

Dientamoeba fragilis Dost mu, Düşman mı? İstanbul'dan farklı Kohortlara Ait Hasta ve Sağlıklı Bireylerle Yürütülen Bir Çalışma

Is Dientamoeba fragilis a Friend or a Foe? A Study from Istanbul on Patients and Healthy Individuals from Different Cohorts

Özgür Kurt*, **®, Sinem Öktem Okullu*®, Nesteren Mansur Özen***®, Nihan Ünübol*®, Selma Cat****®
Şebnem Sürer Nurdağı**®, Işın Akyar*®, Tanıl Kocagöz*®

*Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

**Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, Mikrobiyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

***Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Medikal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

****Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Multidisipliner Laboratuvarları, İstanbul, Türkiye

Öz

Amaç: *Dientamoeba fragilis* kalın bağırsak lümeninde bulunan, gastrointestinal ve dermatolojik yakınmalara yol açtığı gösterilmiş bir bağırsak protozoonudur. Son yıllarda *D. fragilis*'in sağlıklı bireylerde de yüksek oranda bulunabildiği, normal bağırsak mikrobiyotasının bir üyesi olabileceği tartışılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, *D. fragilis*'in görülme sıklığını İstanbul'dan bir hasta ve sağlıklı kontrol grubu üzerinden karşılaştırmak, neden olduğu enfeksiyonun hasta grubundaki klinik etkilerini, hastalara ait özellikleri üzerinden irdelemektir.

Yöntem: Çalışmaya Acıbadem Sağlık Grubu hastanelerine 2016-2018 yılları arasında çeşitli gastrointestinal ve dermatolojik yakınmalarla başvurmuş, 184 hasta ile 156 sağlıklı kontrolün dışı örnekleri dâhil edilmiştir. Örneklerin mikrobiyolojik ve parazitolojik değerlendirmeleri sonrası DNA izolasyonu ve sonrasında özgün primerlerle *D. fragilis* için konvansiyonel polimeraz zincirleme tepkimesi testi yapılmıştır.

Bulgular: İncelenen 184 hastanın 15'inde (%8.2) ve 156 kontrolün 42'sinde (%26.9) *D. fragilis* saptanmış olup, gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). Çalışma grubundaki pozitif bireylerin 3'ünde ayrıca *Salmonella* spp., 1'inde ise Rotavirüs saptanmıştır. Çalışma grubundaki pozitif 15 kişiden 6'sının kadın olduğu ve yaş ortalamalarının diğer gruplardan yüksek olduğu ($n=24.3$) dikkati çekmiştir ($p=0.25$). Her iki grupta *D. fragilis* (+) bulunan toplam 57 bireyden 55'inin (%96.5) çocukluk yaş grubunda olduğu belirlenmiştir. Hasta grubunda en sık bildirilen yakınmalar ishal, iştahsızlık ve karın ağrısı olup, 15 hastadan 3'ünün kaşıntı ve ürtiker nedeniyle başvurduğu belirlenmiştir.

Sonuç: İstanbul'a ait bu ilk sonuçlar *D. fragilis*'in bazı olgular için patojen etkiler gösterebildiğini, ancak sağlıklı bireylerde daha yüksek oranda bulunabilen bir bağırsak protozoonu olduğunu destekler niteliktedir. Dünyanın farklı bölgelerinden benzer sonuçlar dikkate alındığında, ileri çalışmalarla *D. fragilis*'in hangi koşullarda sessiz (dost), hangi koşullarda patojen (düşman) olduğunun saptanması büyük önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: *Dientamoeba fragilis*, prevalans, İstanbul, PZT

ABSTRACT

Objective: *Dientamoeba fragilis* is an intestinal protozoan found in colonic lumen and it has been demonstrated that it can lead to various gastrointestinal and dermatological complaints. It has been discussed lately that *D. fragilis* can be found also in high prevalence among healthy individuals and could be a member of healthy gut microbiota. The aim of this study was to compare the prevalence of *D. fragilis* between patient and healthy-control groups from Istanbul, and to study clinical outcomes of the infection it causes on the patient group, and patient characteristics.

Method: Stool samples of 184 patients admitted to Acıbadem Health Group hospitals in Istanbul between 2016-2018, and 156 healthy controls were examined in the study. After microbiological and parasitological assessments of stool samples, DNA isolation was made followed by conventional PCR test using specific primers.

Results: *D. fragilis* was detected in 15 of 184 (8.2%) patients and 42 of 156 (26.9%) controls, and the intergroup difference was significant ($p<0.05$). In the study group *Salmonella* spp. was detected in 3, and Rotavirus in 1 of the *D. fragilis* positive individuals. Six out of 15 *D. fragilis* positive individuals in the study group were women and their average age ($n=24.3$) was higher than other groups ($p=0.25$). Fifty-five of 57 (96.5%) *D. fragilis* positive individuals were in the pediatric age group. The leading complaints were diarrhea, anorexia and abdominal pain, while 3 of the 15 patients reported itching and urticaria.

Conclusion: These preliminary results related to the metropolitan city of Istanbul tend to support the fact that *D. fragilis* may show pathogenic effects in some cases but it is more common among healthy individuals. Considering the similar results from different regions of the world, further studies are essential to unveil under which conditions *D. fragilis* is silent (friend) and acts as a pathogen (foe).

Keywords: *Dientamoeba fragilis*, prevalence, Istanbul, PCR

Alındığı tarih / Received:

17.02.2020 / 17. February.2020

Kabul tarihi / Accepted:

27.07.2020 / 27. July.2020

Yayın tarihi / Publication date:

31.12.2020 / 31. December.2020

ORCID Kayıtları

Ö. Kurt 0000-0001-5575-588X

S. Ö. Okullu 0000-0002-2255-0930

N. M. Özen 0000-0001-8861-7942

N. Ünübol 0000-0003-4644-112X

S. Cat 0000-0002-4772-735X

Ş. S. Nurdağı 0000-0002-1452-8901

I. Akyar 0000-0003-1115-0429

T. Kocagöz 0000-0001-7211-2026

✉ ozgur.kurt@acibadem.edu.tr

Atf: Kurt Ö, Öktem Okullu S, Özen NM, Ünübol N, Cat S, Sürer Nurdağı Ş, Akyar I, Kocagöz T. *Dientamoeba fragilis* dost mu, düşman mı? İstanbul'dan farklı kohortlara ait hasta ve sağlıklı bireylerle yürütülen bir çalışma. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(4):244-9.

© Telif hakkı Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır. Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atf-Gayri Ticari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

© Copyright Turkish Society of Microbiology. This journal published by Logos Medical Publishing. Licensed by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY)

GİRİŞ

Tarihte ilk olarak 1918'de Jepps and Dobell tarafından tanımlanan *Dientamoeba fragilis*, kamçılı protozoonlardan olup, uzun yıllar kalın bağırsak lümeninde patojen etkiler oluşturmadan yaşadığı düşünülen bir mikroorganizma olarak tanımlanmıştır⁽¹⁻⁵⁾. 1980'li yıllardan sonra gerek laboratuvar testlerindeki gelişmeler gerekse dünyanın farklı bölgelerinden bildirilen klinik olgularda *D. fragilis*'in etken olarak tanımlanmaya başlanması sonrası, *D. fragilis*'in ihmal edilen bir patojen olabileceği tartışılmaya başlanmıştır^(1,4,6-12). *D. fragilis*'in neden olduğu enfeksiyon, klinikte çoğunlukla erişkin hastalarda sessiz bir profil gösterirken, çoğunluğu çocuk yaş grubundan birçok bireyde ise bağırsak hareketlerinde değişiklikler, karın ağrısı, bulantı-kusma, iştahsızlık ve ishal gibi klinik tablolara yol açabilir⁽¹⁰⁻¹²⁾. *D. fragilis*'in genelde diğer bağırsak protozoonlarıyla ilişkili olduğu, bağırsakta sıklıkla *Blastocystis* yanında *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* gibi apatojen protozoonlarla beraber bulunduğu bildirilmektedir^(1,4,7,10). Uzun yıllar yalnızca trofozoit formu olduğu düşünülen *D. fragilis*'in yeni birkaç çalışmada kist formu da gösterilmiş, insanlara fekal-oral yolun yanı sıra bir helmint olan *Enterobius vermicularis* ile de bulaşabildiği bildirilmiştir^(1,2,9).

Dünyanın farklı bölgelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, *D. fragilis* prevalansının tanı için kullanılan yöntemlere göre büyük değişiklikler gösterdiği, bu nedenle de %0.2 ila %82 arasında olduğu görülmektedir⁽¹⁾. Olgular sıklıkla ana okulu, akıl hastanesi gibi insanların bir arada yaşadığı ve hijyen koşulları kötü olabilen yerlerde saptanmakta, bağırsıklık sistemi zayıf bireyler de riskli grupta sayılmaktadır^(1,6,9). *D. fragilis*'in dışkı örneklerinde saptanmasında, salin-Lugol ya da konsantrasyon yöntemi yetersiz olduğundan uzun yıllar trikrom gibi kalıcı boyalarla hazırlanan yaymaların mikroskopik incelemesi ya da kültür yöntemi kullanılmaktaydı^(2,12-14). Bu dönemde yapılan bir klinik çalışmada, 400 hastanın taze dışkı örneklerinden hazırlanan trikrom boyalı yaymaların mikroskopik incelemesiyle 35 (%8.8) hastada *D. fragilis* trofozoitlerine rastlandığı

bildirilmiştir⁽³⁾. İki binli yılların başında mikrobiyolojik tanıda kullanımı yaygınlaşan, duyarlılığı ve özgünlüğü yüksek olduğundan özellikle rutin tanı için tercih edilen polimeraz zincirleme tepkimesi (PZT) yöntemi *D. fragilis* için de özgün olarak kullanılmaya başlanmıştır^(2,13). Bu amaçla, *D. fragilis*'e ait küçük alt birim ribozomal ribonükleik asit (SSU-rRNA) gen bölgesine, "internal transcribed spacer" (ITS) bölgesine ya da 5.8 rRNA bölgesine karşı geliştirilmiş primerler ile özgün PZT protokolleri oluşturularak, önce kültürde üretilmiş *D. fragilis* trofozoitleriyle, daha sonraları doğrudan dışkıdan PZT ile *D. fragilis*'in varlığı araştırılmaya başlanmıştır^(2,13). Bu şekilde Danimarka ve Hollanda'da yapılan iki epidemiyolojik bir çalışmada, *D. fragilis*'in prevalansının sırasıyla %43 ve %22 düzeylerinde bulunduğu belirlenmiş, Danimarka'daki prevalansın çocuklarda %70'lere ulaştığı bildirilmiştir⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. *D. fragilis*'in özellikle hasta ya da sağlıklı çocukların dışkı örnekleriyle yapılan incelemelerde yüksek oranlarda bulunması, aynı dönemlerde ilgi görmeye başlayan bağırsak mikrobiyotasıyla ilgili araştırmalara paralel olarak bu protozoonun insan bağırsak mikrobiyotasının doğal bir üyesi olup olmadığı sorusunu gündeme getirmiştir⁽¹⁹⁾. Bağırsaklarda PZT uygulanmadan da yoğun olarak bulunduğu bilinen *Blastocystis* ile birlikte, *D. fragilis*'in insan sağlığı için yararlı mı zararlı mı olduğu araştırmacıların güncel ilgi alanlarındandır.

Bu çalışmanın amacı, İstanbul şehir merkezindeki bir laboratuvara gönderilen hastalara ait dışkı örnekleri ve bu hastalar ile yaş ve cinsiyet uyumu içindeki sağlıklı gönüllülerin bağışladığı dışkı örneklerinde, laboratuvarımızda geliştirdiğimiz 18S-rRNA bölgesine özgü primerler kullanılarak *D. fragilis* prevalansının konvansiyonel PZT yöntemiyle araştırılması ve sonuçların bireylere ait özellikler üzerinden karşılaştırmalı olarak irdelenmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

İstanbul'da yer alan Acıbadem Sağlık Grubu'na bağlı hastanelere çeşitli yakınmalar ile başvuran ve tanı amacıyla dışkı örnekleri aynı hastanelerin klinik labo-

ratuvarları üzerinden Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları Mikrobiyoloji Bölümü'ne sevk edilen 184 hastanın [91 erkek (%49.4), 93 kadın (%50.6)] dışkı örneği ile çalışmadaki hastalarla yaş ve cinsiyet uyumu bulunan 156 sağlıklı gönüllüden [75 erkek (%48.1), 81 kadın (%51.9)] toplanan dışkı örneği çalışmada kullanılmıştır. Dışkı örnekleri DNA izolasyonu öncesi -20°C'de saklanmış, çalışma günü çözümleri sonrası dışkıdan DNA izolasyonu yapan bir kit (QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Almanya)) kullanılarak, üretici firmanın önerildiği protokole göre DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıbbi Araştırma Etik Kurulu'nca incelenip onaylanmıştır (Karar No: 2016-3/34).

Primer Dizaynı ve Polimeraz Zincirleme Tepkimesi
Dientamoeba fragilis'in GenBank verileri kullanılarak, 18S ribosomal RNA gen bölgesine (JQ677149.1) uygun özgün primerler tasarlayabilmek amacıyla NCBI Primer - BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) programı kullanılmıştır (Tablo 1).

Polimeraz Zincir Reaksiyonunun İçeriği

Dientamoeba fragilis için PZT optimizasyon çalışmaları pozitif kontrol örneği kullanılarak yapılmış ve PZT içeriği ve optimize edilen protokolün koşulları sırasıyla Tablo 2 ve 3'te gösterilmiştir.

SYBR Gold ile eklenen PZT ürünleri %1.5'lük agaroz jelde 120V'da 400 mA'de 40-45 dk. yürütümü ve Bio-Rad Chemidoc MP (ABD) jel görüntüleme cihazında görüntülenmiştir.

İstatistiksel Analiz: Sonuçların istatistiksel açıdan karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanılmış ve iki grup arasındaki farkın %5'ten küçük olması ($p<0.05$) anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışma grubundaki (ÇG) 184 kişinin 91'i erkek (%49.4), 93'ü kadın (%50.6) iken, sağlıklı gönüllülerden oluşan Kontrol Grubu'ndaki (KG) 156 kişinin 75'i erkek (%48.1), 81'i (%51.9) kadındı. Uygulanan konvansiyonel PZT sonucunda *D. fragilis*'e ÇG'de %8.2 (15/184), KG'de ise %26.9 (42/156) oranında rastlanmıştır ki iki grup arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). ÇG'deki 15 *D. fragilis*-pozitif kişiden 9'unun (%60), kontrol grubundaki 42 *D. fragilis*-pozitif kişinin ise 22'sinin (%52.4) erkek olduğu belirlenirken, ÇG'da *D. fragilis* saptanan kadınların yaş ortalamalarının erkeklerden ve KG'deki tüm bireylerden yüksek olduğu dikkat çekmiştir. Yaş ortalamaları bakımından *D. fragilis*-pozitif bireylerin genellikle çocuk ya da genç oldukları belirlenmiştir (Şekil 1).

Tablo 1. *Dientamoeba fragilis* 18S rRNA bölgesine özgü primer dizileri.

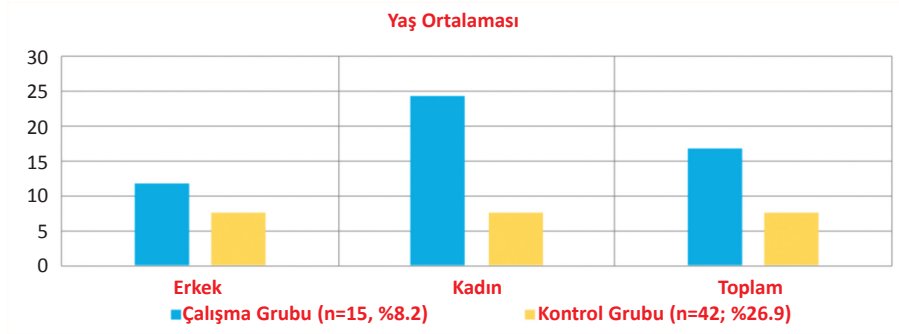
Çoğaltılan DNA Bölgesi	Primer	Sekans (5' 3')	Ürün Boyutu (baz çifti)	Referans
18S rRNA	İleri Geri	GAGACTATCGGAGGTGGTAATG CGCTGTTCCGCATGAAATAG	385	Bu çalışma için özel geliştirilmiştir.

Tablo 2. PZT için hazırlanan içerik.

İçerik	Miktar
10X Tampon Çözeltisi	2.5 µl
16 mM MgCl ₂	2.5 µl
0.5 mM dNTP	2.5 µl
10 pmol ileri yönde primer	1 µl
10 pmol geri yönde primer	1 µl
5 u/µl Taq DNA polimeraz	1 µl
Genomik DNA	4 µl

Tablo 3. Uygulanan PZT koşulları.

Sıcaklık	Süre	Döngü
95°C	3 dk	40
95°C	30 sn	
57°C	30 sn	
72°C	1 dk	
72°C	3 dk	
		-



Şekil 1. Çalışmada *Dientamoeba fragilis* yönünden pozitif bulunan bireylerin yaş ortalamaları.

Tablo 4. Çalışma grubunda yer alan *Dientamoeba fragilis*-pozitif 15 hastanın başvuru sırasındaki yakınmaları.

Yakınmalar	n	%
İshal	11	73.3
İştahsızlık	10	66.7
Karın ağrısı	9	60.0
Karında gaz ve şişkinlik	6	40.0
Bulantı ve/veya kusma	5	33.3
Kabızlık	4	26.7
Kaşınıtı ve/veya deri döküntüsü	3	20.0
Yüksek ateş	1	0.7

Çalışma grubunda *D. fragilis* saptanmış bireylerin hastaneye başvurma yakınmaları incelendiğinde, yarısından fazlasında ishal, iştahsızlık ve karın ağrısı bulunduğu, üçünün ise dermatolojik yakınmalarla hekime başvurduğu belirlenmiştir (Tablo 4). ÇG'deki üç hastanın rutin testlerinde *Salmonella* sp. ve birinde Rotavirüs bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, dışkıının salin-Lugol ve konsantrasyon yöntemi (Feconomics®) ile yapılan rutin incelemelerinde hiçbir hastada başka herhangi bir protozoon ya da helminte rastlanılmadığı belirtilmiştir.

TARTIŞMA

İlk kez tanımlanıp bilim dünyasına sunulmasının üzerinden 100 yılı aşkın bir zaman geçen *D. fragilis*'in insanlarda patojen etkiler gösterip klinik olgulara yol açtığı ile ilgili tartışmalar 1980'li yıllarda başlamıştır^(1,2,6-10). Dünyanın farklı bölgelerinde yapılan ve dışkı yaymalarının trikrom gibi kalıcı boyalarla boyanıp incelendiği ya da kültür sonrası değerlendirildiği

rildiği klinik çalışmalar sonrası *D. fragilis*'in insanlarda çeşitli gastrointestinal ve daha az sıklıkta dermatolojik yakınmalara yol açabilen patojen bir etken olduğu bildirilmeye başlanmıştır^(1,6,8-12). PZT yönteminin araştırma ve rutin mikrobiyolojik tanı için kullanıma girdiği 2000'lerle birlikte ise *D. fragilis*'in, insanlarda bilinenden çok daha yüksek oranlarda bulunduğu, klinik tabloya yol açsın ya da açmasın, örneğin, her üç çocuktan ikisinde bulunabildiği gösterilmiştir⁽¹⁵⁻¹⁸⁾. Bir yandan *D. fragilis* saptanan bireylerde herhangi bir klinik tablo oluşmadığını bildiren çalışmalar yayınlanırken⁽¹⁹⁾, eski ve yeni birçok çalışmada ise *D. fragilis*'in in vivo koşullarda patojen etkiler gösterebildiği, klinik tablolara yol açabildiği, hastaların uygun antimikrobiyallerle tedavisi sonrasında klinik tablolarda düzelme görülebildiği bildirilmektedir^(11,12,21,22).

Son yıllarda yoğun ilgi gören araştırma yöntemlerinden Yeni Nesil DNA Dizileme Analizi ile yapılan insan bağırsak mikrobiyotasına yönelik çalışmalar, bağırsakta sık bulunan iki ökaryot olan *Blastocystis* ile birlikte *D. fragilis*'in de bağırsak mikrobiyotasındaki rolleri konusunda yeni görüşler ortaya atılmasına yol açmıştır. Çoğunlukla *Blastocystis*'i saptamak için yürütülen çalışmalar, patojenitesi halen tartışmalı bir bağırsak protozoonu olan *Blastocystis*'in, hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre daha düşük oranlarda bulunduğunu, *Blastocystis* saptanan bireylerin bağırsak mikrobiyotalarında, sağlıklı kişilerdeki gibi yüksek mikrobiyal çeşitlilik olduğunu ve çeşitlilik azaldıkça *Blastocystis*'in de zamanla kaybolduğunu

göstermektedir⁽²³⁻²⁶⁾. Bu durumu açıklamak amacıyla ileri sürülen bir varsayıma göre, vücut büyüklüğü ve genom hacmi bakımından bağırsaktaki bakterilerin onlarca kat üstünde olan protozoonlar, bakteriler arası savaşı azaltarak bağırsak mikrobiyotasındaki çeşitliliği artırmakta protozoonlar olmadığında ise ortama egemen olan bakteri türü diğer türleri engellediği için mikrobiyal çeşitlilik azalmaktadır⁽²⁷⁾. Ülseratif kolit hastası bireylerde yapılan bir izlem çalışmasında, *Blastocystis* ile birlikte *D. fragilis*'in hastalığın aktif dönemlerinde kaybolduğu, iyileşme dönemlerinde dışkıda saptandığı gösterilmektedir⁽²⁸⁾.

Çalışmamızın sonuçları *D. fragilis*'in herhangi bir yakınması olmayan sağlıklı bireylerde çok daha yüksek oranda bulunduğunu göstermektedir. Bu bulgular, yakın tarihli Avrupa'dan iki çalışmanın^(17,29) bulgularıyla aynı yönde olup *D. fragilis*'in tanı için uygulanan rutin moleküler testlere dâhil olabilecek patojen bir protozoon olarak değerlendirilmemesi gerektiğini işaret etmektedir. Birçok çalışmada, *D. fragilis*'in çocukluk çağında yaygın olduğu, ileri yaşlarda görülme sıklığının azaldığı bildirilmiştir^(15,17,29). Çalışmamızın bulguları da bu yönde olup *D. fragilis*-pozitif olduğu saptanan her iki gruptaki toplam 57 kişinin 55'inin (%96.5) çocukluk yaş grubunda olduğu saptanmıştır.

Dientamoeba fragilis'in insanlarda patojen etkiler gösterip çeşitli klinik semptomlara yol açtığını gösteren çalışmalar çok sayıda çalışma mevcuttur^(7,10,11,21,30). Bu çalışmaların tamamında hastaların başlıca yakınmaları gastrointestinal sisteme ait olup, ishal, karın ağrısı, iştahsızlık, gaz ve şişkinlik en sık bildirilen yakınmalardır^(1,7,8,11). Çalışmamızda, hastaların başlıca yakınmaları ishal, iştahsızlık, karın ağrısı ve şişkinlik olarak belirlenmiş olup, diğer çalışmalarla uyumludur. Bunun yanında, 3 olgunun (%20) yalnızca dermatolojik yakınmalarla başvurması dikkat çekicidir; *D. fragilis*'in klinik tablo oluşturduğu bazı olgularda yalnızca (kaşıntı, döküntü, ürtiker gibi) dermatolojik yakınmalara yol açtığı önceden de bildirilmiştir^(1,11,30). Bu tarz yakınmaları olan hastalarda dışkının parazitolojik incelemesi de önerilmelidir.

Dientamoeba fragilis'in birçok protozonda bulunduğu gösterilmiş sistemin proteazlar gibi patojen etkiler yaratan enzimlere sahip olup olmadığı henüz bilinmediğinden hangi koşullarda patojen etkiler gösterebildiği, kalprotektin düzeylerinde nasıl artış sağlayabildiği önemli araştırma konularındandır. Öte yandan, sağlıklı bireylerde sık bulunuyor olması *D. fragilis*'in sağlıklı bağırsak florasının doğal üyelerinden olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmanın İstanbul'dan bildirilen ilk çalışma olması ve laboratuvarımızda özgün tasarlanmış primerler ile yapılması önemli sayılabilir. Yeni çalışmalarla *D. fragilis*'in patojen etkilerinin olduğu koşulların ortaya çıkarılmasına katkıda bulunulması, bu amaçla hastaların saklanan DNA örnekleriyle yeni nesil sekans analizi yapılması ve sonucun disbiyoz yönünden değerlendirilmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. Emerging from obscurity: Biological, clinical and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. Clin Microbiol Rev. 2004;17(3):553-70. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.3.553-570.2004>
2. Garcia LS. *Dientamoeba fragilis*, one of the neglected intestinal protozoa. J Clin Microbiol. 2016;54(9):2243-50. <https://doi.org/10.1128/JCM.00400-16>
3. Garcia LS, Bruckner DA. Intestinal Protozoa: Flagellates and Ciliates. In: "Diagnostic Medical Parasitology". American Society for Microbiology, Washington DC 2. Baskı, 1993:31-48.
4. Clark CG, Diamond LS. Methods for the cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. Clin Microbiol Rev. 2002;15(3):329-41. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.3.329-341.2002>
5. Camp RR, Mattern CF, Honigberg BM. Study of *Dientamoeba fragilis* Jepps&Dobell. I. Electronmicroscopic observations of the binucleate stages. II. Taxonomic position and revision of the genus. J Protozool. 1974;21(1):69-82. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1974.tb03619.x>
6. Ockert G. Symptomatology, pathology, epidemiology, and diagnosis of *Dientamoeba fragilis*. In: Honinberg BM (eds) Trichomonads parasitic in humans. Springer Publications. New York, 1990:394- 410.
7. Girginkardeşler N, Coşkun Ş, Balcıoğlu İC, Ertan P, Ok ÜZ. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. Clin Microbiol Infect. 2003;9(2):110-3.

- <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2003.00504.x>
8. Cuffari C, Oligny L, Seidman EG. *Dientamoeba fragilis* masquerading as allergic colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1998; 26(1):16-20.
<https://doi.org/10.1097/00005176-199801000-00003>
 9. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Detection of *Dientamoeba fragilis* in fresh stool specimens using PCR. *Int J Parasitol*. 2005;35(1):57-62.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.09.003>
 10. Preiss U, Ockert G, Broemme S, Otto A. On the clinical importance of *Dientamoeba fragilis* infections in childhood. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1991;35(1):27-34.
 11. Kurt O, Ok ÜZ. *Dientamoeba fragilis* ile enfekte hastaların genel özellikleri: Manisa ilinden yüz hastalık kohortun inceleme sonuçları. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2012;18:A145-9.
<https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.6080>
 12. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. A review of the clinical presentation of dientamoebiasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;82(4): 614-9.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0478>
 13. Yang J, Scholten TH. *Dientamoeba fragilis*: a review with notes on its epidemiology, pathogenicity, mode of transmission, and diagnosis. *Am J Trop Med Hyg* 1977;26(1):16-22.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1977.26.16>
 14. Windsor JJ, Rafay AM, Srenoy AK, Johnson EH. The incidence of *Dientamoeba fragilis* in faecal samples submitted for routine microbiological analysis. *Br J Biomed Sci*. 1998;55(3):172-5.
 15. Röser D, Simonsen J, Nielsen HV, Stensvold CR, Mølbak K. *Dientamoeba fragilis* in Denmark: epidemiological experience derived from four years of routine real-time PCR. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32(10):1303-10.
<https://doi.org/10.1007/s10096-013-1880-2>
 16. Enserink R, Scholts R, Bruijning-Verhagen P, et al. High detection rates of enteropathogens in asymptomatic children attending day care. *PLoS One*. 2014;24;9(2):e89496.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089496>
 17. Jokelainen P, Hebbelstrup Jensen B, et al. *Dientamoeba fragilis*, a commensal in children in Danish day care centers. *J Clin Microbiol*. 2017;55(6):1707-13.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00037-17>
 18. Pietilä JP, Meri T, Siikamäki H, et al. *Dientamoeba fragilis* - the most common intestinal protozoan in the Helsinki Metropolitan Area, Finland, 2007 to 2017. *Euro Surveill*. 2019;24(29):1800546.
<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.29.1800546>
 19. Chabé M, Lokmer A, Ségurel L. Gut protozoa: Friends or foes of the human gut microbiota: *Trends Parasitol*. 2017;33(12):925-34.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.08.005>
 20. Brands MR, Van de Vijver E, Haisma SM, et al. No association between abdominal pain and *Dientamoeba* in Dutch and Belgian children. *Arch Dis Child*. 2019;104(7):686-9.
<https://doi.org/10.1136/archdischild-2018-316383>
 21. Aykur M, Armagan G, Vardar R, Dagci H. Fecal calprotectin as a factor that supports the pathogenicity of *Dientamoeba fragilis*. *Microb Pathog*. 2019;139: 103868.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103868>
 22. El-Gayar EK, Mokhtar AB, Hassan WA. Study of the pathogenic potential of *Dientamoeba fragilis* in experimentally infected mice. *Parasite Epidemiol Control*. 2016;1(2):136-43.
<https://doi.org/10.1016/j.parepi.2016.05.002>
 23. Stensvold CR, van der Giezen M. Associations between gut microbiota and common luminal intestinal parasites. *Trends Parasitol*. 2018;34(5):369-77.
<https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.02.004>
 24. Nagel R, Traub RJ, Allcock RJ, Kwan MM, Bielefeldt-Ohmann H. Comparison of faecal microbiota in *Blastocystis*-positive and *Blastocystis*-negative irritable bowel syndrome patients. *Microbiome*. 2016;4(1):47.
<https://doi.org/10.1186/s40168-016-0191-0>
 25. Berrilli F, Di Cave D, Cavallero S, D'Amelio S. Interactions between parasites and microbial communities in the human gut. *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2:141.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00141>
 26. Nourrisson C, Scanzi J, Pereira B, et al. *Blastocystis* is associated with decrease of fecal microbiota protective bacteria: comparative analysis between patients with irritable bowel syndrome and control subjects. *PLoS One*. 2014;9(11):e111868.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111868>
 27. Laforest-Lapointe I, Arrieta MC. Microbial eukaryotes: a missing link in gut microbiome studies. *mSystems*. 2018;3(2):e00201-17.
<https://doi.org/10.1128/mSystems.00201-17>
 28. Petersen AM, Stensvold CR, Mirsepasi H, et al. Active ulcerative colitis associated with low prevalence of *Blastocystis* and *Dientamoeba fragilis* infection. *Scand J Gastroenterol*. 2013;48(5):638-9.
<https://doi.org/10.3109/00365521.2013.780094>
 29. de Boer MD, Schuurs TA, Vermeer M, et al. Distribution and relevance of *Dientamoeba fragilis* and *Blastocystis* species in gastroenteritis: results from a case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(1):197-203.
<https://doi.org/10.1007/s10096-019-03710-z>
 30. Vezir S, Kaya F, Vezir E, Karaosmanoğlu N, Adiloğlu AK. Evaluation of intestinal parasites in patients with chronic spontaneous urticaria in a territory hospital in Turkey. *J Infect Dev Ctries*. 2019;31;13(10):927-32.
<https://doi.org/10.3855/jidc.11552>