

## **Blastocystis Türlerinin Tanısında Yeni Bir Yaklaşım: Direk Floresan Antikor Yöntemi**

Songül TÜRK \* Funda DOĞRUMAN AL \*\*  Semra KUŞTİMUR \*\*

\* Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-06500 Ankara - TÜRKİYE

\*\* Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TR-06500 Ankara - TÜRKİYE

**Makale Kodu (Article Code): KVFD-2012-6100**

### **Özet**

*Blastocystis* dünyada yaygın olarak görülen bağırsak protozoonudur. Çalışmamızda 105 hastaya (erkek/kadın:55/50) ait dışkı örneği nativ-lugol, trikrom, Ringer solüsyonunda kültür ve Direkt Floresan Antikor (DFA, Antibodies Inc., USA) yöntemleri kullanılarak *Blastocystis hominis* pozitifliği incelenmiş ve bu yöntemler karşılaştırılmıştır. İncelenen örneklerde kültür yöntemi ile *Blastocystis* protozoonu sıklığı %28.6, bu oran, trikrom boyama yönteminde %15.2, nativ-lugol incelemede %10.5, DFA yönteminde ise %24.8 olarak tespit edilmiştir. Çocuk yaş grubundaki 39 dışkı örneğinin %10.25'inde, erişkin gruptaki 66 örneğin ise %39.4'ünde kültür ile pozitiflik belirlenmiştir. İki yaş grubu arasında *Blastocystis* varlığı açısından istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Kültür yöntemi referans alındığında DFA yöntemi ile korelasyon çok güçlü düzeyde ( $r=0.858$ ,  $P<0.001$ ) saptanırken, trikrom boyama ( $r=0.409$ ,  $P<0.001$ ) ve nativ-lugol ( $r=0.403$ ,  $P<0.01$ ) yöntemleriyle orta düzeyde bir korelasyon belirlenmiştir. DFA yönteminin kültür yöntemine göre duyarlılığı %83.3 özgüllüğü ise %93.7 olarak, trikrom boyama ve nativ-lugol yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri ise (sırasıyla %43.3, %78.7 ve %30, %77.6) daha düşük olarak tespit edilmiştir. DFA yönteminin preparat incelemesinin kısa sürede sonuçlandığı, az sayıda protozoon içeren örneklerin incelenmesinde ve de gerek morfolojisi gerekse boyutları nedeniyle protozoonun tanınmasında güçlük yaşanan durumlarda tanı kolaylığı sağlaması açısından yararlı bir yöntem olduğu düşüncesine varılmıştır. Hızlı ve pratik bir yöntem olan DFA yönteminin, uzun sürede sonuçlanan kültür yöntemine alternatif bir tanı yöntemi olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar sözcükler:** *Blastocystis*, Tanı, Epidemiyoloji

## **A New Approach to the Diagnosis of Species of *Blastocystis*: Direct Fluorescent Antibody Method**

### **Summary**

*Blastocystis* is a widely detected intestinal protozoon throughout the world. In our study, stool samples of 105 patients (male/female:55/50) were examined for the *Blastocystis hominis* positivity using native-lugol examination, trichrome staining, culture in the Ringer's solution and Direct Florescent Antibody (DFA, Antibodies Inc., USA) methods and these methods were compared. *Blastocystis* protozoon frequency was 28.6% in culture, which was 15.2% for the trichrome staining method, 10.5% for native-lugol examination, and 24.8% for DFA method. 10.25% of 39 stool samples of the children and 39.4% of 66 samples of the adults were culture positive. There was statistically significant difference in the presence of *Blastocystis* between two age groups ( $P<0.001$ ). Culture taken as reference, the correlation was strong in the DFA method ( $r=0.858$ ,  $P<0.001$ ), intermediate in the trichrome staining ( $r=0.409$ ,  $P<0.001$ ) and native-lugol ( $r=0.403$ ,  $P<0.01$ ). The DFA sensitivity compared to culture was 83.3% and the specificity 93.7%, and the sensitivity and the specificity of the trichrome staining and Native-lugol methods were lower (43.3-78.7% and 30-77.6%, respectively). The conclusion drawn here is that DFA examination requires shorter time and it is useful in lower protozoon density and where the morphology and the dimensions of the protozoon make the diagnosis harder. DFA method, which is fast and practical, is considered as an alternative diagnosis method to culture method which requires longer time.

**Keywords:** *Blastocystis*, Diagnosis, Epidemiology



**İletişim (Correspondence)**



+90 312 2024625



alfunda@yahoo.com

## GİRİŞ

*Blastocystis* enterik protistan bir parazit olup, patojenitesi tam olarak aydınlatılamamıştır. Genom yapısının yüksek değişkenlik göstermesi nedeniyle günümüzde çoğu zoonotik kaynaklı olan ribozomal RNA'nın küçük alt birimine (SSUrRNA) dayanarak 13 alttür tanımlanmış durumdadır <sup>1,2</sup>. *Blastocystis* türlerinin insanda yaptığı enfeksiyonlara blastosistozis denilir ve spesifik olmayan intestinal belirtilerden ürtikere kadar değişen klinik tablolara neden olmaktadır. Blastosistozis en sık ishal ve karın ağrısı semptomlarına neden olduğu görülmektedir <sup>3</sup>. Semptomların parazit sayısı ile ilişkili olduğunu belirten çalışmaların yanında son yıllarda farklı görüşlerin bildirildiği çalışmalar da mevcuttur <sup>4,6</sup>. Semptomların alt türlerle ilişkisi ise araştırmacıların ilgisini çekmeye devam etmektedir. Bu konuda elde edilen farklı veriler bulunmakla birlikte, insanlardan en sık alttür 3 izole edilmekte ve alttür 1, 4 ve 7'nin patojenite ve semptomlarla ilişkisinin olduğunu belirten alttür 2'nin ise asemptomatik enfeksiyonla birlikteliğine dikkat çeken çalışmalar mevcuttur <sup>7-9</sup>. Hastanın semptomlarını açıklayacak bakteriyel, viral ve diğer parazitler etkenlerin yokluğunda *Blastocystis* saptanması halinde tedavi verilmesi önerilmektedir <sup>10</sup>.

Blastosistozis tanısında kullanılan nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemlerinin duyarlılığı yapılan çalışmalarda kültür yöntemine göre düşük olarak saptanmıştır <sup>11-13</sup>. Aynı zamanda mikroskopik incelemenin PCR yöntemine göre de duyarlılığının düşük olduğu bildirilmiştir. Mikroskopik incelemede parazitin farklı boyutlarda ve morfolojide olmasının yanında, lökosit ve mayalarla karıştırılabileceği belirtilmektedir. Kültür yönteminin duyarlılığının yüksek olmasının yanında zahmetli ve en az üç-dört gün alması nedeniyle daha pratik ve kısa süreli kültür yöntemlerinin geliştirilmesi amaçlanmaktadır <sup>14</sup>. Bununla birlikte pratik uygulanabilen ve değerlendirmesi kolay olan Direk Floresan Antikor (DFA) yönteminin duyarlılığı, deneyim gerektiren nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemlerine göre daha yüksek tespit edilmiş ve DFA yönteminin kültür yöntemiyle uyumu yüksek bulunmuştur <sup>12</sup>. Aynı zamanda blastosistozis tedavisi için kabul gören geleneksel görüş olan diğer parazitler, bakteriyel ve viral etkenlerin yokluğunda 40x objektifle her alanda beş ve daha fazla parazit görülme kriteri, semptomlarla parazit yoğunluğunun araştırıldığı çalışmalar sonucunda semptomatoloji ile parazit sayısının ilişkisinin olmadığını belirlemesi nedeniyle belki de yakın gelecekte terk edilecektir <sup>5,6</sup>. Parazitin var yok analizi ile tedavi başlamanın söz konusu olacağı gelecek dönemler için tanıda parazit antijenlerinin belirleneceği yüksek işlem hacimli ELISA testlerinin yanında parazitlerin tüm alt türlerinin tek basamakta belirlenebildiği standardize edilmiş PCR yöntemlerinin geliştirilmesine de ihtiyaç duyulacaktır.

Çalışmamızda 105 hastaya ait dışkı örneği nativ-lugol, trikrom, ringer solüsyonunda kültür ve DFA yöntemleri kullanılarak *Blastocystis* varlığı açısından incelenmiş ve yöntemler karşılaştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

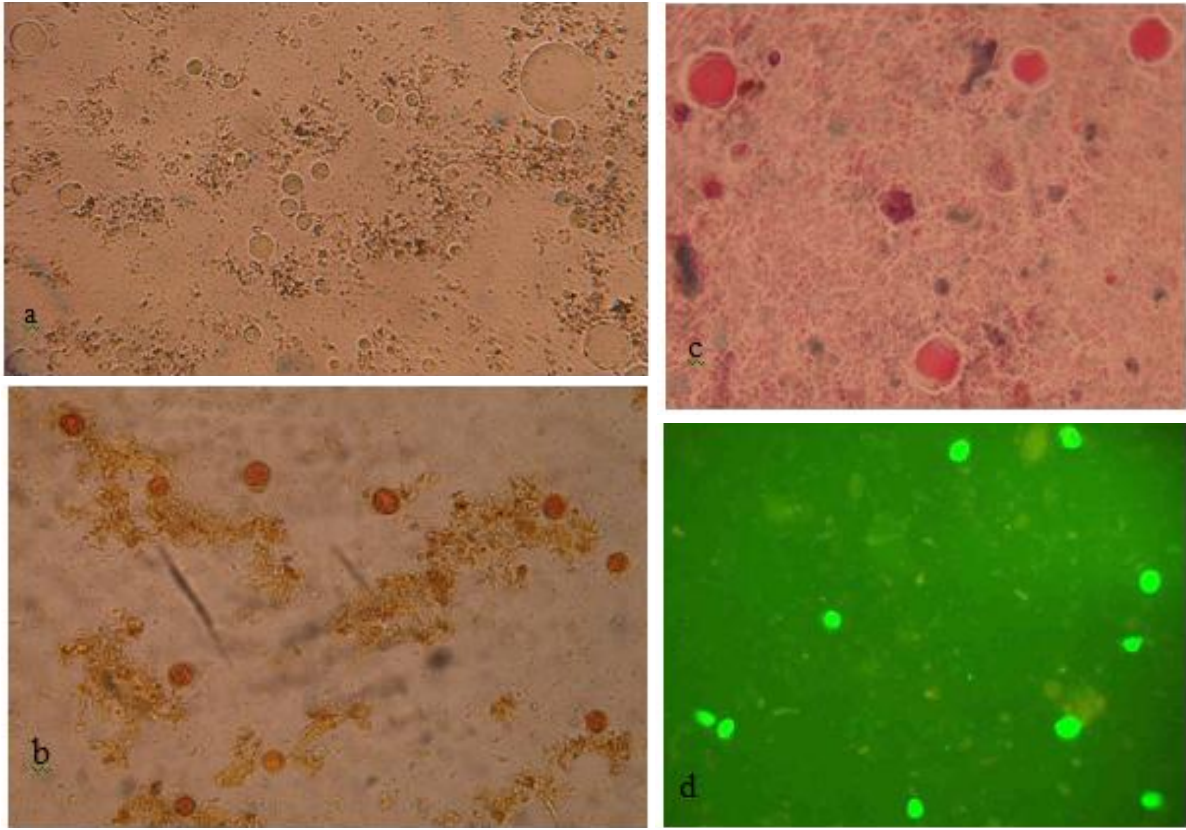
Çalışmamızda 1-30 Haziran 2009 tarihlerinde Gazi Üniv. Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gastro-intestinal yakınmalarla başvuran erişkin (n=66, %62.9) ve çocuk (n=39, %37.1) toplam 105 hastaya (erkek/kadın: 55/50) ait dışkı örneği *Blastocystis* varlığı açısından nativ-lugol, trikrom boyama, kültür ve DFA yöntemleri ile incelenmiştir. Nativ-lugol ve trikrom boyama her örnek için her hastadan birer preparat hazırlanarak değerlendirilmiştir. DFA yöntemi, *Blastocystis* sp. 1 ve 3 subtiplerinin antijenlerine karşı tavşanda oluşan florescein isothiocyanate işaretli poliklonal antikorlar (Antibodies Inc., USA) kullanılarak yapılmıştır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda şekilli dışkıdan 0.2 g, sulu dışkıdan 200 µl alınan örnek, 200 µl fosfat tamponlu tuzlu su (PBS, Ph:7.4) içinde süspansedildikten sonra 4 µl boya solüsyonu eklenerek 37°C'de 60 dk inkübe edilmiştir. Boyanan dışkı örnekleri floresan mikroskopta (Olympus CX31, Japan) 475-515 nm dalga boylarında incelenmiştir <sup>12</sup>. Kültür ortamı olarak %0.05 asparajin ve %10 at serumu içeren Ringer solüsyonu kullanılmıştır <sup>15</sup>. Ringer solüsyonları 8 ml olacak şekilde ağız kapaklı plastik tüplere dağıtılarak +4°C'de kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Dışkı ekimi öncesinde kültürlerin oda ısısına gelmeleri beklenmiş ve şekilli dışkılardan yaklaşık 1 g, sıvı dışkılardan ise 1 ml kültür tüpleri içine eklenerek süspansedilmiştir. Her örnek için çift kültür ortamına dışkı örneklerinin inokülasyonu sonrasında, kültür tüpleri etüvde üç günlük inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrası üreme kontrolü kültür tüplerinin dip kısmındaki dışkı pelleti üzerinden alınan kültür sıvısından hazırlanan lam-lamel arası preparatın mikroskopik olarak incelenmesi ile yapılmıştır. Verilerin analizi için ki-kare ve korelasyon testleri SPSS 13.0 istatistik programı kullanılmıştır.

## BULGULAR

İncelenen dışkı örneklerinin kültürde %28.6'sında *Blastocystis* pozitifliği saptanırken bu oran nativ-lugol incelemede %10.5, trikrom boyama yönteminde %15.2, DFA yönteminde ise %24.8 olarak tespit edilmiştir (*Şekil 1: a,b,c,d*).

Çocuk yaş grubundaki 39 dışkı örneğinin %10.25'inde, erişkin yaş grubundaki 66 dışkı örneğinin ise %39.4'ünde kültür ile pozitiflik belirlenmiştir. İki yaş grubu arasında *Blastocystis* varlığı açısından istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur (P<0.001).

Kültür yöntemi altın standart olarak kabul edildiğinde, kültür yöntemi ile diğer yöntemler arasında *Blastocystis* protozoonunu saptama açısından istatistiksel olarak fark anlamlı saptanmıştır (P<0.001). Bununla birlikte kültür yöntemiyle DFA yöntemi arasında korelasyon çok güçlü düzeyde saptanırken (r=0.858, P<0.001), nativ-lugol (r=0.409, P<0.001) ve trikrom boyama (r=0.403, P<0.01) yöntemleriyle orta düzeyde bir korelasyon belirlenmiştir.



**Şekil 1.** a- *Blastocystis* spp. kültür süspansiyonunun lam-lamel arası preparatının ışık mikroskopundaki görünümü (100x), b- Dışkı örneğinin lugolle incelenmesinde *Blastocystis* spp. ışık mikroskopundaki görünümü (400x), c- Trikróm boyama ile *Blastocystis* spp. ışık mikroskopundaki görünümü (1000x), d- DFA yöntemi ile *Blastocystis* spp. floresan mikroskopundaki görünümü (400x)

**Fig 1.** a- Wet preparation of culture suspension of *Blastocystis* spp. in light microscopy (100x), b- *Blastocystis* spp. with lugol staining of stool sample in light microscopy (400x), c- *Blastocystis* spp. with trichrom staining in light microscopy (1000x), d- *Blastocystis* spp. with DFA in fluorescein microscopy (400x)

**Tablo 1.** Mikroskopik yöntemlerin kültüre göre duyarlılık ve özgüllükleri

**Table 1.** Sensitivity and specificity of microscopic technique according to culture

İstatistik Parametreleri	Nativ - Lugol (9/30)	Trikróm Boyama (13/30)	DFA Yöntemi (25/30)
Duyarlılık	%30	%43.3	%83.3
Özgüllük	%77.6	%78.7	%93.7

DFA yönteminin kültür yöntemine göre duyarlılığı %83.3 özgüllüğü ise %93.7 olarak saptanırken nativ-lugol ve trikróm boyama yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri ise daha düşük olarak tespit edilmiştir (Tablo1).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Blastosistozisin epidemiyolojik özelliklerinin belirlenmesi için duyarlılığı yüksek tanı araçlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüze kadar kısa süreli ksenik kültürlerin yapılması altın standart yöntem olarak kabul edilmiştir. Birçok çalışmada da kültür yöntemi mikroskopik yöntemlere göre daha etkili bulunmuştur <sup>16,17</sup>. Çalışmamızda incelenen 105 hastaya ait dışkı örneğinde *Blastocystis* spp. pozitifliği kültür ile %28.6 olarak saptanırken bu oran nativ-lugol ince-

lemede %10.5, trikróm boyama yönteminde %15.2, DFA yönteminde ise %24.8 olarak tespit edilmiştir. DFA yönteminin kültür yöntemi ile korelasyonu yüksek olarak saptanmıştır. DFA yöntemi uygulanması kolay bir yöntem olmakla birlikte trikróm yöntemine göre daha kısa sürede deneyim kazanılması ve değerlendirme aşamasının da hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi nedeniyle kullanımı avantaj sağlamaktadır. Aynı zamanda diğer mikroskopik yöntemlere göre duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olarak belirlenmesi her laboratuarda yapılamayan ve uzun süre alan kültür yöntemine alternatif bir yöntem olabileceğini göstermektedir. Blastosistozisin tanısında klasik mikroskopik yöntemlerin dışında immünfloresan tanıya yönelik az sayıda çalışma mevcuttur. Bu konuda daha önce yaptığımız çalışmada kültür yöntemine göre DFA yönteminin duyarlılığını %86.7 olarak saptadık <sup>12</sup>. Bu çalışmamızın sonucu da önceki çalışmamız ile uyumlu olarak tespit edilmiştir.

Parazitin epidemiyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda *Blastocystis* spp.'nin dünyada birçok ülkede en sık rastlanan parazit olduğu görülmekle birlikte aynı ülkenin farklı coğrafik bölgelerinde saptanma sıklığı farklı oranlarda bildirilmektedir. Prevalansı Japonya ve Singapur'da %0.5-3.3 arasında değişirken, Arjantin, Mısır, Küba, Brezilya ve Endonezya'da ise bu oran %27.2-60 olarak belirlenmiştir <sup>3</sup>.

Ülkemizde ise farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda bu oran %2.1-%23.5 olarak belirlenmiştir<sup>18-20</sup>. Bu çalışmada da *Blastocystis* pozitifliği %28.6 oranında yüksek olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda çocuk yaş grubundaki 39 dışkı örneğinin %10.25'inde, erişkin yaş grubundaki 66 dışkı örneğinin ise %39.4'ünde kültür ile pozitiflik belirlenmiştir. İki yaş grubu arasında *Blastocystis* varlığı açısından istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Bu durum blastosistozisin yaş ilerledikçe kazanılan bir enfeksiyon olduğunu düşündürmektedir. Özçakır ve ark. ise genç yaş grubunda ileri yaş grubuna göre daha *Blastocystis* sıklığının daha yüksek olduğunu tespit etmelerine rağmen Staat ve ark. ise çocuklarda yaptıkları çalışmalarında bir yaş üstü çocuklarda bir yaş altı çocuklara göre bu protozoonun sıklığını daha yüksek saptadıklarını belirtmişlerdir<sup>21,22</sup>. Yetkin ve ark. 2010 yılında Kafkas Üniversitesi öğrencilerinde flotasyon, native-lugol ve trikrom boyama yöntemleriyle *Blastocystis* spp. varlığını %11.81 olarak bulmuşlardır<sup>23</sup>.

Roberts ve ark. çalışmalarında inceledikleri olgularda *Blastocystis* spp. türlerinin pozitifliğini kalıcı boya ile parazitini saptanma oranını %47, kültürle %81 oranında saptadıklarını bildirmişlerdir<sup>13</sup>. Mikroskopik yöntemlerin kültüre göre duyarlılıklarının daha düşük olduğunu gösteren bu çalışmalarda aynı zamanda parazitin farklı boyut ve morfolojilerinin olması nedeniyle mikroskopik incelemede deneyimin önemi de belirtilmiştir. Çalışmamızda nativ-lugol ve trikrom boyama yöntemlerinin duyarlılıkları kültür yöntemine göre sırasıyla %30 ve %43.3 olarak belirlenmiştir. DFA yönteminin ise duyarlılığı ise %83.3, özgüllüğü %93.7 olarak tespit edilmiştir. DFA yöntemi floresan mikroskobu gerektiren bir yöntem olmasına rağmen kültür ile yüksek düzeyde korelasyon göstermesi hızlı tanı gerektiren ve kültür yapılamayan durumlarda kültür yöntemine iyi bir alternatif olarak görünmektedir.

Çalışma sonucunda DFA yönteminin kolay uygulanabilen, preparat incelemesinin kısa sürede sonuçlandığı, kısa sürede deneyim kazanıldığı, pratik bir yöntem olduğu, az sayıda protozoon içeren örneklerin incelenmesinde ve gerek morfolojisi gerekse boyutları nedeniyle protozoonun tanınmasında güçlük yaşanan durumlarda floresan mikroskobu bulunan laboratuvarlarda tanı kolaylığı sağlaması açısından yararlı bir yöntem olduğu düşüncesine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Stensvold CR, Alfellani MA, Norskov-Lauritsen S, Prip K, Victory EL, Maddox C, Nielsen HV, Clark CG: Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new *Blastocystis* sp. subtype. *Int J Parasitol*, 39 (4): 473-479, 2009.
2. Parkar, U, Traub RJ, Vitali S, Elliot A, Levecke B, Robertson I, Geurden T, Steele J, Drake B, Thompson RC: Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from zoo animals and their animal-keepers. *Vet Parasitol*, 169 (1-2): 8-17, 2010.
3. Tan KSW, Mirza H, Teo JDW, Wu B, MacAry PA: Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Curr Infect Dis Rep*, 12 (1): 28-38, 2010.
4. Moghaddam DD, Ghadirian E, Azami M: *Blastocystis hominis* and the evaluation of efficacy of metronidazole and trimethoprim/sulfamethoxazole. *Parasitol Res*, 96 (4): 273-275, 2005.
5. Leder K, Hellard ME, Sinclair MI, Fairley CK, Wolfe R: No correlation between clinical symptoms and *Blastocystis hominis* in immunocompetent individuals. *J Gastroenterol Hepatol*, 20 (9): 1390-1394, 2005.
6. Poirier P, Wawrzyniak I, Albert A, Alaoui H, Delbac F, Livrelli V: Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection and quantification of *Blastocystis* parasites in human stool samples: Prospective study of patients with hematological malignancies. *J Clin Microbiol*, 49 (3): 975-983, 2011.
7. Meloni D, Sanciu G, Poirier P, El Alaoui H, Chabe M, Delhaes L, Dei-Cas E, Delbac F, Luigi Fiori P, Di Cave D, Viscogliosi E: Molecular subtyping of *Blastocystis* sp. isolates from symptomatic patients in Italy. *Parasitol Res*, 109 (3): 613-619, 2011.
8. Dogruman-Al F, Yoshikawa H, Kustimur S, Balaban N: PCR-based subtyping of *Blastocystis* isolates from symptomatic and asymptomatic individuals in a major hospital in Ankara, Turkey. *Parasitol Res*, 106 (1): 263-268, 2009.
9. Dogruman-Al F, Dagci H, Yoshikawa H, Kurt O, Demirel M: A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res*, 103 (3): 685-689, 2008.
10. Coyle CM, Varughese J, Weiss LM, Tanowitz HB: *Blastocystis*: To treat or not to treat. *Clin Infect Dis*, 54 (1): 105-110, 2012.
11. Poirier P, Wawrzyniak I, Albert A, El Alaoui H, Delbac F, Livrelli V: Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection and quantification of *Blastocystis* parasites in human stool samples: Prospective study of patients with hematological malignancies. *J Clin Microbiol*, 49 (3): 975-983, 2011.
12. Dogruman-Al F, Simsek Z, Boorum K, Ekici E, Sahin M, Tuncer C, Kustimur S, Altinbas A: Comparison of methods for detection of *Blastocystis* infection in routinely submitted stool samples, and also in IBS/IBD patients in Ankara, Turkey. *PLoS ONE*, 5 (11): e15484, 2010.
13. Roberts T, Barratt J, Harkness J, Ellis J, Stark D: Comparison of microscopy, culture and conventional polymerase chain reaction for detection of *Blastocystis* sp. in clinical stool samples. *Am J Trop Med Hyg*, 84 (2): 308-312, 2011.
14. Yoshikawa H, Dogruman-Al F, Türk S, Kustimur S, Balaban N, Sultan N: Evaluation of DNA extraction kits for molecular diagnosis of human *Blastocystis* subtypes from fecal samples. *Parasitol Res*, 109 (4): 1045-1050, 2011.
15. Yoshikawa H, Wu Z, Kimata I, Iseki M, Ali IK, Hossain MB, Zaman V, Haque R, Takahashi Y: Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res*, 92 (1): 22-29, 2004.
16. Leelayoova S, Taamasri P, Rangsin R, Naaglor T, Thathaisong U, Mungthin M: *In-vitro* cultivation: A sensitive method for detecting *Blastocystis hominis*. *Ann Trop Med Parasitol*, 96 (8): 803-807, 2002.
17. Termmathurapoj S, Leelayoova S, Aimpun P, Thathaisong U, Nimmanon T, Taamasri P, Mungthin M: The usefulness of short-term *in vitro* cultivation for the detection and molecular study of *Blastocystis hominis* in stool specimens. *Parasitol Res*, 93 (6): 445-447, 2004.
18. Köksal F, Başlantı I, Samasti M: A retrospective evaluation of the prevalence of intestinal parasites in Istanbul, Turkey. *Türkiye Parazitol Derg*, 34 (3): 166-171, 2010.
19. Inceboz T, Usluca S, Over L, Yalcin G, Tuncay S, Ozkoc S: The epidemiology research of *Blastocystis hominis* in the Dokuz Eylül University Medical Faculty Hospital between 2005 and 2009. *Türkiye Parazitol Derg*, 35 (2): 72-76, 2011.
20. Hamamcı B, Cetinkaya U, Delice S, Ercal BD, Gucuyetmez S, Yazar S: Investigation of intestinal parasites among primary school students in Kayseri - Hacilar. *Türkiye Parazitol Derg*, 35 (2): 96-99, 2011.
21. Özçakır O, Güreşer S, Ergüven S, Akyön Yılmaz Z, Topaloğlu R, Hasçelik G: Türkiye'deki bir üniversite hastanesinde *Blastocystis hominis* enfeksiyonunun karakteristiği. *Türkiye Parazitol Derg*, 31 (4): 277-282, 2007.
22. Staat MA, Rice M, Donauer S, Mukkada S, Holloway M, Cassedy A, Kelley J, Salisbury S: Intestinal parasite screening in internationally adopted children: Importance of multiple stool specimens. *Pediatric*, 2011 (article in press).
23. Yetkin A, Değer S, Özdal N: Intestinal parasites in the students of Van Health High School and Faculty of Veterinary Medicine. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (1): 81-84, 2010.