

Blastocystis hominis Fırsatçı Bir Patojen mi?

Funda DOĞRUMAN AL¹, Murat HÖKELEK²

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara,

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun

ÖZET: *Blastocystis hominis*'in dünyadaki prevalansı yüksek olmasına rağmen özellikle sınıflandırma ve patojenite gibi temel konular henüz açığa kavuşmamıştır. SSUrRNA gen sekanslaması *Blastocystis*'in stramenofiller içinde yer aldığını göstermiştir. Elongation factor 1- α geninin analizi ise *Entamoeba histolytica* ile benzerliğini ortaya koymuştur. Morfolojik ve karyotipik değişkenliği bulunmakta ve insan ile hayvanlarda birden fazla tür saptanmaktadır. Kültürde daha çok vakuolar, granüler ve amöboid formları görülmektedir. Vakuoler form (genellikle 10-30 μ m) dışkıda en sık görülen formudur. *Blastocystosis*'in prevalansı gelişmekte olan ülkelere (%30-%50) gelişmiş ülkelere (%1,5-%10) göre daha yüksek saptanmış ve seyahatle ilişkili bulunmuştur. *B. hominis* farklı yöntemler kullanılarak semptomatik ve asemptomatik olguların dışkı örneklerinden en sık izole edilen parazittir. *B. hominis* memeliler, kuşlar, sürüngenler ve hatta insektler gibi farklı türlerde saptanmıştır. İnsanlarda oluşturduğu hastalığın önemi henüz tam olarak belirlenememiştir.

Anahtar Sözcükler: *Blastocystis hominis*, patogeneze

Is *Blastocystis hominis* An Opportunist Agent?

SUMMARY: Despite its high prevalence throughout the world, major issues about *Blastocystis hominis* remain unresolved, including fundamental areas such as taxonomy and pathogenicity. Sequences of the SSUrRNA gene place *Blastocystis* in the stramenophiles. Analysis of the elongation factor 1- α gene, however, indicates similarity to *Entamoeba histolytica*. There is considerable morphological variability and karyotype diversity, and it appears that more than one species is present in humans and animals. In culture, three major forms predominate: vacuolar, granular, and ameboid. The vacuolated form (usually 10 to 30 μ m) was most frequently detected in fecal specimens. The prevalence of *Blastocystosis* in humans appears to be higher in developing countries (30% to 50%) than in developed countries (1.5% to 10%), and has been associated with travel. *B. hominis* is the most common parasite isolated from stool specimens in symptomatic and asymptomatic persons in a variety of settings. Isolates resembling *B. hominis* have been described in a variety of mammals, birds, reptiles, and even insects. The significance of this human infection is uncertain.

Key Words: *Blastocystis hominis*, pathogenesis

GİRİŞ

Sınıflandırması, yaşam döngüsü, biyolojik özellikleri, epidemiyolojisi, özellikle de patojenitesi açısından birçok bilinmezlik içeren, araştırmalar sonucunda farklı ve karışık görüşlerin ortaya konulduğu *Blastocystis*, ilk defa 1911 yılında Alexeieff tarafından maya mantarı olarak tanımlanarak *Blastocystis enterocola* olarak isimlendirilmiştir. Brumpt, 1912 yılında farklı konaklarda *Blastocystis*'in farklı türlerinin olduğunu ve insanlardan izole edilen türe günümüzde de geçerliliğini koruyan *Blastocystis hominis* (*B. hominis*) denilmesini önermiştir. Taze dışkıda görülen *B. hominis*, nükleuslarının belirlenememesi, mantar görünümünde olması, ısıtlmadan

psödopodların görülebilmesi, boyutlarındaki değişkenliğin herhangi bir protozoonun beklenenden çok daha geniş sınırlarda olması, tomurcuklanma ile üremesi nedeniyle önce mantar olarak düşünülmüştür. Özellikle tropikal ve subtropikal ülkelere daha sık olarak rastlanılan tüm dünyada yaygın olarak bulunan *B. hominis* hakkında 1967 yılında Zierdt'in bu patojenin çeşitli formları olduğunu tanımlamasına kadar olan süreçte, oldukça az sayıda araştırma yayınlanmıştır. Bu dönemden sonra hem klinik hem de deneysel çalışmalar bildirilmeye başlamıştır (63,79).

SINIFLANDIRMA: *B. hominis*, Zierdt tarafından 1988'de protozoon olarak tanımlanmış ve Sarcodina subfilumunda sınıflandırılmıştır. *B. hominis* mantar ve bakteri besiyerinde üreyememesine karşın barsak protozoonları için hazırlanan besiyerlerinde üremektedir. Kültürde ürerken bakterilere gereksinim duyması, aksenik olarak güç üremesi, 33 °C altında çoğalamaması, 30 °C altında ölmesi, amfoterisine dirençli,

Geliş tarihi/Submission date: 31Ekim/31 October 2006

Düzeltilme tarihi/Revision date: 31 Ocak/31 January 2007

Kabul tarihi/Accepted date: 06 Şubat/06 February 2007

Yazışma /Corresponding Author: Funda Doğruman Al

Tel: (+90) (312) 202 4625 Fax: (+90) (312) 214 1131

E-mail: alfunda@gazi.edu.tr

XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresinde (12-16 Eylül 2006, Antalya) interaktif oturum olarak sunulmuştur.

protozoonlara etkili ilaçlara karşı duyarlı olması protozoonlara daha yakın olduğu izlenimi vermektedir. Ayrıca hücre çeperinin protozoonlarınkine benzemesi, endodiyogeni ile çoğalması, yavaş hareket eden pseudopodlarının olması, önceden vakuol, bugün ise santral cisim olarak adlandırılan üreme organelinin varlığı nedeniyle protozoonlar içerisinde olması gerektiği ileri sürülmüştür (58, 63).

Bu bağlamda sınıflandırması tartışılan *B.hominis*, yapılan moleküler çalışmalar sonucunda 1996 yılında Silberman ve ark.nın *B.hominis* SSUrRNA'sının sekanslanmasını gerçekleştirmeleri ile heterojen, tek ve çok hücreli protistaların (kahverengi algler, diatomlar, krizofitler, su küfleri gibi) yer aldığı Stramenopile grubunun içerisinde protozoon olarak tanımlanmıştır. Son olarak da Cavalier-Smith 1998'de Stramenopile'in Chromista aleminin altındaki Heterokonta bölümüyle (infrakingdom) identik olduğunu belirterek *B.hominis*'in Heterokontid Chromista olduğunu ifade etmiştir. Sarcomastigophora sınıfında, Blastocystea takımında Blastocystidae ailesinde *Blastocystis* cinsi ve *hominis* türü olarak tanımlanmaktadır (2). İmmunolojik yöntemler, SDS-PAGE ve rastgele problemlerle DNA hibridizasyon tekniği ile *B.hominis*'in yapılan izoenzim çalışmalarıyla en az iki zimodemi olduğu saptanmıştır. İnsan dışındaki konaklarda farklı *Blastocystis* türlerinin olduğu gösterilmiştir (*B.galli*-tavuk, *B.anatis*-evcil ördek, *B.anser*-kaz, *B.lapemi*-deniz yılanı gibi). *Blastocystis*' in tür tayininde farklı kültür ortamlarının kullanılabilirliği belirtilmiştir (59).

Sınıflandırma için 16SrRNA bölgesinin SSUrRNA sekanslanması sonucunda *Blastocystis*'in insan ve domuzdan elde edilen suşları arasında %6,4 oranında farklılık saptandığı bildirilmiştir (7). Bu çalışmaya kadar ökaryotik organizmaların bu kadar yüksek derecede intraspesifik varyasyon gösterdiği saptanmamıştır. Karyotiplendirmedeki bu heterojeniteye rağmen izolatlar 3 karyotip grupta toplanmıştır. Biyokimyasal ve immünolojik çalışmalar sonucunda farklı zimodemleri olduğu belirlenen *Blastocystis*'in insanda enfeksiyon yapabileceği tespit edilmiştir. Bu farklılıkların patojenite için önem taşıyabileceği düşünülmektedir (59). Filogenetik analize yönelik yapılan araştırmalarda elongation factor-1 α (EF-1 α) geninin filogenetik analizi, intestinal mukozaya invaze olabileme ve eritrosit fagositozu yapabileme özelliği olan *Entamoeba histolytica* (*E.histolytica*) trofozoiti ile *B.hominis* arasında yakın ilişki olabileceğinin ileri sürülmesine neden olmuştur (22).

MORFOLOJİK ÖZELLİKLER: Kültür ve direkt dışkı incelemelerinde *B.hominis*'in farklı morfolojik tipleri görülebilmektedir. Morfolojik formların nitelik ve patojenite ile ilişkisi henüz bilinmemektedir. Dışkı örneklerinde en sık sırasıyla vakuoler, granüler, multivakuoler ve kist formunun görüldüğü bildirilmiştir. Ameboid form çok nadir olarak bildirilmiştir. Avakuoler formun insan bağırsağında bulunduğu düşünülmektedir. Kültürde vakuoler ve granüler formun baskın olduğu, kültür ortamındaki değişikliklerin hangi türün görüleceğini belirlenmesini sağlayabileceği düşünülmektedir (58, 63).

Elektron mikroskopik incelemelerde, *B.hominis*'in tüm formlarında nükleusta elektron opak materyalin, nükleus kenarında kresentrik bant görünümünde yer aldığı tespit edilmiştir. Bu morfolojik görüntünün hücre döngüsünün evrelerinden veya fizyolojik koşullardan bağımsız olduğu da gözlenmiştir. *B.hominis*'in sitoplazmasında mitokondri benzeri organellerin farklı sayıda ve morfolojide olduğu, ayrıca diğer ökaryotik hücre yapıları olan golgi kompleks, endoplazmik retikulum, poliribozomların da görüldüğü belirtilmiştir (59).

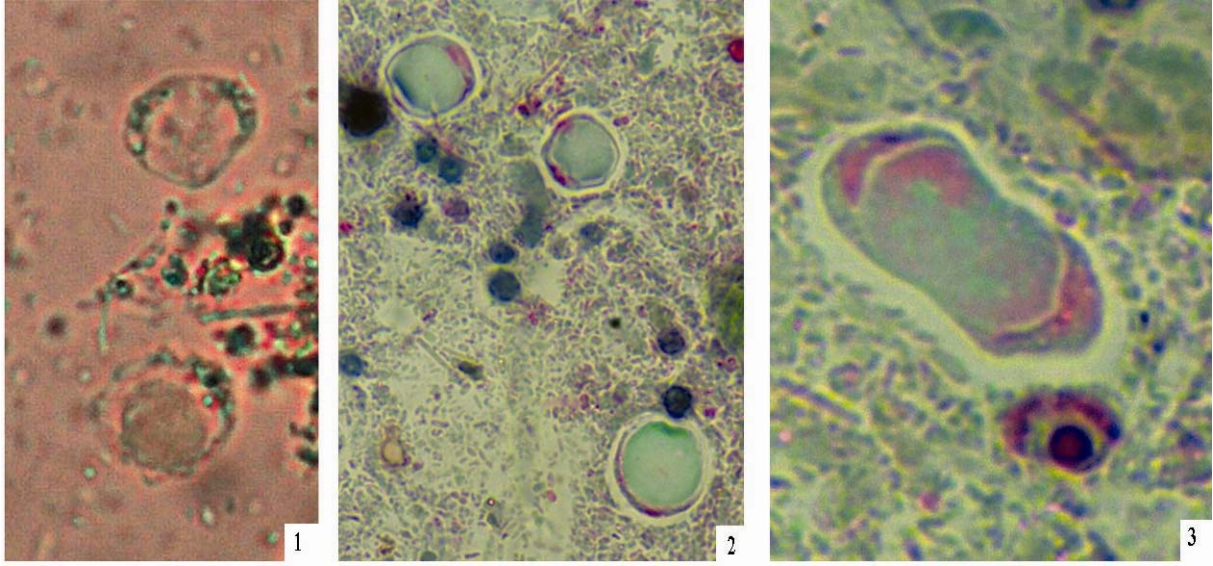
1. Vakuoler form (Santral cisim): Tipik *B.hominis* formu olup rutin tanıda ışık mikroskopunda aranan ve tanınan formdur. Kültürde de en sık bu form görülmektedir. Daha çok yuvarlak veya hafif düzensiz çeperli olup boyutları da farklı çaplarda olabilmektedir (2-200 μ m). Dışkı örneklerinde yaklaşık olarak ortalama 4-15 μ m boyutunda görülmekte, daha geniş çaplar kültürde bulunabilmektedir. Işık mikroskopuyla santral cisimi çevreleyen periferik ince bir bant şeklinde yer alan sitoplazmanın içindeki nükleus ve mitokondriiler ayırt edilemez. *B.hominis*'in nükleus sayısı 4 kadar olabilmektedir. Santral vakuolün fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte depolama işlevi olduğu, ayrıca üremede de rol aldığı ileri sürülmektedir (Şekil 1 ve Şekil 2). Dış sitoplazmik zarın etrafında farklı kalınlık ve morfolojide olabilen slime tabakası veya kapsül denilen bir yüzey örtüsü bulunmaktadır. Bu tabakanın uzun kültür periyodunda incelişip kaybolduğu gözlenmiştir (59, 63).

2. Granüler form: Morfolojik olarak vakuoler form ile benzer özellik taşımakla birlikte santral vakuol içeriği farklılık göstermektedir. Boyutları 6.5-80 μ m arasında değişmektedir. Santral vakuolde sitokimyasal ve elektron mikroskopik çalışmada gösterilmiş lipid içeriği yüksek çok sayıda küçük granüller mevcuttur (58).

3. Multivakuoler form: Özellikle taze dışkı örneklerinde görüldüğü belirtilmiştir. Boyutları 5-8 μ m olup sitoplazmasında çok sayıda küçük vakuoller içerdiği bildirilmiştir. Kültür ortamında vakuoler veya granüler forma dönüşebilmektedir. Uzun süren kültür periyodunda ise sadece vakuoler form olarak kalmaktadır (58, 63).

4. Avakuoler form: Oldukça nadir rastlanan bir form olarak bilinmektedir. Boyutu 5 μ m civarında olup yüzey örtüsü ve vakuolü yoktur. Literatürde çok miktarda sulu dışkı yapan bir hasta ile kolonoskopi yapılan bir hastadan izole edildiği bildirilmiştir (63).

5. Kist formu: Kist/kistik/dirençli form da denilmektedir. Boyutu 3-10 μ m olup sıklıkla da 5 μ m'den küçük olarak görülmekte ve ışık mikroskobu ile tanımlanmasının zor olduğu bildirilmektedir. Sitoplazmasında içeriği glikojen ve lipid olan çok sayıda vakuol içermektedir. Trikrom boyama yöntemi ile bu materyaller boyanmamaktadır. Kalın ve çok katlı kist duvarına sahiptir. Elektron mikroskopik incelemede kist duvarı ile hücre duvarı arasında hücre artıklarının bulunduğu saptanmıştır (59, 63).



Şekiller 1. *B. hominis*'in nativ incelemedeki görünümü x40; 2. *B. hominis*'in Trikróm boyamadaki görünümü x100; 3. *B. hominis* ikiye bölünme sırasında, Trikróm boyama, x100 (GÜTF, Tıbbi Mikrobiyoloji AD)

6. Amoeboid form: Amoeboid/amoebiform denilen bu formun, boyutu 3-8 μm olup psödopodlar yaparak bakteriler ile beslendiği ileri sürülmektedir. Kültür ile dışkı örneklerinde daha az sıklıkta görüldüğü belirtilmektedir (58, 59, 63).

YAŞAM DÖNGÜSÜ: Çeşitli yaşam döngüleri ileri sürülmüş fakat hiçbiri in vivo ve in vitro olarak doğrulanamamıştır. Işık ve elektron mikroskopunda en iyi gösterilmiş üreme şekli (özellikle kist formunda) binary füzyon/ikiye bölünmedir. Vakuoler formun multivakuoler formdan, vakuollerin genişlemesi veya birleşmesiyle oluştuğu gösterilmiştir. Granüler formun kültür ortamında ortam koşullarının değişmesiyle vakuoler formdan oluştuğu gösterilmiştir. *B. hominis*'in enfektif formunun kist formu olduğu düşünülmekte ve oral yolla alınan kistlerin bağırsakta eksiste olarak enfeksiyonun oluştuğu belirtilmektedir. Yaygın olarak kabul gören yaşam döngüsünde iki farklı kist yapısının olduğu, ince duvarlı kist yapısının otoenfeksiyondan, kalın duvarlı kist yapısının ise dışkı ile dışarı atılarak su ve besinlerin kontaminasyonundan sorumlu olduğu belirtilmektedir. Vakuoler form bağırsaklarda ya multivakuoler forma dönüşerek prekist formu oluşturup şizogoni ile ince duvarlı kist yapısının oluşumuna ya da amoeboid forma dönüşüp prekist oluştuktan sonra şizogoni ile kalın duvarlı kistlerin meydana gelerek dışkı ile atılmalarıyla sonuçlanan yaşam döngüsünde yer almaktadır (54).

B. hominis'in mitokondriye benzer organelleri bulunmasına rağmen kültürde üreyebilmesi için kuvvetli anaerob ortam gerekmektedir. Bunun nedeni birçok mitokondriyal enzimin *B. hominis*'te bulunmamasıdır. Bu mitokondriye benzer organellerin aslında hidrogenozomlar olabileceği bildirilmiştir. Hidrogenozomlar, sitokromlarının, trikarboksilik asit döngülerinin ve oksidatif fosforilasyonlarının olmaması gibi özelliklerle mitokondriden ayrılmaktadır (58, 63, 79).

EPİDEMİYOLOJİ: *Blastocystis* tür düzeyinde belirtilmediğinde memeli, kuşlar, sürüngenler ve arthropodlar gibi çok geniş konakçı popülasyonuna sahiptir. Hayvanlarda da insanlarda olduğu gibi gastrointestinal semptomlarla ilişkisi tam olarak aydınlatılamamıştır, fakat infekte olgularda ishal görüldüğü belirtilmiştir. Fekal-oral yolla bulaşan *B. hominis* tüm dünyada, özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerdeki ülkelerde, gelişmekte olan ülkeler ve hijyen koşullarının düşük olduğu toplumlarda %50'ye varan oranlarda, gelişmiş ülkeler ve hijyen koşullarının iyi olduğu toplumlarda %10 oranında saptandığı bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda gastrointestinal semptomu olan hastalarda ve sağlıklı bireylerde en sık görülen protozoon olduğu bildirilmiştir (17,36).

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile bulaş yolları aydınlatılmıştır. İnsan-insan (75), hayvan-hayvan (74), insan-hayvan (7), hayvan-insan (56) geçişleri moleküler yöntemler kullanılarak gösterilmiştir. Hayvan bakıcılarında %41 gibi yüksek oranlarda belirlenmesi *B. hominis* türlerinin aynı zamanda zoonotik özellik taşıdığını göstermiştir (50).

Tropikal ülkelere seyahatin enfeksiyon açısından risk oluşturduğu bilinmektedir. Fakat bu durumun iklim olarak değil, hijyen standartları açısından düşünülmesi gerektiği bildirilmektedir (57). Yapılan bir çalışmada seyahat eden ishalleri turistler ile asemptomatik kontrol grubu arasında *B. hominis* görülme oranları açısından fark saptanmamıştır (52).

Zambia'da okul çocukları arasında yapılan araştırmada *B. hominis* oranı %53.8 olarak belirlenmiş ve ishal ile ilişkili olduğu saptanmıştır (20). Okul çocuklarında yapılan diğer bir çalışmada *B. hominis* %20.3 oranında saptanmış ve en fazla görüldüğü yaş grubu 6-7 yaş olarak belirlenmiştir (44).

İmmünespresif hastalarda yapılan çalışmalarda 115 HIV'lı hastanın %25,2'sinde *B.hominis* en yüksek oranda saptanan parazit olarak bulunmuştur (14). Aynı özellikteki hasta grubunda yapılan diğer çalışmalarda bu oranın %3,3-8,0 olduğu belirtilmiştir (43, 48). HIV'lı hastalarda *B.hominis* enfeksiyonunun kronik ishal şeklinde seyrettiği saptanmıştır (18). Nefrotik sendrom, protein kalori malnütrisyonu ve lenfomalı çocuklardan oluşan immünespresif olgularda da *B.hominis*, kontrol grubuna göre yüksek oranda saptanmıştır (45). Alkolik siroz, hepatit, diyabet, karsinoma, sistemik lupus eritamosusa bağlı immün yetmezlikli hastalarda *B. hominis*'e bağlı semptomların immün yeterli olanlara göre daha ciddi seyrettiği bildirilmiştir (15). Böbrek transplantasyonu yapılan olguların dışıklarında *B.hominis* %39,1 oranında saptanmış, hasta grubunda semptomların kontrol grubuna göre daha sık görülmesi, enfeksiyonun immün yetmezliklerde daha patojenik olabileceğini düşündürmüştür (47). Diğer bir çalışmada kronik böbrek yetmezliği olgularının %38,3'ünde, kontrol grubu olgularının ise %11,1'inde *B.hominis* saptanmıştır. Trikróm boyama ile pozitif saptanan olguların %21,7'sinde direk bakı ve çöktürme yöntemleri ile *B. hominis* saptanabilmiştir (51). Hemojenik malignensili, nötrojenik dönemde bulunan, kemoterapi alan olgularda %13,1 oranında *B. hominis* paraziter etkenler arasında ilk sırada yer alırken kontrol grubunda ilk sırada %3,5 oranında *G.intestinalis* saptanmıştır. Metronidazol tedavisi ile olguların %91,3'de semptomların düzeldiği ve dışkıda *B. hominis* tespit edilemediği bildirilmiştir (66).

İrritabl bağırsak sendromu (İBS) olan hastaların (150 olgu) %32'sinde mikroskopik inceleme, %46'sında ise kültürle *B.hominis* saptanmış, İBS'li olmayan ishelli kontrol grubunda ise bu oran %7 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak her iki grup arasındaki fark anlamlı olup kültür yönteminin daha duyarlı olduğu belirlenmiştir (69). Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada, İBS'li ve gastrointestinal yakınmaları olan olgularda %17,3, sadece gastrointestinal semptomları olan kontrol grubu olgularında ise %6 oranında *B.hominis* saptanmış ve iki grup arasındaki farkın anlamlı olduğu belirtilmiştir (19).

Türkiye'de *B.hominis* prevalansı %1,4-%44,3 arasında bildirilmektedir. Çalışmalar incelendiğinde bazı araştırmacıların x40 objektifle incelenen mikroskop sahasında beş ve daha fazla sayıda *B.hominis*'i bildirdikleri, bazılarının ise sayıyı dikkate almadan bildirim yapmaları prevalansın geniş sınırlarda yer almasının sebebi olarak görülmektedir (1, 9-11, 26, 72).

İMMÜNOLOJİK ÖZELLİKLER: Araştırmacılar koruyucu immüniteye bağlı olarak bazı hastalarda kendini sınırlayan *B.hominis* enfeksiyonu olduğunu ileri sürmüşlerdir. Geç çocukluk ve erişkinlikte enfeksiyon hızının düşük olması önceki enfeksiyon ile immün yanıtın aktive edildiğini göstermektedir. Bazı çalışmalarda ise erişkinlerde yüksek enfeksiyon hızı saptanmıştır. Toplumda *B.hominis*'e karşı kazanılmış koruyucu bağışıklık ve doğuştan bağışık ile ilgili bilgiler sınırlıdır (3). Antikor yanıtının olmadığını savunan görüşlerin yanında İBS

olan ve *B.hominis* enfeksiyonu saptanan hastalarda IgG2 subtipinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu antikorun, lenfosit ve makrofajlara sunulmak üzere bağırsaklardaki Peyser plaklarında bulunan M hücreleri tarafından taşınan, parazitin yüzey çeperindeki yapılara karşı oluştuğu ileri sürülmüştür (24). *B.hominis* enfeksiyonlarına konak yanıtının araştırılmasında uygun hayvan modeli geliştirilmesinin büyük yarar sağlayacağı belirtilmiştir (63). Ratların *B.hominis* enfeksiyonuna daha duyarlı oldukları, fare, hamster ve tavşanın ise uygun model olmadığı gösterilmiştir (4, 5).

B.hominis'in yüzey çeperindeki karbonhidrat epitoplara karşı spesifik IgM tipinde monoklonal antikor yanıtı oluştuğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu monoklonal antikorlardan bir kısmının *B.hominis*'in yüzey çeperindeki epitoplara spesifik iken, bir kısmının santral cisme bağlanarak aynı zamanda başka *Blastocystis* kökenleri ile de çarpaz reaksiyon verdiği tespit edilmiştir. Bu durumda yüzey çeperindeki antijenik yapıların türe spesifik, santral vakuoldeki yapıların ise cinse spesifik olduğu görüşü ileri sürülmüştür. Enfekte hastalarda esas immün yanıtın yüzey çeperi karbonhidratlarına karşı olduğu ve yüzey çeperinin *B.hominis* paraziti için immünojenik yanıtı karşı bir bariyer görevi yaptığı da bildirilmiştir (73, 60). *B.hominis*'e karşı sitotoksik özellik taşımayan bu mAb yanıtının yanında, sitotoksik özellik taşıyan ve spesifik olarak 30kDa plazma membranı ilişkili proteine bağlanan sitotoksik mAb (ID5) ile ilgili yapılan çalışmada ID5 epitopunun tür ve izolat spesifik olduğu belirlenmiştir. *B.hominis*'in bu sitotoksik mAb ile yapılan uzun süreli kültürlerinde, bazı kökenlerde sitotoksik etkinin meydana gelmediği gösterilmiştir. Bu durum 30 kDa proteininin tüm izolatlarda olmaması nedeniyle fonksiyonel öneme sahip olduğu ve kökenlerin ID5 duyarlı ve dirençli olarak ayrılabilceği şeklinde açıklanmıştır (28, 61, 62).

PATOGENEZ: Henüz insan ve diğer canlılarda *Blastocystis*'in neden olduğu hastalık tablosu tam olarak tanımlanmamıştır. Gastrointestinal hastalıklarda ancak diğer enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz nedenlerin eliminasyonu yapıldıktan sonra etken olarak sorumlu tutulabileceği belirtilmiştir. Fakat tümüyle diğer etkenlerin araştırılıp belirlenmesinin güç olması nedeniyle bu yaklaşım üzerinde tartışmalar sürmektedir. Yeterli sayıda olgu-kontrol çalışmalarının yapılmaması olguların seçimi ve sonuçların yorumundaki zorluğa neden olmaktadır. Bazı araştırmacılar *B.hominis*'in patojen olmadığını, semptomatik olgularda saptanmasının bu protozo-onu sorumlu kılmaya yetmediğini, oluşan semptomların eşlik eden patojenlerle ya da nonenfeksiyöz nedenlerle ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Antiprotozon tedavi uygulandıktan sonra semptomların gerilemesi olası bir ajan veya etken olduğunu gösterebilmektedir. Özellikle kullanılan 5-nitroimidazolün, Gram negatif ve Gram pozitif birçok mikroorganizmaya da etkili olduklarından, diğer etkenlerden kaynaklanan semptomları da ortadan kaldırmalarının olası olduğu belirtilmektedir (37).

B.hominis türlerinde antijenik ve genetik olarak heterojenitenin gözlenmesi, virulan ve avirulan kökenlerin olabileceğini düşündürmekte ve farklı *Blastocystis* türlerinin insanda enfeksiyon yapabileceğini olası kılmaktadır. Farklı serotiplerin, patojenik olarak farklı düzeylerde etkili olabileceği görüşü de mevcuttur (25, 32, 62, 74).

Juvenil farelerin (8 haftalıktan küçük) adult farelere göre *B.hominis*'in kistleriyle oral olarak enfeksiyona daha duyarlı oldukları, inokülasyondan 2 gün sonra dışkıda parazitin belirlendiği ve 2 hafta sonra da enfeksiyon tablosunun oluştuğu gözlenmiştir. Enfekte farelerde kilo kaybı ve letarji oluşmuştur. Farelerin nekropsilerinde çekum ve kolonda distansiyon saptanmış, histolojik incelemede ise çekum ve kolonda inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ödemli lamina propria, mukozal dökülmeler tespit edilmiştir (40). Yine farelere *B.hominis*'in intramüsküler enjeksiyonunun kendini sınırlayan miyonekroza neden olduğu gösterilmiştir (41).

Kolonik epitel hücre kültürü HT-29, T-84 kullanılarak *B.hominis*'in sitopatik ve sitokin salınımı üzerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada, *B.hominis*'in sitopatik etki yaratmamasına karşın, hücrelerden IL-8 ve granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktörün salınmasını indüklediği gösterilmiştir (34). Bir kemokin olan IL-8 başta nötrofiller olmak üzere monosit ve T lenfositleri aktive ettiği, GM-CSF ise nötrofil ve eozinofiller için güçlü bir kemoatraktan özellik taşıdığı bilinmektedir. İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan olgularda intestinal mukozada lamina propria tabakasında artmış T hücre aktivasyonu gösterilmiştir. Bu olgulardaki T hücre aktivasyonunun tetikleyici mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte *B.hominis*'in de rolü olabileceği düşünülmektedir (68).

İntestinal mukozadan salgılanan sekretuar IgA, patojen ajanlara ve toksinlerine karşı immün savunmada önemli rol oynamaktadır. Sekretuar IgA, patojen ajanların mukozaya penetrasyonunu ve kolonizasyonunu engellemekte ayrıca toksinlerini de nötralize etmektedir. Patojen ajanların salgıladıkları proteazlar, IgA'nın degrade olmasına neden olmaktadır. *E.histolytica* ve *Trichomonas vaginalis* gibi diğer parazitlerde de bulunan ve epitel hücrelerine sitopatik etki gösterdiği bilinen proteazın *B.hominis* tarafından da salgılanarak, insan sekretuar IgA'yı parçaladığı belirlenmiştir. Hasta dışkı örneğinden izole edilen *B.hominis*'in proteaz aktivitesi gösterdiği ve sistein proteinaz yapısında olduğu belirlenmiştir (55). Ayrıca başka bir çalışmada *B.hominis* tarafından salgılanan sistein proteinaz yanında *B.ratii*'nin salgıladığı aspartik proteazın varlığı ve proteolitik etkisi gösterilmiştir (49). Proteazların keratin ve kollagen gibi konnektif doku proteinlerini hidrolize ederek enfeksiyonda rol oynadıkları belirtilmektedir. Bu mekanizmanın *B.hominis* enfeksiyonunda bağırsak permeabilitesinin artmasında etkili olduğu Technetium^{99m} ile işaretli diethyl triamine penta acetic acid (99mTc labeled DTPA) yöntemiyle belirlenmiştir (12).

B.hominis'in belirli yüzey reaktif monoklonal antikor ile karşılaştığında immünfloresan mikroskopisinde yama şeklinde bir floresan görünümü verdiği ve böylece parazit antijenlerinin tek tip olarak dağılmadığı gösterilmiştir. *B.hominis* kültürü monoklonal antikorlar ile inkübe edildiğinde ise *B.hominis*'in boyutlarının küçüldüğü ve hücre yoğunluğunun arttığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda mAb ID5'in, *B.hominis* izolatında bulunan 29-30 kDa ağırlığındaki protein için spesifik olup özellikle insan ve insan dışı *B.hominis* kökenlerinin ayrılmasında ve tanı amacıyla geliştirilecek ELISA gibi yöntemlerde kullanılacak bir hedef olduğu belirtilmiştir (62).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada semptomatik ve asemptomatik *B.hominis* enfeksiyonu olan olgulardan elde edilen izolatların kültürleri yapılmış ve sadece semptomatik olgulardan izole edilen *B.hominis* kökenlerinin kültürde amoeboid formda ürediği ve elektron mikroskopik incelemede iki farklı morfolojide amoeboid form olduğu belirtilmiştir. Amoeboid formlardan biri geniş santral cisime sahip ve içinde elektron yoğun granüller içeren, aktif protein sentezinin olduğu form, diğeri ise birçok küçük vakuol içeren form olarak gözlenmiştir. Akridin oranj ile boyama sonucu santral cisimin nükleik asit sentezinin yüksek olduğunu gösteren özellik sergilemesi bu formun patojenite ile ilgisi olacağını düşündürmüştür (64).

Semptomatik ve asemptomatik olgularda genotip ile patojenite arasında ilişki tespit edilemediği fakat genotip olarak en fazla subtip 3, subtip 1 ve subtip 4'ün saptandığı belirtilmiştir. Fakat daha çok örnek içeren çalışmalarla bir genelleme yapmanın daha doğru olacağına dikkat çekilmiştir (76). *B.hominis*'in RFLP yöntemiyle 12 genotipinin belirlendiği ve coğrafik kökenle genotip arasında ilişki saptanmadığı diğer bir çalışma ile de belirlenmiştir (23). Yakın zamanda toplam 39 olgudan izole edilen (semptomatik 16 olgu, asemptomatik 19 olgu) *B.hominis* kökenlerinin genotiplendirmesinde subtip 3 ve subtip 1'in, en fazla saptanan genotip olduğu ve subtip 1'in semptomatik hastalarda subtip 3'ten daha fazla bulunduğu saptanmıştır. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı olarak belirlenmiş bu bulgular ışığında subtip 1'in patojenite ile ilişkisi olabileceği ileri sürülmüştür (70). *B.hominis*'in genotiplendirilmesinde arbitrarıly primed-PCR (AP-PCR) yönteminin kullanılması başarı sağlamıştır. Bir çalışmada sekizi semptomatik sekizi ise asemptomatik olgudan izole edilen *B.hominis* kökenlerinin moleküler karakterizasyonunun incelenmesi sonucunda, semptomatik olgulardan elde edilen *B.hominis* kökenlerinin %70 oranından fazla aynı soydan (clade) geldikleri, asemptomatik kökenlerin ise heterojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmacılar semptomatik ve asemptomatik *B.hominis* kökenlerinin iki ayrı tür olmasının, patojenitedeki potansiyel farklılığın temelini oluşturacağı hipotezini ileri sürmüşlerdir (65).

KLİNİK ÖZELLİKLER:

1. Gastrointestinal enfeksiyon: Gastrointestinal sistem semptomları nonspesifik olup ishal, karın ağrısı, kramplar, bulantı,

gaz, şişkinlik, ateş bildirilmiştir. Akut ve kronik seyir gösterebilmekte, akut olgularda sulu ishal görülebilmektedir. Fatal seyir çok nadir görülmektedir. Rektal kanama, fekal lökosit, eozinofili, hepatomegali, splenomegali, kutanöz raş ve kaşıntı bazı olgularda bildirilmiştir. *B.hominis* infeksiyonunun inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve İBS ile ilişkisinin olabileceği de belirtilmiştir (19, 24, 69). Diabetes mellitus, lösemi, tropikal pulmoner eozinofili olan hastalarda *B.hominis* enfeksiyonunun görülmesi özellikle immün sistem bozukluklarında bu etkenin saptanabileceğini göstermiştir.

2. Ekstraintestinal enfeksiyon: Gastrointestinal yakınmaları da olan ve dışkı incelemelerinde *B.hominis* saptanan aynı zamanda eklem ağrısı, şişlik ve artriti olan üç olguda sinoviyal sıvıdan izole edilmiştir (30).

3. Semptomsuz enfeksiyon: Geniş kapsamlı epidemiyolojik çalışmalar yapılmadığı için semptomsuz enfeksiyon belirlenmiştir. Küçük çaplı çalışmalarda semptomsuz enfeksiyonunda yüksek oranlarda saptandığı bildirilmiştir. Enfeksiyon tanısında sıklıkla vakuoler formun aranması ve tanınmasıyla yapılabildiği için gerçek prevalansı tahmin etmek çok kolay olmamaktadır.

LABORATUAR TANISI:

1. Mikroskopik tanı: Tanıda en çok kullanılan metod ışık mikroskopisinde incelemedir. Bu aşamada yapılan nativ-lugol inceleme kolay olup en sık kullanılan yöntemdir. Boyalı preparat incelemesinin özellikle de Trikrom boyama yöntemi ile hazırlanan preparat incelemesinin çok değerli olduğu belirtilmektedir. Ayrıca hematoksilen, Gram, Giemsa, Wright boyama yöntemlerinin de başarılı olduğu tespit edilmiştir. Işık mikroskopisinde 3-20 µm boyutlarında tek vakuollü ve bu vakolü çevreleyen dar sitoplazma içerisinde görülen 4 ila 6 noktasal yapı ve en dışta kalın bir duvar yapısı tipik görünümü oluşturmaktadır. Trikrom boyamada ise nativ-lugol inceleme ile gözden kaçan formlar görülebilir. Küçük kırmızı boyanan nükleus ve mitokondri benzeri organeller, kırmızı veya yeşil boyanan vakuol ile özellikle kist formunda, yeşil boyanan kalın hücre duvarı görülebilir. Vakuolün içeriğine göre boyanma değişikliği gösterdiği bildirilmiştir. Dışkı mikroskopisinde nadir, az sayıda orta yoğunlukta çok sayıda gibi kantitasyonun yapılması ve olgulardan farklı zamanlarda en az üç kez örnek alınarak incelenmesi, bu arada olguların diğer paraziter, bakteriyel ve viral etkenler açısından da değerlendirilmelerinin gerektiği belirtilmektedir (17, 59).

2. Kültür: Kültür yapılmadan önce konsantrasyon metodlarının uygulanması, bazı araştırmacılar tarafından, hücrelerin parçalanmasına neden olduğu gerekçesiyle önerilmemekle birlikte bazı araştırmacılar konsantrasyon metodu ile başarılı olduklarını belirtmişlerdir. Bazı çalışmalarda kültürün mikroskopik incelemeye üstünlüğü gösterilmekle birlikte çok sayıda *B.hominis* var ise kültürün başarılı olabileceği, bunun da mikroskopik inceleme ile tanınacağını belirten görüşlerde mevcuttur (31, 33). Kültürde *B.hominis*'in üremesi için anaerobik

ortam ve 37°C'lik ısı sağlanmalıdır. Boeck ve Drbohlav'ın yoğunlaştırılmış yumurtalı besiyeri, Dobell and Laidlaw besiyeri (ringer solüsyonu +%20 insan serumu+streptomisin sülfat), Diamond's triptikaz serum monofazik besiyeri, Minimal essential medium (MEM)+%10 at serumlu, Iscove's modified Dulbecco's medium +%10 at serumu kullanılan kültürler arasında belirtilmektedir (17, 59, 63).

3. İmmünolojik tanı: Klinik tanıya yönelik uygun antikor ve immünolojik testler bulunmamaktadır. Araştırma amaçlı indirekt immünfloresan antikor (IFA) ve ELISA yöntemleri antikor belirlemede kullanılmıştır. ELISA yöntemi ile 1/50 dilüsyonun eşik değeri olarak alındığı çalışmada, IgG tipi antikorlar, *B.hominis* ile enfekte hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek olarak belirlenmiştir (80). Özellikle az sayıda *B.hominis* varlığını ve atipik formları belirlemek için spesifik antikorlar gerekmektedir. Tüm hücresel *B.hominis* antijenlerine karşı oluşmuş tavşan antiserumu kullanılarak, vakuoler, granüler ve amoeboid formlar IFA ile belirlenmiştir (16). *B.hominis* ile enfekte semptomatik ve asemptomatik olgular ile sağlıklı kontrol grubundaki olguların ELISA yöntemiyle serum ve dışkılarında anti-*B.hominis* IgA ve serum IgG düzeyleri ile serum ve dışkıda *B.hominis* antijenlerinin araştırıldığı çalışmada, semptomatik *B.hominis* enfeksiyonu olan olgulardaki tüm antikor düzeyleri kontrollerden yüksek saptanmış olup, özellikle sekretuar IgA'nın humoral IgA'dan daha yüksek düzeyde tespit edildiği belirtilmiştir. Dışkı ve serumda, spesifik antijenlerden, dışkıdaki daha yüksek olmak üzere, her iki antijen düzeyinin kontrollerden daha yüksek tespit edildiği belirlenmiştir. Kontrol olgularında antikor yanıtı ve antijen saptanmamıştır (35).

4. Diğer tanı yöntemleri: İnvaziv yöntemler olan endoskopi ve kolonoskopi ile tanımlanan olgular mevcuttur fakat günümüzde önerilmemektedir. Moleküler yöntemler ise araştırma amaçlı kullanılmaktadır.

KLİNİK YAKLAŞIM: Henüz belirlenemeyen patojenitesi nedeniyle hastalık etkeni olarak kabul edilip edilmeyeceği ve tedavi uygulamaları tartışmalıdır (37, 38). Kendini sınırlayan enfeksiyona neden olmasından dolayı, olası etkenler araştırılmadan potansiyel olarak yan etkisi fazla olan ajanların kullanılmaması, enfeksiyonun herhangi bir ilaç tedavisi verilmeden kendi seyrine bırakılmasını savunan görüşlerin yanında, kronik veya akut olarak hastada düşünlüğe neden olacak kadar aşırı semptomların olması durumunda ve bu tabloya neden olacak başka etkenin tanımlanmaması durumunda ise tedavinin kaçınılmaz olduğu belirtilmektedir (13). Aksini iddia eden çalışmaların olmasına rağmen, birçok çalışmada başta AIDS hastaları olmak üzere immünsüpresif hastalarda kontrol gruplarına göre *B.hominis* görülme oranlarının yüksek olduğu tespit edilmiştir (6, 47, 66).

KEMOTERAPİ: Ampirik olarak genel antiprotozoal ilaçlar özellikle de 5-nitroimidazol kullanılmaktadır. Tedavi başarısı ya semptomların gerilemesi ya da dışkıda parazitinin görülmesi olarak değerlendirilmektedir. Antibakteriyel ve antifungal

ajanlar *B.hominis*'e karşı etkili olamamakta ve in vitro ortamda üremesine engel olmamaktadır. Metronidazol ve iodoquinolün in vitro olarak etkinliği gösterilmiş fakat iodoquinolün toksik etkileri kullanılmasını kısıtlamıştır. Metronidazol dozu erişkinlerde 200-750mgx3/gün olarak 5-10 günlük tedavi şeklinde düzenlenmektedir. Metronidazolün etkili olmadığı durumlarda trimetoprim-sülfametoksazolün alternatif ilaç olarak kullanılabileceği ve AIDS hastalarında furazolidonun etkili olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde *B.hominis*'e karşı antiprotozoal ilaçların etkisinin araştırıldığı çalışmada en etkili ilaçlar sırasıyla ornidazol, metronidazol, azitromisin, itrakonazol, trimetoprim-sülfametoksazol olarak saptanmıştır (21)

DİYET UYGULAMASI: Diyetin semptomların ve dışkıda *B.hominis* sayısının azaltılmasında etkili olduğu bildirilmiştir. Özellikle liften zengin ve laktozdan arındırılmış diyetin bazı hastalarda metronidazol tedavisinden daha etkili olduğu gösterilmiştir (27). Bu durum, bağırsaktaki bakteriyel flora, redoks potansiyeli ve besin maddelerinden kaynaklanan değişikliklerin oluşturduğu ortamın *B.hominis*'in üremesini etkileyerek etkili olabileceğini düşündürmektedir (39).

KORUNMA: *B.hominis*'in fekal-oral yolla bulaşan bir etken olduğu kabul edilmektedir. Hijyen koşullarının sağlanması çevrenin ve de besinlerin fekal bulaşının engellenmesi ve bu konuda yapılacak eğitimler korunmada etkili olacaktır. *Blastocystis*'in zoonotik özellik taşımasından dolayı hayvanlarla sık temas edenlerin bu konuda eğitilmeleri gerekmektedir. Dış ortamdaki yaşam süresi hakkında kesin bilgi yoktur. Laboratuvar çalışmalarında granüler ve vakuoler formların havaya ve kuruluğa hassas oldukları bu nedenle çevre için kontaminant özellik taşımayacağı fakat kist formunun bu şartlara daha dayanıklı olduğu belirtilmiştir (59). *B.hominis* enfeksiyonlu olgudan elde edilen kist formunun, oda ısısında suda 19 gün, +4°C'de 14 güne kadar canlılığını sürdürdüğü gösterilmiştir (78). İçme sularının klorlanmasına ise dirençli olduğu saptanmıştır (77). Kistlerin dondurulduklarında ve 40-50°C'de ısıtıldıklarında, kurutulduklarında ve deterjana maruz kaldıklarında hızla canlılıklarını kaybettikleri gösterilmiştir (40).

B.hominis enfeksiyonunun ortaya çıkmasının birden fazla faktöre bağlı olduğu düşünülmektedir. Konağın karakteristik özelliklerine, var olan diğer organizmalarla etkileşimine ve mikroçevredeki fiziksel faktörlere bağlı olarak enfeksiyonun oluştuğu ileri sürülmüştür. Olası patojenite mekanizmalarının belirlenmesindeki yetersizlik enfekte bireylerdeki semptomların tek sebebi olarak *B.hominis*'in sorumlu tutulmasını engellemektedir. *Blastocystis* türlerinin farklı alt gruplarının semptomatik ve asemptomatik olgularda belirlenerek analizinin yapılmasının, aydınlığa kavuşmamış olan patojenik mekanizmaların açıklanmasında etkili olacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, epidemiyolojik, immünolojik, moleküler çalışmalarla, semptomatik ve asemptomatik bireylerde ve çeşitli bölge ve toplumlarda yapılacak olgu-kontrol çalışmalarının *B.hominis*'in yanıt bulunamayan sorularına ışık tutacağı bir gerçektir.

KAYNAKLAR

1. **Aykan B, Çağlar K, Kuştımur S**, 2005. Gaita örneklerindeki protozoonların Trikróm boyası kullanılarak değerlendirilmesi. *Türkiye Parazit Derg*, 29(1): 34-38.
2. **Cavalier-Smith T**, 1998. A revised six-kingdom system of life. *Biol Rev Camb Philos Soc.*, 73:203-266.
3. **Chen JL, Vaudry WL, Kowalewska K, Wenman WM**, 1987. Lack of serum immune response to *Blastocystis hominis*. *Lancet*, 31;2(8566):1021.
4. **Chen XQ, Singh M, Ho LC, Moe KT, Tan SW, Yap EH**, 1997. A survey of *Blastocystis* sp. in rodents. *Lab Anim Sci.*, 47(1): 91-94.
5. **Chen XQ, Singh M, Ho LC, Tan SW, Ng GC, Moe KT, Yap EH**, 1997. Description of a *Blastocystis* species from *Rattus norvegicus*. *Parasitol Res*, 83(4): 313-318.
6. **Cimerman S, Cimerman B, Lewi DS**, 1999. Prevalence of intestinal parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome in Brazil. *Int J Infect Dis*, 3(4): 203-206.
7. **Clark CG**, 1997. Riboprinting: a tool for the study of genetic diversity in microorganisms. *J Eukaryot Microbiol*, 44(4):277-283.
8. **Clark CG**, 1997. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Mol Biochem Parasitol*, 87:79-83.
9. **Çelik T, Daldal N, Karaman Ü, Aycan MÖ, Atambay M**, 2006. Malatya ili merkezinde üç ilköğretim okulu çocuklarında bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazit Derg*, 30(1): 35-38.
10. **Çulha G, Gülbol Duran G, Duran N, Canpolat A**, 2005. Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu öğrencilerinde bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazit Derg*, 29(4): 258-260.
11. **Doğan N**, 1998. Bozan beldesinde *Blastocystis hominis* görülme sıklığı. *Türkiye Parazit Derg*, 22(3): 247-250.
12. **Dagci H, Ustun S, Taner MS, Ersoz G, Karacasu F, Budak S**, 2002. Protozoon infections and intestinal permeability. *Acta Trop*, 81(1):1-5.
13. **Doyle PW, Helgason MM, Mathias RG, Proctor EM**, 1990. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol*, 28(1): 116-121.
14. **Florez AC, Garcia DA, Moncada L, Beltran M**, 2003. Prevalence of microsporidia and other intestinal parasites in patients with HIV infection, Bogota, 2001. *Biomedica*, 23(3): 274-82.
15. **Garavelli PL, Scaglione L, Bicocchi R, Libarone M**, 1991. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *Infection*, 19(3):185.
16. **Garavelli PL, Zierdt CH, Fleisher TA, Liss H, Nagy B**, 1995. Serum antibody detected by fluorescent antibody test in patients with symptomatic *Blastocystis hominis* infection. *Recenti Prog Med*, 86(10): 398-400.
17. **Garcia LS**, 2001. *Diagnostic Medical Parasitology*. Fourth edition. Washington: ASM Press, p.28-35.

18. **Germani Y, Minssart P, Vohito M, Yassibanda S, Glaziou P, Hocquet D, Berthelemy P, Morvan J**, 1998. Etiologies of acute, persistent, and dysenteric diarrheas in adults in Bangui, Central African Republic, in relation to human immunodeficiency virus serostatus. *Am J Trop Med Hyg*, 59(6): 1008-1014.
19. **Giacometti A, Cirioni O, Fiorentini A, Fortuna M, Scalise G**, 1999. Irritable bowel syndrome in patients with *Blastocystis hominis* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 18(6): 436-439.
20. **Graczyk TK, Shiff CK, Tamang L, Munsaka F, Beitin AM, Moss WJ**, 2005. The association of *Blastocystis hominis* and *Endolimax nana* with diarrheal stools in Zambian school-age children. *Parasitol Res*, 98(1): 38-43.
21. **Hamamcı B, Yazar S, Şahin İ**, 2004. *Blastocystis hominis*'in *in vitro* kültürü ve antiprotozoal ilaçların *in vitro* etkilerinin araştırılması. *Erciyes Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(1): 7-15.
22. **Ho LC, Armiugam A, Jeyaseelan K, Yap EH, Singh M**, 2000. *Blastocystis* elongation factor-1alpha: genomic organization, taxonomy and phylogenetic relationships. *Parasitology*, 121 (Pt 2): 135-44.
23. **HoEVERS J, HOLMAN P, LOGAN K, HOMMEL M, ASHFORD R, SNOWDEN K**, 2000. Restriction-fragment-length polymorphism analysis of small-subunit rRNA genes of *Blastocystis hominis* isolates from geographically diverse human hosts. *Parasitol Res*, 86(1):57-61.
24. **Hussain R, Jaferi W, Zuberi S, Baqai R, Abrar N, Ahmed A, Zaman V**, 1997. Significantly increased IgG2 subclass antibody levels to *Blastocystis hominis* in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Trop Med Hyg*, 56(3): 301-306.
25. **INIT I, MAK JW, LOKMAN HAKIM S, YONG HS**, 1999. Strain differences in *Blastocystis* isolates as detected by a single set of polymerase chain reaction primers. *Parasitol Res*, 85(2): 131-134.
26. **İNCEBOZ T, ÜNER A**, 2001. *Blastocystis hominis*'in epidemiyolojisinin araştırılması. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 25(29):135-138
27. **Kain KC, Noble MA, Freeman HJ, Barteluk RL**, 1987. Epidemiology and clinical features associated with *Blastocystis hominis* infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 8(4): 235-244.
28. **Kaneda Y, Horiki N, Cheng X, Tachibana H, Tsutsumi Y**, 2000. Serologic response to *Blastocystis hominis* infection in asymptomatic individuals. *Tokai J Exp Clin Med*, 25(2): 51-56.
29. **Kaya S, Sesli Çetin E, Akçam Z, Kesbiç H, Demirci M**, 2005. *Entamoeba coli* ve *Blastocystis hominis* saptanan olgularda klinik semptomlar. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 29(4): 229-231.
30. **Kruger K, Kamilli I, Schattenkirchner M**, 1994. *Blastocystis hominis* as a rare arthritogenic pathogen. A case report. *Z Rheumatol*, 53(2): 83-85.
31. **Kukoschke KG, Necker A, Muller HE**, 1990. Detection of *Blastocystis hominis* by direct microscopy and culture. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 9(4): 305-307.
32. **Lanuzza MD, Carbajal JA, Villar J, Mir A, Borrás R**, 1999. Soluble-protein and antigenic heterogeneity in axenic *Blastocystis hominis* isolates: pathogenic implications. *Parasitol Res*, 85(2): 93-97.
33. **Leelayoova S, Taamasri P, Rangsin R, Naaglor T, Thathaisong U, Mungthin M**, 2002. *In vitro* cultivation: a sensitive method for detecting *Blastocystis hominis*. *Ann Trop Med Parasitol*, 96(8): 803-807.
34. **Long HY, Handschack A, Konig W, Ambrosch A**, 2001. *Blastocystis hominis* modulates immune responses and cytokine release in colonic epithelial cells. *Parasitol Res*, 87(12):1029-30.
35. **Mahmoud MS, Saleh WA**, 2003. Secretory and humoral antibody responses to *Blastocystis hominis* in symptomatic and asymptomatic human infections. *J Egypt Soc Parasitol*, 33(1):13-30.
36. **Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds.**, 2005. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Sixth Edition. Philadelphia, Churchill Livingstone. p.3233- 3234.
37. **Markell EK, Udkow MP**, 1986. *Blastocystis hominis*: pathogen or fellow traveler? *Am J Trop Med Hyg*, 35(5): 1023-1026.
38. **Markell EK, Voge M, Krotoski WA**, 1999. Parasitic infections immunocompromised hosts. In: Ozmat S. eds. *Medical Parasitology*. Eighth Edition. Mexica: Saunders Company. p:339-402.
39. **Miller RA, Minshew BH**, 1988. *Blastocystis hominis*: an organism in search of a disease. *Rev Infect Dis*, 10(5): 930-938.
40. **Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan SW, Ng GC, Chen XQ, Yap EH**, 1996. Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of *Blastocystis hominis* from human feces. *Parasitol Res*, 82(5): 439-444.
41. **Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan SW, Chen XQ, Ng GC, Yap EH**, 1997. Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. *Parasitol Res*, 83(4): 319-325.
42. **Moe KT, Singh M, Gopalakrishnakone P, Ho LC, Tan SW, Chen XQ, Yap EH**, 1998. Cytopathic effect of *Blastocystis hominis* after intramuscular inoculation into laboratory mice. *Parasitol Res*, 84(6): 450-454.
43. **Mohandas, Sehgal R, Sud A, Malla N**, 2002. Prevalence of intestinal parasitic pathogens in HIV-seropositive individuals in Northern India. *Jpn J Infect Dis*, 55(3): 83-84.
44. **Nimri L, Batchoun R**, 1994. Intestinal colonization of symptomatic and asymptomatic school children with *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol*, 32(11): 2865-2866.
45. **Noureldin MS, Shaltout AA, El Hamshary EM, Ali ME**, 1999. Opportunistic intestinal protozoal infections in immunocompromised children. *J Egypt Soc Parasitol*, 29(3): 951-961.
46. **Oğuztürk H, Özçelik S, Değerli S, Çeliksöz A**, 2001. Amöbiyoz ve Blastosistosisde gastrointestinal semptomların görülme sıklığı. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 25(1): 28-30.
47. **Ok UZ, Cirit M, Uner A, Ok E, Akcecek F, Basci A, Ozel MA**, 1997. Cryptosporidiosis and *Blastocystosis* in renal transplant recipients. *Nephron*, 75(2): 171-174.
48. **Prasad KN, Nag VL, Dhole TN, Ayyagari A**, 2000. Identification of enteric pathogens in HIV-positive patients with diarrhoea in northern India. *J Health Popul Nutr*, 18(1): 23-26.

49. Puthia MK, Vaithilingam A, Lu J, Tan KS, 2005. Degradation of human secretory immunoglobulin A by *Blastocystis*. *Parasitol Res*, 97(5): 386-389.
50. Rajah Salim H, Suresh Kumar G, Vellayan S, Mak JW, Khairul Anuar A, Init I, Vennila GD, Saminathan R, Ramakrishnan K, 1999. *Blastocystis* in animal handlers. *Parasitol Res.*, 85(12): 1032-1033.
51. Sarı C, Sarı K, Ertuğ S, 2003. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda *Cryptosporidium spp.* ve *Blastocystis hominis* sıklığının araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 27(3): 187-190.
52. Shlim DR, Hoge CW, Rajah R, Rabold JG, Echeverria P, 1995. Is *Blastocystis hominis* a cause of diarrhea in travelers? A prospective controlled study in Nepal. *Clin Infect Dis*, 21(1): 97-101.
53. Silberman JD, Sogin ML, Leipee DD, Clark CG, 1996. Human parasite finds taxonomic home. *Nature*, 380: 398.
54. Singh M, Suresh K, Ho LC, Ng GC, Yap EH, 1995. Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res*, 81(5): 446-450.
55. Sio SW, Puthia MK, Lee AS, Lu J, Tan KS, 2006. Protease activity of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res*, 99(2): 126-130.
56. Snowden K, Logan K, Blozinski C, Hoeyers J, Holman P, 2000. Restriction fragment length polymorphism analysis of small subunit rRNA genes of *Blastocystis* isolates from animal hosts. *Parasitol Res*, 86(1): 62-66.
57. Sohail MR, Fischer PR, 2005. *Blastocystis hominis* and travelers. *Travel Medicine and Infection Disease*, 3: 33-38.
58. Stenzel DJ, Boreham PF, 1996. *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev*, 9(4): 563-584.
59. Stenzel DJ, Boreham RE, 2001. *Blastocystis*. Gillette SH, Pearson RD, eds., *Principles and Practise of Clinical Parasitology*. UK: John Wiley&Sons Ltd. p.355-368.
60. Tan SW, Ho LC, Moe KT, Chen XQ, Ng GC, Yap EH, Singh M, 1996. Production and characterization of murine monoclonal antibodies to *Blastocystis hominis*. *Int J Parasitol*, 26(4):375-81.
61. Tan SW, Singh M, Ho LC, Howe J, Moe KT, Chen XQ, Ng GC, Yap EH, 1997. Survival of *Blastocystis hominis* clones after exposure to a cytotoxic monoclonal antibody. *Int J Parasitol*, 27(8): 947-954.
62. Tan KS, Ibrahim M, Ng GC, Nasirudeen AM, Ho LC, Yap EH, Singh M, 2001. Exposure of *Blastocystis* species to a cytotoxic monoclonal antibody. *Parasitol Res*, 87(7): 534-538.
63. Tan KS, Singh M, Yap EH, 2002. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *Int J Parasitol*, 32(7): 789-804.
64. Tan TC, Suresh KG, 2006. Predominance of amoeboid forms of *Blastocystis hominis* in isolates from symptomatic patients. *Parasitol Res*, 98(3):189-93.
65. Tan TC, Suresh KG, Thong KL, Smith HV, 2006. PCR fingerprinting of *Blastocystis* isolated from symptomatic and asymptomatic human hosts. *Parasitol Res*, 99(4): 459-465.
66. Tasova Y, Sahin B, Koltas S, Paydas S, 2000. Clinical significance and frequency of *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. *Acta Med Okayama*, 54(3): 133-136.
67. Üner A, Ertuğ S, Yurdagül C, Ertabaklar H, Aküsü Ç, 1999. İzmir ve çevresinde insanlarda *Blastocystosis* yaygınlığının araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 23(3): 247-250.
68. Üstün Ş, Turgay N, 2006. *Blastocystis hominis* ve bağırsak hastalıkları. *Türkiye Parazitol Derg*, 30(1): 72-76.
69. Yakoob J, Jafri W, Jafri N, Khan R, Islam M, Beg MA, Zaman V, 2004. Irritable bowel syndrome: in search of an etiology: role of *Blastocystis hominis*. *Am J Trop Med Hyg*, 70(4): 383-385.
70. Yan Y, Su S, Lai R, Liao H, Ye J, Li X, Luo X, Chen G, 2006. Genetic variability of *Blastocystis hominis* isolates in China. *Parasitol Res*, 99(5): 597-601.
71. Yazar S, Akman MAA, Hamamcı B, Birhan M, Şener S, Şahin İ, 2002. Kayseri Sosyal Hizmetler Çocuk Esirgeme Kurumu (SHÇEK) Çocuk Yuvasındaki 0-7 yaş çocuklarda bağırsak parazitlerinin araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 26(1):48-51.
72. Yazar S, Yaman O, Gözenç N, Şahin İ, 2005. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg*, 29(4): 261-263.
73. Yoshikawa H, Katakiri I, Li X, Becker-Hapak M, Graves DC, 1995. Antigenic differences between *Blastocystis hominis* and *Blastocystis sp.* Revealed by polyclonal and monoclonal antibodies. *J Protozool Res*, 5: 118-128.
74. Yoshikawa H, Nagano I, Wu Z, Yap EH, Singh M, Takahashi Y, 1998. Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype-specific diagnostic primers. *Mol Cell Probes*, 12(3): 153-159.
75. Yoshikawa H, Abe N, Iwasawa M, Kitano S, Nagano I, Wu Z, Takahashi Y, 2000. Genomic analysis of *Blastocystis hominis* strains isolated from two long-term health care facilities. *J Clin Microbiol*, 38: 1324-1330
76. Yoshikawa H, Wu Z, Kimata I, Iseki M, Ali IK, Hossain MB, Zaman V, Haque R, Takahashi Y, 2004. Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res*, 92(1): 22-29.
77. Zaki M, Zaman V, Sheikh NA, 1996. Resistance of *Blastocystis hominis* cysts to chlorine. *J Pak Med Assoc*, 46(8): 178-179.
78. Zaman V, Khan KZ, Khan MA, Khan MA, 1994. Isolation of *Blastocystis hominis* from sewage. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 25(1): 211.
79. Zierdt CH, 1991. *Blastocystis hominis*--past and future. *Clin Microbiol Rev*, 4(1): 61-79.
80. Zierdt CH, Zierdt WS, Nagy B, 1995. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody to *Blastocystis hominis* in symptomatic infections. *J Parasitol*, 81(1): 127-129.