

Rutin Laboratuvar Dışkı Örneklerinde *Blastocystis* Görülme Sıklığının ve Alt Tiplerinin Araştırılması

The Investigation of *Blastocystis* Frequency and Subtypes in Routine Laboratory Faecal Samples

Yeliz ÇETİNKOL¹(ID), Savaş ASLAN²(ID), Betül Fatmanur YILDIRIM¹(ID),
Hatice ERTABAKLAR³(ID), Erdoğan MALATYALI³(ID)

¹ Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.

¹ Afyonkarahisar Health Sciences University Faculty of Medicine, Department of Clinical Microbiology, Afyonkarahisar, Türkiye.

² Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şuhut Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Afyonkarahisar.

² Afyonkarahisar Health Sciences University Şuhut Vocational School, Medical Laboratory Techniques Program, Afyonkarahisar, Türkiye.

³ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın.

³ Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Aydın, Türkiye.

*Bu çalışma, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi (AFSÜ) Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje kodu: 23genel004) tarafından desteklenmiştir.

**Bu çalışma, 4. Uluslararası *Blastocystis* Konferansı (17-18 Eylül 2024, Girit)'nda poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Makale Atfı: Çetinkol Y, Aslan S, Yıldırım BF, Ertabaklar H, Malatyalı E. Rutin laboratuvar dışkı örneklerinde *Blastocystis* görülme sıklığının ve alt tiplerinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2025;59(2):217-227.

ÖZ

İnsanlarda kolonda yerleşen zoonotik bir protist olan *Blastocystis*, son yıllarda özellikle patojenitesi ve genetik çeşitliliğiyle önemli bir araştırma konusu olmuştur. Farklı bölgelerde yapılan moleküler epidemiyoloji çalışmaları, *Blastocystis*'in toplumdaki dağılımını ve bunu etkileyen faktörlerin araştırılmasına olanak sağlamıştır. Bu çalışmada rutin laboratuvar dışkı örneklerinde *Blastocystis* görülme sıklığının, alt tip [subtype (ST)] dağılımının ve ilişkili klinik bulguların değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırma kapsamında, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına rutin parazitoloji incelemesi için gönderilen dışkı örnekleri değerlendirilmiştir. İki aylık sürede toplanan 252 dışkı örneğinde *Blastocystis* pozitifliği ilk başta direkt mikroskopi (DM) ile araştırılmıştır. Daha sonra örneklerden genomik DNA izolasyonu yapılarak polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] ile *Blastocystis* pozitifliği incelenmiştir. *Blastocystis* küçük alt-ünite ribozomal RNA (SSU rRNA) kısmı gen sekansları temel alınarak veri tabanları karşılaştırmaları yapılmış ve filogenetik analizlerle ST'ler belirlenmiştir. Ayrıca, olası miks ST'lerin varlığı ST-spesifik primerler kullanılarak araştırılmıştır. Dışkı örneği alınan bireylerde yaş, cinsiyet, yerleşim yeri, klinik bulgular ile enterik adenovirüs ve rotavirüs pozitifliği incelenmiştir. Çalışmada, 252 dışkı örneğinin 11 (%4.3)'ünde DM yöntemiyle *Blastocystis* formları tespit edilmiş, yapılan PCR incelemesinde ise 16 örnekte (%6.3) *Blastocystis* pozitifliği saptanmıştır. Sekans analizleri sonucunda ST dağılımı ST3 (dokuz izolat, %56.2), ST2 (dört izolat, %25) ve ST1 (üç izolat, %18.8) olarak belirlenmiştir. Örneklerde miks ST'lerin varlığına rastlanmamıştır. *Blastocystis* pozitifliği açısından kadınlar (%5.8) ve erkekler (%6.8) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

($p > 0.05$). Bununla birlikte, *Blastocystis* pozitif olguların yaş ortalaması, negatif olanlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Çalışma kapsamındaki 172 kişide enterik adenovirüs ve rotavirüs pozitifliği immünokromatografik hızlı tanı testiyle değerlendirilmiştir. Tüm örneklerde adenovirüs negatif saptanırken, 19 (%11)'unda ise rotavirüs pozitif olarak bulunmuştur. *Blastocystis* pozitifliği ile klinik bulgular arasındaki ilişki değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Çalışmada ST dağılımı incelendiğinde diğer verilerle uyumlu olduğu görülmüştür. Görülen klinik bulgular değerlendirildiğinde ise *Blastocystis*'in asemptomatik kolonizasyonu fikri bu çalışma tarafından da desteklenmiştir. *Blastocystis* tanısında birden fazla yöntemin birlikte kullanılmasının pozitif örneklerin tespit edilmesi olasılığını artıracak ve ayrıca *Blastocystis* ve viral etkenlerin birlikteliği konusunda, mikrobiyotayı da göz önüne alan daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Blastocystis*; Afyonkarahisar; alt tip; prevalans.

ABSTRACT

Blastocystis is a zoonotic protist that colonizes the human colon and has been widely studied in recent years, with particular focus on its genetic diversity and pathogenicity. Molecular epidemiology studies in different regions provide an opportunity to investigate the distribution of *Blastocystis* in society and its associated factors. This study aimed to evaluate the frequency of *Blastocystis*, subtype (ST) distribution and clinical findings in stool samples obtained from a routine laboratory. In the study, stool samples sent to Afyonkarahisar Health Sciences University Faculty of Medicine, Microbiology Laboratory for routine parasitology examination were evaluated. The presence of *Blastocystis* was investigated initially with direct microscopy (DM) of 252 faecal samples collected in two months. Genomic DNA was isolated from all stool samples and *Blastocystis* positivity was determined with polymerase chain reaction (PCR). STs were determined through databases and phylogenetic analysis based on the partial sequences of *Blastocystis* small subunit ribosomal ribonucleic acid (SSU rRNA) gene. In addition, the presence of possible mixed STs was further studied using ST-specific primers. The age, gender, location, clinical findings, enteric adenovirus and rotavirus positivity of the cases were statistically evaluated. *Blastocystis* forms were detected in 11 (4.3%) of the 252 faecal samples with DM method and 16 samples (6.3%) were positive with PCR. After sequence analysis, ST distribution was detected as follows: ST3 (nine isolates, 56.2%), ST2 (four isolates, 25%) and ST1 (three isolates, 18.8%). Mixed STs were not found in any of the samples. There was no statistically significant difference between women (5.8%) and men (6.8%) in terms of *Blastocystis* positivity ($p > 0.05$). However, the average age of *Blastocystis* positive cases was statistically higher than that of negative cases ($p < 0.05$). Enteric adenovirus and rotavirus positivity were examined using an immunochromatographic rapid diagnostic test in 172 cases. All of them were negative for adenovirus and 19 (11%) were positive for rotavirus. When clinical findings were evaluated with *Blastocystis* positivity, no significant difference was detected. In our study, the ST distribution of *Blastocystis* appeared to be compatible with those reported from other regions. When the clinical findings were evaluated, the idea of asymptomatic colonization of *Blastocystis* was also supported by this study. The combined use of more than one method in *Blastocystis* diagnosis increases the chance of detecting positive samples. It is highly believed that comprehensive studies about the coexistence of *Blastocystis* and viral factors, including the microbiota, are expected to provide valuable contributions to *Blastocystis* pathogenicity.

Keywords: *Blastocystis*; Afyonkarahisar; subtype; prevalence.

GİRİŞ

Blastocystis, gastrointestinal yerleşimli, zoonotik karakterli bir protist olup, insan dışkı örneklerinde yaygın görülen ökaryotik mikroorganizmalar arasında yer almaktadır. Küresel bir dağılıma sahip olan *Blastocystis*, genellikle gelişmemiş ülkelerde yetersiz hijyen koşulları ve sosyoekonomik faktörlere bağlı olarak daha yüksek oranlarda rapor edilmektedir¹. Ülkemizde *Blastocystis* prevalansına dair veriler genellikle hastane laboratuvar kayıtları, bölgesel epidemiyolojik çalışmalar ve belirli hasta gruplarındaki çalışmalardan elde edilmektedir. Birçok rutin laboratuvar da *Blastocystis* pozitifliğinin saptanmasında, düşük mali-

yet ve kolay uygulanabilirlik gibi avantajları nedeniyle direkt mikroskopik (DM) inceleme, yoğunlaştırma veya kalıcı boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda, *Blastocystis* tanısında özellikle moleküler yöntemlerin kullanımı artmış ve bu sayede moleküler epidemiyolojisi daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır.

Blastocystis, genetik olarak birbirinden farklı birçok alt tipler [subtype (ST)] veya genotiplerden oluşan geniş bir grubu ifade etmektedir. Ribosomal RNA kodlayan genlere (SSU rRNA) dayalı genotiplendirme çalışmaları sonucunda, insan ve hayvan örneklerinde filogenetik olarak birbirinden ayrılan çok sayıda ST bildirilmiştir². Hem sağlıklı ve hem de immün sistemi yetersiz kişilerde geçerli olmak üzere insanlarda en yaygın görülen ST'ler ST1-4 olarak bildirilmiştir³. Ayrıca, insanlarda nadir görülen ST5-9 ST'leri, özellikle çiftlik hayvanlarıyla temas ile ilişkili olarak rapor edilmiştir⁴. Ülkemizin farklı illerinde yapılan çalışmalarda, *Blastocystis* ST dağılımı genelde benzerlik gösterse de saptanan ST sayıları arasında farklılıklar görülmektedir. Son yıllarda yapılan güncel çalışmalar da incelendiğinde ülkemizdeki insan örneklerinde sıklıkla ST1-7 ST'lerinin bildirildiği görülmüştür. Yapılan çoğu çalışmada ST3 baskın genotip olarak bildirilirken; bunu ST2 veya ST1'in izlediği tespit edilmiştir⁵.

Blastocystis ile ilgili en çok tartışılan konuların başında, bu parazitin klinikteki rolü ve tedavi gerekliliği gelmektedir⁶. *Blastocystis* saptanan bireylerin büyük bir kısmında herhangi bir klinik belirti görülmemekle birlikte, semptomatik olgularda spesifik olmayan gastrointestinal semptomlar, özellikle ishal ve karın ağrısı bildirilmektedir¹. Deneyisel modellerin geliştirilmesi, *Blastocystis* genomlarının dizilenmesi ve mikrobiyota analizindeki ilerlemeler, günümüzde *Blastocystis*'in biyolojik özelliklerinin daha iyi anlaşılmasına önemli katkılar sağlamaktadır⁷.

Bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinde ilk kez moleküler yöntemlerle *Blastocystis* varlığının tespiti ile ST dağılımının belirlenmesi amaçlanmış, ayrıca *Blastocystis* varlığı ile klinik bulgular arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Afyonkarahisar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih: 05.05.2023 ve Karar No: 2023/5/254).

Dışkı Örnekleri ve Verilerin Toplanması

Çalışma kapsamında Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına "dışkıda parazit aranması" istemiyle iki aylık süre içinde gönderilen ardışık dışkı örnekleri değerlendirildi. Olgulara ait demografik veriler (cinsiyet, yaş, yerleşim yeri), klinik bulgular, ön tanılar ve viral etken sonuçları hastane bilgi sistemi üzerinden alındı.

Blastocystis Pozitifliğinin Araştırılması

Dışkı örneklerinde *Blastocystis* formlarının varlığı DM ile incelendi. Dışkı örnekleri, DNA izolasyonu yapıncaya dek -20 °C'de saklandı. DNA ekstraksiyonu, ticari bir kit kullanarak (HiPure Stool DNA kit, China) spin kolon yöntemiyle üretici firmanın önerileri

doğrultusunda gerçekleştirildi. Polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)], 30 µl toplam hacimde BhRDr (GAG CTT TTT AAC TGC AAC AAC G) ve RD5 (ATC TGG TTG ATC CTG CCA GT) primerleri ile 94 °C'de üç dakika denatürasyonu takiben 30 döngü 30 saniye 94 °C'de denatürasyon, 30 saniye 59 °C'de primer bağlanması ve 60 saniye 72 °C'de amplifikasyon ardından 72 °C'de beş dakika uzama olacak şekilde uygulandı. Amplifikasyon ürününden 5 µl alınarak, SYBR Safe ile boyanan %1'lik agaroz jelde yürütüldü. Beklenen boyutta (~600 baz çifti) amplifikasyon görülen örnekler pozitif olarak kabul edildi.

ST'lerin Belirlenmesi ve Genetik Uzaklık

Polimeraz zincir reaksiyonu ile elde edilen amplikonlar ticari bir firma (Medsantek, İstanbul) aracılığıyla dizilendi. Bioedit programıyla sekanslar sıralanarak düzeltildi. Düzenlenen sekanslar, "pubmlst.org/*Blastocystis*" veri tabanına girilerek ST'ler belirlendi. Ayrıca, miks ST'lerin olabileceği ihtimaline karşı ST-spesifik primerler kullanılarak *Blastocystis* pozitif örnekler tekrar değerlendirildi⁸.

Son olarak, SSU rRNA kısmi sekansları kullanılarak izolatların referanslarla genetik uzaklıkları Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) v7.0 programında Neighbor-Joining yöntemiyle analiz edildi. Filogenetik analizde dış grup olarak sürüngenlerde görülen *Proteromonas lacertae* türüne ait 18S ribozomal RNA geni kısmi dizisi (AY224080) kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 22.0 yazılımı (PASW Inc., Chicago, IL, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak gerçekleştirildi. *Blastocystis* pozitifliği ile cinsiyet, yerleşim yeri ve klinik bulgular arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ki-kare testi uygulandı. Klinik bulguların değerlendirilmesinde, DM ile herhangi bir başka parazit görülen veya rotavirüs pozitifliği saptanan hastalar dahil edilmedi. Yaş ortalamaları Student's t-testi ile karşılaştırıldı. Tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ eşik değeri kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamında değerlendirilen 252 dışkı örneğinin 11 (%4.3)'ünde DM yöntemiyle *Blastocystis* pozitifliği saptanmış, PCR yöntemiyle ise 16 (%6.3)'ünde beklenen boyutta amplifikasyon gözlenmiştir. Ayrıca, bu örneklerden DM yöntemiyle bir hastada (%0.4) *Giardia intestinalis* ve üç hastada *Entamoeba histolytica/dispar* (%1.1) kistleri görülmüştür. Bu parazitlerden herhangi biriyle *Blastocystis* birlikteliği saptanmamıştır.

Blastocystis izolatlarına ait SSU rRNA gen sekansları "pubmlst.org/*Blastocystis*" veri tabanına girildiğinde, her bir sekansın tam uyum gösterdiği bir alel tespit edilmiştir. Buna göre, en sık saptanan ST örneği ST3 (%56.2) olup, bunu ST2 (%25) ve ST1 (%18.8) ST'si izlemiştir. ST'ler arasında, ST3'te iki farklı alel (34. ve 36.), ST2'de iki farklı alel (dokuzuncu ve 11.), ST1'de ise tek bir alel tipi (dördüncü) saptanmıştır. Farklı sekanslar GenBank veri tabanına yüklenmiş ve erişim numaraları (PQ463680-4) alınmıştır. Çalışmada elde edilen *Blastocystis* SSU rRNA kısmi sekansları kullanılarak izolatların genetik uzaklıkları belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. *Blastocystis* izolatları ile ST1-ST7 referans sekansları arasındaki genetik uzaklıklara dayanarak oluşturulan filogenetik ağaç.

Yapılan incelemelerle dışkıında *Blastocystis* saptanan ve saptanmayan olgular cinsiyet ve yerleşim yeri açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). Dışkı örneklerinin 137 (%54.3)'si 10 yaş ve altındaki çocuklardan alınmıştır. *Blastocystis* saptanan olguların yaş ortalaması 44.1 ± 22.6 olarak bulunmuş ve bu ortalamanın *Blastocystis* saptanmayan gruptakilerin yaş ortalamasına göre 14.6 ± 19.2 daha yüksek olduğu görülmüştür ($t = 5.868$; $p < 0.05$). Cinsiyet, yerleşim yeri ve yaş gruplarına göre *Blastocystis* pozitifliği dağılımı Tablo I'de gösterilmiştir.

Çalışma kapsamında değerlendirilen gastrointestinal bulgulardan herhangi biriyle *Blastocystis* pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkili bulunmamıştır (Tablo II). Farklı *Blastocystis* ST'lerindeki örnek sayılarının düşük olması nedeniyle, klinik yakınmalar ve ST'ler arasındaki istatistiksel ilişki değerlendirilememiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte gastroenterit yakınması olan hastalarda ST2 ve ST3 ST'lerine, genel muayene için gelenlerde ST1-3 ST'sine, karın ağrısı şikayeti olanlarda ST3 ST'sine ve bulantı-kusma şikayeti olanlarda ise yalnızca ST1 ST'sine rastlanmıştır. Çalışma kapsamında değerlendirilen 252 kişiden 172'sinde rotavirüs ve adenovirüs pozitifliği araştırılmıştır. Tüm örneklerde adenovirüs negatif bulunmuş, sadece 19 örnekte (%11) rotavirüs pozitifliği tespit edilmiştir. Rotavirüs pozitif ve negatif hastalarda *Blastocystis* görülme sıklığı ise sırasıyla %5.3 ve %5.9 olarak bulunmuş fakat iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Tablo I. *Blastocystis* Pozitifliği ile Cinsiyet, Yerleşim Yeri ve Yaş Gruplarının Değerlendirilmesi

<i>Blastocystis</i>	Pozitif		Negatif		Toplam	İstatistik	
	n	%	n	%		χ^2	p
Cinsiyet							
Erkek	9	6.8	122	93.1	131	0.724	>0.05
Kadın	7	5.8	114	94.2	121		
Yerleşim Yeri							
Şehir merkezi	11	6.7	152	93.3	163	0.332	>0.05
İlçe	3	4.8	59	95.2	62		
Köy	2	7.4	25	92.6	27		
Yaş Grubu							
0-5	1	0.8	120	99.2	121	27.266	<0.05*
6-10	0	0	26	100	26		
11-15	3	14.3	18	85.7	21		
16-20	0	0	13	100	13		
21-40	4	11.8	30	88.2	34		
41+	8	21.6	29	78.4	37		
Toplam	16	6.3	236	100	252		

*Gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmıştır.

Tablo II. Blastocystis ve Klinik Bulguların Değerlendirilmesi*

		<i>Blastocystis</i>		Toplam	İstatistik p
		Pozitif (%)	Negatif (%)		
Bulantı/Kusma	Var	1 (4)	24 (96)	25	>0.05
	Yok	14 (6.7)	194 (93.3)	208	
Gastroenterit	Var	3 (3.5)	82 (96.5)	85	>0.05
	Yok	12 (8.1)	136 (91.9)	148	
Karın ağrısı	Var	2 (8.3)	22 (91.7)	24	>0.05
	Yok	13 (6.2)	196 (93.9)	209	
Genel muayene	Var	6 (9.2)	59 (90.8)	65	>0.05
	Yok	9 (5.4)	159 (94.6)	168	
Diyabet**	Var	1 (14.3)	6 (85.7)	7	>0.05
	Yok	14 (6.2)	212 (93.8)	226	
Ateş**	Var	0 (0)	6	6	>0.05
	Yok	15 (6.6)	212 (93.4)	227	
Diğer***	Var	4 (13.3)	32 (86.7)	36	>0.05
	Yok	11 (5.6)	186 (94.4)	197	

*Rotavirüs veya paraziter etken saptananlar dahil edilmemiştir.

**Sayı düşük olduğu için istatistik yapılmamıştır.

***Diğer semptomlar (dermatit, gelişme geriliği, enflamatuvar bağırsak hastalığı, polinöropati, prurigo, pruritis, üst solunum yolu enfeksiyonu, vajinit, vitamin D eksikliği, yenidoğan sarılığı, yenidoğan sepsisi)

TARTIŞMA

Çalışmada, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına rutin parazit incelemesi amacıyla gönderilen 252 dışkı örneğinin %4.3'ünde DM yöntemiyle, %6.3'ünde ise PCR yöntemiyle *Blastocystis* pozitifliği saptanmıştır. Literatürde, Türkiye'nin çeşitli illerinde *Blastocystis* pozitifliğinin rapor edildiği birçok çalışma bulunmaktadır ancak bu çalışmalar genellikle DM yöntemine dayanan sonuçlarla sınırlıdır. Afyonkarahisar'da 2004 yılında ilkökul öğrencilerinde yapılan bir çalışmada *Blastocystis* görülme sıklığı %8.1 olarak bildirilmiştir⁹. *Blastocystis* tanısında PCR gibi moleküler amplifikasyon yöntemleri, genellikle araştırma ve genotip belirleme amacıyla kullanılmaktadır. Moleküler yöntemlerin kullanıldığı bu çalışmalar incelendiğinde, *Blastocystis* pozitifliği; Eskişehir'de çocuklarda %37.9, İzmir'de gastrointestinal semptomlu hastalarda %15.2, Aydın'da kanserli hastalarda %9.5, Ankara'da ise ülseratif kolit hastalarında %9 olarak bildirilmiştir¹⁰⁻¹³. Dışkı örneklerinde moleküler yöntemlerle pozitif olarak bulunan örnek sayısının genellikle DM ile tespit edilen sayılara göre daha yüksek olduğu ifade edilmiştir¹⁴. Maliyet ve uygulama kolaylığı nedeniyle en sık tercih edilen yöntem DM olmakla birlikte, dışkıdaki lökosit, mantar ve yağ partikülleri DM'de yalancı pozitifliklere de neden olabilmektedir^{1,6}. Çalışmada DM ile pozitif saptanan örneklerin tamamı PCR yöntemiyle de pozitif bulunmuştur. Moleküler yöntemlerin bir

diğer avantajı, *Blastocystis*'in morfolojisi bozulduğu durumlarda dahi DNA'sının tespit edilebilmesi ve sonuç alınabilmesidir¹⁰.

Araştırmada en sık *Blastocystis* ST3 (%56.2) ST'si saptanmış, bunu ST2 ve ST1 takip etmiştir. Dünya genelinde, ST1-4 ST'leri insan *Blastocystis* izolatlarının yaklaşık %90'ını oluşturmakta olup, birçok çalışmada en yaygın ST olarak ST3 rapor edilmiştir¹⁵⁻¹⁷. Türkiye'de, insan dışkı örneklerinin değerlendirildiği çalışmalarda *Blastocystis*'in ST1 ve ST7 arasındaki ST'leri bulunmuştur⁵. Ankara'da ishali ve kontrol hasta gruplarında ST1-3'e ek olarak ST4, ST6 ve ST7; Muğla'da öğrencilerde yapılan bir çalışmada ST7; İzmir'de semptomatik hastalarda ST6 ve ST7; İstanbul'da rutin laboratuvar örneklerinde ST4 ve ST5; Adana'da hemodiyaliz hastalarında ST6 ve İzmir'de kanser hastalarında ST4 ST'si rapor edilmiştir^{10,18-21}.

Yaygın görülen gastrointestinal semptomların değerlendirildiği bu çalışmada, *Blastocystis* pozitifliği ile klinik semptomlar arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. *Blastocystis*'in patojenitesi ve klinik önemi uzun süredir tartışılmakta olup, patogenezin *Blastocystis* izolatlarının genetik ve biyolojik özellikleri yanında konağa bağlı faktörler tarafından da şekillendirildiği düşünülmektedir²². *Blastocystis* pozitifliğinin dispepsi, karın ağrısı, kusma, ishal ve ürtiker gibi semptomlarla ilişkilendirildiği araştırmalar literatürde mevcuttur¹⁻⁶. Bununla birlikte, pediatrik yaş grubunda da çeşitli semptomlara yol açabildiği bildirilmiştir²³. Bu çalışmalardan farklı olarak Kore'de yapılan bir çalışmada ise ishali hastalarda *Blastocystis*'e daha düşük oranda rastlandığı bildirilmiştir²⁴. *Blastocystis*'in patogeneze veya kliniğini konu alan çalışmalarda genelde semptomatik hastalar ile kontrol grupları karşılaştırılmıştır²⁵. Ancak *Blastocystis* dışındaki olası patojenlerin dışlanması, sonuçların daha güvenilir olması açısından önemlidir. Bu nedenle, bu çalışmada da *E.histolytica/dispar*, *G.intestinalis* ve rotavirüs pozitif saptanan hastalar, klinik bulguların değerlendirilmesine dahil edilmemiştir. Gastrointestinal yakınması olan hastalarda yapılan bir diğer çalışmada ise *Blastocystis* varlığı ile adenovirüs, rotavirüs ve gizli kan pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir²⁶.

Çalışmada, *Blastocystis* pozitif olguların yaş ortalaması, negatif olanlara göre istatistiksel olarak daha yüksek saptanmış ancak cinsiyet ve yerleşim yerleri açısından anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Yapılan farklı araştırmalar, cinsiyetin *Blastocystis* sıklığıyla ilişkili olabileceğini öne sürerken, aksi yönde bulguların da bildirildiği görülmüştür^{10,27,28}. *Blastocystis* saptanan kişilerin yaş ortalamasının saptanmayanlara göre daha yüksek olması, *Blastocystis* ile karşılaşma ihtimalinin yaş ile birlikte arttığı ihtimalini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Peru'da yapılan bir araştırmada yaş ile *Blastocystis* pozitifliğinde bir artış eğilimi gözlemlendiği rapor edilmiştir²⁹. Bununla birlikte, kişisel hijyen alışkanlıklarının tam olarak gelişmemesine bağlı olarak, bağırsak parazitleri ile enfekte olma riskinin çocuklarda daha yüksek olduğu da bilinmektedir³⁰.

Bu araştırmanın önemli bir kısıtlılığı, Trikrom gibi kalıcı boyama yöntemlerinden birinin tanıda kullanılmamış olmasıdır. Özellikle küçük boyutları nedeniyle kist formları, DM ile tespit edilememektedir. Ayrıca, *Blastocystis*'in granüler ve ameboid formları dışkıdaki mikroorganizma veya hücrelerle karıştırılabilmektedir¹. *Blastocystis* prevalansını konu

alan çalışmalarda gerçek zamanlı PCR [real-time PCR (Rt-PCR)] yöntemi, yüksek duyarlılık göstermesi ve yalancı pozitiflikleri önlemesi açısından öne çıkmaktadır⁶. *Blastocystis* tanısında bu yöntemin kullanılmaması araştırmancının diğer bir kısıtlılığı olarak görülebilir. Özellikle epidemiyolojik çalışmalarda, kalıcı boyama ve Rt-PCR yöntemlerin kullanılması gerekli görülmektedir.

Sonuç olarak, araştırmada tespit edilen *Blastocystis* ST dağılımı, hem dünya hem de ülkemizdeki literatürle büyük ölçüde uyum göstermektedir. Saptanan klinik bulgular ile *Blastocystis* varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmaması, *Blastocystis*'in sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotasının göstergesi olabileceği fikrini destekleyen önemli bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Ayrıca, *Blastocystis* tanısında rutin incelemelerin yanında, PCR gibi ikinci bir yöntemin kullanılması, tanısal doğruluğu artırmak adına faydalı bir yaklaşım olarak görülmektedir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Afyonkarahisar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 05.05.2023 ve Karar No: 2023/5/254).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 2008; 21: 639-65. <https://doi.org/10.1128/CMR.00022-08>
2. Santin M, Figueiredo A, Molokin A, George NS, Köster PC, Dashti A, et al. Division of *Blastocystis* ST10 into three new subtypes: ST42-ST44. J Eukaryot Microbiol 2024; 71: e12998. <https://doi.org/10.1111/jeu.12998>
3. Popruk S, Adao DEV, Rivera WL. Epidemiology and subtype distribution of *Blastocystis* in humans: A review. Infect Genet Evol 2021; 95: 105085. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105085>
4. Stensvold CR, Clark CG. Pre-empting Pandora's Box: *Blastocystis* subtypes revisited. Trends Parasitol 2020; 36: 229-32. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.12.009>
5. Malatyalı E, Ertabaklar H, Ertuğ S. Subtype distribution of *Blastocystis* in Türkiye. Türkiye Parazitoloj Derg 2023; 47(3): 184-9. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2023.79188>
6. Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, Dionigia M, Texier C, Delbac F, et al. *Blastocystis*, an unrecognized parasite: An overview of pathogenesis and diagnosis. Ther Adv Infect Dis 2013; 1: 167-78. <https://doi.org/10.1177/2049936113504754>
7. Tsaousis AD, Gentekaki E, Stensvold CR. Advancing research on *Blastocystis* through a one health approach. Open Res Europe 2024; 4: 145. <https://doi.org/10.12688/openreseurope.18046.1>
8. Yoshikawa H, Iwamasa A. Human *Blastocystis* subtyping with subtype-specific primers developed from unique sequences of the SSU rRNA gene. Parasitol Int 2016; 65 (6 Pt B): 785-91. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.03.002>
9. Çiftçi IH, Çetinkaya Z, Demirdal T, Kırıyıld N, Demitürk N, Altındış M. Distribution of intestinal parasitosis in the Mimar Sinan and Atatürk primary schools in Bayat, Afyon, Turkey. Türkiye Parazitoloj Derg 2004; 28(4): 215-7.
10. Dağcı H, Kurt Ö, Demirel M, Mandıracıoğlu A, Aydemir S, Saz U, et al. Epidemiological and diagnostic features of *Blastocystis* infection in symptomatic patients in Izmir province, Turkey. Iran J Parasitol 2014; 9: 519-29.

11. Doğan N, Aydın M, Tüzemen NU, Dinleyici EC, Oğuz I, Doğruman AI F. Subtype distribution of *Blastocystis* spp. isolated from children in Eskisehir, Turkey. *Parasitol Int* 2017; 66: 948-51. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.10.008>
12. Yersal O, Malatyalı E, Ertabaklar H, Oktay E, Barutça S, Ertuğ S. *Blastocystis* subtypes in cancer patients: Analysis of possible risk factors and clinical characteristics. *Parasitol Int* 2016; 65(6 Pt B): 792-6. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.02.010>
13. Ünalın Altıntop T, Vahabov C, Ergünay K, Kurt O, Kav T, Akyön Y, et al. Investigation of *Dientamoeba fragilis* and *Blastocystis* in patients from Turkey with ulcerative colitis and irritable bowel syndrome: Any relation with genotypes? *Acta Trop* 2022; 231: 106451. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106451>
14. Sanchez A, Munoz M, Gomez N, Tabares J, Segura L, Salazar A, et al. Molecular epidemiology of *Giardia*, *Blastocystis* and *Cryptosporidium* among indigenous children from the Colombian Amazon Basin. *Front Microbiol* 2017; 8: 248. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00248>
15. Özyurt M, Kurt O, Molbak K, Nielsen HV, Haznedaroğlu T, Stensvold CR. Molecular epidemiology of *Blastocystis* infections in Turkey. *Parasitol Int* 2008; 57: 300-6. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2008.01.004>
16. Alfellani MA, Stensvold CR, Vidal Lapiedra A, Onuoha ES, Fagbenro Beyioku AF, Clark CG. Variable geographic distribution of *Blastocystis* subtypes and its potential implications. *Acta Trop* 2013; 126: 11-8. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.12.011>
17. Mattiucci S, Crisafi B, Gabrielli S, Paoletti M, Cancrini G. Molecular epidemiology and genetic diversity of *Blastocystis* infection in humans in Italy. *Epidemiol Infect* 2016; 144: 635-46. <https://doi.org/10.1017/S0950268815001697>
18. Gülhan B, Aydın M, Demirkazık M, Koltaş İS, Çıkman A, Türkmen K, et al. Subtype distribution and molecular characterization of *Blastocystis* from hemodialysis patients in Turkey. *J Infect Dev Ctries* 2020; 14: 1448-54. <https://doi.org/10.3855/jidc.12650>
19. Adıyaman Korkmaz G, Doğruman AI F, Mumcuoğlu I. Investigation of the presence of *Blastocystis* spp. in stool samples with microscopic, culture and molecular methods. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49(1): 85-97. <https://doi.org/10.5578/mb.8439>
20. Büyükbaba BÖ, Çelik Paycu DG, Akgül A, İşsever H. *Blastocystis* spp. saptanan 50 semptomatik hastada subtip dağılımın saptanması. *KOU Sag Bil Derg* 2017; 3: 6-10. <https://doi.org/10.30934/kusbed.359174>
21. Öncü Öner T, Karabey M, Can H, Değirmenci Döşkaya A, Karakavuk M, Gül A, et al. Molecular investigation of *Blastocystis* sp. and its subtypes in cancer patients under chemotherapy in Aegean region, Turkey. *Acta Trop* 2022; 233: 106577. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106577>
22. Andersen LO, Stensvold CR. *Blastocystis* in health and disease: Are we moving from a clinical to a public health perspective? *J Clin Microbiol* 2016; 54: 524-8. <https://doi.org/10.1128/JCM.02520-15>
23. Nithyamathi K, Chandramathi S, Kumar S. Predominance of *Blastocystis* sp. infection among school children in Peninsular Malaysia. *PLoS One* 2016; 11: e0136709. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136709>
24. Kim MJ, Won EJ, Kim SH, Shin JH, Chai JY. Molecular detection and subtyping of human *Blastocystis* and the clinical implications: Comparisons between diarrheal and non-diarrheal groups in Korean populations. *Korean J Parasitol* 2020; 58: 321. <https://doi.org/10.3347/kjp.2020.58.3.321>
25. Riabi TR, Mirjalali H, Haghighi A, Rostami NM, Pourhoseingholi MA, Poirier P, et al. Genetic diversity analysis of *Blastocystis* spp. subtypes from both symptomatic and asymptomatic subjects using a barcoding region from the 18S rRNA gene. *Infect Genet Evol* 2018; 61: 119-26. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.03.026>
26. Demirel F, Yıldız A, Börü HA. Investigation of adenovirus/rotavirus and occult blood positivity in stool samples with intestinal parasites. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2022; 52(3): 216-22. <https://doi.org/10.54453/TMCD.2022.74436>
27. Salehi M, Mardaneh J, Niazkar HR, Minooeianhaghighi M, Arshad E, Soleimani F, et al. Prevalence and subtype analysis of *Blastocystis* hominis isolated from patients in the Northeast of Iran. *J Parasitol Res* 2021; 2021: 8821885. <https://doi.org/10.1155/2021/8821885>
28. Khoshnood S, Rafiei A, Saki J, Alizadeh K. Prevalence and genotype characterization of *Blastocystis* hominis among the Baghmalek people in southwestern Iran in 2013 - 2014. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8: e23930. <https://doi.org/10.5812/jjm.23930>

29. Salazar Sanchez RS, Ascuna Durand K, Ballon Echegaray J, Vasquez Huerta V, Martinez Barrios E, Castillo Neyra R. Socio-demographic determinants associated with *Blastocystis* infection in Arequipa, Peru. Am J Trop Med Hyg 2020; 104: 700-7. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0631>
30. Gebru H, Deyissia N, Medhin G, Kloos H. The association of sanitation and hygiene practices with intestinal parasitic infections among under-14 children in rural Dire Dawa, eastern Ethiopia: A community based cross-sectional study. Environ Health Insights 2023; 17. <https://doi.org/10.1177/11786302231180801>



Bu eser CC BY-NC Atıf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.

Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.

©Telif Hakkı 2025 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.