



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## Özgün Araştırmalar / Original Investigations

Experimental trial with a heat-shocked protein  
Isıl şoklanmış protein ile deneysel çalışma  
Husain Hassan et al.; Kirkuk, Iraq

Köpeklerde Leishmaniasis  
Leishmaniasis in Dogs

Yunus Emre Beyhan ve ark.; Van, Ankara, Türkiye, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Prevalence of Ectoparasites  
Ektoparazitlerin Yaygınlığı

Mohammad Mirzaei et al.; Kerman, Urmia, Iran

Periodontitis/Gingivite *T. tenax* ve *E. gingivalis*  
*E. gingivalis* and *T. tenax* in periodontitis/gingivitis

Süleyman Yazar et al.; Kayseri, Hatay, Turkey

Dışkıda *Giardia intestinalis* Tanısı  
Diagnosis of *Giardia intestinalis* from stool

Senem Yaman Karadam ve ark.; Aydın, Türkiye

Çocukluk Çağında Kistik Ekinokokkozis  
Cystic Echinococcosis in Childhood

Tuğba Koca ve ark.; Isparta, Türkiye

*Helicobacter pylori* ve Parazitler  
*Helicobacter pylori* and Parasitosis

Bülent Gökşen ve ark.; Manisa, Türkiye

Endoparasites of Long-Eared Hedgehog  
Uzun Kulaklı Kirpillerde Endoparazitler

Nafiseh Zolfaghari and Reza Nabavi; Zabol, Iran

Pathophysiological Effects of *Eustrongylides* sp. on *Channa punctatus*  
*Channa punctatus* Üzerine *Eustrongylides* sp.'nin Patofizyolojik Etkileri

Ivy Kundu et al.; West Bengal, India; Kastamonu, Turkey

*Ichthyobodo* spp. Infection in Meagre  
Granyöz Balığında *Ichthyobodo* spp. Enfeksiyonu

Banu Yardımcı et al.; Samsun, Isparta, Turkey

Citation Abbreviation: Türkiye Parazitol Derg

Cilt / Volume: 40 Sayı / Issue: 1 Mart / March 2016

Türkiye Parazitoloji Derneği'nin yayın organıdır / Official Journal of The Turkish Society for Parasitology



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

**Türkiye Parazitoloji Derneği adına sahibi**  
**Owner on behalf of Turkish Society for Parasitology**

M. Ali Özcel  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

Yusuf Özbel  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

**Biyoistatistik Editörü / Biostatistical Consultant**

Aliye Mandıracıoğlu  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Public Health Care, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

**Yayın Kurulu / Editorial Board**  
**Tıbbi Parazitoloji / Medical Parasitology**

M. Ziya Alkan  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

Nermin Şakru  
Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye  
*Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Trakya University, Edirne, Turkey*

Seray Töz  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

Nevin Turgay  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

Özlem Miman  
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Dokuz Eylül University, İzmir, Turkey*



**Publisher**  
İbrahim KARA

**Publication Director**  
Ali ŞAHİN

**Deputy Publication Directors**  
Gökhan ÇİMEN  
Dilşad GÜNEY

**Publication Coordinators**  
Ebru MÜTLÜ  
Esra GÖRGÜLÜ  
Betül ÇİMEN  
Zeynep YAKIŞIRER

**Finance Coordinator**  
Veysel KARA

**Project Coordinator**  
Hakan ERTEN

**Project Assistants**  
Büşra KALKAN  
Duygunur CAN

**Graphics Department**  
Neslihan YAMAN  
Ünal ÖZER

**Contact**

Address: Büyükdere Cad. 105/9 34394  
Mecidiyeköy, Şişli, İstanbul, TURKEY  
Phone: +90 212 217 17 00  
Fax: +90 212 217 22 92  
E-mail : info@avesyayincilik.com



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## İ. Cüneyt Balcıoğlu

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Süleyman Yazar

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Erciyes University, Kayseri, Turkey*

## Salih Kuk

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Erciyes University, Kayseri, Turkey*

## Songül Delibaş

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Dokuz Eylül University, İzmir, Turkey*

## Mert Döşkaya

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, İzmir, Turkey*

## Özgür Kuru

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Gulhane Military Medical  
Academy, Ankara, Turkey*

## Özgür Kurt

Acıbadem Üniversitesi Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
*Department of Microbiology, Faculty of  
Medicine, Acıbadem Üniversitesi, İstanbul, Turkey*

## Veteriner Parazitoloji / Veterinary Parasitology

### Ahmet Doğanay

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara, Turkey*

### Bayram Şenlik

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Uludağ University, Bursa, Turkey*

### Sami Şimşek

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,  
Fırat University, Elazığ, Turkey*

### Tülin Karagenc

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,  
Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

### Ayşen Gargılı

Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi,  
Temel Sağlık Bilimleri Bölümü Kartal, İstanbul, Türkiye  
*Department of Nursery, Faculty of Health Sciences,  
Marmara University, İstanbul Turkey*

### Veli Yılgör Çırak

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,  
Uludağ University, Bursa, Turkey*

### Atıla Akça

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim  
Dalı, Kars, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,  
Kafkas University, Kars, Turkey*

## Biyoloji / Biology

### Bayram Göçmen

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Zoology, Clinic of Biology, Ege University  
Faculty of Science, İzmir, Turkey*



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## Uluslararası Danışma Kurulu / International Advisory Board

### A. Tümay Gürler

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary,  
Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey*

### Abdullah İnci

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey*

### Adil Allahverdiyev

Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü,  
İstanbul, Türkiye  
*Department of Bioengineering, Yıldız Teknik  
University, İstanbul, Turkey*

### Ahmet Gökçen

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner  
Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Mehmet Akif Ersoy University,  
Burdur, Turkey*

### Ahmet Özbilgin

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine  
Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

### Ahmet Üner

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, İzmir, Turkey*

### Ali Ahmet Kilimcioğlu

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

### Ali Aydoğdu

Uludağ Üniversitesi Mustafakemalpaşa MYO,  
Bursa, Türkiye  
*Mustafa Kemal Paşa Vocational School, Uludağ  
University, Bursa, Turkey*

### Ali Çeliksöz

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Cumhuriyet University, Sivas, Turkey*

### Alparslan Yıldırım

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey*

### André-Denis G. Wright

University of Vermont Department of Animal  
Science, Burlington, USA  
*Vermont Üniversitesi, Hayvan Bilimi  
Anabilim Dalı, Burlington, ABD*

### Anıl İça

Dumlupınar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Anabilim Dalı, Kütahya, Türkiye  
*Department of Biology, Faculty of Science-Letters,  
Dumlupınar University, Kütahya, Turkey*

### Aykut Özkul

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Virology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

### Aynur Gülanber

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, İstanbul University, İstanbul, Turkey*

### Ayşe Caner

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, İzmir, Turkey*

### Ayşe Çakmak

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

### Ayşegül Taylan Özkan

Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı, Çorum, Türkiye  
*Department of Microbiology, Faculty of Medicine  
Hitit University, Çorum, Turkey*

### Ayşegül Ünver

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, İzmir, Turkey*

### Aytül Önal

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Pharmacology, Faculty of  
Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

### Bahadır Gönenç

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

### Barış San

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kars, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey*

### Bayram Ali Yukarı

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Mehmet Akif Ersoy University,  
Burdur, Turkey*

### Bayram Şenlik

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of  
Veterinary Medicine, Uludağ University,  
Bursa, Turkey*

### Bekir Keskin

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Zooloji  
Anabilim Dalı, Bornova, Türkiye  
*Department of Zoology, Faculty of Science,  
Ege University, Bornova, Turkey*

### Bijen Kıvçak

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İzmir, Türkiye  
*Faculty of Pharmacy, Ege University, İzmir, Turkey*

### Bilal Dik

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of  
Veterinary Medicine, Selçuk University,  
Konya, Turkey*

### Bilge Karatepe

Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksek Okulu,  
Niğde, Türkiye  
*Niğde University Bor Vocational School,  
Niğde, Turkey*

### Burk A. Dehority

Ohio Üniversitesi, Ohio, ABD  
*Ohio State University, Ohio, USA*

### Cem Ecmel Şaki

Firat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of  
Veterinary Medicine, Firat University,  
Elazığ, Turkey*

### Cem Vuruşaner

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, İstanbul University, İstanbul, Turkey*

### Çağrı Büke

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıklar  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Infectious Diseases,  
Faculty of Medicine, Ege University,  
İzmir, Turkey*

### Chizu Sanjoba

Tokyo Üniversitesi Moleküler İmmunoloji  
Bölümü, Tokyo, Japonya  
*Department of Molecular Immunology, Tokyo  
University, Tokyo, Japan*

### Çağrı Büke

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıklar  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Infectious Diseases, Faculty of  
Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## Çiğdem Banu Çetin

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye  
*Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Çiler Akisü

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Dokuz Eylül University, İzmir, Turkey*

## Daniela Pilarska Kirilova

Bulgaristan Bilimler Akademisi Zooloji Enstitüsü, Sofia, Bulgaristan  
*Institute of Zoology, Bulgaria Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

## Davut Alptekin

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye  
*Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Çukurova University, Adana, Turkey*

## Derya Dirim Erdoğan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

## M. Emin Limoncu

Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek YO, Manisa, Türkiye  
*Vocational school of Health Care Services, Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Engin Araz

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Gülhane Military Medical Academy, Ankara, Turkey*

## Ergün Köroğlu

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey*

## Erol Ayaz

İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYOS, Bolu, Türkiye  
*Vocational School of Health Care Services, İzzet Baysal University, Bolu, Turkey*

## Erol Tokşen

Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, İzmir, Türkiye  
*Faculty of Aquaculture, Ege University, İzmir, Turkey*

## Esin Güven

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

## Esmâ Kozan

Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyon, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Kocatepe University, Afyon, Turkey*

## Fadile Yıldız Zeyrek

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Harran University, Şanlıurfa, Turkey*

## Ferda Sevinç

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Selçuk University, Konya, Turkey*

## Feride Kırçalı

Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyon, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Kocatepe University, Afyon, Turkey*

## Feyzullah Güçlü

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Selçuk University, Konya, Turkey*

## Funda Al

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey*

## Funda Doğruman Al

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey*

## Gönül Dinç

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye  
*Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Gülây Vural

Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Namık Kemal University, Tekirdağ, Turkey*

## Gülnaz Çulha

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey*

## Gürol Cantürk

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

## Hamdi Murat Tuğrul

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye  
*Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Edirne, Turkey*

## Hamdi Öğüt

Karadeniz Teknik Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Trabzon, Türkiye  
*Faculty of Aquaculture, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey*

## Hamza Avcıoğlu

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Atatürk University, Erzurum, Turkey*

## Handan Çetinkaya

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey*

## Hande Dağcı

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

## Hasan Eren

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## Hasan Yılmaz

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Yüzüncü Yıl University, Van, Turkey*

## Hatice Çiçek

Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyon, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Kocatepe University, Afyon, Turkey*

## Hatice Ertabaklar

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## Hatice Öge

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

## Hayrettin Akkaya

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey*





# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## Hüseyin Arkan

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
İzmir, Türkiye

*Department of Biology, Faculty of Science and  
Letters, Ege University, Izmir, Turkey*

## İ. Soner Koltaş

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Çukurova University, Adana, Turkey*

## İhsan Yaşa

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

*Department of Microbiology, Division of Biology,  
Faculty of Science, Ege University, Izmir, Turkey*

## İsmet Özel

Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, İzmir, Türkiye  
*Faculty of Aquaculture, Ege University, Izmir, Turkey*

## İzzet Şahin

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Erciyes University, Kayseri, Turkey*

## Jerome Depaquit

Reims Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Reims, Fransa  
*Faculty of Pharmacy, Reims University, Reims, France*

## Kader Yıldız

Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Kırıkkale University, Kırıkkale, Turkey*

## Kamile Biçek

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Yüzüncü Yıl University, Van Turkey*

## Kirami Ölgen

Ege Üniversitesi Edebiyat Fakültesi, Coğrafya  
Bölümü, İzmir, Türkiye

*Department of Geography, Faculty of Letters, Ege  
University, Izmir, Turkey*

## Kor Yelci

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Kosta Mumcuoğlu

Hebrew Üniversitesi Hadassah Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji ve Moleküler Genetik Bölümü, Kudüs,  
İsrail

*Department of Microbiology and Molecular  
Genetics, Faculty of Medicine, Hebrew University,  
Jerusalem, Israel*

## Kwang-Poo Chang

Rosalind Franklin Üniversitesi Mikrobiyoloji  
Bölümü, Şikago, ABD

*Department of Microbiology, Rosalind Franklin  
University, Chicago, USA*

## Levent Aydın

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Uludağ University, Bursa, Turkey*

## M. Cemal Oğuz

Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi,  
Erzurum, Türkiye

*Faculty of Science, Atatürk University,  
Erzurum, Turkey*

## M. Fatih Şimşek

Ahnan Menderes Üniversitesi Fen Fakültesi,  
Ekoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

*Department of Ecology, Science and Letters,  
Ahnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## M. Özkan Arslan

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey*

## M. Ziya Alkan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, Izmir, Turkey*

## Mehmet Tanyüksel

Gülhane Tıp Akademisi Parazitoloji Bilim Dalı,  
Ankara, Türkiye

*Department of Parasitology, Gülhane Military  
Medical Academy, Ankara, Turkey*

## Mehmet Yaman

Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey*

## Mehtap Gül Altaş

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Harran University, Şanlıurfa, Turkey*

## Meral Aydenizöz

Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Kırıkkale University, Kırıkkale, Turkey*

## Meral Türk

Denizli Devlet Hastanesi, Parazitoloji Laboratuvarı,  
Denizli, Türkiye

*Denizli State Hospital, Parasitology, Denizli, Turkey*

## Metin Atambay

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
İnönü University, Malatya, Turkey*

## Metin Korkmaz

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, Izmir, Turkey*

## Mucide Ak

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, Izmir, Turkey*

## Murat Hökelek

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

*Department of Microbiology, Cerrahpaşa Faculty  
of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey*

## Murat Kara

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey*

## Murat Sevgili

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Harran University, Şanlıurfa, Turkey*

## Mustafa Açıç

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey*

## Mustafa Demirci

Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

*Department of Microbiology, Faculty of Medicine,  
Katip Çelebi University, Izmir, Turkey*

## Mustafa Kaplan

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Firat University, Elazığ, Turkey*

## Mustafa Karatepe

Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksek Okulu,  
Niğde, Türkiye

*Niğde University Bor Vocational School, Niğde, Turkey*

## Mustafa Köse

Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyon, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, University, Afyon, Turkey*

## Mustafa Necati Muz

Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of  
Veterinary Medicine, Mustafa Kemal University,  
Hatay, Turkey*

## Mustafa Yaman

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi,  
Trabzon, Türkiye

*Faculty of Science Karadeniz Technical University,  
Trabzon, Turkey*

## Mustafa Yılmaz

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Firat University, Elazığ, Turkey*



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## Münir Aktaş

Firat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey*

## Naciye Gülkız Şenler

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Yüzüncü Yıl University, Van, Turkey*

## Nalan Özdal

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine Yüzüncü Yıl University, Van, Turkey*

## Nazif Elaldı

Firat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Fırat University, Sivas, Turkey*

## Nazir Dumanlı

Firat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey*

## Nazmiye Altıntaş

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, İzmir, Turkey*

## Nermin Şakru

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye  
*Department of Microbiology, Faculty of  
Medicine, Trakya University, Edirne, Turkey*

## Nevin Turgay

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, İzmir, Turkey*

## Nihal Doğan

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Bilim Dalı, Eskişehir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Osmangazi University, Eskişehir, Turkey*

## Nilgün Daldal

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
İnönü University, Malatya, Turkey*

## Nogay Girginkardeşler

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Nuran Aysel

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## Nurşen Alpogut-Keskin

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü  
Zooloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Zoology, Division of Biology,  
Faculty of Science, Ege University, İzmir, Turkey*

## Oğuz Sarımeahmetoğlu

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

## Oktay Alver

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
*Department of Microbiology, Faculty of Medicine,  
Uludağ University, Bursa, Turkey*

## Osman Selçuk Aldemir

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## Önder Düzlü

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey*

## Özgür Kurt

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
*Department of Microbiology, Faculty of Medicine,  
Acıbadem University, İstanbul, Turkey*

## Özlem Miman

İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine  
İzmir University İzmir, Turkey*

## Özlem Tünger

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye  
*Department of Microbiology, Faculty of Medicine,  
Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Petr Volf

Charles Üniversitesi Fen Fakültesi, Prag, Çek Cumhuriyeti  
*Faculty of Science, Charles University, Prague,  
Czech Republic*

## Probir K. Bandyopadhyay

Kalyani Üniversitesi Zooloji Bölümü, West Bengal, Hindistan  
*Department of Zoology, Kalyani University, West  
Bengal, India*

## Ramazan Adanır

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner  
Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Mehmet Akif Ersoy University, Hatay, Turkey*

## Ramazan İnci

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Microbiology, Cerrahpaşa Faculty  
of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey*

## Renate Radek

Berlin Serbest Üniversitesi Biyoloji/Zooloji  
Enstitüsü, Berlin, Almanya  
*Institute of Biology/Zoology, Berlin University,  
Berlin, Germany*

## S. Bülent Alten

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Ekoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Ecology, Faculty of Science and  
Letters, Hacettepe University, Ankara, Turkey*

## Sabri Ünal

Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi,  
Kastamonu, Türkiye  
*Faculty of Forestry, Kastamonu University,  
Kastamonu, Turkey*

## Salih Gürel

Samatya Devlet Hastanesi, Dermatoloji Kliniği,  
İstanbul, Türkiye  
*Clinic of Dermatology, Samatya State Hospital,  
İstanbul, Turkey*

## Salih Kuk

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine  
University, Kayseri, Turkey*

## Sami Şimşek

Firat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey*

## Selim S. Çağlar

Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Ekoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Ecology, Faculty of Science and  
Letters, Hacettepe University, Ankara, Turkey*

## Sema Ertuğ

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## Semih Öge

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

## Semra Özçelik

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Cumhuriyet University, Sivas, Turkey*



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## Seray Töz

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, Izmir, Turkey*

## Serdar Değer

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Van, Turkey*

## Serdar Düşen

Pamukkale Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji  
Bölümü, Denizli, Türkiye  
*Department of Biology, Faculty of Science and  
Letters, Pamukkale University, Denizli, Turkey*

## Serdar Paşa

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## Serkan Bakırcı

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## Serpil Değerli

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Cumhuriyet University, Sivas, Turkey*

## Serpil Nalbantoğlu

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

## Sibel Ergüven

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Bilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Hacettepe University, Ankara, Turkey*

## Soner Uzun

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji  
Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye  
*Department of Dermatology, Faculty of Medicine,  
Akdeniz University, Antalya, Turkey*

## Songül Delibaş

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey*

## Stefano Cecchini

Della Basilicata Üniversitesi, Potenza, İtalya  
*Della Basilicata University, Potenza, Italy*

## Suna Gedikoğlu

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon  
Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
*Department of Infectious Diseases, Faculty of  
Medicine, Uludağ University, Bursa, Turkey*

## Süleyman Aypak

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey*

## Süleyman Yazar

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Erciyes University, Kayseri, Turkey*

## Süphan Karaytuğ

Mersin Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
Mersin, Türkiye  
*Department of Biology, Faculty of Science and  
Letters, Mersin University, Mersin, Turkey*

## Şebnem Üstün

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji  
Bilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Gastroenterology, Faculty of  
Medicine, Ege University, Izmir, Turkey*

## Şevki Ziya Coşkun

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Uludağ University, Bursa, Turkey*

## Şinasi Umur

Öndokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Parazitoloji Anabilim Dalı,  
Samsun, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of  
Veterinary Medicine, Ondokuz Mayıs University,  
Samsun, Turkey*

## Şükran Yağcı Yücel

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

## Tonay İNCEBOZ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey*

## Tuğrul Dereli

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Dermatology, Faculty of Medicine,  
Ege University, Izmir, Turkey*

## Uğur Uslu

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Konya, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Selçuk University, Konya, Turkey*

## Ulus Salih Arcar

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji  
Bilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Gastroenterology, Faculty of  
Medicine, Ege University, Izmir, Turkey*

## Ülgen Z. Ok

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Ümit Çimli Aksoy

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey*

## Veli Yılmaz Çırak

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Uludağ University, Bursa, Turkey*

## Volkan Akyol

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Uludağ University, Bursa, Turkey*

## Yaşar Ali Öner

İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye  
*Department of Microbiology, Çapa Faculty of  
Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey*

## Yavuz Yeşilova

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim  
Dalı, Şanlıurfa, Türkiye  
*Department of Dermatology, Faculty of Medicine,  
Harran University, Şanlıurfa, Turkey*

## Yunus Kılıç

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kars, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey*

## Yüksel Gürüz

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Ege University, Izmir, Turkey*

## Zafer Karaer

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey*

## Zati Vatanser

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Kars, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary  
Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey*

## Zeynep Sümer

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Cumhuriyet University, Sivas, Turkey*

## Zeynep Taş

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Van, Türkiye  
*Department of Parasitology, Faculty of Medicine,  
Yüzüncü Yıl University, Van, Turkey*





# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## AMAÇ VE KAPSAM

Türkiye Parazitoloji Dergisi, 1976 yılından bu yana çıkan, Tıp, Veterinerlik ve Biyoloji alanlarında yapılan Parazitoloji konulu klinik ve deneysel çalışmaları, ilginç olgu bildirimlerini, davet edilmiş derlemeleri, Editöre mektupları yayınlayan; yayın dili Türkçe ve İngilizce olan, bağımsız ve önyargısız çift-kör hakemlik ilkelerine dayanan uluslararası bir dergidir.

Dergi, Türkiye Parazitoloji Derneği'nin bilimsel içerikli resmi yayın organı olup, Mart, Haziran, Eylül ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 4 sayı yayınlanmakta ve Türkiye Parazitoloji Derneği tarafından finanse edilmektedir.

Derginin hedefi, klinik ve bilimsel açıdan uluslararası düzeyde nitelikli ve üst düzeyde özgün araştırmaları yayınlamaktır. Dergide ayrıca, tıp eğitimi ile ilgili temel yenilikleri kapsayan derlemeler, Editöryel yazılar, olgu sunumları ve özgün görüntüler de yayınlanmaktadır.

Derginin hedef kitlesi, tıbbi ve veteriner parazitoloji alanlarında ve biyoloji bilim dalının ilgili birimlerinde çalışan tüm bilim insanları ve bu alanlardaki yüksek lisans/doktora öğrencileridir. Bu kapsamda dergi, Türkiye Parazitoloji Derneği üyelerine ve yurt çapında parazitoloji'yle ilgili kişi ve kuruluşlara düzenli olarak ulaştırılmaktadır. Derginin tüm sayılarının içerikleri tam metin olarak [www.tparazitolderg.org](http://www.tparazitolderg.org) adresinde ücretsiz erişime açıktır.

Derginin Editöryel süreçleri ve yayın işleyişi ICMJE, WAME ve COPE standartları çerçevesinde yürütülmektedir.

Türkiye Parazitoloji Dergisi; PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, BIOSIS Previews Biological Abstracts, CAB Abstracts and Bibliographic Databases, Index

Copernicus, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizini ve Türkiye Atıf Dizini tarafından indekslenmektedir.

**Abone İşlemleri/Baskı İzinleri ve Tekrar Baskılar/Reklam**  
Dergide basılan yazıların tam metinlerine ücretsiz olarak [www.tparazitolderg.org](http://www.tparazitolderg.org) adresinden ulaşılabilir. Basılı dergi aboneliği, baskı izinleri, tekrar baskılar ve reklam için Editör ofisine başvurulmalıdır.

### Editör Ofisi

Editör: Prof. Dr. Yusuf Özbel  
Adres: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, 35100 Bornova-İzmir  
Tel.: +90 232 390 47 24  
Faks: +90 232 388 13 47  
E-posta: [yusuf.ozbel@ege.edu.tr](mailto:yusuf.ozbel@ege.edu.tr)

### Yayıncı

AVES-İbrahim Kara  
Adres: Büyükdere Cad. No: 105/9 34394  
Mecidiyeköy, Şişli-İstanbul  
Tel.: +90 212 217 17 00  
Faks: +90 212 217 22 92  
E-posta: [info@avesyayincilik.com](mailto:info@avesyayincilik.com)

### Yazarlara Bilgi

Yazarlara Bilgi sayfası derginin basılı versiyonunda ve [www.tparazitolderg.org](http://www.tparazitolderg.org) web sayfasında yayınlanmaktadır.

### Materyal Sorumluluk Reddi

Türkiye Parazitoloji Dergisi'nde yayınlanan tüm yazılardaki görüş ve raporlar yazarların görüşüdür. Editörler ve Yayıncı bu yazılar için herhangi bir sorumluluk kabul etmemektedir.

Dergimiz asitsiz kağıda basılmaktadır.



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## AIMS AND SCOPE

The Turkish Journal of Parasitology has been published since 1976. The journal publishes clinical and experimental studies, interesting case reports, invited reviews and letters to the editor on biological, medical and veterinary parasitology. The Turkish Journal of Parasitology is an international journal which is based on independent and unbiased double-blinded peer-review principles. The publishing language of the journal is Turkish and English.

The Turkish Journal of Parasitology is the scientific and the official publication of the Turkish Society for Parasitology and is published four times per year; in March, June, September and December, and is financed by the Turkish Society for Parasitology.

The aim of the journal is to publish original articles with highest clinical and scientific quality at the international level. The Turkish Journal of Parasitology also publishes reviews covering fundamental innovations in medical education, editorial articles, case reports and original images.

The target audience of the journal is scientists working on medical and veterinary parasitology, and relevant disciplines of biology, as well as PhD and MSc students studying on these topics. In this context, the journal is sent regularly to the members of the Turkish Society for Parasitology as well as to the organizations and individuals who are interested in parasitology countrywide. The contents of all issues in full text can be accessed free of charge through the web site [www.tparazitolderg.org](http://www.tparazitolderg.org).

The editorial and publication processes of the journal are conducted in accordance with the ICMJE, WAME and COPE standards.

The Turkish Journal of Parasitology is indexed in PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, BIOSIS Pre-

views Biological Abstracts, CAB Abstracts and Bibliographic Databases, Index Copernicus, TÜBİTAK ULAKBİM TR Index and Türkiye Citation Index.

### Subscriptions/Permissions and Reprints/Advertisements

The full texts of the published articles can be accessed free of charge through the web site [www.tparazitolderg.org](http://www.tparazitolderg.org). Applications for subscriptions, permissions, reprints and advertisements should be made to the editorial office.

### Editorial Office

Editor: Yusuf Özbel, MD, Prof.  
Address: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, 35100 Bornova-İzmir  
Phone: +90 232 390 47 24  
Fax: +90 232 388 13 47  
E-mail: [yusuf.ozbel@ege.edu.tr](mailto:yusuf.ozbel@ege.edu.tr)

### Publisher

AVES-İbrahim Kara  
Address: Büyükdere Cad. No: 105/9 34394 Mecidiyeköy, Şişli-İstanbul  
Phone: +90 212 217 17 00  
Fax: +90 212 217 22 92  
E-mail: [info@avesyayincilik.com](mailto:info@avesyayincilik.com)

### Information for Authors

Information for authors is published in the journal and is available on the web site [www.tparazitolderg.org](http://www.tparazitolderg.org).

### Material Disclaimer

All opinions and reports in the articles published in the Turkish Journal of Parasitology are those of the authors. The editors and the publisher do not accept any responsibility for these articles.

The journal is printed on acid-free paper.



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## YAZARLARA BİLGİ

### Genel Kurallar

Türkiye Parazitoloji Dergisi, tıbbi ve veteriner parazitoloji alanlarında deneysel, gözlemsel araştırma, klinik denemeler, olgu sunumu ve derleme niteliğindeki, biyoloji bilim alanından ise parazitoloji konularını kapsayan makaleleri yayımlar.

Yazılar sadece [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org) adresinden elektronik olarak gönderilmelidir.

Tüm yazarlar bilimsel katkılarını, sorumluluklarını ve çıkar çatışması olmadığını bildiren toplu imza ile yayına katılmalıdır.

Araştırmalara yapılan kısmi de olsa nakdi ya da aynı yardımların hangi kurum, kuruluş, ilaç-gereç firmalarıyla yapıldığı dip not olarak bildirilmelidir.

Makalelerin formatı *ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2015 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>)* kuralına göre düzenlenmelidir.

Deneysel, klinik ve ilaç araştırmaları için insan ve hayvan hakları ile ilgili uluslararası anlaşmalara uygun etik kurul raporu (Helsinki Declaration of 1975, revised 2002-<http://www.wma.net/e/policy/b3.htm> ve "Guide for the care and use of laboratory animals - [www.nap.edu/catalog/5140.html](http://www.nap.edu/catalog/5140.html)) ve hastaların çalışma hakkında bilgilendirildiklerine ve olurlarının alındığına dair onay formu gereklidir.

Makale gönderim aşamasında, makalenin dergimizde yayınlanmasıyla ilgili bütün yazarların onayını belirten bir mektubun eklenmesi gereklidir. Ayrıca makalenin yayına kabul edilmesi halinde bütün yazarların Yayın Hakkı Devir Formu'nu imzalayıp postayla dergi adresine göndermeleri gereklidir.

Etik kurul kararı gereken çalışmalarda onay belgesinin eklenmesi gerekmektedir.

### Yazıların hazırlanması

Yazılar A4 boyutunda, iki satır aralıklı olarak ve tüm sayfalarda sayfa numarası bulunacak şekilde gönderilmelidir. Toplam sayfa sayısı resim ile şekiller dahil araştırma yazılarında 15'i, olgu sunumlarında ise 6'yı geçmemelidir.

Başlık sayfasında sadece makalenin Türkçe ve İngilizce tam ve kısa başlıkları ve varsa makalenin daha önce tebliğ edildiği toplantı ve kongreler yazılmalıdır. Yazar adları ve çalıştıkları kuruma ait bilgiler sadece makale derginin on-line sisteminde yüklenirken girilmeli, makale ana metninde yazara ait bilgiler olmamalıdır.

İkinci sayfada yalnızca Türkçe ve İngilizce özetler ile anahtar sözcükler yer almaktadır. 200 kelimeyi geçmeyen özet kısmı, Amaç, Yöntemler, Bulgular, Sonuç şeklinde bölümlü olmalıdır. Anahtar sözcükler ise 5 kelimeyi geçmeyecek şekilde Türkçe özetin altına Türkçe, İngilizce özetin altına İngilizce olarak eklenmelidir.

Araştırma yazılarının tam metin bölümü Giriş, Yöntemler, Bulgular, Tartışma, Sonuç, Çıkar Çatışması Beyanı, Kaynaklar, Tablo, Şekil ve Resimleri (açıklama yazılarıyla birlikte) içerecek şekilde düzenlenmelidir. Olgu sunumlarında ise Giriş, Olgu(lar), Tartışma, Sonuç, Kaynaklar, Tablo, Şekil ve Resimler (açıklama yazılarıyla birlikte) şeklinde olmalıdır.

Derleme yazıları, sadece yayın kurulu tarafından davet edilen yazarlar tarafından hazırlanır ve yayımlanır. Davetsiz olarak dergiye gönderilen derleme yazıları dikkate alınmayacaktır.

Tablo, şekil ve resimler ayrı bir sayfada olmalı ve yazının içinde geçmesi gereken yer cümlelerin sonuna parantez içinde yazılmalıdır.

Siyah-beyaz veya renkli fotoğrafların yüksek çözünürlüklü jpg formatında gönderilmesi gerekmektedir.

Makale içinde ve kaynaklarda geçen parazitlerin cins ve tür isimleri italik ve sadece cins isminin ilk harfi büyük olarak yazılmalıdır.

Kısaltmalar ilk kez kullanıldığında açık olarak yazılmalı daha sonra makale içinde hep aynı kısaltma kullanılmalıdır.

Yazı içinde belirtilen tüm kaynaklar makale içindeki geçiş sırasına göre liste halinde numaralandırılarak verilmelidir. Kaynaklar yazılırken noktalama işaretlerine aşağıdaki örneklerde gösterildiği şekilde dikkat edilmeli ve yazı içinde her kaynağa ait numara ilgili cümlelerin sonunda parantez içinde mutlaka belirtilmelidir. Dergi kısaltmalar Index Medicus tarafından gösterildiği şekilde yapılmalıdır. Altı ve daha az yazarlı olan kaynaklarda tüm isimler yazılmalı, yedi ve daha fazla yazarlı kaynakların ise ilk altı yazar ismi yazılıp Türkçe makalelerde "ve ark.", İngilizce makalelerde "et al" ilave edilmelidir.

### Kaynak yazımı için örnekler

#### Sürelili Yayınlar

Githeko AK, Service MW, Mbogo CM, Audi FK, Juma PO, Mousier WJ, et al. Plasmodium falciparum sporozoite and entomological inoculation rates at the Ahero rice irrigation scheme and the Miwani sugar belt in Western Kenya. Ann Trop Med Parasitol 2002; 52: 561-79.

#### Editörlü Kitapta Bölüm

Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH, editors. Current Protocols in Immunology. New York: Greene Publishing Associates; 1991. p. 105-32.

#### Tek Yazarlı Kitap

Fleiss JL. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second Edition. New York: John Wiley and Sons; 1981.

#### Yazar olarak Editörler

Balows A, Mousier WJ, Herramaffil KL, editors. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press.; 1990.

#### Kongre Bildirileri

Entrala E, Mascaró C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII); October, 10-14; Izmir-Turkey; 1994. p. 1250-75

#### Tezler

Erakıncı G. Donörlerde parazitlere karşı oluşan antikorların aranması. İzmir: Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 1997.

#### Elektronik Formatta Makale

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis (serial online) 1995 Jan-Mar (cited 1996 June 5): 1(1): (24 screens). Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/cid.htm>.

Yayın Kurulu, gönderilen yazılarda bu kurallara uymayan yerlerin bulunması durumunda bilimsel içeriğe dokunmadan teknik açıdan gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

Editör: Prof. Dr. Yusuf ÖZBEL

Adres: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, 35100 Bornova-İzmir, Türkiye

Tel.: +90 232 390 47 24

Faks: +90 232 388 13 47

E-posta: [yusuf.ozbel@ege.edu.tr](mailto:yusuf.ozbel@ege.edu.tr)



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## INSTRUCTIONS TO AUTHORS

### General Rules

The Turkish Journal of Parasitology publishes experimental and observational research articles, clinical reviews, case reports and review articles on medical and veterinary parasitology, and publishes articles on parasitology in the biology field.

Manuscripts must be submitted online at [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org).

All submissions must be accompanied by a signed statement of scientific contributions and responsibilities of all authors and a statement declaring the absence of conflict of interests.

Any institution, organization, pharmaceutical or medical company providing any financial or material support, in whole or in part, must be disclosed in a footnote.

Manuscripts must be prepared in accordance with *ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals* (updated in December 2015 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>).

An approval of research protocols by an ethical committee in accordance with international agreements (Helsinki Declaration of 1975, revised 2002 - available at <http://www.vma.net/e/policy/b3.htm> <<http://www.vma.net/e/policy/b3.htm>>, "Guide for the care and use of laboratory animals - [www.nap.edu/catalog/5140.html](http://www.nap.edu/catalog/5140.html)) is required for experimental, clinical and drug studies. A form stating that the patients have been informed about the study and consents have been obtained from the patients is also required for experimental, clinical and drug studies.

All submissions must be accompanied by a letter that states that all authors have approved the publication of the paper in the Turkish Journal of Parasitology. Upon acceptance, all authors must sign the Copyright Transfer Form, and send this form to the editorial office through mail.

Submission of the studies requiring ethical committee decision must be accompanied by a copy of the submission to the ethical committee.

### Preparation of the Manuscript

Manuscripts should be typed double-spaced on A4 size paper and pages should be numbered consecutively. The total number of pages should not exceed 15 for research articles and 6 for case reports; including figures and illustrations.

The title page should include full and short title in Turkish and English, and meeting and congress presentations of the manuscript must be stated, if any. Authors' names and their institutional affiliations must only be provided at the submission stage, author information must not be included in the main text.

The second page should include abstracts written both in Turkish and English, and key words. Structured abstracts, not to exceed 200 words, should consist of four sections, labeled as Objective, Methods, Results and Conclusion. No more than five key words in Turkish language should follow the Turkish abstract, as well as keywords in English should follow the English abstract.

For research articles main text should include Introduction, Methods, Results, Discussion, Conclusion, Conflict of Interest Disclosure, References, Tables, Figures and Illustrations (with legends) sections. Case reports should be divided into the following sections: Introduction, Case(s), Discussion, Conclusion, References, Tables, Figures and Illustrations (with legends).

Review articles are only prepared and published by authors invited by the editorial board. Review articles that are submitted to the journal without an invitation of the editorial board will not be taken to consideration for publication.

Tables, figures and illustrations must be provided on a separate page and must be cited at an appropriate point in the text at the end of the sentence in parenthesis.

Both black and white and color figures must be uploaded in high resolution .jpg format.

When mentioning parasites in the main text and references, the genus and species names must be italicized and the genus name must be written with an initial capital letter.

Abbreviations should be expanded at first mention and used consistently thereafter.

All references cited in the text should be listed in numerical order in which they appear in the text. Attention should be paid to punctuation as shown in examples below. In text, each reference should be given in parenthesis at the end of the relevant sentence. Abbreviation of journal names must conform to Index Medicus style. All author names should be listed if there are six or fewer. In case of more than six authors, only the first six should be listed, followed by "et al." in articles in Turkish and followed by "et al." in articles in English.

### Examples

#### Periodicals

Githoko AK, Service MW, Mbogo CM, Audi FK, Juma PO, Mousier WJ, et al. *Plasmodium falciparum* sporozoite and entomological inoculation rates at the Ahero rice irrigation scheme and the Miwani sugar belt in Western Kenya. *Ann Trop Med Parasitol* 2002; 52: 561-79.

#### Chapter in Edited Book

Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH, editors. *Current Protocols in Immunology*. New York: Greene Publishing Associates; 1991. p. 105-32.

#### Book with a Single Author

Fleiss JL. *Statistical Methods for Rates and Proportions*. Second Edition. New York: John Wiley and Sons; 1981.

#### Editor(s) as Author

Balows A, Mousier WJ, Herramaffil KL, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press.; 1990.

#### Conference Paper

Entrala E, Mascaro C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII); October, 10-14; Izmir-Turkey; 1994. p. 1250-75

#### Thesis

Erakın G. Donörlerde parazitlere karşı oluşan antikorların aranması. İzmir: Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 1997.

#### Article in Electronic Format

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* (serial online) 1995 Jan-Mar (cited 1996 June 5): 1(1): (24 screens). Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/cid.htm>.

The editorial board has the authority to make necessary revisions in the format of the manuscript (without making any revision in the context) that does not comply with the above-mentioned requirements.

Editor: Yusuf ÖZBEL, PhD, Prof.

Address: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, 35100 Bornova-İzmir, Turkey

Phone: +90 232 390 47 24

Fax: +90 232 388 13 47

E-mail: [yusuf.ozbel@ege.edu.tr](mailto:yusuf.ozbel@ege.edu.tr)





# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## EDİTÖRDEN

Yeni yılın ilk sayısını 10 orijinal araştırma makalesi ile Kist Hidatik konusunda bir olgu sunumu bir de editöre mektup olmak üzere 12 makale ile çıkarmaktayız.

Makaleler arasında, çok nadir olarak çalışılan ağızda yerleşen parazitlerle ilgili bir makale, *Helicobacter pylori* ile parazitoz birlikteliğini inceleyen bir makale, çeşitli paraziter hastalıkların tanısına yönelik makaleler ile yurtdışından üç makale yer almaktadır.

Dergimizde makalelerin işlenmesi için kullanılan ara yüzünde zaman zaman hakem hocalarımız ve makale gönderen yazarların yaşadığı sorunları gidermeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Bu kapsamda sizlerin de bildirmek istediği noktalar varsa en kısa zamanda iletmenizi rica ederim.

Bilim alanımızın en önemli unsurlarından ve bizleri güçlendiren araçlarından biri olan "Türkiye Parazitoloji Dergisi"nin bu sayısının da bilimsel çalışmalarınıza ve birikimlerinize yararlı olması umuduyla saygılar sunarım.

**Prof. Dr. Yusuf Özbel**  
**Baş Editör**



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## EDITORIAL

We present you the first issue of the new year with a total of 12 studies including 10 original research articles, 1 case report on hydatid cyst, and 1 letter to the editor.

This issue includes an article on parasites located in the mouth, which is a rarely studied subject; an article investigating the coexistence of *Helicobacter pylori* and parasitosis; articles on the diagnoses of various parasitic diseases; and three articles submitted from other countries.

In the interface that is used for processing the articles for publication in our journal, some interventions for eliminating the problems encountered by reviewers and authors are sometimes performed. If you want to notify some points in this respect, please let us know them as soon as possible.

Hoping that this issue of the "Turkish Parasitology Journal", which is one of the most important components of our scientific field and one of tools that strengthen us, will contribute to your scientific work and knowledge, I present you my respect.

**Prof. Yusuf Özbel**  
Chief Editor



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

### ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / ORIGINAL INVESTIGATIONS

- 1 **Experimental Trial with a Heat-Shocked Protoscolex Extract as a Vaccine Candidate for Protection Against Hydatid Disease**  
*Kist Hidatik Hastalığına Karşı Koruma İçin Aşılı Adayı Olarak Isıl Şoklanmış Protoskoleks Ekstrakt İle Deneysel Çalışma*  
Husain Hassan, Tariq S. AL-Hadithi, Hadi M Al-Sakee
- 9 **Hatay, Burdur ve Kuzey Kıbrıs Köpeklerinde Leishmaniasisin Seroprevalansı**  
*Seroprevalance of Leishmaniasis in Dogs from Hatay and Burdur Provinces of Turkey and Northern Cyprus*  
Yunus Emre Beyhan, Bekir Çelebi, Osman Ergene, Mesut Mungan
- 13 **Prevalence of Ectoparasites of Indigenous Chickens From Dalahu Region, Kermanshah Province, Iran**  
*İran'ın Kirmanşah İlinin Dalahu Bölgesinde, Yerli Tavuklarda Ektoparazitlerin Yaygınlığı*  
Mohammad Mirzaei, Omid Ghashghaei, Mohammad Yakhchali
- 17 **Kayseri'de Periodontitis veya Gingivitisli Hastalarda *Trichomonas tenax* ve *Entamoeba gingivalis*'in Araştırılması**  
*Investigation of Entamoeba gingivalis and Trichomonas tenax in Periodontitis or Gingivitis Patients in Kayseri*  
Süleyman Yazar, Ülfet Çetinkaya, Berna Hamamcı, Arzu Alkan, Yıldırım Şişman, Çağrı Esen, Melike Kolay
- 22 **Dışkıda *Giardia intestinalis* Tanısında Üç Yöntemin (Mikroskopik İnceleme, Direkt Fluoresan Antikor Testi, İmmunokromatografik Yöntem) Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi**  
*Comparative Evaluation of Three Methods (Microscopic Examination, Direct Fluorescent Antibody Assay, and Immunochromatographic Method) for the Diagnosis of Giardia intestinalis From Stool Specimens*  
Senem Yaman Karadam, Sema Ertuğ, Hatice Ertabaklar
- 26 **Çocukluk Çağında Kistik Ekinokokkozis: Tek Merkezin Beş Yıllık Deneyimi**  
*Cystic Echinococcosis in Childhood: Five-Years of Experience From a Single-Center*  
Tuğba Koca, Selim Dereci, Ali Gençer, Levent Duman, Aykut Recep Aktaş, Mustafa Akçam, Füsün Zeynep Akçam
- 32 **Kronik Karın Ağrısı Olan Çocuklarda *Helicobacter pylori* ve Bağırsak Parazitöz Birlikteliği**  
*Coexistence of Helicobacter pylori and Intestinal Parasitosis in Children with Chronic Abdominal Pain*  
Murat Hoşgör, Hüseyin Bilgin Bilgiç, Serkan Bakırcı, Ahmet Hakan Ünlü, Tülin Karagenç, Hasan Eren
- 37 **Endoparasites of the Long-Eared Hedgehog (*Hemiechinus auritus*) in Zabol District, Southeast Iran**  
*İran'ın Güneydoğusunda bulunan Zabol'da Uzun Kulaklı Kirpilerde (Hemiechinus Auritus) Görülen Endoparazitler*  
Tuğba Demiroğlu, Zübeyda Akın Polat, Cem Çelik
- 42 **Study of Pathophysiological Effects of the Nematode Parasite *Eustrongylides* sp. on Freshwater Fish *Channa punctatus* by Hematology, Serum Biochemical, and Histological Studies**  
*Hematoloji, Serum Biyokimyasal ve Histolojik Çalışmalarla Tatlısu Balığı, Channa punctatus Üzerine Nematod Parazit Eustrongylides sp.'nin Patofizyolojik Etkileri*  
Ivy Kundu, Probir Kumar Bandyopadhyay, Dipak Ranjan Mandal, Gözde Gürelli



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

- 48 **Ichthyobodo spp. Infection in Meagre (*Argyrosomus regius*) from Turkey: Parasitological and Pathological Findings**  
*Granyöz Balığında (*Argyrosomus regius*) Ichthyobodo spp. Enfeksiyonunun Türkiye'den Bildirimi: Parazitolojik ve Patolojik Bulgular*  
Banu Yardimci, Gökmen Zafer Pekmezci, Behire Işıl Didinen, Seçil Metin

### OLGU SUNUMU / CASE REPORT

- 51 **Cystic Echinococcosis: One Entity, Two Unusual Locations**  
*Kistik Ekinokokkoz; Bir Hastalık, İki Sıra Dışı Yerleşim*  
Yeşim Sağlıcan, Özben Yalçın, Ecmel Kaygusuz

### EDİTÖRE MEKTUP / LETTER TO THE EDITOR

- 54 **Hydatid Cyst Presenting with Mass That Localized in the Cruris Region**  
*Kruris Bölgesine Lokalize Kitle İle Prezente Olan Kist Hidatik*  
Fatih Bağcier, Osman Onaç, Meltem Alkan Melikoğlu



# Experimental Trial with a Heat-Shocked Protoscolex Extract as a Vaccine Candidate for Protection Against Hydatid Disease

Kist Hidatik Hastalığına Karşı Koruma İçin Aşı Adayı Olarak Isıl Şoklanmış Protoskoleks Ekstrakt İle Deneysel Çalışma

Husain Hassan<sup>1</sup>, Tariq S. AL-Hadithi<sup>1</sup>, Hadi M Al-Sakee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, College of Science, Kirkuk, Iraq

## ABSTRACT

**Objective:** Cystic echinococcosis is distributed worldwide and is an important public health challenge in many countries. The present study was an experimental trial to use hydatid antigens derived from viable protoscoleces cultivated at 37 and 45°C for 4 h as a vaccine candidate for protection against hydatid infection.

**Methods:** Balb/c mice were immunized with hydatid antigens extracted from protoscoleces exposed to 37 and 45°C as well as partially purified hydatid antigens containing 30, 60, and 90 µg of heat shock protein 70 administered with or without an adjuvant.

**Results:** Crude antigens from protoscoleces exposed to 37°C conferred non-significant immunity with protection and reduction rates that ranged from 0% to 25% and 77.69% to 98.38%, respectively. In mice receiving crude antigens from protoscoleces exposed to 45°C, the protection and reduction rates ranged from 0% to 66.66% and 94.62% to 98.92%, respectively. The purified antigen from protoscoleces exposed to 45°C conferred significant immunity with absolute protection observed in mice immunized with 60 and 90 µg of the antigen combined with the adjuvant. Immunological parameters (anti-hydatid antibody titer and lymphocyte transformation %) showed a negative correlation with the number of cysts. The assessment of renal and liver functions showed non-significant differences ( $p>0.05$ ) in comparison with the liver and renal functions of non-immunized mice of the negative control group.

**Conclusion:** Purified hydatid antigens containing heat shock protein 70 confer high levels of protection against hydatid infection in mice (*Türkiye Parazit Derg* 2016; 40: 1-8).

**Keywords:** Heat shock protein, Protoscoleces, Hydatid disease.

**Received:** 12.11.2014

**Accepted:** 06.02.2016

## ÖZ

**Amaç:** Kistik ekinokokkoz tüm dünyada yayılmaktadır ve birçok ülkede görülen önemli bir halk sağlığı problemidir. Bu çalışma hidatik kist enfeksiyonuna karşı bir aşı adayını, 37 ve 45°C'de 4 saatte üretilen canlı protoskolekslerden türemiş hidatik antijenler kullanılarak yapılan deneysel bir çalışmadır.

**Yöntemler:** Balb/c fareler, bir adjuvanla ya da adjuvansız uygulanan ısı şoklanmış 30, 60 ve 90 µg protein 70 içeren kısmen purifiye hidatik kist antijenlerinin yanı sıra, 37 ve 45°C'ye maruz kalmış protoskolekslerden elde edilen hidatik antijenlerle immünize edildiler.

**Bulgular:** 37°C'ye maruz kalmış protoskolekslerden elde edilen ham antijenlerle, koruma ile anlamlı olmayan immünite ve sırasıyla %25 ve %77,69 ile %98,38 arasında değişen azalma oranları ortaya konuldu. 45°C'ye maruz kalmış protoskolekslerden elde edilen ham antijenler verilen farelerde, koruma ve azalma oranları sırasıyla %0 ile %66,66 ve %94,62 ile %98,92 arasında değişiklik gösterdi. 45°C'ye maruz kalan protoskolekslerden elde edilen purifiye (saflaştırılmış) antijen, adjuvan ile kombine 60 ve 90 µg antijenle immünize edilmiş farelerde gözlenen mutlak koruma ile birlikte anlamlı bir immünite ortaya koymuştur. İmmünolojik parametreler (anti-hidatik kist antikor titresi ve lenfosit transformasyon %) kist sayısı ile negatif bir korelasyon göstermiştir. Negatif kontrol grubundaki immünize olmamış farelerin karaciğer ve böbrek fonksiyonları ile kıyaslandığında, böbrek ve karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesinde anlamlı olmayan farklılıklar bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Isıl şoklanmış protein 70 içeren purifiye hidatik antijenler, farelerde hidatik kist enfeksiyonuna karşı koruma sağlamaktadırlar. (*Türkiye Parazit Derg* 2016; 40: 1-8)

**Anahtar Kelimeler:** Isıl şoklanmış protein, Protoskoleks, Hidatik kist hastalığı.

**Geliş Tarihi:** 12.11.2014

**Kabul Tarihi:** 06.02.2016

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Husain Hassan. E.mail: husain758@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.3993

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

## INTRODUCTION

Cystic echinococcosis is distributed worldwide and is an important public health challenge in many countries (1-6). In Iraq, the disease is regarded as one of the most important public health and socioeconomic problems (7-9).

In endemic areas, serious steps should be taken toward to prevent and control the disease, including the designing of studies focusing on the development of vaccine candidates derived from parasite tissues. In Iraq, many studies have been conducted in this field, most of which have tried to use attenuated protoscoleces (10-11). Other investigators have tried to use excretory/secretory antigens or antigens derived from hydatid fluid as vaccine candidates for protection against hydatid disease (12).

Recently, heat shock proteins, which are a family of proteins expressed in all living cells when exposed to stressful conditions such as high temperature, irradiation, and infection, have attracted the attention of immunologists (13-17). These proteins have been found to function as molecular chaperones, preventing the stress-induced aggregation of partially denatured proteins and promoting their return to the native conformation (18-19). Currently, there is a great deal of interest in developing vaccines using heat shock protein fusion proteins that would generate powerful immune responses in the absence of adjuvants (4, 16, 20). This research was conducted to study the immunogenicity of hydatid antigens derived from heat-shocked protoscoleces and the possibility of using such antigens as vaccine candidates for providing immunity against hydatid infection.

## METHODS

### **In vitro cultivation of protoscoleces for the expression of heat shock protein 70**

The procedure described by Martinez et al. (21) was followed. Briefly, protoscoleces were aseptically collected from the infected livers of sheep slaughtered in a slaughterhouse in Erbil. The viability of the protoscoleces was assessed prior to cultivation by methylene blue exclusion and flame cell biting. Only those batches of protoscoleces with 95%-99% viability were subjected to cultivation. Two batches of 25000 protoscoleces per 3 mL of medium 199 (HIMEDIA, India) were separately incubated at 37 and 45°C for 4 h. At the end of the incubation, the medium was removed and the precipitated heat-shocked protoscoleces were washed three times with cold PBS (0.15 M; pH 7.2) and stored at -70°C until further use.

A protoscolex extract solution was prepared as described by Seyyedi et al. (22). Heat-shocked (37 or 45°C) protoscoleces were thawed and washed three times with cold PBS (0.15 M; pH 7.2). Protoscoleces in three volumes of homogenizing buffer [10 mM EDTA, 2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (Sigma), 0.15 M NaCl, and 50 mM Tris; pH 7.5] containing 0.5% (v/v) Triton X-100 were freeze-thawed in three cycles of 10 min in liquid nitrogen followed by 10 min in a water bath at 37°C; they were then homogenized by a homogenizer in an ice bath, and finally, the homogenized protoscoleces were disintegrated by a sonicator. The homogenized and sonicated protoscoleces were then centrifuged at 5000g for 30 min at 4°C. The supernatant (preparation 1, 37°C, 1, 45°C) was then aliquoted and stored at -70°C until further use as a crude vaccine preparation.

### **Partial purification of hydatid antigens containing heat shock protein 70 by column chromatography**

A Sephadex G-150 column (1.5×45 cm; Pharmacia Fine Chemicals) was prepared as described by Hotzhaner (23). After the gel settled, the column was eluted with 4-fold PBS at pH 7.4. The protoscolex extract solution (crude preparation 1, 45°C) was run through the column and eluted with PBS (pH 7.4) at 4°C. Fractions of 3 mL of eluted fractions were collected in sterile capped plastic tubes. The optical density of each fraction was recorded by a digital spectrophotometer at a wavelength of 280 nm. The fractions were then aliquoted, labeled, and stored at -70°C until further use.

### **Detection of heat shock protein 70 in the column chromatography, eluted fractions**

An indirect hemagglutination test (IHT) as described by other workers (24) was performed for the detection of heat shock protein 70 in the eluted fractions. The eluted fractions that gave absorbance at 280 nm UV spectrophotometer were adsorbed on sheep red blood cells as a source of heat shock protein 70 antigens and were detected by monoclonal anti-heat shock protein 70 (Sigma, USA). The fractions that gave positive reactions for heat shock protein 70 were used as purified hydatid antigens containing heat shock protein 70 (preparation 2, 45°C). The protein content in the extract solutions was determined by the method described by Lowry et al. (25).

### **Immunization protocol**

Balb/c mice, males and females aged 6-8 weeks with body weight ranging between 18.5 and 27.5 g, were used for the immunization experiments. The immunization protocol was conducted as described by others (26). Briefly, in experiment 1, three groups each of 12 mice were subcutaneously injected with 0.1 mL of normal saline (0.85%) containing 30, 60, or 90 µg of preparation 1 (37°C) mixed with 0.1 mL of Freund's complete adjuvant (FCA) for the first immunization. The second immunization was conducted after 4 weeks with the same preparation, with the only difference being that the FCA adjuvant was replaced by Freund's incomplete adjuvant (FIA). Further, three groups of 12 mice each were subcutaneously injected with 0.2 mL of normal saline containing 30, 60, or 90 µg of preparation 1 (37°C) without the adjuvant for both immunization protocols.

In experiments 2 and 3, the protocol above is repeated with the preparations 1 (45°C) and 2 (45°C), respectively.

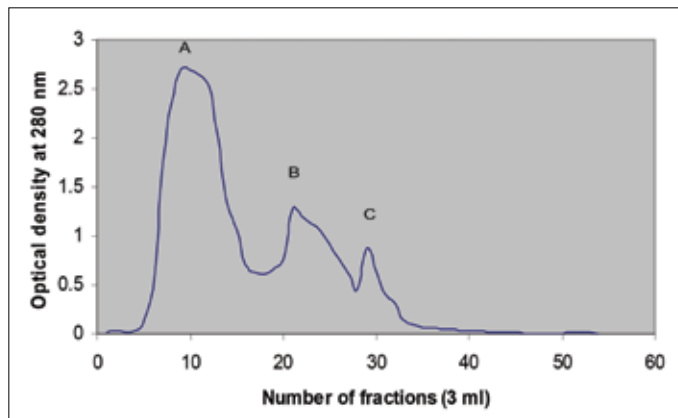
### **Control groups**

1. Adjuvant control: A group of 12 mice were subcutaneously injected with 0.1 mL normal saline mixed with 0.1 mL of FCA for the first immunization. The second immunization was conducted after 4 weeks with same preparation, with the only difference being that FCA was replaced by FIA.

2. Positive control: A group of 12 mice were subcutaneously injected with 0.2 mL of normal saline for both immunization protocols. After 4 weeks, the mice were intraperitoneally challenged with 2000 protoscoleces.

3. Negative control: A group of 12 mice were subcutaneously injected with 0.2 mL of normal saline for both immunization protocols.

Four weeks after the last immunization, blood samples were collected by cardiac puncture from 4-5 mice of each group; then, all groups, except the negative control group, were intraperitoneally injected with 0.2 mL of normal saline containing 2000 protoscoleces as described by Dematteis et al. (27). All mice were killed 90 days after the administration of the challenge dose. The internal organs were examined for secondary hydatid cysts. The site and number of cysts were determined, and the size of each cyst was measured using a ruler. Infected organs and cysts were fixed in formal saline (10%) for histopathological examinations.



**Figure 1.** Elution pattern of extracts of 45°C treated protoscoleces, passed through Sephadex G-150 column (1.5x45 cm).

**Table 1.** Reduction rate of secondary hydatid cysts, protection rate, number and size of cysts in mice immunized with hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to 37 °C for 4 hours.

Experimental groups	No. of mice	No. of infected mice	No. of cysts (Mean±SD)	Mean of cyst size±SD(mm)	Protection (%)	Reduction of cysts (%)
Immunized with 30 µg plus adjuvant	4	4	83 (20.75±15.33) (p<0.05)	0.77±0.8 (p<0.01)	0	77.69
Immunized with 60 µg plus adjuvant	4	3	10 (2.5±1.91) (p<0.05)	0.67±1.2 NS	25	97.3
Immunized with 90 µg plus adjuvant	4	3	24 (6±6.37) (p<0.05)	0.86±0.84 (p<0.01)	25	93.54
Immunized with 30 µg	6	6	9 (1.5±0.54) (p<0.05)	0.1±0 (p<0.01)	0	98.38
Immunized with 60 µg	7	6	16 (4±2.29) (p<0.05)	0.28±0.3 NS	14.28	95.69
Immunized with 90 µg	5	4	11 (2.2±1.92) (p<0.05)	0.62±0.7 (p<0.05)	20	98.03
Immunized with adjuvant	6	6	153 (25.5±12.75)	0.43±0.48	0	72.5
Positive control	4	4	372 (93±4.05)	0.42±0.5	0	

NS: Non- significant (P>0.05)

### Immunological parameters

A- The lymphocyte transformation test (LTT) was performed as described by Shubber et al. (28).

B-IHT was performed for the detection of anti-hydatid antibodies in the sera of mice. The procedure described by Parija and Ananthkrishnan (24) was followed.

### Assessment of liver and renal functions

Commercial kits from Biolabo Reagents (France) were used for the determination of liver-related enzyme, alanine aminotransaminase, and aspartate aminotransaminase activities in the sera of experimental mice. Renal function was assessed by the estimation of blood urea levels using a commercial kit provided by bioMerieux (France).

### Statistical analysis

Student's t-test was used for the comparison of the number and size of cysts between the positive control and immunized groups. The correlation coefficient (r) was calculated between immunological parameters and number of cysts. Reduction and protection rates were calculated as described by Piacenza et al. (29). P≤0.05 was considered to be statistically significant.

## RESULTS

### Partial purification of heat shock protein 70

The chromatography pattern of hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to 45°C is shown in Figure 1, in which three protein peaks (A, B, and C) are observed. Peaks A (frac-

tions 6-18), B (fractions 19-28), and C (fractions 29-32) were collected from Sephadex G-150. All these fractions were examined by IHT for heat shock protein 70 using monoclonal anti-heat shock protein 70. Heat shock protein 70 was detected in peaks A and B in fractions 8 and 20-25.

### Immunization study

Mice receiving hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to 37°C (preparation 1) showed a relatively minimum resistance to infection with protection and reduction rates ranging from 0% to 25% and 77.69% to 98.38%, respectively. The size of secondary hydatid cysts showed no significant difference ( $p > 0.05$ ) in mice receiving 60 µg of the antigen with the adjuvant and 90 µg of the antigen without the adjuvant. In the other groups receiving preparation 1 (37°C), the size of developed cysts was significantly reduced ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) respectively than that developed in the positive control group and in the mice immunized with the adjuvant alone (Table 1).

Mice immunized with preparation 1 (45°C) showed relatively moderate resistance to infection with protection and reduction rates ranging from 0% to 66.66% and 94.62% to 98.92%, respectively. The number of developed cysts was significantly ( $p < 0.05$ ) less than that developed in the positive control group and mice immunized with the adjuvant alone. The size of developed cysts was variable and showed significant difference in mice receiving 30 and 90 µg of the antigen with the adjuvant ( $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ , respectively) and 60 µg of the antigen without the adju-

vant ( $p < 0.01$ ) in comparison with the size of cysts developed in the positive control group (Table 2).

In the other experimental groups immunized with preparation 2 (45°C), the immunization protocol conferred higher protection and reduction rates, with absolute protection observed in mice immunized with 60 and 90 µg of the antigen with the adjuvant. The size of developed cysts was also significantly reduced ( $p < 0.01$ ) in all mice receiving preparation 2 (45°C) in comparison with that developed in the positive control group and mice immunized with the adjuvant alone (Table 3).

Liver and renal function assessment is shown in Tables 4, 5, and 6. Non-significant differences ( $p > 0.05$ ) in biochemical parameters were observed between the immunized mice and negative control group.

The results of immunological parameters are shown in Table 7. There was a negative correlation between number of cysts and both immunological parameters, LTT ( $r = -0.0695$ ) and anti-hydatid antibody titers by IHT ( $r = 0.1042$ ).

### DISCUSSION

Because the intermediate hosts for *Echinococcus granulosus* including humans show little or no natural resistance to infection with hydatid disease, many attempts have been made to stimulate the immune responses in murine models (13, 26, 30-32) and sheep (33, 34) to develop immunity against hydatid infection. In this study, we found that the subcutaneous injection of mice with

**Table 2.** Reduction rate of secondary hydatid cysts, protection rate, number and size of cysts in mice immunized with hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to 45°C for 4 hours.

Experimental groups	No. of mice	No. of infected mice	No. of cysts (Mean±SD)	Mean of cyst size±SD(mm)	Protection (%)	Reduction of cysts (%)
Immunized with 30 µg plus adjuvant	6	6	30 (5.0±3.3) ( $p < 0.05$ )	0.26±0.19 ( $p < 0.01$ )	0	94.62
Immunized with 60 µg plus adjuvant	6	4	12 (2.0±3.09) ( $p < 0.05$ )	0.65±0.64 NS	33.33	97.84
Immunized with 90 µg plus adjuvant	4	2	4 (1±1.41) ( $p < 0.05$ )	0.28±0.17 ( $p < 0.05$ )	50	98.92
Immunized with 30 µg	6	3	25 (4.16±7.86) ( $p < 0.05$ )	0.41±0.44 NS	50	95.52
Immunized with 60 µg	6	4	20 (3.33±3.72) ( $p < 0.05$ )	0.21±0.15 ( $p < 0.01$ )	33.33	96.41
Immunized with 90 µg	6	2	7 (1.16±2.4) ( $p < 0.05$ )	0.4±0.42 NS	66.66	98.75
Immunized with adjuvant	6	6	153 (25.5±12.75)	0.43±0.48	0	72.5
Positive control	4	4	372 (93±40.05)	0.42±0.5	0	

NS: Non- significant (P > 0.05)



**Table 3.** Reduction rate of secondary hydatid cysts, protection rate, number and size of cysts in mice immunized with partially purified hydatid antigens, containing heat shock protein 70, derived from protoscoleces exposed to 45 C° for 4 hours.

Experimental groups	No. of mice	No. of infected mice	No. of cysts (Mean±SD)	Mean of cyst size±SD(mm)	Protection (%)	Reduction of cysts(%)
Immunized with 30 µg plus adjuvant	5	1	3 (0.6±1.34) (p<0.05)	0.1±0 (p<0.01)	80	99.35
Immunized with 60 µg plus adjuvant	6	0	0 (p<0.05)	0 (p<0.01)	100	100
Immunized with 90 µg plus adjuvant	6	0	0 (p<0.05)	0 (p<0.01)	100	100
Immunized with 30 µg	5	4	11 (2.2±2.16) (p<0.05)	0.15±0.07 (p<0.01)	20	97.63
Immunized with 60 µg	6	2	6 (1.0±1.55) (p<0.05)	0.15±0.08 (p<0.01)	66.66	98.92
Immunized with 90 µg	4	3	10 (2.5±1.73) (p<0.05)	0.17±0.1 (p<0.01)	25	97.31
Immunized with adjuvant	6	6	153 (25.5±12.75)	0.43±0.48	0	72.5
Positive control	4	4	372 (93±40.05)	0.42±0.5	0	

**Table 4.** Biochemical parameters in the sera of mice immunized with hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to 37 C° for 4 hours.

Experimental groups	ALT activity (IU/ml)	AST activity (IU/ml)	Blood urea (mg/dl)
Immunized with 30 µg plus adjuvant	38.23±15.1 NS	67.21±19.5 NS	40.47±5.19 NS
Immunized with 60 µg plus adjuvant	41.55±0.49 NS	79.97±6.89 NS	40.47±5.19 NS
Immunized with 90 µg plus adjuvant	25.49±8.4 NS	74.73±28.6 NS	28.86±8.28 NS
Immunized with 30 µg	40.16±23.2 NS	76.29±13.1 NS	33.5±10.14 NS
Immunized with 60 µg	22.35±1.97 NS	45.75±4.9 NS	33.9±13.34 NS
Immunized with 90 µg	40.86±2.47 NS	78.22±4.9 NS	25.99±3.06 NS
Immunized with adjuvant	46.79±0.49	83.63±1.23	33.54±7.22
Negative control	39.89±5.2	83.28±8.3	31.2±2.6

NS: Non- significant (P > 0.05)

hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to 37°C, which is the normal physiological temperature of the hosts, conferred no significant protection in mice challenged with 2000 viable protoscoleces. This might be due to the fact that the protoscoleces extract solution contains a mixture of T-independent and -dependent antigens that can stimulate the host immune

system to produce high levels of both protective and non-protective immunoglobulins (35, 36). Baz et al. (37) have shown that protoscoleces somatic antigens induce the production of all classes and subclasses of immunoglobulins, except IgG3, in CD4+ depleted mice. On the other hand, Dematteis et al. (27) have shown that the sera of mice experimentally infected with viable

**Table 5.** Biochemical parameters in the sera of mice immunized with hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to 45 C° for 4 hours.

Experimental groups	ALT activity (IU/ml)	AST activity (IU/ml)	Blood urea (mg/dl)
Immunized with 30 µg plus adjuvant	51.21±0.98 NS	92.88±25.2 NS	34.22±4.7 NS
Immunized with 60 µg plus adjuvant	49.93±6.4 NS	84.86±10.9 NS	35.34±12.7 NS
Immunized with 90 µg plus adjuvant	39.98±7.2 NS	81.36±0.5 NS	37.44±8.3 NS
Immunized with 30 µg	39.43±1.9 NS	84.68±4.7 NS	39.3±20.5 NS
Immunized with 60 µg	47.83±1.5 NS	68.1±4.9 NS	47.79±25.5 NS
Immunized with 90 µg	33.69±10.6 NS	79.1±2.7 NS	38.62±11.5 NS
Immunized with adjuvant	46.79±0.49	83.63±1.23	33.54±7.22
Negative control	39.89±5.2	83.28±8.3	31.2±2.6

NS: Non- significant (P>0.05)

**Table 6.** Biochemical parameters in the sera of mice immunized with hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to 45 C° for 4 hours.

Experimental groups	ALT activity (IU/ml)	AST activity (IU/ml)	Blood urea (mg/dl)
Immunized with 30 µg plus adjuvant	46.82±10.3 NS	86.1±2.2 NS	30.0±10.4 NS
Immunized with 60 µg plus adjuvant	38.58±14.5 NS	86.42±13.5 NS	28.65±6.1 NS
Immunized with 90 µg plus adjuvant	27.93±0.99 NS	76.47±1.5 NS	33.2±3.9 NS
Immunized with 30 µg	41.38±10.1 NS	81.71±6.9 NS	34.38±6.75 NS
Immunized with 60 µg	35.42±5.3 NS	81.19±3.2 NS	32.42±0.7 NS
Immunized with 90 µg	55.68±2.2 NS	71.1±15.5 NS	32.7±1.4 NS
Immunized with adjuvant	46.79±0.49	83.63±1.23	33.54±7.22
Negative control	39.89±5.2	83.28±8.3	31.2±2.6

NS: Non- significant (P>0.05)

protoscoleces contain significant levels of immunoglobulins specific to the carbohydrate epitopes of protoscoleces somatic antigens that play a key role in the activation of the non-protective TH2 arm of the immune response. Therefore, in spite of the production of anti-hydatid antibodies and the relatively high percentages of lymphocyte transformation in mice immunized with preparation 1 (37°C), the animals showed low protection rates because these immune elements may be non-protective.

This study revealed that mice immunized with 60 and 90 µg of purified heat-shocked protoscoleces antigens combined with the adjuvant showed a 100% protection rate. Such high rates of protection and reduction in these groups may be explained by the

fact that protoscoleces cells, like other eukaryotic cells, are responding to elevated temperature by increasing the synthesis of various proteins including heat shock proteins (38, 39). The most striking example of this is *Escherichia coli* heat shock proteins, which account for 1.6% of the total cell protein under normal growth conditions and can accumulate to 15% of the total protein after heat shock (38). The efficacy of hydatid antigens derived from protoscoleces exposed to heat shock is related to the synthesis of various proteins and heat shock proteins. These proteins have been shown to induce the synthesis of pro-inflammatory cytokines such as TNF alpha, interleukin-1, interleukin-6, and interleukin-12; the release of nitric oxide and C-C chemokines by macrophages, monocytes, and dendritic

**Table 7.** Lymphocyte transformation test and anti-hydatid antibody titer by indirect hemagglutination test results in experimental mice

	Experimental groups	LTT percent	IHT titer
Immunized with preparation 1,37°C (crude)	30 µg with adjuvant	15.035	4
	60 µg with adjuvant	16.88	8
	90 µg with adjuvant	11.57	8
	30 µg without adjuvant	19.75	8
	60 µg without adjuvant	12.43	8
	90 µg without adjuvant	8.97	8
Immunized with preparation 1,45°C (crude)	30 µg with adjuvant	21.05	16
	60 µg with adjuvant	14.69	8
	90 µg with adjuvant	9.76	8
	30 µg without adjuvant	24.61	16
	60 µg without adjuvant	23.83	4
	90 µg without adjuvant	10.99	4
Immunized with preparation 2,45°C (purified)	30 µg with adjuvant	24.51	8
	60 µg with adjuvant	25.71	4
	90 µg with adjuvant	18.39	4
	30 µg without adjuvant	24.14	8
	60 µg without adjuvant	24.96	4
	90 µg without adjuvant	4.41	4
Immunized with adjuvant alone		4.9	Negative
Negative control		4.75	Negative
NS: Non- significant (P > 0.05)			

cells (40); and the maturation of dendritic cells through the induction of the upregulation of MHC I, MHC II, CD86, and CD40 (18). Another important role of heat shock protein 70 is that it acts as a CD40 ligand and binds to CD40 on dendritic cells and macrophages, inducing the synthesis of interleukin-12, which stimulates the development of the TH1 subset of lymphocytes and enhances TH1, CD8+ TC, and natural killer cells to produce gamma interferon. Gamma interferon stimulates the protective mechanisms of the immune system by inducing class switching into IgG1 and IgG3; upregulating MHC I, MHC II, and co-stimulatory molecules on antigen-presenting cells; and enhancing the microbicidal activity of phagocytes (41, 42).

Mice receiving the purified hydatid antigen containing heat shock protein 70 showed more resistance than those immunized with crude heat-shocked protoscoleces antigens, which may be due to the presence of many immunomodulators such as T-independent antigens and major specific hydatid antigens such as antigen B (120–160 KDa), which is an important immunomodulator and potent activator of the non-protective TH2 arm of the immune response (43). High levels of this antigen, because of its relatively large size, were removed during gel fil-

tration, and only those hydatid antigens, including antigen 5, with a molecular weight of approximately 70 KDa were eluted in same fractions with heat shock protein 70.

This study suggests that incubation of viable protoscoleces in 45°C for 4 h induces the overexpression of various antigens including heat shock proteins, heat shock protein 70 in particular, which can be used as a vaccine candidate for protection against hydatid infection in mice. Designing experiments to study the efficacy of antigens prepared from heat-shocked protoscoleces in the protection of other hosts such as sheep against challenge infection with viable eggs or oncospheres of *E. granulosus* is recommended.

**Ethics Committee Approval:** N/A

**Informed Consent:** N/A

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.; Design - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.; Supervision - H.H., T.S.A.H.; Funding - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.; Materials - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.; Data Collection and/or Processing - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.; Analysis and/or Interpretation - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.; Literature Review - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.; Writer - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.; Critical Review - H.H., T.S.A.H., H.M.A.S.

**Acknowledgments:** We would like to thank the veterinarians and meat inspection staff at the slaughter house in Erbil for their help in collecting hydatid cyst samples from slaughtered sheep and the manager and workers of the animal house of the College of Medicine, Hawler Medical University, for their help in keeping and breeding the experimental mice.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

**Etik Komite Onayı:** Gerek yoktur.

**Hasta Onamı:** Gerek yoktur.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.; Tasarım - Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.; Denetleme - Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi.; Kaynaklar - Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.; Malzemeler - Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.; Veri Toplanması ve/veya işleme - Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.; Analiz ve/veya Yorum - Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.; Literatür taraması - Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.; Yazıyı Yazan - x.x Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.; Eleştirel İnceleme - x.x Hussain F. Hassan., Tariq S. AL-Hadithi., Hadi M Al-Sakee.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

## REFERENCES

1. Matossian RM, Rickard MD, Smyth JD. Hydatidosis: a global problem of increasing importance. Bull World Health Organ 1977; 55: 499-507.
2. Macpherson CN, Craig PS, Romig T, Zeyhle E, Watschinger H. Observations on human echinococcosis (hydatidosis) and evaluati-

- on of transmission factors in the Maasai of northern Tanzania. *Ann Trop Med Parasitol* 1989 Oct; 83: 489-97.
3. Craig PS, Deshan L, Macpherson CN, Dazhong S, Reynolds D, Barnish G, Gottstein B, Zhirong W. A large focus of alveolar echinococcosis in central China. *Lancet* 1992 Oct 3; 340: 826-31. [\[CrossRef\]](#)
  4. el-On J, Khaleel E, Malsha Y, Nahmias, J Schantz P, Sneir R, Ben-Ismael R, Furth M, Hoida G. *Echinococcus granulosus*: a sero-epidemiological survey in northern Israel using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1997; 91: 529-32. [\[CrossRef\]](#)
  5. Moro PL, McDonald J, Gilman RH, Silva B, Verastegui M, Malqui V, Lescano G, Falcon N, Montes G, Bazalar H. Epidemiology of *Echinococcus granulosus* infection in the central Peruvian Andes. *Bull World Health Organ* 1997; 75: 553-61.
  6. Darani HY, Avijgan M, Karimi K, Manouchehri K, Masood J. Sero-epidemiology of hydatid diseases in Chahar mahal va Bakhtiari province, Iran. *Iran J Pub Health* 2003; 32: 31-3.
  7. Al-Jeboori T. Hydatid disease: a study of the records of the Medical City Hospital. *J Fac Med Baghdad* 1976; 18: 64-75.
  8. Mahmoud SS, Al-Janab BM. Hydatid disease in children and youths in Mosul, Iraq. *Ann Trop Med Parasitol* 1983; 77: 327-8.
  9. Al-Autabi JRZ. Hydatid disease: a retrospective study of three hospitals in Baghdad during 1994-1999. *J Fac Med Baghdad* 2002; 44: 514-21.
  10. Saeed IS. Immunization of mice against *Echinococcus granulosus* by using protoscoleces exposed to ultraviolet irradiation. MSc thesis. Salahaddin University, Iraq; 1988.
  11. Al- Masudi HR. Effect of ultraviolet irradiation and gamma ray on the viability of *Echinococcus granulosus* protoscoleces. MSc thesis. Baghdad University, Iraq; 1989.
  12. Al-Aubaidy AEM. Protection of balb/c mice against hydatid cyst infection using antigens extracted from hydatid fluid and protoscoleces of *Echinococcus granulosus*. MSc thesis. Al-Mustansyria University, Iraq; 1996.
  13. Al-Azzawy AA. Comparative study for protection of balb/c mice and white hamster against hydatid cysts using excretory/secretory antigen of protoscoleces and hydatid fluid antigens. MSc thesis. Baghdad University, Iraq; 1999.
  14. Todryk S, Melcher AA, Hardwick N, Linardakis E, Bateman A, Colombo MP, Stoppacciaro A, Vile RG. Heat shock protein 70 induced during tumor cell killing induces Th1 cytokines and targets immature dendritic cell precursors to enhance antigen uptake. *J Immunol* 1999; 163: 1398-408.
  15. Deepe GS Jr, Gibbons RS. Cellular and molecular regulation of vaccination with heat shock protein 60 from *Histoplasma capsulatum*. *Infect Immun* 2002; 70: 3759-67. [\[CrossRef\]](#)
  16. Li Z, Qiao Y, Liu B, Srivastava P. Heat shock protein 70-based vaccine stimulates both innate and adaptive immunity against chronic myeloid leukemia. *ASCO Annual Proceedings. J Clin Oncol* 2004; 22: Supplement. Abstract Number 2515.
  17. Liso A, Benedetti R, Faqioli M, Mariano A, Falini B: Modulatory effects of mycobacterial heat-shock protein 70 in DNA vaccination against lymphoma. *Haematologica* 2005; 90: 60-5.
  18. Ye Z, Gan YH. Flagellin contamination of recombinant heat shock protein 70 is responsible for its activity on T cells. *J Biol Chem* 2006; 282: 4479-84. [\[CrossRef\]](#)
  19. Sun Y, MacRae TH. The small heat shock proteins and their role in human disease. *FEBS J* 2005; 272: 2613-27. [\[CrossRef\]](#)
  20. Li C, Lee J, Guy Ko Y, Kim J, Seo J. Heat shock protein 70 inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release and upstream of caspase-3 activation. *J Biol Chem* 2000; 275: 25665-71. [\[CrossRef\]](#)
  21. Martinez J, Serrano JP, Bodega G, Casado N, Caabeiro FR. Heat shock proteins HSP70 and HSP60 in *Echinococcus granulosus* protoscoleces. *Folia Parasitol (Praha)* 1999, 46: 76-8.
  22. Seyyedi MA, Farahnak A, Jalali M, Rokni MB. Study on glutathione s-transferase (GST) inhibition assay by triclabendazole I: protoscoleces (hydatid cyst; *Echinococcus granulosus*) and sheep liver tissue. *Iranian J Publ Health* 2005; 34: 38-46.
  23. Holtzhauser M, editor. *Basic methods for the biochemical lab*. Berlin: Springer; 2006.
  24. Parija SC, Ananthkrishnan N. Evaluation of stabilised cells in the indirect haemagglutination tests for echinococcosis. *J Med Microbiol* 1985; 19: 95-8. [\[CrossRef\]](#)
  25. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
  26. Hashemitabar GR, Razmi GR, Naghibi A. Protective immunity in mice with whole body of *E. granulosus*. *Iranian Biomed J* 2006; 10: 51-5.
  27. Dematteis S, Piroto F, Maques J, Nieto A, Orn A, Baz A. Modulation of the cellular immune response by a carbohydrate rich fraction from *Echinococcus granulosus* protoscoleces in infected or immunized Balb/c mice. *Parasite Immunol* 2001; 23: 1-9. [\[CrossRef\]](#)
  28. Shubber EK, AL-Allak BMA. Spontaneous chromosomal aberration and SCE in human lymphocyte. I: effect of culture condition. *Nucleus* 1989; 29: 92-8.
  29. Piacenza L, Acosta D, Basmadjian I, Dalton J, Carmona C. Vaccination with cathepsin L proteinases and with leucine aminopeptidase induces high levels of protection against fascioliasis in sheep. *Infect Immun* 1999; 67: 1954-61
  30. Molan A, Saeed I: Protection of mice against *Echinococcus granulosus* by previous inoculation with protoscoleces exposed to ultra violet irradiation. *Jpn J Parasitol* 1988; 37: 203-8.
  31. Resen FA. Studying the possibility of attenuation of protoscoleces of *Echinococcus granulosus* by laser beam. MSc thesis. Baghdad University, Iraq; 1994.
  32. Baz A, Hernandez A, Dematteis S, Carol H, Nieto A. Idiotypic modulation of the antibody response of mice to *E. granulosus* antigens. *Immunology* 1995; 87: 350- 4.
  33. Woollard DJ, Gauci CG, Heath DD, Lightowlers MW. Epitope specificities and antibody responses to the EG95 hydatid vaccine. *Parasite Immunol* 1998; 20: 535-40. [\[CrossRef\]](#)
  34. Zhang W, Li J, You H, Zhang Z, Turson G, Loukas A, McManus DP. Short report: *E. granulosus* from Xinjiang, PR China: cDNAs encoding the EG95 vaccine antigen are expressed in different life cycle stages and are conserved in the oncosphere. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68: 40-3.
  35. Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 18-36. [\[CrossRef\]](#)
  36. Ortona E, Margutti P, Delunardo F, Vaccari S, Rigano R, Profumo E, et al. Molecular and immunological characterization of the C-terminal region of a new *Echinococcus granulosus* heat shock protein 70. *Parasite Immunol* 2003; 25: 119-26. [\[CrossRef\]](#)
  37. Baz A, Richieri A, Puglia A, Nieto A, Dematteis S. Antibody response in CD4-depleted mice after immunization or during early infection with *E. granulosus*. *Parasite Immunol* 1999; 21: 141-50. [\[CrossRef\]](#)
  38. Young RA, Elliot TJ. Stress proteins, infection and immune surveillance. *Cell* 1989; 59: 5-8. [\[CrossRef\]](#)
  39. Schlesinger MJ. Heat shock proteins. *J Biol Chem* 1990; 265: 12111-14.
  40. Tsan MF, Gao B. Cytokine function of heat shock proteins. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 286: 739-44. [\[CrossRef\]](#)
  41. Abbas AK, Lichtman AH, editors. *Cellular and molecular immunology*. Fifth Edition. Philadelphia: Saunders, an imprint of Elsevier Science; 2003.
  42. Wang Y, Whittall T, McGowan E, Younson J, Kelly C, Bergmeier LA, et al. Identification of stimulating and inhibitory epitopes within the heat shock protein 70 molecule that modulate cytokine production and maturation of dendritic cells. *J Immunol* 2005; 174: 3306-16. [\[CrossRef\]](#)
  43. Rigano R, Profumo E, Bruschi F, Carulli G, Azzara A, Ioppo S, et al. Modulation of human immune response by *Echinococcus granulosus* antigen B and its possible role in evading host defenses. *Infect Immun* 2001; 69: 288-96. [\[CrossRef\]](#)



# Hatay, Burdur ve Kuzey Kıbrıs Köpeklerinde Leishmaniasisin Seroprevalansı

Seroprevalance of Leishmaniasis in Dogs from Hatay and Burdur Provinces of Turkey and Northern Cyprus

Yunus Emre Beyhan<sup>1</sup>, Bekir Çelebi<sup>2</sup>, Osman Ergene<sup>3</sup>, Mesut Mungan<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

<sup>2</sup>Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Yüksek Riskli Patojenler Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kıbrıs

<sup>4</sup>Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Parazitoloji Referans Merkez Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada, Hatay, Burdur ve Kuzey Kıbrıs köpeklerinde leishmaniasisin serolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Hatay'dan 124, Burdur'dan 49 ve Kuzey Kıbrıs'tan 105 olmak üzere toplam 278 köpekten kan alınmıştır. Serum örneklerinin diluzyonları hazırlanarak İndirek Floresan Antikor Tekniği (IFAT) ile Anti-*Leishmania* antikorlarının varlığı araştırılmıştır.

**Bulgular:** Hatay'dan bir (%0,8) ve Kuzey Kıbrıs'tan iki (%1,9) olmak üzere toplam üç köpek (%1,1) seropozitif, yine Kuzey Kıbrıs'tan bir köpek (%0,4) şüpheli pozitif bulunmuştur. Burdur ilindeki tüm köpekler ise seronegatif olarak tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Bu çalışma, Hatay ve Burdur illerinde parazitin köpeklerdeki yaygınlığı üzerine yapılan ilk araştırmadır. Hatay'da ve Kuzey Kıbrıs'ta saptanan seropozitiflikler parazitin bu bölgelerdeki varlığını göstermekte ve elde edilen sonuçlar hastalığın yaygınlığı hakkındaki verilere epidemiyolojik açıdan katkı sağlamaktadır. Daha sağlıklı verilerin elde edilebilmesi için, daha geniş köpek popülasyonları ve vektör tatarcıklar üzerinde araştırmaların yürütülmesi faydalı olacaktır. (*Türkiye Parazitol Derg* 2016; 40: 9-12).

**Anahtar Kelimeler:** *Leishmania*, Hatay, Burdur, Kuzey Kıbrıs, Köpek

**Geliş Tarihi:** 05.12.2014

**Kabul Tarihi:** 01.02.2016

## ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to investigate the seroprevalance of leishmaniasis in dogs from Hatay and Burdur provinces of Turkey and Northern Cyprus.

**Methods:** Blood was collected from a total of 278 dogs, including 124 from Hatay, 49 from Burdur, and 105 from Northern Cyprus. Dilutions of serum samples were prepared, and the presence of anti-*Leishmania* antibodies was investigated by indirect fluorescent antibody technique (IFAT).

**Results:** A total of three dogs were found to be seropositive (1.1%), one from Hatay (0.8%) and two from Northern Cyprus (1.9%). Also, one dog (0.4%) from Northern Cyprus was found to be borderline positive. All dogs from Burdur have been identified as seronegative.

**Conclusion:** This is the first research on the seroprevalance of the parasite in dogs from Hatay and Burdur. The seropositivity detected in dogs from Hatay and Northern Cyprus demonstrates the presence of the parasite in these regions, and obtained results contribute data on the prevalence of the disease in an epidemiological manner. To obtain more reliable data, it will be useful to conduct studies on wider dog populations and vector sandflies. (*Türkiye Parazitol Derg* 2016; 40: 9-12).

**Keywords:** *Leishmania*, Hatay, Burdur, Northern Cyprus, Dog

**Received:** 05.12.2014

**Accepted:** 01.02.2016

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr.Yunus Emre Beyhan. E.posta: yebeyhan@gmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4036

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org) web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org)

## GİRİŞ

Leishmaniosis; birçok omurgalı konakta görülen ve vektör dışı tatarcıklar (*Phlebotomus*, *Lutzomyia*) tarafından nakledilen zoonoz karakterli protozoer bir hastalıktır (1).

Gelişmiş ülkeler de dâhil olmak üzere tüm dünyada 98 ülkede görülmektedir. Farklı *Leishmania* türleri tarafından oluşturulan visseral, kutanöz ve mukakutanöz formları bulunmaktadır. Dünyada 310 milyon kişinin risk altında olduğu, her yıl yaklaşık 300.000 yeni visseral leishmaniasis (VL) olgusunun görüldüğü ve bunların 20.000'inin ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir (2).

Türkiye ve Kıbrıs'ın da içinde bulunduğu Akdeniz havzası ülkelerinde, VL'e sebep olan türün *Leishmania infantum* olduğu bildirilmiştir (3, 5). VL Türkiye'de çoğunlukla Ege ve Akdeniz bölgelerinde görülmekle birlikte hemen hemen bütün bölgelerimizden vakalar bildirilmiştir (6, 7). Parazitin doğadaki rezervuarlığını köpekler yapmakta ve bu hayvanlarda görülen hastalığa "Kanin Leishmaniasis" (KanL) adı verilmektedir (1, 8). Hastalığın bir bölgede endemik veya sporadik olgularla devam etmesinde köpeklerin önemli rolü olduğu gibi, hastalığın o bölgedeki durumu hakkında da bilgi vermektedir (9, 10). Türkiye'deki KanL yaygınlığı %1,45 ile %27,5 arasında değişmekte ve insan olgularından oldukça fazla oranlarda rastlanmaktadır (6, 11, 12).

KanL, klinik ve subklinik olarak seyretmektedir. Bazı endemik bölgelerde seropozitif köpeklerin %20-40 kadarı parazitin asemptomatik taşıyıcısı durumundadır ve sıklıkla diğer köpeklerle ve insanlara bulaşta rol oynamaktadırlar (13). Klinik leishmaniasisli köpeklerde kaşeksi, dermatit ve ülserasyon, lokal ve yaygın lenfadenopati, anoreksi, anemi, halsizlik ve keratokonjunktivit görülür (10). KanL için en iyi teşhis yolu, klinik belirtiler de dikkate alınarak, kemik iliği ve lenf yumrusundan hazırlanan frotilerde etkenin direkt görülmesidir. Ancak bazı durumlarda enfekte hayvanlarda etken tespit edilememektedir. Bu nedenle tanıda, hızlı ve pratik sonuç veren ve spesifik anti-*Leishmania* antikorların tespit eden serolojik testler ile *Leishmania* spp. DNA'sının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması esasına dayanan DNA tabanlı tekniklerden yararlanılmaktadır (14, 16). Serolojik olarak IFAT, ELISA, Direk Aglutinasyon Testi (DAT) ve rK39 antijeninin hızlı tanı testi sıklıkla tercih edilmektedir (5, 9, 17).

Her *Leishmania* türünün farklı vektör, rezervuar konak ve coğrafik dağılım gibi kendine özgü epidemiyolojik özellikleri bulunmaktadır. VL saptanan herhangi bir bölgede kontrol stratejilerinin

belirlenmesi için köpeklerin serolojik yöntemlerle taranarak, enfeksiyon oran ve dağılımları belirlenmelidir (9, 18).

Bu çalışma ile Hatay, Burdur ve Kuzey Kıbrıs köpeklerinde leishmaniasisin yaygınlığının serolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

Çalışma için Hatay'dan 124, Burdur'dan 49 ve Kuzey Kıbrıs'tan 105 olmak üzere toplam 278 köpekten kan alınmıştır. Kıbrıs'tan alınan örnekler Gazimağusa (32), Girne (59) ve Lefkoşa (14) ilçelerinden temin edilmiştir.

Hayvanların yaş ve cinsiyetleri kayıt altına alınmış olup, yaşlar 0-2/2-5/5-8/8 ve üzeri olmak üzere 4 kategoriye ayrılmıştır. İncelenen köpeklerin %66,2'si (184) dişi ve %33,8'i (94) erkek iken, %49,3'ü (137) 2-5 yaş arasında yer almaktadır (Tablo 1).

Kan örneklerinin serumları ayrılmış ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır. Anti-*Leishmania* antikorlarının araştırılması amacıyla köpek serumları IFAT ile incelenmiştir. Testte antijen olarak, laboratuvarımızda NNN besiyerinde kültürü yapılan ve 10% FCS'li (Fetal Calf Serum) RPMI-1640 besiyerinde çoğaltılan *Leishmania infantum* (MON-1) suşları kullanılmıştır. Bir haftalık kültür sonucu elde edilen promastigotlardan çukur lamaların her bir gözüne 10'ar µl. koyulmuş ve oda ısısında kuruması beklenmiştir. Daha önce çalışılan, pozitif ve negatif olduğu bilinen serum örnekleri de kontrol olarak kullanılmıştır. İncelenen serum örnekleri 1/16 dilüsyondan başlayarak 1/2048'e kadar sulandırılmıştır. Floresan işaretleme amacıyla 1/100 dilüsyonda hazırlanmış ticari konjugattan yararlanılmıştır (rabbit anti-dog IgG fluorescein isothiocyanate conjugate, Sigma). Lamelle kapatılan preparatlar floresan mikroskopunda (Olympus CH-40) 40X objektifle değerlendirilmeye alınmıştır. Sonuçlar pozitif ve negatif referans serumlarla karşılaştırılmış, antikor titresi 1/128 ve üzeri olanlar pozitif, 1/64 olanlar ise şüpheli pozitif olarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

İncelenen 278 köpeğin üçü (%1,1) pozitif, biri (%0,4) şüpheli pozitif olarak tespit edilmiştir. Hatay'da %0,8 (1/124), Kıbrıs'ta ise %1,9 (2/105) oranında pozitifliğe rastlanırken, Burdur ilinde hiç pozitifliğe rastlanmamıştır. Yine Kıbrıs'ta %0,95 (1/105) oranında şüpheli pozitiflik bulunmuştur.

Hatay'daki pozitiflik 1/256 oranında, Kıbrıs'ta Girne ve Gazimağusa ilçelerindeki pozitiflikler ise sırasıyla 1/128 ve 1/256 oranlarında tespit edilmiştir. Lefkoşa ilçesinde de 1/64 oranında şüpheli pozitifliğe rastlanmıştır (Tablo 2).

**Tablo 1.** Çalışmaya alınan köpeklerin yaş, cinsiyet ve bölgelere göre dağılımı

		Hatay	Burdur	Girne	Gazimağusa	Lefkoşa	Toplam (%)
Cinsiyet	Dişi	82	31	42	21	8	184 (66,2)
	Erkek	42	18	17	11	6	94 (33,8)
Yaş	0-2	12	5	-	-	-	17 (6,1)
	2-5	57	27	21	24	8	137 (49,3)
	5-8	31	13	25	4	4	77 (27,7)
	8 ve +	24	4	13	4	2	47 (16,9)
Toplam		124	49	59	32	14	278

**Tablo 2.** Seropozitif köpeklerin bölgelere göre dağılımı

Yer	Cinsiyet	Yaş	Titre
Girne	Erkek	5-7	1/256
Gazimağusa	Erkek	2-5	1/128
Lefkoşa	Dişi	2-5	1/64
Hatay	Dişi	2-5	1/256

Pozitifliğin cinsiyete göre dağılımına bakıldığında, ikisinin erkek (Girne ve Gazimağusa), birinin dişi (Hatay), şüpheli örneğin (Lefkoşa) da dişi köpeğe ait olduğu görülmüştür. Enfeksiyon yaş ilişkisi incelendiğinde, üç köpeğin 2-5 yaş, birinin de 5-7 yaş olduğu tespit edilmiştir.

## TARTIŞMA

Hatay (36° 15' Enlem, 36° 08' Boylam) Türkiye'nin en güneyinde, Akdeniz'in doğu ucunda yer almaktadır. Rakımı 85 metre, sıcaklık ortalaması 18,1°C'dir. Genel olarak kışlar ılık ve yağışlı, yazlar sıcak ve kurak geçer. Türkiye'nin yağışlı bölgeleri arasındadır ve yağış ortalaması 1109,3 Kg/m<sup>2</sup> kadardır. Burdur (37° 43' Enlem ile 30° 17' Boylam) Akdeniz Bölgesinin karasal iç tarafında, göller yöresi içinde yer almaktadır. İlin rakımı 1025 metre olup, arazisinin büyük kısmı dağlık ve engebeldir. Kış mevsimi sert ve kar yağışlı, yaz mevsimi ise kurak ve sıcak geçmektedir. Kuzey Kıbrıs (35° 12' Enlem, 33° 43' Boylam) ise, Anadolu yarımadasının 65 km güneyindeki Akdeniz'in en büyük üçüncü adası olan Kıbrıs adasının kuzey kısmında yer almaktadır. Kuzey Kıbrıs'ta tipik Akdeniz iklimi yaşanmakta, yazlar kuru ve sıcak (ortalama 30°C), kışlar ise yağışlı ve ılık geçmektedir (Ort. 10°C).

KanL'de genellikle deride ülserleşme, tırnaklarda uzama, kilo kaybı, tüylerde dökülme ve matlaşma, ateş, halsizlik, keratokonjunktivit, burun kanaması ve lenfadenopati gibi semptomlar görülmektedir. Ancak enfekte köpeklerin yaklaşık %30 kadarının asemptomatik olması (6, 19) ve bu belirtilerin diğer birçok hastalıkta da görülmesi nedeniyle KanL prevalansı sadece klinik belirtilere göre saptanamamaktadır. Tanı amacıyla öncelikle IFAT, ELISA, DAT, rK39 hızlı tanı testi gibi serolojik yöntemlerin kullanılması faydalı olmaktadır (5, 9, 17). Bu çalışmada da kullanılan IFAT'ın sensitivite ve spesifitesinin %100'e yakın ve güvenilir bir test olduğu belirtilmektedir (6, 20). Serolojik yöntemlerin kullanılmasıyla, semptomatik ve asemptomatik tüm enfekte köpeklerin tespiti mümkün olmakta ve hastalığın yaygınlığı ile ilgili daha sağlıklı veriler elde edilebilmektedir.

Hastalığın endemik olduğu Akdeniz'de KanL yaygınlığına, vektör popülasyonlarının varlığı, nem, iklim ve köpeklerin immünolojik yanıtı gibi özelliklere bağlı olarak farklı bölgelerde farklı oranlarda rastlanmaktadır. KanL enfeksiyonunun seroprevalansının Akdeniz ülkelerinde %10 civarında olduğu bildirilmektedir (21). Türkiye'de ise KanL yaygınlığı serolojik olarak birçok ilde araştırılmış ve yaygınlığın %1,45 ile %27,5 arasında değiştiği saptanmıştır (11, 12) KanL'nin yüksek oranlarda seyrettiği aynı bölgelerde insan VL olguları daha düşük oranlarda görülmektedir. İspanya, İtalya, Arnavutluk, Fas, Cezayir, Tunus ve diğer Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde yıllık VL vaka sayısı, ortalama 1,200-2,000 civarındadır (22). Türkiye'de ise 1954-1964 yılları arası 45, 1974-1980 yılları arası 74 ve 1997-2000 yılları arası 161 vaka kaydedilmiştir (23). Kıbrıs ada-

sında 1990 yılında *L. infantum* tarafından oluşturulan sporadik kutanöz leishmaniasis vakaları bildirilmiştir (24). Güney Kıbrıs'ta köpeklerde yapılan iki aşamalı serolojik bir araştırmada %1,7 ve %10 oranlarında yaygınlık tespit edilmiştir (25). İnsan ve köpekler üzerinde yürütülen bir başka çalışmada da insanlarda seropozitifliğe rastlanmazken, köpeklerdeki yaygınlığın %14,9-19,6 olduğu ve Kıbrıs'ın bazı bölgelerinde bu oranın %33'lere kadar çıktığı görülmüştür (5). Yakın zamanda Kuzey Kıbrıs'ta 83 köpek serolojik ve moleküler yöntemlerle incelenmiş, %3,61 pozitiflik ve %15,66 oranında şüpheli pozitiflik tespit edilmiştir (26). Çalışmamızda, daha önce KanL enfeksiyonunun yaygınlığı ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamış olan Hatay ilinde %0,8'lik seropozitifliğe rastlanırken, Burdur ilindeki tüm örnekler negatif olarak tespit edilmiştir. Kuzey Kıbrıs (%1,9) ve Hatay'da (%0,8) tespit edilen seropozitiflikler daha önceki çalışmalara ve endemik bölgelere göre yüksek bir oran olmasa da parazitin bu bölgelerdeki varlığını göstermesi bakımından önemlidir. Parazitle enfekte köpeklerin ortamda bulunması, enfeksiyonun insanlar ve hayvanlar arasındaki yayılımı açısından önemli bir risk faktördür. Leishmaniasis yönünden bir köpeğin sınırda seropozitif olarak tespit edilmesi, köpeğin parazitlerle karşılaşmış ve enfeksiyonun henüz gelişmediğini düşündürmekle birlikte, rezervuarlık açısından önem arz etmektedir.

Türkiye'de ve Kıbrıs adasında parazitin varlığının yanında vektörlerinin de bulunduğu bilinmektedir. Türkiye'de Akdeniz bölgesinde yapılan çalışmalarda *Phlebotomus syriacus*, *P. tobbi*, *P. sergenti*, *P. papatasi*, *P. neglectus* (18, 27, 28); Kuzey Kıbrıs'ta da *P. tobbi* ve *P. papatasi* (26) türleri yaygın olarak görülmektedir. Bu durum, bu bölgelerde hastalığın her iki klinik tipinin de (VL, CL) görülebileceğini ve etkenlerin geniş popülasyonları etkileyebileceğini göstermektedir.

Bir bölgede leishmaniasisin köpeklerdeki yaygınlığının belirlenmesi, o bölgedeki insan enfeksiyonlarının en önemli belirleyicilerindedir. Vakaların önemli kısmının köpeklerde asemptomatik seyretmesinden dolayı, seropozitif köpeklerin tespiti ve tedavi edilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, bu bölgelerde hastalığın belirtilerinden bir veya birkaçını gösteren şüpheli kişilerde serolojik testlerin kullanılması da tanıya yardımcı olacaktır.

## SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, hastalığın yayılımı hakkındaki verilere epidemiyolojik anlamda katkı sağladığı düşünülmektedir. Hatay ve Kuzey Kıbrıs'ta seropozitif köpeklerin ve uygun vektör popülasyonlarının varlığı, bu bölgelerin insanlarda leishmaniasis açısından risk taşıdığını göstermektedir. Hastalığın durumu hakkında daha sağlıklı verilerin elde edilebilmesi için, incelenecek köpek sayısının artırılması ve vektör tatarcıklar üzerinde de yeni araştırmaların yapılması faydalı olacaktır.

**Etik Komite Onayı:** Çalışma daha önce elde edilen serumlar üzerinde yapıldığı için etik kurul onayına gerek duyulmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağimsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir Y.E.B.; Tasarım - Y.E.B., M.M.; Denetleme Y.E.B.; Kaynaklar - Y.E.B., B.Ç.; Malzemeler - Y.E.B., M.M.; Veri Toplanması ve/veya işleme Y.E.B., O.E., B.Ç.; Analiz ve/veya Yorum -Y.E.B., M.M.; Literatür taraması - Y.E.B.; Yazıyı Yazan - Y.E.B.; Eleştirel İnceleme - Y.E.B.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics Committee Approval was not needed because of the study was performed on serum samples that obtained before.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - Y.E.B.; Design - Y.E.B., M.M.; Supervision - Y.E.B., B.Ç.; Materials Y.E.B., M.M.; Data Collection and/or Processing - Y.E.B., O.E., B.Ç.; Analysis and/or Interpretation - Y.E.B., M.M.; Literature Review Y.E.B.; Writer - Y.E.B.; Critical Review -Y.E.B.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

## KAYNAKLAR

- Özensoy S, Özbel Y, Turgay N, Alkan MZ, Gül K, Gilman-Sachs A, et al. Serodiagnosis and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 363-9.
- World Health Organization. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected tropical diseases. France: WHO/HTM/NTD/2013.1; 2013.
- Betini S, Gradoni L. Canine of leishmaniasis in the Mediterranean area and its implications for human leishmaniasis. *Insect Sci Appl* 1986; 7: 241-5. [\[CrossRef\]](#)
- Özbel Y, Aklan MZ, Özensoy S, Turgay N, Kron NC, Schoone GJ, et al. Kala-Azar'lı hastalardan ve Manisa civarındaki köpeklerden izole edilen *Leishmania* suşlarının Southern Blot Hibridizasyon Yöntemi ile identifikasyonu. *Türkiye Parazit Derg* 1998; 22: 1-4.
- Mazeris A, Soteriadou K, Dedet JP, Haralambous C, Tsatsaris A, Moschandreas J, et al. Leishmaniasis and the Cyprus Paradox. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 82: 441-8. [\[CrossRef\]](#)
- Ertabaklar H, Özensoy Toz SO, Özkan AT, Rastgeldi S, Balcioglu İC, Özbel Y. Serological and entomological survey in a zoonotic visceral leishmaniasis focus of north central Anatolia, Turkey: Corum Province. *Acta Trop* 2005; 93: 239-46. [\[CrossRef\]](#)
- Özbel Y, Özensoy Töz S. Leishmaniasis. Özcel MA, editör. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları* No: 22, İzmir: META Basım; 2007; 197-241.
- Özbel Y, Oksam L, Özensoy S, Turgay N, Alkan MZ, Jaffe CL, Özcel MA. Epidemiology of canine leishmaniasis in western Turkey: comparison of serological, molecular biological and parasitological procedures. *Acta Trop* 2000; 74: 1-6.
- Gradoni LM. Canine reservoir of zoonotic visceral leishmaniasis in the Mediterranean area: Epidemiology and control. Greece: Information Circular, WHO Mediterranean
- Gomes YM, Paiva Cavalcanti M, Lira RA, Abath FGC, Alves LC. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: Biotechnological advances. *Vet J* 2008; 175: 45-52. [\[CrossRef\]](#)
- Taylan Özkan A, Babür C, Kılıç S, Örgen C, Özensoy Töz S. Sakarya sokak köpeklerinde visceral leishmaniasisin indirekt fluoresan antikor (IFAT) yöntemi ile araştırılması. *Türkiye Parazit Derg* 2003; 27: 97-101
- Doğan N, Özbel Y, Töz SÖ, Dinleyici EC, Bor O. Sero-epidemiological survey on canine visceral leishmaniasis and the distribution of sandfly vectors in Northwestern Turkey: Prevention strategies for childhood visceral leishmaniasis. *J Trop Pediatr* 2006; 52: 212-7. [\[CrossRef\]](#)
- Noli C. Canine leishmaniasis. *Waltham Focus* 1999; 9: 2: 16-24.
- Marquardt WL, Demaree RJ. *Parasitology*. New York: Mc Millan Publishing Company; 1985.
- Özbel Y, Özensoy Töz S. Leishmaniasis. Korkmaz M, Ok ÜZ, editörler. *Parazitolojide Laboratuvar*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 23, Meta Basım; 2011.
- Strauss-Ayali D, Jaffe CL, Burshtain O, Gonen L, Baneth G. Polymerase chain reaction using noninvasively obtained samples, for the detection of *Leishmania infantum* DNA dogs. *J Infect Dis* 2004; 189: 1729-33. [\[CrossRef\]](#)
- Mohebalı M, Taran M, Zarei Z. Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using an immunochromatographic dipstick rK39 test and direct agglutination. *Vet Parasitol* 2004; 121: 239-45. [\[CrossRef\]](#)
- Daldal N, Üner A, Yaşarol S, Karacasu F, Yurdağül C. Ege ve Akdeniz bölgesinde görülen *Phlebotomus* türleri. *Türkiye Parazit Derg* 1989; 13: 71-84.
- Özensoy Töz S, Özbel Y, Ertabaklar H, Yıldızlı N, Korkmaz M, Alkan MZ. Comparisons of clinical findings and serological data in the diagnosis of Canine Leishmaniasis. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 269-73.
- Mancianti F, Meciani N. Specific serodiagnosis of canine leishmaniasis by indirect immunofluorescence, indirect haemagglutination, counter immunoelectrophoresis. *Am J Vet Res* 1988; 49: 1409-11.
- Teske E, van Knapen F, Beijer EGM, Slappendel RJ. Risk of infection with *Leishmania* spp. in the canine population in the Netherlands. *Acta Vet Scand* 2002; 43: 195-201. [\[CrossRef\]](#)
- Ready PD. Epidemiology of visceral leishmaniasis. *Clin Epidemiol* 2014; 6: 147-54. [\[CrossRef\]](#)
- Altıntaş N. Parasitic zoonotic diseases in Turkey. *Vet Ital* 2008; 44: 633-46.
- Desjeux P. Information of the epidemiology and control of the leishmaniasis by country or territory. World Health Organization: WHO/LEISH/91.30; 1991.
- Deplazes P, Grimm F, Papaprodromou M, Cavaliero T, Gramiccia M, Christofi G, et al. Canine leishmaniasis in Cyprus due to *Leishmania infantum* MON-1. *Acta Trop* 1998; 71: 169-78. [\[CrossRef\]](#)
- Özensoy Töz S, Ertabaklar H, Göçmen B, Demir S, Karakuş M, Arserim SK, et al. Kuzey Kıbrıs'ta kanin leishmaniasis ve kum sineklerinin epidemiyolojisi. *Türkiye Parazit Derg* 2013; 37: 107-12. [\[CrossRef\]](#)
- Houin R, Abonnenc E, Deniau M. *Phlebotomus* in the south of Turkey. Results of a sample survey. *Ann Parasitol Hum Comp* 1971; 46: 633-52.
- Atakan E, Akbaba M, Sütölk Z, Alptekin D, Demirhindi H, Kis Uludağ S. Hocallı ve Turunçlu (Adana) Köylerinde *Phlebotomus* (Diptera; Psychodidae; Phlebotominae) türlerinin popülasyon yoğunluğu ve kutanöz leishmaniasis ile ilişkisi. *Türkiye Parazit Derg* 2010; 34: 106-11.

# Prevalence of Ectoparasites of Indigenous Chickens From Dalahu Region, Kermanshah Province, Iran

İran'ın Kırmanşah İlinin Dalahu Bölgesinde, Yerli Tavuklarda Ektoparazitlerin Yaygınlığı

Mohammad Mirzaei<sup>1</sup>, Omid Ghashghaei<sup>1</sup>, Mohammad Yakhchali<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

<sup>2</sup>Department of Pathobiology, Urmia University Faculty of Veterinary Medicine, Urmia, Iran

## ABSTRACT

**Objective:** Ectoparasitism is an important factor associated with the poor production of indigenous chickens. The present study was undertaken to estimate the prevalence and ectoparasite diversity in indigenous chickens of the Dalahu region in the western part of Kermanshah province, Iran.

**Methods:** A total of 600 indigenous chickens (250 roosters and 350 hens) were randomly examined for the presence of different ectoparasites over the period April to September 2011. Ectoparasites were collected from different parts of chicken body using a hand lens, magnifying glass, and flashlights. The samples were preserved in 70% alcohol and cleared in lactophenol.

**Results:** The overall prevalence of ectoparasites was 52.8% (66% hens and 34.4% roosters) ( $p < 0.001$ ). Mixed infestation was noted in 70.34% of the chickens. The prevalence was significantly higher in young (66.3%) animals compared with older animals (39.33%) ( $p < 0.001$ ). Five species of ectoparasites were identified: *Menopon gallinae* (35.3%), *Menacanthus stramineus* (26.7%), *Argas persicus* (19%), *Dermanyssus gallinae* (11%), and *Echidnophaga gallinacea* (the "sticktight flea") (8%).

**Conclusion:** The results of the present investigation reveal that ectoparasite infestation is prevalent in this area. Further studies are recommended to evaluate the effects of the ectoparasites on indigenous chicken health and production in the region (*Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2016; 40: 13-6).

**Keywords:** Prevalence, ectoparasite, indigenous chickens, Dalahu, Iran

**Received:** 19.02.2015

**Accepted:** 10.12.2015

## ÖZ

**Amaç:** Ektoparazitler yerli tavukların üretiminin azalmasına ilişkin önemli bir faktördür. Çalışma İran'ın batı bölgesinde yer alan Kırmanşah ili Dalahu ilçesinde yerli tavuklarda Ektoparazitlerin prevalansını ve çeşitliliğini araştırmaktadır.

**Yöntemler:** Bu çalışmada 2011 yılı Nisan ile Eylül ayları içerisinde Dalahu yöresinde 600 adet yerli tavuk (250'si erkek ve 350'si dişi) olmak üzere toplanmış ve farklı ektoparazitlerin varlığı random olarak incelenmiştir. Ektoparazitler tavuk vücutlarının çeşitli kısımlarından Lenz, büyüteç ve flashlights kullanarak toplanmıştır. Örnekler %70'lik alkolde saklanmış ve laktofenolde şeffaflaştırılmıştır.

**Bulgular:** Ektoparazitlerin toplam prevalansı %52,8 (%66,3 dişi tavuk ve %34,4 horoz) saptanmıştır. Tavukların %70,34 karışık enfeksiyonları vardır. Genç tavuklarda prevalans anlamlı derecede yüksektir (%66,33), ( $p < 0.001$ ). Tavuklardan beş tür ektoparazit izole edilmiştir; sırası ile *Menopon gallinae* (%35,3), *Menacanthus stramineus* (%26,7), *Argas persicus* (%19), *Dermanyssus gallinae* (%11), ve *Echidnophaga gallinacea* (the "sticktight flea") (%8).

**Sonuç:** Bu araştırmanın sonuçları gösteriyor ki, ektoparazit enfeksiyon yaygınlığı çalışma bölgesinde yüksektir. İlave çalışmaların yapılması tavsiye edilip, ektoparazitlerin etkileri yerli tavukların sağlığı ve üretimi üzerinde analiz edilmelidir (*Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2016; 40: 13-6).

**Anahtar Kelimeler:** prevalans, ektoparazit, yerli tavuk, Dalahu, İran

**Geliş Tarihi:** 19.02.2015

**Kabul Tarihi:** 10.12.2015

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Mohammad Mirzaei E.mail: dr\_mirzaei\_mo@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4185

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.



## INTRODUCTION

Indigenous chickens can be found in almost all households in rural areas. They are considered as an important source of income, besides providing a cheap source of protein in the form of meat and eggs to rural people (1, 2). Several species of ectoparasites (e.g., flies, lice, mites, and ticks) can infest poultry (3). Recently, a few studies were conducted on ectoparasites of indigenous chicken in Iran. Eslami et al. (4) reported seven species of ectoparasites in poultry in Golestan province, North Iran. Radfar et al. (5) found three species of ectoparasites in free-range backyard chickens in the Sistan region, Southeast Iran, where the animals were infested with *Argas persicus* (16.94%), *Menopen gallinae* (55.93%), and *Menacanthus stramineus* (33.89%) (4, 5). Yakhchali et al. (6) reported the prevalence of the poultry red mite (PMR) in layer farms in the Markazi province of Iran. Ectoparasites can be found practically in all birds, where they feed on their blood, feathers, skin, and scales. They may cause a range of symptoms, including discomfort, irritation, loss of plumage, stunted growth, reduced egg production and hatchability, anemia, increased feed costs, elevated mortality, and susceptibility to other infections (7-9). In addition, ectopara-

sites transmit several infectious diseases and serve as transport or intermediate hosts for different helminthic parasites (10-11). While lice generally feed on feathers, *M. stramineus* is known to feed on blood and to carry the equine encephalomyelitis virus. In contrast, *Chlamydia psittaci*, an intracellular bacterium causing psittacosis in birds, has been isolated from *Menopen gallinae* (12, 13). Furthermore, a number of other poultry diseases, such as pasteurellosis, fowl pox, Newcastle disease, and in some cases, Chlamydia, can be spread by some species of ectoparasites, especially ticks and mites (14). *Dermanyssus gallinae* has been widely reported to transmit human and animal pathogens (e.g., viruses and bacteria) and parasites (e.g., Hepatozoon) to farmers and veterinarians (15). Therefore, poor management of these parasites and limited accessibility to relevant resources prevent efficient poultry production through output reduction and the increasing risk of disease outbreaks (16, 17). Outbreaks of ectoparasites can be controlled using good management, control, and the treatment of poultry ectoparasites infestations. The aim of this study was to determine the prevalence and species diversity of ectoparasites in indigenous chickens in Dalahu region in western Iran. In addition, information from this study may be a guide to certain control measures, for instance, in the case of cross-infections, whereby the control of parasites in one host may help in eliminating the same parasite in another host.

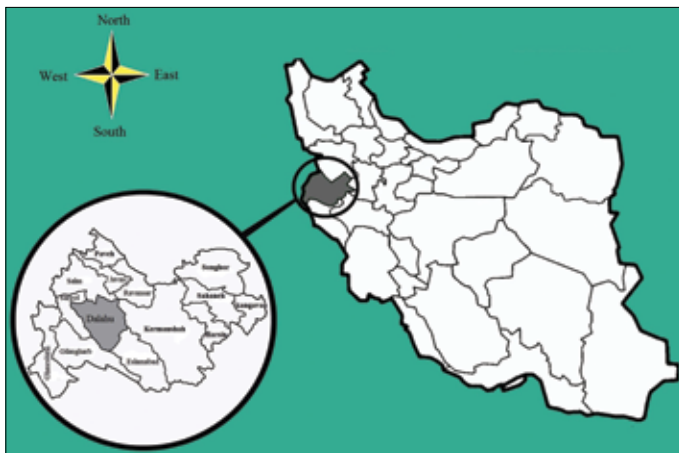
## MATERIALS AND METHODS

### Study area

Dalahu county is located in Kermanshah province (34°28'N and 46°24'E) (Fig. 1). Dalahu has a moderate and mountainous climate, with an annual rainfall of 541 mm, a relatively humidity of 45%, and an average annual temperature of 21.4°C.

### Samples and parasitological examination

During the course of the study from April to September 2011, a total of 600 indigenous chickens were examined. At the beginning of the study, the number of all indigenous chickens and their sex (350 hens and 250 roosters) and age were recorded. They were divided into two groups, namely young and old (Table 1). The chickens were crossbred and fed with insects, grass seeds, and waste products in the environment, and occasionally their diets were supplemented with various grains.



**Figure 1.** Map of sampling areas to investigate ectoparasites on the poultry of Dalahu region, Kermanshah province, Iran

**Table 1.** The prevalence of ectoparasites infestation based on age and sex in the examined poultry.

Age	No of examined poultry	No of infested poultry	Prevalence (%)	95% *CI	**P value
Young	300	199	66.33	60.68-71.67	P<0.001
Old	300	118	39.33	33.77-45.11	
Total	600	317	52.8	48.75-56.89	
Sex	No of examined poultry	No of infested poultry	Prevalence (%)	95% *CI	**P value
Female	350	231	66	60.8-70.95	P<0.001
Male	250	86	34.4	28.5-40.6	
Total	600	317	52.8	48.75-56.89	

\*CI denotes confidence interval.

\*\*The P values were calculated by Chi square test.

**Table 2.** Prevalence, predilection, and ectoparasite species diversity in the examined poultry.

Ectoparasite Species	Common predilection site	No of infested birds	Prevalence (%)
<i>Menopon gallinae</i>	feather shafts and below wings	112	35.3
<i>Menacanthus stramineus</i>	cloaca, thigh and breast region	85	26.7
<i>Argas persicus</i>	ventral abdominal area and below wings	60	19
<i>Dermanyssus gallinae</i>	cloaca, wings and Breast	35	11
<i>Echidnophaga gallinacea</i>	comb, wattles and around the ears	25	8

An aerosol (ACI) was gently sprayed over the feathers and the ectoparasites were collected after 5 min by shaking the indigenous chickens. The vent, cloacae, breast, comb, wattles, and ear areas of the animals were inspected for fleas using a magnifying glass and/or flashlights (5, 18). To collect lice, the head, neck, wings, body surface, and cloacae were thoroughly examined using a magnifying glass. To detect infestation with poultry red mite (PRM), the animals were examined during the night hours (6). Finally, the ectoparasites were preserved in 70% alcohol, cleared in lactophenol, and mounted in Canada balsam on a slide. They were identified according to their morphological characteristics using key identification as described by Soulsby (19).

**Statistical evaluation:** A statistical analysis was undertaken using the Chi-square test. Data was analyzed by SPSS software, version 16, and  $p < 0.05$  was accepted as statistically significant.

## RESULTS

Overall, 317 (52.8%) of the examined indigenous chickens were found to be infested with different species of ectoparasites. The highest infestation was found in young indigenous chickens (66.33%,  $p < 0.001$ ). The infestation was significantly higher in hens (66%) than in roosters (34.4%) ( $p < 0.001$ ) (Table 1).

The most prevalent species was *Menopon gallinae* from the feather shafts and wings (35.3%), followed by *M. stramineus* from the cloacae, thigh, and breast (26.7%), *A. persicus* from the ventral abdominal areas and wings (19%), *D. gallinae* from the cloaca, wings, and breast (11%), and *Echidnophaga gallinacea* from the comb, wattles, and around the ears (8%) (Table 2). There was mixed infestation in 70.34% with at least two species of ectoparasites.

## DISCUSSION

Poultry provide a valuable protein to the diets of people worldwide and is an important source of egg production (20). Many kinds and species of ectoparasites are known to infest chicken, e.g., flies, lice, mite, and ticks. Ectoparasites damage feathers and irritate and cause skin lesions, resulting in reduced performance of old chickens and direct harm to young chicks (10). Controlling ectoparasites in poultry flocks results in healthier and more economically productive birds for the pleasure and benefit of rural families (21). In the present study, the overall prevalence was moderate in examined indigenous chickens, and indeed, the prevalence of ectoparasites in indigenous chickens was slightly lower than that reported in other studies from different parts of the world, i.e., 95.8% in Kenya (22) and 88.4% in China (23), while it was higher than that reported in Nigeria (41%) (14) and Ethiopia (2.6%) (24). The differences may be due to pesticide

application, geographical distribution, climatic conditions, and management systems. In addition, it might be associated with the poor hygienic practice in rural regions, which creates a favorable environment for parasites and the free-range system, which provides a more sustainable environment for the parasites (22, 25, 26). In this study, there were significant differences between prevalence in the different age groups of the examined indigenous chickens. This is not in accordance with other researches in Zimbabwe (2) and Nigeria (27), who reported that old indigenous chickens were more infested compared with younger ones. The result of this study indicates that young chickens could be more susceptible to parasitic infestation compared with old ones. This disparity among the findings might be due the variations in the study methods, geo-climatic condition of the research, immune response of the poultry to ectoparasitic infestation, implemented methods of disease control, and/or prevention and management systems applied (2, 22, 25).

The infestation was significantly higher in hens. This is not in accordance with the work of Mungube et al. (26), who reported a higher occurrence of ectoparasites infestation in roosters (26); however, in Nigeria, hens had a higher infestation rate than roosters (22, 28). One of the reasons could be the stationary state of hens during the incubation of their eggs, which makes them more susceptible to parasitic infestations. In addition, roosters could transmit parasites during mating and the odor that hens emit during incubation may attract parasites (22, 28).

The species diversity and prevalence were similar to those previously reported in other studies (2, 4, 5, 14, 29)

From the results of this work, it can be concluded that further studies are needed to determine the direct and indirect economic losses of ectoparasite infestation in the region. Furthermore, the role of the ectoparasites on the outbreaks of concurrent parasitic infection as well as on bacterial and viral infections should be determined.

**Ethics Committee Approval:** Ethics Committee Approval was not needed for this study.

**Informed Consent:** Not required in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - M.M.; Design - M.M.; Supervision - M.M.; Funding - M.M.; Materials - O.G.; Data Collection and/or Processing - O.G., M.Y.; Analysis and/or Interpretation - M.M., M.Y.; Literature Review - M.M., M.Y.; Writer - M.M.; Critical Review - M.M.

**Conflict of Interest:** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Financial Disclosure:** This study was financially supported by Shahid Bahonar University of Kerman.

**Acknowledgments:** The authors wish to thank Mr. Muslem Safari for his technical assistance and Professor K. Hazrati Tappeh and Dr. Hamid Tavangar for Turkish and English editing of this paper, respectively.

**Etik Komite Onayı:** Çalışmamız için etik komite onayı gerekmemiştir.

**Hasta Onamı:** Çalışmamız için hasta onamı gerekmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağlıdır.

**Yazar Katkıları:** Fikir - M.M.; Tasarım - M.M.; Denetleme - M.M.; Kaynaklar - M.M.; Malzemeler - O.G.; Veri Toplanması ve/veya işleme - O.G., M.Y.; Analiz ve/veya Yorum - M.M., M.Y.; Literatür taraması - M.M., M.Y.; Yazıyı Yazan - M.M.; Eleştirel İnceleme - M.M.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Çalışmamız Shahid Bahonar University of Kerman tarafından desteklenmiştir.

## REFERENCES

- Maqbool A, Ahmed M, Raza A. Prevalence of helminth parasites of poultry under different managerial conditions. *J Fac Vet Med Univ Tehran* 1998; 53: 103-10.
- Permin A, Esmann J, Hoj C, Hove T, Mukaratirwa S. Ecto-, endo- and haemoparasites in free-range chickens in the Goromonzi District in Zimbabwe. *Preventive Veterinary Medicine* 2002; 54: 213-24. [CrossRef]
- Winter AR, Funk EM. *Poultry Science and Practice*. 4th ed. Chicago, Philadelphia, New York: JB Lippincott Company; 1996.
- Eslami A, Ghaemi P, Rahbari S. Parasitic infections of free-range chickens from Golestan Province, Iran. *Iranian Journal of Parasitology* 2009; 4: 10-14.
- Radfar MH, Khedri J, Adinehbeigi K, Nabavi R, Rahmani K. Prevalence of parasites and associated risk factors in domestic pigeons (*Columba livia domestica*) and free-range backyard chickens of Sistan region, east of Iran. *Journal of Parasitic Diseases* 2012; 36: 220-5. [CrossRef]
- Yakhchali M, Rasouli S, Alborzi E. Prevalence and body distribution of the poultry red mite in layer farms from Markazi province of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research* 2013; 14: 72-4.
- Campbell TW. *Avian hematology and cytology*. 2nd ed. Iowa: Iowa State University Press, Blackwell Publishing Company; 1995.
- Edgar HB, Leslie EC, Pomeroy BS. *Diseases and Parasites of Poultry*. 5th ed. Philadelphia: Lea &Febiger; 1958.
- Strukie PD. *Avian Physiology*. 3rd ed. New York, Berlin: Springer Verlag; 1976. [CrossRef]
- Arends JJ. External parasites and poultry pests. *Diseases of poultry* 2003; 11: 905-30.
- Margaret LP. *Diseases of Cages and Aviary Birds*. 2nd ed. Philadelphia: Lea Febiger; 1969.
- Calnek BW, Barness HJ, Bread CW, Reid WM, Yoder HW. *Diseases of Poultry*. 9th ed. Iowa: Iowa State University Press; 1991.
- Kaufmann J. *Parasitic infections of domestic animals: a diagnostic manual*. Berlin: Basel; 1996. [CrossRef]
- Nnadi P, George S. A cross-sectional survey on parasites of chickens in selected villages in the subhumid zones of South-Eastern Nigeria. *J Parasitol Res* 2010; 2010: pii: 141824
- Valiente Moro C, De Luna CJ, Tod A, Guy JH, Sparagano OA, Zenner L. The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents. *Experimental and Applied Acarology* 2009; 48: 93-104. [CrossRef]
- Dinka H, Chala R, Dawo F, Bekana E, Leta S. Major constraints and health management of village poultry production in rift valley of Oromia, Ethiopia. *Am-Eurasian J Agric and Environ Sci* 2010; 9: 529-33.
- Halima H, Nesor FW, Van Marle-Koster E, De Kock A. Village-based indigenous chicken production system in north-west Ethiopia. *Tropical animal health and production* 2007; 39: 189-97. [CrossRef]
- Amede Y, Tilahun K, Bekele M. Prevalence of Ectoparasites in Haramaya University Intensive Poultry Farm. *Global Veterinaria* 2011; 7: 264-9.
- Soulsby E.J.L. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domestic Animals*. 7th ed. London, UK: Bailliere and Tindal; 1982.
- Ensminger ME. *Poultry Science*. 1st ed. Danville, Illinois, USA: The interstate Printers and Publishers, Inc.; 1992.
- Moyer BR, Drown DM, Clayton DH. Low humidity reduces ectoparasite pressure: implications for host life history evolution. *Oikos* 2002; 97: 223-8. [CrossRef]
- Sabuni Z, Mbutia P, Maingi N, Nyaga P, Njagi L, Bebora L, et al. Prevalence of ectoparasites infestation in indigenous free-ranging village chickens in different agro-ecological zones in Kenya. *Livest. Res. Rural Dev* 2010; 22: 1-5.
- Wang FF, Wang M, Xu FR, Liang D, Pan BL. Survey of prevalence and control of ectoparasites in caged poultry in China. *Vet Rec* 2010; 167: 934-7. [CrossRef]
- Tolossa YH, Tafesse HA. Occurrence of ectoparasites and gastro-intestinal helminthes infections in Fayoumi chickens (*Gallus gallus Fayoumi*) in Debre Zeit Agricultural Research Center Poultry Farm, Oromia region, Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health* 2013; 5: 107-12.
- Mekuria S, Gezahegn E. Prevalence of External parasite of poultry in intensive and backyard chicken farm at Wolayta Soddo town, Southern Ethiopia. *Veterinary World* 2010; 3: 533-8.
- Mungube EO, Bauni SM, Tenhagen BA, Wamae LW, Nzioka SM, Muhammed L, et al. Prevalence of parasites of the local scavenging chickens in a selected semi-arid zone of Eastern Kenya. *Trop Anim Health Prod* 2008; 40: 101-9. [CrossRef]
- Biu A, Agbede R, Peace P. Studies on ectoparasites of poultry in Maiduguri, Nigeria. *Nigerian Journal of Parasitology* 2008; 28: 69-72. [CrossRef]
- Bala A, Anka S, Waziri A, Shehu H. Preliminary Survey of Ectoparasites Infesting Chickens (*Gallus domesticus*) in Four Areas of Sokoto Metropolis. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences* 2011; 19: 173-80.
- Banda Z. Ectoparasites of indigenous Malawi chickens. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2011; 5: 1454-60.

# Kayseri’de Periodontitis veya Gingivitisli Hastalarda *Trichomonas tenax* ve *Entamoeba gingivalis*’in Araştırılması

Investigation of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in Periodontitis or Gingivitis Patients in Kayseri

Süleyman Yazar<sup>1</sup>, Ülfet Çetinkaya<sup>1</sup>, Berna Hamamcı<sup>2</sup>, Arzu Alkan<sup>3</sup>, Yıldırım Şişman<sup>4</sup>, Çağrı Esen<sup>3</sup>, Melike Kolay<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

<sup>2</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Hatay, Türkiye

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

<sup>4</sup>Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Oral Diagnoz ve Radyoloji Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada periodontitis ve gingivitis hastalarında *E. gingivalis* ve *T. tenax* yaygınlığının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamıza 107 periodontitis hastası ve 68 gingivitis hastası alınmıştır. Ağızda tespit edilen mevcut mikrobiyal dental plaklar kazınmış ve kazınan plak parçaları, içerisinde % 0,9 serum fizyolojik bulunan tüplere konulmuştur. Örnekler ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Ayrıca *T. tenax* için aynı örnekten bir miktar da besiyerine ekilmiş ve 37°C’de inkübe edilmiştir.

**Bulgular:** Periodontitis hastalarının 38’inde *E. gingivalis*, üçünde *T. tenax* ve ikisinde hem *E. gingivalis* hem de *T. tenax* birlikte tespit edilmiştir. Gingivitis hastalarının ise 22’sinde *E. gingivalis*, 2’sinde *T. tenax*, 1’inde ise *E. gingivalis* ve *T. tenax* birlikte bulunmuştur.

**Sonuç:** Çalışmamızda periodontitis ve gingivitis hastalarında oral protozoonlar yüksek oranda bulunmuştur. Yeni yapılacak çalışmalarla *E. gingivalis* ve *T. tenax* prevalansının belirlenmesi ve özellikle korunma prensiplerine uyulması gerektiği kanısındayız (*Türkiye Parazitol Derg 2016; 40: 17-21*).

**Anahtar Kelimeler:** *Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*, Periodontitis, Gingivitis

**Geliş Tarihi:** 03.06.2015

**Kabul Tarihi:** 11.12.2015

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to determine the prevalence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in periodontitis and gingivitis patients.

**Methods:** The study consisted of 107 periodontitis patients and 68 gingivitis patients. Bacterial plaque samples were collected with a curette from the deepest pocket in each quadrant and placed into separate tubes containing sterile 0.9% saline solution. Samples were examined at a magnification of ×400 by light microscopy. Cultivation for *T. tenax* was performed using the same samples, and the cultures were examined after 48 hours.

**Results:** *E. gingivalis* was present in the samples from 38 periodontitis patients, whereas *T. tenax* was present in samples from only 3 periodontitis patients. Both *E. gingivalis* and *T. tenax* were found together in the samples from 2 periodontitis patients. In total, 22 and 2 gingivitis patients were found to be infected with *E. gingivalis* and with *T. tenax*, respectively. Only 1 gingivitis patient was found to be infected with both *E. gingivalis* and *T. tenax*.

**Conclusion:** In our study, oral protozoa were found in a high percentage in periodontitis and gingivitis patients. We believe that the prevalence of *E. gingivalis* and *T. tenax* should be determined via new studies and, in particular, the protection principles should be complied with (*Türkiye Parazitol Derg 2016; 40: 17-21*).

**Keywords:** *Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*, Periodontitis, Gingivitis

**Received:** 03.06.2015

**Accepted:** 11.12.2015

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Süleyman Yazar E.posta: syazar@erciyes.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2016.4351

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolderg.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolderg.org

## GİRİŞ

Uygun ısı ve nem oranı, besin yoğunluğu ve değişik basınçta oksijen içeren insan ağızında su, besin maddeleri, hava ve ellerde bulunan mikroorganizmalar kolayca yerleşebilmektedir. Aynı zamanda ağız ortamının ısı 35-36°C olup iyi bir etüv görevi de görmektedir. Oral flora, özellikle bakteriler başta olmak üzere çok sayıda mantarları ve virüsleri içermektedir. Bu bölgede floranın bozulması veya patojen mikroorganizmaların üremesi ile enfeksiyonlar oluşmaktadır (1, 2). Ağız florasının en yoğun olduğu bölge mikrobiyal dental plaktır. Mikrobiyal dental plağı diş üzerindeki mikroorganizmalar, lökositler, ölü epitel hücreleri ve yiyecek artıkları oluşturur (3).

İnsan ağız boşluğunda protozoonlardan, *Entamoeba gingivalis* ve *Trichomonas tenax* yerleşmektedir. *E. gingivalis* insanda dental plakta tanımlanan ilk amiptir. Bu amibin morfolojisi ve hareketi *Entamoeba histolytica*'ya benzer, ancak kist formu yoktur. Trofozoiti 10-20 µm boyutlarında olup ekto ve endoplazması birbirinden ayırılabilir. Parazit sitoplazmasında besin vakuolleri arasında lökositler görülebilir. Lökositleri fagosite eden tek *Entamoeba* türüdür (4). İnsan vücudunda yerleşen üç *Trichomonas* türünden biri olan *T.tenax*, insan ağız boşluğunda yaşayan tek kamçılı protozondur. İlk olarak diş taşında tespit edilen bu kamçılı protozondur. İlk olarak diş taşında tespit edilen bu kamçılı protozondur. İlk olarak diş taşında tespit edilen bu kamçılı protozondur. İlk olarak diş taşında tespit edilen bu kamçılı protozondur.

Çalışmamızda periodontitis ve gingivitis hastalarında *E. gingivalis* ve *T. tenax* yaygınlığının araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca parazit görülmesi ile cinsiyet, yaş, sigara kullanımı, musluk suyu kullanımı, eğitim durumu, evdeki kişi sayısı, gelir durumu, ortak diş fırçası kullanımı, sistemik hastalığın olup olmadığı ve düzenli ilaç kullanımı gibi bazı parametreler arasındaki ilişkinin de araştırılması amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

Çalışmaya, Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji polikliniğine müracaat eden; yaşları 19 ile 69 (yaş ortalaması: 43,68±9,46) arasında değişen 50'si (%46,7) erkek, 57'si (%53,3) kadın toplam 107 periodontitis hastası ve yaşları 17 ile 57 (yaş ortalaması:31,82±10,97) arasında değişen 29'u (%42,6) erkek, 39'u (%57,4) kadın toplam 68 gingivitis hastası alınmıştır. Bu çalışma için, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 2014/633 nolu kararı ile etik kurul raporu ve bu çalışmaya katılan hastalardan yazılı hasta onamı alınmıştır.

Periodontitis hastaları; aproksimal bölgede 5-7 mm cep derinliğine sahip en az 2 dişi bulunan ve radyografik olarak horizontal kemik kaybına sahip bireylerden, gingivitis hastaları ise gingival

indeks (6) ve onu takiben alınan gingival kanama indeksi (7) kayıtları doğrultusunda tanısı konmuş bireylerden oluşturulmuştur.

Küret ve kretuar yardımıyla her kadrandaki en derin cepte bulunan mevcut mikrobiyal dental plak uzaklaştırılarak, içerisinde 0,5 mL serum fizyolojik bulunan eppendorf tüplere konulmuş ve Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırılmıştır. Pastör pipeti yardımıyla her hastadan alınan örnekler 20 dk. 37°C de inkübe edildikten sonra lam üzerine bir damla örnek konulup lamel kapatılarak ışık mikroskopunda x400 büyütmede *E. gingivalis* ve *T. tenax* açısından incelenmiştir. Ayrıca aynı örnekten bir miktar da tripticase-yeast extract-maltose (TYM) besiyerine (*T. tenax* için) ekilmiş ve 37°C'de inkübe edilmiştir. Bu kültürler ekimden 48 saat sonra kontrol edilmiştir. Bu iki yöntemden herhangi birinde pozitif çıkan hastalar *T. tenax* yönünden pozitif olarak değerlendirilmiştir. Örnekler *E. gingivalis* yönünden sadece direkt mikroskopi ile değerlendirilmiştir.

Çalışmada parazit görülmesi ile cinsiyet, yaş, sigara kullanımı, musluk suyu kullanımı, eğitim durumu, evdeki kişi sayısı, gelir durumu, ortak diş fırçası kullanımı, sistemik hastalığın olup olmadığı ve düzenli ilaç kullanımı arasındaki ilişki de araştırılmıştır.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme için, SPSS 16,0 (IBM Corporation, New York, ABD) paket programı kullanılarak varyans analizi yapıldı. Farklı grupların belirlenmesinde Post hoc testi olarak Tukey kullanıldı ve p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

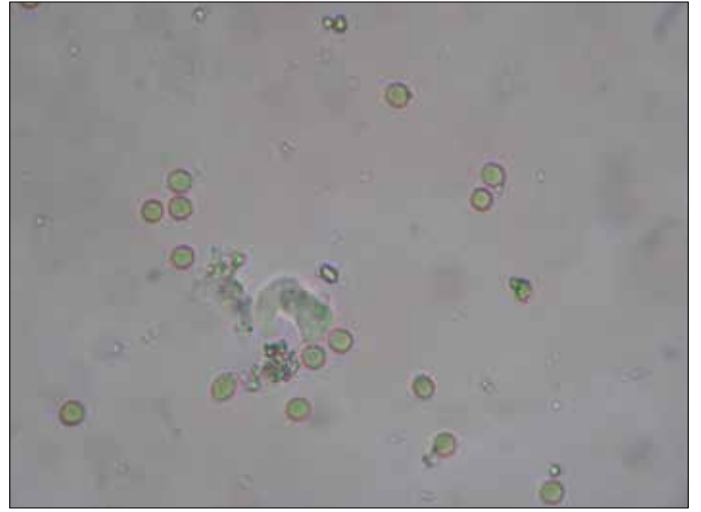
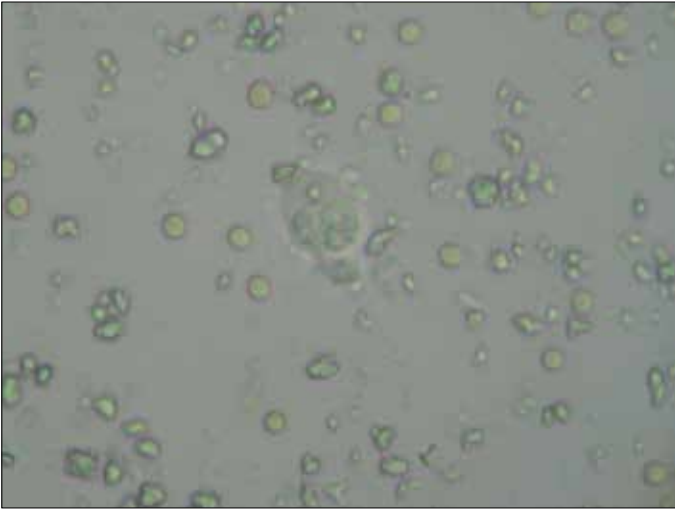
Çalışmaya katılan 79 erkek hastanın 32'si (29'unda *E. gingivalis*, 2'sinde *T. tenax*, 1'inde ise *E. gingivalis* ve *T. tenax* birlikte), 96 kadın hastanın ise 36'sı (31'inde *E. gingivalis*, 3'ünde *T. tenax*, 2 *E. gingivalis* ve *T. tenax*) olmak üzere toplam 68 (%38,9) hasta *E. gingivalis* ve/veya *T. tenax* açısından pozitif bulunmuştur. Periodontitis ve gingivitisli hastalarda parazit görülme oranları Tablo 1'de verilmiştir.

107 periodontitis hastasının 38'inde (%35,5) *E. gingivalis* (Şekil 1), 3'ünde (%2,8) *T. tenax* (Şekil 2a ve b) ve 2'sinde (%1,9) hem *E. gingivalis* hem de *T. tenax* birlikte belirlenmiştir. 68 gingivitis hastasının 22'sinde (%32,4) *E. gingivalis*, 2'sinde (%2,9) *T. tenax*, 1'inde (%1,5) ise *E. gingivalis* ve *T. tenax* birlikte bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizde; kişilerin periodontitis ya da gingivitisli olmaları ile parazit görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (*E. gingivalis* F: 0.226, p: 0.635, *T. tenax* F: 0.006, p: 0.936).

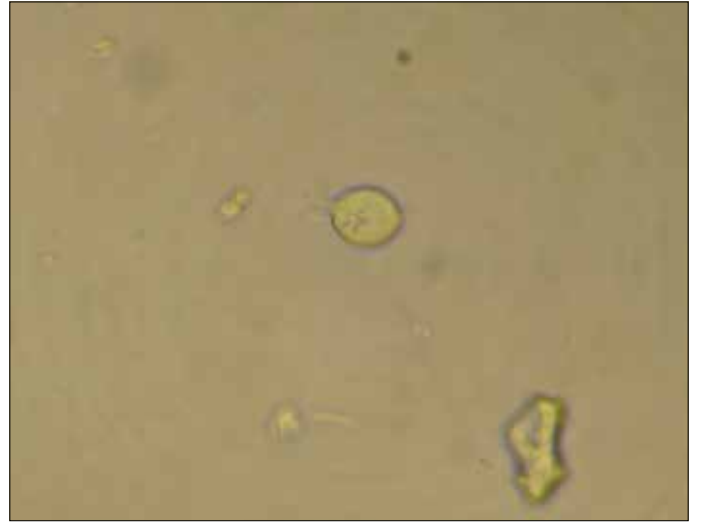
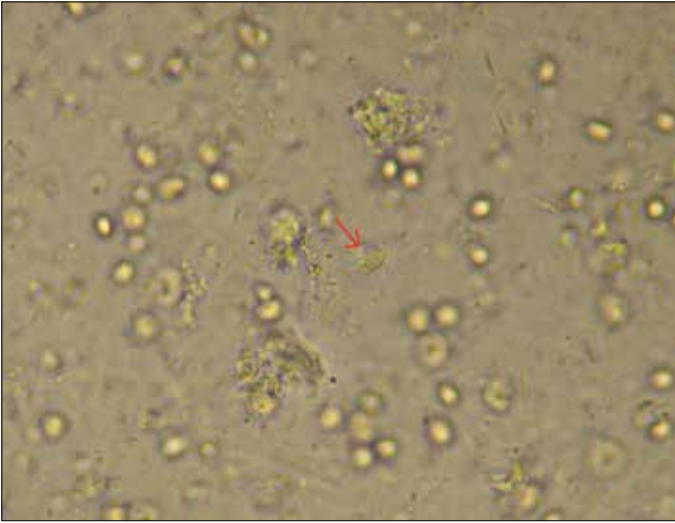
Parazit görülmesi (*E. gingivalis* ve/veya *T. tenax*) ile cinsiyet, yaş, sigara kullanımı, musluk suyu kullanımı, eğitim durumu, evdeki kişi sayısı, gelir durumu, ortak diş fırçası kullanımı, sistemik hastalığın

**Tablo 1.** Periodontitis ve gingivitisli hastalarda parazit görülme oranları

Hastalar	<i>E. gingivalis</i> n (%)	<i>T. tenax</i> n (%)	<i>E. gingivalis</i> + <i>T. tenax</i> n (%)	Toplam n (%)
Periodontitis (n: 107)	38 (35,5)	3 (2,8)	2 (1,9)	43 (40,2)
Gingivitis (n: 68)	22 (32,4)	2 (2,9)	1 (1,5)	25 (36,8)
Toplam (n: 175)	60 (34,3)	5 (2,9)	3 (1,7)	68 (38,9)



Şekil 1. Entamoeba gingivalis trofozoitleri. Direkt bakı, x400 büyütme



Şekil 2. Trichomonas tenax trofozoitleri. A- Direkt bakı, x400 büyütme, B- Kültürden hazırlanmış örnek, x1000 büyütme

olup olmadığı ve düzenli ilaç kullanımı gibi bazı parametreler arasındaki ilişki ve istatistiksel değerlendirme Tablo 2'de verilmiştir.

Çalışmada; Tablo 2'deki parametreler ile parazit görülmesi arasındaki ilişki araştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı ilişkisinin olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ).

Çalışmada *T. tenax*'ın tanısında hem direkt bakı hem de kültür yöntemi kullanılmıştır. *T. tenax* pozitif tespit edilen 8 hastadan 6'sı hem direkt bakı hem de kültürde pozitif bulunurken 2'si sadece kültürde pozitif bulunmuştur.

## TARTIŞMA

İnsandan insana direkt temasla, öpüşmekle veya ortak kullanılan çatal, kaşık, bardak gibi eşyalarla bulaşan bu protozoonlar, sağlıklı kişilere oranla, diş ve diş eti hastalığına sahip kişilerde daha sık görülmektedir (1, 4, 5). Sağlıklı kişilerde de görülmesi bu parazitlerin patojen olduğu düşüncesini tartışmalı hale getirmiş, çoğu uzmanca da apatojen olarak tanımlanmıştır (1, 2, 4, 5).

Bazı araştırmacılar tarafından Robinson besiyerinde *E.gingivalis*'in iyi üremediği bildirildiği (8) için bu çalışmada ilgili besiyer-

ine ekim yapılmamış ve bu parazit açısından sadece mikroskopik değerlendirme yapılmıştır. Aynı zamanda direkt mikroskopi ile kıyaslandığında, boyama yöntemlerinin daha düşük duyarlılığa sahip olması ve değerlendirilmenin daha uzun sürmesi gibi dezavantajlardan dolayı (4, 8) bu çalışmada örnekler boyanmadan değerlendirilmiştir. Çalışmamızda direkt bakı ile *T. tenax* açısından negatif tespit edilen 2 hasta kültürde pozitif olarak değerlendirilmiştir. Parazitin tanısında TYM kültür yönteminin kullanılmasının duyarlılığı arttıracak kanaatindeyiz.

Yapılan prevalans çalışmalarında; Mahdi ve Al-saeed (9), hasta grubunda %8,4, kontrol grubunda ise %4,2 oranında *T. tenax* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca direkt bakıda negatif çıkan 9 hastanın kültürde pozitif olarak belirlendiğini de vurgulamışlardır. Huang ve ark. (10), öğrenciler üzerinde yaptıkları bir çalışmada %28,3 oranında *E. gingivalis* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ghabanchi ve ark. (11), periodontal hastalığı olan kişilerde %12 oranında *E. gingivalis*, %6 oranında ise *T. tenax* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Athari ve ark. (12), hasta grubunda %20,6, kontrol grubunda ise %1,9 oranında *T. tenax* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı zamanda



**Tablo 2.** Bazı parametreler ile parazit görülmesi arasındaki ilişki

İstatistik Parametreler		Pozitif n (%)	Negatif n (%)	İstatistik p
Cinsiyet	Erkek (n: 79)	32 (40,5)	47(59,5)	0,685
	Kadın (n: 96)	36 (37,5)	60(62,5)	
Yaş	17-30 (n: 40)	13 (32,5)	27(67,5)	0,387
	31-40 (n: 61)	26 (42,6)	35(57,4)	
	41-50 (n: 41)	19 (46,3)	22 (53,7)	
	51≤ (n: 33)	10 (30,3)	23 (69,7)	
Sigara kullanımı	Var (n: 55)	23 (41,8)	32 (58,2)	0,586
	Yok (n: 120)	45 (37,5)	75 (62,5)	
Musluk suyu kullanımı	Var (n:162)	66 (40,7)	96 (59,3)	0,071
	Yok (n:13)	2 (15,4)	11 (84,6)	
Eğitim durumu	Gitmemiş (n: 2)	1 (50)	1 (50)	0,984
	İlk (n: 72)	27 (37,5)	45 (62,5)	
	Orta (n: 14)	5 (35,7)	9 (64,3)	
	Lise (n: 43)	18 (41,9)	25 (58,1)	
	Üniversite (n: 44)	17 (38,6)	27 (61,4)	
Evdeki kişi sayısı	2≥ (n: 13)	4 (30,8)	9 (69,2)	0,113
	3-4 (n: 96)	44 (45,8)	52 (54,2)	
	5≤ (n: 66)	20 (30,3)	46 (69,7)	
Ortak diş fırçası kullanımı	Var (n: 5)	3(60)	2 (40)	0,325
	Yok (n: 170)	65 (38,2)	105 (61,8)	
Sistemik hastalık	Var (n: 60)	25 (41,7)	35 (58,3)	0,582
	Yok (n: 115)	43 (37,4)	72 (62,6)	
Düzenli ilaç kullanımı	Var (n: 53)	24 (45,3)	29 (54,7)	0,250
	Yok (n: 122)	44 (36,1)	78 (63,9)	

PCR yöntemi ile direkt bakı ve Giemsa boyama yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında PCR yönteminin daha duyarlı olduğunu da vurgulamışlardır. Goa ve ark. (13), periodontal hastalığı olan kişilerde %27,5 oranında *E. gingivalis* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bonner ve ark. (14), moleküler yöntemlerle yaptıkları çalışmada periodontal hastalığı olan kişilerde %80,6, kontrol grubunda ise %33,3 oranında pozitiflik belirlediklerini bildirmişlerdir.

Türkiye’de yapılan sınırlı sayıda çalışmada ise; Bardak ve ark. (1), gingivitis ya da periodontitis saptanan hastaların %29’unda *E. gingivalis*, %2’sinde *T. tenax* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çeliksöz ve ark. (15), mikrobiyal dental plaktaki *E. gingivalis* ve *T. tenax* yoğunluğunu araştırmak için yaptıkları çalışmada 41 hastadan 78 mikrobiyal dental plak örneği aldıklarını ve bu örneklerden 27’sinde (%34,7) *E. gingivalis*’e, 1’inde (%1,2) *T. tenax*’a rastladıklarını bildirmişlerdir. Özçelik ve ark. (8), 220 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada %21,8 *E. gingivalis*, %1 *T. tenax* ile enfekte hasta tespit ettiklerini, örneklerin %3,6’sında ise *E. gingivalis* ve *T. tenax*’ı birlikte saptadıklarını bildirmişlerdir. Abualqomsaan ve ark. (16), ise hasta grubunda %21,2, kontrol grubun da ise %7,7 oranında oral protozoonları rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda hasta grubunda %38,9 oranda pozitiflik tespit edilmiştir. Elde edilen bu verinin Türkiye’de yapılan diğer çalışmalarda elde edilen verilerle benzer olduğu görülmüştür. Kontrol grubunun olmaması ve kıyaslanmanın yapılamaması çalışmamızın bir kısıtlılığıdır. Fakat bu yüksek oran periodontitis ve gingivitisli hastalarda bu parazitlerin de araştırılması gerektiğini akla getirmektedir.

Çalışmamızda cinsiyet ve parazit görülmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan birçok çalışmada da cinsiyet ile parazit görülme arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bildirilmemiştir (8, 15, 16).

Yaş ile parazit görülmesi arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çeşitli çalışmalarda bazı tezatlıklar bulunmaktadır. Yaşın ilerlemesi sonucu ağız hijyenini korumanın güçleşmesi nedeniyle yaşlılarda *E. gingivalis*’e daha sık rastlanabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (8). Farklı bazı çalışmalarda ise parazitlere en sık 5-10 yaş grubunda rastlanabileceği, yaş ile birlikte insidansın azaldığı bildirilmektedir (17). Mahdi ve Al-saeed (9), Enfeksiyon sıklığının en çok 6-10 yaş grubunda, en az ise 11-20 yaş grubunda olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada *T. tenax*’ın büyük çocuklarda küçüklere göre daha sık olarak bulunduğu bildirilirken *T. tenax*’ın görülme sıklığının yaş ilerledikçe arttığı ve sağlıklı ağız-larda da bulunabileceği belirtilmiştir (18). Çalışmamızda ise parazit görülmesi ile yaş arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda sigara kullanan bireylerde parazitin yüksek oranda görüldüğü, fakat bu oranın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan benzer çalışmalarda da sigara kullanımı ile parazit görülme oranının arttığı fakat aradaki farkın anlamlı olmadığı bildirilmiştir (8, 10, 15). Çalışmamızda musluk suyu kullanan hastalarda kullanmayanlara göre yüksek pozitiflik görülmüş fakat musluk suyu kullanmayan hasta sayısının az olması bu çalışmadaki kısıtlılıklardan biridir. Yapılan diğer çalışmalarda ise bu tür bir veri bulunmamaktadır. Ortak diş fırçası kullanan hastalarda kullanmayanlara göre daha yüksek oranda parazit görülmüş olmakla birlikte, ortak diş fırçası kullanan sadece 5 hastamızın olması bu çalışmanın bir diğer kısıtlılığını oluşturmaktadır. Yapılan diğer çalışmalarda yine bu tür bir veri bulunmamaktadır. Evdeki kişi sayısı ve eğitim durumu ile parazit görülmesi arasındaki ilişki de araştırılmış fakat istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Yapılan diğer çalışmalarda yine bu tür bir veri bulunmamaktadır. Çalışmamızda aynı zamanda sistemik hastalığı olan hastalarda veya düzenli ilaç kullanan hastalarda parazitin daha yüksek oranda görüldüğü fakat aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Özçelik ve arkadaşlarının (6) yapmış oldukları bir çalışmada; sistemik hastalık varlığı ile parazit görülmesi arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı bildirilmiştir.

Sonuç olarak; epidemiyolojisi ve patojenitesi hakkında fazla bilgi bulunmayan bu protozoonların ağız hastalıkları ile olan ilişkisinin ortaya konulabilmesi, ağız ve diş sağlığı bakımı kötü olan toplumumuzda yeni yapılacak çalışmalarla prevalansın belirlenmesi ayrıca korunma ve kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiği kanısındayız.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’ndan etik kurul onayı alınmıştır (2014/633).

**Hasta Onamı:** Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - S.Y., U.Ç.; Tasarım - S.Y., A.A., Y.Ş.; Denetleme - S.Y., A.A., Y.Ş.; Kaynaklar - S.Y., A.A., Y.Ş., B.H., Ç.E., M.K.; Malzemeler - S.Y., A.A., Y.Ş.; Veri Toplanması ve/veya işleme - S.Y., U.Ç., A.A.; Analiz ve/veya Yorum - S.Y., A.A., Y.Ş.; Literatür taraması - U.Ç.; Yazıyı Yazan - U.Ç.; Eleştirel İnceleme - S.Y., A.A., Y.Ş.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Erciyes University Medical School (2014/633).

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained from patients who participated in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - S.Y., U.Ç.; Design - S.Y., A.A., Y.Ş.; Supervision - S.Y., A.A., Y.Ş.; Funding - S.Y., A.A., Y.Ş., B.H., Ç.E., M.K.; Materials - S.Y., A.A., Y.Ş.; Data Collection and/or Processing - S.Y., U.Ç., A.A.; Analysis and/or Interpretation - S.Y., A.A., Y.Ş.; Literature Review - U.Ç.; Writer - U.Ç.; Critical Review - S.Y., A.A., Y.Ş.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

## KAYNAKLAR

1. Bardak T, Üner A, Tappeh KH, Hacıoğlu M. Gingivitis ve periodontitisli hastalarda *Entamoeba gingivalis* ve *Trichomonas tenax* yaygınlığının araştırılması. *Türkiye Parazitoloj Derg* 1998; 22: 251-4.
2. Bogitsh BJ, Carter CE, Oeltmann TN. *Human Parasitology*. California: Academic Press; 2005; 73-92.
3. Theilade J. Dental plaque and dental calculus. Lindhe J, editor. *Textbook of clinical Periodontology*. Copenhagen: Munksgaard; 1989; 85-118.
4. Garcia LS, Bruckner DA. *Diagnostic Medical Parasitology*. Washington DC: American Society for Microbiology; 2007; 6-51.
5. Saygı G. *Paraziter Hastalıklar ve Parazitler*. Sivas: Es Form Ofset Ltd Şti; 2009; 38-88.
6. Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533-51. [CrossRef]
7. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975; 25: 229-35.
8. Özçelik S, Gedik T, Gedik R, Malatyalı E. Investigation of the relationship between oral and dental health and presence of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax*. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2010; 34: 155-9. [CrossRef]
9. Mahdi NK, Al-Saeed AT. *Trichomonas tenax* in Basrah, Iraq. *J Pak Med Assoc* 1993; 43: 261-2.
10. Huang W, Shi JL, Li CL, Chen B, Shao LJ, Chen L, et al. *Entamoeba gingivalis* infection among college student in Tangshan. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi* 2009; 27: 51-3.
11. Ghabanchi J, Zibaei M, Afkar DM, Sarbazie AH. Prevalence of Oral *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in Patients with Periodontal Disease and Healthy Population in Shiraz, Southern Iran. *Indian J Dent Res* 2010; 21: 89-91. [CrossRef]
12. Athari A, Soghandi L, Haghghi A, Kazemi B. Prevalence of Oral Trichomoniasis in Patients with Periodontitis and Gingivitis Using PCR and Direct Smear. *Iranian J Publ Health* 2007; 36: 33-7.
13. Goa J, Lian Q, Cheng Z, Huang H, Jiang T, MA W, Tian X. Survey of *Entamoeba gingivalis* infection status in Tangshan. *Jornal of Pathogen Biology*, 2009; 04: 296-7.
14. Bonner M, Amard V, Bar-Pinatel C, Charpentier F, Chatard JM, Desmuyck Y, et al. Detection of the amoeba *Entamoeba gingivalis* in periodontal pockets. *Parasite* 2014; 21: 30. [CrossRef]
15. Çeliksöz A, Marakoğlu İ, Gürsoy UK, Oğuztürk H, Özçelik S. Investigation of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in Microbial Dental Plaque. *Turkish Journal of Infection* 2001; 15: 51-6.
16. Abualqomsan M, Töz SO, Yolasiğmaz A, Turgay N. The investigation of *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in a group of patients with periodontal disease. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2010; 34: 91-4.
17. Arene FO. *Entamoeba gingivalis*: prevalence amongst inhabitants of the Niger Delta. *Tropenmed Parasitol* 1984; 35: 251-2.
18. Vrablic J, Tomova S, Catar G. Occurrence of the protozoa *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas tenax* in the mouths of children and adolescents with hyperplastic gingivitis caused by phenytoin. *Brastisl Lek Listy* 1992; 93: 136-40.

## Dışkıda *Giardia intestinalis* Tanısında Üç Yöntemin (Mikroskopik İnceleme, Direkt Floresan Antikor Testi, İmmunokromatografik Yöntem) Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi.

Comparative Evaluation of Three Methods (Microscopic Examination, Direct Fluorescent Antibody Assay, and Immunochromatographic Method) for the Diagnosis of *Giardia intestinalis* From Stool Specimens

Senem Yaman Karadam, Sema Ertuğ, Hatice Ertabaklar

Adnan Menderes Üniversitesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı *G. intestinalis* tanısında sıklıkla kullanılan direkt mikroskopik inceleme ile Direkt Floresan Antikor Testi (DFA) ve İmmunokromatografik yöntem (İK) testlerinin paraziti saptama açısından birbirine olan üstünlüğünü araştırmaktır.

**Yöntemler:** Çalışmaya parazit araştırılması amacıyla laboratuvarımıza gönderilen dışkı örneklerinden nativ-Lugol ve/veya formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile *G. intestinalis* saptanan 25 örnek ve kontrol grubu olarak parazit saptanmayan 25 örnek dâhil edilmiştir. Dışkıların mikroskopik incelemeleri yapıldıktan sonra, DFA ve İK yöntemleri ile çalışılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Saklanan dışkıları DFA (CeLLabs, *Crypto/Giardia*-Cel IF) ve İK (RIDA QUICK, *Cryptosporidium/Giardia* Combi Dipstick) testleri ile üretici firmaların önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Çalışmamız için etik komite onayı ve hasta onamı gerekmemiştir.

**Bulgular:** Çalışmamızda direkt mikroskobik ile *G. intestinalis* saptanan 25 dışkının tamamında DFA ile parazit görülmüştür. İK yöntemi ile 24 dışkıda parazite özgü bant saptanırken, bir dışkıda saptanamamıştır. Kontrol grubundaki *G. intestinalis* saptanmamış olan 25 dışkının tamamında hem DFA hem de İK yöntemi ile parazit saptanmamıştır.

**Sonuç:** Sonuç olarak, *G. intestinalis* tanısında mikroskopik bakı referans olarak alındığında DFA'nın özgüllük ve duyarlılığının %100, İK'in duyarlılığının %96, özgüllüğünün ise %100 olduğu belirlenmiştir (*Türkiye Parazitol Derg* 2016; 40: 22-5).

**Anahtar Kelimeler:** *Giardia intestinalis*, Direkt Mikroskopik inceleme, Direkt floresan antikor testi (DFA), İmmunokromatografik yöntem (İK)

**Geliş Tarihi:** 18.06.2015

**Kabul Tarihi:** 18.12.2015

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to compare direct microscopic examination, direct fluorescent antibody assay (DFA), and the immunochromatographic method (IK) and identify the best suitable method for the diagnosis of *Giardia intestinalis*.

**Methods:** In this study, 25 stool samples that had been diagnosed as being infected with *G. intestinalis* using the native-Lugol and/or formol-ethyl acetate concentration method and 25 non-parasite-infected samples (the control group) were examined. After microscopic examination of stools, they were kept at -20°C for examination using DFA and IK. Stool samples were studied using DFA (CeLLabs, *Crypto/Giardia*-Cel IF) and IK (RIDA QUICK, *Cryptosporidium/Giardia* Combi Dipstick), as per the manufacturers' instructions.

**Results:** In our study, using the DFA method, parasites were detected in all 25 stool samples in which *G. intestinalis* was diagnosed by direct microscopic examination. Using the IK method, a particular band indicative of the parasite was detected in 24 samples. No parasites were detected in all 25 samples in the control group.

**Conclusion:** Thus, when direct microscopic examination is taken as reference, the sensitivity and specificity of DFA for the diagnosis of *G. intestinalis* were found to be 100% each, while those of IK were found to be 96% and 100%, respectively (*Türkiye Parazitol Derg* 2016; 40: 22-5).

**Keywords:** *Giardia intestinalis*, direct microscopic examination, direct fluorescent antibody assay (DFA), immunochromatographic method (IK)

**Received:** 18.06.2015

**Accepted:** 18.12.2015

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Senem Yaman Karadam E.posta: drsenem@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4366

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org) web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org)

## GİRİŞ

*Giardia intestinalis* (*G. intestinalis*)'in neden olduğu giardiosis tüm dünyada ve özellikle de gelişmekte olan ülkelerde en sık rastlanan protozoon hastalığı olarak bildirilmektedir. Endüstriyel ülkelerde %2-5 arasında, gelişmekte olan ülkelerde %20-30'a varan oranlarda yayılış gösterdiği belirtilmektedir. Özellikle çocuklarda yüksek oranda görüldüğü ve uzun süreli ishallerle bağı beslenme bozukluğu ve gelişme geriliğine neden olduğu ifade edilmektedir (1-2). Ülkemizde de son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı bölgelerde %0,8'den %54,8'e kadar değişebilen oranlar bildirilmiştir (3-6). Yapılan geniş çaplı bir çalışmada 85707 dışkı değerlendirilmiş ve parazit saptanan olgular içerisinde en sık görülen parazitin, %40 oranında *G. intestinalis* olduğu belirtilmiştir (7). Ülkemizde yapılan benzer bir çalışmada dışkı örneklerinde %12,28 oranında *G. intestinalis* saptandığı, saptanan oranlar bölgelere göre değerlendirildiğinde; İç Anadolu Bölgesi'nde %11,1, Doğu Anadolu Bölgesi'nde %7,3, Karadeniz Bölgesi'nde %9,9 Marmara Bölgesi'nde %7,8, Ege Bölgesi'nde %11,6, Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde %28,0, Akdeniz Bölgesi'nde %10,2 oranlarında olduğu ifade edilmiştir. Bu durumda, giardiosisin yurdumuzda en yüksek olarak saptandığı bölgenin Güney Doğu Anadolu Bölgesi olduğu belirtilmiştir (8).

Diğer enfeksiyon hastalıklarında da olduğu gibi *Giardia* enfeksiyonunun tedavinin ilk adımının doğru tanı koymak olduğu bilinmektedir. Giardiosis'in etiyolojik tanısında dışkıda veya duodenum sıvısında etkensel tanı ve indirekt tanı yöntemlerinin kullanıldığı ifade edilmektedir. Etkensel tanıda nativ-lugol yöntemi ile direkt bakı, çoklaştırma yöntemleri, boyama yöntemleri ve kültür yöntemlerinin kullanılabilceği belirtilmektedir. İndirekt tanı yöntemlerinin ise hastanın kanında *G. intestinalis*'e karşı oluşmuş antikorları veya dışkıda parazitin antijenlerini göstermeye yönelik yapılabileceği ifade edilmektedir. Dışkı örneklerinde *G. intestinalis* antijenlerinin saptanması için kabul gören yöntemlerin enzime linked immunosorbant assay (ELISA), direkt floresan antikor testi (DFA) ve immunokromatografik yöntem (İK) olduğu bildirilmektedir (9). Giardiosis tanısında kullanılan bu yöntemlerin ve özellikle İK'nın duyarlılık, özgüllük ve rutin kullanıma uygunluğuyla ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda dışkı örneklerinden *G. intestinalis* saptanmasında, direkt ve çöktürme yöntemi sonrası nativ-lugol mikroskopik bakı ile DFA ve İK yöntemlerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na Ocak 2011- ağustos 2011 tarihleri

arasında, parazit araştırılması amacıyla diğer kliniklerden gönderilen dışkı örnekleri çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Bu amaçla, servislere bırakılan ve laboratuvarımız numune alma bölümünden olgulara verilen ağız sıkı kapaklı dışkı toplama kaplarına, olguların bir ceviz büyüklüğündeki dışkıyı koyup yarım saat içerisinde laboratuvara ulaştırması istenmiştir. Laboratuvarımıza gönderilen dışkı örneklerinden önce nativ-lugol ve formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile parazit aranması yapılmıştır (10). Olgu grubu olarak dışkısında sadece *G. intestinalis* saptanan 25 ve kontrol grubu olarak parazit saptanmayan 25 örnek çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu yöntemlerin her birinin hasta başı maliyetleri de hesaplanmıştır. Dışkıların mikroskopik incelemeleri yapıldıktan sonra, DFA ve İK yöntemleri ile çalışılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır. Saklanan dışkılar Cellabs, *Crypto/Giardia*-Cel IF) ve (RIDA QUICK, *Cryptosporidium/Giardia* Combi Dipstick) testleri ile üretici firmaların önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Çalışmamızda mikroskopik inceleme referans yöntem olarak kabul edilerek, DFA ve İK yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüğü hesaplanmıştır.

Testlerin çalışıldığı Ağustos 2011 tarihinde, kullanılan yöntemlerin maliyetleri sırasıyla DFA (Cellabs, *Crypto/Giardia*-Cel IF) için 50 lik ambalaj kit birim fiyatı 11 euro (25,50 TL); İK (Rida Quick, *Cryptosporidium /Giardia* Combi Dipstick) 25 lik ambalaj kit birim fiyatı 5,50 euro (12,80 TL) olarak hesaplanmıştır. Nativ-lugol ve formol etil asetat çöktürme yönteminin birim maliyeti ise 1.50 TL olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

## BULGULAR

Çalışma kapsamındaki olgu grubunu oluşturan 25 örneğin 11'inin (%44) erkek 14'ünün (%56) kadın ve yaşlarının 2 ile 74 yaş arası, kontrol grubunu oluşturan 25 örneğin 11'inin (%44) erkek 14'ünün (%56) kadın ve yaşlarının 1 ile 71 yaş arası olgulara ait olduğu belirlenmiştir. Çalışmamıza alınan olgu ve kontrol grubundaki olguların hiçbirisinin dışkısında üç yöntemle de başka bir parazite rastlanmamıştır. Çalışmamızda nativ-lugol ve/veya formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile *G. intestinalis* saptanan 25 dışkının tamamında DFA ile bu parazit görülmüştür. Dışkı örneklerinin tamamında DFA'da ve İK'da *Cryptosporidium* görülmemiştir. Yirmi dört dışkıda İK yöntemi ile *G. intestinalis*'e özgü bant saptanırken, bir dışkıda saptanmamıştır. Kontrol grubundaki *G. intestinalis* saptanmamış olan 25 dışkının tamamında hem DFA hem de İK yöntemi ile *G. intestinalis* saptanmamıştır.

*G. intestinalis* tanısında mikroskopik bakı referans olarak alındığında DFA'nın özgüllük ve duyarlılığının %100, İK'in duyarlılığının %96, özgüllüğünün ise %100 olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Çalışılan testlerin sonuçları ve maliyetleri

	OLGU GRUBU			KONTROL GRUBU			Duyarlılık	Özgüllük	Birim maliyet
	Sayı	<i>G. intestinalis</i> saptanan	<i>G. intestinalis</i> saptanmayan	Sayı	<i>G. intestinalis</i> saptanan	<i>G. intestinalis</i> saptanmayan			
Direkt Mikroskopik	25	25	-	25	-	25	Referans Test	Referans Test	1.50 TL
DFA	25	25	-	25	-	25	%100	%100	25.50 TL
İK	25	24	1	25	-	25	%96	%100	12.80 TL

## TARTIŞMA

*G. intestinalis*'in neden olduğu giardiasisin dünya çapında en yaygın görülen protozoon enfeksiyonlarından birisi olduğu bilinmektedir (1). Dışkı incelemelerinin tüm diğer bağırsak protozoonlarında olduğu gibi giardiasis tanısında da yaygın olarak kullanılan ve ilk başvurulan yöntemlerden biri olduğu ifade edilmektedir (11, 12).

Bu çalışmada giardiasis tanısı için mikroskopik bakı yöntemlerine alternatif olabilecek DFA ve IK yöntemleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiş, en uygun yöntem saptanmaya çalışılmıştır. Giardiasiste farklı tanı yöntemlerinin kullanıma uygunluğu ile ilgili literatürde kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Kuştimur ve ark., yaptıkları çalışmada DFA yönteminin protozoon enfeksiyonlarının tanısında pratik ve yararlı olduğunu, rutin laboratuvarlarda kullanılabileceğini belirtmişlerdir (13). Doğruman Al ve ark. *G. intestinalis*'in rutin tanısında DFA ile ELISA ve DFA ile Trichrom boyama yöntemleri arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir (14).

Uyar ve Taylan Özkan, *G. intestinalis* ve diğer protozoonların tanısının genellikle direkt mikroskopik bakı ile yapıldığını, bunun ucuz olduğunu ancak özellikle çoklaştırmaya yöntemleri ile hazırlanan mikroskopik bakıların zahmetli ve değerlendirilmesi kalifiye personel gerektiren yöntemler olduğu yoğun emek ve deneyimli personel gerektirdiğini, antijen saptama yöntemlerinin (DFA, EIA, hızlı tanı testleri) hızlı olduğunu ve deneyimli personel gerektirmediğini ve protozoonların tanısında kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir (15). Aziz ve ark. *G. intestinalis*'in tanısında DFA gibi immünolojik yöntemlerin geleneksel mikroskopik yöntemlere göre daha duyarlı, kullanışlı, hızlı ve daha ekonomik olduğunu vurgulamışlardır (16).

Zimmerman ve Needham, *G. intestinalis*'in tanısı için DFA'nın duyarlılığını %100, özgüllüğünü ise %99,8 olarak bildirmiş, geleneksel mikroskobik yöntemine göre bu testin daha duyarlı olduğunu ifade etmişlerdir (17). Benzer şekilde Garcia ve Shimizu *G. intestinalis* saptama açısından DFA'nın duyarlılığı ve özgüllüğünün %100 olduğunu bildirmişlerdir (18). Bizim çalışmamızda *G. intestinalis* tanısında mikroskopik bakı referans olarak alındığında DFA'nın özgüllük ve duyarlılığı birçok araştırmacının bildirdiğine benzer şekilde %100 olarak saptanmıştır.

Goni P ve ark. IK'nın *G. intestinalis* tanısında duyarlılığını; %90-97, özgüllüğünü ise >%99 olarak bildirmişlerdir (19). İki farklı ticari IK testinin karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada, duyarlılık ve özgüllük *Crypto-Giardia* (CerTest Biotec) IK testi için; %97 ve %100, *Stick Crypto-Giardia* (Operon) IK testi için %97 ve %95 olarak bildirilmiş, her iki IK testinin de duyarlılık ve özgüllüğünün oldukça yüksek olduğu, bu yöntemlerin kalifiye eleman ve özel ekipman gerektirmemesi gibi avantajlarının bulunduğu belirtilmiştir (20). Garcia LS ve Garcia JP yaptıkları çalışmada SIMPLE-READ *Giardia* rapid assay (Medical Chemical Corporation) marka IK kitinin duyarlılığını %97, 2 ve özgüllüğünü %100 olarak bildirmişlerdir (21). CORIS *Giardia*-Strip test (CORIS Bioconcept, Gembloux, Belgium) marka IK testini değerlendiren Oster N ve ark. ise testin duyarlılığını %58, özgüllüğünü ise %99 olarak bildirmişlerdir (22). Weitzel T ve ark. farklı ticari IK kitlerini değerlendirdikleri çalışmada, *Giardia* için Ridascreen *Giardia*, Rida Quick *Giardia*, Rida Quick Combi ve *Giardia*-Strip kitlerinin duyarlılıklarını sırasıyla, %82, %80, %80 ve %44, tüm testlerin özgüllüklerini ise %98 ve

daha yüksek olarak bildirmişlerdir (23). Görüldüğü gibi kullanılan farklı ticari IK kitleri ile çok farklı sonuçlar bildirilmiştir.

Bayramoğlu ve ark. portör taraması için başvuran gıda çalışanlarında, DFA referans yöntem olarak kabul edildiğinde *G. intestinalis* tespitinde nativ-lugol yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünü sırasıyla %54,1 ve %100 olarak bildirmişlerdir. IK (CerTest *Crypto-Giardia* Blister test, CerTest Biotec, Spain) yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünü ise sırasıyla %33,3 ve %100 olarak bildirmişlerdir. Sonuç olarak portör taraması için başvuran gıda çalışanlarında, immunokromatografik yöntemin uygun bir test olmadığı, nativ-lugol yönteminin diğer parazitleri tespit edebilmesi sebebiyle mutlaka uygulanması gerektiği ve bu yöntemle negatif bulunan kişilerin duyarlılığı daha yüksek olan immunodiagnostik bir testle doğrulanması gerektiğini ifade etmişlerdir (24). Çalışmamızda saptanan özgüllük %100 olup Bayramoğlu ve ark. sonuçları ile aynıdır. Buna karşılık duyarlılık Bayramoğlu ve ark. çalışmasında %33,3 iken çalışmamızda %96 saptanmıştır. Bu farkın çalışılan kitlerin markasının farklı olması ile ilgili olabileceği düşünülmüş, farklı markadan kitlerin birlikte değerlendirilebileceği daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda hazır testlerin maliyeti göz önüne alındığında deneyimli bir personelle direkt mikroskopik inceleme yapılmasının daha ucuz ve kolay olduğu ifade edilmiştir (16, 25). Bizim çalışmamızda kullanılan yöntemlerin maliyetleri karşılaştırıldığında en yüksek maliyetlinin kit birim fiyatı 25,50 TL ile DFA olduğu görülmüştür. IK'nın kit birim fiyatı maliyeti ise 12,80 TL ile yüksek olmakla beraber daha ortalama bir değer olarak düşünülmüştür. Diğer iki yöntemle göre oldukça düşük maliyetli olan nativ lugol ve çöktürme yöntemlerinin toplam maliyeti ise yaklaşık 1,50 TL olarak hesaplanmıştır.

## SONUÇ

Mevcut araştırmalara bakıldığında görüldüğü gibi, giardiasis tanısında kullanılan yöntemlerin uygunluğu ve birbirine üstünlüğüyle ilgili farklı görüşler vardır. Çalışmamızda, IK yönteminin, özgüllük ve duyarlılığının yüksek olması, kolay uygulanabilmesi, deneyimli personel ve laboratuvar alt yapısı gerektirmemesi, hızlı sonuç vermesi gibi avantajlı yönleri nedeni ile tanı laboratuvarlarında ve ayrıca kitle taramalarında kullanılacağı düşünülmüştür. Ayrıca IK yönteminin kit birim fiyatı maliyetinin 12,80 TL ile kit birim fiyatı 25,50 TL olan DFA'ya göre daha uygun maliyetli olduğu düşünülmüştür. Ancak farklı firmalara ait IK kitleriyle çok farklı sonuçlar elde edilmiş olduğundan yapılacak yeni çalışmalarla belirlenecek, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek IK kitlerinin kullanılmasının daha uygun olacağı düşünülmüştür. DFA yönteminin ise alt yapısı güçlü laboratuvarlarda deneyim gerektirmeyen personel tarafından değerlendirilebileceği, ancak maliyetinin geleneksel yöntemlere göre fazla olduğu kanısına varılmıştır.

**Etik Komite Onayı:** Çalışmamız için etik komite onayı gerekmemiştir.

**Hasta Onamı:** Çalışmamız için hasta onamı gerekmemiştir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir –E.S.,Y.K.S.E.H.; Tasarım – E.H.,Y.K.S.; Denetleme – E.S.; Kaynaklar – Y.K.S.; Malzemeler – E.H.; Veri Toplanması ve/veya işlemesi – Y.K.S.E.H.; Analiz ve/veya Yorum – Y.K.S.E.H., ; Literatür taraması – S.Y.K.,E.H.; Yazıyı Yazan – S.Y.K.; Eleştirel İnceleme – E.S.

**Teşekkür:** Yazarlar, bu çalışmayı destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür eder

**Çıkar Çatışması:** Çalışmamızda herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**Finansal Destek:** Çalışmamız Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval is not required for this study.

**Informed Consent:** Not required in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept – E.S.,Y.K.S.; Design – E.H.,Y.K.S.; Supervision –E.S.; Funding –Y.K.S.; Materials –E.H.; Data Collection and/or Processing –Y.K.S.,E.H.; Analysis and/or Interpretation –Y.K.S.,E.H.; Literature Review –S.Y.K.,E.H.; Writer –Y.K.S.; Critical Review – E.S.

**Acknowledgement:** The authors would like to thank to Adnan Menderes University Scientific Research Projects Unit that supported our study.

**Conflict of Interest:** : No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** This study was financially supported by Adnan Menderes University Scientific Research Projects Unit.

## KAYNAKLAR

1. Roxström-Lindquist K, Palm D, Reiner D, Ringqvist E, Svard SG. Giardia immunity-an update. Trends Parasitol 2006; 22: 26-31. [CrossRef]
2. Ak M, Türk M, Güneş K. Giardiasis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M. editörler. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:22; 2007; 323-44.
3. Ertabaklar H, Ertuğ S. Çocuklarda sık görülen parazitler. Clinic Pediatri 2014; 9: 22-8.
4. Kocazeybek B. Özel bir hastanede akut gastrointestinal enfeksiyon etkeni mikroorganizmaların prevalansının araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2001; 31: 69-72.
5. Çiragil P, Aral M, Ekerbiçer HÇ, Gül M. Kahraman Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitoloj Derg 2003; 27: 136-8.
6. Karadam SY, Ertabaklar H, Ertuğ S. Distribution of intestinal parasites in children in two different day nurseries and a kindergarten in Aydın. Türkiye Parazitoloj Derg 2008; 32: 257-60.
7. Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. The results of Hacettepe University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory in 2003-2012: evaluation of 10 years. Türkiye Parazitoloj Derg 2013; 37: 97-101.
8. Özçelik S, Değerli S. Türkiye'de Giardiasis. Türkiye Parazitoloj Derg 1998; 22: 292-8.
9. Leber AL, Novak-Weekley S, Çev: Tanyüksel M, Koro Ö. İntestinal ve ürogenital yerleşimli amipler, kamçılılar ve silialılar. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, Editors. Çev: Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M. Manuel of Clinical Microbiology, Ankara; 2009. Cilt: 2. 2092-112.
10. Özcel MA. Genel parazitoloji. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, editörler. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no: 22; 2007; 3-75.
11. Özbel Y, Dağcı H. Giardiasis laboratuvar tanısı. Özcel MA, Üner A. editörler. Giardiasis. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yay no:14; 1997; 79-117
12. Kaplan M, Gökmerdan A, Kalkan A, Kazas S, Felek S. Giardia intestinalis enfeksiyonlarının tanısında mikroskopi ve indirekt immün floresan yöntemlerinin karşılaştırılması. Mikrobiyol bul 1998; 32: 249-55.
13. Kustimur S, Doğruman Al F, Tuncer C, Duyan Çamurdan A, Dalgıç B, Alagöz H, et al. Gastrointestinal yakınmaları olan hastalarda bazı protozoonların farklı tanı yöntemleri ile araştırılması. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2009; 29: 1260-6.
14. Doğruman Al F, Kuştimur S, Özekinci T, Balaban N, İlhan MN. Giardia intestinalis tanısında enzim linked immunosorbent assay (ELISA) ve direkt floresan antikor yöntemlerinin kullanılması. Türkiye Parazitoloj Derg 2006; 30: 275-8.
15. Uyar Y, Taylan Özkan A. Antigen detection methods in diagnosis of amebiasis, giardiasis and cryptosporidiosis. Türkiye Parazitoloj Derg 2009; 33: 140-50.
16. Aziz H, Beck CE, Lux MF, Hudson MJ. A comparison study of different methods used in the detection of Giardia lamblia. Clin Lab Science 2001; 14: 150-4.
17. Zimmerman SK, Needham CA. Comparison of conventional stool concentration and preserved-smear methods with Merifluor Cryptosporidium/Giardia Direct Immunofluorescence Assay and ProSpecT Giardia EZ Microplate Assay for detection of Giardia lamblia. J Clin Microbiol 1995; 33: 1942-3.
18. Garcia LS, Shimizu RY. Evaluation of nine immunoassay kits (Enzymeimmunoassay and Direct fluorescence) for detection of Giardia lamblia and Cryptosporidium parvum in human fecal specimens. J Clin Microbiol 1997; 35: 1526-9.
19. Goni P, Martín B, Villacampa M, Garcia A, Seral C, Castillo FC, et al. Evaluation of an immunochromatographic dip strip test for simultaneous detection of Cryptosporidium spp, Giardia duodenalis, and Entamoeba histolytica antigens in human faecal samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012; 31: 2077-82. [CrossRef]
20. Gutierrez-Cisneros MJ, Martinez-Ruiz R, Subirats M, Merino FJ, Millan R, Fuentes I. Assessment of two commercially available immunochromatographic assays for a rapid diagnosis of Giardia duodenalis and Cryptosporidium spp. in human fecal specimens. Enferm Infecc Microbiol Clin 2011; 29: 201-3.
21. Garcia LS, Garcia JP. Detection of Giardia lamblia antigens in human fecal specimens by a solid-phase qualitative immunochromatographic assay. J Clin Microbiol 2006; 44: 4587-8. [CrossRef]
22. Oster N, Gehrig-Feistel H, Jung H, Kammer J, McLean JE, Lanzer M. Evaluation of the immunochromatographic CORIS Giardia-Strip test for rapid diagnosis of Giardia lamblia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25: 112-5. [CrossRef]
23. Weitzel T, Dittrich S, Möhl I, Adusu E, Jelinek T. Evaluation of seven commercial antigen detection tests for Giardia and Cryptosporidium in stool samples. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 656-9. [CrossRef]
24. Bayramoğlu Ö, Pekmezci D, Başarı F. Investigation of Giardia and Cryptosporidium prevalence with different methods in Adana food workers. Türkiye Parazitoloj Derg 2013; 37: 4-8. [CrossRef]
25. Doni NY, Zeyrek FY, Gürses G, Tümer S. Giardia ve Cryptosporidium tanısında direkt mikroskopi ve antijen tarama testlerinin karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg 2013; 37: 169-73.



# Çocukluk Çağında Kistik Ekinokokkozis: Tek Merkezin Beş Yıllık Deneyimi

Cystic Echinococcosis in Childhood: Five-Years of Experience From a Single-Center

Tuğba Koca<sup>1</sup>, Selim Dereci<sup>1</sup>, Ali Gençer<sup>2</sup>, Levent Duman<sup>3</sup>, Aykut Recep Aktaş<sup>4</sup>,  
Mustafa Akçam<sup>1</sup>, Füsün Zeynep Akçam<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı, Isparta, Türkiye

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

<sup>3</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

<sup>4</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

<sup>5</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Çocuk polikliniklerimizde 5 yıllık sürede takip edilen kistik ekinokokkozis tanımlı hastaların klinik ve takip bulgularının değerlendirilmesi.

**Yöntemler:** 2009-2014 yılları arasında kistik ekinokokkozis tespit edilen 34 hastanın demografik, klinik, laboratuvar ve takip bulguları geriye dönük olarak incelendi. Çeşitli nedenlerle düzgün takip edilmeyen veya dosya kayıtlarına ulaşılamayan 10 hasta çalışma dışı bırakıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya dâhil edilen 24 hastanın 12'si (%50) kız, 12'si (%50) erkek olup, yaş ortalaması 11,17±3,71 (5-17) yıl olarak saptandı. En sık başvuru yakınmaları; karın ağrısı (%41,7), öksürük (%16,7) ve halsizliği (%12,5). Hastaların %54,2'sinde sadece karaciğer tutulumu, %33,3'ünde sadece akciğer tutulumu, %4,2'sinde intraabdominal tutulum ve %8,3'ünde çoklu organ tutulumu mevcuttu. Hastaların ilk başvuru anında yapılan ekinokok indirekt hemaglutinasyon testi 13 (%54,2) hastada pozitif idi. Hastaların tümü albendazol tedavisi aldı. Yedi hastaya ponksiyon-aspirasyon-injeksiyon-reaspirasyon (PAIR) (%29,2), altı hastaya açık cerrahi (%24,2), bir hastaya da hem PAIR işlemi hem de açık cerrahi uygulandı.

**Sonuç:** Kistik ekinokokkozis, gelişmekte olan ülkeler için ciddi bir sağlık sorunudur. Endemik bölgelerde şüpheli radyolojik ve klinik bulgular varlığında mutlaka akla getirilmelidir. (*Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2016; 40: 26-31)

**Anahtar Kelimeler:** Çocuk, kistik ekinokokkozis, PAIR

**Geliş Tarihi:** 28.06.2015

**Kabul Tarihi:** 18.02.2016

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the clinical data and prognosis of cystic echinococcosis during a 5-year period who were followed by the pediatric clinics.

**Methods:** Demographic, clinical, laboratory, and prognosis data of 34 patients with cystic echinococcosis obtained between 2009 to 2014 were retrospectively evaluated. Of these, 10 patients were excluded because of incomplete data or failure to follow up.

**Results:** A total of 24 (12 males and 12 females) children were included the study. The mean ages of patients were 11.17 ± 3.71 (range, 5-17) years. The most common symptoms were abdominal pain (41.7%), cough (16.7%), and fatigue (12.5%). Localization of the parasite in the patients was determined to be as follows: liver (54.2%), lung (33.3%), and intraabdominal (4.2%). Multiorgan involvement was observed in 8.3% of the cases. Indirect hemagglutination test was positive in 13 (54.2%) patients at admission. All patients received treatment with albendazole. Seven patients were treated with puncture-aspiration-injection-re-aspiration (PAIR) (29.2%). Open surgery was performed in six patients (24.2%). One patient was treated with both PAIR and open surgery.

**Conclusions:** Cystic echinococcosis is a serious public health problem in developing countries. Hydatid cyst should be considered in the presence of suspicious radiological and clinical findings in endemic areas. (*Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2016; 40: 26-31)

**Keywords:** Child, cystic echinococcosis, PAIR

**Received:** 28.06.2015

**Accepted:** 18.02.2016

**Bu çalışma 58. Türkiye Milli Pediatri kongresinde (22-26 Ekim 2014) sunulmuş ve özet kitabında özet olarak yayınlanmıştır.**

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Mustafa Akçam E.posta: makcam32@gmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4381

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org) web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org)

## GİRİŞ

Kistik ekinokokkozis, özellikle tarım ve hayvancılığın yaygın olduğu ülkelerde sık görülen, çoğunlukla köpek dışkısı ile insana ve koyuna bulaşan ekinokok türlerinin neden olduğu zoonotik bir hastalıktır. Her yaş grubunda görülebilir. Endemik bölgelerde çoğunlukla çocukluk çağında alınır (1).

Hastalık; Türkiye, Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu, Güney Amerika, Yeni Zelanda ve Güney Afrika'da endemiktir. Ülkemizde prevalansın 50-400/100.000, insidansın 3,4/100.000 olduğu bildirilmiştir (2, 3). Manisa'da yapılan il bazlı bir çalışmada hastalık sıklığının çocuklarda % 0,15 olduğu gösterilmiştir (4).

Enfeksiyonun endemik olduğu bazı ülkelerde ultrasonografi (USG) taramasında çocuklarda kistik ekinokokkozis sıklığı %0,7-4,2 arasında bulunmuştur (5-8). Ülkemizde iki farklı çalışmada USG ile kistik ekinokokkozis sıklığı sırasıyla % 0,3 ve % 0,5 olarak daha düşük saptanmıştır (9, 10).

Hastalığa özgü bir klinik bulgu yoktur ve yerleştiği bölgeye, kistin büyüklüğüne göre farklı yakınmalar ortaya çıkabilir. Tüm organlarda görülebilmekle birlikte, çocuklarda en sık akciğerler, erişkinlerde ise karaciğer tutulur. Hidatik kistlerin çoğu belirti vermez ve kendiliğinden gerileyebilir (1, 11).

Hastalığın tanısı, klinik, radyolojik görüntüleme yöntemleri ve serolojik testlerle konulur. Tedavisinde albendazol tek başına veya cerrahi tedavi ve perkütan girişimlerle birlikte kullanılır (12-17). Tedavi şekli ile ilgili standart bir protokol olmadığından, her hastanın klinik, radyolojik ve serolojik testlerin sonuçları ayrı olarak ele alınıp tedaviye yanıtı değerlendirilmektedir (1, 11, 18, 19).

Bu çalışmada, Türkiye'de hâlâ endemik ve önemli bir sağlık problemi olan kistik ekinokokkozis tanısı alan çocuk hastalarımızın demografik özellikleri ve klinik süreçlerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

Temmuz 2009-Temmuz 2014 tarihleri arasında üçüncü basamak, hastanemizin çocuk polikliniklerinde kistik ekinokokkozis tanısı alıp takip edilen 34 çocuk hastanın geriye dönük olarak kayıtları incelendi. Takiplere düzenli olarak gelmeyen veya kayıtlarına ulaşılamayan 10 hasta çalışma dışı bırakıldı. Kistik ekinokokkozis tanısı, klinik, radyolojik ve serolojik testlerle konuldu. Hastalar yaş, cinsiyet, başvuru yakınması, başlangıç fizik muayene bulguları, başvuru ekinokok indirekt hemaglutinasyon (IHA) testi sonucu, kistin yerleşim yeri, uygulanan tedavi yöntemi, ilaç tedavi süresi, tedaviye verilen yanıt açısından incelendi. Tedavi öncesinde hastalara endikasyonu varlığında; akciğer grafisi, toraks veya batin USG, toraks bilgisayarlı tomografisi (BT), manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yapıldı. Ekinokok IHA testi sonucu  $\geq 1/32$  ise pozitif kabul edildi. Albendazol 15 mg/kg/gün (maksimum 800 mg/gün) iki dozda 28 günlük kürler halinde verilip iki kür arasında 14 günlük aralar verildi (20). Toplam olarak altı kür tedavi verildi. Tedavi başlangıcı ile 2 hafta sonra ve aylık aralıklarla tam kan sayımı ve karaciğer enzimleri kontrol edildi. Karaciğer hidatik kisti olan uygun hastalara USG eşliğinde ponksiyon-aspirasyon-injeksiyon-reaspirasyon (PAIR) tedavisi uygulandı. Bu uygulamada, kistin içeriği önce boşaltıldı ve kist içine %20'lik hipertonic salin verilip reaspirasyon yapıldı. PAIR uygulanamayan

veya cerrahi endikasyonu olan olgulara operatif cerrahi (kistektomi, kistotomi ve kapitonaj) uygulandı. Acil girişim gerekmeyen hastalara PAIR ve cerrahi öncesinde bir hafta, sonrasında bir ay olacak şekilde albendazol tedavisi verildi. Tedaviye verilen yanıt, klinik, radyolojik ve serolojik testlerle birlikte değerlendirildi. Klinik bulguların düzelmesiyle birlikte kist çapının azalması, kistin kollapsı, kist sıvısının ekojenitesi ve yoğunluğunda progresif artış ve membranların kapsülden ayrılması tedavi başarısı olarak kabul edildi (21). Yeni kist oluşumu, kistin tekrarlaması, kistin boyutunda artma ya da aynı kalma tedaviye yanıtızlık olarak kabul edildi.

Üç farklı tedavi şeması uygulandı (20):

- Albendazol tedavisi: <5 cm karaciğer hidatik kistleri, iki veya daha fazla organda hidatik kist
- PAIR tedavisi: >5 cm cerrahi olarak ulaşılması zor yerleşimli hidatik kistler, tip 1 ve tip 3a hidatik kistleri (Tiplendirme WHO-IWGE sınıflamasına göre yapıldı.)
- Cerrahi tedavi: >5 cm yüzeysel yerleşimli perforasyon riski olan karaciğer hidatik kistleri, çok sayıda kız vezikül içeren hidatik kistler, akciğer hidatik kistleri

## İstatistiksel inceleme

Çalışmanın istatistiksel analizleri, Statistical Package for Social Science for Windows (SPSS) sürüm 15,0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA, 2006) ile yapıldı. Ölçülebilir değişkenlerin dağılımı, ortalama ve standart sapma olarak sınıflandırılmış veriler sıklık ve yüzde olarak verildi. Çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi klinik araştırmalar etik kurulundan onay alındı.

## BULGULAR

Hastaların karakteristik özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen 24 hastanın 12'si (%50) erkek, 12'si (%50) kız, yaş ortalaması  $11,17 \pm 3,71$  (5-17) yıl idi. Hastaların 13'ünde (%54,2) karaciğer, sekizinde (%33,3) akciğer, birinde (%4,2) intraabdominal tutulum, iki hastada (%8,3) ise çoklu organ tutulumu mevcuttu. Çoklu organ tutulumu olan hastaların birinde karaciğer, akciğer ve beyinde, birinde karaciğer ve dalakta hidatik kist saptandı (Bazı hastaların görüntüleri Resim 1, 2 ve 3'te gösterildi). Akciğer kistik ekinokokkozis olgularının



Resim 1. Karaciğer kist hidatiğinin ultrasonografik görünümü

**Tablo 1.** Hastaların karakteristik özellikleri

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Kist yerleşimi	Yakınma	IHA	Girişim
1	K	13	Kc sağ lob	Karın ağrısı ve halsizlik	-	PAIR
2	K	8	Akc sol lob	Öksürük ve nefes darlığı	-	-
3	E	12	Akc sol lob	Halsizlik	-	Cerrahi
4	E	10	Kc sağ lob	Karın ağrısı,	-	PAIR
5	K	17	Kc sağ lob+Kc sol lob	Karın ağrısı	+	PAIR+ Cerrahi
6	E	12	Kc sağ lob	Raslantısal	+	PAIR
7	K	12	Akc sol lob	Öksürük	+	Cerrahi
8	K	13	Kc sağ lob	Karın ağrısı, kilo kaybı, iştahsızlık	-	PAIR
9	E	16	Akc sağ lob	Öksürük	+	Cerrahi
10	K	6	Abdominal	Solunum sıkıntısı	+	Cerrahi
11	E	12	Kc sağ lob	Karın ağrısı	-	-
12	E	5	Kc sol lob	Karın ağrısı	-	-
13	E	14	Akc sol lob	Öksürük ve nefes darlığı	+	-
14	E	9	Akc sol lob	Ateş, iştahsızlık ve halsizlik	+	-
15	K	13	Kc sol lob	Eklem ağrısı	+	-
16	E	15	Akc sol lob (rüptüre)	Öksürük ve ateş	+	Cerrahi
17	K	12	Kc sol lob	Karın ağrısı	+	-
18	K	7	Kc sağ lob	Sarılık	-	PAIR+drenaj kateteri
19	K	15	Kc sol lob+dalak	Karın ağrısı	+	-
20	K	15	Kc sol lob+akc sağ lob+beyin	Ciltte kaşıntı ve kızarıklık	+	PAIR
21	K	7	Kc sağ lob	Raslantısal	-	-
22	E	12	Kc sol lob	Karın ağrısı	-	PAIR
23	E	7	Akc sağ lob	Öksürük ve ateş	+	Cerrahi
24	E	14	Kc sol lob	Karın ağrısı	-	-

Akc: Akciğer, Kc: Karaciğer, IHA: İndirekt hemaglütinasyon, PAIR: Ponksiyon-aspirasyon-injeksiyon-reaspirasyon

%33'ünde sağ akciğer tutulumu mevcut iken, karaciğer kistik ekinokokkozis olgularının %54'ünde sağ lob tutulumu saptandı.

En sık başvuru yakınmaları karın ağrısı (%41,7), öksürük (%16,7) ve halsizlikti (%12,5). Karaciğer tutulumu olan hastalarda en sık başvuru yakınmaları karın ağrısı (%69,2), akciğer tutulumu olanların ise öksürük (%50) idi. İlk başvuru sırasında toplam 8 akciğer hidatik kistinin birinde (%12,5) kist rüptürü saptandı. İki hasta (%8,3) rastlantısal olarak tanı aldı, bunlardan birinde trafik kazası sonrası, diğerinde dizüri yakınması nedeniyle yapılan batin USG incelemesinde kist görüldü.

Başlangıç fizik muayenelerinde hastaların %20,8'inde solunum seslerinde azalma saptanırken, %8,3 hastada hepatomegali, %4,2 hastada ürtiker, %4,2 hastada sarılık saptandı. Olguların %40'ının başvuru fizik muayenesi normaldi.

Hidatik kistlerinin ortalama çapı karaciğerde 59,08±24,51 mm (32-110) iken akciğerde 41,16±28,64 mm (4,3-78) idi.

Başvuru anında hastaların 13'ünde (%54,2) ekinokok IHA testi pozitif. Karaciğer hidatik kistlerinin %30,8'inde, akciğer hidatik kistlerinin %75'inde IHA pozitif. İntraabdominal yerleşimli hidatik kisti ve çoklu organ tutulumu olan 3 hastanın hepsinde IHA pozitif saptandı.

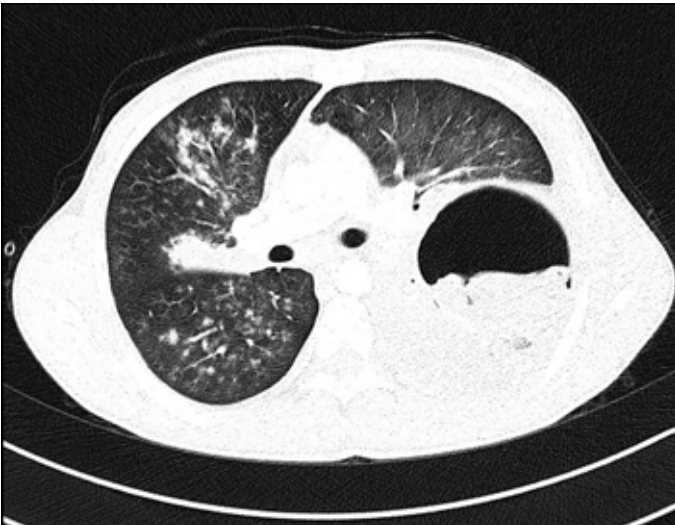
Biri karaciğer, beşi akciğer hidatik kisti olmak üzere altı hastaya (%25) cerrahi tedavi, yedi hastaya (%29,2) PAIR, bir hastaya ise (%4,2) PAIR ve cerrahi tedavi uygulandı. Cerrahi sonrası bir hasta kist rezidüsü saptanması nedeniyle 2. kez ameliyat edildi. Safra yollarına bası yapması sonucu direkt bilirubin yüksekliğine sebep olan 5x5 cm boyutlarındaki karaciğer KH'li bir hastaya PAIR uygulandıktan sonra, aynı seansta perkütan 6F drenaj kateteri takıldı. Drenaj kateterinden safıralı mayi gelmesi nedeniyle, işlemde bir hafta sonra endoskopik sfinkterotomi ve stent yerleştirilmesi ile safra yollarının dekompresyonu sağlandı. İkinci ayın sonunda perkütan drenaj kateteri sorunsuz çıkarıldı.

Sadece ilaç tedavisi alan 10 hasta vardı. Hasta serimizde biliyer fistül, eksitüs vakası saptanmadı. Serimizde ortalama tedavi kür sayısı 6,25±4,53 (1-18) idi.

Sadece bir hastada albendazol tedavisinin kesilmesini gerektirecek hepatotoksositeye rastlandı. Dokuz ay aradan sonra kist boyutunun artması nedeniyle, tekrar tedaviye başlandığında transaminaz değerlerinde yükselme ve otoimmün belirteçlerinde pozitifleşme saptandı. Hastaya karaciğer biyopsisi de yapılarak, ilacın tetiklediği otoimmün hepatit tanısı konuldu.



**Resim 2.** Karın bilgisayarlı tomografisinde kist hidatikle uyumlu çok sayıda hipodens lezyonlar



**Resim 3.** Ruptüre akciğer kist hidatiğinin bilgisayarlı tomografi görüntüsü

## TARTIŞMA

Kistik ekinokokkozis, Türkiye’de her bölgede görülen ve hâlâ güncelliğini koruyan bir enfeksiyondur (23, 24). Hastalığın yaygınlığı konusundaki verilerin yetersiz olduğu, bu verilerin çoğunlukla hastane kayıtlarına ait bilgileri içerdiği kaydedilmektedir (19). Bu retrospektif çalışma, hastanemizde son 5 yıl içinde 34 çocuğun kistik ekinokokkozis tanısı aldığını, bunlardan 24’ünün düzenli takibe geldiğini ortaya koydu.

Kistik ekinokokkozisde metastesodlar –parazitin larva formu- herhangi bir organa yerleşebilir. Çocukluk çağında, akciğer tutulumu karaciğer tutulumundan daha sık görülür. Literatürde karaciğer/akciğer tutulum oranı 1/2 - 1/7 kadar değişen oranlarda bildirilmiştir (14). En sık sağ akciğer ve özellikle de sağ akciğer alt lobu tutulur (25). Bizim çalışmamızda farklı olarak, karaciğer tutulumu akciğer tutulumuna göre daha sıklıkla görüldü. Akciğer kistik ekinokokkozis olgularının %67’sinde sağ akciğer tutulumu mevcut-

ken, karaciğer kistik ekinokokkozis olgularının %54’ünde sağ lob tutulumu mevcuttu. Literatürde çoklu organ tutulumu yaklaşık %20 olarak bildirilmiştir. Yıldız ve ark. (26) 12 olgunun %33’ünde birden fazla organ tutulumu gözlemiştir. Bu çalışmada hastaların %8,3’ünde çoklu organ tutulumu saptandı.

Hastalığın kliniği, tutulan organ, kistin büyüklüğü, genişleyen kist ile komşu organlar arasındaki etkileşimi ile ilgili olarak değişir. Akciğer hidatik kistleri çoğunlukla belirtisiz olabilirken, ateş, öksürük, göğüs ağrısı, dispne, hemoptizi yapabilir (18, 27, 28). Olgularımızın başvuru yakınmalarında %28’inde öksürük, %11’inde ateş, %9’unda göğüs ağrısı, %4’ünde de nefes darlığı vardı. Karaciğer hidatik kistleri; karında dolgunluk hissine, karın ağrısına, kusmaya ve sarılığa neden olabilir (16, 25). Olguların başvurusunda %28’inde karın ağrısı, %7’sinde karında şişkinlik, %4,2’sinde de sarılık yakınması mevcuttu.

Kistlerin büyümesi yıllar içinde olur. USG ölçümleri kistlerin yılda 1-50 mm büyüyebileceğini veya yıllarca hiç değişmeden kalabileceğini göstermiştir. Ayrıca kendiliğinden rüptüre, kollabe olabilirler veya kaybolabilirler. Genelde 5 cm çapa ulaşmaya kadar belirti vermezler. Karaciğer hidatik kistleri, akciğerdekilere göre daha yavaş büyüme gösterir (19). Boyut büyüdükçe, basınç ve tıkaçıcı etkilere bağlı klinik bulgu gösterir. Olgularımız arasında en büyük kist boyutu 110 mm olup, bir hastada basıya bağlı kolestaz kliniği gelişti. Hidatik kist sıvısının sızması sonucu, alerjik yakınmalar, kist rüptürü sonucu ateş, eosinofili ve anafilaktik şoka varan bulgular veya süpürasyon gibi komplikasyonlar oluşabilir (27). İlk başvuru sırasında toplam 8 akciğer kistik ekinokokkozis hastasının birinde (%12,5) kist rüptürü saptandı.

Serolojik testler, kistik ekinokokkozis hastalığının endemik olduğu bölgelerde, düşük maliyeti ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle tanı ve takipte kullanılmaktadır (29). Ekinokok IHA, ELISA IgG, immunelektroforez, indirekt floresan antikor testleri kistik ekinokokkozis tanı ve takibinde kullanılabilen serolojik testlerdir. Bu testler karaciğer tutulumunda %85-98, akciğer tutulumunda %50-60 ve çoklu organ tutulumunda %90-100 duyarlıdır (20). Olgularımızın tanı ve takibinde, hastanemizde uygulanabilmesi, hızlı sonuç vermesi, kolay uygulanabilir olması nedeniyle ekinokok IHA testi kullanıldı. Başvuru anında hastaların %54,2’sinde ekinokok IHA pozitif iken bu oran karaciğer kistik ekinokokkozislerinde %30,8, akciğer kistik ekinokokkozislerinde %75 idi. Karaciğer kistik ekinokokkozis olgularımızda seronegatiflik oranı oldukça yüksekti. Tip 2 ve 3 hidatik kist olgularında seronegatiflik %5-20 iken tip 1, 4 ve 5 hidatik kist olgularında bu oranın %87’lere ulaştığı bildirilmiştir (30). Çalışmamızda hidatik kist tipleri değerlendirilmemiş olup, seronegatifliğin yüksek olmasının hastaların kist tiplerine bağlı olabileceği düşünüldü.

Kistik ekinokokkozis için farklı tedavi yaklaşımları mevcut olup, ideal bir tedavi seçeneği tanımlanmamıştır. Kistik ekinokokkozis için tek ve en iyi olarak tanımlanmış bir tedavi seçeneği yoktur. Komplike olmayan hidatik kistte tedavi cerrahi, ilaç tedavisi ve PAIR biçimlerinde olabilir (31). Cerrahi tedavinin amacı, maksimum organ dokusunun korunarak kistin tamamının çıkarılmasıdır. Hasta serimizde akciğer tutulumu olan beş hastaya ve karaciğer tutulumu olan bir hastaya cerrahi uygulanmıştır. PAIR, karaciğer ve diğer intraabdominal yerleşimli basit ulaşılabilir hidatik kistlerin tedavisinde minimal invaziv bir yöntemdir. USG veya BT

eşliğinde %20'lik hipertonic salin ya da ethanol ile yapılabilir (9, 28). Olgularımız arasında, karaciğer yerleşimli hidatik kisti olan hastalardan yedisine PAIR tedavisi ile birlikte andazol tedavisi uygulanıp altısında iyileşme sağlandı. PAIR işlemi sırasında drenaj kateteri yerleştirilen bir hastada bilioma gelişti, endoskopik sfinkterotomi ve stent yerleştirmesi ile hasta sorunsuz tedavi edildi. Bir hastaya ise cerrahi girişim gerekti.

Medikal tedavide albendazol tercih edilmektedir. Ancak %100 etkili değildir. Albendazolün cerrahi ve PAIR ile birlikte kullanımının rekürrensi azalttığı bildirilmiştir (32). Son yayınlarda albendazolün özellikle <5 cm olan hidatik kistlere etkili olduğu belirtilmektedir (20). Doğru ve ark. (33) 82 akciğer kistik ekinokokkozisli hasta ile yaptıkları bir çalışmada, çapı < 5 cm olan kistlerde ilaç tedavisi başarı oranı %68,2 olarak bulmuştur. Literatürde albendazol tedavi dozu ve süresi ile ilgili çok çeşitli öneriler bulunmaktadır (14, 34). Albendazol, 10-15 mg/kg/gün iki bölünmüş dozda, 3-6 ay süre ile önerilir. Akciğer tutulumunda, tedavi süresi kistin tipine göre 2 yıla kadar uzayabilmektedir (14). Albendazol tedavisi, 28 günlük tedavi 14 günlük aralar halinde de önerilirken, son yıllarda kesintisiz verilebileceği belirtilmektedir (20). Olgularımızda ortalama tedavi kür sayısı  $6,25 \pm 4,53$  (1-18) idi. Çoklu organ tutulumu ve komplikasyon nedeniyle, 3 olguda albendazol tedavi süresi 12 ay ve üzerindedir. PAIR uygulaması ve cerrahi öncesinde koruyucu albendazol başlanmasının rekürrensi azalttığı bildirilmektedir (21). Koruyucu albendazolün, girişimden en az 4 gün (4-30 gün) önce başlanması ve en az 1 ay (1-3 ay) süreyle devam edilmesi önerilmektedir (33). Cerrahi tedavi ile karşılaştırıldığında PAIR + albendazol tedavisinin, kistin kaybolmasında aynı etkiye sahip fakat daha az yan etki ve daha kısa süre hastanede kalma gibi avantajı vardır. Tek başına albendazol tedavisi ile karşılaştırıldığında ise PAIR + albendazol, kistte daha fazla küçülme ve yakınlarda azalmaya sebep olmaktadır (27). Hasta serimizde hastaların % 41,7'si sadece ilaç tedavisiyle izlendi.

Albendazolün en sık bildirilen yan etkileri, karaciğer enzimlerinde artış, ciddi lökopeni, trombositopeni ve alopesidir (34, 35). Horton (36) karaciğer fonksiyon bozukluğunu %20 ile en sık yan etki olarak bildirmiştir. Çalışmamızda hastaların karaciğer enzim düzeyleri aylık kontrol edildi. Bir hastada albendazolün tetiklediği otoimmün hepatit gelişmesi üzerine, ilaç kesildi (37). Bu hasta dışında, tedavi kesilmesine neden olan ciddi yan etki görülmedi.

Kistik ekinokokkozisin seyri genellikle iyidir. Kistin yeri ve cerrahi deneyimine bağlı olarak, nüks oranları %2-25 arasında değişmektedir. Ameliyata bağlı mortalite oranları da aynı nedenlere bağlı olarak %0,5-4 arasında değişmektedir (13, 30). Serimizdeki olguların tamamında iyileşme sağlandı, izlemde olguların hiçbirinde nüks saptanmadı.

## SONUÇ

Kistik ekinokokkozis, gelişmekte olan ülkeler için ciddi bir sağlık sorunudur. Endemik bölgelerde, şüpheli radyolojik ve klinik bulgular varlığında kistik ekinokokkozis ayırıcı tanıda mutlaka düşünülmelidir. Karaciğer hidatik kistlerinde, seronegatiflik oranı kist tipi ile ilişkili olarak yüksek saptanabilmektedir. Albendazol tedavisinin bilinen yan etkilerinin yanı sıra, otoimmün hepatite yol açabileceği de akılda tutulmalıdır.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için etik komite onayı Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan alınmıştır.

**Hasta Onamı:** Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

**Yazar Katkıları:** Fikir – M.A.; Tasarım – T.K., A.G.; Denetleme – M.A., L.D., A.R.A.; Veri toplanması ve/veya işlemesi – A.G., S.D.; Analiz ve/veya yorum – T.K., A.G.; Literatür taraması – T.K., A.G., S.D.; Yazıyı yazan – T.K., A.G.; Eleştirel inceleme – F.Z.A., M.A.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received from the ethics committee of the School of Medicine at Süleyman Demirel University.

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained from the parents of the patients who participated in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept – M.A.; Design – T.K., A.G.; Supervision – M.A., L.D., A.R.A.; Data Collection and/or Processing – A.G., S.D.; Analysis and/or Interpretation – T.K., A.G.; Literature Review – T.K., A.G., S.D.; Writer – T.K., A.G.; Critical Review – F.Z.A., M.A.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** The authors declare that this study has received no financial support.

## KAYNAKLAR

- Doğru Ü. Kist Hidatik. 4. Uludağ Pediatri Kış Kongresi, 17-20 Şubat 2008, Bursa, Bildiri Özet Kitabı, s. 60-1, 2008
- Kokturk O, Guruz Y, Akay H, Akhan O, Biber Ç, Çağırıcı U ve ark. Toraks Derneği Paraziter Akciğer Hastalıkları Tanı ve Tedavi Rehberi Toraks Dergisi 2002; 3: 1-16.
- Imad S Dandan. Hydatid Cysts. [http:// www.Emedicine.com/mrd/topic1046.htm](http://www.Emedicine.com/mrd/topic1046.htm)
- Ok UZ, Ozkol M, Kilimcioğlu AA, Dinç G, Bayındır P, Ostan I, et al. Province-based study using sampling method to investigate the prevalence of cystic echinococcosis among primary school children in Manisa, Turkey. Acta Trop 2007; 103: 116-22. [CrossRef]
- Cohen H, Paolillo E, Bonifacio R, Botta B, Parada L, Cabrera P, et al. Human cystic echinococcosis in a Uruguayan community: a sonographic, serologic, and epidemiologic study. Am J Trop Med Hyg 1998; 59: 620-7.
- Carmona C, Perdomo R, Carbo A, Alvarez C, Monti J, Grauert R, et al. Risk factors associated with human cystic echinococcosis in Florida, Uruguay: results of a mass screening study using ultrasound and serology. Am J Trop Med Hyg 1998; 58: 599-605.
- Frider B, Moguilensky J, Salvitti JC, Odriozola M, Cantoni G, Larrieu E. Epidemiological surveillance of human hydatidosis by means of ultrasonography: its contribution to the evaluation of control programs. Acta Trop 2001; 79: 219-23. [CrossRef]
- Kachani M, Macpherson CNL, Lyagoubi M, Berrada M, Bouslikhane M, Kachani F, et al. Public health education/importance and experience from the field. Educational impact of community-based ultrasound screening surveys. Acta Trop 2003; 85: 263-9. [CrossRef]
- Kilimcioğlu AA, Ozkol M, Bayındır P, Girginkardeşler N, Ostan I, Ok UZ. The value of ultrasonography alone in screening surveys of cystic echinococcosis in children in Turkey. Parasitol Int 2006; 55: 273-5. [CrossRef]



10. Ozkol M, Kilimcioğlu AA, Girginkardeşler N, Balcioglu IC, Sakru N, Korkmaz M, et al. A discrepancy between cystic echinococcosis confirmed by ultrasound and seropositivity in Turkish children. *Acta Trop* 2005; 93: 213-6. [\[CrossRef\]](#)
11. Amman R. Echinococcus. *Gastroenterology Clinics of North America* 1996; 25: 655-89. [\[CrossRef\]](#)
12. Anadol D, Gocmen A, Kiper N, Ozcelik U. Hydatid disease in childhood: a retrospective analysis of 376 cases. *Pediatr Pulmonol* 1998; 26: 190-6. [\[CrossRef\]](#)
13. Ben Brahim M, Nouri A, Ksia A, El Ezzi O, Krichene I, Mekki M, et al. Management of multiple echinococcosis in childhood with albendazole and surgery. *J Pediatr Surg* 2008; 43: 2024-30. [\[CrossRef\]](#)
14. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop* 2010; 114: 1-16. [\[CrossRef\]](#)
15. Giorgio A, de Stefano G, Esposito V, Liorre G, Di Sarno A, Giorgio V, et al. Long-term results of percutaneous treatment of hydatid liver cysts: a single center 17 years experience. *Infection* 2008; 36: 256-61. [\[CrossRef\]](#)
16. Turkyilmaz Z, Sonmez K, Karabulut R, Demirogullari B, Göl H, Basaklar AC, et al. Conservative surgery for treatment of hydatid cysts in children. *World J Surg* 2004; 28: 597-601. [\[CrossRef\]](#)
17. Abbas M, Nafeh AI, Youssef YF, Nasr MM, Radwan HS, et al. Conservative versus radical surgery for treatment of uncomplicated hepatic hydatid cysts. *J Egypt Soc Parasitol* 2006; 36: 559-76.
18. Sayek I, Tirnaksiz MB, Dogan R. Cystic hydatid disease: current trends in diagnosis and management. *Surg Today* 2004; 34: 987-96. [\[CrossRef\]](#)
19. Altintaş N. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Tropica* 2003; 85: 105-12. [\[CrossRef\]](#)
20. WHO-IWGE, PAIR: Puncture, Aspiration, Injection, Re-Aspiration. An option for the treatment of Cystic echinococcosis. Vol. WHO/CDS/CSR/APH/2001.6 2003. Geneva: WHO
21. Blanton R. Echinococcosis. In: Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics*. Kliegman R M, Philadelphia: Saunders 2007: 1516-9.
22. Dakkak A. Echinococcosis/hydatidosis: a severe threat in Mediterranean countries. *Vet Parasitol* 2010; 174: 2-11. [\[CrossRef\]](#)
23. Canda MŞ, Güray M, Canda T, Astarcioglu H. The pathology of echinococcosis and the current echinococcosis is problem in Western Turkey (A report of pathologic features in 80 cases). *Turk J Med Sci* 2003; 33: 369-74.
24. Yazar S, Taylan Özkan A, Hökelek M, Polat E, Yılmaz H, Özbilge H, ve ark. Türkiye'de 2001-2005 yılları arasında kistik ekinokokkozis. *Türkiye Parazitol Derg* 2008; 32: 208-20.
25. Kurul IC, Topcu S, Altinok T, Yazici U, Tastepe I, Kaya S, et al. One-stage operation for hydatid disease of lung and liver: principles of treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 124: 1212-5. [\[CrossRef\]](#)
26. Yıldız B, Şen S, Bal Şahbudak Z, Erdoğan Dirim D, Korkmaz M, Vardar F. Çocukluk Çağında Kist Hidatik Hastalığının Epidemiyolojik, Laboratuvar ve Klinik Özellikleri. *J Pediatr Inf* 2013; 7: 53-6. [\[CrossRef\]](#)
27. Schantz PM. Echinococcus Species (Agents of Cystic, Alveolar, and Polycystic Echinococcosis). In: Long SS, Pickering LK, Prober CG, editors. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases Second Edition*. New York; Churchill-Livingstone 2003; 1357-61.
28. Aribas OK, Kanat F, Gormus N, Turk E. Pleural complications of hydatid disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 492-7. [\[CrossRef\]](#)
29. Çakır D, Çelebi S, Gürpınar A, Ağin M, Bozdemir Ş. Kist Hidatikli Olguların değerlendirilmesi. *J Pediatr Inf* 2009; 3: 104-8.
30. Rinaldi F, Brunetti E, Neumayr A, Maestri M, Goblirsch S, Tamarozzi F. Cystic echinococcosis of the liver: A primer for hepatologists. *World J Hepatol* 2014; 6: 293-305. [\[CrossRef\]](#)
31. Menezes da Silva A. Hydatid cyst of the liver-criteria for the selection of appropriate treatment. *Acta Trop* 2003; 85: 237-242. [\[CrossRef\]](#)
32. Akgun Oral , Murat Yigiter, Abdullah Yildiz, Yalcin O, Dikmen T, Eren S, ve ark. Diagnosis and management of hydatid liver disease in children: a report of 156 patients with hydatid disease. *Journal of Pediatric Surgery* 2012; 47: 528-34. [\[CrossRef\]](#)
33. Doğru D, Kiper N, Ozçelik U, Yalçın E, Göçmen A. Medical treatment of pulmonary hydatid disease: for which child? *Parasitol Int* 2005; 54: 135-8. [\[CrossRef\]](#)
34. Chai J, Menghebat, Wei J, Deyu S, Bin L, Jincao S, ve ark. Observations on clinical efficacy of albendazole emulsion in 264 cases of hepatic cystic echinococcosis. *Parasitol Int* 2004; 53: 3-10. [\[CrossRef\]](#)
35. Bildik N, Cevik A, Altintaş M, Ekinci H, Canberk M, Gülmen M. Efficacy of preoperative albendazole use according to months in hydatid cyst of the liver. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 312-6. [\[CrossRef\]](#)
36. Horton J. Albendazole for the treatment of echinococcosis. *Fundam Clin Pharmacol* 2003; 17: 205-12. [\[CrossRef\]](#)
37. Koca T, Akcam M. Albendazole-induced autoimmune hepatitis. *Indian Pediatr* 2015; 52: 78-9.



# Kronik Karın Ağrısı Olan Çocuklarda *Helicobacter pylori* ve Bağırsak Parazitiz Birlikteliği

Coexistence of *Helicobacter pylori* and Intestinal Parasitosis in Children with Chronic Abdominal Pain

Bülent Gökşen<sup>1</sup>, Yeliz Çağan Appak<sup>2</sup>, Nogay Girginkardeşler<sup>3</sup>, Talat Ecemiş<sup>4</sup>, Erhun Kasırğa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

<sup>2</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalı, Manisa, Türkiye

<sup>3</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

<sup>4</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı kronik karın ağrısı (KKA) yakınması ile başvuran çocuklarda *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) enfeksiyonu ve bağırsak parazitiz birlikteliğinin sıklığı ve her iki enfeksiyonun oluşmasındaki ortak risk etmenlerinin belirlenmesidir.

**Yöntemler:** KKA yakınması ile başvuran 90 hasta çalışmaya alınmıştır. Tüm olguların kan örnekleri *H. pylori* Ig G (HplgG) antikor ve dışkı örnekleri ise *H. pylori* antijeni (*H. pylori* stool antigen-HpSA) ve direkt bakı, ayrıca formol-etil asetat konsantrasyon ve Trikrom boyama yöntemleriyle bağırsak parazitleri yönünden incelenmiştir. *Enterobius vermicularis* (*E. vermicularis*) için anal bant testi uygulanmıştır. HplgG ve/veya HpSA pozitif saptanan çocuklar *H. pylori* pozitif kabul edilmiştir. Risk etkenleri anket çalışması ile karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** *Giardia intestinalis* (*G. intestinalis*) insidansının *H. pylori* pozitif grupta %14,8 olduğu ve *H. pylori* negatif grup ile karşılaştırıldığında (%1,6) istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. *H. pylori* pozitiflik oranının okula giden ve içme suyu olarak şebeke suyu kullanan çocuklarda anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır. Anne eğitim düzeyi düşük olan ve ailede parazit tedavisi alma öyküsü bulunan çocuklarda parazitiz insidansı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

**Sonuç:** *H. pylori* enfeksiyonu ve bağırsak parazitizleri çocuklarda kronik karın ağrısı etiyolojisinin en sık nedenlerindedir. Hijyen koşullarının iyileştirilmesi her iki enfeksiyonun önlenmesinde yararlı olabilir (*Türkiye Parazit Derg* 2016; 40: 32-6).

**Anahtar Kelimeler:** *Helicobacter pylori*, karın ağrısı, *Giardia intestinalis*, çocuk

**Geliş Tarihi:** 07.09.2015

**Kabul Tarihi:** 29.01.2016

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to determine the incidence of coinfection with *Helicobacter pylori* and intestinal parasitosis in children with chronic abdominal pain (CAP) and to investigate the common risk factors in the development of both infections.

**Methods:** Ninety patients with CAP were enrolled in this study. Blood samples of each case were screened for human preformed IgG (HplgG) antibodies, and stool samples were tested for HpSA and also examined for intestinal parasites by direct wet-mount, formalin-ethyl-acetate concentration, and Trichrome staining procedures. Cellophane tape test was used for *Enterobius vermicularis*. Children tested positive for HplgG and/or HpSA were accepted as *H. pylori* positive. The risk factors were compared with a questionnaire.

**Results:** The incidence of *Giardia intestinalis* was 14.8% in the *H. pylori*-positive group and was found to be statistically higher than that in the *H. pylori*-negative group (1.6%). The positivity rates of *H. pylori* were found to be statistically higher in children attending school and using drinking water from taps. The incidences of parasitosis were significantly higher in children with a low maternal education level and with a history of parasitosis treatment in the family.

**Conclusion:** The most common etiologies of CAP in children are *H. pylori* infection and intestinal parasitosis. Improvement of hygienic conditions would be beneficial in preventing both infections. (*Türkiye Parazit Derg* 2016; 40: 32-6).

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, abdominal pain, *Giardia intestinalis*, child

**Received:** 07.09.2015

**Accepted:** 29.01.2016

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Yeliz Çağan Appak E.posta: yelizcagan@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4508

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

## GİRİŞ

Kronik karın ağrısının, çocukluk çağında sık karşılaşılan bir yakınma olduğu ve okul çağındaki çocukların yaklaşık %10'unu etkilediği bildirilmiştir (1). KKA en az üç ay süren, günlük aktiviteyi etkileyecek şiddette günde üç veya daha fazla sıklıkla görülen karın ağrısı atağı olarak tanımlanmıştır (2). Çocuklarda görülen KKA etiyojisinde organik nedenler ancak %10'luk bir kısmı oluştururken, %90'ını ise fonksiyonel nedenlerin kapsadığı gösterilmiştir (3).

Çocukluk çağının, *H. pylori* enfeksiyonunun edinilmesinde önemli bir dönemi oluşturduğu gösterilmiştir (4). Özellikle KKA olan çocuklarda %20'lerde *H. pylori* pozitifliği bildirilmiş olmakla birlikte, bu pozitifliğin hastalık gidişini etkilemediği saptanmıştır. Toplum temelli çalışmalarda, sosyokültürel duruma göre değişkenlik gösteren insidanslar bildirilmektedir. Çocuklarda sıklıkla aile içi geçişten söz edilmekle birlikte, hijyen durumunun da enfeksiyon geçişinde önemli olduğu bilinmektedir (5).

Çocuklarda KKA etiyojisinde özellikle gelişmekte olan ülkelerde rol oynayan önemli bir neden de bağırsak parazitleridir. Parazitlerin ortaya çıkışında da, benzer şekilde *H. pylori*'de olduğu gibi sosyoekonomik düzey ve hijyen koşulları rol oynamaktadır. *H. pylori* ve *G.intestinalis* (*Giardia lamblia*) birlikteliğinin KKA patogeneğinde önemli olduğu bulunmuştur (6). Bu nedenle KKA olan çocuklarda *H. pylori* ve *G. intestinalis* yanında diğer parazitlerin de birlikte olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada KKA olan çocuklarda *H. pylori* ve bağırsak parazitleri birlikteliği ve enfeksiyonların oluşumundaki ortak risk etmenlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

Bir yıl içinde Celal Bayar Üniversitesi Hafs Sultan Hastanesi Genel Pediatri polikliniğine en az üç ay süren, günlük aktiviteyi etkileyecek şiddette günde üç veya daha fazla karın ağrısı şikâyeti ile başvuran yaşları 5-15 arasında değişen, KKA'yı açıklayacak organik patolojik neden saptanamayan 90 hasta çalışmaya alınmıştır. Çalışma için yerel etik kurul onayı, hastalar ve ailelerinden bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alınmıştır. Karın ağrısı organik bir nedene bağlı olan, kronik bir hastalığı bulunan veya son bir ay içinde antibiyotik veya proton pompa inhibitörü kullanan hastalar çalışmaya alınmamıştır. Hastalardan karın ağrısına yönelik ayrıntılı öykü alınmış ve fizik muayene yapılmıştır. Karın ağrısına yönelik rutinde yapılan tam kan sayımı, kan şekeri, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, serum elektrolitleri, tam idrar tetkiki, dışkıda parazit incelemesi ve radyolojik olarak gerekli durumlarda direkt karın grafisi ve karın ultrasonografi sonuçları kaydedilmiştir.

Çalışmaya alınan tüm çocuklara 23 sorudan oluşan bir anket uygulanmıştır. Anket ile hastaların sosyodemografik özellikleri, anne-baba eğitim düzeyi, kreş-okul gitme durumu, ailenin yerleşim yeri, hanede yaşayan kişi sayısı, evde tuvaletin yeri, çamaşır makinesi varlığı, hayvan besleme öyküsü, son üç aydaki ishal öyküsü, ailede ülser ya da gastrit varlığı, ailede parazit ve tedavi öyküsü, diş fırçalama sıklığı, tuvalet ve sonrası temizlik durumu, banyo yapma sıklığı, iç çamaşırını değiştirme sıklığı, içme suyu kaynağı, seyyar satıcılardan gıda alımı ve anne sütü alım öyküsü soruları yöneltilmiş ve alınan yanıtlar kaydedilmiştir.

Her hastadan 2 mL kan ve yaklaşık bir ceviz büyüklüğünde taze dışkı örneği alınmıştır. Dışkı örnekleri direkt bakı, formol-etil asetat yoğunlaştırma ve Trikrom boyama yöntemleri ile bağırsak parazitleri açısından incelenmiş, ayrıca anal bant yöntemi ile *E. vermicularis* yumurtaları aranmıştır.

Kan örnekleri ve iri bir nohut büyüklüğünde dışkı örneği test zamanına kadar -20°C'de saklanmıştır. Dışkı örneğinde HpSA ve serum örneğinde HplgG antikor mikrol ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Tüm örneklerde aranan antikor ve antijen konsantrasyonları birer optik dansite (OD) değeri olarak elde edilmiştir. Antijen tespitinde cut-off değeri 0,20 olarak alınmış, <0,15 değerler negatif, >0,25 değerler pozitif, ara değerler ise şüpheli olarak değerlendirilmiş, şüpheli sonuçlar tekrar edilmiştir. Antikor tespitinde ise örnek OD değerlerinin UR/mL olarak konsantrasyonları hesaplanmış ve sonuçlar kantitatif olarak elde edilmiştir. Cut-off <15 UR/mL negatif, >30 UR/mL pozitif, ara değerler ise şüpheli olarak değerlendirilip tekrar edilmiştir. HpSA veya HplgG antikorundan biri pozitif olan hastalar *H. pylori* pozitif olarak değerlendirilmiştir.

## İstatistiksel Analiz

*H. pylori* pozitifliği olan ve olmayanlar arasındaki ve benzer şekilde parazit pozitifliği olan ve olmayanlar arasındaki özellikler ki-kare testi ile karşılaştırılmıştır. P değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların %46,7'si erkek, %53,3'ü kız olup, yaş ortalaması 9,4±3,6 yıl saptanmıştır. Hastaların 26'sında (%28,9) HplgG antikor pozitif, 64'ünde (%71,1) negatif saptanmıştır. Dışkı örnekleri incelenen hastaların 16'sında (%17,8) HpSA pozitif, 74'ünde ise (%82,2) negatif bulunmuştur. Toplam 27 hastada (%30) *H. pylori* enfeksiyonu tespit edilmiştir. Tüm hastaların 11'inde (%12,2) bağırsak paraziti saptanmış olup, bu hastaların 5'inde (%5,5) *G. intestinalis*, 3'ünde (%3,3) *E. vermicularis* ve 3'ünde (%3,3) *Blastocystis* türleri bulunmuştur.

*H. pylori* pozitif grupta parazit pozitifliği %22,2, negatifliği %77,8, *H. pylori* negatif olanlarda parazit pozitifliği %7,9, negatifliği %92,1 olarak saptanmıştır (p=0,06). *H. pylori* pozitif olan hastaların %14,8'inde, *H. pylori* negatif olan grupta ise %1,6'sında dışkı örneklerinde parazit olarak *G. intestinalis* tespit edilmiş, fark anlamlı (p=0,01) bulunmuştur (Tablo 1).

*H. pylori* pozitif ve negatif hasta grupları değerlendirildiğinde, erkek ve kız cinsiyet, anne ve baba eğitim düzeyleri, kreşe gitme

**Tablo 1.** *H. pylori* enfeksiyonu ile bağırsak parazitleri ve *G. intestinalis* sıklığının karşılaştırılması

	<i>H. pylori</i> (+) Sayı (%)	<i>H. pylori</i> (-) Sayı (%)	p
<b>Parazit</b>			
Var	6 (22,2)	5 (7,9)	0,06
Yok	21 (77,8)	58 (92,1)	
<b>G. intestinalis</b>			
Var	4 (14,8)	1 (1,6)	0,01
Yok	23 (85,2)	62 (98,4)	

açısından da her iki grup arasında anlamlı fark olmadığı, fakat *H. pylori* pozitif grupta okula gitme oranının anlamlı yüksek olduğu görülmüştür ( $p=0,03$ ). *H. pylori* pozitif grup yaş açısından değerlendirildiğinde ( $10,9\pm 3,1$  yıl), *H. pylori* negatif gruba göre ( $8,8\pm 3,7$  yıl) yaşın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ( $p=0,008$ ). Hastalar parazit enfeksiyonu açısından değerlendirildiğinde erkek ve kız cinsiyet, kreşe ve okula gitme açısından yapılan değerlendirmede anlamlı fark bulunmamıştır. Bu iki grup anne eğitim düzeyi açısından değerlendirildiğinde, parazit negatif grupta anne eğitim düzeyinin daha yüksek olduğu belirlenmiş ( $p=0,02$ ), baba eğitim düzeylerinde anlamlı fark saptanmamıştır.

Yaşam yeri özellikleri açısından *H. pylori* pozitif ve negatif gruplar değerlendirildiğinde, hanede yaşayan kişi sayısı ( $\leq 4$  veya  $> 4$ ), yerleşim yerinin köy veya ilçe olması, çamaşır makinesi mevcudiyeti, tuvaletin ev içi veya dışarıda olması, hane içi veya bahçede hayvan bulundurma açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Benzer koşullar açısından parazit pozitif ve negatif gruplar arasında da anlamlı fark olmadığı görülmüştür.

*H. pylori* pozitif ve negatif gruplar son 3 ay içinde ishal öyküsü, ailede ülser/gastrit öyküsü, ailede parazit ve parazit tedavisi öyküsü açısından değerlendirildiğinde, anlamlı fark saptanmamıştır. Parazit pozitif ve negatif gruplar arasında son 3 ay içinde ishal öyküsü, ailede ülser/gastrit öyküsü açısından anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Parazit pozitif ve negatif gruplar arasında ailede parazit öyküsü açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmazken ( $p=0,06$ ), parazit negatif grupta aile öyküsünde parazit tedavisi almama oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p=0,003$ ).

Hijyen özellikleri açısından *H. pylori* pozitif ve negatif hastalar değerlendirildiğinde, diş fırçalama, tuvalet sonrası temizlikte su veya tuvalet kâğıdı kullanımı, el temizliği, iç çamaşırı değiştirme sıklığı, banyo yapma sıklığı, anne sütü alım süresi, seyyar satıcıdan gıda alımı ve süt ürünü kaynağının pastörize veya açık süt olması açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Bu iki grup içme suyu kaynağının şebeke veya hazır su olması açısından değerlendirildiğinde, *H. pylori* pozitifliğinin şebeke suyu kullananlarda anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ( $p=0,04$ ). Parazit pozitif ve negatif hastalar aynı hijyen özellikleri açısından değerlendirildiğinde, parazit pozitif hastalarda el yıkama oranı anlamlı ölçüde yüksek saptanırken, ( $p=0,05$ ), diğer özellikler açısından fark bulunmamıştır.

## TARTIŞMA

Kronik karın ağrısı en az üç ay süreyle, günlük aktiviteyi etkileyecek şiddette günde üç veya daha fazla karın ağrısı atağını tariflemektedir (2). Farklı çalışmalarda değişik sıklıklar bildirilmekle birlikte, KKA'nın okul çağındaki çocukların yaklaşık %10-12'sinde görüldüğü bildirilmiştir (1, 7). KKA etiolojisinde farklı organik ve inorganik nedenler saptanmıştır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada KKA olgularının %82,4'ünde gastrit ve peptik ülser saptanırken, bir başka çalışmada gastrit ve peptik ülser olguların %84'ünde izlenmiştir (6, 8). Diğer bir çalışmada ise, KKA etiolojisinde *H. pylori* enfeksiyonu en sık rastlanan neden (%49) olarak bildirilmiştir (9).

Gelişmekte olan ülkelerde *H. pylori* enfeksiyonu prevalansının %70-90, gelişmiş ülkelerde ise %25-50 olduğu bildirilmiştir (10). Ülkemizde çocukların %30-56,6'sının *H. pylori* ile enfekte olduğu

gösterilmiştir (11). Ülkemizde yapılan çalışmalarda KKA olan çocuklarda *H. pylori* sıklığı %48-78,7 arasında bulunmuştur (6, 8, 9). Bu değerler ile karşılaştırıldığında çalışma grubumuzda saptanan *H. pylori* sıklığındaki düşüklüğün (%30) sosyoekonomik ve bölgesel farklar ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. *H. pylori* görülme sıklığının çocukluk yaş grubunda yaş arttıkça arttığı bildirilmiştir (11). Çalışmamızda da *H. pylori* pozitif grupta yaş ortalamasının, *H. pylori* negatif gruba göre anlamlı düzeyde ( $p=0,008$ ) yüksek olduğu görülmüştür.

Çocuklarda bağırsak parazitozları az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir hastalık grubu olmakla birlikte, KKA'nın da önemli bir nedenidir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda bağırsak parazitlerinin bölgeler arası dağılımı farklı olup %5-13,2 arasında değişebildiği bildirilmiştir (12, 13). Çalışmamızda parazit sıklığı %12,2 ile literatürdeki genel sıklığa yakın bulunmuştur. Bu çalışmada en sık saptanan (%5,5) parazit olan *G. intestinalis*, daha önce bölgemizde yapılan bir çalışmada %9,6 olarak bulunmuştur (14). Çocukluk çağında ülkemizde yapılan çalışmalarda *E. vermicularis* sıklığı %2,7-32,2 arasında bildirilmiş olup, çalışmamızda ise bu oran %3,3 olarak bulunmuştur (14, 16). Sonuçlar arasındaki farklılığın birden çok anal bant incelemesinin yapılamaması gibi tanısal yöntemlerle ilişkili eksikliklerden veya çalışılan hedef kitlenin sosyoekonomik farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda *H. pylori* pozitif grupta bağırsak parazitleri ile birlikteliğinin, *H. pylori* negatif gruba göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bağırsak parazitlerinden biri olan *G. intestinalis* *H. pylori* pozitif grupta %14,8, *H. pylori* negatif grupta %1,6 bulunmuş, farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p=0,01$ ). Başka çalışmalarda da *H. pylori* ve giardiasis birlikteliğinin yüksek bulunduğu gösterilmiştir (6, 17, 18). Gastrik mukozadaki *H. pylori* kolonizasyonu kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve gastrik asit sekresyon bozukluğu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle *H. pylori* ve giardiasis birlikteliği, özellikle erişkin hastalarda, kronik *H. pylori* enfeksiyonunun mide mukozasında atrofiye neden olması ve çoğu parazit enfeksiyonunda bariyer görevi gören mide asidinin azalmasına bağlı olabilir. Bu nedenle *H. pylori* enfeksiyonunun ileri yaşlarda *G. intestinalis* enfeksiyonunun kronikleşmesine neden olabileceği düşünülmektedir (19, 20).

*H. pylori* enfeksiyonunda sosyoekonomik faktörlerin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışmalarda anne ve baba eğitim düzeyinin *H. pylori* pozitifliği üzerine etkisinde farklı sonuçlar saptandığı görülmüştür (21, 22). Çalışmamızda ise anne ve baba eğitim düzeyleri açısından *H. pylori* pozitif ve negatif hastalarda anlamlı fark olmadığı bulunmuştur. Literatürde anne eğitim düzeyi arttıkça parazit görülme oranının azaldığı bildirilmiştir (23). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak parazit negatif grupta anne eğitim düzeyinin anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p=0,02$ ).

*H. pylori* ve bağırsak parazitozlarında hijyen koşullarının önemli bir yer tuttuğu düşünülmektedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, çalışmamız ile uyumlu olarak kreşe gitmenin *H. pylori* enfeksiyonu riskini arttırmadığı bulunmuştur (22). Çalışmamızda okula gitme durumu değerlendirildiğinde *H. pylori* pozitif ve negatif grupta anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,03$ ). Kreşe giden çocukların

standart bir bakım görmesi fakat okula giden çocukların hijyenlerini kendilerinin sağlamlarının bu durum ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Kalabalık aile yapısının *H. pylori* enfeksiyonu bulaşmasında etkili olduğu ileri sürülmüştür (24, 25). Çalışmamızda *H. pylori* pozitif ve negatif grup, kalabalık aile yapısı açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu durumun olgu sayısı düşüklüğünden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Hijyen açısından çamaşır makinesi varlığı ve tuvaletin ev içi ya da dışarıda olması sorgulandığında, *H. pylori* pozitif ve *H. pylori* negatif grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Çalışmalarda kente göre kırsal kesimde yaşayanlarda *H. pylori* seroprevalansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (26, 27). Çalışmamızda kent veya kırsal kesimde yaşamının *H. pylori* pozitifliği açısından risk oluşturmadığı görülmüştür. Bu durumun bölgesel farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan bir çalışmada, annesinde gastrik hastalık öyküsü olan çocuklarda *H. pylori* riski anlamlı yüksek saptanırken, başka bir çalışmada ailede gastrik hastalık öyküsü ile *H. pylori* enfeksiyonu arasında, bizim çalışmamızda olduğu gibi, anlamlı ilişki saptanmamıştır (28, 29).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, paraziti olan olgularda ailede parazit varlığı ve parazit tedavisi alma öyküsünün yüksek olduğu bulunmuştur (30). Bizim çalışmamızda da paraziti olmayan hastalar ile karşılaştırıldığında, parazit olan hastalarda ailede parazit tedavisi almış olma oranının anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p=0.003$ ). Bu durum paraziter enfeksiyon riskini arttıran yaşam biçimi ile ilişkilendirilmiştir. Çocuklarda bağırsak parazitolojileri ile ilgili yapılmış bir çalışmada, el yıkama alışkanlığı ile bağırsak paraziti saptanması arasında anlamlı ilişki bulunmuş, tuvalet temizliğinde su veya tuvalet kâğıdı kullanımı arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (23). Çalışmamızda da tuvalet sonrası el yıkamanın parazit sıklığını arttırdığı, tuvalette su veya tuvalet kâğıdı kullanımı ile parazit enfeksiyonu arasında anlamlı ilişki olmadığı bulunmuştur.

Çalışmalarda içme suyu olarak şebeke suyu kullanılmasının *H. pylori* enfeksiyonu riskini arttırdığı gösterilmiştir (22). Çalışmamızda da benzer sonuç saptanmış, *H. pylori* pozitifliğinin şebeke suyu kullanarlarda anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ( $p=0,04$ ).

## SONUÇ

Kronik karın ağrısı ve *H. pylori* enfeksiyonu olan çocuklarda bağırsak parazitolojileri sıklığının yüksek bulunabileceği gösterilmiştir. Fekal-oral bulaşın her iki enfeksiyonun birlikte görülebilmesinde önemli bir etken olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle bu enfeksiyonlardan korunmada hijyen koşullarının iyileştirilmesinin önemli olduğu kanısına varılmıştır.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmıştır.

**Hasta Onamı:** Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan ve ebeveynlerden alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - B.G.,E.K.; Tasarım - B.G.,E.K.; Denetleme - E.K.; Kaynaklar - B.G., Y.Ç.A.; Malzemeler - N.G.,T.E.; Veri Toplanması ve/veya işleme - B.G., Y.Ç.A.; Analiz ve/veya Yorum - B.G., Y.Ç.A.; Literatür taraması - B.G., Y.Ç.A.; Yazıyı Yazan - B.G.,Y.Ç.A.; Eleştirel İnceleme - E.K.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma, Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received for this study from the Ethics Committee of Celal Bayar University Medical School (17.05.2011-164).

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained from patients and parents who participated in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - B.G.,E.K.; Design - B.G.,E.K.; Supervision - E.K.; Funding - B.G., Y.Ç.A.; Materials - N.G.,T.E.; Data Collection and/or Processing - B.G., Y.Ç.A.; Analysis and/or Interpretation - B.G., Y.Ç.A.; Literature Review - B.G., Y.Ç.A.; Writer - B.G.,Y.Ç.A.; Critical Review - E.K.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** This study was financially supported by Celal Bayar University Scientific Research Projects Coordination Unit.

## KAYNAKLAR

1. Apley J, Naish N. Recurrent abdominal pains: a field survey of 1,000 school children. Arch Dis Child 1958; 33: 165-70. [CrossRef]
2. Oberlander TF, Rappaport LA. Recurrent abdominal pain during childhood. Pediatr Rev 1993; 14: 313-9. [CrossRef]
3. Paul SP, Candy DC. Clinical update: recurrent abdominal pain in children. Community Pract 2013; 86: 48-51.
4. Veres G, Pehlivanoglu E. Helicobacter pylori infection in pediatrics. Helicobacter 2007; 12: 38-44. [CrossRef]
5. Ito LS, Oba-Shinjo SM, Shinjo SK, Uno M, Marie SK, Hamajima N. Community-based familial study of Helicobacter pylori infection among healthy Japanese Brazilians. Gastric Cancer 2006; 9: 208-16. [CrossRef]
6. Zeyrek D, Zeyrek F, Cakmak A, Cekin A. Association of Helicobacter pylori and giardiasis in children with recurrent abdominal pain. Türkiye Parazitol Derg 2008; 32: 4-7.
7. Huang RC, Palmer LJ, Forbes DA. Prevalence and pattern of childhood abdominal pain in an Australian general practice. J Paediatr Child Health. 2000; 36: 349-53. [CrossRef]
8. Altuntaş B, Karakurt C, Teziç T. Çocukluk Çağında Yineleyen Karın Ağrısı 57 Olgunun Analizi. T Klinikleri J Pediatr 1997; 6: 120-4.
9. Urgancı N, Arapoğlu M, Nuhoğlu A. Çocukluk Çağında Tekrarlayan Karın Ağrısı Nedenleri. Göztepe Tıp dergisi 2003; 18: 170-2.
10. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. Helicobacter pylori. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 720-41.
11. Ozen A, Ertem D, Pehlivanoglu E. Natural history and symptomatology of Helicobacter pylori in childhood and factors determining the epidemiology of infection. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2006; 42: 398-404. [CrossRef]
12. Kırkoyun Uysal H, Akgül O, Purisa S, Oner YA. Twenty-five years of intestinal parasite prevalence in İstanbul University, İstanbul Faculty of Medicine: a retrospective study. Türkiye Parazitol Derg 2014; 38: 97-101. [CrossRef]
13. Düzyol D, Kilimcioğlu AA, Ozyurt BC, Ozkan H, Girginkardeşler N. Incidence of intestinal parasites detected in the Department of Parasitology in Celal Bayar University Hospital between 2006 and 2010. Türkiye Parazitol Derg 2012; 36: 147-51. [CrossRef]

14. Ekinci B, Karacaoğlan E, Bulucu E, Sül N. Investigation of intestinal parasites among elementary school students in the Mugla province. Türkiye Parazit Derg 2011; 35: 92-5. [\[CrossRef\]](#)
15. Keskin N, Ay Bektaş A. The prevalence of Enterobius vermicularis in primary school which have different socioeconomic level in Ankara. Türkiye Parazit Derg 2014; 38: 159-65. [\[CrossRef\]](#)
16. Turhan E, Inandi T, Cetin M, Taş S. The distribution of intestinal parasites in children living in orphanages in Hatay, Turkey. Türkiye Parazit Derg 2009; 33: 59-62.
17. Bin Mohanna MA, Al-Zubairi LM, Sallam AK. Prevalence of Helicobacter pylori and parasites in symptomatic children examined for Helicobacter pylori antibodies, antigens, and parasites in Yemen. Saudi Med J 2014; 35: 1408-11.
18. Eldash HH, Bekhit OE, Algameel AA. Impact of Helicobacter pylori-giardiasis coinfection on children with recurrent abdominal pain. J Egypt Soc Parasitol 2013; 43: 509-16. [\[CrossRef\]](#)
19. Doglioni C, De Boni M, Cielo R, Laurino L, Pelosio P, Braidotti P, et al. Gastric giardiasis. J Clin Pathol 1992; 45: 964-7. [\[CrossRef\]](#)
20. Sanad MM, Darwish RA, Nasr ME, el-Gammal NE, Emara MW. Giardia lamblia and chronic gastritis. J Egypt Soc Parasitol 1996; 26: 481-95.
21. Bozkurt H, Arvas G, Kurtoğlu MG, Berktaş M. The Relation Between the Seroprevalence of Helicobacter Pylori Infections in Children and the Education Levels of Their Parents. Turkish Medical Journal 2009; 3: 79-85.
22. Söğüt A, Acun C, Cavuldak Ş, Komşu Z, Tomaç N. Zonguldak ilinde 6 ay-15 yaş grubu çocuklarda Helicobacter pylori seropozitifliği ve risk etmenlerinin incelenmesi. Türk Pediatri Arşivi 2004; 39: 152-7.
23. Yapıcı F, Tamer GS, Arsoy ES. Çocuklarda Bağırsak parazitlerinin dağılımı ve bununla ilişkili etmenler. Türkiye Parazit Derg 2008; 32: 346-50.
24. Krueger WS, Hilborn ED, Converse RR, Wade TJ. Environmental risk factors associated with Helicobacter pylori seroprevalence in the United States: a cross-sectional analysis of NHANES data. Epidemiol Infect 2015; 16: 1-12. 143: 2520-31
25. Hasosah M, Satti M, Shehzad A, Alshahfi A, Sukkar G, Alzaben A, et al. Prevalence and risk factors of Helicobacter pylori infection in Saudi children: a three-year prospective controlled study. Helicobacter 2015; 20: 56-63. [\[CrossRef\]](#)
26. Dore MP, Malaty HM, Graham DY, Fanciulli G, Delitala G, Realdi G. Risk factors associated with Helicobacter pylori infection among children in a defined geographic area. Clin Infect Dis 2002; 35: 240-5. [\[CrossRef\]](#)
27. Arslan D, Tahan F, Demir F, Taşkın İ. Seroprevalence and risk factors of Helicobacter pylori infection in healthy children who applied to Erciyes University Pediatrics Outpatient Clinic. Erciyes Medical Journal 2006; 28: 192-6.
28. Yılmaz E, Dogan Y, Gürgöze MK, Ünal S. Seroprevalence of Helicobacter pylori infection among children and their parents in eastern Turkey. J Paediatr Child Health 2002; 38: 183-6. [\[CrossRef\]](#)
29. Tindberg Y, Blennow M, Granström M. Clinical symptoms and social factors in a cohort of children spontaneously clearing Helicobacter pylori infection. Acta Paediatr 1999; 88: 631-5. [\[CrossRef\]](#)
30. Erçevik E, İdil A. Sosyoekonomik Düzeyi Farklı İki İlköğretim Okulunda Bağırsak Parazitleri Prevalansı ve Buna Etki Eden Faktörler. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2002; 22: 113-8.

# Endoparasites of the Long-Eared Hedgehog (*Hemiechinus auritus*) in Zabol District, Southeast Iran

İran'ın Güneydoğusunda bulunan Zabol'da Uzun Kulaklı Kirpilerde (*Hemiechinus Auritus*) Görülen Endoparazitler

Nafiseh Zolfaghari, Reza Nabavi

University of Zabol, Veterinary Medicine, Zabol, Iran

## ABSTRACT

**Objective:** The long-eared hedgehog (*Hemiechinus auritus*) is a nocturnal animal living in Central and Southeast Iran. However, there are few studies concerning endoparasites, some of which are zoonotic, of the hedgehogs in the north and northwest of Iran. The aim of the present study is to investigate endoparasites in long-eared hedgehogs, living in Zabol district, Southeast Iran.

**Materials and Methods:** Stool and blood samples collected from 50 hedgehogs (35 males and 15 females) that were trapped alive were examined with Clayton-Lane flotation and Giemsa staining methods. Furthermore, 10 road-killed hedgehog carcasses were necropsied. The adult parasites were collected and identified under a light microscope.

**Results:** Spirurida eggs in the stool samples and Anaplasma inclusion bodies in red blood cells were determined in 32% and 52% of the samples, respectively. *Physaloptera clausa*, *Mathevotaenia erinacei*, *Nephridiacanthus major*, and *Moniliformis moniliformis* were identified in the necropsy.

**Conclusion:** To the best of our knowledge, ours is the first study concerning endoparasites of long-eared hedgehogs in Iran. Furthermore, *M. erinacei* was for the first time reported as a parasitic fauna in Iran. (*Türkiye Parazitoloj Derg* 2016; 40: 37-41)

**Keywords:** Long-eared hedgehog, endoparasites, Zabol, Iran

**Received:** 05.10.2015

**Accepted:** 24.12.2015

## ÖZ

**Amaç:** Uzun kulaklı kirpi (*Hemiechinus auritus*), İran'ın iç bölgelerinde ve güney doğusunda yaşayan noktürnal bir hayvandır. Ancak, İran'daki bu kirpilerdeki, bazıları zoonotik olan endoparazitler hakkında az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Güneydoğu İran'ın Zabol bölgesinde yaşayan uzun kulaklı kirpilerde görülen endoparazitleri araştırmaktır.

**Gereç ve yöntemler:** Toplam 50 canlı kirpiden (35 dişi ve 15 erkek) alınan dışkı ve kan örnekleri, Clayton-Lane flotasyon ve Giemsa boyama yöntemleri ile incelendi. Ayrıca, taşıkların çarptığı 10 kirpi karkası nekropsi yapıldı. Yetişkin parazitler toplandı ve ışık mikroskobu altında incelendi.

**Bulgular:** Dışkı örneklerinin %32'sinde spirurida yumurtası ve kırmızı kan hücresi örneklerinin %52'sinde anaplasma inklüzyon cisimcikleri saptandı. Yapılan nekropside *Physaloptera clausa*, *Mathevotaenia erinacei*, *Nephridiacanthus major*, ve *Moniliformis moniliformis* bulundu.

**Sonuç:** Bilgimiz kadarıyla çalışmamız, İran'daki uzun kulaklı kirpilerde endoparazitler hakkında yapılan ilk çalışmadır. Ayrıca, *M. erinacei* bir parazit fauna olarak İran'da ilk defa rapor edilmiştir. (*Türkiye Parazitoloj Derg* 2016; 40: 37-41)

**Anahtar Kelimeler:** Uzun kulaklı kirpi, endoparazitler, Zabol, İran

**Geliş Tarihi:** 05.10.2015

**Kabul Tarihi:** 24.12.2015

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Reza Nabavi E.mail: nabavi\_v\_r@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4541

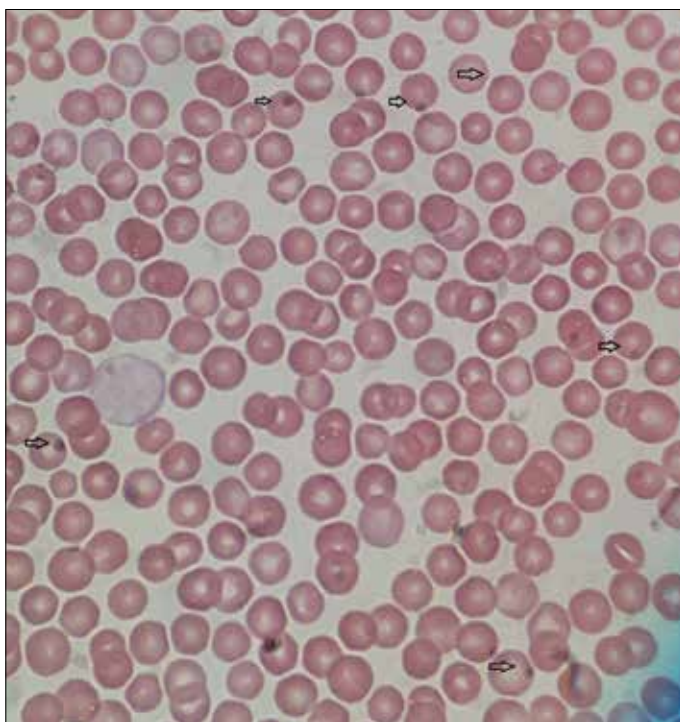
©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org) web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org)



## INTRODUCTION

Hedgehog is a small nocturnal mammal that is a member of the Erinaceinae subfamily of the order Erinaceomorpha and has a spiny body and individually characterized faint features (1, 2). Their diets involve some foliage, mollusks, earthworms, snakes, and frogs, some of which are intermediate hosts for some of their endoparasites (3, 4, 5). There are four hedgehog species identified in Iran: the long-eared hedgehog (*Hemiechinus auritus*), East European hedgehog (*Erinacea concolor*), desert hedgehog (*H. oethiopicus*), and Brandt's hedgehog (*H. hymelas*) (1, 6). There are few scientific studies about the parasitic fauna of hedgehogs in Iran (1, 2, 3, 7, 8). Thus, we aimed to be the first to



**Figure 1.** Anaplasma inclusion bodies on the margin of red blood cells

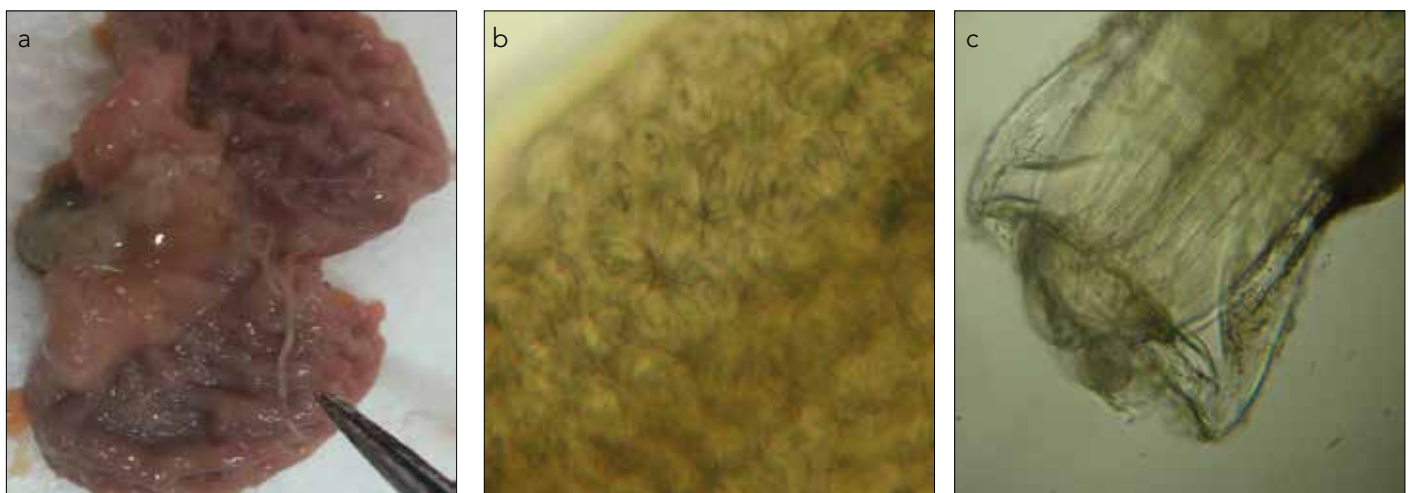
investigate and present a study on endoparasites in long-eared hedgehogs living in Zabol district, Southeast Iran.

## METHODS

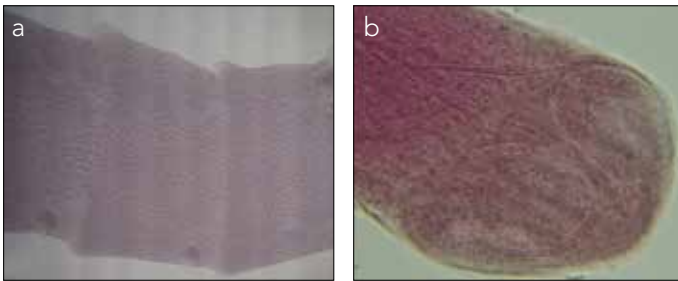
The present survey was performed in Zabol, Southeast Iran from April 2014 to April 2015. The climate of the area is very hot temperate and dry in the summer and mild cold-dry in the winter (9). The parasitological examination procedure of the present study included three steps. First, 50 live adult hedgehogs (35 males and 15 females) were trapped for stool and blood examinations. They were kept in separate cages for a day and their feces were collected. Fecal analysis was performed by the standard Clayton-Lane technique using Sheather's sugar solution (1, 10, 11). Subsequently, all the hedgehogs were anesthetized with diethyl ether for collecting peripheral blood from their ears (12). From each hedgehog, a thin-layered blood smear was prepared using blood sample from the ear vein. The Giemsa staining was conducted according to Kelly (13) to find blood parasites. The slide was examined under a light microscope with 100× magnification. The presence of Anaplasma inclusion bodies on the margin of red blood cells confirmed the contamination (14). After recovery, the hedgehogs were released. Following this, 10 road-killed hedgehog carcasses were collected around the district. All of the body organs were separated. The contents of the digestive duct and the mucosa were emptied in hypothermal water for finding helminthes. The stomach, small intestine, and large intestine were removed from the bodies, opened separately, and the helminthes were collected before being fixed in ethanol 70%. The nematode specimens were cleared in lactophenol on a standard microscope slide; the cestode and achantocephalan specimens were stained with acetocarmine before final identification according to Youssefi (3), Soulsby (15), and Al-zihiry (16). Statistical analysis was performed using SPSS Software (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

## RESULTS

It was found that 16 of the 50 stool samples and 26 of the 50 blood samples were infected with spirurida eggs and *Anaplasma* spp (Figure 1), respectively. Furthermore, one nematode, *Physaloptera clausa* (Figure 2), one cestod, *Mathevotaenia erina-*



**Figure 2. a-c.** Adult female *Physaloptera clausa*. The nematode has been found in the stomach of the long-eared hedgehog (a), plenty of spirurida eggs with first-stage larvae in the uterus (b), the anterior end shows a collar-like projection (c)



**Figure 3. a, b.** *Mathevotaenia erinacei*. The gravid proglottids with irregular alternating genital pores (a), unarmed skolex has four suckers (b)



**Figure 4.** Proboscis of *Nephridiacanthus major*



**Figure 5.** *Moniliformis moniliformis* attached to the small intestine of a long-eared hedgehog

*cei* (Figure 3), and two acanthocephala species, *Nephridiacanthus major* (Figure 4) and *Moniliformis moniliformis* (Figure 5), were identified in the necropsy (Table 1). The statistical analysis showed no significant correlation between the sex and infection in the hedgehogs.

**Table 1.** Localization and infection rate of collected parasites from hedgehogs.

Parasites	Location	Infected animals/ examined animals (%)
Spirurida eggs	feces	16/50 (32%)
Anaplasma spp	RBC	26/50 (52%)
Physaloptera clausa	stomach	4/10 (40%)
Nephridiacanthus major	small intestine	2/10 (20%)
Moniliformis moniliform	small intestine	1/10 (10%)
Mathevotaenia erinacei	small intestine	1/10 (10%)

## DISCUSSION

In Iran, epidemiological studies on the parasitic fauna of hedgehogs are scarce and most investigations have been performed on European hedgehogs in the north and northwest of the country. *Physaloptera clausa* (1, 2), *Mullerius capillaries* (1), *Hymenolepis diminuta* (1, 3), and *Nephridiacanthus spp* (3) have been reported by Iranian researchers. There is no available data about parasitic fauna in Iranian long-eared hedgehogs, other than one observation of *Crenosoma striatum* in the lung of long-eared hedgehogs in the east of Iran (17). Hence, the present study was conducted to identify the endoparasites of long-eared hedgehogs from the Zabol district in Southeast Iran to help understand wildlife parasitic disease and decrease the risk of zoonotic pathogen transmission in the area. One of the simplest and advantageous monitoring methods to find live hedgehog helminths is the use of flotation methods (18). The stool flotation method was used in Iranian hedgehogs in the present study for the first time. The results showed small numbers of spirurida eggs present in their feces, probably belonging to *Physaloptera spp*. However, the necropsy of 10 road-killed animals showed more kinds of helminths living in the digestive system; however, the worm burden was low, only 1–3 per case. Such few eggs passing from these helminths were undetectable by the flotation method. These results are in contrast with the findings of Gaglio et al. (18), who found numerous types of helminthic eggs in European hedgehogs in Britain using the MC Master Method. The reason for the contrast in results could be related to the different climatic conditions in Iran and Britain and consequently different parasitic burden in wildlife animals. The hedgehogs potentially could be infected with some Rickettsia pathogens (19, 20, 21). *Rickettsiae massiliae* has been detected in European hedgehogs from France (22) as well as from African and desert hedgehogs from Algeria (11, 23). *R. massiliae* is a causative agent of spotted fever disease in humans (24). Some Anaplasma species, such as *Anaplasma phagocytophilum*, have been reported in hedgehogs (*Erinaceus roumanicus*) from Romania (20). The Giemsa staining technique in the present study showed Anaplasma inclusion bodies in 52% of hedgehog RBC. This is the first observation of such blood parasites in Iranian hedgehogs. Molecular investigations are highly recommended for finding the species of such pathogens in the area. During the necropsy, our findings revealed that the most prevalent helminth of long-eared hedgehogs was *P. clausa*. This heteroxenous nematode is distributed

worldwide and has been reported before by Gorgani et al. (2) and Youssefi et al. (3) in European hedgehogs from the north and northwest of Iran. Other investigators in African countries have reported *Physaloptera spp* as the most prevalent nematode in hedgehogs (23, 25, 26, 27). In the present study, *M. erinacei* (Anoplocephalinae) is first reported in Iran. Previously, this cestode was reported in hedgehogs from Algeria (23) and Iraq (16). Several species of *Mathevotaenia* were reported before from different kinds of insectivorous mammals, especially rodents, worldwide (16, 28).

The presence of *N. major* and *M. moniliformis* as Acanthocephalans is confirmed in our study. *N. major*, reported and described before in Europe (8), Central Asia (8), and Iran (3, 8), was collected from different species of hedgehogs. However, although *M. moniliformis* has been reported from hedgehogs worldwide (11), this study represents the first time observation of the parasite in long-eared hedgehogs in Iran. The finding of this acanthocephalan is of human health interest as this species can cause gastrointestinal diseases in humans (11). As is the case with many investigations worldwide, we found different kinds of heteroxenous helminths in long-eared hedgehogs due to their dietary habits, including mollusks like snail and earthworm, and animals such as snake and frog, where some of these are intermediate hosts for the endoparasites that affect them.

## CONCLUSION

The worm burden of long-eared hedgehogs living in the Zabol district of Iran was mild and did not have a high disturbance effect on their final hosts. Further investigation is highly recommended to explain the *Anaplasma spp* observed in the present study.

**Etik Komite Onayı:** N/A

**Hasta Onamı:** N/A

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağlımsız.

**Yazar Katkıları:** Tasarım - R.N., N.Z.; Denetleme - R.N.; Yazıyı Yazan - N.Z., R.N.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma Zabol Üniversitesi araştırma merkezi tarafından desteklenmiştir.

**Ethics Committee Approval:** N/A

**Informed Consent:** N/A

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Design – R.N., N.Z.; Supervision - R.N.; Writer – N.Z., R.N.

**Conflict of Interest:** The authors declare that there is no conflict of interest.

**Financial Disclosure:** The project was funded by University of Zabol research center.

## REFERENCES

- Nematollah A, Ashrafi Helan J, Golezardy H, Zaboli N, Nouruzi M, Azari M. Parasitic fauna of east European hedgehog (*Erinaceus Concolor*) and their pathpological aspects in Iran. *Adv Zool Botany* 2014; 2: 1-5.
- Gorgani Firuzjaee T, Pour-Reza B, Naem S, Tavassoli M. ectoparasitic infestations of the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in urmia, Iran. *Vet Res Forum* 2013; 4: 191-4.
- Youssefi MR, Rahimi MT, Halajan A, Moosapour AA, Nikzad R, Nikzad M, et al. Helminth parasites of eastern European hedgehog (*Erinaceus concolor*) in northern Iran. *Iranian J Parasitol* 2013; 8: 645-50.
- McCarthy J, Moore TA. Emerging helminth zoonoses. *Int J parasitol* 2000; 30: 1351-60. [\[CrossRef\]](#)
- Riley PY, Chomel BB. Hedgehog zoonoses. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1-5. [\[CrossRef\]](#)
- Ziaie H. A field guide to the mammals of Iran. Department of the Environment, Tehran 1996 (In Persian).
- Youssefi MR, Rahimi MT, Hosseini SM, Darvishi MM. First report of *Rhipicephalus turanicus* from hedgehog (*Erinaceus concolor*) in north of Iran. *World J Zoo* 2011; 6: 401-3.
- Heckmann RA, Amin OM, Halajian A, EL-Neggar AM. The morphology and histopathology of *Nephridiicanthus major* (Acanthocephala: Oligacanthorhynchidae) from hedgehogs in Iran. *Parasitol Res* 2013; 112: 543-8. [\[CrossRef\]](#)
- Mohammadi S, Farahi M, Ganjali M, Koohkan S. Roadkill mortality of long-eared hedgehog *Hemiechinus auritus* from Zabol, SE Iran 2011; 3: 99-101.
- Nabavi R, Khedri J, Jahantigh M. High clinical disturbance and mortality in pigeon flocks caused by *Hadjelia truncata* infection in Sistan, Iran. *Turk J Vet Anim Sci* 2013; 37: 355-7.
- Khaldi M, Torres J, Samsó B, Miquel J, Biche M, Benyettou M, et al. Endoparasites (helminths and coccidians) in the hedgehogs *Atelerix algirus* and *Paraechinus aethiopicus* from Algeria. *Afr Zool* 2012; 47: 48-54. [\[CrossRef\]](#)
- Hosni MM, El Maghrbi AA. Ectoparasites infestation of free-ranging hedgehog (*Etelrix algirus*) in north western Libya. *Open Vet J* 2014; 4: 12-5.
- Kelly WR. *Veterinary clinical diagnosis*. Bailliere Tindall, London 1974; 2: 374.
- Majidani H, Nabavi R, Ganjali M, Saadati D. detection of *Theileria annulata* carriers in Holstein-friesian (*Bastaurus Taurus*) and Sistan (*Bos tanus indicus*) cattle breeds by polymerase chain reaction in Sistan region, Iran. *J Parasit Dis* 2015. [\[CrossRef\]](#)
- Soulsby E.J.L. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. Baillier Tindal, London 1982; 303-754.
- Al-zihiry K.J.K. First record of cestode *Methevotaenia erinacei* in Long-eared hedgehog *Hemiechinus auritus* in Basrah province, Iraq. *J Thi-Qar Sci* 2009; 3: 20-6.
- Mirzaei Dehaghi M, Fathi S, Norouzi Asl E, Borji H, Radfar MH. First report of *Crenosoma striatum* and *Haemonchus contortus* in the long-eared hedgehog (*Hemiechinus auritus*) in Iran. *Turkiye Parazit Dreg* 2014; 38: 255-7. [\[CrossRef\]](#)
- Gaglio G, Allen S, Bowden L, Bryant M, R.Morgan E. Parasites of European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Britain: epidemiological study and coprological test evaluation. *Eur J Wildl Res* 2010; 56: 839-44. [\[CrossRef\]](#)
- Psaroulaki A, Raqjadakou D, Kouris G, Papadopoulos B, Chaniotis B, Tselentis Y. Ticks, tick-born rickettsiae, and *Coxiella burnetii* in the Greek island of Cephalonia. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1078: 389-99. [\[CrossRef\]](#)
- Oana DM. Researches regarding ecobiology and epidemiology of hard ticks ixodidae attack-vectors of Lyme disease in Romania. *Editura Academiei Republicii Popular Romance, Bucurest* 2012; 2-5.
- Hajipour N, Tavassoli M, Gorgani-Firouzjaee T, Naem S, Pourreza B, Bahramnejad K, et al. Hedgehoges (*Erinaceus europaeus*) as a source of ectoparasites in Urban-suburban areas of northwest of Iran. *J Arthropod-Born Dis* 2015; 9: 98-103.
- Marie JL, Davoust B, Socolovschi C, Raoult D, Parola P. Molecular detection of rickettsial agents in ticks and fleas collected from a European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Marseilles, France. *Camp Immunol Microbial Infect Dis* 2012; 35: 77-9. [\[CrossRef\]](#)

23. Bitam I, Parola P, De La Cruz KD, Matsumoto K, Baziz B, Rolain JM, et al. First molecular detection of *Rickettsia felis* in fleas from Algeria. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 74: 532-5.
24. Vitela G, Mansueto S, Rolain JM, Raoult D. *Rickettsia massilia* human isolation. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 174-5. [\[CrossRef\]](#)
25. Gregory MV. Diseases and parasites of the central African hedgehog *Erinaceus albiventris* Wagner. *Zoologische Beitrage* 1981; 27: 205-13.
26. Ikeh EI, Anosike JC, Okon E. Acanthocephalan infection in man in northern Nigeria. *J Helminthol* 1992; 66: 241-2. [\[CrossRef\]](#)
27. Kaikabo AA, Kalshingi HA, Saddiq MD, Muazu A, Gashua IB, Suleiman AB. Detection of helminth parasites of ruminants in hedgehog *Alterix albiventris*. *Nigerian J Parasitol* 2007; 28: 129-30.
28. Campbell ML, Gardner SL, Navone GT. A new species of *Mathevotaenia* (cestoda Anoplocephalidae) and other tapeworms from marsupials in Argentina. *J Parasitol* 2003; 89: 1181-5. [\[CrossRef\]](#)



# Study of Pathophysiological Effects of the Nematode Parasite *Eustrongylides* sp. on Freshwater Fish *Channa punctatus* by Hematology, Serum Biochemical, and Histological Studies

Hematoloji, Serum Biyokimyasal ve Histolojik Çalışmalarla Tatlısu Balığı, *Channa punctatus* Üzerine Nematod Parazit *Eustrongylides* sp.'nin Patofizyolojik Etkileri

Ivy Kundu<sup>1</sup>, Probir Kumar Bandyopadhyay<sup>1</sup>, Dipak Ranjan Mandal<sup>2</sup>, Gözde Gürelli<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Zoology, Kalyani University, Parasitology Laboratory, Kalyani-741235, West Bengal, India

<sup>2</sup>Sidho-Kanho-Birsha University, Purulia -723104, West Bengal, India

<sup>3</sup>Department of Zoology, Faculty of Sciences and Arts, Kastamonu University, Kastamonu, Turkey

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to study the pathophysiological effects on *Channa punctatus* due to the nematode parasite *Eustrongylides* sp. **Methods:** A total of 250 fish were examined during the period January 2012–2014. Hematological, serum biochemical, histological, and scanning electron microscopic studies were performed on normal and infected hosts to study the effects caused by the nematode.

**Results:** The mean values of red blood corpuscle [RBC] count, hematocrit, and hemoglobin were significantly higher ( $P<0.01$ ) in noninfected fish, while the values of white blood corpuscle [WBC] count, mean corpuscular volume [MCV], and mean corpuscular hemoglobin [MCH] were significantly higher ( $P<0.01$ ) in infected fish. In infected fish, the average values of aspartate aminotransferase [AST] ( $416 \text{ UL}^{-1}$ ), alanine aminotransferase [ALT] ( $73.35 \text{ UL}^{-1}$ ), alkaline phosphatase [ALP] ( $161.6 \text{ mg dl}^{-1}$ ), and cholesterol ( $154.82 \text{ mg dl}^{-1}$ ) were significantly higher ( $P<0.01$ ) than those in noninfected fish. Significant differences were also observed in total protein and glucose levels between the infected and noninfected fish. Histological and scanning electron microscopic studies of the host tissues revealed a series of pathological changes and mechanical damage.

**Conclusion:** It can be concluded that *Eustrongylides* sp. has a significant impact on its host and thus the parameters outlined in the present paper may be employed as tools in monitoring the health status of fish in culture practices. (*Türkiye Parazit Derg* 2016; 40: 42-7)

**Keywords:** Abdominal cavity, *Channa punctatus*, *Eustrongylides* sp., nematode, pathophysiological studies.

**Received:** 10.10.2015

**Accepted:** 30.12.2015

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı nematod parazit *Eustrongylides* sp.'nin *Channa punctatus* üzerine patofizyolojik etkilerini araştırmaktır.

**Yöntemler:** Toplam 250 balık Ocak 2012-2014 süresi boyunca araştırılmıştır. Nematodun sebep olduğu etkiyi araştırmak için, normal ve enfekte konaklar üzerine hematolojik, serum biyokimyasal, histolojik ve taramalı elektron mikroskop (scanning electron microscope) çalışmaları uygulanmıştır.

**Bulgular:** Parazit enfekte balıklarda WBC (beyaz kan hücresi) sayısı, MCV (ortalama hücre yoğunluğu), MCH (ortalama hücre hemoglobini)'nin değerleri anlamlı şekilde daha yüksek ( $P<0,01$ ) iken, enfekte olmayan balıklarda RBC (kırmızı kan hücresi) sayısı, hematokrit ve hemoglobinin ortalama değerleri anlamlı şekilde daha yüksektir ( $P<0,01$ ). Enfekte balıklarda, aspartat aminotransferaz [AST] ( $416 \text{ UL}^{-1}$ ), alanin aminotransferaz [ALT] ( $73,35 \text{ UL}^{-1}$ ), alkan fosfataz [ALP] ( $161,6 \text{ mg dl}^{-1}$ ) ve kolesterol ( $154,82 \text{ mg dl}^{-1}$ )'ün ortalama değerleri enfekte olmayan balıklarınkinden anlamlı olarak daha yüksektir ( $P<0,01$ ). Anlamlı farklılıklar enfekte ve enfekte olmayan balıklar arasında toplam protein ve glukoz seviyelerinde de gözlenmiştir. Konak dokuların histolojik ve taramalı elektron mikroskopu çalışmaları bir seri mekanik zarar ve patolojik değişiklikleri açığa çıkarmıştır.

**Sonuç:** Bu çalışmadan *Eustrongylides* sp.'nin konağı üzerine anlamlı etkiye sahip olduğu sonucu çıkarılabilir ve, bu bulgular, yetiştiriciliği yapılan balıkların sağlık durumlarını izlemede araç olarak kullanılabilir. (*Türkiye Parazit Derg* 2016; 40: 42-7)

**Anahtar Kelimeler:** Karın boşluğu, biyokimyasal çalışmalar, *Channa punctatus*, *Eustrongylides* sp., nematod

**Geliş Tarihi:** 10.10.2015

**Kabul Tarihi:** 30.12.2015

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Probir Kumar Bandyopadhyay E.mail: prabir0432@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4551

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org) web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org)

## INTRODUCTION

The snake-headed freshwater fish *Channa punctatus* of the family Channidae has a wide geographical distribution and a high growth rate and contributes significantly to the fishery sector in India. It usually inhabits swamps, pools, and rice fields and is known for its nutritive and invigorating qualities (1). The air-breathing teleost, being carnivorous in nature, acts as an intermediate or final host of many helminth parasites. Potentially, all freshwater and brackish water fish may be affected by nematodes, with heavier infections likely in predatory fish, particularly for species utilizing fish as an intermediate or transient host (2). Parasitic infection in fish results in heavy mucous secretion and discoloration and in severe cases causes high mortalities, which results in huge economic losses to fisheries.

The nematodes cause damage to the hosts by depriving them of digested food and by feeding on host tissues, sera, or blood. In some cases, direct mechanical damage results from them fixing to host tissues and developing or migrating in them (3-5).

Among fish nematodes, *Eustrongylides* infection has attracted considerable attention as it has been reported in various regions of the world and these nematodes exhibit a great potential for transmission and pathogenicity (6-9).

*Eustrongylides* sp are pathogenic parasites of piscivorous birds transmitted through two intermediate hosts: aquatic oligochaetes and fish (10-12). In fish, these parasites are conspicuous as long, red, coiled individuals located in the body cavity or embedded in the muscle (13, 14). Unencysted larvae of these parasites migrate under the skin and in the muscles, causing extensive inflammation and necrosis. Encystation occurring in the viscera, namely liver, spleen, or gonads causes severe pathologic changes in the adjacent tissue (6). Hence, to maximize productivity and to reduce fish mortality due to diseases and parasites, continuous evaluation of the physiological status of the fish is essential in the fishery sector.

Blood parameter analyses have proven to be valuable tools for diagnosing the health status of fish as these indices provide reliable information on metabolic disorders, deficiencies, and the chronic stress status before clinical symptoms appear (15). Thus, hematological tests and the analysis of serum constituents have proven useful in the detection and diagnosis of metabolic disturbances and disease processes (16, 17). In response to ecological and physiological conditions, major changes occur in fish blood composition, such as fluctuations in the levels of red and white blood cells (RBC and WBCs, respectively), hormones, hematocrit, hemoglobin concentration, leukocytes counts, and other basic components. No significant report is available on the effects of *Eustrongylides* infection on hematology and the serum biochemical profiles of the host *Channa punctatus*.

Therefore, the aim of this study was (i) to characterize the hematological and serum biochemical indices of normal and infected fish and to establish a correlation between the studied blood parameters and (ii) to assess the pathological changes and mechanical damage caused in visceral organs using histological and scanning electron microscopic studies, respectively.

## MATERIAL AND METHODS

### Collection of fish specimens and helminth parasites

A total of 250 host fish, i.e. *Channa punctatus* (17–21 cm in length) weighing 50–75 g, were collected from fish farms in Naihati and Kalyani, West Bengal during the period of January 2012–2014 and were brought alive to the parasitology laboratory for examination. They were acclimatized and maintained in glass aquaria (100×60×50 cm) following standard procedures (1). Adult fish specimens of nearly similar weight and length were dissected in physiological saline (0.75% NaCl solution) for collecting helminth parasites. Collected nematodes were fixed in hot 70% ethanol after being washed thoroughly in normal saline, and then stored in labeled glass vials containing glycerine alcohol (1:3). For light microscopic examination, each nematode was cleared in lactophenol for morphological observation and identification. The relative parameters were measured and identification was performed using selected identification keys (5, 18, 19). The approval of Institutional Animal Ethics Committee, University of Kalyani was not taken since the experiment were made on commonly available edible fishes.

### Scanning electron microscopic study of tissues infected with nematodes

The tissues and helminth parasites from infected fish were collected and fixed in 2.5% glutaraldehyde solution prepared in 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.4) at 4°C. The samples were then dehydrated through with a series of alcoholic grades, followed by washing with absolute alcohol and amyl acetate mixture in 3:1, 2:2, and 1:3 ratios, and finally in 100% amyl acetate. The tissues were finally critical point dried using CO<sub>2</sub> in a HCP:2 Critical Point Dryer (Hitachi, Tokyo, Japan) coated with metallic gold in an IB-2 ion coater and examined in a Hitachi S-530 Scanning Electron Microscope at accelerating voltages of 15 and 20 KV (20).

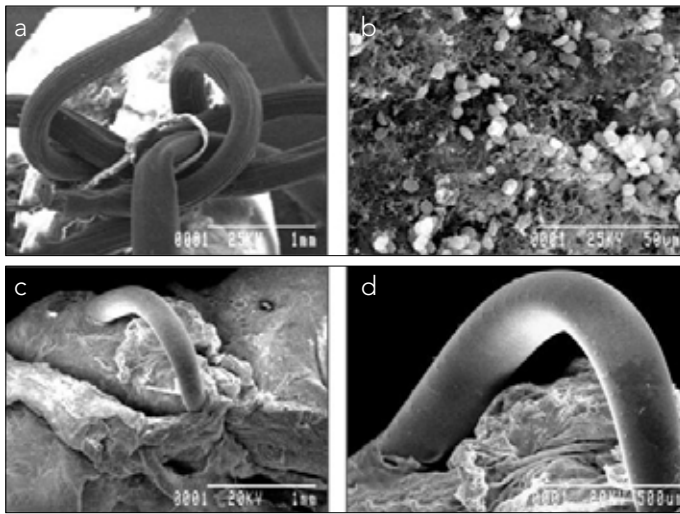
### Histological studies

Samples of visceral organs, such as the liver, spleen, and intestine, collected from both normal and infected fish were fixed in Bouin's fixative for 24 h, and then dehydrated using ascending grades of alcohol, cleared in xylene, and finally embedded in paraffin wax. Processed tissue samples were serially sectioned at about 5 µm on a rotary microtome, and stained with hematoxylin-eosin (21). The sections were examined using a light microscope and photographed by a phase-contrast microscopic camera (Olympus CX 41).

### Hematology analysis

Blood samples were collected by the caudal puncture method were immediately transferred into EDTA-containing assay tubes at an approximate concentration of 5 mg/mL of blood (22). The blood samples were diluted with the appropriate diluting fluids for red blood corpuscle (RBC) and white blood corpuscle (WBC) counts and the counts were determined using an improved Neubauer hemocytometer and then calculated (22, 23). The packed cell volume (PCV) was determined by using a microhematocrit capillary tube (24). The hemoglobin content in erythrocytes was determined by using Sahli's hemoglobinometer. Absolute values, like mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), and mean corpuscular hemoglobin (MCH), were calculated using standard formulas (25).





**Figure 1. a-d.** a: Nematode (*Eustrongylides* sp.) attached with the liver of the host *Channa punctatus*. b: Liver tissue damage indicated by the increase in number of RBCs in liver tissue infected with *Eustrongylides* sp. larvae. c and d: Attachment of the nematode with the intestine of the host.

#### Biochemical analysis

The blood samples were collected in a clean, dry sample container (without anticoagulant) and were centrifuged at 2000 rpm for 5-6 min at 4°C. The supernatant containing the serum was collected and stored at -20°C prior to analysis. Biochemical tests were performed for determination of the serum glucose, cholesterol, total protein, albumin, aspartate aminotransferase (AST, E.C.2.6.1.1), alanine aminotransferase (ALT, E.C.2.6.1.2), and alkaline phosphatase (ALP, E.C.3.1.2.3.1). The total protein concentration in serum was estimated by the Biuret method (26). Albumin was determined by the bromocresol green method (27). Serum globulin was calculated by subtracting the concentration of albumin from that of the total protein, and the albumin/globulin ratio (A/G ratio) was calculated by dividing the albumin concentration over that of globulin (28).

AST and ALT activity were measured using a spectrophotometer with the 2,4-dinitrophenylhydrazine (2,4-DNPH) method (29). Alkaline phosphatase (ALP) was estimated by Kind and King's spectrophotometric method (30, 31). Serum cholesterol and glucose concentration were measured by a spectrophotometric method according to procedures described by Tietz (32) and Mendel et al. (33), respectively.

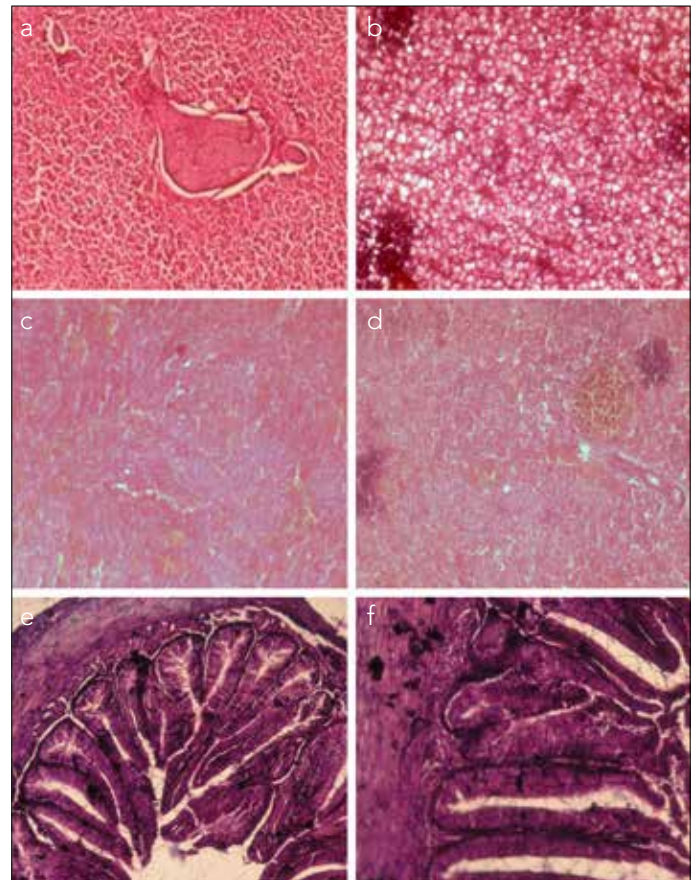
#### Statistical analysis

The experiments were conducted in triplicates. All the values are given as the mean ± standard error of the mean (S.E.M). The values of the hematological and biochemical data between the control and infected groups of fish blood were compared statistically by using student's t test (2-tailed). The mean values were compared at the 1% level of significance (P<0.01).

## RESULTS

#### Macroscopic and microscopic observation

A total number of 250 fish were examined from January 2012 to January 2014, i.e., during the spawning and post-spawning season. Nematodes were recovered from the abdominal cavity,



**Figure 2. a-f.** a: Histological section of liver from noninfected fish. b: Erythrocytes were observed in the hepatic tissue section, and part of the hepatic tissue was necrotic; numerous melanomacrophagic centers were also observed in the liver section of infected fish. c: Histological section of the spleen from noninfected fish. d: Spleen of infected fish mainly showing swelling in the thickened trabeculae and hemorrhage. e: Histological section of the intestine from a noninfected fish. f: Nematode occurrence in the intestine resulted in rupture of the villi, mucosa, submucosa, and even muscularis layers. Hypertrophic and hyperplastic changes were also detected in the epithelial cells of mucosa.

musculature, lumen of the stomach, and in the stomach wall. They were then identified as *Eustrongylides* sp based on larval anatomical characteristics, and most of them were encysted. The nematodes measured 17-20 mm in length and 0.19-0.23 mm in width.

#### Scanning electron microscopic observations

SEM studies revealed the extent of the damage caused by the nematode in the visceral organs of the host *Channa punctatus*. Figure 1.A shows the attachment of the nematodes in the liver tissues that resulted in hemorrhage. Studies show the increase in number of RBC cells in liver tissue infected with *Eustrongylides* sp larvae Figure 1.B. Moreover, damage caused in the intestine of the host due to mechanical attachment and penetration of the nematode are illustrated in Figure 1.C and D. Furthermore, the scanning electron microscopic images of the nematode were used for taxonomic identification of the parasite.

**Table 1.** Effect of *Eustrongylides* sp. on some hematological parameters of *Channa punctatus* in comparison with noninfected and infected fish (Mean±SE). Values are expressed as the mean±standard deviation (SD) of 10 replicates. Student's 't' tests were performed noninfected and infected groups. The mean values were found to be significantly different at a 1% level of significance (P<0.01).

Sl. No	Blood Parameters	Noninfected Fishes		Infected Fishes	
		Range	Mean±SD	Range	Mean±SD
1.	RBC count(10 <sup>6</sup> µL <sup>-1</sup> )	3.2-4.8	4.133±0.622	1.2-2.2	1.838±1.159
2.	WBC count (10 <sup>3</sup> µL <sup>-1</sup> )	7.0-10.8	8.18±1.074	10.2-14	10.80±1.180
3.	Hg (g dl <sup>-1</sup> )	12.7-14.5	13.19±1.12	9.6-11.5	10.55±2.66
4.	PCV (%)	41-46	43.458±4.00	22-33	32.195±5.57
5.	MCV (Ft)	90.8-145	107.27±19.5	94.28-232.5	178.196±75.68
6.	MCH (pg)	28.5-43.15	35.35±6.708	28.57-71.6	56.70±21.33
7.	MCHC (%)	30.0-31.5	30.46±0.5217	28.2-29.5	29.4±1.059

RBC - Red blood corpuscle; WBC - White blood corpuscle; Hg- Hemoglobin; PCV - Packed cell volume; MCV - mean corpuscular volume; MCH - mean corpuscular haemoglobin; MCHC - mean corpuscular haemoglobin concentration.

**Table 2.** Effect of *Eustrongylides* sp. on some serum biochemical parameters of *Channa punctatus* in comparison with noninfected and infected fish (Mean±SE). Values are expressed as the mean±standard deviation (SD) of 10 replicates. Student's 't' tests were performed between noninfected and infected groups. The mean values were found to be significantly different at a 1% level of significance (P<0.01).

Sl. No	Blood Parameters	Noninfected Fishes		Infected Fishes	
		Range	Mean±SD	Range	Mean±SD
1.	Total protein (g dl <sup>-1</sup> ,mg dl <sup>-1</sup> ,UL <sup>-1</sup> )	2.5-6.0	4.473 ±1.31	1.2-3.09	2.279±0.8123
2.	Serum albumin (g dl <sup>-1</sup> )	2.5- 4.2	3 ±1.24186	0.4-2.5	1.44±1.203
3.	A/G	1.4-1.9	1.572±0.139	0.33-1.3	0.819±0.429
4.	SGOT/AST(UL <sup>-1</sup> )	140-315	190.9±89.019	213±640	416±172.55
5.	SGPT/ALT (UL <sup>-1</sup> )	30.2-36.42	34.167±1.067	65-85.5	71.8±13.71
6.	Alkaline phosphatase (mg dl <sup>-1</sup> )	125.47-145.35	130.60±2.91	150.56-170.65	165.8±32.43
7.	Glucose (mg dl <sup>-1</sup> )	49.6-87.07	66.10±21.5423	24.42-42.5	35.024±7.93
8.	Cholesterol (mg dl <sup>-1</sup> )	120.78-140	130.93±1.97	150-165.5	158.82±5.55

A/G ratio - albumin/globulin ratio; AST - aspartate aminotransferase; ALT - alanine aminotransferase; SGPT - Serum Glutamate Pyruvate Transferase; SGOT - Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase.

### Histological findings

Marked histopathological changes were recorded in the tissues of the liver, spleen, and intestine of the affected hosts. Inflammatory reaction, tissue necrosis, and circulatory disturbance were the main symptoms observed in the infected tissue sections. Hepatocytes were of irregular outline with abundant vacuolar space and the nucleus hardly visible. Penetration of the nematode disrupted the regular arrangement of the hepatocytes, which resulted in necrosis and hemorrhage, see Figure 2.B. Frequent and dispersed melanomacrophagic centers were observed in the sections of the infected fish.

The spleen of the infected fish mainly shows inflammation of the capillaries and hemorrhages, and numerous melanomacrophagic centers were observed, see Figure 2.D.

Nematode occurrence in the intestine resulted in the rupture of villi, mucosa, submucosa, and even muscularis layers. Hypertrophic and hyperplastic changes were also detected in the epithelial cells of mucosa, see Figure 2.F, while the tissue sections from noninfected groups are normal in appearance and structure.

### Hematological analysis

The RBC count in the infected fish was significantly lower (P<0.01) than in noninfected fish. Conversely, the WBC count in infected fish was significantly higher (P<0.01) than in noninfected fish. Statistical analysis reveals that affected fish had significantly lower (P<0.01) hemoglobin and PCV levels, while the mean values of MCV and MCH were significantly higher (P<0.01). The mean values of MCHC showed nonsignificant differences in the studied fish. Values (mean, standard error, and ranges) of RBC and WBC counts, hemoglobin concentration, PCV, MCV, MCH, and MCHC of infected and normal fish are given in Table 1.

### Serum biochemical analysis

The mean values, standard error, and ranges of the serum biochemical parameters for both infected and noninfected fishes are summarized in Table 2. Significantly higher values were observed for ALT, AST, cholesterol, and ALP in infected fish than in noninfected fish (P<0.01). The total protein A/G ratio and glucose values were significantly lower (P<0.01) in infected fish in comparison to noninfected fish.

## DISCUSSION

This study reveals that *Eustrongylides* sp causes a series of biochemical, hematological, and pathological changes in the host fish. Glucopyruvic intoxication leads to a marked decrease in the glucose level of serum due to the consumption of an abundant amount of glucose content from the host by the nematode (34).

The liver acts as the main metabolic center for detoxification, biosynthesis, and excretion of cholesterol. Thus, increased levels of ALT, AST, and ALP in infected fish, as observed during the study, indicate impaired liver function (35) and extensive liver damage. Elevated levels of cholesterol indicate disorders of the lipid and lipoprotein metabolism, especially liver-impaired physiology (36).

In this study, hypoproteinemia with decreased levels of total serum protein (TSP) and albumin without marked changes in globulin level were observed. Parasitic infestation causes proteolysis of TSP, which results in the liberation of free amino acids and their utilization in numerous metabolic processes, like the tricarboxylic acid cycle (TCA), to meet the enhanced energy demand. The necrosis of hepatocytes results in a decline in the total protein level in serum, which may be due to the decrease in protein synthesis. The reason for the loss of protein from serum may also be attributed to the increased level of transaminase activity, indicating the rapid utilization of reserve foods like protein and carbohydrate under stress conditions (37, 38).

Blood acts as a pathophysiological reflector of the whole body (39, 40). Hence, hematological parameters are important in diagnosing the functional status of the fish infected with helminth parasites (41) and also to evaluate the physiological condition and nutritional status of the fish (42).

The RBC count, hemoglobin value, and packed cell volume were found to be significantly reduced in infected fish, which occurs as a result of the parasitic infestation that often leads to anemia (43). Furthermore, the parasites act as a stressor and during primary stages of stress, PCV changes due to the release of catecholamine, which can mobilize RBCs from the spleen (44) or induce RBC swelling as a result of fluid shift into the intracellular compartment (45).

The WBC count was found to be enhanced due to parasitic infestation, as WBCs are key components of innate immune defense and leukocytes are involved in the regulation of immunological function in the organism (46-48).

The MCV and MCH values recorded in infected fish were enhanced, which confirmed the pathological occurrence of pernicious anemia. The MCHC values showed a nonsignificant decline in infected fish in comparison with noninfected fish.

The histological changes appearing in visceral organs, such as the liver, spleen, and intestine, may be due to toxic substances released by the larvae, resulting in hydropic degeneration and the necrosis of normal cells. Such responses evoke inflammation and leukocytosis in the affected host. The severity of histopathological changes caused by this nematode is correlated with the depth of penetration within the host tissues along with the parasite burden.

The brown black pigments found in the vicinity of the parasites result from the activity of macrophages involved in the resorption and removal of foreign material. The pigment present in the melanomacrophagic centers consists mainly of lipofuscin and hemosiderin. In new hemorrhagic sites occurring due to the penetration and migration of helminths, hemosiderin-containing macrophages are usually found, while in chronic cases, darker pigment-containing macrophages are frequently encountered (49).

## CONCLUSION

The results of this study provide information regarding the characteristic features of hematological, biochemical, and histopathological changes in *Channa punctatus* due to *Eustrongylides* sp infection, suggesting that blood parameters and serum biochemical studies may be effective in monitoring the effects of nematode infestation in fish; this knowledge would be effective in fishery management programs.

**Ethics Committee Approval:** The approval of Institutional Animal Ethics Committee, University of Kalyani was not taken since the experiment were made on commonly available edible fishes.

**Informed Consent:** N/A.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept - P.K.B.; Design - P.K.B.; Supervision - P.K.B.; Data Collection and/or Processing - I.K.; Analysis and/or Interpretation - I.K.; Literature Review - G.G ; Writer - I.K.,P.K.B and D.R.M.

**Acknowledgements:** The authors would like to thank the Dr Srikanta Chakraborty of University Science Instrumentation Centre, Burdwan University for technical assistance in scanning electron microscopy study. One of the authors (Ivy Kundu) is thankful to the Head, Department of Zoology, University of Kalyani, Nadia, West Bengal for providing necessary laboratory facilities.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

**Etik Komite Onayı:** Deneyler genellikle mevcut yenilebilir balıklar üzerine yapıldığından, Kalyani Üniversitesi, Kurumsal Hayvan Etikleri Komitesinin onayı alınmamıştır.

**Hasta Onamı:** N/A.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - P.K.B.; Tasarım - P.K.B.; Denetleme - P.K.B.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - I.K.; Analiz ve/veya Yorum - I.K.; Literatür Taraması - G.G.; Yazıyı Yazan - I.K., P.K.B., D.R.M.

**Teşekkür:** Yazarlar scanning electron mikroskobu çalışmasındaki teknik yardımları için (Burdwan Üniversitesi, Bilim Enstrümantasyon Merkezi) Dr. Srikanta Chakraborty'a teşekkürleri sunarlar. Yazarlardan Ivy Kundu, gerekli laboratuvar kolaylıklarını sağladığı için Kalyani Üniversitesi, Nadia, West Bengal, Zooloji Bölüm Başkanlığı'na teşekkür eder.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

## REFERENCES

1. Kundu I, Bandyopadhyay PK, Mandal DR. Prevalence of helminth parasites infecting *Channa punctatus* Bloch, 1793 from Nadia district of West Bengal. *IOSR-JAVS* 2015; 8: 41-6.
2. Paperna I. Parasites infections and diseases of fishes in Africa-an update. CIF Technical Paper; 1996.
3. Bauer ON, Musselius VA, Nikolaeva VM, Strelkov Y. A. "Ichthyopathology idatelstvo pishchevaya promyshlennost". Moscow; 1977.
4. Dick TA, Choudhury A. Phylum Nematoda. In Woo PTK (Eds) Fish diseases and disorders. I. Protozoan and metazoan infections. UK: CAB international, Wallingford; 1995.
5. Moravec F. Parasitic Nematodes of Freshwater Fishes of Europe. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers; 1994.
6. Paperna I. Hosts distribution and pathology of infections with larvae of *Eustrongylides* (Dioctophymidae, Nematoda) in fish from East African lakes. *J Fish Biol* 1974; 6: 67-76. [CrossRef]
7. Moravec F, Nie P, Wang G. Some nematodes of fishes from central China, with the redescription of *Procamallanus* (*Spirocamallanus*) *fulvidraconis* (Camallanidae). *Folia Parasitol* 2003; 50: 220-30. [CrossRef]
8. Salgado-Maldonado G., Aguilar-Aguilar R., Caban Ascaranza G. Helminth parasites of freshwater fishes of the Ayuquila River, Sierra de Manantlan Biosphere Reserve, West Central Mexico. *Comp Parasitol* 2004; 71: 67-72. [CrossRef]
9. Sattari M, Mokhayer B, Khara H., Nezami S, Shafii S. Occurrence and intensity of parasites in some bonyfish species of Anzali wetland from the southwest of the Caspian Sea. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 2007; 27: 54-60.
10. Karmanova E M. Dioctophymidea of Animals and Man and Diseases Caused by Them. *Fundamentals of Nematology*; 1968.
11. Measures LN. The development of *Eustrongylides tubifex* (Nematoda: Dioctophymatoidea) in oligochaetes. *J Parasitol* 1988; 74: 294-304. [CrossRef]
12. Measures LN. The development and pathogenesis of *Eustrongylides tubifex* (Nematoda: Dioctophymatoidea) in piscivorous birds. *Can J Zool* 1988; 66: 2223-32. [CrossRef]
13. Mitchum DL. Parasites of Fishes in Wyoming. Wyoming Game and Fish Department, Cheyenne; 1995.
14. Overstreet RM. Presidential address: Flavor buds and other delights. *J Parasitol* 2003; 89: 1093-107. [CrossRef]
15. Bahmani M, Kazemi R, Donskaya P. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiol Biochem* 2001; 24: 135-40. [CrossRef]
16. Shahsavani D, Mohri M, Gholipour Kanani H. Determination of normal values of some blood serum enzyme in *Acipenser stellatus*. *Fish Physiol Biochem* 2008; 36: 39-43. [CrossRef]
17. Aramli MS, Kalbassi MR, Nazari RM. Selected biochemical parameters in plasma of blood and semen of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Comp Clin Path* 2014; 23: 1241-5. [CrossRef]
18. Yamaguti S. The Nematodes of Vertebrates, in *Systema Helminthum*. Volume III. New York: John Wiley and Sons; 1961.
19. Anderson RC. Nematode Parasites of Vertebrates their Development and Transmission. 2nd Edition. CABI Publishing; 2000. [CrossRef]
20. Eisenback JD. A Comparison of Techniques Useful for Preparing Nematodes for Scanning Electron Microscopy. *J Nematol* 1986; 18: 479-87.
21. Bancroft JD, Stevens A, David RT. Theory and practice of histological techniques. 3rd Edition. Churchill Livingstone; 1990.
22. Blaxhall PC, Daisley KW. Routine haematological methods for use with fish blood. *J Fish Biol*; 1973: 771-81. [CrossRef]
23. Hesser EF. Methods for routine fish hematology. *Progressive Fish-Culturist* 1960; 22: 164-71. [CrossRef]
24. Wintrobe MM. *Clinical Hematology*. 4th Edition. Philadelphia: Lea and Febiger; 1965.
25. Dacie JV, Lewis SM. *Practical Haematology*. 5th Edition. London: J and A Churchill; 1975.
26. Dumas BT. Standards for total serum protein assays-a collaborative study. *Clin Chim* 1975; 21: 1159-66.
27. Gustafsson JE. Improved specificity of serum albumin determination and estimation of "acute phase reactants" by use of the bromocresol green reaction. *Clin Chem* 1976; 22: 616-22.
28. Coles EH. *Veterinary Clinical Pathology*. 4th Edition. Philadelphia: W B Sanders Company; 1986.
29. Reitman S, Frankel S. Colorimetric determination of glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28: 53-6. [CrossRef]
30. King EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J* 1934; 31: 376-81.
31. Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatases by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine. *J Clin Pathol* 1954; 7: 330-2. [CrossRef]
32. Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: W B Saunders; 1986.
33. Mendel B, Kemp A, Myers DK. A colorimetric micromethod for the determination of glucose. *Biochem J* 1954; 56: 639-45. [CrossRef]
34. Von Brand T. *Biochemistry of Parasites*. London-New York: Academic Press; 1973.
35. Svoboda M, Kouril J, Hamackova J, Kalab P, Savina L, Svobodova Z, Vykusova B. Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre and post spawning period. *Acta Vet Brno* 2001; 70: 259-68. [CrossRef]
36. Allen FM, Patrick JW, Roger TH. Blood biochemistry of the oyster toadfish. *J Aquat Anim Health* 2005; 17: 170-6. [CrossRef]
37. Bhakthavathsalam R, Srinivasa Reddy Y. Importance of protein metabolism during acute exposure of *Anabas testudineus* to lindane. *Environ. Ecol* 1984; 2: 194-8.
38. Goel KA, Gupta K. Haematobiochemical characteristics of *H. fossilis* under the stress of zinc. *J Fish* 1985; 32: 256-60.
39. Sharma G, Singh S. Studies on the effect of intoxicant indofil on the blood morphology of *Channa punctatus* (Bloch.). *Bionotes* 2004; 6: 20.
40. Sharma G and Singh S. Assay of some blood parameters of the fish, *Channa punctatus* (Bloch.) after intoxication of indofil. *Bionotes* 2006; 8: 21.
41. Joshi PK., Bose M., Harish D. Change in certain Haematological parameters in suliroid catfish *Clarias batrachus* (Linnaeus) exposed to cadmium chloride. *Pollut Resour* 2002; 21: 119-22.
42. Chagas EC, Val AL. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parametros hematologicos de tambaqui. *Pesq Agropec Bras* 2003; 38: 397-402. [CrossRef]
43. Martins ML, Tavares-Dias M, Fujimoto RY, Onaka EM, Nomura D T. Haematological alterations of *Leporinus macrocephalus* (Osteichthyes: Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporini* (Nematoda: Anisakidae) in fish pond. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2004; 56: 640-6. [CrossRef]
44. Wells RMG, Weber RE. The spleen in hypoxic and exercised rainbow trout. *J Exp Biol* 1990; 150: 461-6.
45. Chiocchia G, Motais R. Effect of catecholamines on deformability of red cells from trout: relative roles of cyclic AMP and cell volume. *J Physiol* 1989; 412: 321-32. [CrossRef]
46. Duthie GG, Tort L. Effects of dorsal aortic cannulation on the respiration and haematology of Mediterranean living *Scyliorhinus canicula*. *Comp Biochem Physiol* 1985; 81: 879-85. [CrossRef]
47. Gallardo MA, Sala-Rabanal M, Ibarz A, Padrós F, Blasco J, Fernández-Borra J, Sánchez J. Functional alterations associated with "winter syndrome" in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 2003; 223: 15-27. [CrossRef]
48. Ballarin L, Dall'Oro M, Bertotto D, Libertini A, Francescon A, Barbaro A. Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. *Comp Biochem Physiol* 2004; 138: 45-51. [CrossRef]
49. Roberts R. Melanin containing cells of teleost fish and their relation to disease. In Ribelin WE, Migaki G, editors. *The Pathology of Fishes*. Wisconsin: University of Wisconsin Press; 1975. p. 399-428.



# *Ichthyobodo* spp. Infection in Meagre (*Argyrosomus regius*) from Turkey: Parasitological and Pathological Findings

Granyöz Balığına (*Argyrosomus regius*) *Ichthyobodo* spp. Enfeksiyonunun Türkiye'den Bildirimi: Parazitolojik ve Patolojik Bulgular

Banu Yardımcı<sup>1</sup>, Gökmen Zafer Pekmezci<sup>1</sup>, Behire Işıl Didinen<sup>2</sup>, Seçil Metin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta, Türkiye

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study is to describe the first report of *Ichthyobodo* spp. infection in meagre (*Argyrosomus regius*) fry in a marine aquaculture facility in Turkey.

**Methods:** The material of the study was composed of 30 meagre *A. regius* in 2-3 g weight taken from the fry adaptation unit of a fish farm in the Aegean Sea. In this study, parasitological and pathological examinations were performed on the meagre. *Ichthyobodo* spp. was determined on the body surfaces and gills.

**Results:** Pathological examination revealed grayish mucous and erosions between the pin head and lentin over the skin of the examined specimens. Microscopic examinations revealed significant spongiosis, vacuolar degeneration, and hyperplasia in epidermal malpighian cells and hyperplasia in goblet cells.

**Conclusion:** In the present study, *Ichthyobodo* spp. infection was for the first time determined in an alternative cultured meagre in Turkey. (*Türkiye Parazitol Derg* 2016; 40: 48-50).

**Keywords:** *Ichthyobodo* spp., *Argyrosomus regius*, histopathology, Turkey

**Received:** 03.11.2015

**Accepted:** 29.12.2015

## ÖZ

**Amaç:** Çalışmanın amacı Türkiye'de denizde yetiştiriciliği yapılan Granyöz balığı yavrularında *Ichthyobodo* spp. enfeksiyonunun ilk defa tanımlanmasıdır.

**Yöntemler:** Çalışmanın materyalini Ege denizindeki balık çiftliğinin yavru adaptasyon ünitesinden alınan 2-3 gr ağırlığındaki 30 balık oluşturdu. Patolojik ve parazitolojik inceleme yapıldı. Vücut yüzeyi ve solungaçlarda *Ichthyobodo* spp. tespit edilmiştir.

**Bulgular:** Patolojik incelemede, balıkların dış yüzeylerinin grimsi renkte bir mukus tabakası ile kaplı olduğu ve deri üzerinde toplu iğne başından mercimek büyüklüğüne değişen boyutlarda erozyonlar gözlemlendi. Mikroskopik incelemede, epidermiste malpighian hücrelerinde belirgin spongiosis, vakuoler dejenerasyon ve hiperplaziye ile birlikte goblet hücrelerinde de hiperplaziye rastlandı.

**Sonuç:** Sonuç olarak, yetiştiricilikte alternatif bir tür olan granyöz balıklarında Türkiye'de ilk defa *Ichthyobodo* spp. enfeksiyonu tanımlandı. (*Türkiye Parazitol Derg* 2016; 40: 48-50).

**Anahtar Kelimeler:** *Argyrosomus regius*, histopatoloji, *Ichthyobodo* spp., Türkiye

**Geliş Tarihi:** 03.11.2015

**Kabul Tarihi:** 29.12.2015

## INTRODUCTION

Meagre *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) is a teleost fish species that belongs to the Sciaenidae family. Meagre could be a suitable candidate species for the diversification of aquaculture in the Mediterranean region, and has been ranked in eighth position out of 27 species. The farming of

meagre started in Europe in the second half of the 1990s in Italy and France, followed by Spain (2004), Turkey (2005), and Greece (2007), and has now also started in Egypt. Total aquaculture production of meagre has increased from a few tonnes in 2000 to approximately 4000 tonnes in 2008 and 10 000 tonnes in 2010 (1). Meagre has grown rapidly, with production output in 2011 exceeding over 14 000 tonnes (2).

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Banu Yardımcı E.mail: byardimci@omu.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2016.4577

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolderg.org

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolderg.org web sayfasından ulaşılabilir.

The ectoparasitic flagellate *Ichthyobodo* spp. is known to induce ichthyobodosis in both wild and farmed fish populations. Ichthyobodosis causes heavy infections on the skin and gills and can cause mortality, representing a common problem in fish farms. Formerly known as *Costia necatrix*, it is an important cosmopolitan distribution issue. *Ichthyobodo* spp. (mostly recorded as *I. necator*) has been identified and reported with different freshwater and marine fish worldwide (3). Their life cycle includes one free-swimming dispersive phase, alternating with an attached, feeding stage. The flagellate has been frequently associated with outbreaks in cultured and aquarium fish (4). Until recently, the genus *Ichthyobodo* contained a single variable species, *I. necator*, identified from different hosts. However, small subunit ribosomal RNA gene sequences of parasites from different fish and environments have shown that *I. necator* actually represents several different species (5). An infected fish body surface may appear gray in color, with spots, discoloration, and mucus secretion. The action of the *Ichthyobodo* results in the destruction of epidermal cells, producing widespread pathological changes. Skin histopathological lesions include spongiosis, vacuolation, and edema, followed by degeneration and sloughing of epidermis (6).

The aim of this study was to describe the first report of *Ichthyobodo* spp. infection in meagre (*A. regius*) fry in a marine aquaculture facility in Turkey.

## METHODS

A total of 30 meagre fish in an adaptation unit from a fish farm were randomly collected and transported to the laboratory for parasitological examination in August 2013. The investigation was performed with smear or squash preparations under a light microscope (magnification 100-1000×). Skin was scraped onto the slides, dried at room temperature, and stained with 5% Giemsa solutions. The flagellates were studied by light microscopy and identified as *Ichthyobodo* spp. by their morphological characteristics, which have been described by Lom and Dykova, 1992. Following the parasitological examination, the gills and skin were fixed in 10% neutral formaldehyde solution for pathological examination. Tissue samples were routinely processed and embedded in paraffin. Tissue sections 4–6 μ in width were stained with hematoxylin–eosin (HE) and examined under a light microscope.

## RESULTS

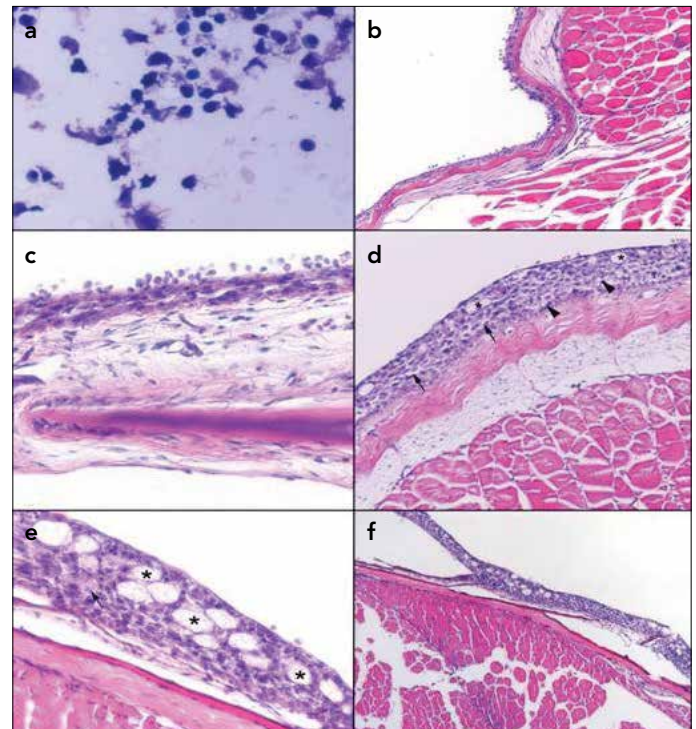
All the fish samples were infected with *Ichthyobodo* spp. Specimens of free-swimming forms of *Ichthyobodo* spp. were identified by their oval body, which contained two free unequal flagellae ventrally and a centrally located nucleus (Figure 1a). Macroscopic examination revealed grayish mucous and erosions between the pin head and lentin over the skin. In the microscopic examination, pyriform-shaped parasites were seen to be attached to the epithelial cells of the skin with hypertrophied proboscis. In the epidermis, mild hyperplasia of the malpighian cells and depletion of the goblet cells were observed where *Ichthyobodo* spp. was dense (Figure 1b, c) and significant spongiosis, vacuolar degeneration, and hyperplasia of malpighian cells were seen where *Ichthyobodo* spp. were less dense or

absent. There was also significant hyperplasia of the goblet cells (Figure 1d, e). In addition, epidermal cells were seen to have lost their interdigitating cell membranes, and the outer surface layers of the epidermis occasionally seemed to slough off (Figure 1f). Although the gill filaments were lightly infected, there was no apparent pathological change seen.

## DISCUSSION

Although there have been reports on the occurrence of *Ichthyobodo* spp. in fish hosts from Turkey (7-10), in the present study, *Ichthyobodo* spp. is reported for the first time in meagre, *A. regius*, in Turkey.

The skin of infected meagres showed extensive epidermal hyperplasia, vacuolation, and spongiosis within this study. Symptoms resembled those seen in farmed salmonids infected with *I. necator* (11-13) and in Japanese flounder with *Ichthyobodo* spp. (14, 15). In previous studies, epidermal hyperplasia, vacuolation, and spongiosis were seen to occur in densely infected areas, but in contrast with these studies, these findings were seen in less densely infected areas in this study. This condition was attributed to the unattachment of the parasites to the epithelial cells due to the degeneration of the upper level epidermis cells. Previous studies reveal optimal or high mortality rates in densely infected farms, but in the present study, the insignificant mortality rate was thought to be correlated with the early



**Figure 1. a. f.** Wet mounts of the free-swimming stage of *Ichthyobodo* spp. (Giemsa, X1000). b, c. Skin surface of a meagre excessively infected with *Ichthyobodo* spp. of epidermis and absence of goblet cells (HE, X200; X400). d, e. Epidermis of a meagre less densely infected with *Ichthyobodo* spp. showing of the hyperplasia of malpighian cell and goblet cells (asterisk), severe vacuolation (arrowheads) and spongiosis (arrows) (HE, X200; X400). f. Sloughing of the epidermis of an infected meagre (HE, X100).



diagnosis and treatment protocol. The cytoplasmic degeneration occurring around the parasite's cytostome suggested that the parasite may feed on the cytoplasm by releasing digestive enzymes or toxic substances from the cytostome tube, as suggested in *I. necator* (12). The main cause of fish deaths may be attributable to breakdown of the osmoregulatory system due to severe epidermal destruction, followed by the starvation of fish due to decreased appetite.

Although *Ichthyobodo* spp. was reported in both the gills and skin of fish (6), the parasites in the present investigation showed a distribution in the meagre juveniles, where they were abundant on the skin surface and fins, but rare on the gills. In the present study, *Ichthyobodo* spp. on meagres was found to occur in large numbers over the whole body surface, indicating the possibility of direct skin infections.

## CONCLUSION

With this study, *Ichthyobodo* spp. infection in meagre, a very popular alternative species in the last few years, was determined parasitologically and pathologically. This study demonstrates that the marine *Ichthyobodo* spp. is an important parasitic pathogen of meagre, and is responsible for growth retardation and mortalities in fish culture facilities. It can cause large economic losses in marine aquaculture. An effective method for controlling *Ichthyobodo* infections is formalin treatment, but further investigations should be directed to prevent outbreaks of ichthyobodiasis.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için etik komite onayına gerek yoktur.

**Hasta Onamı:** Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - B.Y., G.Z.P., B.I.D., S.M. ; Tasarım - B.Y., G.Z.P.; Denetleme - B.I.D., S.M.; Kaynaklar - B.Y., B.I.D.; Malzemeler - ; Veri Toplanması ve/veya işlemesi - B.Y., B.I.D.; Analiz ve/veya Yorum B.Y., G.Z.P.; Literatür taraması - B.Y., G.Z.P.; Yazıyı Yazan - B.Y.; Eleştirel İnceleme - B.I.D.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Finansal destek yoktur.

**Ethics Committee Approval:** Ethics Committee Approval was not needed for this study.

**Informed Consent:** Not required in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - B.Y., G.Z.P., B.I.D., S.M.; Design - B.Y., G.Z.P.; Supervision - B.I.D., S.M.; Funding - B.Y., B.I.D.; Materials; Data Collection and/or Processing - B.Y., B.I.D.; Analysis and/or Interpretation - B.Y., G.Z.P.; Literature Review - B.Y., G.Z.P.; Writer - B.Y.; Critical Review - B.I.D.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflict of interest.

**Financial Disclosure:** The study has not been founded.

## REFERENCES

1. Monfort MC. Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. In, Studies and Reviews no. 89. General Fisheries Commission for the Mediterranean, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). pp. 46, 2010.
2. FAO. Fisheries and aquaculture department. Available at: <http://www.fao.org/fishery>, 2013, (accessed on 01 September 2014).
3. Isaksen TE, Karlsbakk E, Repstad O, Nylund A. Molecular tools for the detection and identification of *Ichthyobodo* spp. (Kinetoplastida), important fish parasites. *Parasitol Int* 2012; 61: 675-83. [CrossRef]
4. Rodger HD, Murphy K, Mitchell SO, Henry L. Gill disease in marine farmed Atlantic salmon at four farms in Ireland. *Vet Rec* 2011; 168: 668. [CrossRef]
5. Todal JA, Karlsbakk E, Isaksen TE, Plarre H, Urawa S, Mouton A, et al. *Ichthyobodo necator* (Kinetoplastida) - a complex of sibling species. *Dis Aquat Organ* 2004; 58: 9-16. [CrossRef]
6. Lom J, Dykova L. Protozoan Parasites of Fishes. In, Lom J, Dykova L (Eds): *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. Vol. 26, Elsevier, Amsterdam, 1992.
7. Ogut H, Akyol A. Prevalence and intensity of ectoparasites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from larvae stage to market size in Turkey. *Isr J Aquacult- Bamid* 2007; 59: 23-31.
8. Balta F, Kayis S, Altinok I. External protozoan parasites in three trout species in the Eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 2008; 28: 157-62.
9. Koyuncu, E. 2009. Parasites of ornamental fish in Turkey. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 29: 25-7.
10. Tokşen, E. First detection of *Ichthyobodo* spp. infection and its treatment in a sea bream (*Sparus aurata* L.) farm in Izmir. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2000; 24: 321-5.
11. Robertson DA. Host-parasite interactions between *Ichthyobodo necator* (Henneguy, 1883) and farmed salmonids. *J Fish Dis* 1979; 2: 481-91. [CrossRef]
12. Roubal FR, Bullock AM, Robertson DA, Roberts RJ. Ultrastructural aspects of infestation by *Ichthyobodo necator* (Henneguy, 1883) on the skin and gills of the salmonids *Salmo salar* L. and *Salmo gairdneri* Richardson. *J Fish Dis* 1987; 10: 181-92. [CrossRef]
13. Isaksen TE, Karlsbakk E, Sundnes GA, Nylund A. Patterns of *Ichthyobodo necator sensu stricto* infections on hatchery reared salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *Dis Aquat Organ* 2010; 88: 207-14. [CrossRef]
14. Urawa S, Ueki N, Nakai T, Yamasaki H. High mortality of cultured juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Sehlegel), caused by the parasitic flagellate *Ichthyobodo* sp. *J Fish Dis* 1991; 14: 489-94. [CrossRef]
15. Urawa S, Ueki N, Karlsbakk E. A review of *Ichthyobodo* infection in marine fishes. *Fish Pathol* 1998; 33: 311-20. [CrossRef]

# Cystic Echinococcosis: One Entity, Two Unusual Locations

## Kistik Ekinokokkoz; Bir Hastalık, İki Sıra Dışı Yerleşim

Yeşim Sağlıcan<sup>1</sup>, Özben Yalçın<sup>2</sup>, Ecmel Kaygusuz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Sağlık Bakanlığı Şişli Hamidiye Etfal Hastanesi, Patoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Hastanesi, Patoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

### ABSTRACT

We report two cases of cystic echinococcosis at unexpected locations. Patients were a 64-year-old man and 35-year-old woman. A cystic mass was incidentally found between the prostate and seminal vesicles in the male patient, using ultrasonography during a check-up for ischemic coronary disease. The female patient was admitted to the hospital with symptoms of cardiopulmonary disease, but her detailed radiological examination showed a cystic lesion in the interventricular septum of the heart. Both patients were operated, and examinations of the histologic sections revealed cyst walls consistent with echinococcal infection. Attention should be focused on this entity even in endemic areas, and pathologists should be aware of the histologic characteristics of this lesion, to avoid misdiagnosis as a nonspecific cyst. (*Türkiye Parazitol Derg* 2016; 40: 51-3).

**Keywords:** Echinococcosis, hydatid cyst, prostate, heart

**Received:** 27.06.2015

**Accepted:** 29.02.2016

### ÖZ

Bu makalede, biri 64 yaşında erkek, diğeri 35 yaşında kadın olan iki ayrı hastada sıra dışı yerleşim gösteren tek bir hastalık, kistik ekinokokkoz sunulmaktadır. Erkek hastanın iskemik koroner hastalığı nedeniyle yapılan genel kontrolleri sırasında, ultrasonografi sonucu prostat ve vezikula seminalisler arasında kistik kitle saptanmıştır. Diğeri hasta ise kardiopulmoner şikâyetleri nedeniyle hastaneye başvurmuş, görüntüleme yöntemleri ile kalp ventrikülleri arasında kistik bir lezyon belirlenmiştir. Her iki hastada lezyonlar rezektive edilmiş, histolojik inceleme sonucu kistik ekinokokkoz enfeksiyonu tanısı verilmiştir. Endemik bölgelerde alışlagelmiş lokalizasyonlarda sıklıkla görülmekle birlikte, bu kistlerin sıra dışı yerleşim gösterebileceği ve bu nedenle spesifik olmayan kistlerle karışabileceği akılda tutulmalıdır. (*Türkiye Parazitol Derg* 2016; 40: 51-3).

**Anahtar Kelimeler:** Ekinokokkoz, kist hidatik, prostat, kalp

**Geliş Tarihi:** 27.06.2015

**Kabul Tarihi:** 29.02.2016

### INTRODUCTION

Cystic echinococcosis (hydatid cyst) is a parasitic disease caused by infection with the larval stage of *Echinococcus granulosus*, a 2-7 millimeter long tapeworm found in dogs (definitive host) and sheep, cattle, goats, and pigs (intermediate hosts). Humans are infected by the ingestion of parasite eggs through contaminated food or water or through a direct contact with animal hosts. Most infections in humans

are asymptomatic for many years until cysts grow to an extent that triggers clinical signs.

Cystic echinococcosis in endemic areas is common in routine surgical pathology practice. In general, the cysts are most commonly located in the liver and lungs. They are usually diagnosed under detailed pathologic evaluation and clinicopathologic correlation. However, in lesions mimicking hydatid cysts, particularly in unusual sites, both the

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Yeşim Sağlıcan E.mail: yesim.saglican@acibadem.com.tr

DOI: 10.5152/tpd.2016.4378

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

imaging techniques and histopathologic examination can lead to inappropriate differential diagnosis. Here we present two cases of cystic echinococcosis with their clinical and histopathologic appearance and a brief literature review.

## CASE REPORT

### Case 1

A 64-year-old man was followed up for ischemic coronary disease. During the last consultation, a well-limited, 65-mm mass composed of cystic and solid components at the posterior of the urinary bladder was detected using abdominal ultrasonography. Its association with prostate or seminal vesicle was not well defined using ultrasonography. Both urinary system and transrectal ultrasonography showed a cystic and semisolid mass measuring 155 mL in volume that was closely associated with prostate and seminal vesicles. Initial diagnosis was done using trucut needle biopsy and aspiration of the cyst fluid. Microscopically, the sections showed fibromuscular prostatic tissues and isolated thick fibrous cyst wall fragments without any cellular lining and dispersed multinuclear histiocytic giant cells in the wall (Figure 1). Cytospin preparations of the cyst fluid showed proteinous secretion, nuclear debris, and spermatozoa. The diagnosis was benign cyst wall consistent with either a prostatic cyst or seminal vesicle cyst.

Based on these findings, transurethral prostatectomy was performed. The resected tissues were 23 gm in weight and 6.5x6x0.6 cm in dimensions. Along with the prostatic tissues were 4x3.5x0.5 cm pearly membranous tissues. Microscopic sections revealed cellular, lamellous cyst wall fragments consistent with cuticula between the prostatic tissues, but no scolex was detected (Figure 2).

### Case 2

A 35-year-old female presented with palpitation and dyspnea. Echocardiography and cardiac MRI revealed a 5-6 cm interventricular septal cardiac cyst. The patient was prepared for surgery after a preoperative diagnosis of hydatid cyst. At the beginning of surgery, transesophageal echocardiography was performed to verify the localization of the lesion; it was located at the septum, bulging toward the posterior wall of the ventricle. The cyst fluid was aspirated, and the wall was resected from the septum.

On gross examination, the specimen consisted of membranous calcified tissues and cuticular membrane. Histologic sections revealed, a diffusely calcified and inflamed fibrous capsule containing residual muscle of the heart at the outer portion. There were acellular, laminated chitinous membrane and degenerated germinal layer at the inner wall of the fibrous capsule (Figure 3). A few scolices were also detected (Figure 4).

### Outcome

Both the lesions were diagnosed as cystic echinococcosis; one of them in the prostate and the other in the heart. Anti-Echinococcus total antibody was found to be elevated on serologic examinations, and allergic laboratory tests showed high levels for specific anti-Echinococcus IgE antibodies in both patients. Other organs were scanned to locate the primary site of the disease or to identify haematogenous spread of Echinococcus. A calcified cystic lesion consistent with hydatid cysts was found in the liver of case 1; however, results from the imaging techniques were within normal limits in case 2 and no other focus was detected. Albendazole was used after surgery,

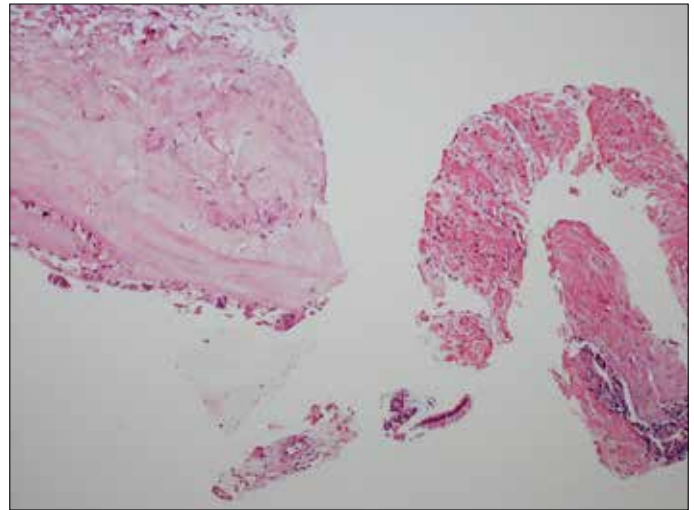


Figure 1. Trucut needle biopsy revealed prostatic tissues and isolated thick fibrous cyst wall fragments (H&E, x100)

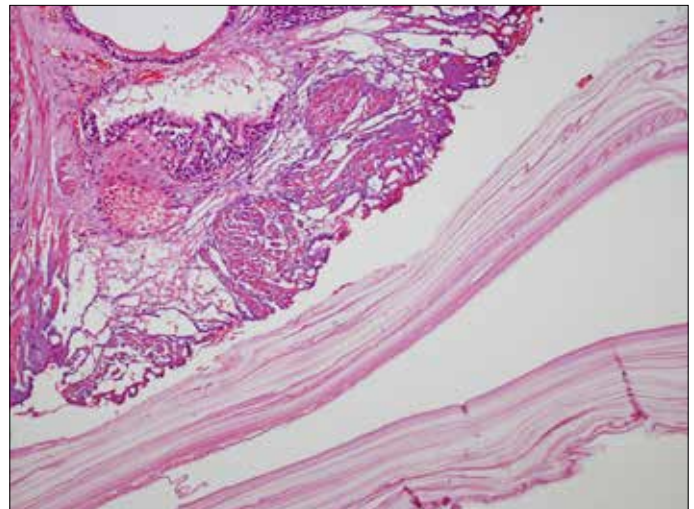


Figure 2. Transurethral resection specimen of the prostate; prostate tissue (left) and a cellular, lamellous cyst wall (right) (H&E, x100)

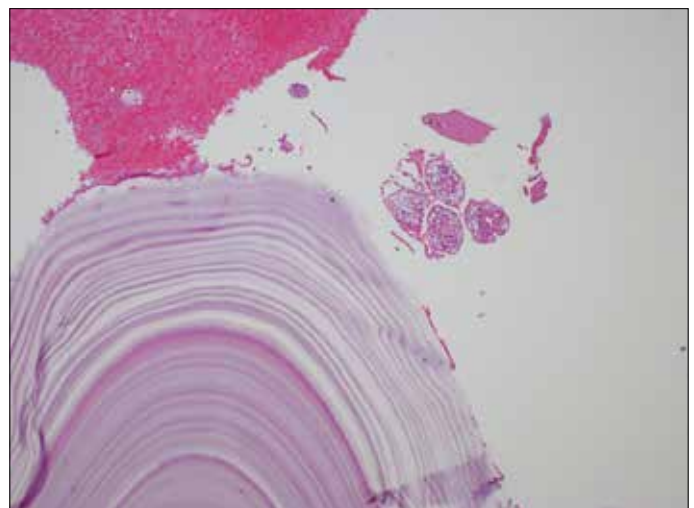
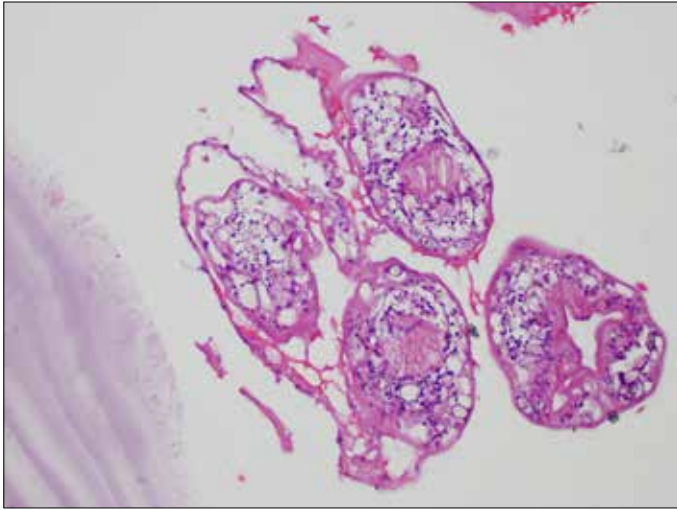


Figure 3. Cardiac cyst wall consists of a laminated chitinous membrane and few scolices (H&E, x100)





**Figure 4.** Scolices within the cyst (H&E,×200)

and there was no evidence of the hydatid disease at their post-operative 1 year follow-up.

## DISCUSSION

Echinococcal infection is caused by hydatid tapeworm, mostly *E. granulosus* (99%) (1). It is a common disease particularly in the Middle East, Greece, Australia, North Africa, and some parts of South America (2). It may occur at any age and most commonly involves the liver (50%-70%) followed by the lungs (11%-17%) (1, 2). Compared with the heart, prostatic or seminal vesicle hydatid cysts are less common (3, 4). Davies (5) referred to the history of cystic echinococcosis and related it to the time of Hippocrates, but probably the early cases related to the prostate were reported by Plaggmeyer and Cumming in 1922. Subsequently, more cases were reported that included the kidney, spleen, urinary bladder, bone, retrovesical, and spinal cysts (4, 6-9).

Clinical manifestations of hydatid disease were variable, and some of them were incidentally detected during radiologic investigations. Ultrasonography and computerized tomography (CT) cannot always reliably distinguish these lesions from other cystic lesions, such as congenital müllerian remnant cysts, retention cysts, and even cystic degeneration of prostatic hyperplasia. Differential diagnosis should include simple cysts, cystadenomas, and teratoma. Tumors and aneurysms of the heart should also be considered. Causes of diagnostic mistakes using CT include early disease stage, small cyst size, features of localization, and lack of daughter cysts. Cysts can be primary in these locations, but in published reports, they are mostly believed to have an origin from other usual locations (1). Serologic findings are about 90% sensitive for *E. granulosus*; however, false-positive results do occur. Definitive diagnosis is based on cyto-histologic findings; a meticulous search for acid-fast birefringent hooklets or laminated membrane is mandatory.

Cystic hydatid disease has generally been treated with surgical resection. The introduction of other interventional methods, such as percutaneous drainage, combined with albendazole therapy is an effective alternative treatment, particularly for hydatid cysts of the liver. Surgery with the pre- and post-operative administration of albendazole is the best treatment option (10).

## CONCLUSION

An awareness of the existence of these lesions even in endemic areas and a careful focus on key histologic characteristics will aid pathologists in appropriate diagnosis.

**Ethics Committee Approval:** Was not obtained.

**Informed Consent:** Was not obtained.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - Y.S., Ö.Y.; Design - Y.S.; Supervision - Ö.Y.; Funding - Y.S.; Ö.Y., E.K.; Materials - Y.S.; Ö.Y., E.K.; Data Collection and/or Processing - Y.S.; Ö.Y., E.K.; Analysis and/or Interpretation - Y.S.; Literature Review - Y.S., E.K.; Writer - Y.S., Critical Review - Ö.Y., E.K.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

**Etik Komite Onayı:** Alınmadı.

**Hasta Onamı:** Hastalar biyopsi alınırken dokularının arşivimizde saklandığını ve her türlü çalışma için parafin bloklarının kullanılacağını bildiklerinden dolayı, hasta onamı alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - Y.S., Ö.Y.; Tasarım - Y.S.; Denetleme - Ö.Y.; Kaynaklar - Y.S.; Ö.Y., E.K.; Malzemeler - Y.S., Ö.Y., E.K.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - Y.S., Ö.Y., E.K.; Analiz ve/veya Yorum - Y.S.; Literatür taraması - Y.S., E.K.; Yazıyı Yazan - Y.S.; Eleştirel İnceleme - Ö.Y., E.K.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

## REFERENCES

- Desmet VJ, Rosai J. Liver; Echinococcuscyst (hydatidcyst). Rosai J, editor. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 10th ed. New York: Elsevier Mosby; 2011. p. 915-6.
- Washington K. Masses of the liver; Cystic masses. Mills SE, editor. Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology, 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2015. p. 1708-9.
- Ipek G, Omeroglu SN, Goksedef D, Balkanay OO, Kanbur E, Engin E, et al. Large cardiac hydatid cyst in the interventricular septum. Tex Heart Inst J 2011; 38: 719-22.
- Izol V, Eken A, Aridogan IA, Koltas S, Tansug Z. Acute urinary retention due to cystic echinococcosis: A case report. Can Urol Assoc J 2012; 6: 192-4. [CrossRef]
- Davies JA. Echinococcal cyst arising from the prostate. Can Med Assoc J 1946; 54: 268-71.
- Bostwick DG. Seminal vesicles; Congenital and acquired malformations: Cysts. Bostwick DG, Cheng L, editors. Urologic Surgical Pathology, 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. p. 535-6.
- Ercil H, Gurlen G, Sener NC. A rare cause of lower urinary tract symptoms: retrovesical hydatid cyst. JPMA 2014; 64: 1087-9.
- Dođanavşargil B, Ayhan E, Argin M, Pehlivanoglu B, Keçeci B, Sezak M, ve ark. Cystic bone lesions: Histopathologic spectrum and diagnostic challenges. Turkish J Pathol 2015; 31: 95-103.
- Çakıcı M, Çetin M, Süner A, Polat M. Isolated multiple invasive cardiac hydatid cyst. CausaPedia 2013; 2: 245.
- Gavara CG, Lopez-Andujar R, Ibanez TB, Angel JMR, Herraiz AM, Castellanos FO, et al. Review of the treatment of liver hydatid cysts. World J Gastroenterol 2015; 7: 21: 124-31. [CrossRef]

## Hydatid Cyst Presenting with Mass That Localized in the Cruris Region

Kruris Bölgesine Lokalize Kitle İle Prezente Olan Kist Hidatik

Fatih Bağcıer<sup>1</sup>, Osman Onaç<sup>2</sup>, Meltem Alkan Melikoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

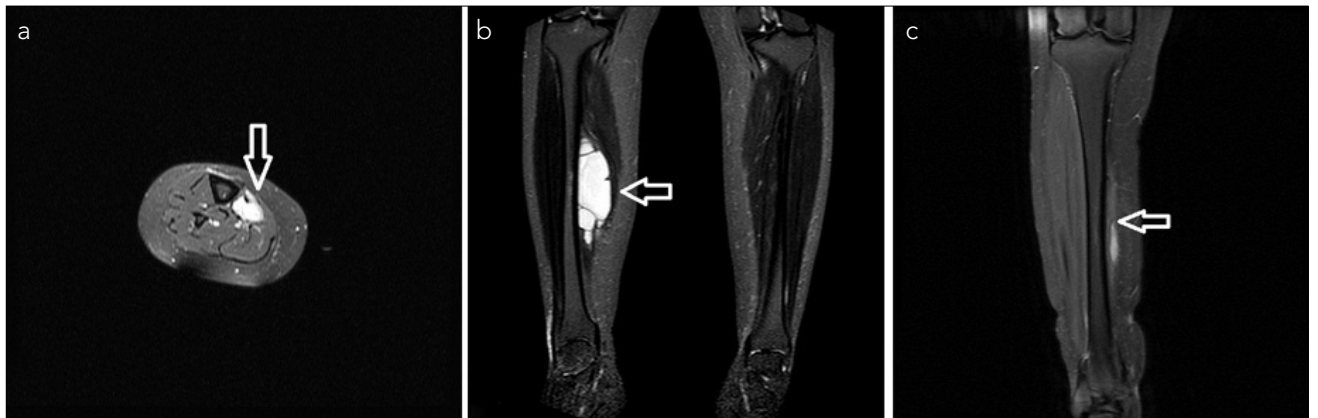
<sup>2</sup>Metin Sabancı Baltalımanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

To the Editor:

A 40-year-old male was referred to our hospital with a slowly growing mass that localized in his right cruris under the knee. He had moderate pain without any daily distraction. His history was not relevant with trauma or septic disease. He did not have pain localized in the abdomen and chest. A physical examination revealed a 5×4 cm fixed, firm, and tender mass in the anteromedial and middle parts of the right cruris. There was no ecchymosis, erythema, increased warmth, or lymphadenopathy. Laboratory tests were normal and showed a total leukocyte count of 4000/mm<sup>3</sup>, erythrocyte sedimentation rate of 25 mm/h, and C-reactive protein level of 1.2mg/dl. An ultrasound examination was first performed, and it showed multiple cystic lesions in the muscle localized in the gastrocnemius. Magnetic resonance imaging (MRI) was performed for further imaging. MRI showed

an oval cystic mass of approximately 50×30 mm in the gastrocnemius muscle, containing round daughter cysts (Figure 1). The cysts seen hypointense in T1 A-weighted images and hyperintense in T2 A-weighted images. Because the magnetic resonance images were suggestive of a hydatid cyst, further laboratory and imaging studies were employed to support the diagnosis and detect other sites of possible involvement. There was no other involvement of the hydatid cyst. There was a positive response to the indirect hemagglutination test for hydatid disease. The mass was operated. Albendazole therapy, 200 mg twice daily, was given for six weeks after the operation. Clinical, radiological, and serological tests showed no recurrence after the therapy.

Hydatid disease is a zoonotic infection caused by *Echinococcus granulosus*. *E. granulosus* frequently causes pulmonary and liver infection. Soft tissue hydatid disease is



**Figure 1. a-c.** a. Axial fat-suppressed T2-weighted image, b. Coronal fat-suppressed T2-weighted image oval cystic mass of approximately 50×30 mm in the gastrocnemius muscle, containing round daughter cysts, c. Coronal fat-suppressed T2-weighted image

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Fatih Bağcıer E.mail: bagcier\_42@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4388

©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org)

©Telif hakkı 2016 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine [www.tparazitolog.org](http://www.tparazitolog.org) web sayfasından ulaşılabilir.

unusual even in endemic areas, and skeletal muscle involvement is extremely rare, with a reported prevalence of 0.5-4.7% (1). Although there are many reports on intramuscular hydatid cysts, there are only a few in children (2). The diagnosis of musculoskeletal hydatid cysts is clinically and radiologically difficult. It resembles a soft tissue tumor. Ultrasonography, computed tomography, and MRI have a valuable role in the radiological diagnosis and follow-up of hydatid disease (3). A double-layered wall, daughter cysts, and the water lily sign are specific findings (4). We do not recommend routine biopsy. Surgery is most effective for treating hydatid cysts. Surgical resection and medical therapy are the preferred treatments for isolated echinococcosis. Hydatid cysts should be kept in mind when observing the soft tissue mass of the extremities in patients from areas endemic to *E. granulosus*.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received.

**Informed Consent:** The informed consent was received.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - F.B.; Design - O.O.; Supervision - F.B.; Funding - F.B.; Materials - F.B.; Data Collection and/or Processing - M.A.M.; Analysis and/or Interpretation - M.A.M.; Literature Review - M.A.M.; Writer - M.A.M.; Critical Review - M.A.M.

**Conflict of Interest:** Fatih Bağcıer.

**Financial Disclosure:** None.

**Etik Komite Onayı:** Etik komite onayı alındı.

**Hasta Onamı:** Hasta onamı alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - F.B.; Tasarım - O.O.; Denetleme - F.B.; Kaynaklar - F.B.; Malzemeler - F.B.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - M.A.M.; Analiz ve/veya Yorum - M.A.M.; Literatür Taraması - M.A.M.; Yazıyı Yazan - M.A.M.; Eleştirel İnceleme - M.A.M.

**Çıkar Çatışması:** Fatih Bağcıer.

**Finansal Destek:** Yok.

## REFERENCES

1. Dahniya M.H., Hanna R.M., Ashebu S., Muhtaseb S.A., el-Beltagi A., Badr S., et al. The imaging appearances of hydatid disease at some unusual sites. *Br J Radiol* 2001; 74: 283-9. [\[CrossRef\]](#)
2. Dudkiewicz I., Salai M., Apter S. Hydatid cyst presenting as a soft-tissue thigh mass in a child. *Arch Orthop Trauma Surg* 1999; 119: 474-5. [\[CrossRef\]](#)
3. Guthrie J.A., Lawton J.O., Chalmers A.G. Case report: The MR appearances of primary intramuscular hydatid disease. *Clin Radiol* 1996; 51: 377-9. [\[CrossRef\]](#)
4. Garcia-Diez A.I., Ros Mendoza L.H., Villacampa V.M., Cozar M., Fuertes M.I. MR1 evaluation of soft tissue hydatid disease. *Eur Radiol* 2000; 462-6. [\[CrossRef\]](#)