiyeri seçilerek besiyerinden, besiyerinde üreme görülmeyen örneklerden ise dışkıdan direkt DNA izolasyonu yapılmıştır.<sup>15</sup> Bu amaçla dışkı DNA ekstraksiyon kiti (Qiagen,Germany) prosedürüne uygun olarak kullanılmıştır.

*Blastocystis spp.* tiplendirme çalışması için sekanslama

metodu kullanılmıştır. *Blastocystis spp.* primeri olarak adlandırılan ve organizmanın 500 bp small subunit ribozomal rDNA’sındaki (ssu rDNA) gen bölgesi, parazitin 18S rDNA’sındaki Santin ve ark.<sup>16</sup> tarafından alt tiplere için uygun olarak belirttiği bölgeyi çoğaltan primer çifti kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile çoğaltılmıştır. Örneklere enzimatik reaksiyonlar (Exo I-SAP enzimleri) kullanılarak öncelikle “PCR CleanUp”, Daha sonra ABI “Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit” (Thermo Fisher Scientific, USA) ile cycle sekanslama yapılmıştır. Sekanslama sonrasında Zymo “ZR Sequencing Clean Up Kit” kullanılarak Sekans Clean Up işlemi yapılmıştır. Sekanslama işlemi “Genetic Analyzer 3130xl” (Applied Biosystems, CA,USA) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Dizileme işlemi tamamlanan örnekler “Sequencing Analysis 5.3.1” yazılımı ile analiz edilmiştir. Dizi sonuçları “NCBI Blast” (National Center for Biotechnology Information,Bethesda,MD) MegaBlast veritabanı ile karşılaştırılarak örneklerin alt tipleri belirlenmiştir. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Yates düzeltilmeli ki-kare yöntemi kullanılmıştır.

## Bulgular

Çalışmamıza dahil edilen 50 hastaya ait formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile inceleme sonucu *Blastocystis spp.* saptanan dışkı örneği dahil edilmiştir. Trikrom boyama ve ışık mikroskobisi ile yapılan incelemelerde örneklerin hiçbirinde başka parazite rastlanmamıştır. Bu hastalar 3 ile 75 (ortalama 25.9) yaş aralığında olup 27 (%54) erkek 23 (%46) kadından oluşmaktadır.

Dışkı örneklerinin 2 farklı besiyerinde yapılan kültürlerinde 40 (%80) örnek her iki besiyerinde de üremiş, bu 40 örnekten 2 tanesi Jones’ besiyerinde daha yoğun olarak ürerken 5 tanesi RPMI ile hazırlanan besiyerinde daha yoğun olarak üremiş, diğer 33 örnek ise her iki besiyerinde de yoğun olarak üremiştir. Örneklerden 5 (%10) ‘i her iki besiyerinde de ürememiştir. İki (%4) örnek RPMI ile hazırlanan besiyerinde üremezken, 3 (%6) örnek ise Jones’ besiyerinde ürememiştir. Örneklerin besiyerlerindeki üreme durumları ve bu örneklerin genotip dağılımı Çizelge.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1. İncelenen 50 örneğin besiyerlerindeki üreme dağılımı.

Üreme	Örnek (n)	Alt tip (ST)
	Jones yoğun:2	ST1, ST3
	RSA yoğun:5	ST3 (3 örnek), ST3+ST5,ST4+ST5
<b>RSA (+)/Jones’(+)</b>	İkisi de yoğun :33	ST3 (23 örnek), ST2 (2 örnek), ST3+mix (4 örnek), ST1, ST1+ST3, ST3+ST5, ST1+mix
<b>RSA (-)/Jones’ (-)</b>	5	ST1, ST3 (3 örnek), ST3+ST5
<b>RSA (+)/Jones’(-)</b>	3	ST3+ST2, ST3 (2 örnek)
<b>RSA (-)/Jones’(+)</b>	2	ST3 (2 örnek)

Dizileme sonucunda bazı örneklerde temiz bir sekans sonucu elde edilememiştir. Bunun sebebi ise o örneklerin birden fazla alt tip organizma içermesidir. PZR ile 2 ya da 3 farklı alt tipteki organizmalardan elde edilen farklı ampikonların sekans sonucunda bir adet baskın diziyeye ek olarak 1 ya da 2 adet daha az ışımaya sahip dizi olduğu görülmüştür. Bu durumda öncelik ile “NCBI Nucleotide Blast” yardımıyla baskın dizinin hangi alt türe ait olduğu belirlenmiş, sonra ise az ışımaya sahip diziler, her bir bazın tek tek değerlendirilmesi sonucunda “NCBI Nucleotide MegaBlast” veri tabanında analiz edilmiştir.

Dizileme sonucundaki analizinden yeterli güvenilirlikte sonuç elde edilemeyen örneklerde ise Scanlan ve ark.<sup>17</sup>’in çalışmalarında kullandığı STS primerleri kullanılarak PCR yöntemi uygulanmıştır. Bu STS primerlerinin hedef aldığı bölgeler PCR ile çoğaltılmış ve jel elektroforezi ile görüntülenmiştir. Bu method sonunda da bazı örneklerin dizileme ve STS PZR sonuçları tiplendirme için yeterli olmamış ve miks olarak isimlendirilmiştir.

Çalışmaya alınan hastalardan 39 (%78)’unda tek bir genotip saptanırken 11 (%22) örnekte iki farklı genotip birlikte bulunmuştur (Çizelge 2). En sık rastlanan Alt tip ST3 olarak saptanmış olup 34 (%68) örnekte yalnızca ST3 saptanırken bir (%2) örnekte ST1, bir (%2) örnekte ST2, 3 (%6) örnekte ST5 ve 4 (%8) örnekte ise belirlenemeyen alt tip ile ST3 birlikte saptanmıştır. Tüm örneklerin alt tip dağılımı Çizelge 2’de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 50 örneğe ait alt tip dağılımı

Alt Tip	n(%)
ST1	3 (6%)
ST2	2 (4%)
ST3	34 (68%)
ST1+ST3	1 (2%)
ST2+ST3	1 (2%)
ST3+ST5	3 (6%)
ST4+ST5	1 (2%)
ST1+MIX	1 (2%)
ST3+MIX	4 (8%)

Saptanan klinik semptomlar incelendiğinde; hastaların 23 (%46)’ünde karın ağrısı, 17 (%34)’sinde allerji (ürtiker, allerjik astım, allerjik rinit), 3 (%6)’er hastada diyare ve reflü ve 1’er (%2) hastada kabızlık, hazımsızlık, çölyak hastalığı ve eklem ağrısı belirlenmiştir. Yates’ düzeltmeli ki-kare yöntemi ile ST3 alt tipi ile karın ağrısı ve allerjik semptomlar arasında bir ilişki saptanamamıştır (sırasıyla;  $\chi^2_{y=}$  0.11,  $p=$  0.73;  $\chi^2_{y=}$  0.01,  $p=$  0.89). Bu klinik bulgular ile alt tipler arasındaki ilişki Çizelge 3’te gösterilmiştir.

Çizelge 3. 50 hastanın klinik bulguları ile *Blastocystis spp.* alt tipleri arasındaki dağılım.

	ST1 (n)	ST2 (n)	ST3 (n)	ST1+ST3 (n)	ST2+ST3 (n)	ST3+ST5 (n)	ST4+ST5 (n)	ST1+mix (n)	ST3+mix (n)
Karın ağrısı	1	1	15	-	-	1	1	1	3
Ürtiker	-	1	5	-	1	1	-	-	-
Allerjik Astım	1	-	5	-	-	-	-	-	-
Allerjik rinit	-	-	3	-	-	-	-	-	-
Diyare	1	-	-	-	-	1	-	-	1
Reflü	-	-	3	-	-	-	-	-	-
Kabızlık	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Hazımsızlık	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Çölyak	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Eklem ağrısı	-	-	1	-	-	-	-	-	-

## Tartışma

*Blastocystis spp* rutin laboratuvar tanısı genel olarak dışkı örneklerinden direkt mikroskopi yöntemi ile yapılmakta olup kültür yöntemine genellikle araştırmalarda başvurulmaktadır. Kültür yönteminde en sık Jones' besiyeri kullanılmakta ve bunun yanı sıra besiyerlerinde de üretilebildiği belirtilmektedir.<sup>18,19</sup> Jones' besiyerinin *Blastocystis spp.* üretilmesinde oldukça başarılı olduğu belirtilmiştir.<sup>20,21</sup> Çalışmamızda Jones' besiyerinde *Blastocystis spp.* üremeyen bazı örneklerin RSA besiyerinde ürediği, bazı örneklerin ise iki besiyerinde de üremediği gözlemlenmiştir. Alt tipler ile besiyerinde üreme arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Popruk ve ark.<sup>1</sup> alt tiplerin birbirinin üremesini engelleyebileceğini belirtmiş olsa da bulgularımız birden çok alt tipin olduğu örneklerde üreme olabildiği yönündedir. Birden fazla besiyerinin kullanılması tanı duyarlılığını arttırmıştır. Bu üreme farklılıkları, aynı alt tiplerin de besiyerlerinde üreme yeteneklerinin farklı olabileceğini düşündürmüştür.

Dünya genelinde yapılan çalışmalarda Avrupa,<sup>8,22,23, 24</sup> Afrika<sup>25,26</sup>, Orta Doğu'da (27) en sık görülen alt tipin ST3 olduğu belirtilmektedir. Benzer olarak çalışmamızda en sık ST3 saptanmış, bunu sırasıyla ST1,ST2,ST5 ve ST4 takip etmiştir. ST1,ST2 veya ST4'ün baskın olarak bulunduğu çalışmalar da vardır.<sup>3,9,10, 28,29</sup> Ülkemizden Ertuğ ve ark.<sup>30</sup> yaptığı çalışmada en sık ST3 saptanmış, bunu ST2 ve ST1 takip etmiştir. Sakalar ve ark.<sup>31</sup> semptomatik hastalarda %55.2 ile en sık rastlanan alt tipi ST3 olarak bildirilmiş, bunu ST1,ST2 ve ST4 takip etmiştir.

*Blastocystis spp.*'nin sıklıkla karın ağrısı, diyare, gaz gibi klinik bulgulara neden olduğu, ayrıca ürtiker gibi allerjik reaksiyonlar ve palmoplantar pruritus gibi kutanöz semptomlarla da ilişkilerini öne süren çalışmalar mevcuttur.<sup>32,33</sup> ST3'ün amoeboid formlarının akut ürtikerli bir olguda saptandığı ve kutanöz semptomların *Blastocystis spp.*'nin amoeboid formlarına karşı oluşan inflamatuvar yanıtın kaynaklanıyor olabileceği öne sürülmüştür.<sup>5</sup> *Blastocystis spp.*'nin inflamatuvar hücrelerin uyarılması ile aktif inflamasyonu indüklüyor olabileceği, bu inflamatuvar hücre topluluklarının mast hücre degranulasyonu ile histamin salınmasına neden olabileceği söylenmektedir. Allerjenler dışındaki faktörlerin (anafilatoksinler C3a, C5a, IIs, etc) IgE aracılı reaksiyonlara klinik olarak benzer yalancı-allerjik reaksiyonlara neden olabildiği ve bunun bağırsakla ilişkili lenfoid dokunun *Blastocystis spp* 'nin kendisi, toksinleri veya antijenleri tarafından homeostazının bozulması ve immun yanıt oluşturmamasından kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Yine *Blastocystis spp*'nin komplemanı C3a ve C5a anafilotoksinleri ile aktive eden, böylelikle mast hücreleri ve bazofillerinden histamin salınmasını sağlayan bir toksini de olabileceği öne sürülmüştür.<sup>34</sup> Çalışmamızda en sık rastlanan klinik bulgu karın ağrısı (%46), ikinci sırada allerjik bulgulardır (%34). Benzer olarak Ertuğ ve ark.<sup>30</sup> çalışmalarında en sık karın ağrısı (%39.4), yine Sakalar ve ark.<sup>31</sup> çalışmalarında en sık karın ağrısı, ishal ve dermatit gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Çalışmamıza dahil edilen hastalar tüm parazitler yönünden negative bulunmuş olsa da bu semptomlara neden olabilecek başka nedenler de olabilmesi de mümkündür.

Çalışmamızda gastrointestinal semptomları (GİS) olan hastalarda en sık ST3 saptanmış olup, diyare sadece tek bir hastada görülmüş ve ST1 olarak saptanmıştır. Benzer olarak Souppart ve ark.<sup>26</sup> bu bulguları olan semptomatik hastalarda en sık ST3 saptanmışlardır. Doğruman-Al ve ark.<sup>7</sup> ST3 'ü hem semptomatik hem asemptomatik hastalarda en baskın tip olarak bildirmişlerdir. Farklı olarak Safadi ve ark.<sup>35</sup> Lübnan'da GİS hastalar arasında ST1'in yaygın olduğunu, ST3 ve ST2'nin asemptomatik hastalarda sık olduğunu bildirmişlerdir. Moosavi ve ark.<sup>27</sup> ST1'in semptomatik hastalar arasında sık olduğunu, Stendsvolt ve ark.<sup>10</sup> ishali olgularda ST4'ün sık görüldüğünü bildirmişlerdir. Doğruman ve ark.<sup>36</sup> ST2'nin non-patojenik olduğunu ve asemptomatik hastalarda görüldüğünü bildirmişlerse de bizim çalışmamızda karın ağrısı ve ürtikerli olgularda ST2 varlığı saptanmıştır.

Çalışmamızda en sık rastlanan bir diğer klinik rahatsızlık çeşitli araştırmacıların bulgularına paralel olarak allerjik bulgulardır.<sup>30,31</sup> Çalışmamızda allerjik bulgular görülen hastalarda en sık görülen alt tip ST3'tür. Bu bulgu allerjik bulguların ST2 ve ST3'e bağlı geliştiğini öne süren çalışmalarla benzerlik göstermektedir.<sup>37,38</sup>

Lee ve ark.<sup>39</sup> bir enfektif artritis olgusunda sinoviyal sıvının incelenmesi ile *Blastocystis spp.*'nin saptandığını belirtmişlerdir. Aynı hastaya ait dışkı örneğinde de yoğun miktarda *Blastocystis spp* görüldüğünü ve başka bir patojen saptanmadığını bildirmişlerdir. Yine Krüger ve ark.<sup>40</sup> da Senegal gezisi dönüşünde diyare ve oligoartrit gelişen bir olguda sinoviyal sıvıda *Blastocystis spp.* varlığı bildirmişlerdir. Çalışmamızda eklem ağrısı olan da bir hastanın dışkı örneğinde *Blastocystis spp.* ST3 saptanmıştır. Sonuç olarak, *Blastocystis spp* gastrointestinal rahatsızlıklar, allerjik belirtiler ve çeşitli klinik semptomlar ile ilişkilendirilse de henüz aydınlatılması gereken pek çok yönü olması ile günümüzde önemi gittikçe artan bir parazittir. Bu çalışmada iki farklı besiyeri kullanımının sadece Jones' besiyerinin kullanılmasına oranla duyarlılığı arttırdığı, ülkemizde yaygın olan alt tipin ST3 olduğu ve sıklıkla gastrointestinal şikayetler ve allerjik semptomlara neden olmakla beraber nadiren de olsa eklem ağrısı olgularında da rastlanabileceği gösterilmiştir. Her ne kadar çalışmamızda aynı klinik bulgulara neden olan alt tipler çeşitli olsa da *Blastocystis spp.* alt tiplerinin klinik bulgularla ilişkilerinin anlaşılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

## Kaynaklar

1. Popruk P, Pintong A, Radomyos P. Diversity of *Blastocystis* Subtypes in Humans. *J. Trop. Med. Parasitol.* 2013; 36:88-97.
2. Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, ve diğ. *Blastocystis*, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. *Ther Adv Infect Dis.* 2013;1:167-78.
3. Scanlan PD, Marchesi JR Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota : quantitative assessment using culture-dependent and independent analysis of faeces. *ISME J.* 2008;2:1183-93.
4. Tan TC, Ong SC, Suresh KG. Genetic variability of *Blastocystis* sp. isolated obtained from cancer and HIV/AIDS patients. *Parasitol Res.* 2009; 105: 1283-6.
5. Katsarou-Katsari A, Vassalos CM, Tzanetou K, ve diğ. Acute urticaria associated with amoeboid forms of *Blastocystis* sp. Subtype 3. *Acta Derm Venereol.* 2008; 88 :80-1.
6. Ozyurt M, Kurt O, Molbak K, ve diğ. Molecular epidemiology of *Blastocystis* infections in Turkey. *Parasitol Int.* 2008; 57:300-6.



7. Dogruman-Al F, Yoshikawa H, Kustimur S, ve diğ. PCR- based subtyping of Blastocystis isolates from symptomatic and asymptomatic individuals in a major hospital in Ankara,Turkey. *Parasitol Res.* 2009; 106:263-8.
8. Souppart L, Sancier G, Cian A, ve diğ. Molecular epidemiology of human Blastocystis isolates in France. *Parasitol Res.* 2009;105:413-21.
9. Dominguez-Marquez M, Guna R, Munoz C, ve diğ. High prevalence of subtip 4 among isolates of Blastocystis hominis from symptomatic patients of health district of Valencia (Spain). *Parasitol Res.* 2009; 105:949-55.
10. Stensvold C, Christiansen D, Olsen K, ve diğ. Blastocystis sp. Subtype 4 is common in Danish Blastocystis-positive patients presenting with acute diarrhea. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 84:883-5.
11. Forsell J, Granlund M, Stensvold C, ve diğ. Subtype analysis of Blastocystis isolates in Swedish patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012; 31:1689-96.
12. Jones WR. The experimental infection of rats with *Entamoeba histolytica*; with a method for evaluating the anti-amoebic properties of new compounds. *Ann Trop Med Parasitol.* 1946;40: 130-140.
13. Zaman V, Ng GC, Suresh K, ve diğ. Isolation of Blastocystis from the cockroach (Dictyoptera, Blattidae). *Parasitol Res.* 1993; 79 : 73-4.
14. Grecu (Mătiu) DS, Neagu AN, Hărmanescu EA, ve diğ. In vitro division modalities developed by Blastocystis hominis examined with the acridine orange stain. *Analele Științifice ale Universității, „Alexandru Ioan Cuza” din Iași, s. Biologie animală, Tom LIX,2013, 8 Ocak 2017*'de [http://www.bio.uaic.ro/publicatii/anale\\_zoologie/issue/2013/2013fa02Grecu&al.pdf](http://www.bio.uaic.ro/publicatii/anale_zoologie/issue/2013/2013fa02Grecu&al.pdf) adresinden indirildi.
15. Stensvold CR. Comparison of Sequencing (Barcode Region) and Sequence-Tagged-Site PCR for Blastocystis Subtyping. *J Clin Microbiol.* 2013; 51: 190-4.
16. Santín M, Gómez-Muñoz MT, Solano-Aguilar G, ve diğ. Development of a new PCR protocol to detect and subtype Blastocystis spp. from humans and animals. *Parasitol Res.* 2011; 109(1):205-12.
17. Scanlan PD, Stensvold CR, Cotter PD. Development and Application of a Blastocystis Subtype-Specific PCR Assay Reveals that Mixed-Subtype Infections Are Common in a Healthy Human Population. *Appl Environ Microbiol.* 2015; 81 (12): 4071-6.
18. Zhang X, Qiao J, Wu X, ve diğ. In vitro culture of blastocystis hominis in three liquid media and its usefulness in the diagnosis of Blastocystosis. *Int J Infect Dis.* 2012; 16:23-8.
19. Roberts T, Barratt J, Harkness J,ve diğ. Comparison of Microscopy, Culture, and Conventional Polymerase Chain Reaction for Detection of Blastocystis sp. in Clinical Stool Samples. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 84: 308-12.
20. Leelayoova S, Taamasri P, Rangsin R, ve diğ. In-vitro cultivation: a sensitive method for detecting Blastocystis hominis. *Ann Trop Med Parasitol.* 2002; 96:803-7.
21. Stensvold CR, Arendrup MC, Jespersgaard C, ve diğ. Detecting Blastocystis using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007; 59: 303-7.
22. Meloni D, Sancier G, Poirier P, ve diğ. Molecular subtyping of Blastocystis sp. isolates from symptomatic patients in Italy. *Parasitol Res.* 2011; 109: 613-9.
23. Menounos PG, Spanakos G, Tegos N, ve diğ. Direct detection of Blastocystis sp. in human faecal samples and subtype assignment using single strand conformational polymorphism and sequencing. *Mol Cell Probes.* 2008; 22: 24-9.
24. Forsell J, Granlund M, Stensvold C. Subtype analysis of Blastocystis isolates in Swedish patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012; 31:1689-96.
25. Alfellani MA, Mulla DT, Jacob AS, ve diğ. Genetic Diversity of Blastocystis in Livestock and Zoo Animals. *Protist.* 2013;164:497-509.
26. Souppart L, Moussa H, Cian A, ve diğ. Subtype analysis of Blastocystis isolates from symptomatic patients in Egypt. *Parasitol Res.* 2010;106: 505-11.
27. Moosavi A, Haghghi A, Mojarad E, ve diğ. Genetic variability of Blastocystis sp. isolated from symptomatic and asymptomatic individuals in Iran. *Parasitol Res.* 2012; 111:2311-5.
28. Noël C, Dufernez F, Gerbod D, ve diğ. Molecular phylogenies of Blastocystis isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *J Clin Microbiol.* 2005; 43: 348-55.
29. Tan KS .New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:639-65.
30. Ertuğ S, Malatyali E, Ertabaklar H, ve diğ. Subtype distribution of Blastocystis isolates and evaluation of clinical symptoms detected in Aydin province, Turkey. *Mikrobiyol Bul.* 2015;49:98-104.
31. Sakalar C, Kandemir İ, Uyar Y, ve diğ. Polymerase Chain Reaction Based Subtyping of Blastocystis spp. Isolates from Symptomatic Patients in Turkey. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 2013;33:1064-8.
32. Pasqui AL, Savini E, Saletti M, ve diğ. Chronic urticaria and Blastocystis hominis infection: a case report. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2004; 8:117-20.
33. Kick G, Rueff F, Przbilla B. Palmoplantar pruritus subsiding after Blastocystis hominis eradication. *Acta Derm Venereol.* 2002;82: 60.
34. Valsecchi R, Leghissa P, Greco V. Cutaneous lesions in Blastocystis hominis infection. *Acta Derm. Venereol.* 2004;84:322-3.
35. Safadi DE, Meloni D, Poirier P, ve diğ. Short Report: Molecular Epidemiology of Blastocystis in Lebanon and Correlation between Subtype 1 and Gastrointestinal Symptoms. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;88:1203-6.
36. Dogruman-Al F, Dageci H, Yoshikawa H, ve diğ. A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of Blastocystis hominis. *Parasitol Res* 2008;103:685-9.
37. Vogelberg C, Stensvold C, Monecke S, ve diğ. Blastocystis sp. Subtip 2 detection during recurrence of gastrointestinal and urticarial symptoms. *Parasitol Int.* 2010;59:469-71.
38. Zuel-Fakkar N, Abdel Hameed DM, Hassanin OM. Study of Blastocystis hominis isolates in urticaria: a case control study. *Clin Exp Dermatol.* 2011;36:908-10.
39. Lee MG, Rawlins SC, Didier M, ve diğ. Infective arthritis due to Blastocystis hominis. *Ann Rheum Dis.* 1990; 49: 192 – 3.
40. Krüger K, Kamilli I, Schattenkirchner M. Blastocystis hominis as a rare arthritogenic pathogen. A case report. *Z Rheumatol.* 1994; 53:83-5.