



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## Özgün Araştırmalar / Original Investigations

Köpeklerde Leishmaniasis Seroprevalansı

Kuzey Kıbrıs'ta Canine Leishmaniasis

Tayfun Çanakçı et al.; Ankara, Aydın, İzmir, Türkiye

*L. infantum* LACK Geninin Klonlanması

Cloning of LACK Gene of *L. infantum*

Serkan Karaca ve ark.; Kayseri, Türkiye

Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Sıtma Tanısı

Diagnosis of Malaria by Real-Time Polymerase Chain Reaction

Esra Atalay Şahar ve ark.; İzmir, Diyarbakır, Türkiye

*Acanthamoeba* Genotypes in Sistan Region

Sistan Bölgesinde *Acanthamoeba* Genotipler

Ali Aghajani et al.; Kashan, Zabol, Iran

Dışkı Örneklerinde Parazitlerin Dağılımı

Distribution of Parasites in Stool Samples

Mehmet Burak Selek ve ark.; İstanbul, Türkiye

Mineral Levels and Parasite Load in Goats

Keçilerde Parazit Yükü ve Serum Mineral Düzeyleri

Serap Ünübol Aypak ve ark.; Aydın, Turkey

Erzurum'da Atların Dışkı Parazitleri

Fecal Parasites of Horses in Erzurum

Hamza Avcıoğlu ve ark.; Erzurum, Turkey

## Derlemeler / Review

The Status of Ticks in Turkey

Türkiye'de Kenelerin Durumu

Abdullah İnci et al.; Kayseri, Türkiye

Netosis

Netosis

Kader Yıldız; Kırıkkale, Türkiye

Citation Abbreviation: Türkiye Parazitol Derg

Cilt / Volume: 40 Sayı / Issue: 3 Eylül / September 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  
Dişad GÜNEY ÖZCAN

Publication Coordinators  
Esra GÖRGÜLÜ  
Betül ÇİMEN  
Zeynep YAKIŞIRER  
Aydın Baran GÜRPINAR

Gizem KAYAN  
Melike Buse ŞENAY

Project Coordinator  
Hakan ERTEN

Project Assistants  
Duygunur CAN  
Aylin ATALAY  
Şükriye YILMAZ

Graphics Department  
Neslihan YAMAN  
Ünal ÖZER  
Deniz DURAN

**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, School of Medicine,  
Celal Bayar University, Manisa, Turkey*

## Songül Delibaş

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

## Mert Döşkaya

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

## Özgür Koru

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, School of  
Medicine, Acıbadem Üniversitesi, İstanbul, Turkey*

## Veteriner Parazitoloji / Veterinary Parasitology

### Ahmet Dođanay

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

### Bayram Şenlik

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

## Sami Şimşek

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

## Tülin Karagenc

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji  
Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye  
*Department of Parasitology, School 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, School of Health Sciences,  
Marmara University, İstanbul Turkey*

## Veli Yılgör Çırak

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

## Atila Akça

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim  
Dalı, Kars, Türkiye  
*Department of Parasitology, School 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  
School 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  
Medicine, 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, Istanbul, 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, Izmir, 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, Istanbul University, Istanbul, Turkey*

### Ayşe Caner

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

### Aytül Önal

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

### Bahadır Gönenc

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, Izmir, 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  
*Nigde 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, Istanbul University, Istanbul, Turkey*

### Çağrı Büke

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

## Esma 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*

## Gülşay 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 Yelili

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

*Nigde 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 Yılğör 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  
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  
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 ayni 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'ya 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, Mascao 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

2016 yılı üçüncü sayısını 7 orijinal araştırma makalesi ile birbirinden farklı 5 olgu sunumu ve 2 derleme olmak üzere 14 makale ile çıkarmaktayız.

Bu sayımızda, Kuzey Kıbrıs'ta kanin *leishmaniasis* dağılımının incelendiği bir makale ile yine *Leishmania* parazitinin DNA aşısı adayı olabilecek geninin klonlanması ile detaylı veri içeren bir makale ile farklı sıtma parazitlerinin gerçek zamanlı PZR ile tür tayini konusunda önemli bir makale bulunmaktadır. Veteriner parazitoloji alanında ise keçilerde ve atlarda tespit edilen intestinal parazitler konusunda iki çalışma yer almaktadır. İran'da yapılan ve serbest yaşayan amiplerden *Acanthamoeba* hakkında ülkemizde yapılanlarla kıyaslanabilecek bir makaleye de bu sayıda yer verilmiştir. Olgu sunumları da her zaman olduğu gibi farklı konulardan seçilmiş olup, yeni verileri içermektedir.

Ayrıca ülkemizde kene türlerini derleyip anlatan bir derleme ile bağışıklık sistemimizin çok bilinmeyen bir silahını anlatan ikinci bir derleme de bu sayımızda yayınlanmaktadır. Her iki derleme de araştırmacılarımıza yardımcı olacak nitelikte olup oldukça yararlı bilgileri bir arada sunmaktadır.

Makalelerin sisteme yüklenmesi sırasında, makale materyalleri ile birlikte yüklenmesi gereken formlarla ilgili olarak sıkıntılar yaşandığı görülmektedir. Bu formların tamamı dergimizin web sayfasında "Yazım Kuralları" sekmesinde yer almaktadır. Makale yüklenirken bu formlarında eksiksiz olarak yüklenmesi makalenin işlem sürecini kısaltacağından bu konuya dikkat edilmesini belirtmek isterim.

SCI/SCI-Expanded kapsamında olan dergilerde yapacağınız yayınlarda dergimizde yer alan makalelere atıf yapılmasının, dergimizin bu endekse başvuru sürecinde büyük önem taşıdığını yeniden belirtmek isterim. 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 third issue of 2016 with a total of 14 articles including 7 original research articles, 5 case reports different from each other, and 2 reviews.

In this issue, there is an article investigating the distribution of canine leishmaniasis in the Northern Cyprus and another article presenting detailed data on cloning the gene that can be a candidate for DNA vaccine for *leishmania* parasite. Moreover, this issue includes an important study about determining the type of different malarial parasites through real-time PCR. Regarding to veterinary parasitology, there are two studies about intestinal parasites found in goats and horses. In addition, an article on free-living *Acanthamoeba*, which was conducted in Iran and which can be compared to the studies performed in our country, is included in this issue. Case reports have been chosen among the ones on different subjects as it always has been and present new knowledge.

Furthermore, this issue includes two reviews: one is about the types of ticks in our country and the other is about a weapon of the immune system that is not well known. Both reviews will help our researchers by presenting highly beneficial information.

While loading the articles on the system, some problems related to the forms that must be submitted with the article materials are encountered. All of these forms can be reached in the tab of "Instructions for Authors" on the website of our journal. I would like to draw attention to this point because complete submission of these forms while loading an article will shorten the process.

I would like to re-emphasize that making citations from the articles in our journal for the studies that will be published in the journals included in the SCI/SCI-Expanded is very important during the application process of our journal to this index. I present you my respect 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.

**Prof. Yusuf Özbel**  
Chief Editor



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

### ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / ORIGINAL INVESTIGATIONS

- 117 **Seroprevalence of Canine Leishmaniasis in Northern Cyprus**  
*Kuzey Kıbrıs'ta Canine Leishmaniasis'in Prevalansı*  
Tayfun Çanakçı, Arif Kurtdede, Serdar Paşa, Seray Töz Özensoy, Yusuf Özbel
- 121 **Leishmania infantum DNA Aşısı Adayı LACK Geninin Klonlanması**  
*Cloning of the DNA Vaccine Candidate LACK Gene of Leishmania infantum*  
Serkan Karaca, Şirin Sahra Ceylan, Süleyman Yazar, Salih Kuk
- 126 **Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Pozitif Sıtma Örneklerinin Tanısı ve Tür Ayırımı**  
*Diagnosis and Species Discrimination of Positive Malaria Samples by Real-Time Polymerase Chain Reaction*  
Esra Atalay Şahar, Muhammet Karakavuk, Hüseyin Can, Şebnem Nergiz, Kadri Gül, Aysu Değirmenci Döşkaya, Yüksel Gürüz, Mert Döşkaya
- 132 **Identification of Acanthamoeba Genotypes in Pools and Stagnant Water in Ponds in Sistan Region in Southeast Iran**  
*İran'ın Güneybatısında Yer Alan Sistan Bölgesinde Havuzlarda ve Durgun Su Birikintilerinde Acanthamoeba Genotiplerinin Belirlenmesi*  
Ali Aghajani, Mansour Dabirzadeh, Yahya Maroufi, Hossein Hooshyar
- 137 **2012-2014 Yılları Arasındaki Üç Yıllık Dönemde Hastanemiz Parazitoloji Laboratuvarına Kabul Edilen Dışkı Örneklerinde Saptanan Parazitlerin Dağılımı**  
*Distribution of Parasites Detected in Stool Samples of Patients Admitted to Our Parasitology Laboratory during a Three-Year Period between 2012 and 2014*  
Mehmet Burak Selek, Bayhan Bektöre, Ergenekon Karagöz, Orhan Baylan, Mustafa Özyurt
- 141 **Comparative Analysis of Serum Mineral Levels and Parasite Load in Goats Naturally Infected with Gastrointestinal Nematodes**  
*Gastrointestinal Nematodlar ile Doğal Enfekte Keçilerde Parazit Yüğü ile Serum Mineral Düzeylerinin Karşılaştırmalı Analizi*  
Serap Ünübol Aypak, Süleyman Aypak, Hüseyin Voyvoda, Gülşen Güven, Evrim Dereli Fidan, Gamze Tosun, Mehmet Gültekin, Emrah Şimşek, Asude Gülçe Güler
- 147 **Erzurum İli'nde Yetiştirilen Atlarda Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitler**  
*Parasites Determined by Fecal Examination in Horses in Erzurum*  
Hamza Avcıoğlu, Esin Güven, İbrahim Balkaya, Şevki Yavuz, Uğur Abay, Muzaffer Akyüz, Ömer Eltas

### DERLEMELER / REVIEWS

- 152 **The Current Status of Ticks in Turkey: A 100-Year Period Review from 1916 to 2016**  
*Türkiye'de Kenelerin Mevcut Durumu: 1916-2016 Yılları Arasındaki Yüzyıllık Periyoda Dayanan Bir Derleme*  
Abdullah İnci, Alparslan Yıldırım, Önder Düzlü



# Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

- 
- 158 **Netosis: Nötrofilin Patojenle Savaşta Kullandığı Alternatif Savunma Yöntemi**  
*Netosis: Alternative Defense Method Used by Neutrophils to Fight Pathogen*  
Kader Yıldız

### OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- 
- 163 **İndirekt Floresan Antikor Test İle Tanı Konan *Leishmania* Enfeksiyonuna Bağlı Hemofagositik Sendrom**  
*Hemophagocytic Syndrome due to Leishmania Infection Diagnosed With Immunofluorescence Antibody Test*  
Hakan Sarbay, Yasemin Işık Balcı, Selin Güler, Meral Türk, Mehmet Akın, Aziz Polat
- 
- 166 **Van Yöresinde Fırsatçı Bir Protozoon Olan *Cyclospora cayetanensis*: Yedi Vaka Sunumu**  
*Cyclospora cayetanensis, Opportunistic Protozoan Parasite, in Van Province, Turkey: A Report of Seven Cases*  
Zeynep Taş Cengiz, Yunus Emre Beyhan, Hasan Yılmaz
- 
- 169 **Cerebral Alveolar Echinococcosis Concomitant with Liver and Lung Masses in a Young Adult Patient: Case Report and Literature Review**  
*Genç Yetişkinde Karaciğer ve Akciğer Kitlelerinin Eşlik Ettiği Serebral Alveolar Ekinokokkoz: Olgu Sunumu ve Literatürün Gözden Geçirilmesi*  
Osman Ersegun Batçık, Ahmet Öğrenci, Orkun Koban, Murat Şakir Ekşi, Turgay Bilge
- 
- 172 **Postoperative Wound Myiasis Caused by *Sarcophaga carnaria***  
*Sarcophaga carnaria'nın Neden Olduğu Postoperatif Yara Myiasisi*  
Sefa Ergün, Ozan Akıncı, Serhat Sirekbasan, Ahmet Kocael
- 
- 176 ***Sarcophaga*'nın Neden Olduğu İki Orta Kulak Miyazı Olgusu**  
*Two Cases of Myiasis of Middle Ear Caused by Sarcophaga*  
Erdal Polat, Serhat Sirekbasan, Hakkı Caner İnan



# Seroprevalence of Canine Leishmaniasis in Northern Cyprus

## Kuzey Kıbrıs'ta Canine Leishmaniasis'in Prevalansı

Tayfun Çanakçı<sup>1</sup>, Arif Kurtdede<sup>2</sup>, Serdar Paşa<sup>3</sup>, Seray Töz Özensoy<sup>4</sup>, Yusuf Özbel<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Clinic of PetZone, Nicosia, Northern Cyprus

<sup>2</sup>Division of Clinical Sciences, Department of Internal Diseases, Ankara University School of Veterinary, Ankara, Turkey

<sup>3</sup>Division of Clinical Sciences, Department of Internal Diseases, Adnan Menderes University School of Veterinary, Aydın, Turkey

<sup>4</sup>Department of Parasitology, Ege University School of Medicine, İzmir, Turkey

### ABSTRACT

**Objective:** Canine leishmaniasis (CanL) is an important public and veterinary health problem in Mediterranean Basin countries. In this study, we aimed to determine the seroprevalence of CanL in several provinces of Northern Cyprus.

**Methods:** The seroprevalence of CanL was determined by the indirect fluorescent antibody (IFA) test in dog sera. In total, 281 dogs were randomly selected from Nicosia (n=80), Trikomo (n=58), Famagusta (n=60), Morphou (n=30), and Kyrenia (n=53), consistent with a statistically representative number of the regional dog population.

**Results:** Ten (3.55%) out of 281 dogs were found to be seropositive by the IFA test. CanL seropositivity differed between cities as follows: 1.72% (1/58) in Trikomo, 13.20% (7/53) in Kyrenia, 1.67% (1/60) in Famagusta, and 3.33% (1/30) in Morphou. No seropositive dog was found in Nicosia. The symptoms in 37 out of 281 dogs were generalized lymphadenopathy, weight loss, alopecia, exfoliative dermatitis, and epistaxis. Four out of 10 seropositive dogs showed at least one clinical symptom that could be related with CanL.

**Conclusion:** CanL seroprevalence was found to be 3.55% (10/281) in Northern Cyprus. Seropositive dogs, in particular, had lived in areas that exhibited rural as well as urban characteristics.

**Keywords:** Canine leishmaniasis, IFA test, seroprevalence, Northern Cyprus

**Received:** 18.04.2016

**Accepted:** 22.07.2016

### ÖZ

**Amaç:** Canine leishmaniasis (CanL) Akdeniz havzasındaki ülkelerde önemli bir halk sağlığı ve veteriner sağlığı sorunudur. Bu çalışmada, Kuzey Kıbrıs'ın çeşitli illerinde CanL'in seroprevalansının belirlenmesi amaçlandı.

**Yöntemler:** CanL'nin prevalansı köpek serumlarında İndirekt Floresant Antikor (IFA) testi ile belirlendi. Çalışmada, istatistiksel temsil olarak her bölgedeki toplam köpek sayısı ile uyumlu olmak üzere Lefkoşa (n=80), İskele (n=58), Gazimağusa (n=60), Güzelyurt (n=30) and Girne (n=53) şehirlerinden toplam 281 köpek rastgele seçildi.

**Sonuçlar:** IFA testi uygulanan 281 köpekten 10'unda (3,55%) seropozitiflik saptandı. CanL enfeksiyonuna karşı seropozitiflik oranı şehirler arasında farklılık gösterdi. Seropozitiflik İskele'de %1,72 (1/58), Girne'de %13,20 (7/53), Gazimağusa'da %1,67 (1/60) ve Güzelyurt'da %3,33 (1/30) olarak belirlenirken Lefkoşa'da seropozitiflik saptanmadı. Çalışmadaki köpeklerden 37'sinde generalize lenfadenopati, ağırlık kaybı, alopesi, eksfoliyatif dermatit ve burun kanaması belirlendi. Seropozitiflik saptanan 10 köpeğin 4'ünde CanL ile ilişkili klinik semptomlardan en az birinin var olduğu dikkati çekti.

**Sonuç:** Kuzey Kıbrıs'ta CanL seroprevalansı %3,55 (10/281) olarak bulundu. Seropozitifliğin saptandığı 10 köpek kırsal ve kentsel özellikleri birlikte gösteren yörelerde yaşamaktaydı.

**Anahtar kelimeler:** Canine Leishmaniasis, IFAT, Kuzey Kıbrıs, seroprevalans

**Geliş Tarihi:** 18.04.2016

**Kabul Tarihi:** 22.07.2016

### INTRODUCTION

Leishmaniasis is a group of parasitic diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania* in mammals. It leads to the development of various pathologies and clinical signs (1-3). Although leishmaniasis is found in many countries in

the Mediterranean Basin (4), there are limited data on the prevalence and distribution of the disease and its impact on public health in Cyprus (5).

Foxes and dogs are the main natural reservoirs for several species of *Leishmania* spp. (6). The emergence of the dis-

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Serdar Paşa E.mail: pasaserdar@yahoo.co.uk

DOI: 10.5152/tpd.2016.4807

©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.

ease in the domestic dog population has become a problem in terms of human health (4, 7-9).

In a sero-epidemiological study conducted in southern Cyprus in 1996, anti-*Leishmania* antibodies were detected in dogs, and the parasite was defined as *L. infantum* zymodem MON 1 (5).

In Mediterranean countries, different from the new world, serological tests form the basis of epidemiological studies on the prevalence of canine leishmaniasis (CanL) (10). The prevalence of CanL differs between countries of the Mediterranean Basin (4). In a two-step study covering Southern Cyprus, the seroprevalence of CanL was found to be 1.7%. A second study was conducted in residential areas intensively inhabited by CanL-seropositive dogs, and the seropositivity for CanL was found to be 10% (5). For the diagnosis of CanL, parasitological, serological, and molecular methods have been used (11).

In this study conducted in Northern Cyprus, we aimed to determine the seroprevalence of CanL using the indirect fluorescent antibody (IFA) test.

## METHODS

This study was conducted between March and June 2007. The numbers of dogs that statistically represent each province were detected, and 281 blood samples were collected from randomly selected dogs of different breeds and genders who were aged from 7 months to 12 years and were living in the cities of Nicosia, Famagusta, Trikomo, Kyrenia, and Morphou, located in Northern Cyprus. The dogs chosen for this study were mainly (98.93%) living outdoors.

Physical examination was performed for each dog, and signs, if any, were noted. In total, 5 mL of venous blood was collected from each dog by brachial vein puncture. The samples were stored at +4°C. Within 5 hours, the samples were centrifuged and sera were stored at -20°C until use.

The antigen was prepared using the *L. infantum* MON 1 strain for the IFA test, and the test was performed as described previously. A twofold serial dilution (1:16 to 1:8192) of dog sera in PBS was used. A titer of  $31:128$  was considered positive for CanL (12, 13).

### Statistical analysis

Descriptive statistical analyses were performed with SPSS 15.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) packet program and the results were tabulated in Table 1. This study followed the ethical guidelines of animal subjects based on the Declaration of Helsinki.

## RESULTS

In this study, the overall seroprevalence of CanL in Northern Cyprus was found to be 3.55% (10/281). The seroprevalence values differed in each city. Kyrenia showed the highest prevalence (13.20%, 7/53), followed by Morphou (3.33%, 1/30), Trikomo (1.72%, 1/58), and Famagusta (1.67%, 1/60). The seroprevalence of CanL according to cities and IFA test dilutions is shown in Table 1.

During clinical examination, 37 out of 281 dogs showed clinical signs such as lymphadenopathy, weight loss, alopecia, exfoliative dermatitis, and epistaxis that could be associated with CanL.

**Table 1.** Distribution of CanL-seropositive dogs according to provinces

Provinces	Coordinates	The number of sampled dogs	Seropositive dogs	
			n	%
Kyrenia	35.338892 33.318705	53	7	13.2
Morphou	35.198544 32.993746	30	1	3.3
Trikomo	35.286201 33.892428	58	1	1.72
Famagusta	35.119157 33.932905	60	1	1.67
Nicosia	35.201445; 33.351456	80	0	0
TOTAL		281	10	3.55

Seropositivity was 10.81% (4/37) in dogs that had one or more clinical symptoms and 2.45% (6/244) in dogs that had no clinical symptoms.

## DISCUSSION

Intense transmission of leishmaniasis by infected sand flies, from dog to dog or from dog to human, occurs in places where the *Leishmania* infection rate is very high in dogs (14). CanL is constantly seen in the entire Mediterranean Coast of Southern European countries, Bosnia and Herzegovina, Croatia, Malta, and Cyprus (15).

In European countries where CanL is endemic, the IFA test was used in 23 of 43 seroprevalence studies, conducted on between 1988 and 1999. The IFA test is considered as the "gold standard" for the serological diagnosis of CanL (10). Although CanL is endemic in countries bordering the Mediterranean Sea, the prevalence of the disease differs between countries and among regions within the same country (4). The prevalence of CanL in different regions of France has been reported to vary between 3.2% and 26.5%. The overall disease prevalence in Greece is 6.8%; it has been determined that this ratio rises to 48.4% in Athens. The prevalence of CanL has been reported to range from 1.4% to 22.2% in Italy and from 19.8% to 5.2% in Spain. The prevalence of CanL is 37.5% and 7% in Algeria and Egypt, respectively; it differs from 10%–21% in Israel and has been reported to be 30.9% in Malta (4, 16-17). The prevalence of CanL ranges from 1.6% to 28.26% in Turkey (18-21). In this study, the seroprevalence of CanL in five different cities was found to range from 1.7% to 13.2% and the overall seroprevalence was found to be 3.55%. These results are similar to those presented in seroprevalence studies previously conducted in countries bordering the Mediterranean Sea.

In this study, the seroprevalence was found to be 13.2% in Kyrenia, 1.72% in Trikomo, 1.67% in Famagusta, and 3.3% in Morphou; however, no seropositivity was observed among 80 samples collected from Nicosia. The rural characteristics of Kyrenia, Trikomo,

Famagusta, and Morphou regions lead to more frequent contact with the vector sand flies of leishmaniasis and dogs. This case explains the higher rates of seropositivity of CanL in these areas in Northern Cyprus. The urban characteristics and geographic features, spraying of insecticides by municipalities, and absence of possible disease vectors in Nicosia should be taken into consideration when discussing the lack of disease prevalence in the area. In a study conducted in Northern Cyprus, the prevalence of CanL among 83 dogs, mainly from Kyrenia and Nicosia provinces, was found to be 3.61% by IFAT (13). In the first phase of the study published in Southern Cyprus, the seroprevalence in randomly selected blood samples collected from 601 dogs was found to be 1.7%. In the second phase of this study, 301 blood samples were taken from residential areas intensively inhabited by CanL-seropositive dogs, and the seroprevalence of CanL in these regions was 10% (5). The present study conducted in Northern Cyprus is similar to the first phase of the study conducted in Southern Cyprus in terms of the method. Overall seroprevalence of CanL in Northern Cyprus was higher than the overall seroprevalence determined in Southern Cyprus. The geographical and demographic characteristics of Northern Cyprus are more suitable for the incidence of the disease than those of Southern Cyprus for the development of CanL. This case may explain the causes of the higher seroprevalence of CanL in Northern Cyprus. A large proportion of dogs with CanL do not show any clinical signs (10, 20, 22). Similar to those findings, in this study, only four out of 10 seropositive dogs (40%) showed one or more clinical symptoms that could be associated with CanL.

Serological analysis of samples showed that the seroprevalence of CanL is 3.55% in Northern Cyprus. CanL is more common in peridomestic areas in Northern Cyprus.

From a geographical point of view, the seroprevalence of CanL in the northern part of Five Finger Mountains is four to seven times higher than that in the southern part. Thus, while planning researches and making disease prevention programs, the geographical distribution of CanL in Northern Cyprus should be taken into consideration.

## CONCLUSION

The seroprevalence of CanL was found to be 3.55% (10/281) in Northern Cyprus.

Seropositive dogs, in particular, had lived in areas that exhibited rural as well as urban characteristics.

**Ethics Committee Approval:** Authors declared that the research was conducted according to the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013).

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

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

**Author Contributions:** Concept - A.K., T.Ç., S.P.; Design - T.Ç., A.K., S.P., S.T.Ö., Y.Ö.; Supervision - A.K.; Data Collection and/or Processing - T.Ç., S.T.Ö., Y.Ö.; Analysis and/or Interpretation - T.Ç., A.K., S.P., S.T.Ö., Y.Ö.; Literature Review - A.K., T.Ç., S.P.; Writing - T.Ç., A.K.; Critical Review - S.P., S.T.Ö., Y.Ö.

**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:** Yazarlar çalışmanın World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013) prensiplerine uygun olarak yapıldığını beyan etmişlerdir.

**Hasta Onamı:** Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

**Yazar Katkıları:** Fikir - A.K., T.Ç., S.P.; Tasarım - T.Ç., A.K., S.P., S.T.Ö., Y.Ö.; Denetleme - A.K.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - T.Ç., S.T.Ö., Y.Ö.; Analiz ve/veya Yorum - T.Ç., A.K., S.P., S.T.Ö., Y.Ö.; Literatür Taraması - A.K., T.Ç., S.P.; Yazıyı Yazan - T.Ç., A.K.; Eleştirel İnceleme - S.P., S.T.Ö., Y.Ö.

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

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

## REFERENCES

1. Kontos V. Zoonoses in the Mediterranean Area 2002. (cited 2006 June 6). Available from: URL: <http://www.vin.com>.
2. Toplu N, Aydoğan A. An immunohistochemical study in cases with usual and unusual clinicopathological findings of canine visceral leishmaniasis. *Parasitol Res* 2011; 109: 1051-7. [CrossRef]
3. Freitas JC, Lopes-Neto BE, Abreu CR, Coura-Vital W, Braga SL, Reis AB, Nunes-Pinheiro DC. Profile of anti-Leishmania antibodies related to clinical picture in canine visceral leishmaniasis. *Res Vet Sci* 2012; 93: 705-9. [CrossRef]
4. Dereure J, Pratlong F, Dedet JP. Geographical distribution and the identification of parasites causing canine leishmaniasis in the Mediterranean Basin. *Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum; Barcelona-Spain: 1999. p. 18-25.*
5. Deplazes P, Grimm F, Papaprodromou M, Cavaliero T, Gramiccia M, Christofi G, Christofi N, Economides P, Eckert J. Canine leishmaniasis in Cyprus due to *Leishmania infantum* MON 1. *Acta Trop* 1998; 71: 169-78. [CrossRef]
6. Hommel M. Visceral Leishmaniasis: Biology of Parasite. *Journal of Infection* 1999; 39: 101-11. [CrossRef]
7. Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Saridomichelakis MN, Argyriadis D, Fytianou A, Plevraki KG. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *J Am Anim Hosp Assoc* 1999; 35: 376-83. [CrossRef]
8. Straus-Ayali D, Baneth G. Canine visceral leishmaniasis. Recent advances in canine infectious diseases. *International Veterinary Information Service 2001* (cited 2006 April 21). Available from: URL: <http://www.ivis.org>.
9. Pennisi MG. A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. *Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum; Sevilla,-Spain: 2002. p. 39-48.*
10. Gradoni L. The diagnosis of canine leishmaniasis. *Canine Leishmaniasis: moving towards a solution. Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum; Sevilla-Spain: 2002. p. 7-14.*
11. Ferrer LM. Clinical aspects of canine leishmaniasis, *Canine Leishmaniasis: an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum; Barcelona-Spain: 1999. p. 6-11.*
12. Abranches P, Silva-Pereria MC, Conceicao-Silva FM, Santos-Gomes GM, Janz JG. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *Journal of Parasitology* 1991; 77: 557-61. [CrossRef]

13. Özensoy Töz S, Ertabaklar H, Göçmen B, Demir S, Karakuş M, Arserim SK, Balçioğlu İC, Çanakçı T, Özbek Y. An epidemiological study on canine leishmaniasis and sand flies in Northern Cyprus. *Türkiye Parazit Derg* 2013; 37: 107-12.
14. Vercammen F, Berkvens D, Le Ray D, Jacquet D, Vervoort T. Development of a slide ELISA for canine leishmaniasis and comparison with four serological tests. *Vet Record* 1997; 141: 328-30. [\[CrossRef\]](#)
15. Ciaramella P, Oliva G, Luna RD, Gradoni L, Ambrosio R, Cortese L, Scalone A, Persechino A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Record* 1997; 141: 539-43. [\[CrossRef\]](#)
16. Gradoni L. Epizootiology of canine leishmaniasis in southern Europe. *Canine Leishmaniasis: an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum; Barcelona- Spain: 1999. p. 32-39.*
17. Baneth G, Dank G, Keren-Kornblatt E, Sekeles E, Adini I, Eisenberger CL, et al. Emergence of visceral leishmaniasis in central Israel. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 722-55.
18. Özbek Y, Turgay N, Özensoy S, Özbilgin A, Alkan MZ, Özcel MA, et al. Epidemiology, diagnosis and control of leishmaniasis in the Mediterranean region. *Ann Trop Med Parasitol* 1995; 89: 89-93. [\[CrossRef\]](#)
19. Coşkun Ş, Batmaz H, Aydın L, Yılmaz F. Seroprevalance of *Leishmania infantum* infection of dogs in the western part of Turkey. *Türkiye Parazit Derg* 1997; 21: 287-91.
20. Voyvoda H, Paşa S, Özensoy TS, Özbek Y, Ertabaklar H. Aydın'ın bazı ilçe ve köyleri ile İzmir'in Selçuk ilçesindeki köpeklerde *Leishmania* ve *Drofilariasis*'in prevalansı. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28: 1105-11.
21. Ertabaklar H, Özensoy TS, Taylan OA, Rastgeldi S, Balçioğlu İC, Özbek Y. Serological and entomological survey in a zoonotic visceral leishmaniasis focus of North Central Anatolia, Turkey, Çorum province. *Acta Trop* 2005; 25: 128-31. [\[CrossRef\]](#)
22. Özensoy ST, Özbek Y, Ertabaklar H, Yıldızlı N, Korkmaz M, Alkan MZ. Comparisons of clinical findings and serological data in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 269-73.



# *Leishmania infantum* DNA Aşısı Adayı LACK Geninin Klonlanması

## Cloning of the DNA Vaccine Candidate LACK Gene of *Leishmania infantum*

Serkan Karaca, Şirin Sahra Ceylan, Süleyman Yazar, Salih Kuk

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

### ÖZ

**Amaç:** Hücre içi zorunlu parazitlerden *Leishmania* cinsi protozoonların neden olduğu leishmaniasis, Dünya Sağlık Örgütü'nün önemli tropikal hastalıklar listesinde yer almaktadır. Leishmaniasis tedavisinde rutin olarak kullanılan bileşiklerin yüksek maliyetleri, toksisite ve yan etkilerinin fazla olması nedeniyle alternatif tedavi ve aşı araştırmaları devam etmektedir. Henüz efektif bir aşı geliştirilememiştir. Bu çalışmada, *Leishmania infantum*'a karşı en umut verici adaylar arasında yer alan homolog aktive edilmiş C kinaz reseptör (LACK) geninin klonlanması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Çalışmada, *L. infantum* promastigot kültüründen genomik DNA izolasyonu, spesifik primerlerle LACK geninin eldesi, LACK geninin pJET1.2 plazmidine klonlama reaksiyonu ile yerleştirilmesi ve rekombinant plazmidin kompetan hücrelere transformasyonu yapılmıştır. Rekombinant plazmidin varlığı PCR tarama ile araştırılmıştır. Pozitif kolonilerden miniprep yapıldıktan sonra klonlama; PCR, restriksiyon enzim deneyleri ve DNA dizi analizi yöntemleri ile doğrulanmıştır.

**Bulgular:** LACK geneine spesifik primerler kullanılarak yapılan PCR sonrasında 939 baz çiftlik PCR ürünü görüntülenmiştir. E.coli kompetan hücrelerine transforme edilen rekombinant plazmid PCR-tarama ile gösterilmiştir. Rekombinant plazmidin klonlanan geni içerdiği PCR ile gösterilmiştir. DNA dizi analizi yapılarak, klonlanan genin DNA dizisi elde edilmiştir.

**Sonuç:** Leishmaniasise karşı en umut verici DNA aşı adaylarından olan ve *L. infantum* promastigotlarından izole edilen LACK geni klonlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Leishmaniasis, *Leishmania infantum*, LACK geni, DNA aşısı, klonlama

**Geliş Tarihi:** 22.06.2016

**Kabul Tarihi:** 23.06.2016

### ABSTRACT

**Objective:** Leishmaniasis is caused by an obligate intracellular protozoa belonging to *Leishmania* genus and listed among major tropical diseases by WHO. Because of the high costs, toxicity, and adverse effects of routinely used compounds in the treatment, alternative treatment and vaccine studies are underway. An effective vaccine has not been developed to date. In this study, we aimed to clone one of the most promising DNA vaccine candidates: the homolog-activated C kinase (LACK) gene of *Leishmania infantum*.

**Methods:** *L. infantum* genomic DNA was isolated from promastigote culture. The LACK gene was placed into plasmid pJET1.2. Then, recombinant plasmids were transformed into competent cells. The presence of recombinant plasmids was determined by PCR screening. Cloning was confirmed by PCR, restriction enzyme assays, and finally, DNA sequence analysis, after making miniprep from positive colonies.

**Results:** After performing PCR with LACK-gene specific primers, 939-bp PCR products were observed. Recombinant plasmids, which were transformed into competent *Escherichia coli* cells, were verified by PCR screening. It was verified by PCR that the recombinant plasmid contained the LACK gene. DNA sequence analysis was performed to obtain the DNA sequence.

**Conclusion:** One of the most promising DNA vaccine candidates against leishmaniasis, the LACK gene, was cloned in this study.

**Keywords:** Leishmaniasis, *Leishmania infantum*, LACK gene, DNA vaccine, cloning

**Received:** 22.06.2016

**Accepted:** 23.06.2016

### GİRİŞ

Leishmaniasis, *Leishmania* cinsi zorunlu hücre içi protozoonların neden olduğu, özellikle Afrika, Latin Amerika, Güney ve Orta Asya, Akdeniz Havzası ve Ortadoğu'da görülen, Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) yoksulluğa bağlı, ihmal edilmiş başlıca bulaşıcı hastalıklar listesinde yer alan, vektör kaynaklı

bir hastalıktır (1, 2). Leishmaniasis, dünya genelinde 98 ülkede, yaklaşık 350 milyon insanı tehdit etmektedir (3). Yıllık yeni olgu sayısının 1.3 milyon, leishmaniasise bağlı yıllık ölüm sayısının ise 20-50 bin aralığında olduğu tahmin edilmektedir (4). *Leishmania* cinsine ait 30 türden yaklaşık 21 tür insanda leishmaniasise neden olmaktadır (5, 6). Bu türler morfolojik olarak ayırt edilememekte ancak izoenzim analizleri, mole-

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Salih Kuk E.mail: salihkuk@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.3743

©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

küler metotlar veya monoklonal antikorlar kullanılarak ayrımları gerçekleştirilebilmektedir. Eski Dünya *Leishmania* türlerinin vektörlüğünü *Phlebotomus* cinsi dişi kum sinekleri, Yeni Dünya *Leishmania* türlerinin vektörlüğünü ise *Lutzomyia* cinsi dişi kum sinekleri yapmaktadır. Parazit için birçok memeli ve insan rezervuar olarak görev almaktadır.

Leishmaniasisin; visseral leishmaniasis (VL), kutanöz leishmaniasis (KL) ve mukokutanöz leishmaniasis (MKL) olmak üzere 3 esas tipi vardır. Bunlara sonradan diffüz kutanöz leishmaniasis (DKL) ve post-kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL) eklenmiştir. Hastalığın tipi *Leishmania* türüne ve o türün izoenzim yapısına bağlıdır (7, 8). Yaygın *Leishmania* türlerinden biri olan *Leishmania infantum* (*L. infantum*) Akdeniz havzasında, Ortadoğu ve Asya ülkelerine kadar uzanan bölgede VL'e neden olmaktadır (9). Leishmaniasisin kontrolü amacıyla yapılan aşı çalışmaları halen devam etmektedir fakat henüz etkin bir aşı geliştirilememiştir.

*L. infantum*'a ait LACK geni (aktive edilmiş C kinaz reseptörü) üçüncü nesil aşilar olarak kabul edilen DNA aşı adaylarından biridir ve umut verici adaylar arasındadır (10, 11).

Çalışma ile ülkemizde *L. infantum* LACK geni klonlanmıştır. Çalışmada elde edilen ürün sonraki çalışmalarda gerek DNA, gerekse protein aşı adayı olarak kullanılabilir.

## YÖNTEMLER

Çalışmada öncelikle NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) besiyerinde *L. infantum* (MHOM/TR/2009/EP174) promastigot kültürü yapılarak besiyeri gün aşırı kontrol edilmiştir.

İkinci basamak olarak QIAamp Tissue Kit (QIAGEN, ABD) prosedürü modifiye edilerek kültürden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyon kiti prosedürü uygulandıktan sonra elde edilen son süzüntü içerisindeki total genomik DNA örneği PCR için -20°C'de saklanmıştır. Daha sonra LACK geni primerleri ile PCR yapılmıştır. PCR reaksiyonu için LiLACK F; (5'- ATGAACTACGAGGGTACCT -3') ve LiLACK R; (5'- TTAACGCGTCGGAGATG -3') primerleri kullanılmıştır. 95°C de 5 dk.'lık ön ısıtma ile başlayan sırasıyla 95°C de 1 dk. denatürasyon, 56°C de 1 dk. bağlanma, 72°C de 1 dk. uzamadan oluşan 35 döngü sonrası 72°C'de 15 dk.'lık son uzama ile biten PCR programı kullanılmıştır. PCR ürünü, etidyum bromidle boyanmış %1.5'luk agaroz jelde yürütülmüş ve Gel Logic 212 Pro Jel görüntüleme cihazıyla görüntülenmiştir (Carestream, ABD).

Daha sonra PCR ürününün saflaştırılması için High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, ABD) protokolü uygulanmıştır. Saflaştırılmış PCR ürünü CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Scientific, ABD) kullanılarak pJET1.2/blunt cloning vector plazmidine yerleştirilmiştir. Elde edilen rekombinant plazmidin OneShot TOP10 Chemically Competent *E. coli* kompetan hücrelerine (Invitrogen, ABD) transformasyonu yapılmıştır. Transformasyon yapılan hücrelerin üzerine oda sıcaklığındaki SOC sıvı besiyeri eklenmiştir. Ardından LB katı besiyere ekilerek 37°C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. LB katı besiyerinde koloni gelişimi gözlemlendikten sonra besiyerdeki koloniler numaralandırılarak yeni bir besiyere ekim yapılmıştır. Besiyeri 37°C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Oluşan kolonilerin rekombinant plazmidini içerip içermediğini belirlemek için numaralandırılmış kolonilerden örnekler

alınarak PCR yapılmıştır. PCR ürünü, etidyum bromidle boyanmış %1.5'luk agaroz jelde yürütülerek Gel Logic 212 Pro Jel görüntüleme cihazıyla görüntülenmiştir (Carestream, ABD).

Klonlama; PCR tarama, miniprep ve PCR, restriksiyon enzim deneyleri ve DNA dizi analizi ile doğrulanmıştır. Enzim kesimi için pJET1.2/blunt Klonlama Vektörü'nü 2 yerden kesen *BglIII* (Promega, ABD) enzimi kullanılmıştır. DNA dizi analizi için ise pJET1.2 Forward Sequencing Primer, (5'-CGACTCACTATAGGGAGAGCGGC-3'), pJET1.2 Reverse Sequencing Primer, (5'-AAGAACATCGATTTC-CATGGCAG-3') primerleri ve Bigdye Cycle Sequencing kit v3.1 (Applied Biosystems, ABD) kullanılmıştır. Sonuçlar otomatik DNA dizi analiz cihazı (ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer, ABD)'nda analiz edilmiştir. Elde edilen DNA dizi analizi sonuçları Chromas v.1.45 (ConorMcCarty School of Science Griffith University, Australia) programı ile incelendikten sonra <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> internet adresinde yer alan web tabanlı BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (National Center for Biotechnology Information, ABD) programına girilmiştir. Çalışmadan elde edilen DNA dizisi GenBANK veri tabanındaki mevcut *Leishmania* sp. DNA dizileri ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmada anabilim dalımızda devam ettirilen promastigot kültüründen DNA izolasyonu yapıldığı ve sadece DNA aşı adayı elde edildiği için çalışmanın yapısından dolayı etik kurul onayına gerek duyulmamıştır.

## BULGULAR

NNN besiyerinde kültürü yapılan *L. infantum* promastigotları Nikon Eclipse E600 (Nikon, Japonya) video ataçmanlı inverted mikroskop altında görüntülenmiştir (Resim 1).

LACK genine spesifik primerler kullanılarak yapılan PCR sonrasında 939 baz çiftlik PCR ürünü, agaroz jelde marker eşliğinde yürütülerek görüntülenmiştir (Resim 2).

Elde edilen PCR ürünü klonlama vektörüne yerleştirilmiştir. Ligasyon ürünü OneShot TOP10 Chemically Competent *E. coli* kompetan hücrelerine transforme edilmiştir. Bir gece inkübasyon sonrası oluşan koloniler tespit edilmiştir (Resim 3).

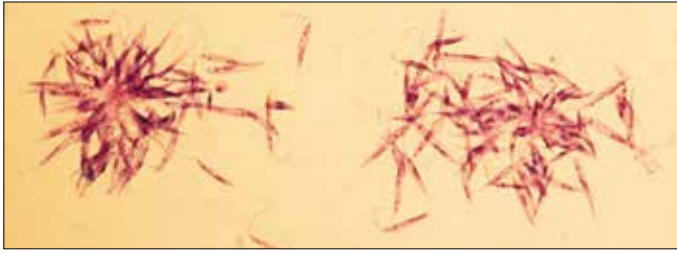
Transformasyon sonrası gözlenen kolonilerin rekombinant plazmidini içerip içermediğini anlamak için PCR tarama yapılmıştır. Katı besiyerinden seçilen 11 koloniden üçünün rekombinant plazmidini içerdiği PCR-tarama ile gösterilmiştir (Resim 4).

Rekombinant plazmid varlığı tespit edilen üç koloniden miniprep yapılarak rekombinant plazmidler saflaştırılmıştır. Rekombinant plazmidin klonlanan geni içerdiği PCR ile gösterilmiştir. Saflaştırılan rekombinant plazmidler, *BglIII* restriksiyon enzimleri ile kesilerek klonlanan genin varlığı doğrulanmıştır (Resim 5).

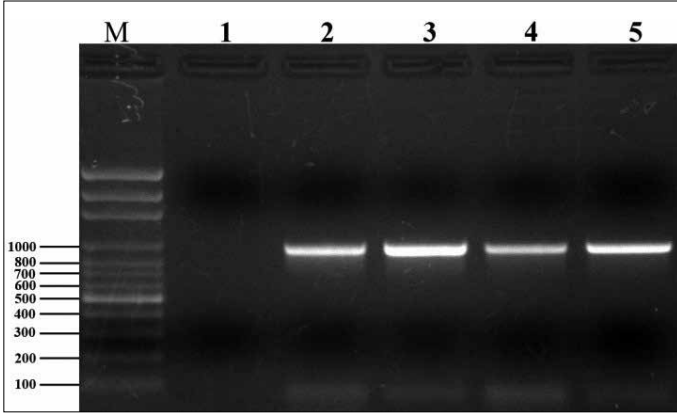
Klonlamanın doğruluğunu kanıtlamak için son olarak rekombinant plazmidin DNA dizi analizi yapılarak, klonlanan genin DNA dizisi elde edilmiştir (Tablo 1).

## TARTIŞMA

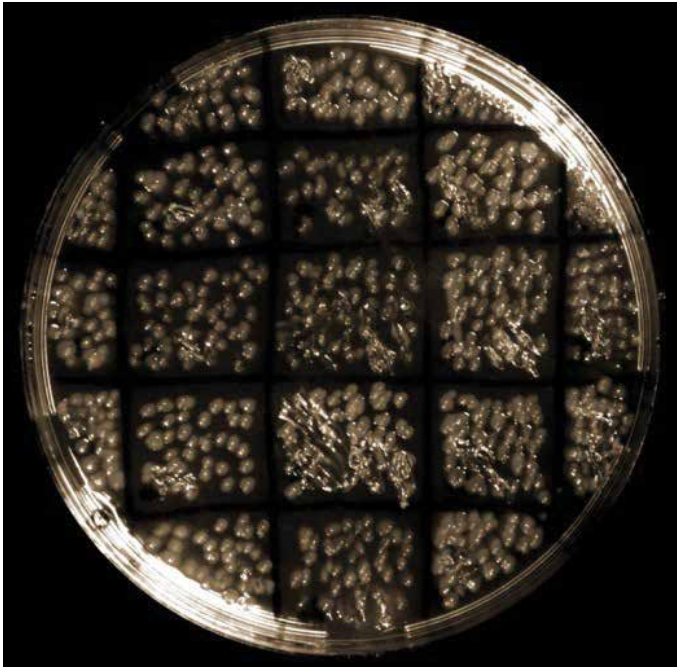
*Leishmania* türlerinin birbirine çok yakın olması, epidemiyolojisinin kompleks olması, zoonotik ve antropotik döngülere sahip olması gibi nedenler leishmaniasisle mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Leishmaniasis, HIV hastalarında relaps oluşturabilmekte ve



**Resim 1.** NNN besiyerinde üreyen küme halindeki *L. infantum* promastigotları (X40)

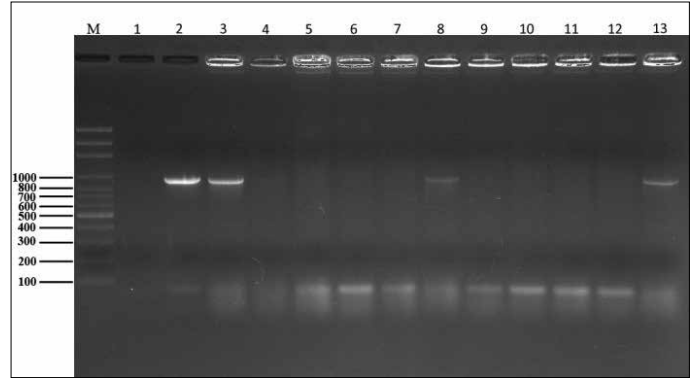


**Resim 2.** PCR ürününün agaroz jel elektroforezde görünümü  
M: 100 bp'lik marker (SolisBioDyne, Estonya); 1: negatif kontrol; 2, 3, 4, 5: 939 bp'lik *L. infantum* LACK PCR ürünü



**Resim 3.** Transformasyon sonrası üretilen koloniler

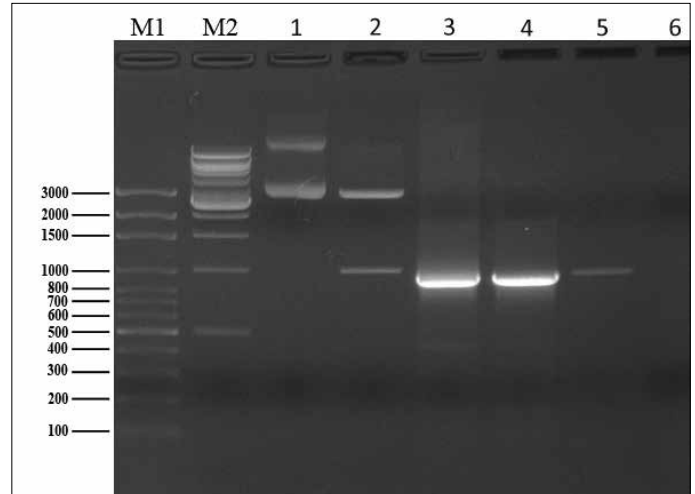
hastalığın tam tedavisi güçleşmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı leishmaniasise karşı tedavi ve aşı çalışmalarında büyük araştırmalar yapılmaktadır. KL tedavisinde kullanılan kemoterapi yetersiz kalabilmektedir. VL ve KL tedavisinde kullanılan pentavalan antimon bileşiklerinin ve diğer tedavi ajanlarının toksisite ve yan etkilerinin çokluğu, lipozomal amfoterisin B (L-AMB) benzeri



**Resim 4.** Kolonilerin rekombinant plazmid varlığının PCR - tarama ile doğrulanması

M-100 bp'lik marker

1: negatif kontrol; 2: pozitif kontrol; 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 ve 12: PCR - tarama sonucu negatif örnekler; 3, 8 ve 13: PCR - Tarama ürünü 942 bp'lik *L. infantum* PCR ürünü pozitif örnekler



**Resim 5.** Rekombinant plazmidlerin miniprep, restriksiyon enzimleri ile kesim ve PCR sonuçları

M1: 100 bp'lik marker (SolisBioDyneFIREPol, Estonya); M2: 500 bp'lik marker (SolisBioDyneFIREPol, Estonya); 1: kesilmemiş rekombinant plazmid; 2: BgIII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu; 3, 4: Template olarak rekombinant plazmidin kullanıldığı PCR sonucunda oluşan 939 bp'lik ürün; 5: pozitif kontrol; 6: negatif kontrol

tedavi edici ajanların yüksek maliyeti, bu ajanlara karşı direnç gelişimi gibi faktörler alternatif tedavi yöntemlerinin ve aşı geliştirilmesinin gerekliliğini arttırmaktadır. Leishmaniasise karşı etkin bir aşı henüz geliştirilememiştir.

İkinci nesil aşı adaylarında kullanılan antijenlerden biri olan LACK, 36 kDa'lık bir proteindir. LACK antijeni *Leishmania* türlerinin hem promastigot hem de bir amastigot formlarında bulunmakta ve parazitin birçok metabolik faaliyetinde görev almaktadır.

Enfekte inbred BALB/C farelerin enfeksiyonu sırasında I-A major histocompatibilite kompleksi sınıf-II (MHC II) molekülleri ekspres edilmekte, immunodominant LACK antijenin ekspresyonu IL-4 salgılanmasını tetiklemekte, hastalığı tanımlayan T hücreleri de V $\beta$ 4/V $\alpha$ 8 T-hücresi reseptörünü ekspres etmektedir. LACK-reaktif T hücrelerinin tükenmesi erken IL-4 yanıtını azaltmakta-

**Tablo 1.** DNA dizi analizi ile elde edilen *L. infantum* LACK genine ait DNA dizisi

1	atgaactacg	agggtcacct	gaagggccac	cgcggtatggg	tcacctcct	ggcctgccc
60	cagcaggcgg	ggctgtacat	caaggtggtg	tcgacgtgc	gcatggtcac	ggcatctcg
120	tggaaagcca	accccgaccg	ccacagcgtg	gacagcgact	acgggtctgcc	gagccaccgc
180	ctcgagggcc	acaccggctt	cgtgtcgtgt	gtgtcgtgg	cccacgccac	cgactacgcg
240	ctgaccgcgt	cctgggaccg	ctccatccgc	atgtgggacc	tgcgcaatgg	ccagtgccag
300	cgcaagtcc	tgaagcacac	caaggacgtg	ctcgccgtcg	ccttctgcc	ggacgaccgc
360	ctgatcgtgt	ccgcggggccg	cgacaacgtg	atccgcgtgt	ggaacgtggc	gggcgagtgc
420	atgcacgagt	tcctgcgcga	cggccacgag	gactgggtga	gcagcatctg	tttctcggc
480	tcgctggagc	atccgatcgt	gggtgccggc	agctgggaca	acaccatcaa	ggatggaac
540	gtgaacgggg	gcaagtgtga	gcgacgctc	aagggccaca	gcaactacgt	gtccacggtg
600	acgggtgcgc	cagacgggtc	gctgtgcgcg	tccggcggca	aggacggcgc	ggcgtgctg
660	tgggacctga	gcaccggcga	gcagctgttc	aagatcaacg	tggagtgcgc	catcaaccag
720	atcgcttct	cgccaaccg	cttctggatg	tgctgcgcga	cggagaggtc	tctgtccgtg
780	tacgacctgg	agagcaaggc	tgtgattgcg	gagctgacgc	cggacggcgc	gaagcctcc
840	gagtgcatt	ccattgcctg	gtccgccgac	ggcaacactc	tgtactccgg	tcacaaggac
900	aacctgatcc	gcgtgtggtc	catctccgac	gccgagtaa		

dır. Bu durum koruyucu bir Th-1 fenotipi geliştirilmesine imkân sağlamaktadır (12, 13). Farelerde *L. major* enfeksiyonu üzerinde yapılan çalışmalarda gözlenen immunopatojenik fonksiyonu ve önemi, LACK antijenine karşı büyük ilgi duyulmasını ve LACK'ın leishmaniasis için potansiyel aşı adayları arasında öne çıkmasını sağlamıştır (14, 15).

LACK proteininin kullanıldığı aday aşılarda ilgili çalışmalarda elde edilen sonuçlar henüz istenilen düzeyde ve geniş kapsamlı değildir. Güncel çalışmalarda araştırmacılar LACK proteini yerine LACK DNA'sının kullanıldığı üçüncü nesil aşı adaylarına odaklanmıştır (11, 15). Yapılan çalışmalarda LACK geninin immünojenitesinin yüksek olduğu ama deneysel visseral leishmaniasis modelinde uzun süreli koruyuculuğunun olmadığı tespit edilmiştir (16). LACK DNA ve proteininin *Vaccinia* virüsü vektörlüğünde birlikte kullanıldığı çalışmada ise aşının koruma gösterdiği tespit edilmiştir (17). Son yıllarda yapılan çalışmalarda gelişen yeni teknikler de kullanılarak LACK genine bazı aminoasitlerin eklenmesi ya da çıkarılması ile immünojenitenin artırılması amaçlanmıştır (14).

Leishmaniasis gibi doğal bağışıklık hücrelerini hedef alan enfeksiyonlarda doğal immunoreseptörleri hedef alan adjuvanların kullanılması önemli ve etkin bir stratejidir. Doğal bağışıklığın indüklenmesinin, kazanılmış bağışıklığın oluşabilmesi için bir gereklilik olduğunun ortaya konulmasından sonra aşı çalışmalarında adjuvan kullanımı önem kazanmıştır.

Leishmaniasis enfeksiyonlarında adjuvan olarak TLR4 agonisti monofosforil lipid-A, TLR7/8 agonisti imiquimod, TLR9 agonisti CpG, adenoviral vektörler, interlökin-12 (IL-12), alüminyum tuzları (alum) ve bazı diğer immunostimulasyon kompleksleri kullanılmıştır (18-20).

*Leishmania* parazitlerinin, leishmanial antijenlerin ve aşı adjuvanlarının daha iyi anlaşılması konusunda yapılan çalışmalar ve elde edilen olumlu sonuçlar, leishmaniasisin kontrolü için etkili aşılarda geliştirme umidini arttırmaktadır.

## SONUÇ

Bu çalışmada; leishmaniasise karşı en umut verici DNA aşı adaylarından olan ve *L. infantum* promastigotlarından izole edilen LACK geni klonlanmıştır. Aşı çalışmalarında uygun immünojen hedef ile birlikte uygun adjuvanın seçimi ve uygulanması önem taşımaktadır. Bu çalışmadan sonra planlanacak projelerde LACK antijeni ve LACK DNA'sının uygun adjuvanlarla birlikte aşı çalışmalarında kullanılması planlanmaktadır.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için gerekli değildir.

**Hasta Onamı:** Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - S.K.; Tasarım - S.K., S.K.; Denetleme - S.K., S.Y.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - S.K., S.C.; Analiz ve/veya Yorum - S.K., S.Y.; Literatür Taraması - S.K.; Yazıyı Yazan - S.K.; Eleştirel İnceleme - S.K., S.Y.

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

**Finansal Destek:** Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: TYL-2012-4264.

**Ethics Committee Approval:** Not required in this study.

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

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

**Author Contributions:** Concept - S.K.; Design - S.K., S.K.; Supervision - S.K., S.Y.; Funding - S.K., S.C.; Materials - S.K., S.C.; Data Collection and/or Processing - S.K., S.C.; Analysis and/or Interpretation - S.K., S.Y.; Literature Review - S.K.; Writing - S.K.; Critical Review - S.K., S.Y.

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

**Financial Disclosure:** This work was supported by Research Fund of the Erciyes University. Project Number: TYL-2012-4264.



## KAYNAKLAR

1. Ryan KJ, Ray CG, Sherris JC. Sherris medical microbiology: an introduction to infectious diseases. 4th ed. New York ; London: McGraw-Hill; 2003; p. 695.
2. European Union., World Health Organization, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Global report for research on infectious diseases of poverty. Geneva, Switzerland: TDR/World Health Organization WHO Document Production Services; 2012. p. 168.
3. (DNDi) DfNDi. About Leishmaniasis [22.06.2016]. Available from: <http://www.dndi.org/diseases-projects/leishmaniasis/>.
4. World Health Organization. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases : Third WHO report on neglected tropical diseases. Geneva: World Health Organization; 2015. p. 191.
5. World Health Organisation. Control of the leishmaniases. World Health Organisation Technical Report. 2010.
6. (CDC) CFDCaP. Parasites - Leishmaniasis [22.06.2016]. Available from: <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>.
7. Gradoni L, Gramiccia M, Leger N, Pesson B, Madulo-Leblond G, Killick-Kendrick R, et al. Isoenzyme characterization of *Leishmania* from man, dog and sandflies in the Maltese islands. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991; 85: 217-9. [CrossRef]
8. Rioux JA, Lanotte G, Serres E, Pratlong F, Bastien P, Perieres J. Taxonomy of *Leishmania* - Use of Isoenzymes - Suggestions for a New Classification. *Ann Parasit Hum Comp* 1990; 65: 111-25. [CrossRef]
9. Kose S, Toz SO, Korkmaz M, Ozbel Y. Visceral leishmaniasis: A rarely diagnosed adult case in Turkey. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2005; 29: 1-2.
10. Palatnik-de-Sousa CB, Barbosa Ade F, Oliveira SM, Nico D, Bernardo RR, Santos WR, et al. FML vaccine against canine visceral leishmaniasis: from second-generation to synthetic vaccine. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7: 833-51. [CrossRef]
11. Kumar A, Samant M. DNA vaccine against visceral leishmaniasis: a promising approach for prevention and control. *Parasite Immunol* 2016; 38: 273-81. [CrossRef]
12. Launois P, Maillard I, Pingel S, Swihart KG, Xenarios I, Acha-Orbea H, et al. IL-4 rapidly produced by V beta 4 V alpha 8 CD4+ T cells instructs Th2 development and susceptibility to *Leishmania major* in BALB/c mice. *Immunity* 1997; 6: 541-9. [CrossRef]
13. Julia V, Rassoulzadegan M, Glaichenhaus N. Resistance to *Leishmania major* induced by tolerance to a single antigen. *Science* 1996; 274: 421-3. [CrossRef]
14. Jensen KD, Sercarz EE, Gabaglia CR. Altered peptide ligands can modify the Th2 T cell response to the immunodominant 161-175 peptide of LACK (*Leishmania* homolog for the receptor of activated C kinase). *Mol Immunol* 2009; 46: 366-74. [CrossRef]
15. Dondji B, Perez-Jimenez E, Goldsmith-Pestana K, Esteban M, McMahon-Pratt D. Heterologous prime-boost vaccination with the LACK antigen protects against murine visceral leishmaniasis. *Infect Immun* 2005; 73: 5286-9. [CrossRef]
16. Basu R, Bhaumik S, Basu JM, Naskar K, De T, Roy S. Kinetoplastid membrane protein-11 DNA vaccination induces complete protection against both pentavalent antimonial-sensitive and -resistant strains of *Leishmania donovani* that correlates with inducible nitric oxide synthase activity and IL-4 generation: evidence for mixed Th1- and Th2-like responses in visceral leishmaniasis. *J Immunol* 2005; 174: 7160-71. [CrossRef]
17. Ramos I, Alonso A, Marcen JM, Peris A, Castillo JA, Colmenares M, et al. Heterologous prime-boost vaccination with a non-replicative vaccinia recombinant vector expressing LACK confers protection against canine visceral leishmaniasis with a predominant Th1-specific immune response. *Vaccine* 2008; 26: 333-44. [CrossRef]
18. Aebischer T, Wolfram M, Patzer SI, Ilg T, Wiese M, Overath P. Subunit vaccination of mice against new world cutaneous leishmaniasis: Comparison of three proteins expressed in amastigotes and six adjuvants. *Infect Immun* 2000; 68: 1328-36. [CrossRef]
19. Soudi S, Hosseini AZ, Hashemi SM. Co-administration of rectal BCG and autoclaved *Leishmania major* induce protection in susceptible BALB/c mice. *Parasite Immunol* 2011; 33: 561-71. [CrossRef]
20. Musa AM, Khalil EA, Mahgoub FA, Elgawi SH, Modabber F, Elkadaru AE, et al. Immunotherapy of persistent post-kala-azar dermal leishmaniasis: a novel approach to treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 58-63. [CrossRef]

# Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Pozitif Sıtma Örneklerinin Tanısı ve Tür Ayrımı

## Diagnosis and Species Discrimination of Positive Malaria Samples by Real-Time Polymerase Chain Reaction

Esra Atalay Şahar<sup>1</sup>, Muhammet Karakavuk<sup>1</sup>, Hüseyin Can<sup>2</sup>, Şebnem Nergiz<sup>3</sup>, Kadri Gül<sup>3</sup>, Aysu Değirmenci Döşkaya<sup>1</sup>, Yüksel Gürüz<sup>1</sup>, Mert Döşkaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Sıtma, yılda ~198 milyon hastada saptanan ve 367-755 bin arası insanın da ölümüne neden olan önemli bir tropikal hastalıktır. Son yıllarda geliştirilen real time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile aynı test içinde *Plasmodium* spp. saptanması ve tür ayrımı kontaminasyon riski en aza indirgenerek hızlı bir şekilde sağlanabilmektedir. Bu çalışmada, 18S rRNA geni hedefleyen real time PZR yöntemi kullanılarak aynı test içinde *Plasmodium* spp. saptanması ve tür ayrımının yapılması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Testin uygulanmasında tanısı mikroskopi ile doğrulanmış 15 sıtma pozitif hasta örneği (14 adet *P. vivax*, 1 adet *P. falciparum*) yanında *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* ve *P. malaria* 18S rRNA gen bölgesini içeren pozitif plazmit kontroller kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak sıtma negatif 15 insan DNA örneği kullanılmıştır.

**Bulgular:** Real Time PZR sonuçlarına göre 15 sıtma hastasına ait örnekte *Plasmodium* spp. pozitif bulunmuş ve ayrıca erime eğrisi analizi sonucunda bu örneklerin 14'ünün *P. vivax*, birinin de *P. falciparum* olduğu saptanmıştır. Bunun yanında, real time PZR yöntemi ile deneysel olarak *P. falciparum* ve *P. vivax* sıtması olan hastalara ait birer DNA örneği karşılaştırıldığında *P. falciparum* ve *P. vivax* miks enfeksiyonu başarılı bir şekilde saptanmıştır.

**Sonuç:** Türkiye'de sıtma tanısı ve tür ayrımı yanında miks enfeksiyonların da saptanmasında mikroskopik yöntemler yanında real time PZR yönteminin de kullanımının yararlı olabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malaria*, *Plasmodium ovale*, 18S rRNA geni, real time PZR

**Geliş Tarihi:** 28.01.2016

**Kabul Tarihi:** 25.07.2016

### ABSTRACT

**Objective:** Malaria is an important tropical disease that is detected in 198 million people and causes 367-755 thousand deaths annually. Recently, the real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) technique has enabled quick determination of *Plasmodium* spp. and species identification in the same assay with a low contamination risk. In the present study, we aimed to use real-time PCR targeting the 18S rRNA gene to diagnose *Plasmodium* spp. and perform species identification.

**Methods:** DNA samples of 15 patients with malaria (14 caused by *P. vivax*, 1 caused by *P. falciparum*) confirmed by microscopy as well as positive control plasmids were used. As the negative control, DNA samples of 15 individuals without malaria were used.

**Results:** According to the results of real-time PCR, samples of 15 patients with malaria were found to be positive for *Plasmodium* spp. Melting curve analysis showed that 14 of them were *P. vivax* and the remaining was *P. falciparum*. In addition, mixed infection with *P. falciparum* and *P. vivax* was successfully detected by real-time PCR when DNA of *P. falciparum*- and *P. vivax*-positive samples was experimentally mixed.

**Conclusion:** The present study showed that real-time PCR can be useful in the diagnosis and species identification of *Plasmodium* spp. as well as the detection of mixed infections in addition to microscopy in Turkey.

**Keywords:** *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malaria*, *Plasmodium ovale*, 18S rRNA gene, real-time PCR

**Received:** 28.01.2016

**Accepted:** 25.07.2016

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Hüseyin Can E.mail: huseyin.can@ege.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2016.4711

©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

Sıtma, yıllık olarak 198 milyon insanın enfekte olmasına sebep olmanın yanında 367-755 bin arası insanın da ölümüne neden olan büyük bir tropikal hastalıktır (1). Bu vakaların çok büyük bir kısmı sıtmanın endemik olduğu Afrika, Asya, Merkez ve Güney Amerika'nın tropikal bölgelerinde bulunan 100 ülkede görülmektedir (2, 3). Ayrıca sıtma, endemik bölgelere seyahat eden insanlarda karşılaşılan ateşli hastalıkların en yaygın etkeni olarak kabul edilmektedir. Örnek olarak, seyahatten geri dönen 24920 hasta arasında ateşli olan 6957 hastanın %21'inde sıtma saptanmıştır (4). Ayrıca, ateşli hastalıklar arasındaki ölümlerin %33'ünün sıtma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (5). Bu yüzden, hızlı tanı ve tedavi becerisinin sıtmanın endemik olmadığı bölgelerde de kritik olduğu ileri sürülmüştür.

*Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* ve *P. knowlesi* insanları enfekte eden *Plasmodium* türleridir (6-8). Bu türler arasında Türkiye'deki yerli sıtma etkeninin *P. vivax* olduğu, ayrıca yurt dışı kaynaklı *P. falciparum* olgularının da görüldüğü bildirilmiştir (9-11). Türkiye'de sıtma vakalarının büyük bir kısmının da Güneydoğu Anadolu bölgesinde ortaya çıktığı görülmüştür (11). Türkiye'de 2008 yılında başlatılan eliminasyon programı ile 2011 yılında yeni yerli sıtma hastası belirlenmediği bildirilmiştir (12). Bu dönem sonrası 2012 yılı yaz aylarında Mardin ili Savur ilçesinde 219 kişiyi etkileyen *P. vivax* salgını hastalığın yurdumuz için daimi bir tehdit arz ettiği göstermektedir (13).

Sıtma tedavisinde etken *Plasmodium* tür yada türlerinin (miks enfeksiyon) doğru olarak saptanması kritik öneme sahiptir çünkü *P. vivax* ve *P. ovale* karaciğerde uyku halindeki hipnozoitler ile daha sonra reaktivasyon ile hastalık tekrar edebilmektedir. Bu yüzden *P. vivax* ve *P. ovale*'nin özgün tedavisi için hipnozoit evreye mahsus antimalariyal ilaçların kullanılması gerekmektedir (5). Benzer şekilde, sıtmanın şiddetini değiştirebilen *P. falciparum*/*P. vivax* miks enfeksiyonuna da doğru şekilde tanı konması gerektiği bildirilmiştir (14). Miks enfeksiyonlarda, eksik tanı sonucu uygulanan eksik tedaviye bağlı anti sıtma ilaçlara karşı dirençli *Plasmodium* popülasyonlarının ortaya çıkabileceği ileri sürülmüştür (15).

Sıtma tanısı ve tür ayrımında, basit ve düşük maliyetli olması sebebiyle ince yayma ve kalın damla preparatların ışık mikroskopik incelemesi çok sık kullanılmakta fakat bu yöntem ile elde edilen sonuçların objektif olmaması ve doğru tanı için deneyimli personel gerektirmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır (2, 5). Ayrıca, deneyimli personelin bile düşük parazitemi ile seyreden vakalarda ve miks enfeksiyonlar da hatalı sonuçlar verebildikleri görülmüştür (16).

Sıtma tanısı için bir diğer yöntem de *P. falciparum* ve *P. vivax* enfeksiyonlarına özgü olduğu bildirilmiş hızlı tanı testleridir (17). Bu yöntemin dezavantajı ise tedavi sonrasında, haftalarca kalıcı olabilen atık antijenler ve romatoid faktörler ile çapraz reaksiyonlar vermesi sonucu yanlış pozitifliklere neden olabilmesidir (16, 18).

Mikroskopik ve hızlı tanı testi yöntemlerinin aksine, hızlı tanıyı yüksek duyarlılık ve özgüllükle sağlayabilen ve tekrarlanabilir polimeraz zincir reaksiyonu tekniği 1980 yılından beri sıtma tanısı için uygulanmaktadır (19). Bu yöntem sayesinde sıtma tanısı yanında tür ayrımı, düşük parazitemi gösteren enfeksiyonların ve aynı zamanda sıtma vakalarının %5'inden fazlasında görülen miks enfeksiyonların saptanmasının olası olduğu gösterilmiştir (20, 21). Ayrıca, sıtma tanısında PZR kullanımının plasental sıtma vakalarının yakalanmasını %42'den %97, semptomatik olmayan paraziteminin saptanmasını da %17'den %47'ye artırdığı gösterilmiştir (2).

Bu çalışmada 18S rRNA geni hedefleyen real time PZR yöntemi ile öncelikle *Plasmodium* spp. saptanması ve dört farklı *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* ve *P. malaria*) türünün ayrımının aynı test içerisinde yapılması hedeflenmiştir.

## YÖNTEMLER

### Sıtma Pozitif Örnekler ve DNA İzolasyonu

Bu çalışmada 2005-2006 yılları arasında 14 adet *P. vivax* ve bir *P. falciparum* sıtması tanısı konmuş hastalara ait hızlı tanı testi çubukları (OptiMAL, Flow Inc.; Portland, Oreg., USA) ve Giemsa (Merck, Germany) boyalı ince yayma-kalın damla mikroskop lamaları kullanılmıştır.

Hızlı tanı testi ile pozitif bulunmuş 10 hastanın hızlı test çubuklarının uç kısımları kesilerek 400 µL serum fizyolojik içinde 1 saat boyunca 200 rpm oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Mikroskopi (Olympus, USA) ile pozitif bulunan 5 hastanın lam üzerinde bulunan kan örnekleri 200 µL serum fizyolojik ile lamdan ayrıştırılmıştır. Elde edilen örnekler DNA ekstraksiyonu High Pure Template Preparation kiti (Roche, Germany) ile üretici firmanın protokolü uygulanmıştır (10).

Real time PZR yönteminin *P. falciparum* ve *P. vivax* miks enfeksiyonunu saptayıp saptayamadığını araştırmak için *P. falciparum* ve *P. vivax* sıtması olan hastalara ait birer DNA örneği karıştırılmıştır.

Real time PZR sırasında, negatif kontrol olarak sıtma negatif olduğu mikroskopi ve hızlı tanı testi ile saptanmış 15 insan DNA örneği kullanılmıştır. Çalışma için Ege Üniversitesi Etik Kurulu'ndan 14.05.2008 tarih ve 2007-5.1/6 karar no'lu onay alınmıştır.

### Real Time PZR

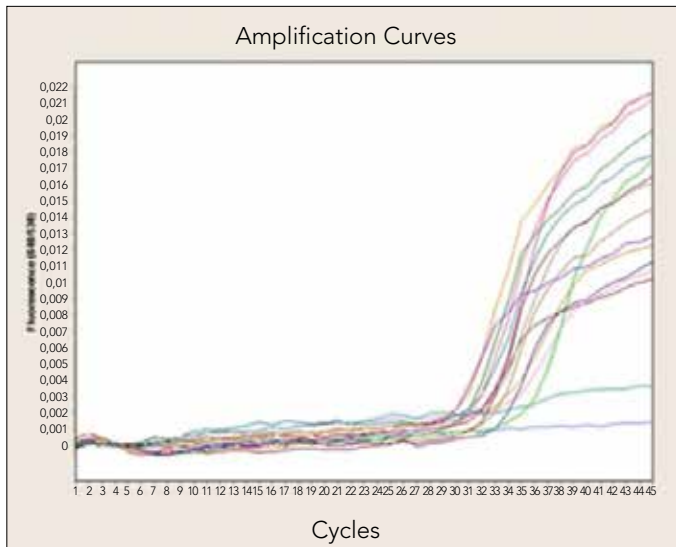
Real time PZR yöntemi tarif edildiği gibi gerçekleştirilmiştir (2). Reaksiyon sırasında *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* ve *P. malaria* için 18S rRNA geni hedeflenmiştir. Hedef genin çoğaltılmasında PF1 (5'-CATTYGTATTTCAGATGTC-3'; 18 nt) ve PF2 (5'-TTCTTTTA-ACTTTCTCGC-3'; 18 nt) primerleri ve iki farklı prob; PF3 (5'-GATACCGTCGTAATCTTAACCTAACCTAT-3'-FL; 29 nt) ve PF4 (LC RED640 5'- GACTAGGTGTTGGATGAAAGTG-3'-PO; 22 nt) kullanılmıştır. Bu reaksiyon için LightCycler® Fast Start DNA Master HybProbe kiti (Roche, Germany), primer ve problar Tablo 1'de ki gibi karıştırılmıştır. Örnekler 1.5 LightCycler Real Time cihazında (Roche Diagnostics, Germany) Tablo 2'de tarif edilen nicelik (=quantification) ve erime eğrisi (=melting curve) analizleri uygulanmıştır.

**Tablo 1.** Real Time PZR testinde her örnek için kullanılan reaksiyon karışımı

Malzeme	Son hacim	Son konsantrasyon
PF1, Forward Primer (20 µM)	0,5 µL	0,5 µM
PF2, Reverse Primer (20 µM)	1 µL	1 µM
PF3, Prob (20 µM)	0,2 µL	0,2 µM
PF4, Prob (20 µM)	0,4 µL	0,4 µM
10× FastStart mix	2,0 µL	1×
25 mM MgCl <sub>2</sub>	2,4 µL	4 mM
Distile su	8,5 µL	-
Kalıp DNA	5 µL	-
Toplam	20 µL	

**Tablo 2.** Real Time PZR testinde her bir örnek için kullanılan protokol

Analiz Modu	Döngü sayısı	Basamak	Hedef sıcaklık	Süre	Sıcaklık artış hızı (°C/sn)	Okuma modu
Preinkübasyon						
-	1	-	95 °C	10 dk	20	-
Amplifikasyon						
Quantification	45	Denaturation	95°C	10 sn	20	-
		Annealing	55°C	15 sn	20	Tek
		Extension	72°C	15 sn	20	-
Melting Curve (Erime Eğrisi)						
Melting curve	1	Denaturation	95°C	0 sn	20	-
		Annealing	59°C	20 sn	20	-
			40°C	20 sn	0.2	-
		Extension	85°C	0 sn	0.2	Sürekli
Cooling (Soğutma)						
-	1		40°C	30 sn	20	-

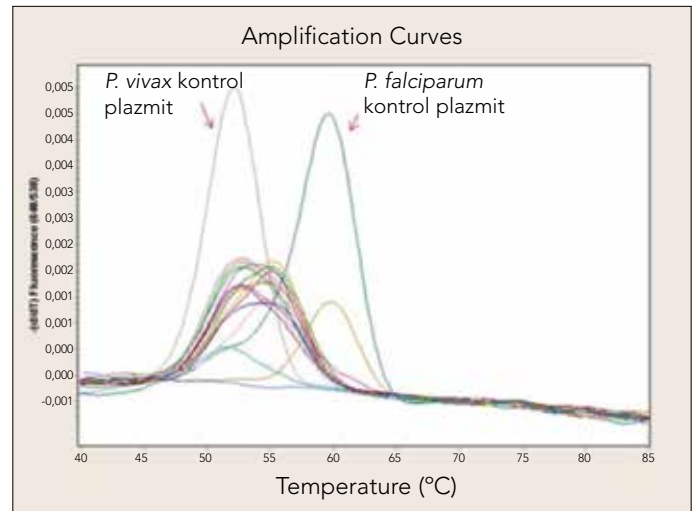
**Şekil 1.** Sıtma pozitif örnekler (n:15) ait real time PZR nicelik (=quantification) analizi sonuçları

Çalışmada pozitif kontrol olarak MR4-ATCC (Malaria Research and Reference Reagent Resource Center-American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)'den ticari olarak temin edilmiş *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax* ve *P. ovale* 18S rRNA geni içeren plazmitler kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır.

*Plasmodium* spp. tanısı nicelik analizi ile sağlanırken, erime eğrisi analizi ile erime ısı (melting temperature,  $T_m$ ) değeri kullanılarak *P. falciparum* ( $T_m$ :  $60 \pm 2^\circ\text{C}$ ), *P. malariae* ( $T_m$ :  $57 \pm 1^\circ\text{C}$ ), *P. vivax* ( $T_m$ :  $51,8^\circ\text{C}$ - $55,5^\circ\text{C}$  arasında) ve *P. ovale*'nin ( $T_m$ :  $49,5 \pm 1^\circ\text{C}$ ) tür ayrımı yapılmıştır (2).

## BULGULAR

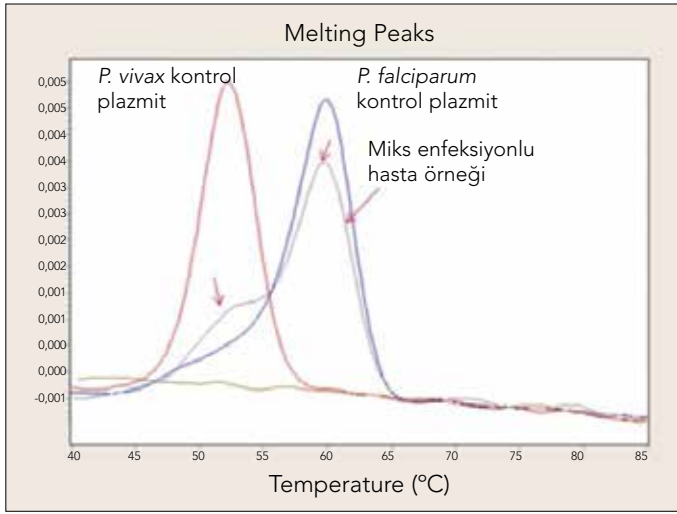
Sıtma hastalarına ait 15 örneğe real time PZR yöntemi uygulanması sonrası elde edilen nicelik analizi sonuçları her örnekte *Plas-*

**Şekil 2.** Sıtma pozitif örneklerin (n:15) real time PZR ile elde edilen erime ısı (=melting curve) analizi sonuçları. Elde edilen sonuçlar 14 örneğin *P. vivax* kontrol plazmiti ile uyumlu erime ısısına sahipken bir hastanın *P. falciparum* ile uyumlu erime ısısına sahip olduğunu göstermiştir. Ok ile gösterilen erime eğrileri pozitif plazmit kontrollere aittir

*modium* spp. varlığını göstermiştir (Şekil 1). Erime eğrisi analizi sonucuna göre ise 14 örneğin erime eğrileri *P. vivax* plazmit kontrolü ile uyumlu bulunmuştur. Mikroskopik olarak *P. falciparum* saptanan örneğin erime eğrisinin ise *P. falciparum* plazmit kontrolü ile uyumlu olduğu saptanmıştır (Şekil 2).

Sonuç olarak 15 sıtma pozitif örneğin 14'ünün *P. vivax* geriye kalan bir örneğinde *P. falciparum* olduğu real time PZR yöntemi ile saptanmıştır. Bu sonuçlar real time PZR yönteminin mikroskopi ile %100 oranında uyumlu olduğunu göstermektedir.

*P. falciparum* ve *P. vivax* sıtması bulunan hastalara ait DNA örneklerinin karıştırılması sonrası elde edilen örneğin erime eğrisi analizinde *P. falciparum* ve *P. vivax* miks enfeksiyonunun pozitif



**Şekil 3.** *P. falciparum* ve *P. vivax* sıtması bulunan hastalara ait DNA örneklerinin karıştırılması sonrası elde edilen örneğin erime eğrisi analizinde *P. falciparum* ve *P. vivax* miks enfeksiyonunun gösterilmesi. Sol ok *P. vivax* pozitif plazmit kontrol ile uyumlu erime eğrisini gösterirken sağ üst ok *P. falciparum* plazmit pozitif kontrolü ile uyumlu erime eğrisini işaret etmektedir

plazmit kontroller sayesinde aynı test içinde ayırt edilebildiği görülmüştür (Şekil 3). Hasta örneklerine yapılan erime eğrisi analizinde *P. ovale* ve *P. malaria* erime ısı değerleri ile uyumlu bir sonuç saptanmamıştır.

## TARTIŞMA

Sıtma, endemik bölgelerde insanlığın en önemli sorunlarından biri olması yanında endemik bölgelere seyahat eden kişilerde de seyahat sonrası görülmesi sebebiyle endemik olmayan bölgelerde ciddi bir halk sağlığı problemidir. Bu yüzden, hızlı tanı ve tedavi sıtmanın endemik olmadığı bölgeler için de önemli olmaktadır.

Sıtma tanısı ve tür ayrımında mikroskopik yöntemlerin bir takım zaafları olduğu bildirilmiştir (16). Bu sebeple mikroskopik yöntemler dışında sıtma tanısında daha duyarlı ve özgül olduğu birçok çalışmada gösterilmiş real time PZR yöntemi bu çalışmada kullanılmıştır. Çalışmaya dahil edilen mikroskop tanılı 15 sıtma pozitif örnek real time PZR ile pozitif bulunmuştur. Real time PZR ile yapılan erime eğrisi analizi sonucunda bu örneklerin 14'ünün *P. vivax*, bir örneğin de *P. falciparum* olduğu saptanmıştır (Şekil 2). Elde edilen sonuçlar mikroskopi ile karşılaştırıldığında tanıda ve tür ayrımında %100 uyum görülmüştür. Ayrıca *P. falciparum* ve *P. vivax* miks enfeksiyonunun pozitif plazmit kontroller sayesinde aynı test içinde ayırt edilebildiği görülmüştür (Şekil 3).

Real time PZR yöntemi sıtma tanısı ve tür ayrımı için sıklıkla kullanılmıştır. Mikroskopi ve real time PZR yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada, real time PZR ile *P. falciparum* için aquaglyceroporin (AQP) geni, *P. vivax* için enoyl-acyl carrier protein reductase (ECPR) geni, *P. ovale* için P25 ookinete surface protein (Pos25) geni ve *P. malaria* için circumsporozoite (CS) geni hedeflenmiştir. Çalışmada, 55 hastanın 53'ü hem mikroskopi hem de real time PZR ile pozitif saptanmıştır. Bir hastada da real time PZR ile miks enfeksiyon görülmüştür. Aynı çalışma da 79 asemptomatik hastanın 7'si mikroskopi ve real time PZR ile

pozitif saptanırken, real time PZR ile toplamda 16 hasta pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerin tür ayrımı sonuçlarına bakıldığında ise real time PZR sonuçlarının mikroskopi ile uyumlu olduğu görülmüştür (22).

Bir diğer çalışmada, 158 hasta (76 pozitif, 82 negatif) 18S rRNA geni hedefleyen real time PZR ile analiz edilmiş ve 76 pozitif örneğin 74'ü (%97,4) pozitif, 82 negatif örneğin de tümü negatif olarak bulunmuştur. Real time PZR ile pozitif örnekler arasında üç örneğin miks enfeksiyon olduğu saptanmıştır (3).

18S rRNA gen bölgesini hedefleyen real time PZR yönteminin kullanıldığı bir başka çalışmada, mikroskopi ile sıtma pozitif ve negatif olduğu bilinen 297 hasta örneğinin (292 pozitif, 5 negatif) 282'sinde (%95) real time PZR yöntemi mikroskopi ile paralellik göstermiştir. Kullanılan real time PZR yönteminin klinik örnekler için duyarlılığının %97, özgüllüğünün %100 olduğu bulunmuştur (2).

Sıtma tanısında altın standart olarak kabul edilen mikroskopi yönteminin duyarlılığının 100-200 parazit/µL olduğu belirtilmiştir (19, 22). Real time PZR yönteminin yapıldığı çalışmalar incelendiğinde, real time PZR yönteminin duyarlılığının 0,2 parazit genomu/reaksiyon seviyesinde olduğu ve mikroskopiye göre çok daha duyarlı olduğu görülmektedir (3, 9).

Türkiye'de sıtma epidemiyolojisi ile ilişkili yapılmış çalışmalarda daha çok mikroskopik yöntemlerin tercih edildiği gözlenmiştir. 2013 yılında Ordu'da yapılmış bir çalışmada, 31575 kan örneğinin 6'sı (%0,02) mikroskopik yöntemler kullanılarak pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerin 3'ünün *P. vivax*, diğer 3 pozitif örneğin de yurt dışı kaynaklı *P. falciparum* olduğu saptanmıştır (23). 2012 yılında Antalya'da yapılan başka çalışmada, 131987 kan örneğinin 66'sı (%0,0005) mikroskopik yöntemler ile pozitif bulunmuştur. 66 pozitif örneğin sıtma etkeninin 57 örnek için *P. vivax*, geriye kalan 9 örnek içinde *P. falciparum* olduğu saptanmıştır (24). Bitlis ilinde toplanan kan örnekleri üzerinde yapılan çalışmada, 86951 örneğin mikroskopik bakı sonrasında 659'u (%0,75) pozitif olarak bulunmuştur. Tüm pozitif örneklerin sıtma etkeninin *P. vivax* olduğu belirtilmiştir (25). Mersin'de, 303573 kan örneğinin 73'ünün mikroskopi ile pozitif olduğu tespit edilmiştir. 73 pozitif örnek arasında, 67 örneğin *P. vivax*, geriye kalan 6 örneğinde *P. falciparum* olduğu saptanmıştır (26). Bursa'da yapılan bir çalışmada, 29683 örnek toplanmış ve mikroskopi ile incelenmiştir. Bu örnekler arasında 21'i (%0,07) pozitif olarak saptanmış ve pozitif örneklerin 11'inin *P. vivax* geriye kalan 10'unun da *P. falciparum* olduğu belirlenmiştir (27). Manisa'da, 86955 örneğin mikroskopi ile 6'sı (%0,007) pozitif olarak saptanmış olup bu örnekler arasında sıtma etkeninin 4'ü için *P. falciparum* geriye kalan 2'si içinde *P. vivax* olduğu bulunmuştur (28). Sıtmanın endemik olduğu Çukurova'da yapılan bir çalışmada, 92 sıtma şüpheli hastadan toplanmış kan örnekleri Giemsa boyama, nested PZR ve real time PZR ile analiz edilmiş ve sırasıyla, %47,8, %56,5 ve %60,9 oranlarında *P. vivax* saptanmıştır. Aynı çalışmada, mikroskopik incelemeye göre real time PZR ve nested PZR testlerinin özgüllük ve hassasiyetleri sırasıyla, %75 ve %100 ve %81,2 ve %97,7 olarak bulunmuştur (29).

Sıtma çalışmaları arasında Türkiye'de saptanmış miks enfeksiyon vakalarına bakıldığında, ilk ve tek yerli miks enfeksiyon (*P. vivax*



ve *P. falciparum*) vakasının Ok ve ark. (30) tarafından 1996 yılında saptandığı bildirilmiştir.

## SONUÇ

Sonuçta ülkemizde sıtma halen önemli bir sağlık sorunudur ve gerekli önlemlere rağmen yakın zamanda Savur'da gerçekleşen epidemiyi sıtma tanısının ve tedavisinin hızlı yapılması gerektiğini göstermektedir. Bunun yanında küreselleşen dünyada seyahatler giderek artmakta ve importe vakalar ve mikس enfeksiyonlarda paralel olarak artış göstermektedir. Yurdumuz insanları sıtmaya karşı doğal dirençli olmadığından özellikle *P. falciparum* enfeksiyonları şiddetli geçmekte ve tanının yetersiz veya geç olduğu durumlarda ölümle sonuçlanmaktadır. Özellikle düşük parazitemi durumunda real time PZR tekniğinin mikroskopiyeye göre yüksek duyarlılığı, hızı ve tür ayırımı için gerçekleştirilmesi ile önemli bir teknik olarak ortaya çıkmaktadır. Bu sebeplerle yurdumuzda sıtma tanısı ve tür ayırımı için mikroskopik yöntemlere ek olarak özellikle referans merkezlerinin real time PZR gibi moleküler testleri kullanmasının hızlı tanı ve tedavi yönünden yararlı olacağı ve bu testlerin kullanımı sayesinde düşük parazitemi vakalar yanında mikس enfeksiyonların da saptanmasının artırılacağı düşünülmektedir.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'ndan onay alındı (Karar no: 2007-5.1/6).

**Hasta Onamı:** Çalışmanın retrospektif tasarımından dolayı hasta onamı alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - E.A.Ş., M.D.; Tasarım - E.A.Ş., H.C., M.D. Y.G.; Denetleme - M.D., A.D.D., Y.G., Ş.N., K.G.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - E.A.Ş., Ş.N., K.G., M.D., M.K.; Analiz ve/veya Yorum - E.A.Ş., M.D., H.C.; Literatür Taraması - E.A.Ş., H.C., M.K., A.D.D., M.D.; Yazıyı Yazan - E.A.Ş., H.C., M.D., M.K.; Eleştirel İnceleme - E.A.Ş., Y.G., M.K., H.C., A.D.D., M.D. T

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

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received for this study from Ege University School of Medicine, Research Ethics Committee (Permit number: 2007-5.1/6).

**Informed Consent:** Written informed consent was not obtained due to the retrospective nature of the study.

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

**Author Contributions:** Concept - E.A.Ş., M.D.; Design - E.A.Ş., H.C., M.D. Y.G.; Supervision - M.D., A.D.D., Y.G., Ş.N., K.G.; Funding - M.D., Y.G., Ş.N., K.G. Materials - M.D., Ş.N., K.G.; Data Collection and/or Processing - E.A.Ş., Ş.N., K.G., M.D. M.K.; Analysis and/or Interpretation - E.A.Ş., M.D., H.C.; Literature Review - E.A.Ş., H.C., M.K., A.D.D., M.D.; Writing - E.A.Ş., H.C., M.D. M.K.; Critical Review - E.A.Ş., Y.G., M.K., H.C., A.D.D., M.D.

**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

- World Malaria Report 2014; [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/160458/1/WHO\\_HTM\\_GMP\\_2015.2\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/160458/1/WHO_HTM_GMP_2015.2_eng.pdf?ua=1)
- Swan H, Sloan L, Muyombwe A, Chavalitshewinkoon-Petmitr P, Krudsood S, Leowattana W, et al. Evaluation of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of malaria in patients from Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73: 850-4.
- Mangold KA, Manson RU, Koay ES, Stephens L, Regner M, Thomson RB Jr, et al. Real-time PCR for detection and identification of Plasmodium spp. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2435-40. [CrossRef]
- Wilson ME, Weld LH, Boggild A, Keystone JS, Kain KC, von Sonnenburg F, et al. Fever in returned travelers: results from the GeoSentinel Surveillance Network. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 1560-8. [CrossRef]
- Lefterova MI, Budvytiene I, Sandlund J, Färnert A, Banaei N. Simple Real-Time PCR and Amplicon Sequencing Method for Identification of Plasmodium Species in Human Whole Blood. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 2251-7. [CrossRef]
- Dakić Z, Ivović V, Pavlović M, Lavadinović L, Marković M, Djurković-Djaković O. Clinical significance of molecular methods in the diagnosis of imported malaria in returning travelers in Serbia. *Int J Infect Dis* 2014; 29: 24-30. [CrossRef]
- Ersan G, Ülker T, Akkoçlu G, Oğuz F, Köse Ş. Plasmodium falciparum'un Etken Olduğu Yurtdışı Kaynaklı Bir Sıtma Olgusu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18 (Suppl-A): 239-40.
- İnanç T, Kuk S, Yazar S. Çorum'da 2006-2011 Yılları Arasında Sıtma Epidemiyolojisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18 (Suppl-A): 97-9.
- Değirmenci A, Döşkaya M, Caner A, Nergis S, Gül K, Aydınok Y, et al. Action plan to regain unnecessary deferred blood donors due to malaria risk in Turkey. *Transfus Apher Sci* 2012; 46: 269-75. [CrossRef]
- Döşkaya AD, Döşkaya M, Caner A, Gül K, Nergiz Ş, Can H, et al. Preliminary analysis of Plasmodium vivax genotypes isolated in southeastern Turkey. *Acta Parasitol* 2015; 60: 244-7. [CrossRef]
- Tamer GS, Yılmaz M, Akçer B. Evaluation of Malaria Cases that Were Detected in Kocaeli Province During 2008 Through 2013. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2015; 39: 1-4. [CrossRef]
- World Malaria Report 2012 [http://www.who.int/malaria/publications/world\\_malaria\\_report\\_2012/wmr2012\\_country\\_profiles.pdf](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2012/wmr2012_country_profiles.pdf)
- World Malaria Report 2013; [http://www.who.int/malaria/publications/world\\_malaria\\_report\\_2013/wmr2013\\_no\\_profiles.pdf?ua=1](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/wmr2013_no_profiles.pdf?ua=1)
- Mohapatra MK, Dash LK, Barih PK, Karua PC. Profile of mixed species (Plasmodium vivax and falciparum) malaria in adults. *J Assoc Physicians India* 2012; 60: 20-4.
- Tajebe A, Magoma G, Aemero M, Kimani F. Detection of mixed infection level of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax by SYBR Green I-based real-time PCR in North Gondar, north-west Ethiopia. *Malar J* 2014; 13: 411. [CrossRef]
- Lau YL, Lai MY, Anthony CN, Chang PY, Palaeya V, Fong MY, et al. Comparison of three molecular methods for the detection and speciation of five human Plasmodium species. *Am J Trop Med Hyg* 2015; 92: 28-33. [CrossRef]
- Shokoples SE, Ndao M, Kowalewska-Grochowska K, Yanow SK. Multiplexed real-time PCR assay for discrimination of Plasmodium species with improved sensitivity for mixed infections. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 975-80. [CrossRef]
- Bourgeois N, Boutet A, Bousquet PJ, Basset D, Douard-Enault C, Charachon S, et al. Comparison of three real-time PCR methods with blood smears and rapid diagnostic test in Plasmodium sp. infection. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 1305-11. [CrossRef]
- Chua KH, Lim SC, Ng CC, Lee PC, Lim YA, Lau TP, et al. Development of High Resolution Melting Analysis for the Diagnosis of Human Malaria. *Sci Rep* 2015; 28: 1567. [CrossRef]

20. Brown AE, Kain KC, Pipithkul J, Webster HK. Demonstration by the polymerase chain reaction of mixed Plasmodium falciparum and P. vivax infections undetected by conventional microscopy. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; 86: 609-12. [\[CrossRef\]](#)
21. Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, do Rosario VE, et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Mol Biochem Parasitol* 1993; 61: 315-20. [\[CrossRef\]](#)
22. Vo TK, Bigot P, Gazin P, Sinou V, De Pina JJ, Huynh DC, et al. Evaluation of a real-time PCR assay for malaria diagnosis in patients from Vietnam and in returned travellers. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007; 101: 422-8. [\[CrossRef\]](#)
23. Cetinkol Y, Yıldırım AA. The epidemiology of malaria in Ordu between 2002 and 2011. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2013; 37: 69-72. [\[CrossRef\]](#)
24. Ser Ö, Çetin H. Evaluation of malaria cases in Antalya between 2001 and 2011. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2012; 36: 4-8. [\[CrossRef\]](#)
25. Sahin IH, Zeyrek FY, Aydın MF, Öntürk H, Basank M. Malaria epidemiology in Bitlis from 1998 to 2008. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2012; 36: 1-3. [\[CrossRef\]](#)
26. Aydın MF, Sahin A. Malaria epidemiology in mersin province, Turkey from 2002 to 2011. *Iran J Parasitol* 2013; 8: 296-301.
27. Alver O, Atıcı E, Göral G. The epidemiology of malaria in Bursa-2009-2012. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2014; 38: 81-4. [\[CrossRef\]](#)
28. Aksoy Gökmen A, Pektaş B, Öncel K, Özdemir OA, Çavuş İ, Özbilgin A. The investigation of malaria cases in Manisa between 2008-2012. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2014; 38: 151-4. [\[CrossRef\]](#)
29. Genc A, Eroglu F, Koltas IS. Detection of Plasmodium vivax by nested PCR and real-time PCR. *Korean J Parasitol* 2010; 48: 99-103. [\[CrossRef\]](#)
30. Ok ÜZ, Vurgun N, Limoncu ME, Ceylan H, Kuman A. Türkiye'de son yıllardaki ilk yerli falciparum ve vivax miks sıtma olgusu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1996; 20: 211-6.

# Identification of *Acanthamoeba* Genotypes in Pools and Stagnant Water in Ponds in Sistan Region in Southeast Iran

İran'ın Güneybatısında Yer Alan Sistan Bölgesinde Havuzlarda ve Durgun Su Birikintilerinde *Acanthamoeba* Genotiplerinin Belirlenmesi

Ali Aghajani<sup>1</sup>, Mansour Dabirzadeh<sup>2</sup>, Yahya Maroufi<sup>2</sup>, Hossein Hooshyar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Parasitology, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Parasitology, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

## ABSTRACT

**Objective:** *Acanthamoeba* is one of the most abundant free-living amoebas that is widely distributed in natural and artificial environment resources. *Acanthamoeba* pathogenic genotypes cause chronic human diseases including amoebic keratitis and granulomatous amoebic encephalitis. The aim of this study was to determine and identify *Acanthamoeba* genotypes residing in pools and stagnant water in ponds in Sistan region in southeast Iran. This descriptive study was conducted at the Parasitology Laboratory, School of Medicine, Zabol University of Medical Sciences.

**Methods:** In this descriptive study, 93 water samples were collected from pools and ponds in Zabol, Zahak, Hirmand, Hamoon, and Nimrooz in Sistan region. Samples after filtering through 0.45-µm nitrocellulose paper filters were cultured in a 1.5% non-nutrient agar medium enriched with heat-killed *Escherichia coli*. Polymerase chain reaction (PCR) was conducted using specialized primers for detecting the genus *Acanthamoeba*. The sequencing of positive samples was used for determining *Acanthamoeba* genotypes.

**Results:** From 82 free-living amoeba positive culture samples, 38 isolates were confirmed to belong to the genus *Acanthamoeba* by PCR. On sequencing, 34 samples (89.47%) belonged to the T4 genotype, three (7.9%) to the T5 genotype, and one (2.63%) to the T3 genotype.

**Conclusion:** All genotypes found in this study are potentially pathogenic. The T4 genotype is the main genotype of *Acanthamoeba* responsible for amoebic keratitis. Resource water is a potential risk factor for the distribution of free-living amoeba. Therefore, more attention of health authorities to determine, training and prevention from infection are recommended.

**Keywords:** *Acanthamoeba*, water, genotype, Sistan, Iran

**Received:** 28.07.2015

**Accepted:** 26.07.2016

## ÖZ

**Amaç:** *Acanthamoeba* yaygın olarak doğal ve suni çevre kaynaklarında yayılan özgür yaşayan bir amiptir. *Acanthamoeba* patojenik genotipleri amibik keratit ve granülomatöz amibik ensefalit gibi kronik insan hastalıklarına neden olurlar. Bu çalışmanın amacı, İran'ın güneydoğusunda yer alan Sistan bölgesinde havuzlarda ve durgun su birikintilerinde bulunan *Acanthamoeba* genotiplerini belirlemek ve tanımlamaktır. Bu tanımlayıcı çalışma Zabol Tıp Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesinde yer alan Parazitoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

**Yöntemler:** Bu tanımlayıcı çalışmada, Sistan bölgesinde yer alan Zabol, Zahhak, Hirmand, Hamoon ve Nimrooz'daki havuzlardan ve su birikintilerinden 93 numune alındı. Numunelerin kültürleri, 0.45-µm nitroselüloz filtre kağıdı ile süzülükten sonra, ısıyla öldürülmüş *Escherichia coli* ile zenginleştirilmiş %1,5 non-nutrient agar ortamında yapıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), *Acanthamoeba* türünü saptamak için özelleştirilmiş primerler kullanılarak yapıldı. *Acanthamoeba* genotiplerini belirlemek amacıyla pozitif numune dizilimi kullanıldı.

**Bulgular:** Seksen iki özgür yaşayan amip pozitif kültür örneğinden 38 izolatin, *Acanthamoeba* türü olduğu PZR ile doğrulandı. Dizilimde, 34 (%89,47) numunenin T4 genotipine, üç (%7,9) numunenin T5 genotipine ve bir (%2,63) numunenin de T3 genotipine ait olduğu belirlendi.

**Sonuç:** Bu çalışmada bulunan tüm genotipler potansiyel olarak patojeniktir. T4 genotipi, amibik keratitten sorumlu olan başlıca *Acanthamoeba* genotipidir. Su kaynakları özgür yaşayan amipin dağılımı açısından potansiyel bir risk faktörüdür. Bu nedenle, sağlık yetkililerinin bu konuya dikkat etmeleri ve enfeksiyondan korunma konusunda eğitime daha çok önem vermeleri önerilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** *Acanthamoeba*, su, genotip, Sistan, İran

**Geliş Tarihi:** 28.07.2015

**Kabul Tarihi:** 26.07.2016

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Hossein Hooshyar E.mail: hooshyar4@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4428

©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

Members of *Acanthamoeba* genus are widely distributed in nature. *Acanthamoeba* species are isolated from soil, dust, air, drinking and mineral water, sea water, swimming pools, sewage, Jacuzzi tubs, aquariums, flower soil, surgery units, dentistry and dialysis units, ventilation/air conditioning units, contact lenses as well as from vegetables, fishes, reptiles, amphibians, birds, and humans (1). The life cycle of *Acanthamoeba* species includes two active trophozoite and cystic stages. A trophozoite in *Acanthamoeba* species can change into a cyst by switching its phenotype in harsh environmental conditions including lack of food, high temperature, unsuitable osmolarity, and other environmental stresses such as contact with antiseptic agents. *Acanthamoeba* species can retain its pathogenicity in suitable conditions and is transmitted to humans (1, 2). *Acanthamoeba* species causes human infection by polluted soil and water to cyst or trophozoite through dermal lesions or breathing organs by flowing air infected. *Acanthamoeba* pathogenic genotypes result in chronic human diseases including amoeba keratitis and the rare but deadly granulomatous amoebic encephalitis (GAE). Unlike GAE, *Acanthamoeba* keratitis infects healthy people after damaging the cornea, particularly in individuals using contact lenses. In addition, *Acanthamoeba* species can lead to pneumonia, sinus infections, and serious dermal lesions in individuals with immune system deficiencies (2). Till date, based on 18S ribosomal DNA sequencing, 18 different genotypes of *Acanthamoeba* (T1–T18) have been identified. The most common pathogenic isolates are the T3, T4, and T5 genotypes (3). Most of the separated genotypes from clinical and environmental samples worldwide and in Iran belong to the T4 genotype, and it is the most important genotype isolated during amoeba keratitis and GAE (2-4).

The isolation of *Acanthamoeba* genotypes from environmental sources and human clinical cases has been reported from many parts of the world (3-6). Tanveer et al. (1) (2013) found seven pathogenic and non-pathogenic genotypes of *Acanthamoeba* in drinking water in Pakistan. *Acanthamoeba* genotyping has been performed in different environmental sources in Iran. A study by Rahdar et al. (5) for determining the *Acanthamoeba* genotype from environmental resources in Ahvaz city showed that from 110 water and soil samples, 43 water samples (71.6%) and 13 soil samples (26%) were infected with *Acanthamoeba*, species that genotype of 15 samples belonged to T4 (86.6%), T2(6.6%) and T5(6.6%). Hooshyar et al. (6) investigated 40 stagnant water samples in Qazvin city and found that 43.8% of the surface water was infected by *Acanthamoeba* sp. That genotype of 11 samples (78.6%) belonged to T4 and 3 samples (21.4%) to T2.

According to previous studies, water resources are one of the most important risk factors for separated of this potential pathogen amoeba (5-7).

**Objectives:** Due to specific climatic conditions, Sistan and Balochistan regions are couple of the most important regions for studying the transmission of the pathogenic genotypes of this parasite. The aim of the present study was to detect and determine different genotypes of *Acanthamoeba* residing in stagnant water in Sistan region in southeast Iran using molecular biology techniques.

## METHODS

### Sampling

In this descriptive study, a total of 93 water samples from pools and ponds were randomly collected in Sistan region (Zabol, Zahak, Hirmand, Hamoon, and Nimrooz) in southeast Iran in 2014. All samples were collected in a receptacle 1000 mL screw cap tube and were transferred to the Parasitology and Mycology Laboratory, School of Medicine, Zabol University of School of Medicine.

### Filtration and cultivation

Samples were filtered by a pumping machine through 0.45- $\mu$ m nitrocellulose paper filters. The sediment on filters in upside down way conveyed in 1.5% non-nutrient agar medium was prepared with amoeba page saline and covered by heat-killed *Escherichia coli* (7). The medium was completely blocked by parafilm and was placed at 27°C. The plates was studied daily from the third day by light microscopy. Positive free-living amoeba plates were separated for conducting the next phases of the study, and due to the late growth of some free-living amoeba, other plates were kept and investigated for 1 month and were then removed from the study as negative samples.

### Harvesting amoeba from culture

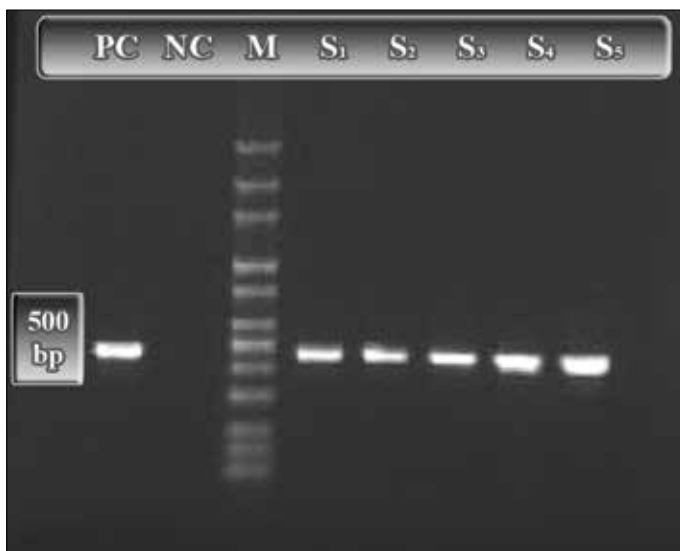
Harvesting amoeba from the medium established by sterile swab and adding 5 mL of phosphate-buffered saline (PBS) to the medium. The solution was transferred to a distinct bottle and was washed three times by sterile PBS (pH=7.2) at 2500 rpm for 2.5 min. Finally, the supernatant was removed and sediment (Figure 1) which having some enough amoeba for extracting DNA, transferred to 1.5-ml micro-tubes and kept in a -20°C freezer for further examination.

### DNA extraction and polymerase chain reaction (PCR)

DNA extraction was performed using a Dyna Bio kit (Takapuzist, Iran). PCR was performed using a pair of specialized primers, JDP1 and JDP2, that amplified a 423 to 551-base pair fragment in 18S ribosomal DNA specific to *Acanthamoeba* sp. (8). The sequences of these primers were as follows:



**Figure 1.** A free-living amoeba cyst from one of the studied ponds in Zabol city in non-nutrient agar medium (magnification, 400 $\times$ )



**Figure 2.** Electrophoresis of PCR products of *Acanthamoeba*-positive samples from pools and pond water in Sistan region  
M: marker; PC: positive control; NC: negative control; S: sample

**Table 1.** Genotyping of 38 isolates of *Acanthamoeba* isolated from stagnant water in Sistan region in Iran in 2014

Genotype City	T4 NO. (%)	T5 NO. (%)	T3 NO. (%)	Total NO. (%)
Zabol	20 (90.1)	1 (4.5)	1 (4.5)	22 (100)
Zahak	4 (80)	1 (20)	0 (0)	5 (100)
Hirmand	4 (100)	0 (0)	0 (0)	4 (100)
Nimrooz	4 (80)	1 (20)	0 (0)	5 (100)
Hamoon	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)
Total	34 (89.47)	3 (7.9)	1(2.63)	38 (100)

Forward-JDP1: (5'-GGCCCAGATCGTTTACCGTGAA)

Reverse- JDP2: (5'-TCTCACAAGCTGCTAGGGGAGTCA)

Polymerase chain reaction was performed in 20-µl volumes in 0.5 mL micro-tubes. The reaction mixture contained 10 mM Tris-HCl (pH=8.9) (final concentration), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 nM of each deoxynucleotide triphosphate (dNTP), 10 pmol of each primer, and 0.25 mL of Taq DNA polymerase (5 U/mL), and 1–2 µl of DNA.

Amplification was done using a thermocycler (Eppendorf, Germany) established by following application in 33 cycles: denaturation at 94°C for 35 s, annealing at 57°C for 45 s, extension at 72°C for 1 min, and final extension at 72°C for 5 min.

The PCR product was loaded on 1% agarose gel (containing 1 ng/mL of ethidium bromide) by electrophoresis and was visualized under ultraviolet light (Gel Doc SYNCENE) for specific band identification.

#### Acanthamoeba genotyping

The sequencing of PCR products was conducted by an automatic sequencer (ABI 3730XL Genetic Analyzer, USA) in Takapuzist

(Takapuzist CO, Tehran, Iran). The results were analyzed using the Basic Local Alignment Search Tool in the National Center for Biotechnology Information database and by comparing with the sequence strains registered in GenBank for determining the genotypes of the isolates.

#### Statistical analysis

The results were recorded in data forms. For statistical analysis, Statistical Package for the Social Sciences 16.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) was used for evaluation.

#### RESULTS

Of the 93 studied water samples, 82 samples (88.17%) were positive for free-living amoeba. *Acanthamoeba* sp. was identified in 38 samples (46.34%), which showed a 500-bp band using specialized primers JDP1 and JDP2 (Figure 2). Results of nucleotide sequencing showed 38 positive samples of *Acanthamoeba* in Sistan region, including 34 samples (89.47%) belonging to the T4 genotype, three (7.9%) to the T5 genotype, and one (2.63%) to the T3 genotype (Table 1). The partial sequences of 26 isolates were registered in GenBank (GI: 937943636–937943644, 957656390–957656396, 957516539–957516541, 930588826–930588829, 965641757, 965641754, and 957656403).

#### DISCUSSION

The purpose of this study was to determine the prevalence and genotype of *Acanthamoeba* sp. in stagnant water in Sistan region in southeast Iran. *Acanthamoeba* sp. is abundant in environmental resources including stagnant water, swimming pools, and ponds. Human contact with this potential pathogenic amoebic parasite during daily life and an increasing number of contact lens users are risk factors for the transmission of *Acanthamoeba* to humans (2, 6, 8). The results of this study demonstrated that pond water and many pools and (46.34%) in Sistan region contain *Acanthamoeba* strains.

The prevalence of *Acanthamoeba* in different environmental sources has been studied in some regions of the world. The infection rate from *Acanthamoeba* has been reported to be 6.7% in public bathrooms in Hungary (9). The prevalences of *Acanthamoeba* in rivers water samples in America, Jamaica, Germany, and Bulgaria were 7%, 26.4%, 79%, and 94%, respectively (4). *Acanthamoeba* was isolated from 21%, 22.5%, 26.3%, 36.1%, and 59.5% of household water sources in Spain, Nicaragua, Japan, Brazil, and Mexico respectively (10-14).

Rezaeian et al. (15) reported that 46.25% of different environmental source samples in Tehran were infected with *Acanthamoeba*. A study by Hooshyar et al on surface stagnant water in Qazvin city found that 43.8% of the samples were infected with *Acanthamoeba* strains (6).

The results of nucleotide sequencing in this study showed that most isolates belonged to the T4 genotype (89.47%), followed by the T5 genotype and the T3 genotype (7.9%). All these genotypes are pathogenic and can cause dangerous infections such as GAE and amoeba keratitis (2, 3). Several studies have shown that the T4 genotype is the most prevalent genotype isolated from environmental and clinical samples in Iran and worldwide (3, 5, 7, 8, 16). A study by Evyapan et al. (17) in 50

water samples and 50 soil samples in Turkey showed that the T4, T3 and T15 genotypes were detected in water samples and the T4 and T3 genotypes were detected in soil samples (17).

The T4 genotype was the predominant genotype (78.6%) in surface stagnant water in Qazvin city (6). In addition, some studies on soil samples from parks in Tehran, water sources in Poland, and a keratitis patient in China showed that all samples studied belonged to the T4 genotype (18-20).

A study on 110 water and soil samples in Ahwaz showed that 43 water samples (71.6%) and 13 soil samples (26%) were infected with *Acanthamoeba* and that they belonged to the T4 (86.6%), T2(6.6%), and T5(6.6%) genotypes (5).

The T4 genotype is the most prevalent genotype in environmental sources. This genotype is one of the most virulent genotypes and has an increasing importance due to its high range of distribution in environmental sources and the resistance of its cysts to antiseptics (2, 3).

The severity of disease in a person infected by the T4 genotype of *Acanthamoeba* will be enhanced as this genotype produces more cytotoxic factors than the T5, T3, and T2 genotypes (21).

The distribution and high prevalence of *Acanthamoeba* genotypes in pools and pond water in Sistan region are very important. The climatic condition of Sistan region is particular: blowing 120 day winds, lots of dust and dirt in air, little annual rainfall, and poor environmental water resources, which result in the increased transmission of this parasite and diseases arising from it. A study in Turkey showed that *Acanthamoeba* keratitis is associated with contact with domestic tap water in individuals who have ocular surface disease or ocular trauma in areas potentially endemic to *Acanthamoeba* (22). As the predominantly recognized genotype in present study is T4 and based on the fact that this genotype is one of the most important causes of *Acanthamoeba* infections, water resources in this study can be considered as an important source for the transmission of infection. Authorities and health managers should pay more attention in managing water resources, and the awareness of therapeutic system personnel in recognizing this amoeba should be increased. Sanitary principals and training health authorities and more investigation in environmental resources and clinical samples in this region will be effective on prevention of *Acanthamoeba* infections.

## CONCLUSION

All genotypes found in this study are potentially pathogenic; the T4 genotype is the main genotype of *Acanthamoeba* responsible for amoebic keratitis. Resource water is a potential risk factor for the distribution of free-living amoeba. Therefore, more attention of health authorities to determine, training and prevention from infection are recommended.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was not received for this study.

**Informed Consent:** Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

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

**Author Contributions:** Concept - A.A., H.H.; Design - A.A., H.H.; Supervision - H.H., M.D.; Funding - A.A., H.H., M.D.; Materials - A.A.; Data Collection and/or Processing - A.A., H.H.; Analysis and/or Interpretation - H.H., M.D.; Literature Review - Y.M.; Writing - H.H., A.A.; Critical Review - Y.M.; Other - A.A.

**Acknowledgement:** The authors would like to appreciate faculty members and personnel of parasitology departments in Zabol and Kashan Universities of Medical Sciences.

**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:** Bu çalışma için etik komite onayı alınmamıştır.

**Hasta Onamı:** Not required in this study.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - A.A., H.H.; Tasarım - A.A., H.H.; Denetleme - H.H., M.D.; Kaynaklar - A.A., H.H., M.D.; Malzemeler - A.A.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - A.A., H.H.; Analiz ve/veya Yorum - H.H., M.D.; Literatür Taraması - Y.M.; Yazıyı Yazan - H.H., A.A.; Eleştirel İnceleme - Y.M.; Other - A.A.

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

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

## REFERENCES

1. Tanveer T, Hameed A, Gul Muazzam A, Jung S, Gul A, Matin A. Isolation and molecular characterization of potentially pathogenic *Acanthamoeba* genotypes from diverse water resources including household drinking water from Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Parasitol Res* 2013; 112: 2925-33. [CrossRef]
2. Rezaeian M, Niyayati M. Pathogenic free living amebas in human: Tehran University of Medical Sciences; 2008.
3. Khan NA. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiol Rev* 2006; 30: 564-95. [CrossRef]
4. Kao PM, Hsu BM, Chen CT, Huang SW, Kao ES, Chen JL, et al. Identification and quantification of the *Acanthamoeba* species and genotypes from reservoirs in Taiwan by molecular techniques. *Acta tropica* 2014; 132: 45-50. [CrossRef]
5. Rahdar M, Niyayati M, Salehi M, Fegghi M, Makvandi M, Pourmehdi M, et al. Isolation and genotyping of *Acanthamoeba* strains from environmental sources in Ahwaz City, Khuzestan Province, Southern Iran. *Iran J Parasitol* 2012; 7: 22-6.
6. Hooshyar H, Hoosinbagi B, Saraei M, Alizadeh S, Eftakhar M, Rasti S, et al. Genotyping of *Acanthamoeba* Isolated From Surface and Stagnant Waters of Qazvin, Central Iran. *Iran Red Crescent Med J* 2013; 15: 536-8. [CrossRef]
7. Niyayati M, Lorenzo-Morales J, Rezaie S, Rahimi F, Mohebbi M, Maghsood AH, et al. Genotyping of *Acanthamoeba* isolates from clinical and environmental specimens in Iran. *Exp Parasitol* 2009; 121: 242-5. [CrossRef]
8. Schroeder JM, Booton GC, Hay J, Niszl IA, Seal DV, Markus MB, et al. Use of subgenomic 18S ribosomal DNA PCR and sequencing for genus and genotype identification of *Acanthamoebae* from humans with keratitis and from sewage sludge. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 903-11. [CrossRef]
9. Kiss C, Barna Z, Vargha M, Török JK. Incidence and molecular diversity of *Acanthamoeba* species isolated from public baths in Hungary. *Parasitol Res* 2014; 113: 2551-7. [CrossRef]



10. Leiva B, Clasdotter E, Linder E, Winięcka-Krusnell J. Free-living *Acanthamoeba* and *Naegleria* spp. amoebae in water sources of León, Nicaragua. *Rev Biol Trop* 2008; 56: 439-46.
11. Lorenzo-Morales J, Ortega-Rivas A, Foronda P, Martínez E, Valladares B. Isolation and identification of pathogenic *Acanthamoeba* strains in Tenerife, Canary Islands, and Spain from water sources. *Parasitol Res* 2005; 95: 273-77. [\[CrossRef\]](#)
12. Edagawa A, Kimura A, Kawabuchi-Kurata T, Kusuhara Y, Karanis P. Isolation and genotyping of potentially pathogenic *Acanthamoeba* and *Naegleria* species from tap-water sources in Osaka, Japan. *Parasitol Res* 2009; 105: 1109-17. [\[CrossRef\]](#)
13. Magliano AC, da Silva FM, Teixeira MM, Alfieri SC. Genotyping, physiological features and proteolytic activities of a potentially pathogenic *Acanthamoeba* sp. isolated from tap water in Brazil. *Exp Parasitol* 2009; 123: 231-35. [\[CrossRef\]](#)
14. Bonilla-Lemus P, Ramírez-Bautista GA, Zamora-Munoz C, Ibarra-Montes R, Ramírez-Flores E, Hernández-Martínez MD. *Acanthamoeba* spp. In domestic tap water in houses of contact lens wearers in the metropolitan area of Mexico City. *Exp Parasitol* 2010; 126: 54-8. [\[CrossRef\]](#)
15. Rezaeian, M, Niyati M, Farnia Sh, Motevalli Haghi A. Isolation of *Acanthamoeba* Spp. from Different Environmental Sources. *Iran J Parasitol* 2008; 3: 44-7.
16. Lorenzo-Morales J, Ortega-Rivas A, Martínez E, Khoubbane M, Artigas P, Periago MV, et al. *Acanthamoeba* isolates belonging to T1, T2, T3, T4 and T7 genotypes from environmental freshwater samples in the Nile Delta region, Egypt. *Acta Trop* 2006; 100: 63-9. [\[CrossRef\]](#)
17. Evyapana G, Koltasa I S, Eroglu F. Genotyping of *Acanthamoeba* T15: the environmental strain in Turkey. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2015; 109: 221-4. [\[CrossRef\]](#)
18. Lass A, Szostakowska B, Idzińska A, Chomicz L. The first genotype determination of *Acanthamoeba* potential threat to human health, isolated from natural water reservoirs in Poland. *Parasitol Res* 2014; 113: 63-9. [\[CrossRef\]](#)
19. Ebrahimi M, Niyati M, Haghghi A, Haydari S. Isolation and genotyping of *Acanthamoeba* spp. from recreational soil of parks in Tehran, Iran. *Armaghane-danesh*, 2013; 4:530-8.
20. Zhao G, Sun S, Zhao J, Xie L. Genotyping of *Acanthamoeba* isolates and clinical characteristics of patients with *Acanthamoeba* keratitis in China. *J Med Microbiol* 2010; 59: 462-6. [\[CrossRef\]](#)
21. Hajjalilo E, Niyati M, Solaymani M, Rezaeian M. Pathogenic free-living amoebae isolated from contact lenses of keratitis patients. *Iranian J Parasitol* 2015; 10: 541-6.
22. Koltas IS, Eroglu F, Erdem E, Yagmur M, Tanir F. The role of domestic tap water on *Acanthamoeba* keratitis in non-contact lens wearers and validation of laboratory methods. *Parasitol Res*. 2015; 114:3 [\[CrossRef\]](#)

# 2012-2014 Yılları Arasındaki Üç Yıllık Dönemde Hastanemiz Parazitoloji Laboratuvarına Kabul Edilen Dışkı Örneklerinde Saptanan Parazitlerin Dağılımı

Distribution of Parasites Detected in Stool Samples of Patients Admitted to Our Parasitology Laboratory during a Three-Year Period between 2012 and 2014

Mehmet Burak Selek<sup>1</sup>, Bayhan Bektöre<sup>1</sup>, Ergenekon Karagöz<sup>2</sup>, Orhan Baylan<sup>1</sup>, Mustafa Özyurt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gülhane Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Medikal Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Gülhane Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Paraziter hastalıklar dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de önemli bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Tanı için birçok test olmasına karşın bu testlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin yeterli olmadığı kabul edilmektedir. Bununla birlikte en yaygın olarak kullanılan tanı yöntemi mikroskopik incelemedir. Çalışmamızda, 2012-2014 yılları arasında üç yıllık dönemde hastanemiz parazitoloji laboratuvarına kabul edilen dışkı örneklerinde saptanan parazitlerin yıllara, yaş ve cinsiyet gibi verilere göre dağılımının ortaya konulması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Çalışmaya laboratuvarımıza gönderilen 6757 hastaya ait dışkı örneği dahil edilmiştir. Tüm örnekler makroskopik incelemenin ardından fizyolojik salin ve lügol ile ıslak preparatlar hazırlanarak X100 ve X400 büyütmede ışık mikroskopunda incelenmiştir.

**Bulgular:** Örneklerin %3,7'sinde (252) parazit varlığı saptanırken, %96,3'ünde (6505) parazit gözlenmemiştir. Çalışmamıza görülen bağırsak parazitlerinin dağılımı sırasıyla *Blastocystis hominis* (%63,5), *G. intestinalis* (%26,2), *Taenia* sp. (%4,8), *Enterobius vermicularis* (%2,4), *Entamoeba histolytica/dispar* (%1,6), *Hymenolepis nana* (%1,6) olarak tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Barsak parazitlerinin toplum sağlığı üzerine etkileri göz önüne alındığında halen ülkemiz için önemli bir sağlık sorunu olduğu değerlendirilmiş olup bireylerin eğitimi, etkin tanı, tedavi ve koruyucu önlemlerin hayata geçirilmesi ile paraziter hastalıkların toplumdaki sıklığının azalacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Bağırsak parazitleri, mikroskopik inceleme, paraziter hastalıklar

**Geliş Tarihi:** 02.10.2015 **Kabul Tarihi:** 23.06.2016

## ABSTRACT

**Objective:** Parasitic diseases are among the major public health issues worldwide. A number of tests are available for diagnosis, but the sensitivity and specificity of these tests are assumed to be insufficient. Nevertheless, the most common diagnostic method is microscopic examination. In this study, we aimed to introduce the distribution of parasites detected in stool samples of patients admitted to our laboratory on the basis of parameters such as, age, and gender during a 3-year period between 2012 and 2014.

**Methods:** In total, 6757 stool samples were included in the study. After macroscopic examination, wet mounts of all samples were examined under a light microscope using ×100 and ×400 magnification lenses. Wet mounts were prepared with physiological saline and Lugol's iodine.

**Results:** Parasites were detected in 3.7% (252) of the samples, while no parasites were detected in 96.3% (6505) of the samples. The distribution of intestinal parasites was as follows: *Blastocystis hominis* (63.5%), *Giardia intestinalis* (26.2%), *Taenia* sp. (4.8%), *Enterobius vermicularis* (2.4%), *Entamoeba histolytica/dispar* (1.6%), and *Hymenolepis nana* (1.6%).

**Conclusion:** When the burden of intestinal parasites on public health is considered, they are still a major health issue in Turkey. The frequency of parasitic diseases can be reduced by the education of individuals and implementation of effective diagnostic methods, treatments, and preventive measures.

**Keywords:** Intestinal parasites, microscopic examination, parasitic diseases

**Received:** 02.10.2015 **Accepted:** 23.06.2016

**Bu çalışma, Uluslararası 7. EACID (Eurasia Congress of Infectious Diseases) Kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.**

**This study was presented at the 7<sup>th</sup> Congress of EACID (Eurasia Congress of Infectious Diseases).**

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Mehmet Burak Selek E.mail: mbselek@gata.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2016.4533

©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

Bağırsak parazitlerine bağlı enfeksiyonlar gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde halen önemli bir sağlık sorunu olarak görülmektedir. Paraziter enfeksiyonlar özellikle, sosyoekonomik ve eğitim düzeyi düşük, yaşam standartları belirli bir seviyenin altında olan toplumları etkilemektedir (1-3). Paraziter etkenlerin bulaşı genellikle kontamine gıdalarla olmaktadır. Paraziter hastalıkların tanısı endemik olmayan bölgelerde oldukça zordur. Tanı için birçok test olmasına karşın bu testlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin yeterli olmadığı kabul edilmektedir. Bununla birlikte en yaygın olarak kullanılan tanı yöntemi mikroskopik incelemedir. Bu yöntemin kısa sürede yapılabilir olması ve kolaylığı sebebiyle hemen tüm parazitoloji laboratuvarında kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemin uygulanmasında deneyimli personele ihtiyaç duyulması önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmakta ve yöntemin güvenilirliğini azaltabilmektedir. Bu durumu tanı lehine çevirmek adına üç ayrı günde alınan örneğin değerlendirilmesi önerilmektedir (4, 5).

Bu çalışmada, 2012-2014 yılları arasında üç yıllık dönemde hastanemiz parazitoloji laboratuvarına kabul edilen dışkı örneklerinde saptanan parazitlerin yıllara, yaş ve cinsiyet gibi verilere göre dağılımının ortaya konulması amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

Bu çalışmada, 1 Ocak 2012 - 31 Aralık 2014 tarihleri arasında üç yıllık sürede gastrointestinal sistem yakınmaları nedeni ile hastaneye başvuran hastaların dışkı örnekleri Helsinki Declaration'a uygun olarak retrospektif olarak incelenmiş ve saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı, değerlendirilmiştir. Dışkı örnekleri öncelikle; koku, kıvam, mukus-kan içeriği ve parazitlerin erişkin formlarına ait yapılar yönünden makroskopik olarak incelenmiştir. Daha sonra tüm dışkı örnekleri ıslak preparat ve lugol ile boyanmış ve X100 ve X400 büyütmede ışık mikroskopunda incelenmiştir. *Cryptosporidium*, *Cyclospora* veya *Isospora* ön tanısıyla gönderilen örneklerde ve lugolle boyanan preparatlarda şüpheli bulunan durumlarda modifiye Kinyoun aside dirençli boyama ve diğer bağırsak protozoonları için trikrom boyama yapılmış ve x1000 büyütmede incelenmiştir.

## İstatistiksel analiz

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, Statistical Package for the Social Sciences for Windows 16.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, ABD) programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel analizler (frekans, yüzde) kullanılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmaya laboratuvarımıza gönderilen 6757 hastaya ait dışkı örneği alınmıştır. Bu örneklerin %35,1'i (2369) kadın hastalardan, %64,9'u (4388) erkek hastalardan alınmıştır. Örnek alınan hastaların %14,5'i (983) 0-15 yaş, %38,9'u (2626) 16-30 yaş, %14,9'u (1010) 31-45 yaş, %11,8'i (796) 46-60 yaş, %19,9'u (1342) 61 yaş ve üzerindeki hastalardan oluşmaktaydı. Kabul edilen örneklerin %3,7'sinde (252) parazit varlığı saptanırken, %96,3'ünde (6505) parazit gözlenmemiştir. Çalışmamıza görülen bağırsak parazitlerinin dağılımı sırasıyla *Blastocystis hominis* (%63,5), *G. intestinalis* (%26,2), *Teniae sp.* (%4,8), *Enterobius vermicularis* (%2,4),

**Tablo 1.** Saptanan parazitlerin dağılımı

	n	%
<i>Blastocystis hominis</i>	160	63,5
<i>Giardia intestinalis</i>	66	26,2
<i>Taenia sp</i>	12	4,8
<i>Enterobius vermicularis</i>	6	2,4
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	4	1,6
<i>Hymenolepis nana</i>	4	1,6
Toplam	252	

**Tablo 2.** Saptanan parazitlerin cinsiyete göre dağılımı

	Cinsiyet		Toplam
	Kadın	Erkek	
<i>Blastocystis hominis</i>	56	104	160
<i>Giardia intestinalis</i>	14	52	66
<i>Taenia sp.</i>	2	10	12
<i>Enterobius vermicularis</i>	4	2	6
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1	3	4
<i>Hymenolepis nana</i>	2	2	4
Toplam	79	173	252

**Tablo 3.** Saptanan parazitlerin yaş gruplarına göre dağılımı

	Yaş					Toplam
	0-15	16-30	31-45	46-60	60+	
<i>Blastocystis hominis</i>	8	76	31	15	30	160
<i>Giardia intestinalis</i>	5	38	6	2	15	66
<i>Taenia sp.</i>	0	9	2	1	0	12
<i>Enterobius vermicularis</i>	3	2	1	0	0	6
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	1	0	2	1	0	4
<i>Hymenolepis nana</i>	0	2	1	1	0	4
Toplam	17	127	43	20	45	252

*Entamoeba histolytica/dispar* (%1,6), *Hymenolepis nana* (%1,6) olarak tespit edilmiştir (Tablo 1).

Parazit saptanan hastaların %6,7'si (17) 0-15 yaş grubunda, %50,4'ü 16-30 yaş grubunda (127), %17,1'i (43) 31-45 yaş grubunda, %7,9'u (20) 46-60 yaş grubunda, %17,9'u (45) ise 61 yaş ve üstünde olduğu bulundu. Ayrıca parazit saptanan hastaların %68,7'si (173) erkek, %31,3'ünün (79) kadın olduğu ortaya kondu. Çalışmada değerlendirilerek saptanan parazitlerin cinsiyete ve yaşa göre dağılımı sırasıyla Tablo 2 ve 3'te gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

Paraziter hastalıklar dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de önemli bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Parazitlerin neden olduğu enfeksiyonlardan korunmak ve etkin tedavi stratejileri geliştirmek için bölgesel epidemiyolojik veriler önem taşımaktadır. Ülkemizde parazitlerinin görülme sıklığına

ilişkin sonuçların yıllara ve bölgelere göre değişkenlik gösterdiği çok sayıda yayın bulunmaktadır.

Ülkemizde bağırsak parazitlerinin bölgesel dağılımı değerlendirildiğinde Marmara Bölgesinde %10-34, Karadeniz Bölgesinde %54-94, Ege bölgesinde %12-40, Akdeniz Bölgesinde %55-80, İç Anadolu Bölgesinde %50-75, Doğu Anadolu Bölgesinde %60-94, Güneydoğu Anadolu Bölgesinde %64-96 oranlarında olduğu raporlanmıştır (6).

Ülkemizde yapılmış birçok çalışmada *G. intestinalis*'in diğer parazitlere göre daha sık olarak saptanan paraziter enfeksiyon etkeni olduğu gözlenmiştir. Zarakolu ve ark. (7) yapmış oldukları çalışmada 42.158 dışkı materyalini değerlendirmeye alınmış, örneklerin %11,5'inde *Giardia intestinalis*, %1,7'sinde *Enterobius vermicularis*, %1,2'sinde *Hymenolepis nana* saptanmıştır.

Çakar ve ark. (8) yapmış olduğu bir diğer çalışmada 58.150 örnek incelenmiş ve bu örneklerin 2.117'sinde (%3,6) bir veya daha fazla paraziter enfeksiyon etkeni saptanmış olup en sık görülen parazitler etkenler *Giardia intestinalis* (%69,5), *Enterobius vermicularis* (%9,7) ve *Taenia saginata* olarak bulunmuştur. Bir diğer çalışmada, Gülmez ve ark. (1) 10 yıl süre ile parazitoloji laboratuvarına gelen 87.100 klinik örneği değerlendirmişler; bu örneklerin 85.707'sini (%98,4) dışkı örneklerinden oluştuğunu ve bunların da 3681'inde (%4,2) parazit tespit edildiğini raporlamışlardır. Paraziter etken tespit edilen örneklerin dağılımı incelendiğinde bunların en sık rastlanan parazitlerin sırasıyla *Giardia intestinalis* (%40), *Blastocystis* spp. (%22), *Entamoeba coli* (%12), *Dientamoeba fragilis* (%9), *Enterobius vermicularis* (%5), *Echinococcus* spp. (%4) ve *Taenia* spp. (%3) oldukları saptanmıştır (1). Çulha ve ark. (3) Hatay'da 3679 gaita örneğinin %21,03'ünde bağırsak paraziti tespit etmişler, en sık görülen bağırsak parazitlerinin *G. intestinalis* (%25,8), *Blastocystis* spp. (%18,30) olduğunu raporlamışlardır (3).

Bizim çalışmamızda da 6757 gaita örneğinin %3,7'sinde bağırsak paraziti saptanmış, ve en sık görülen bağırsak parazitlerinin *Blastocystis hominis* (%65,3) ve *G. intestinalis* (%26,2) olduğu tespit edilmiştir.

Son yıllarda *Blastocystis* spp.'nin en sık görülen parazit etkeni olduğu bildirilmektedir. *Blastocystis* spp. immünsüpresif kişilerde saptanabilen ve gürültülü gastrointestinal semptomlarla birlikte paraziter enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkabildiği gibi, gastrointestinal ve diğer klinik semptomlar olmaksızın sağlıklı bireylerin gaitasında da saptanabilmektedir (9, 10). Ayrıca atopik bünyeli bireylerde de *Blastocystis* spp.'nin daha sık saptanabildiği de bildirilmiştir (10). Literatürde, reaktif artrit ve kronik ürtiker gibi çeşitli ekstraintestinal tablolar ile de bu etkenin ilişkili olabileceği bildirilmiştir (1).

Bu paraziter enfeksiyon etkeninin özellikle gelişmekte olan ülkelerde, tropikal bölgelerde prevalansının (%30-50) daha yüksek olduğu; gelişmiş ülkelerde ise prevalansın düştüğü (%1,5-10) raporlanmıştır. Köksal ve ark. (11) İstanbul ve çevresinde yapmış oldukları çalışmada 27664 dışkı örneğinde parazit görülme oranı %4 olarak bulunmuş; en sık saptanan bağırsak paraziter etkeninin *Blastocystis* spp. (%2,1) olarak bildirilmiştir. Usluca ve ark. (12) İzmir'de yürüttükleri bir çalışmada da 7712 hasta sonucu incelenmiş ve 495 hastada (%6,41) bir veya birden fazla parazit saptanmıştır. Bu olguların çok büyük kısmının (%44,04) *Blastocystis* spp.

olduğu gözlenmiş, *E. histolytica/dispar* dışındaki amipler %21,82, *G. intestinalis* %16,57, *E. vermicularis* %10,1 oranında görülmüştür. Usluca ve ark. (13) yine aynı merkezde 2005-2008 yıllarını kapsayan bir başka çalışmada ise bir önceki çalışmaya paralel olarak *Blastocystis* spp. en sık saptanan bağırsak paraziti olarak bildirilmiş ancak saptanma oranının %4,83'e düştüğü gözlenmiştir. Erciyes Üniversitesi'nde yapılan, 2000-2004 ve 2005-2008 yıllarını kapsayan iki çalışmada da sırasıyla %27,8 ve %24,13 olguda bağırsak paraziti saptanmış ve en sık görülen bağırsak paraziti olarak *Blastocystis* spp. olarak raporlanmıştır (14, 15). Bizim çalışmamızda %3,7 olguda bağırsak paraziti saptanmış, ve en sık görülen bağırsak paraziti bu çalışmaya benzer şekilde *Blastocystis hominis* olarak tespit edilmiştir.

Özyurt ve ark. (16) yaptığı çalışmada, çalışmamıza benzer şekilde erkek cinsiyette kadın cinsiyetle karşılaştırıldığında bağırsak paraziti saptanma oranı daha yüksek bulunmuştur. Yine aynı çalışma da çalışmamıza benzer şekilde 16-30 yaş arasında bağırsak paraziti saptanma oranı daha yüksek bulunmuştur.

## SONUÇ

Barsak parazitlerinin toplum sağlığı üzerine etkileri göz önüne alındığında halen ülkemiz için önemli bir sağlık sorunu olduğu değerlendirilmiştir. Ülkemizde paraziter hastalıklar yönünden toplumdaki bireylerin eğitimi önemli olup etkin tanı, tedavi ve koruyucu önlemlerin hayata geçirilmesi ile toplumdaki sıklığının azalacağı düşünülmektedir. Bir diğer önemli husus ise direk mikroskopik inceleme, tanı için subjektif bir yöntem olup değerlendirmeyi yapan doktor ya da sağlık personelinin deneyim ve eğitim düzeyine göre farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu sebeple, mikroskopik incelemenin yeterli deneyime sahip sağlık personeli tarafından yapılması ve bu yöntemin diğer tanı yöntemleri ile birlikte kullanımı ve de ardışık üç farklı örneğin değerlendirilmesi doğru tanı koyma ihtimalini arttıracak ve kolaylaştıracaktır.

**Etik Komite Onayı:** Yazarlar çalışmanın World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013) prensiplerine uygun olarak yapıldığını beyan etmişlerdir.

**Hasta Onamı:** Çalışmanın retrospektif tasarımından dolayı hasta onamı alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - M.B.S.; Tasarım - M.B.S., B.B.; Denetleme - E.K., O.B., M.Ö.; Kaynaklar - M.B.S.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - M.B.S., E.K.; Analiz ve/veya Yorum - M.B.S.; Literatür Taraması - O.B., M.Ö.; Yazıyı Yazan - M.B.S., E.K.; Eleştirel İnceleme - B.B., O.B., M.Ö.

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

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

**Ethics Committee Approval:** Authors declared that the research was conducted according to the principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013).

**Informed Consent:** Çalışmanın retrospektif tasarımından dolayı hasta onamı alınmamıştır.

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

**Author Contributions:** Concept - M.B.S.; Design - M.B.S., B.B.; Supervision - E.K., O.B., M.Ö.; Funding - M.B.S.; Data Collection and/or Processing - M.B.S., E.K.; Analysis and/or Interpretation - M.B.S.; Literature Review - O.B., M.Ö.; Writing - M.B.S, E.K; Critical Review - B.B., O.B., M.Ö.

**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. Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2003-2012 Yılları Sonuçları: 10 Yıllık Değerlendirme. Türkiye Parazit Derg 2013; 37: 97-101. [\[CrossRef\]](#)
2. Yaman O, Yazar S, Özcan H, Çetinkaya Ü, Gözkenç N, Ateş S, et al. 2005-2008 Yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'na başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazit Derg 2008; 3: 266-70.
3. Çulha G. Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarına Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 302-4.
4. Babür C, Özkan AT, Kılıç S, Taştan S, Danışmaz O, Esen B. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı parazitoloji laboratuvarında 2000-2004 yıllarında saptanan barsak parazitlerinin değerlendirilmesi. Türk Hij Den Biyol Derg 2009; 66: 15-9.
5. Doğan N, Öz Y, Koçman NÜ, Nursal AF. Comparison of individual differences in the direct microscopic examination in the diagnosis of intestinal parasites. Türkiye Parazit Derg 2012; 36: 211. [\[CrossRef\]](#)
6. Çolak H. Türkiyede bağırsak parazitlerinin bölgesel yaygınlığı. Mikrobiyoloji Bül 1979; 13: 115-27.
7. Zarakolu P, Aydın G, Çöplü N. 1986-1992 Yıllarında Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı Parazitoloji Laboratuvarında dışkıların parazitolojik inceleme sonuçları. Mikrobiyol Bul 1994; 28: 170-4.
8. Cakar A, Ergüven S, Gunalp A. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında 5 Yıllık Süre İçinde İncelenen Örneklerde Parazit Saptanma Oranı. Mikrobiyol Bul 2002; 36: 207-13.
9. Doğruman Al F, Hökelek M. Blastocystis hominis Fırsatçı Bir Patojen mi? Türkiye Parazit Derg 2007; 31: 28-36.
10. Özçakır O, Güreser S, Ergüven S, Akyön Yılmaz Y, Toplaoğlu R, Hasçelik G. Türkiye'deki bir üniversite hastanesinde Blastocystis hominis enfeksiyonunun karakteristiği. Türkiye Parazit Derg 2007; 31: 277-282
11. Köksal F, Başlantı I, Samastı M. A retrospective evaluation of the prevalence of intestinal parasites in Istanbul, Turkey. Türkiye Parazit Derg 2010; 34: 166-71.
12. Usluca S, Yalçın G, Över L, Tuncay S, Şahin S, İnceboz T, et al. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde 2003-2004 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 308-12.
13. Usluca S, Inceboz T, Over L, Tuncay S, Yalcin G, Arcak SS, et al. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde 2005-2008 Yılları Arasında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. Türkiye Parazit Derg 2010; 34: 27-31.
14. Düzyol D, Kilimcioğlu AA, Özyurt BC, Özkan H, Girginkardeşler N. Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji Polikliniğinde 2006-2010 yılları arasında saptanan bağırsak parazitlerinin insidansı. Türkiye Parazit Derg 2012; 36: 147-51.
15. Yılmaz H, Taş-Cengiz Z, Ceylan A, Ekici A. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına 2009 yılında başvuran kişilerde bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazit Derg 2012; 36: 105-8. [\[CrossRef\]](#)
16. Özyurt M, Kurt Ö, Yaman O, Ardiç N, Haznedaroğlu T. Bir Eğitim Hastanesi Koproloji Laboratuvarında Geçen Dört Yıllık Dönemde Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Değerlendirilmesi. Türkiye Parazit Derg 2007; 31: 306-8.

# Comparative Analysis of Serum Mineral Levels and Parasite Load in Goats Naturally Infected with Gastrointestinal Nematodes

Gastrointestinal Nematodlar ile Doğal Enfekte Keçilerde Parazit Yüğü ile Serum Mineral Düzeylerinin Karşılaştırmalı Analizi

Serap Üñübol Aypak<sup>1</sup>, Süleyman Aypak<sup>2</sup>, Hüseyin Voyvoda<sup>3</sup>, Gülşen Güven<sup>4</sup>, Evrim Dereli Fidan<sup>5</sup>, Gamze Tosun<sup>1</sup>, Mehmet Gültekin<sup>3</sup>, Emrah Şimşek<sup>2</sup>, Asude Gülçe Güler<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Adnan Menderes University School of Veterinary, Aydın, Turkey

<sup>2</sup>Department of Parasitology, Adnan Menderes University School of Veterinary, Aydın, Turkey

<sup>3</sup>Department of Internal Diseases, Adnan Menderes University School of Veterinary, Aydın, Turkey

<sup>4</sup>Department of Chemistry, Adnan Menderes University School of Science and Literature, Aydın, Turkey

<sup>5</sup>Department of Zootechnics, Adnan Menderes University School of Veterinary, Aydın, Turkey

## ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to investigate the relationship between serum mineral levels and parasite load in Saanen (n=37) and Damascus (n=13) goats, which were all approximately 2 months pregnant and naturally infected with gastrointestinal nematodes.

**Methods:** To determine parasite concentration individually, fecal samples were taken from each goat, and the eggs per gram (EPG) of feces was detected via a modified McMaster technique. To investigate the possible effects of parasite concentration on serum mineral levels, blood was drawn from the goats and serum calcium, phosphorus, magnesium, iron, copper, zinc, manganese, nickel, and cadmium levels were measured via the ICP-OES technique.

**Results:** In a correlation analysis of the individual EPG values and mineral levels performed on the basis of the species, it was seen that increased egg numbers did not cause a statistically significant increase or decrease in Saanens except for cadmium (significant moderate positive correlation,  $p < 0.05$ ) for both species. A comparison of the mineral element levels with the lower and upper normal limits in the published literature found that manganese and iron were below the normal range, while zinc and calcium levels were close to the lower limits.

**Conclusion:** It is estimated that the effect of parasite load, which continuously increases with the progression of pregnancy and deliveries, on blood mineral levels would be much more significant.

**Keywords:** Damascus, gastrointestinal nematodes, goat, mineral, saanen

**Received:** 25.04.2016

**Accepted:** 29.06.2016

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışma gastrointestinal nematodlar ile doğal enfekte, 2 aylık gebe Saanen (n=37) ve Damascus (n=13) keçilerinde, serum mineral düzeylerinin parazit yükü ile ilişkisini irdelemek amacıyla yapılmıştır.

**Yöntemler:** Parazit yoğunluğunun bireysel olarak belirlenmesi için her keçiden dışkı örneği alınarak modifiye McMaster tekniği ile gram dışkıdaki yumurta sayıları (EPG) belirlenmiştir. Parazit yoğunluğunun serum mineral düzeylerine olası etkilerini araştırmak için keçilerden kan örnekleri alınmış ve ICP-OES tekniği ile serumda kalsiyum, fosfor, magnezyum, demir, bakır, çinko, mangan, nikel, kadmiyum düzeyleri tespit edilmiştir.

**Bulgular:** İrk düzeyinde bireysel EPG değerleri ile mineral düzeylerinin korelasyon analizlerinde; artan yumurta sayısının Saanen'lerde Kadmiyum hariç (pozitif yönde orta derecede önemli korelasyon,  $P < 0.05$ ) her iki ırk için de istatistiki açıdan önemli bulunabilecek artış ya da azalmalara sebep olmadığı görülmüştür. Her iki ırk için tespit edilen mineral değer ortalamaları literatürlerde bildirilen alt ve üst sınır değerlere göre incelendiğinde mangan ve demirin normal değerlerin altında, bakır, çinko ve kalsiyumun alt sınır değerlere yakın olduğu tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Gebeliğin ilerlemesi ve doğumlarla giderek artacak olan parazit yükünün kan mineral seviyelerine olan etkisinin çok daha belirgin olacağı tahmin edilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Damascus, gastrointestinal nematod, keçi, mineral, saanen

**Geliş Tarihi:** 25.04.2016

**Kabul Tarihi:** 29.06.2016

*This study has been presented at the 6<sup>th</sup> National Veterinary Biochemistry and Clinical Biochemistry Congress (25-27.06.2013) and published in the summary pamphlet of the congress.*

*Bu çalışma, 6. Ulusal Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi'nde (25-27.06.2013) sunulmuş ve kongre özet kitapçığında basılmıştır.*

**Address for Correspondence/ Yazışma Adresi:** Dr. Süleyman Aypak E.mail: suleymanaypak@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4758

©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.



## INTRODUCTION

The popularity of goat milk has increased, along with its consumption, because of its relative advantages noticed in recent years; goat breeding has accordingly gained relative importance within the livestock industry (1). The yearly comparison of the numbers involved in goat breeding also support this impression (4.9 million in 2009, 6.1 million in 2010, 7.1 million in 2011, and 8.1 million in 2012) (2). Gastrointestinal nematodes, whose presence in small ruminants may threaten the economic profitability of livestock breeding (3), have become a menace to goats keeping with the generalization of intensive breeding methods. Infection by such agents may cause loss of appetite, gastrointestinal dysfunction, and changes in protein, energy, and mineral metabolism, while changes in fluid balance may modify body composition and the quality of the animal's carcass (4). These infections, particularly those with a subclinical course, are generally neglected, causing a low-level, but persistent, loss of productivity. Even though this level of loss in productivity is not likely to be remarked at the individual level, loss of profit in the regional or national scale take place (5).

The Trichostrongyloidea and Strongyloidea superfamilies of worms, resident mainly in the abomasum as well as in the small and large intestine of ruminants, are extensive, with a large number of genera. The pathogenicity of these parasites in the various compartments of the gastrointestinal tract varies according to factors such as development and feeding patterns (3, 6, 7). The effects of histologic pathology on blood chemistry also vary with the parasite type and concentration (8, 9).

Mineral elements are part of the constituents of many tissues; they also function as cofactors of different enzymes (1, 2, 10). Mineral deficiency delays growth, reduces productivity, and negatively affects the reproductive and immune systems of the animals (3, 4, 10).

Digestion and absorption disorders due to endoparasites result in protein and trace element deficiencies in the host animal (3, 4, 8). Mineral deficiencies related to malnutrition, in turn, lead to an impairment in immune function, thus unfavorably affecting the resistance to parasitic infections (11). The presence of mineral deficiencies may therefore result from parasitic infections, while they may also determine the severity of the infection.

Cadmium is a heavy metal that does not have any known essential function and is highly toxic. It leads to lipid peroxidation and glutathione consumption by binding to sulfhydryl groups in the tissues (particularly in the liver and the kidney). As a result, cell damage occurs (12). Simultaneously, cadmium inhibits antioxidant enzymes, such as catalase, manganese superoxide dismutase, and copper/zinc superoxide dismutase (13). Nickel is known to inhibit some enzymes at toxic levels in the same manner as cadmium (14). Nickel has not been proven as an essential element for animals, but the addition of nickel to their feed rations has been shown to have beneficial results (11). Due to their capacity to form free radicals, nickel and cadmium can cause inflammation, nucleic acid oxidation, and failure in the DNA repair mechanism. Mutagenic changes occur in cancer cases, which are induced by these elements (15).

In studies of the blood levels of hosts to parasitic infections, it has been shown that sheep experimentally infected with *Trichostrongylus axei* and *T. colubriformis* show a serious reduction in copper levels (16), while similarly severe deficiencies of copper and zinc are encountered in sheep naturally infected by *Haemonchus contortus* (17) and *Trichostrongylus* spp. (18) A positive correlation between iron level reduction with related anemias and the egg count per gram (EPG) of feces has been suggested (17, 19).

Parasites are living forms that are generally harmful to their hosts (6). It has been reported, however, that certain helminths protect their hosts from excessive heavy metal storage by keeping these metallic elements in their own bodies (20-22). Many trace elements (such as iron, copper, manganese, and molybdenum) are essential but are also heavy metals. Parasites are naturally expected to share all minerals absorbed through the host intestine. Following up on these considerations, our study aimed to examine the relationship between the serum levels of the macro-elements calcium, phosphorus, and magnesium and the micro-elements iron, copper, zinc, manganese, and the toxic heavy metals nickel and cadmium on the one side and the parasite load on the other.

## METHODS

### Animals

This study was planned as a follow-up to the clinical and laboratory evaluation of two goats of the Saanen breed brought from a company in the İzmir-Tire area to the Adnan Menderes University Veterinary School Internal Medicine Clinic due to their delayed growth, reduced food intake, and weight loss. It was reported that the enterprise where the goats came from, naturally infected by nematodes, had 37 Saanen and 13 Damascus breed, all of them 18 months old and two months pregnant. The two groups of goats had been obtained from different sites in Turkey (the Saanen breed from Foça, İzmir, and the Damascus from Adana).

### Examination of the feces

Individual fecal samples were obtained by rectal examination and distributed over individual envelopes marked with the animals' earmark number. The strongyle-type EPG was determined in the absence of a genus-level or species-level diagnosis based on morphologic characteristics, and feces cultures were made. Cultivating was performed on a group basis for the Saanen and Damascus goats. To this purpose, the feces remaining after the individual egg counts were pooled by groups and thoroughly mixed. To facilitate development of the eggs to third-stage larvae, sawdust and water were mixed to a slurry-like consistency (3 parts feces to 1 part water), placed in the plastic containers, and then incubated at 26-28°C for one week (23-25). During this period, the samples were taken out of the incubator daily for airing by mixing; samples with a reduced water content were corrected. The larvae developing at the end of this period were collected by the Baermann-Wetzel method and diagnosed by morphologic criteria in accordance with the relevant publications (26, 27).

### Blood tests

A 10 mL blood sample was collected from the jugular vein of each animal into gel serum tubes inscribed with the animal's

earmark number. The blood samples were carried to the laboratory in cool transport bags. Serum was separated by centrifuging for 10 min at 3,000 rpm, then portioned and kept at -20 °C until analyzed. To obtain protein precipitation before analysis, 4.5 mL 1N HNO<sub>3</sub> was added to 0.5 mL of a serum sample, which was then homogenized and centrifuged for 15 min at 4,000 rpm. The supernatant was transferred to polyethylene tubes for analysis. Determinations were performed by Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) for the calcium, magnesium, phosphorus, iron, copper, zinc, manganese, nickel, and cadmium levels for each of the two goat breeds.

### Statistical analysis

The SPSS 15.0 statistical software package (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) was used for statistical treatment of the data. Comparisons between the Saanen and Damascus breeds for strongyle-type EPG counts and for the levels of mineral elements were done using the Student's t-test (28). Correlations of parasite density counts with the macro-elements (calcium, mag-

nesium, and phosphorus) and the micro-elements (iron, copper, zinc, manganese, nickel, cadmium) were characterized by Pearson's correlation analysis (29).

Ethics committee approval was received for this study from the regional animal experiments ethics committee of Adnan Menderes University (Document no: 64583101-2014-009).

### RESULTS

An EPG of 150-21,500 for the Saanen goats and 50-3,350 for the Damascus breed showed that both races were infected by varying measures (EPG grading: 0-1,000 mild, 1,000-2,000 moderate, >2,000 severe infection). Saanen goats were found to be more severely infected than the Damascus breed, with a statistically significant difference (strongyle-type EPG means 3,951.14 vs 903.33, respectively). Cultures pooled by the breed allowed diagnosing six different strains or genera in the Saanen and four in the Damascus goats (Table 1).

Comparison among the breeds of the mineral element levels showed slightly higher levels for five of nine parameters among the Damascus breed, but only the difference for calcium was statistically significant (Table 2). Comparison of the mineral element levels with the lower and upper normal limits indicated in the published literature found manganese and iron to be below the normal range, while zinc, copper, and calcium levels were close to the lower limits. A correlation between the EPG values and mineral element levels failed to show statistically significant differences, except for cadmium. Cadmium was in direct correlation with EPG (p<0.05). No significant correlation was found between the nickel level in serum and the parasite level in feces (Figure 1-4).

### DISCUSSION

Ruminants infected with nematodes have been reported to experience disorders of digestion and absorption, gastroenteri-

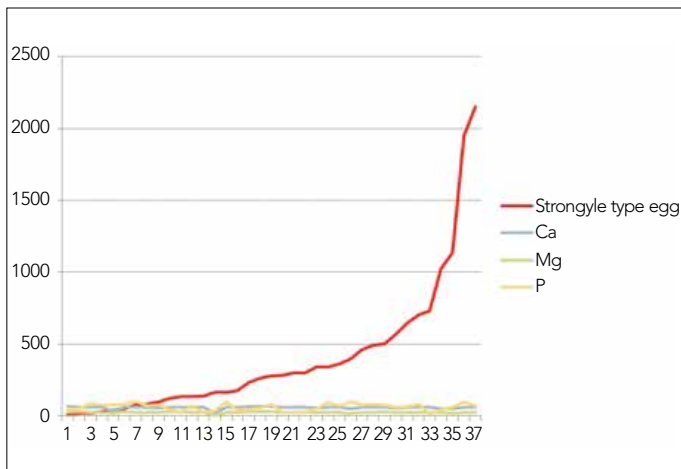
**Table 1.** Stool culturing results in goats

Goat breeds	Parasite species	%
Saanen	<i>Haemonchus contortus</i>	67
	<i>Oesophagostomum</i> spp.	19
	<i>Trichostrongylus</i> spp.	8
	<i>Cooperia</i> spp.	3
	<i>Cooperia onchophora</i>	2
	<i>Ostertagia</i> spp.	1
Damascus	<i>Haemonchus contortus</i>	60
	<i>Cooperia onchophora</i>	20
	<i>Ostertagia</i> spp.	16
	<i>Cooperia</i> spp.	4

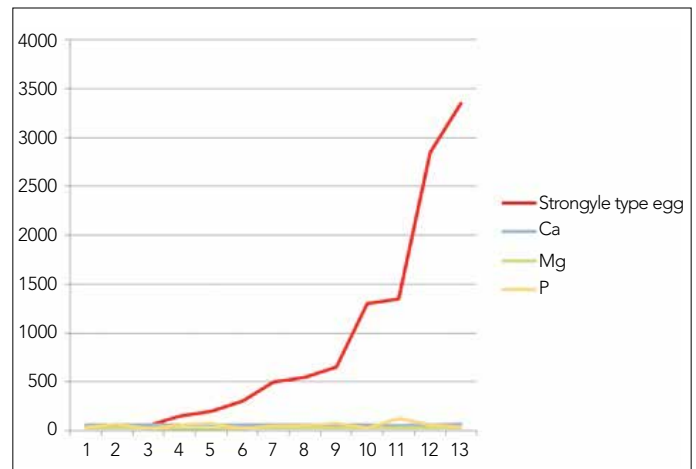
**Table 2.** The average macro-elements, micro-elements levels, and strongyle-type eggs per gram (EPG) of feces, according to Students t-test

	Saanen $\bar{X} \pm S \bar{x}$ (n=37)	Damascus $\bar{X} \pm S \bar{x}$ (n=13)	Literature values	t
Calcium (ppm)	57.5±0.13 <sup>b</sup>	60.3±0.06 <sup>a</sup>	50–110 ppm	-2.022*
Magnesium (ppm)	24.3±0.07	25.1±0.06	10–30 ppm	-0.815-
Phosphor (ppm)	61.85±4.12	54.96±7.67	35–90 ppm	0.719-
Iron (ppb)	185.34±31.32	172.81±48.97	450–1900 pp <sup>b</sup>	0.216-
Copper (ppb)	564.37±32.83	571.49±40.70	500–1600 pp <sup>b</sup>	-0.136-
Zinc (ppb)	422.77±16.32	406.13±32.01	400–1600 pp <sup>b</sup>	0.463-
Manganese (ppb)	36.94±1.58	33.90±3.53	240–400 pp <sup>b</sup>	0.585-
Nickel (ppb)	59.53±1.12	61.97±1.27	-	-1.443-
Cadmium (ppb)	41.31±0.52	45.28±2.03	-	-1.894-
Strongyle-type egg	3951.14±686.15 <sup>a</sup>	903.33±279.26 <sup>b</sup>	Severity of the infection 0–1000 mild 1000–2000 moderate 2000- severe	4.114***

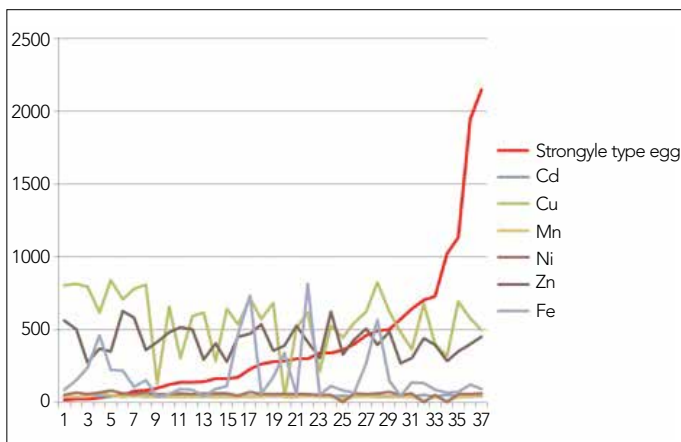
--: not significant; \*: p<0.05, p<0.001, n: number of animals in the relevant breed



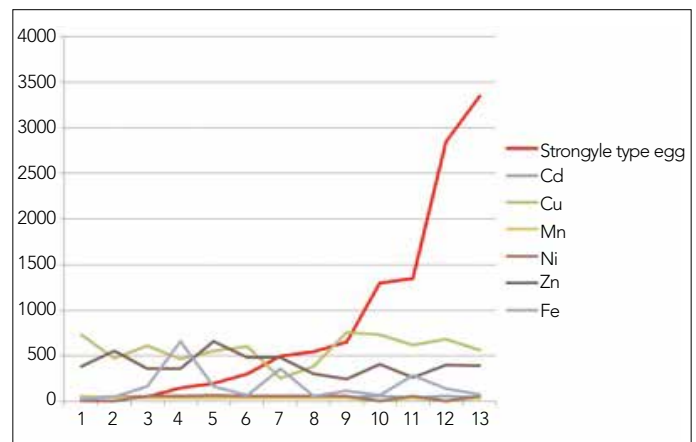
**Figure 1.** Comparison of the parasite density and macro-element levels in the individual Saanen goats  
x-axis: Goats ranked by increasing number of eggs



**Figure 3.** Comparison of the parasite density and macro-element levels in the individual Damascus goats  
x-axis: goats ranked by increasing number of eggs



**Figure 2.** Comparison of the parasite density and micro-element levels in the individual Saanen goats  
x-axis: goats ranked by increasing number of eggs



**Figure 4.** Comparison of the parasite density and micro-element levels in the individual Damascus goats  
x-axis: goats ranked by increasing number of eggs

tis, loss of appetite, delayed growth, anemia, and productivity loss (8, 30-33). Similar findings were observed in the goats included in our study. There is no abundance effect on the blood mineral levels of these parasitoses, which otherwise would cause many undesirable physiologic and histologic effects. Only a limited number of studies have been performed so far in sheep; however, no available information exists for goats.

Ayaz et al. (9), in their study of sheep naturally infected by different endoparasites, examined different biochemistry values without finding any positive or negative difference from the controls in terms of calcium, phosphorus, and magnesium levels. Abdell (18) reported a fall in serum copper and zinc in sheep naturally infected with *Trichostrongylus* species. Silva et al. (17) similarly indicated low serum copper and zinc levels in sheep with spontaneous *H. contortus* infection. As for Hucker and Young (16), they noted a fall in plasma copper in sheep that they had infected with *T. axei* and *T. colubriformis*, and this fall was directly correlated with the EPG value. Symons (33) also found low plasma zinc levels in sheep experimentally infected with *T. colubriformis*. Özer et al. (34) reported low serum iron levels in lambs

with gastrointestinal nematode infection; such low iron levels have also been signaled in sheep experimentally infected with *H. contortus* (35, 36). Similar findings of low serum iron were reported by Kolb et al. (37) in lambs with experimental *T. colubriformis* and *H. contortus* infections. Şahin and Akgül identified significantly reduced levels of plasma copper and zinc and serum iron in sheep with gastrointestinal nematode infection (8).

The fact that in our study serum iron was much lower than the lower normal value may be a result of the high proportion of anemia-causing parasites, mainly *H. contortus*, followed by *Oesophagostomum* spp. and *Cooperia* spp. identified in the animals (total percentages of anemia-causing parasites was 91% in the Saanen goats and 84% in the Damascus goats). In fact, important falls in the serum iron levels have been reported for both spontaneous and experimental *H. contortus* infections (19, 35-37).

The serum manganese levels in our study were found to be considerably inferior to the reference values; no published reports on manganese levels in parasitic infections could be identified.

The closeness of the copper and zinc levels to the lower normal limits seems to parallel the reports on either spontaneous or provoked *Trichostrongylus* infections (8, 16, 18). The intensification of this observation with advancing pregnancy suggests that the relative severity of parasitic infection very probably reduces the level of other minerals, in addition to copper and zinc.

No significant relationship could be identified between EPG and serum mineral element levels, except for cadmium, even in goats of the Saanen breed, which had been found to have moderate infection in seven cases and severe infection in 21. This led to speculation that herd history is important in determining the observability of different deficiencies due to different individual parasite loads in single animals. The application of anthelmintic agents, however infrequent and irregular in the case of this farm, may cause interruptions in the presence of parasites in the animals, thus allowing for a recovery in serum mineral levels.

Interestingly, the presence of cadmium, a toxic heavy metal, in the animals in our study, had a direct, moderately strong correlation to the fecal EPG. It has been reported that while parasites may help detoxify the host organism by accumulating heavy metals in their own bodies, they may also disrupt the host's detoxification capacity (20, 38, 39). It has also been observed that cadmium exposure depresses the immune system and that parasite infections progress with greater severity in immune-depressed goats (40). The direct correlation observed in our study between infection severity and cadmium levels may result from either of these mechanisms.

For nickel, while its role as an essential element has not been established, some animal studies have shown positive results from the addition of nickel to food rations (11). Its role in the digestive process has not yet been elucidated, and no relationship was identified in our study between its presence and the parasite load.

The different levels of mineral elements among the different breeds of animals are thought to be due to either the parasite load or to some physiological variations of the breeds.

## CONCLUSION

In conclusion, no significant relationships between parasite load and serum mineral levels could be detected in our study, except for cadmium. We speculated that the anthelmintic interventions performed, albeit sporadic, mitigated the adverse effects of parasitosis on serum mineral levels.

Another observation was the low average iron levels, well below the lower normal limit, for both breeds. We attribute this to the part played by the overwhelming preponderance of *H. contortus* among the parasites present in the goats. This organism, which stands out due to its pathogenicity, represents a major cause of parasitosis anemia and requires special attention in measures against the disease.

The predictable increase in parasite load, along with the progress in pregnancy and the following deliveries, is expected to have a more marked effect on the blood levels of the mineral elements.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received for this study from the regional animal experiments ethics committee of Adnan Menderes University (Document no: 64583101-2014-009).

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

**Author Contributions:** Concept - S.Ü.A., S.A., H.V.; Design - S.Ü.A., S.A., H.V.; Supervision - S.Ü.A., S.A.; Funding - S.Ü.A., S.A., H.V., G.G.; Data Collection and/or Processing- S.A., M.G., E.Ş., S.Ü.A., G.G., E.D.F., G.T., A.G.G.; Analysis and/or Interpretation - S.Ü.A., S.A.; Literature Review - S.Ü.A., S.A.; Writing - S.Ü.A., S.A.; Critical Review - S.Ü.A., S.A.

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

**Financial Disclosure:** This study wasn't supported.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Komitesi'nin 64583101-2014-009 nolu onayı ile yapılmıştır.

**Hakem değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - S.Ü.A., S.A., H.V.; Tasarım - S.Ü.A., S.A., H.V.; Denetleme - S.Ü.A., S.A.; Kaynaklar - S.Ü.A., S.A., H.V., G.G.; Veri toplanması ve/veya işlemeşi - S.A., M.G., E.Ş., S.Ü.A., G.G., E.D.F., G.T., A.G.G.; Analiz ve/veya yorum - S.Ü.A., S.A.; Literatür taraması - S.Ü.A., S.A.; Yazıyı yazan - S.Ü.A., S.A.; Eleştirel İnceleme - S.Ü.A., S.A.

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

**Finansal Destek:** Bu çalışmada herhangi bir destek alınmamıştır.

## REFERENCES

1. Anne Sütüne En Yakın Süt Hayvan Sütü Hangisidir-Keçi Sütü Yararları. Available from: URL: <http://www.sagligimiza.com/tag/keci-sutu-faydalari>, date of access: 22.11.2016.
2. Türkiye İstatistik Kurumu, Available from: URL: [www.tuik.gov.tr/PrelstatistikTablo.do?istab\\_id=682](http://www.tuik.gov.tr/PrelstatistikTablo.do?istab_id=682), date of access: 22.11.2013.
3. Guralp N. Helmintholoji. 2 th Edition. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi; 1981.
4. Fox MT. Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Vet Parasitol* 1997; 72: 285-308. [CrossRef]
5. Aypak, S. Mide Bağırsak Nematodları, Sığır ve Koyunlarda Paraziter Hastalıklar Özel Sayısı. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 2012; 3: 97-102.
6. Toparlak M, Tuzer E. Veteriner Helmintholoji. 3 th ed. 81-159, İ.Ü. Veteriner Fakültesi Masaüstü Yayımıcılık Ünitesi, İstanbul, 2000.
7. Umur Ş, Koroğlu E, Guçlü F, Tınar R. Nematoda. In, Tınar R (Ed): Helmintholoji. 1 th ed. 1-102, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2006.
8. Sahin T, Akgul Y. Endoparazitli Koyunlarda Bazı İz Element ve Biyokimyasal Parametrelerin Seviyeleri Üzerine Araştırmalar. *Yüzüncü Yıl Üniv Sağ Bil Derg* 2006; 9: 100-6.
9. Ayaz E, Ertekin A, Ozdal N, Tas Z. Endoparazitli (*Fasciola* spp., *Dicrocoelium dendriticum*, *Kist Hidatik*, *Trichostrongylidae* ve *Protostongylidae*) Koyunlarda Bazı Biyokimyasal Parametreler. *T Parasitol Derg* 2006; 30: 57-64.
10. Erdoğan S, Ergün Y, Erdoğan Z, Kontas T. Hatay bölgesinde yetiştirilen koyun ve keçi serumlarında bazı mineral madde düzeyleri. *Tük J Vet Anim Sci* 2002; 26: 177-82.
11. McClure S J. How minerals may influence the development and expression of immunity to endoparasites in livestock. *Parasite Immunol* 2008; 30: 89-100.
12. Ercal N, Gurer OH, Aykın BN. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem* 2001; 1: 529-39. [CrossRef]

13. Casalino E, Calzaretto G, Sblano C, Landriscina C. Molecular inhibitory mechanisms of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium. *Toxicology* 2002; 179: 37-50. [\[CrossRef\]](#)
14. Das KK, Das SN, Dhundasi SA. Nickel, its adverse health effects & oxidative stress. *Indian J Med Res* 2008; 128: 412-25.
15. Dong W, Simeonova PP, Gallucci R, Matheson J, Flood L, Wang S, et al. Toxic metals stimulate inflammatory cytokines in hepatocytes through oxidative stress mechanisms. *TAAP* 1998; 151: 359-66. [\[CrossRef\]](#)
16. Hucker DA, Yong WK. Effects of concurrent copper deficiency and gastro-intestinal nematodiasis on circulating copper and protein levels, liver copper and bodyweight in sheep. *Vet Parasitol* 1986; 19: 67-76. [\[CrossRef\]](#)
17. Silva RM, Ferreira-Neto JM, Sampaio IBM. The influence of diet and gastrointestinal parasites on serum copper and zinc in sheep (Abst). *Arq Esc Vet Univ Minas Gerais*, 1978; 30: 261-74.
18. Abdell All TS. Haematological and biochemical studies on the efficacy of synanthic againts gastrointestinal parasites in sheep. *Assiut Vet Med J* 24 (48): 197-203.
19. Siddiqua A, Mannan MA, Hussain MA. Some biochemical studies in the blood of goats naturally infected with intestinal parasites. *Ind Vet J* 1989; 66: 502-4.
20. Beskaya A, Yıldız, K, Basalan M, Us FM. Kırkkalede endüstri bölgesi civarında toprak, yem ve bu yörede yetiştirilen koyunlar ile parazitlerinde bazı ağır metallerin belirlenmesi. *Etlik Vet Mikrobiol Derg* 2008; 19: 39-46.
21. Sures B Siddal R. *Pomphorynchus laevis*: The intestinal Acantocephalan as a lead sink for its fish host, chub. *Exp Parasitol* 1999; 93: 66-72. [\[CrossRef\]](#)
22. Sures B, Siddal R, Taraschewski H. Parasites as accumulation indicators of heavy metal pollution. *Parasitol Today* 1999; 15: 16-21. [\[CrossRef\]](#)
23. MAFF. *Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques Reference Book Vol. 418*, 3th ed. pp. 159, Ministry of Agriculture, HMSO, London, 1986.
24. Stoye M. *Parasitologische laboruntersuchungen in der praxis. Prakt Tierarzt* 1984; 65: 132-136.
25. Thienpont D, Rochette F, Vanparijs OFL. Diagnosing Helminthiasis by Coprological Examination. *Janssen Research Foundation, Beerse*, 1979.
26. Van Wyk JA, Cabaret J, Michael LM. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Vet Parasitol* 2004; 119: 277-306. [\[CrossRef\]](#)
27. Senlik B. Teşhis Yöntemleri. In: Tınar R (Ed): *Helmintoloji*. 1 th ed. 463-535, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2006.
28. Kutsal A, Alpan O, Arpacık R. *İstatistik uygulamalar. Bizim Büro Basımevi*, Ankara, 1990.
29. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*. Özdemir Yayıncılık, Ankara, 1993.
30. Doganay A. Paraziter hastalıklardan ileri gelen ekonomik kayıplar. *Vet Hek Dern Derg* 1993; 64: 52-9.
31. Ozkoç U. *Nematod invazyonları, Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği* 1. Baskı, 235-252, Tüm-Vet Hayvancılık İşletmeleri Yayını. İstanbul, 1990
32. Dunn MA. *Veterinary Helminthology*. Second edition, William Heinemann Medical Books Ltd., London, 1978.
33. Symons LEA. Plasma zinc innapetencein sheep infected with *Trichostrongylus colubriformis*. *J. Comparative Patho* 1983; 93: 547-50. [\[CrossRef\]](#)
34. Ozer E, Yılmaz K, Erkal N, Saki CE, Turhan T, Angın M, et al. Bazı eimeria türleri ile deneysel olarak enfekte edilen erkek Akkaraman kuzularında demir ve demir bağlama kapasitesi. *FÜ Sağlık Bil Derg* 1995; 2: 245-57.
35. Silverman PH, Mansfield ME, Scott HL. *Haemonchus contortus* İnfection in sheep: Effect of various levels of primary infections on nontreated lambs. *Am J Vet Re* 1970; 31: 841-57.
36. Albers GAA, Gray GD, Le Jambre LF, Barger IA, Barker JSF. The effect of *Haemonchus contortus* infection on haematological parameters in young merino sheep and its significance productivity. *Ani Prod* 1990; 50: 99-100. [\[CrossRef\]](#)
37. Kolb E, Rehbein S, Ribbeck R, Alavad A, Leo M, Siebert P. Das Verhalten hamatologischer parameter und klinisch-chemischer kenwerte im plasma sowie der gehalt an ascorbinsaure in leber, milz und nebenieren bei gesunden und bei mit *Haemonchus contortus* und *trichostrongylus colubriformis*. *Infizierten Lammern, Berliner und Münchener Tierarzliche Wochenschrift*. 1993; 12: 411-8.
38. Gismondi E, Rigaud T, Beisel JN, Leguille CC. Microsporidia parasites disrupt the responce to cadmium exposure in a gammarid. *Environ Pollut* 2012; 160: 17-23. [\[CrossRef\]](#)
39. Sures B, Radzuweit H. Pollution induced heat shock protein expression in the amphipod *Gammarus roeseli* is affected by larvae of *Polymorphus minutus* (Acantocephala). *J Helminthol* 2007; 81: 191-7. [\[CrossRef\]](#)
40. Bernhoft RA. Cadmium toxicity and treatment. *Sci World J* 2013. doi: 10.1155/2013/394652 [Epub ahead of print]. [\[CrossRef\]](#)

# Erzurum İlinde Yetiştirilen Atlarda Dışkı Bakışı ile Tespit Edilen Parazitler

## Parasites Determined by Fecal Examination in Horses in Erzurum

Hamza Avcıoğlu<sup>1</sup>, Esin Güven<sup>1</sup>, İbrahim Balkaya<sup>1</sup>, Şevki Yavuz<sup>2</sup>, Uğur Abay<sup>2</sup>, Muzaffer Akyüz<sup>2</sup>, Ömer Eltas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Erzurum, Türkiye

<sup>3</sup>Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyometri Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Erzurum ilinde yetiştirilen atlardaki parazit enfeksiyonları belirlemek amacıyla yapılmıştır.

**Yöntem:** Bu amaçla farklı yaş, cinsiyet ve ırktan toplam 76 adet attan taze dışkı örnekleri alınmış ve Fulleborn doymuş tuzlu su flotasyon ve Benedect sedimentasyon yöntemleriyle muayene edilmiştir.

**Bulgular:** Muayeneler sonucunda, 76 örneğin 44'ünde (%57,89) Strongylid tip yumurta, 8'inde (%10,53) *Parascaris equorum*, 2'sinde (%2,63) *Dicrocoelium dendriticum*, 2'sinde *Fasciola* spp. (%2,63) yumurtaları tespit edilirken 4'ünde (%5,26) ise *Eimeria* spp. oocystleri saptanmıştır.

**Sonuç:** Erzurum yöresi atlarında strongylosis enfeksiyonunun diğer parazitlere bağlı enfeksiyonlara kıyasla daha yoğun görüldüğü ve yetiştiricilerin konu ile ilgili bilgilendirilerek gerekli tedbirlerin alınması gerektiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** At, dışkı, flotasyon, sedimentasyon, Erzurum

**Geliş Tarihi:** 22.04.2016

**Kabul Tarihi:** 28.08.2016

### ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to determine the parasites present in horses belonging to the Erzurum Province.

**Methods:** Fecal samples were collected from 76 horses of different ages, genders and breeds in Erzurum. Individual fecal samples were collected and examined by flotation and sedimentation methods.

**Results:** The following species were detected: strongylid egg (57.89%), *Parascaris equorum* (10.52%), *Dicrocoelium dendriticum* (2.63%), *Fasciola* spp. (2.63%) eggs, and *Eimeria* spp. oocysts (5.26%).

**Conclusion:** Equine animals are significantly infected with Strongylosis in the Erzurum Province, and effective parasite control measures should initiated.

**Keywords:** Horse, feces, flotation, sedimentation, Erzurum

**Received:** 22.04.2016

**Accepted:** 28.08.2016

**Bu çalışma 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Uluslararası Katılımlı Ekinokokkozis Sempozyumu'nda sunulmuştur, 05-09 Ekim 2015, Erzurum, Türkiye.**

**This study was presented at the 19<sup>th</sup> National Congress of Parasitology International and Participated Echinococcosis Symposium, 05-09 October 2015, Erzurum, Turkey.**

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. İbrahim Balkaya E.mail: balkayaibrahim@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4792

©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

Erzurum yöresinde atlar tarımda ve taşımacılık alanında kullanıldığı gibi özellikle bölgede sportif amaçlı da kullanılmaktadır. Atlar sportif faaliyetler içinde yer alan ata sporu cirit için bölge insanının vazgeçemediği hayvanlardır. Ancak parazitler hastalıklar bu hayvanların performansını önemli oranda etkileyebilmektedir. Bu nedenle mevcut parazitler enfeksiyonların ortaya konması ve bunlara karşı etkili parazitler mücadelenin uygulanması, gerek hayvan sağlığı ve gerekse bu hayvanlardan elde edilecek faydanın artırılmasında oldukça önemlidir.

Atların sindirim sisteminde, başta nematodlar olmak üzere, cestod ve trematodlara, bazen de protozoonlara rastlanmaktadır (1, 2). Yurt dışında equideler üzerinde dışkı bakılarına veya nekropsiyeye göre yapılan çeşitli araştırmalarda helmint enfeksiyonlarının %27,6-100 arasında yayılım gösterdiği belirtilmiştir (3-12). Parazitler enfeksiyonların tespiti amacıyla Türkiye'nin farklı yörelerinde bulunan atlarda çeşitli araştırmalar yapılmış ve enfeksiyon yayılışının %16,2-100 arasında olduğu ifade edilmiştir (13-21).

Türkiye'de atlarda dışkı muayenelerine göre Strongylidae familyasında yer alan parazitlerin yayılışının fazla olduğu (%62,7-100) bildirilmiştir (13, 14, 22-26). Yine Türkiye'de atlarda *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi*, *Dictyocaulus arnfieldi*, *Strongyloides westeri*, *Trichostrongylus axei*, *Draschia megastoma*, *Habronema* spp., *Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Anoplocephala magna*, *A. perfoliata* ile *Paranoplocephala mamillana*'ya da rastlandığı bildirilmiştir (13, 14, 22, 23, 25, 27, 28). Ayrıca atlarda protozoonlardan *Eimeria leuckarti*, *E. solipedium* ve *E. uniungulata*'nın de görüldüğü ifade edilmiştir (2, 25, 27, 29).

Bu çalışma, Erzurum ilinde bulunan atlardaki sindirim sistemi parazitlerinin yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

## YÖNTEMLER

**Hayvanların seçimi:** Kasım 2014 - Şubat 2015 tarihleri arasında Erzurum il merkezine bağlı köy ve mahallelere gidildi. Yaşları 1-13 arasında değişen farklı ırktan 71 erkek ve 5 dişi olmak üzere toplam 76 attan dışkı örnekleri toplandı (Tablo 1). Dışkı örnekleri alınırken, atlarda herhangi bir parazitler ilaç uygulaması yapılmayanlar tercih edildi. Toplanan taze dışkı örnekleri ayrı ayrı poşetlere alınıp aynı gün laboratuvara getirildi.

**Parazitolojik muayene:** Laboratuvara getirilen dışkılar önce makroskopik olarak muayene edildikten sonra, Fulleborn'un doymuş tuzlu su flotasyon ve Benedect sedimentasyon yöntemleriyle muayene edildi.

## İstatistiksel analiz

Parazitler etkenlerle ırk, yaş ve cinsiyet faktörleri arasındaki ilişki durumunun incelenmesi için ki-kare testi uygulanmış, beklenen değerler 5'in altında olduğu için Poni, İngiliz, Haflinger, Apaçi ve yerli ırklar, melez ırklar adı altında birleştirilerek Fisher' in Kesin Ki-kare Testi uygulanmıştır.

Çalışmanın etik kurul onayı, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar no: 2015/7).

## BULGULAR

Muayenesi yapılan 76 atın 50'sinde (%65,78) çeşitli parazitler enfeksiyonları saptanmıştır. Enfekte 50 atın 40'ında tek türle

enfeksiyon görülürken 10'unda ise iki türle olan miks enfeksiyonlara rastlanmıştır.

Enfekte bulunan atlarda en fazla Strongylid tip yumurtaya rastlanırken (%57,89), *P. equorum* %10,52, *Eimeria* spp. ise %5,26 oranında saptanmıştır. Ayrıca, 2'şer atın *D. dendriticum* (%2,63) ve *Fasciola* spp. (%2,63) ile enfekte olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

Enfekte atlar yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde, enfeksiyon çeşitliliği en fazla 7 yaş ve üzeri hayvanlarda görülmüş olup, bunu 4-6 yaş grubundaki hayvanlar takip etmiştir (Tablo 3). Muayene sonucunda her iki grupta en fazla Strongylid tip yumurtalara rastlanmıştır, bunu sırasıyla *P. equorum* ve *Eimeria* spp. oocystleri izlemiştir. İstatistiksel olarak *P. equorum* enfeksiyonunun yaşa bağımlı olduğu ( $p < 0.05$ ), diğer enfeksiyonların ise (Strongylid tip, *Eimeria* spp., *D. dendriticum* ve *Fasciola* spp.), istatistiksel olarak yaşa göre anlamlı olmadığı belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ).

Enfekte atlardaki enfeksiyonların ırklara göre dağılımı Tablo 4'te gösterilmiştir. *Dicrocoelium dendriticum* enfeksiyonunun, melez ırkın %2,63'ünde rastlandığı, bu etkenin ırka bağımlı olduğu,

**Tablo 1.** Dışkı muayenesi yapılan atların ırk ve cinsiyete göre dağılımı

İrk	Erkek	Dişi	Toplam
Arap	58	1	59
Melez	11	2	13
İngiliz	1	0	1
Poni	1	0	1
Apaçi	0	1	1
Haflinger	0	1	1
Toplam	71	5	76

**Tablo 2.** Dışkı muayenesi sonuçlarına göre atlarda saptanan parazitler

Parazit türü	n	%
Strongylid tip yumurta	44	57,89
<i>Parascaris equorum</i>	8	10,53
<i>Eimeria</i> spp.	4	5,26
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	2	2,63
<i>Fasciola</i> spp.	2	2,63

**Tablo 3.** Parazitlerin yaşa göre dağılımı

Parazit türü	Enfekte hayvanların yaş aralığı		
	1-3 n (%)	4-6 n (%)	7 yaş ve üzeri n (%)
Strongylid tip yumurta	4 (5,26)	22 (28,94)	18 (23,68)
<i>Parascaris equorum</i>	-	1 (1,31)	7 (9,21)
<i>Eimeria</i> spp.	-	1 (1,31)	3 (3,94)
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	-	1 (1,31)	1 (1,31)
<i>Fasciola</i> spp.	-	-	2 (2,63)

n: enfekte hayvan sayısı

**Tablo 4.** Parazitlerin ırklara göre dağılımı

Parazit Türü	Enfekte hayvanların ırkları					
	Arap n (%)	Melez n (%)	İngiliz n (%)	Poni n (%)	Apaçi n (%)	Haflinger n (%)
Strongylid tip yumurta	36 (47,36)	4 (5,26)	1 (1,31)	1 (1,31)	1 (1,31)	1 (1,31)
<i>P. equorum</i>	8 (10,52)	-	-	-	-	-
<i>Eimeria</i> spp.	3 (3,94)	-	-	1 (1,31)	-	-
<i>D. dendriticum</i>	-	2 (2,63)	-	-	-	-
<i>Fasciola</i> spp.	2 (2,63)	-	-	-	-	-

n: enfekte hayvan sayısı

**Tablo 5.** Parazitlerin cinsiyete göre dağılımı

Parazit Türü	Erkek		Dişi	
	n	%	n	%
Strongylid tip yumurta	39	51,31	5	6,57
<i>Parascaris equorum</i>	8	10,52	-	-
<i>Eimeria</i> spp.	4	5,26	-	-
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	2	2,63	-	-
<i>Fasciola</i> spp.	1	1,31	1	1,31

n: enfekte hayvan sayısı

diğer ırklar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak da anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

Çalışmada enfeksiyonların cinsiyetler arasındaki dağılımına bakıldığında (Tablo 5), enfeksiyonların aygırlarda daha fazla görüldüğü belirlenmiş, muayenesi yapılan aygır ve kısıraklar arasında sayıca birbirine yakınlık olmaması nedeniyle, iki cinsiyet arası enfeksiyonların dağılım sonuçlarının tesadüfi olduğu belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ).

## TARTIŞMA

Türkiye'nin çeşitli yörelerinde atlarda dışkı muayenesi ile yapılan araştırmalarda Strongylidae enfeksiyonları oldukça yaygın olarak (%62,7-100) görülmüştür (13-15, 17, 19, 22-26, 28, 30, 31). Türkiye'de olduğu gibi dünyanın farklı bölgelerinde de Strongylidae enfeksiyonlarının yaygın olduğu bildirilmiştir (10, 32, 33). Kozan ve Güzel (21) Afyonkarahisar yöresi tektırnaklılarında dışkı bakışı ile inceledikleri 34 atın 24'ünün (%70,59) en az 1 türle enfekte olduğunu ve bu enfekte atların %100'ünde Strongylid tip yumurta gözlediklerini bildirmişlerdir. Karadeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada en yaygın helmint grubunun Strongylidae spp. olduğu ve atlarda enfeksiyon oranının %77,10 olduğu ifade edilmiştir (19). Öge (13) tarım işletmelerindeki atlarda Strongylidae spp. oranının %88,86 olduğunu belirtmiştir. Arslan ve Umur (22) Kars yöresinde tektırnaklıların %100'ünde, Bakırcı ve ark. (28) Gemlik Askeri Harasında yer alan atların %71,76'sında, Altaş ve ark. (16) Şanlıurfa yöresinde inceledikleri safkan Arap atlarının %63,04'ünde ve Uslu ve Güçlü (18) Konya'da inceledikleri atların %100'ünde Strongylidae türlerine ait yumurtaları tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu araştırmanın yapıldığı Erzurum yöresinde, dışkı incelemesi ile 76 örneğin 44

(%57,89)'ünde Strongylid tip yumurta tespit edilmiştir. Buradaki oranın Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında kısmen düşük olması, bölgedeki atlarda düzenli antiparaziter ilaç uygulaması yapılması ile açıklanabilir. Ancak tespit edilen oran, enfeksiyonun bölgede yaygın bir şekilde devam ettiğini göstermektedir.

Türkiye'nin farklı bölgelerinde *P. equorum* yayılışının %1,4-35,8 arasında değiştiği bildirilmiştir (13-15, 17-19, 22-26, 28, 30). Kozan ve Güzel (21) Afyonkarahisar yöresi tektırnaklılarında dışkı bakışı ile inceledikleri 34 atın 24'ünün (%70,59) en az 1 türle enfekte olduğunu ve bu enfekte atların %33,33'ünde *P. equorum* yumurtasına rastladıklarını belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise atların 8 (%10,53)'ünde *P. equorum* yumurtası belirlenmiştir. Türkiye'de yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlarla, Erzurum ilinde elde edilen oran paralellik göstermektedir.

*P. equorum* nematodlar içinde özellikle genç atların en yaygın parazit türlerindedir (2, 34). Yapılan çalışmada ise pozitif bulunan 8 atın yaşlarına bakıldığında 7'sinin 7 yaş ve üzerinde olduğu görülmektedir. Çalışmada görülen pozitifliğin özellikle yaşlılarda görülmesi, araştırmanın yapıldığı odaklardaki bakım ve yetiştirme şartları ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

Safkan Arap ve Haflinger ırkları üzerine yapılan bir çalışmada; Haflingerlerde *P. equorum*'un daha yaygın olduğu tespit edilmiştir (13). Cinsiyete göre bir değerlendirme yapıldığında ise *Parascaris* enfeksiyonlarına erkeklerde daha sık rastlandığı kaydedilmiştir (13, 35). Sunulan çalışmada ise pozitif bulunan 8 atın Arap aygırı olduğu görülmektedir. Cinsiyet olarak erkeklerde fazla görülmesi önceki çalışmalarla paralellik arz etmekte ancak ırk bazında bakıldığında ise pozitifliğin sunulan çalışmada tamamen Arap atlarında görülmesi önceki çalışmayla örtüşmemektedir. Bu durum, çalışmada kullanılan Arap atı sayısının 59, Haflinger ırkı at sayısının ise sadece 1 olmasından kaynaklanabileceği şeklinde izah edilebilir.

*F. hepatica* (14, 22) ile *D. dendriticum* (23)'un atlardaki varlığı üzerine Türkiye'nin farklı yörelerinde yapılan çalışmalarda *D. dendriticum* %0,9-1,2 oranları arasında (15, 18, 19, 23), *Fasciola* spp. ise %0,9-5,8 oranları arasında (14, 17, 18, 19, 22, 23) tespit edilmiştir. Ancak Bakırcı ve ark. (28) Gemlik askeri harası atlarında yaptıkları çalışmada bu trematodlara rastlamadıklarını ifade etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise hem *F. hepatica* hem de *D. dendriticum* yumurtasına sadece 2 atta (%2,63) rastlanmıştır.

Kuzey Almanya'da yapılan çalışmalara göre 3 yaşındaki atlarda *Fasciola* yumurtalarının daha sıklıkla atıldığı, bununla birlikte

22-27 yaşındaki atlarda da yumurtaların dışkıda bulunabileceği bildirilmiştir. *Fasciola* türleriyle doğal enfeksiyonların yaşlılara göre genç hayvanlarda daha yüksek oranda görüldüğü belirtilmiştir. *Fasciola* enfeksiyonlarında, genç hayvanlarda parazite karşı bir direnç mekanizması gelişmediğinden, yaşlılara göre yüksek oranda görüldüğü bildirilmiştir (36, 37). Bu çalışmada ise *F. hepatica* enfeksiyonunun 7 ve üzeri yaşlı 2 atta saptanması sonuçların bahsedilen literatürlerle tamamen uyumlu olmadığını göstermektedir. Ancak literatürde de (36, 37) belirtildiği gibi yaşlı atlarda da yumurtalar dışkıda zaman zaman bulunabilmektedir.

*Dicrocoelium* enfeksiyonları parazit sayısı çok olduğunda dahi atlarda herhangi bir hastalık tablosu oluşturmadan tolere edilebilmektedir (37). Sunulan çalışmada sadece 2 atta (%2,63) *D. dendriticum* yumurtasına rastlanmış olup literatürde de (37) belirtildiği üzere distomatosisin herhangi bir hastalık tablosu oluşturmadığı gerekçesiyle önemsiz görülmüştür. Enfeksiyonunun diğer ırklar ile karşılaştırıldığında ise ırka bağımlı olduğu (melez ırk), istatistiksel olarak da anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Bu analiz sonucu, Erzurum yöresinde halk elinde bulunan melez ırkı atların özellikle ruminantlar ile aynı merada otlamalarından kaynaklanabileceğine bağlanmıştır.

Türkiye'de protozoonlardan *E. leuckarti* ilk defa Oğuz (29) tarafından bildirilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda da bu etkenin %0,4-5,88 arası oranlarında rastlanmıştır (22, 27, 28). Bu çalışmada ise *E. leuckarti* tespit edilememiştir. Ancak flotasyon yöntemiyle yapılan değerlendirmede 4 atta (%5,26) *Eimeria* spp. tespit edilmiştir.

## SONUÇ

Mevcut durumda Erzurum yöresi atlarında Strongylid tip yumurta türlerinin diğer türlere oranla daha yoğun görüldüğü tespit edilmiştir. Yetiştiricilerin konu ile ilgili bilgilendirilerek gerekli tedbirlerin alınması gerektiği belirlenmiştir. Etkili bir parazit kontrolünün yapılması için, atlar üzerinde yapılacak antiparaziter mücadele programlarında özellikle bu grup helmintlerin göz önünde bulundurularak ilaçlamanın yapılması gerektiği kanaati oluşmuştur.

**Etik Komite Onayı:** Etik kurul onayı, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Alt Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar no: 2015/7).

**Hasta Onamı:** Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - H.A.; Tasarım - H.A., E.G., İ.B.; Denetleme - H.A., E.G., İ.B.; Kaynaklar - H.A., E.G., İ.B.; Malzemeler - H.A., E.G., İ.B.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - H.A., E.G., İ.B., Ş.Y., U.A., M.A., Ö.E.; Analiz ve/veya Yorum - H.A., E.G., İ.B., Ö.E.; Literatür Taraması - İ.B.; Yazıyı Yazan - İ.B.; Eleştirel İnceleme - H.A., E.G., İ.B.

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

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

**Ethics Committee Approval:** All procedures were carried out in exact accordance with the principles of Atatürk University Veterinary Faculty Ethical Sub-Committee (Decision no: 2015/7).

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

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

**Author Contributions:** Concept - H.A.; Design - H.A., E.G., İ.B.; Supervision - H.A., E.G., İ.B.; Funding - H.A., E.G., İ.B.; Materials - H.A., E.G., İ.B.; Data Collection and/or Processing - H.A., E.G., İ.B., Ş.Y., U.A., M.A., Ö.E.; Analysis and/or Interpretation - H.A., E.G., İ.B., Ö.E.; Literature Review - İ.B.; Writing - İ.B.; Critical Review - H.A., E.G., İ.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

- Jacobs DE. Farbatlas der Parasiten des Pferdes. Hengersberg: Schobers Verlags GmbH; 1989.
- Öge H. Atlarda görülen başlıca helmint enfeksiyonları. FÜ Sağlık Bil Derg 2003; 16: 125-31.
- Dunsmore JD, Jue SLP. Prevalence and Epidemiology of the Major Gastrointestinal Parasites of Horses in Perth, Western Australia. Equine Vet J 1985; 17: 208-13. [CrossRef]
- Jurasek V. Results of the laboratory examinations of parasitoses in the animals of Mozambique. IV. Horses and donkeys. Folia Veterinaria 1986; 30(1): 111-3.
- Sharir B, Pipano E, Markovics A, Danieli Y. Field studies on gastrointestinal infestation in Israeli Horses. Isr J Vet Med 1987; 43: 223-7.
- Lyons ET, Tolliver SC, Drudge JH, Granstrom DE, Collins SS. Natural infections of Strongyloides westeri: prevalence in horse foals on several farms in central Kentucky in 1992. Vet Parasitol 1993; 50(1-2): 101-7. [CrossRef]
- Bucknell DG, Gasser RB, Beveridge I. The Prevalence and Epidemiology of Gastrointestinal Parasites of Horses in Victoria, Australia. Int J Parasitol 1995; 25: 711-24. [CrossRef]
- Sotiraki ST, Badouvas AG, Himonas CA. A Survey on the Prevalence of Internal Parasites of Equines in Macedonia and Thessalia-Greece. J Equine Vet Sci 1997; 17: 550-2. [CrossRef]
- Lyons ET, Swerczek TW, Tolliver SC, Bair HD, Drudge JH, Ennins LE. Prevalence of selected species of internal parasites in equids at necropsy in central Kentucky (1995-1999). Vet Parasitol 2000; 92: 51-62. [CrossRef]
- Collobert-Laugier C, Hoste H, Sevin C, Dorchies P. Prevalence, abundance and site distribution of equine small strongyles in Normandy, France. Vet Parasitol 2002; 110: 77-83. [CrossRef]
- Eslami A, Bokai S, Tabatabai V. Equine parasites in Iran. J Equine Vet Sci 2005; 25(4): 143-44. [CrossRef]
- Pereira JR, Vianna SSS. Gastrointestinal Parasitic Worms in Equines in the Paraíba Valley, State of São Paulo, Brazil. Vet Parasitol 2006; 140: 289-95. [CrossRef]
- Öge H. Dışkı bakılmasına göre atlarda helmint enfeksiyonlarının genel durumu. Doktora Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 1991.
- Gül A, Değer S, Ayaz E. Türkiye'nin farklı illerinde dışkı muayenesine göre tektırnaklılarda bulunan helmint türleri. Turk J Vet Anim Sci, 2003; 27: 195-99.
- Aydenizöz M. The prevalence of helminths in horses in Kirikkale, Turkey. Indian Vet J 2004; 81: 255-8.
- Altaş MG, Gökçen A, Sevgili M, Özkutlu Z. Şanlıurfa Yöresindeki Safkan Arap Atlarında Helmintolojik Araştırmalar. XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi; Eylül, 18-25; İzmir-Türkiye: 2005.
- Karaca M, Ayaz E, Tütüncü M, Gül A, Akkan HA. Van yöresi atlarında Helmint enfeksiyonlarının yayılışı ve bazı kan parametreleri. YYÜ Vet Fak Derg 2005; 16(2): 71-4.
- Uslu U, Güçlü F. Prevalence of endoparasites in horses and donkeys in Turkey. Bull Vet Ins Pulawy 2007; 51: 237-40.

19. Umur Ő, Açııcı M. A survey on helminth infections of equines in the Central Black Sea region, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2009; 33(5): 373-8.
20. Ulutař EM, Efil İİ. A Coprological Study of Helminth Infections of Horses in Istanbul, Turkey. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2012; 18 (Suppl-A): A1-A6.
21. Kozan E, Güzel H. Afyonkarahisar Yöresi Tektırnaklılarında Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Helmintler. *Kocatepe Vet J* 2015; 8(2): 18-21.
22. Arslan MA, Umur Ő. Kars yöresinde at ve eřeklerde bulunan helmint ve *Eimeria* (Protozoon) türleri. *T Parazitoloji Dergisi* 1998; 22: 180-4.
23. Demir S, Tınar R, Aydın L, Çırak VY, Ergül R. Bursa yöresi tektırnaklılarında dışkı muayenesi ile saptanan helmint türleri ve yayılışı. *T Parazitoloji Dergisi* 1995; 19: 124-31.
24. Gülbahçe S, Cantoray R. Konya yöresindeki tektırnaklı hayvanlarda bulunan parazitlerin epidemiyolojisi. 9. Ulusal Parazitoloji Kongresi; Ekim, 24-27; Antalya-Türkiye: 1995. p. 177
25. Özer E, Küçüklerden N. Elazığ ve yöresinde tektırnaklılarda bulunan *Eimeria* türleri ve helmintler. *Dođa Tr J Vet and Anim* 1992; 17: 217-21.
26. Piřkin FÇ, Bıyıkdoğlu G, Babür C, Kanat MA, Özcengiz E. Serum üretiminde kullanılan atlarda dışkı bakılarına göre helmint enfeksiyonları. *T Parazitoloji Dergisi* 1999; 23: 436-9.
27. Tınar R, Coşkun ŐZ, Demir S, Akyol V. Prevalence of parasite species in equids in Bursa. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII); October, 10-14; İzmir-Turkey: 1994.
28. Bakırcı S, Çırak VY, Güleđen E, Karabacak A. Gemlik Askeri Hara Atlarında Dışkı Muayenesi ile Saptanan Parazitler. *T Parazitoloji Dergisi* 2004; 28 (1): 35-7.
29. Oğuz T. *Eimeria leuckarti* (Flesch 1883)'in Türkiye atlarında bulunuşuna dair ilk araştırma sonuçları. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1971; 18(3-4): 400-2.
30. Coşkun ŐZ, Tınar R, Aydın L, Akandır M. Atların Strongylidae enfeksiyonlarında albendazol, febantel ve luxabendazolün etkisi. *UÜ Vet Fak Derg* 1992; 11: 129-34.
31. Çırak VY. Atlarda Strongylidae Enfeksiyonları. *Bornova Vet Bil Derg* 2003; 28: 47-53.
32. Chapman MR, French DD, Klei TR. Prevalence of strongyle nematodes in naturally infected ponies of different ages and during different seasons of the year in Louisiana. *J Parasitol* 2003; 89: 309-14. [\[CrossRef\]](#)
33. Mfitlodze MW, Hutchinson GW. Prevalence and abundance of equine strongyles (Nematoda: Strongyloidea) in tropical Australia. *J Parasitol* 1990; 76: 487-94. [\[CrossRef\]](#)
34. Burgu A, Öge S, Dođanay A, Piřkin Ç, Öge H. Atlarda Bulunan Helmint Türleri. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1995; 42: 193-205.
35. Rehbein S, Visser M, Winter R. Prevalence, intensity and seasonality of gastrointestinal parasites in abattoir horses in Germany. *Parasitol Res* 2013; 112: 407-413. [\[CrossRef\]](#)
36. Alves RM, van Rensburg LJ, van Wyk JA. Fasciola in horses in the Republic of South Africa: a single natural case of *Fasciola hepatica* and the failure to infest ten horses either with *F. hepatica* or *Fasciola gigantica*. *Onderstepoort J Vet Res* 1988; 55: 157-63.
37. Boch BJ, Supperer R. *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Fifth Edition. Berlin: Parey Buchverlag; 2000.

# The Current Status of Ticks in Turkey: A 100-Year Period Review from 1916 to 2016

Türkiye’de Kenelerin Mevcut Durumu: 1916-2016 Yılları Arasındaki Yüzyıllık Periyoda Dayanan Bir Derleme

Abdullah İnci, Alparslan Yıldırım, Önder Düzlü

Vectors and Vector-Borne Diseases Research and Implementation Center, Erciyes University, Kayseri, Türkiye

## ABSTRACT

Environmental and bio-ecological changes, some administrative and political mistakes, and global warming seriously affect the behaviors of ticks in Turkey and globally. The global public sensitivity toward tick infestations has increased along with increases in tick-borne diseases (TBDs). Recently, the World Health Organization (WHO) developed a new political concept, "One Health," for specific struggle strategies against tick infestations and TBDs. To highlight the importance of the issue, the WHO had declared the year 2015 for vector-borne diseases and adopted the slogan "small bites big threat". In global struggle strategies, the epidemiological aspects and dynamics of increasing tick populations and their effects on the incidence of the TBDs mainly with zoonotic characteristics have been specifically targeted. In Turkey, during the last century, approximately 47 tick species, including eight soft and 39 hard tick species in three and six genera belonging to Argasidae and Ixodidae, respectively, had already been reported. In this article, the recorded tick species, regional infestations, and medical and veterinary importance in Turkey were chronologically reviewed based on a 100-year period between 1916 and 2016.

**Keywords:** A century-old period, current status, ticks, Turkey

**Received:** 08.06.2016

**Accepted:** 28.08.2016

## ÖZ

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de çevresel ve biyo-ekolojik değişiklikler, bazı idari ve politik hatalar ile küresel ısınma kenelerin davranışlarını ciddi bir şekilde etkilemektedir. Kene enfestasyonlarına ve kene ile bulaşan hastalıklara karşı halkın duyarlılığı küresel manada artmıştır. Bu noktada son yıllarda Dünya Sağlık Örgütü (WHO), keneler ve kenelerle bulaşan hastalıklara karşı spesifik mücadele stratejileri üzerine "Tek Sağlık" adı altında yeni bir konsept geliştirmiştir. Bu konunun önemini vurgulamak için WHO, 2015 yılını vektör-borne hastalıklar yılı olarak deklare etmiş ve "küçük ısırık büyük tehdit" şeklinde slogan geliştirmiştir. Küresel mücadele stratejileri arasında, kene popülasyonlarının artış dinamikleri ve epidemiyolojik bakış açısını açıkça ortaya koyma ve özellikle zoonotik karakterli kene kaynaklı hastalıkların insidensi üzerine kenelerin etkileri gibi konular özellikle hedef alınmıştır. Son yüzyılda Türkiye’de, argasidae ve ixodidae ailelerine ait sırasıyla üç ve altı soyda sekiz argasid ve otuz dokuz ixodid kene türünü kapsayan toplam kırk yedi kene türü rapor edilmiştir. Bu derlemede, Türkiye’de 1916 ve 2016 yılları arasındaki yüzyıllık periyotta, varlığı bildirilen kene türleri, bunların bölgesel ve mevsimsel dağılımları ile medikal ve veteriner önemleri gözden geçirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Yüzyıllık periyot, mevcut durum, keneler, Türkiye

**Geliş Tarihi:** 08.06.2016

**Kabul Tarihi:** 28.08.2016

## INTRODUCTION

Turkey is a peninsula subtropically located between the 36° and 42° northern parallels and 26° and 45° eastern meridians on the Mediterranean, Aegean, and Black seas in Eurasia. It covers 783.582 km<sup>2</sup> has a human population of over 80 million and a livestock population of over 50 million;

its economic structure currently depends on a mix of industrial and agricultural products. The location of Turkey allows it to be a natural bridge for the transmission of some tick species and also several tick-borne diseases (TBDs) from Africa to Europe and from Europe to Africa. In particular, migratory birds play an important role for this intercontinen-

**Address for Correspondence/ Yazışma Adresi:** Dr. Abdullah İnci E.mail: ainci@erciyes.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2016.4844

©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.

tal transmission of ticks and TBDs. Turkey has many valuable marshes and migratory bird stations in different geographical regions; these include the following: the "Büyük Menderes Delta" in the Aegean region, the "Sultan Marshes" in Central Anatolia, the "Manyas Bird Paradise" in Marmara, the "Kızılırmak Delta" in the Black Sea, the "Hevsel Bird Paradise" in the Southeast, and the "Aras Bird Paradise" in the North-eastern regions of Turkey. All of them highlight the intercontinental importance for the epidemiology of ticks and TBDs. Turkey covers several geographical regions such as Marmara, the Black Sea, Eastern Anatolia, South-eastern Anatolia, the Mediterranean, the Aegean, and Central Anatolia. A typical continental climate prevails in the plateaus of Anatolia, whereas temperate climates mainly dominate the coastal areas. However, each geographical region has different specific climatic conditions, vegetation structures, and wildlife, allowing suitable habitats for various tick species in all four seasons of the year. During tick seasons, several tick-borne pathogens, such as parasites, virus, and bacteria, are transmitted to their hosts by their specific vector ticks and cause very serious TBDs. Additionally, because of global warming, the temperate climate of Turkey affects the prevalence of various parasitic arthropod infestations and different emerging and re-emerging vector-borne diseases with zoonotic characteristics in some regions of Turkey. Approximately more than 40 of these vector-borne diseases have already been reported in humans, animals, and plants in Turkey (1, 2). These tick infestations and tick-borne pathogens might be most prevalent and seriously dangerous for public and livestock health, particularly in the tick seasons, in most parts of Turkey. Tick infestations and TBDs are the major impediment for the development and improvement of the livestock industry in Turkey, as well as in many other countries, and cause very serious economic losses of livestock by decreasing milk production, animal loss of weight, or increasing risk factors for bacterial and fungal infections as well as screw-worm attacks (3-5). Globally, it has been reported that 80% of 1.2 million cattle are at a risk of tick infestations and TBDs, causing losses of US \$7 billion, annually (6).

In this article, the recorded tick species and their regional distribution and infestations in man and animals and also the identified tick-borne pathogens in Turkey have been chronologically reviewed between 1916 and 2016.

### Current status of tick species

In Turkey, preliminary taxonomic studies about ticks were performed as early as the beginning of the 1900s. The initial records about tick fauna in Turkey are based on *Ixodes ricinus* var. *gibbosus* n. var., *Haemaphysalis cinnabarina* var. *punctate*, and *Hyalomma aegyptium* ticks, and were collected from a domestic goat (*Capra hircus*) in November 1913 in the Izmir province of the Aegean region by Nuttall (7) in 1916. In the following decades, *Ixodes ricinus* and *Hyalomma aegyptium* were reported by Celebi (8) in 1926; *Ornithodoros lahorensis* was reported by Tuzdil (9) in 1936; *Rhipicephalus rossicus* was reported by Pomerantzev (10) in 1946 from Eastern Anatolia; and *Rhipicephalus bursa*, *R. sanguineus*, *R. (Boophilus) calcaratus*, *H. dromedarii*, *H. anatolicum*, *Hae. concinna*, and *Dermacentor reticulatus* were recorded by Oytun (11) in 1947 from livestock in Central Anatolia. In addition to the tick species

mentioned above, a lot of argasid and ixodid ticks such as *Argas reflexus*, *A. persicus*, *Hae. parva*, *Hae. inermis*, *Hae. sulcata*, *Hae. numidiana*, *D. niveus*, *H. detritum*, and *H. excavatum* were recognized by Kurtpınar (12) in 1954 from domesticated animals in the seven regions; *H. mauritanicum* was reported by Yasarol (13) in 1954; *O. erraticus* was collected from rodent holes at in southern Turkey at the Turkey-Syria border by Ozsan and Akyay (14) in 1954; *I. vespertilionis* was reported from Vespertilian bats by Arthur (15) in 1956; *Hae. erinacei* and *Hyalomma impeltatum* were reported in the Marmara region by Hoogstraal (16) in 1959; *Abylomma variegatum* was reported from a horse in the Hatay province (near the Syrian border) by Mimioğlu and Yazar (17) in 1961; *H. scupense*, *D. marginatus* and *R. (Boophilus) annulatus* were reported from cattle, buffalo, sheep, and goats by Parrish (18) in 1961; *I. redikorzevi* was reported from rodents by Nemenz (19) in 1967; *Argas vespertilionis*, *O. tholozani*, *O. coniceps*, *I. hexagonus*, *I. laguri*, *I. frontalis*, *R. turanicus*, *R. (Boophilus) kohlsi*, and *Hyalomma marginatum* were reported from either domestic animals or rodents throughout Turkey by Merdivenci (20) in 1969; and *H. turanicum* was reported from cattle by Hoffmann et al. (21) in 1971. Ten years later, *Hae. otophila* was reported by Sayın and Dumanlı (22) in 1982; *Hyalomma asiaticum* was reported by Filippova et al. (23) in 1995; and *Otobius megnini* was detected from cattle in the Malatya province in Eastern Anatolia by Ozer and Aydın (24) in 1996. Recently, *H. rufipes* has been reported by Kar et al. (25) in 2009 from Marmara and by Bakirci et al. (26) in 2011 from cattle in the Aegean region. In addition to the above tick species, most recently, *I. arboricola* was identified in the Black Sea region (Cernek Ringing Station, Kızılırmak Delta, Samsun Province) by Keskin et al. (27) in 2014 from Turkey (Table 1).

Meanwhile, Turkey's tick fauna has been reviewed by Karaer et al. (28), Aydın and Bakirci (29), and Bursali et al. (30), but the number of tick species found was controversial. Briefly, eight soft tick species (*Argas reflexus*, *A. persicus*, *A. vespertilionis*; *Ornithodoros lahorensis*, *O. tholozani*, *O. erraticus*, *O. coniceps*; and *Otobius megnini*) in three genera belonging to Argasidae; thirty-nine hard tick species in six genera [*Amblyomma variegatum*; *Dermacentor marginatus*, *D. niveus*, *D. reticulatus*; *Haemaphysalis concinna*, *Hae. erinacei*, *Hae. inermis*, *Hae. numidiana*, *Hae. otophila*, *Hae. parva*, *Hae. punctate*, *Hae. sulcata*; *Hyalomma aegyptium*, *H. anatolicum*, *H. excavatum*, *H. asiaticum*, *H. detritum*, *H. dromedari*, *H. impeltatum*, *H. marginatum*, *H. mauritanicum*, *H. scupense*, *H. rufipes*, *H. turanicum*; *Ixodes arboricola*, *I. frontalis*, *I. gibbosus*, *I. hexagonus*, *I. laguri*, *I. redikorzevi*, *I. ricinus*, *I. vespertilionis*; *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*, *R. (Boophilus) calcaratus*, *R. (Boophilus) kohlsi*, *R. bursa*, *R. rossicus*, *R. sanguineus*, and *R. turanicus*] in Ixodidae have already been reported in the last hundred years of Turkey. Currently, Turkey's tick fauna comprises 47 species of classified and renamed world ticks by Guglielmone et al. (31, 32)

### The geographical distribution of ticks

*Amblyomma variegatum* was recorded as a solitary case in the Mediterranean region (border to Syria); *Rhipicephalus (Boophilus) kohlsi* and *Otobius megnini* are seen sporadically in South-eastern Anatolia. *Ixodes* spp. are mostly seen in the Black Sea and Marmara regions, *Ornithodoros lahorensis* is a prevalent tick



**Table 1.** The chronologically reported tick species belonging to Argasidae and Ixodidae families from Turkey in the last century period between 1916 and 2016

	Tick Species	Host	Location	Year	Reference
IXODIDAE	<i>Ixodes ricinus</i> var. <i>gibbosus</i> n. var., <i>Haemaphysalis cinnabarina</i> var. <i>punctate</i> , <i>Hyalomma aegyptium</i>	Domestic goat ( <i>Capra hircus</i> )	Aegean region	1916	7
	<i>Ixodes ricinus</i>	Sheep	All regions	1926	8
	<i>Rhipicephalus (Rhipicephalus) rossicus</i>	unknown	Eastern Anatolia	1946	10
	<i>Rhipicephalus bursa</i> , <i>R. sanguineus</i> , <i>R. (Boophilus) calcaratus</i> , <i>H. dromedarii</i> , <i>H. anatolicum</i> , <i>Hae. concinna</i> , <i>Dermacentor reticulatus</i>	Livestock	Central Anatolia	1944	11, 50
	<i>Hae. parva</i> , <i>Hae. inermis</i> , <i>Hae. sulcata</i> , <i>Hae. numidiana</i> , <i>D. niveus</i> , <i>H. detritum</i> , <i>H. excavatum</i>	Domestic animals	All regions	1954	81
	<i>H. mauritanicum</i>	Cattle	Marmara region	1954	13
	<i>I. vespertilionis</i>	Vespertilian bats	Aegean region, Mediterranean region, Eastern Anatolia	1956	15
	<i>Hae. erinacei</i> , <i>H. impeltatum</i>	Hedgehog	Marmara region	1959	16
	<i>Abyomma variegatum</i>	Horse	Mediterranean region	1961	17
	<i>H. scupense</i> , <i>D. marginatus</i> , <i>R. (Boophilus) annulatus</i>	Cattle, buffalo, sheep, goats	All regions	1961	18
	<i>I. redikorzevi</i>	Rodents	Black Sea region, Eastern Anatolia	1967	19
	<i>I. hexagonus</i> , <i>I. laguri</i> , <i>I. frontalis</i> , <i>R. turanicus</i> , <i>R. (Boophilus) kohlsi</i> , <i>H. marginatum</i>	Domestic animals and rodents	All regions	1968	20, 79
	<i>H. turanicum</i>	Cattle	Central Anatolia, Black Sea region	1971	21
	<i>Hae. otophila</i>	Cattle	Eastern Anatolia	1982	22
	<i>H. asiaticum</i>	Cattle	South Eastern Anatolia	1995	23
	<i>H. rufipes</i>	Cattle	Marmara and Aegean regions	2009	25, 26
<i>I. arboricola</i>	Birds	Black Sea region	2014	27	
ARGASIDAE	<i>Ornithodoros lahorensis</i>	Sheep/goats	Eastern Anatolia	1936	9, 49, 52, 53
	<i>Argas reflexus</i> , <i>A. persicus</i>	Domestic animals	All regions	1954	12
	<i>O. erraticus</i>	Rodents	South Eastern Anatolia	1954	14
	<i>Argas vespertilionis</i> , <i>O. tholozani</i> , <i>O. coniceps</i>	Domestic animals and rodents	All regions	1968	20, 79
	<i>Otobius megnini</i>	Cattle	Eastern Anatolia	1996	24

species in Central and Eastern regions of Anatolia, and the remaining species belonging to *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* and as well *Argas* are seen widespread throughout Anatolia. In addition, the ecology of *Hyalomma marginatum* has been particularly investigated because of the Crimean Congo Hemorrhagic Fever that endemically occurred in areas of Turkey (33). The often-seasonal activities of ticks were also reported as *Rhipicephalus* species [except *R. (Boophilus) annulatus*] and were generally seen from early to late spring, and sometimes in summer periods, in the all regions while *R. (Boophilus) annulatus* generally infests its host between September and December in Central Anatolia (34, 35); *Hyalomma*

species were frequently found in the seasons between late spring and early autumn in the countryside; *Dermacentor* spp. were observed in winter periods in the all regions (29); *Haemaphysalis* spp. were reported generally in autumn from throughout the country; *Ixodes* spp. were frequently seen year-round in the Marmara, Aegean, Mediterranean, and Black Sea regions (29, 36). Except *O. megnini*, the other argasid ticks *Argas* and *Ornithodoros* species were generally found throughout the year in most parts of Turkey (29). In the Kayseri area of Central Anatolia, *Hyalomma* spp. and *R. (Boophilus) annulatus* were the most prevalent ticks found for cattle infestations. In this area, the seasonal fluctuation of tick species was determined as follows:

*Rhipicephalus* spp. (in spring, summer, and fall); the adults of *Hyalomma* spp. (in spring, peaking in summer, and in autumn); *Haemaphysalis* spp. (in autumn, winter, and early spring); *O. lahorensis* (in autumn, peaking in winter, and in spring); *Dermacentor marginatus* (in all seasons); and *R. (Boophilus) annulatus* (in spring) (35). On the other hand, the seasonal fluctuation of *H. scupense* and its infestation characteristics was specifically monitored on the infested cattle and also in the infested barns through two tick seasons in the Thrace region of Turkey (37).

### Tick infestations in animals and man

In parallel to these taxonomic, distribution, and seasonal studies on ticks, numerous surveys have been conducted on the medical and veterinary importance of ticks throughout Turkey. In this scope, tick infestations have been reported in livestock animals, such as cattle (3, 11, 22, 35, 37-54); sheep and goats (11, 34, 36, 42, 46, 47, 49-53, 55-62); in horses (17, 63-65); in man (11, 37, 50, 51, 66-80); in poultry (12, 20); in birds (27, 81, 82); in bats (83); in foxes (20); and in reptiles (84, 85). Additionally, an aberrant tick infestation case has been observed in a man who had just returned to Turkey from a safari trip in Africa, and the removed tick was identified as *Amblyomma* spp. nymph (86).

### Control measures for ticks

Integrated tick control strategies are very important to reduce the direct effects of ticks and also to prevent the transmission of TBDs in the country, as well as globally. Integrated tick control measures consist of environmental, personal, and prophylactic controls (87). In the last century in Turkey, environmental tick control measures have been applied depending on intensive chemical usage. The direct application of chemical acaricides is the most popular tick control measure in Turkey, as well as globally. Arsenicals were the first used acaricide for the global tick control and were first used against *Boophilus* spp. infestations in cattle in 1893 in South Africa. Generally,  $As_2O_3$  was used against tick infestation for many years in Turkey as well as globally (88). After ticks developed resistance against this acaricide, the usage of this chemical was stopped in the beginning of the 1980s (89, 90). Subsequently, *chlorinated hydrocarbons*, *organophosphorous compounds*, carbamates, formamidines, synthetic pyrethroids, phenyl pirazols, macrocyclic lactones (MLs), and growth regulators were used for tick control in Turkey. Currently, formamidines, synthetic pyrethroids, phenyl pirazols, and MLs are used for tick control in Turkey. On the other hand, personal tick control is also used generally in rural areas and in some urban areas of Turkey. Personal tick control strategies depend on measures such as avoiding scrublands, wearing white or light-colored clothing, pulling socks over the bottom of pant legs, walking in the center of walkways and paths, avoiding roadside grass, wearing lotions (except the face and hands) containing 30% diethyltoluamide (DEET) as a repellent, wearing special permethrin-impregnated clothing, and daily tick control in the bathroom after each field trip. Recently, these kinds of personal tick control measures were frequently applied by some sensitive humans in Turkey. Another tick control measure is prophylactic tick control. This tick control measure has some different characteristics, requires advanced technology, and is applied through biological controls such as tick vaccines and RNA interference. No study has been reported

about the applying of prophylactic tick control in Turkey as of yet.

In conclusion, Turkey has a suitable geographic location, warming climate conditions, and many bird paradises that serve as a bridge for migratory birds from Africa to Europe and from Europe to Africa. This natural structure allows exposure of Turkey to many tick infestations in animals and also in humans across the different regions of the country. Today, a total of 47 tick species (8 soft and 39 hard ticks) have already been reported in animals and humans from seven major regions of Turkey throughout the past century (between 1916 and 2016). Therefore, Turkey requires new strategies and advanced control programs for integrated tick control. Thus, Turkey should also develop and maintain coordination with internal and international organizations for future safety.

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

**Author Contributions:** Concept - A.I., A.Y., O.D.; Design - A.I., A.Y., O.D.; Supervision - A.I., A.Y., O.D.; Funding - A.I., A.Y., O.D.; Materials - A.I., A.Y., O.D.; Data Collection and/or Processing - A.I.; Analysis and/or Interpretation - A.I., A.Y., O.D.; Literature Review - A.I., A.Y., O.D.; Writing - A.I.; Critical Review - A.I., A.Y., O.D.; Other - A.I., A.Y., O.D.

**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.

**Hakem değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - A.İ., A.Y., Ö.D.; Tasarım - A.İ., A.Y., Ö.D.; Denetleme - A.İ., A.Y., Ö.D.; Kaynaklar - A.İ., A.Y., Ö.D.; Malzemeler - A.İ., A.Y., Ö.D.; Veri toplanması ve/veya işlemesi - A.İ.; Analiz ve/veya yorum - A.İ., A.Y., Ö.D.; Literatür taraması - A.İ., A.Y., Ö.D.; Yazıyı yazan - A.İ.; Eleştirel inceleme - A.Y., Ö.D.; Diğer - A.İ., A.Y., Ö.D.

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

**Finansal Destek:** Yazarlar finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

## REFERENCES

1. Inci A, Yazar S, Tuncbilek AS, Canhilal R, Doganay M, Aydin L, et al. Vectors and vector-borne Diseases in Turkey. Ankara Univ Vet Fak Derg 2013; 60: 281-96. [CrossRef]
2. Inci A, Yildirim A, Duzlu O. Three emerging vector-borne diseases in Turkey. J Fac Vet Med Univ Erciyes 2014; 11: 117-20.
3. Inci A, Ica A, Yildirim A, Vatanser Z, Cakmak A, Albasan H, et al. Economical impact of tropical theileriosis in the Cappadocia region of Turkey. Parasitol Res 2007a; 101: S171-4. [CrossRef]
4. Jongejan F, Uilenberg G. The global importance of ticks. Parasitol 2004; 129: S3-S14. [CrossRef]
5. Bram RA. Tick-borne livestock diseases and their vectors: the global problem. Ticks and Tick-Borne Diseases, FAO Animal Production and Health Paper No. 36. Rome: Food and Agriculture Organization; 1983.
6. McCosker PJ. Global aspects of the management and control of ticks of veterinary importance. Recent Adv Acarol 1979; 2: 45-53. [CrossRef]
7. Nuttall GHF. Notes on Ticks. IV. Relating to the Genus Ixodes and including a description of three new species and two new varieties. Parasitology 1916; 8: 294-337. [CrossRef]
8. Celebi IH. Ixodidae (keneler) ve muvellidimaraz vazifeleri tahripleri (ixodid ticks and their harmful effects). Tibbi Bay Mec 1926; 3: 261-71.

9. Tuzdil AN. Mezbahalara Mahsus Parazitoloji. İstanbul; 1936.
10. Pomerantzev BI. Les tiques (Ixodidae) de la faune de l'URSS et des pays limitrophes. Opredeliteli po Faune SSSR, Izdavaemye Zoologicheskim Institutom Akademii Nauk SSSR 1946; (26): 1-28.
11. Oytun HS. Keneler, Zararları ve Savas Careleri. Ankara: YZE Basimevi; 1947.
12. Kurtpinar H. Türkiye keneleri (Ixodoidea). Morfoloji, Biyoloji, Konakçı, Yayılışları ve Medikal Önemleri. Ankara: Güven Matbaası; 1954.
13. Yasarol S. Sigirlarda kene kontrolünde toxophane. Turk Vet Hek Dern Derg 1954; 24: 1756-66.
14. Ozsan K, Akyay N. Relapsing fever in Turkey; presence in the South (Turko-Syrian border) of *Ornithodoros erraticus* infected with a spirochete of the *Crocicidae* group. Bull Soc Pathol Exot Filiales 1954; 47: 501-3.
15. Arthur DR. The Ixodes ticks of Chiroptera (Ixodoidea, Ixodidae). J Parasitol 1956; 42: 180-96. [\[CrossRef\]](#)
16. Hoogstraal H. Biological observations on certain Turkish Haemaphysalis ticks (Ixodoidea, Ixodidae). J Parasitol 1959; 45: 227-32. [\[CrossRef\]](#)
17. Mimioğlu M, Yazar MT. Türkiye'de ilk *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1974 olayı. Ank Univ Vet Fak Derg 1961; 8: 239-40.
18. Parrish DW. The ticks (*Argasidae* and *Ixodidae*) of Turkey. J Econ Entomol 1961; 54: 91-2. [\[CrossRef\]](#)
19. Nemenz H. Zecken aus der Türkei (Acari, Ixodidae). Zool 1967; 178: 191-5.
20. Merdivenci A. Türkiye Keneleri Üzerine Arastirmalar. İstanbul: İstanbul Cerrahpaşa Tıp Fak Yayını, Yayın No 1488, Kutulmuş Matbaası; 1969.
21. Hoffmann G, Horchner F, Schein E, Gerber H. Saisonales auftreten von Zecken und Piroplasma bei Haustieren in den Asiatischen Provinzen der Türkei. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 1971; 94: 152-6.
22. Sayin F, Dumanli N. Elazığ bölgesinde evcil hayvanlarda gorulen kene (*Ixodidae*) türleri ile ilgili epizootiyolojik arastirmalar. Ank Univ Vet Fak Derg 1982; 29: 344-62.
23. Filippova NA, Musatov SA, Panova IV, Lobanov AL. The taxonomic pattern of the polytypic species *Hyalomma asiaticum* (*Ixodidae*). First experience of morphometric databases application. Parazitologiya 1995; 29: 65-82.
24. Ozer E, Aydın L. Presence of *Otobius megnini* (Duges, 1883) in cattle in Malatya. Turk J Vet Anim Sci 1996; 20: 231-4.
25. Kar S, Guven E, Vatasever Z. Marmara Bölgesindeki bir harada kene enfestasyonu ve *Hyalomma rufipes* varlığı. 16. Ulusal Parazitoloji Kongresi; Kasım; 1-7; Adana: 2009. p. 254.
26. Bakirci S, Sarali H, Aydın L, Latif A, Eren H, Karagenc T. *Hyalomma rufipes* (Koch, 1844) infesting cattle in the West Aegean region of Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2011; 35: 359-63.
27. Keskin A, Koprulu TK, Bursali A, Özsemir AC, Yavuz KE, Tekin S. First record of *Ixodes arboricola* (*Ixodidae*: *Ixodidae*) from Turkey with presence of *Candidatus Rickettsia vini* (*Rickettsiales*: *Rickettsiaceae*). J Med Entomol 2014; 51: 864-7. [\[CrossRef\]](#)
28. Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L. Türkiye keneleri ve vektörlükleri. Özcel MA, Daldal N, editors. Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları ve Vektörler. İzmir: Ege Univ Basimevi; 1997. p. 363-458.
29. Aydın L, Bakirci S. Geographical distribution of ticks in Turkey. Parasitol Res 2007; 101: S163-6. [\[CrossRef\]](#)
30. Bursali A, Keskin A, Tekin S. A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: species diversity, hosts and geographical distribution. Exp Appl Acarol 2012; 57: 91-104. [\[CrossRef\]](#)
31. Guglielmone AA, Robbins RG, Apanaskevich DA, Petney TN, Estrada-Pena A, Horak IG, et al. The *Argasidae*, *Ixodidae* and *Nuttalliellidae* (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. Zootaxa 2010; 2528: 1-28.
32. Guglielmone AA, Robbins RG, Apanaskevich DA, Petney TN, Estrada-Pena A, Horak IG. The hard Ticks of the World (Acari: Ixodida: Ixodidae). New York: Springer; 2014. [\[CrossRef\]](#)
33. Vatasever Z. Ecology of *Hyalomma marginatum* and Crimean-Congo hemorrhagic fever. 1st National Symposium on Vectors and Vector Borne Diseases with International Participation; September; 9-10; Avanos, Cappadocia, Nevşehir-Turkey: 2012. p. 44-59.
34. Sayin F, Dincer S, Karaer Z, Dumanli N, Cakmak A, İnci A, et al. Status of tick infestations of sheep and goats in Turkey. Parasitologia 1997; 39: 145-52.
35. İca A, İnci A, Vatasever Z, Karaer Z. Status of tick infestation of cattle in the Kayseri region of Turkey. Parasitol Res 2007; 101: S167-9. [\[CrossRef\]](#)
36. Aydın MF, Aktas M, Dumanli N. Türkiye'nin Karadeniz bölgesindeki koyun ve keçilerde kene enfestasyonları. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012; 18: A17-22.
37. Kar S, Akyıldız G, Vatasever Z. Trakya'da ineklerde *Hyalomma* scutense enfestasyonu ve enfestasyonun mevsimsel karakteristiği. 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Uluslararası katılımlı Ekinokokozis Sempozyumu; Ekim; 5-9; Erzurum: 2015a. p. 79.
38. Gökse K. Bazı Karadeniz Bölgesi illerinin sigirlarında müşahade edilen *Babesidae* (Sporozoa: Piroplasmida) enfeksiyonları ve kene enfestasyonları. Ank Univ Vet Fak Derg 1968; 15: 46-57.
39. Dumanlı N. Elazığ ve yöresinde *Hyalomma excavatum* (Koch, 1844)'ün biyo-ekolojisi üzerinde arastirmalar. Tubitak Doga Bilim Derg 1983; 7: 23-31.
40. Karaer Z. Ankara ili ve civarında bulunan kene türleri ile *Hyalomma detritum* (Schulze, 1919)'ün bazı ekolojik özellikleri üzerine arastirmalar. Tubitak 7. Bilim Kongresi Tebliğleri, Türkiye: 1983. p. 371-8.
41. Zeybek H, Kalkan A. Ankara yöresinde mera kenelerinin yayılışı ve mevsimle ilişkisi. Etlik Vet Mikrobiyol Enst Derg 1984; 5: 14-21.
42. Tasci S. Van bölgesinde sigir ve koyunlarda gorulen kene türleri ile bunların tasidigi kan parazitleri (protozoon) arasındaki ilişkiler. Ank Univ Vet Fak Derg 1989; 36: 53-63.
43. İnci A. Ankara'nın Cubuk ilçesinde sigirlarda babesiosis'in seroinsidensi üzerine arastirmalar. Ankara Univ Vet Fak 1992; 1-2: 153-67.
44. İnci A, Cakmak A, Karaer Z, Dincer S, Sayin F, İca A. Seroprevalence of bovine babesiosis around Kayseri. Turk J Vet Anim Sci 2002a; 26: 1345-50.
45. İnci A, İca A, Yıldırım A, Vatasever Z, Cakmak A, Alban H, et al. Epidemiology of tropical theileriosis in Cappadocia region. Turk J Vet Anim Sci 2008; 32: 57-64.
46. Yukarı BA, Umur S. Burdur yöresindeki sigir, koyun ve keçilerde kene (*Ixodidae*) türlerinin yayılışı. Turk J Vet Animal Sci 2002; 26: 1263-70.
47. Aydın L. Güney Marmara Bölgesi ruminantlarında gorulen kene türleri ve yayılışları. T Parazitolojisi Derg 2002; 24: 194-200.
48. Kar S, Akyıldız G, Vatasever Z. Kırklareli'nde CCHF olgularına rastlanan koyulardaki ineklerde kene enfestasyonu mevsimsel karakteristiği. 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Uluslararası katılımlı Ekinokokozis Sempozyumu; Ekim; 5-9; Erzurum: 2015b. p. 76.
49. Oytun HS. Memleketimizde gorulen *O. lahorensis* Neumann, 1908 morfolojisi ve biyolojisine dair yapılmış arastirmalar. YZE Derg 1944a; 3: 175-88.
50. Oytun HS. Kenelerin dis parazit olarak insan ve ehli hayvanlarda yaptıkları zararlar. Guzel Yurd Gazetesi 1944b; 31: 14/1/1944.
51. Oytun HS. Kenelerin yaptıkları cesitli zararlar. TVC Derg 1944c; 12: 2.
52. Oytun HS. *Ornithodoros lahorensis* biyolojisi ve yayılışına dair. TC Tarım Bak Derg 1948; 15: 10-12.
53. Oytun HS. Yurdumuzda gorulen *Ornithodoros lahorensis*'in epizootiyolojik durumu ve bu alandaki arastirmalarımız. TC Tarım Bak Derg 1949; 18: 8-12.
54. Oytun HS. Tıbbi Entomoloji. Ank Univ Tıp Fak Yayın, İkinci Baskı, Guzel İstanbul Matbaası, Ankara, 1961, p. 546.

55. Guralp N, Sayin F, Tigin Y, Tinar R. Texel, Merinos ve Kivircik koyunlari ile melezlerinde gorulen parazit turleri, bunlarin enfeksiyon oranı ve savas careleri. Ankara Univ Vet Fak Derg 1975; 22: 1-17. [\[CrossRef\]](#)
56. Guler S. Ankara ve civarındaki koyun ve keçilerde kis Ixodidae'leri üzerine arastirmalar. Bursa Univ Vet Fak Derg 1982; 1: 45-54.
57. Kalkan A. Koyun kis kenisi (Ornithodoros lahorensis Neumann, 1908)'nin ekolojisi ve vektörlüğü üzerine incelemeler. Ank Univ Vet Fak Derg 1982; 29: 331-43.
58. Cakmak A, Dincer S, Karaer Z. Samsun yoresinde koyunlarda Babesia ovis'in serodiagnosisi üzerinde arastirmalar. Ankara Univ Vet Fak Derg 1991; 38: 242-51.
59. Ozer E, Guler S. The occurrence of Boophilus kohlsi (Hoogstraal & Kaiser, 1990) in goats in Mardin. Doga Tr Vet Animal Sci 1993; 18: 23-6.
60. Inci A, Yukari B, Sayin F. Cankiri yoresinde bazı koyun ve keçi surul-erinde babesiosis ve theileriosis etkenlerinin mikroskopik kan muayenesiyle arastirilmesi. Ank Univ Vet Fak Derg 1998; 1: 105-13.
61. Inci A, Nalbantoglu S, Cam Y, Atasever A, Karaer Z, Cakmak A, et al. Kayseri yoresinde koyun ve keçilerde theileriosis ve kene enfesta-syonlari. Turk J Vet Anim Sci 2003; 27: 57-60.
62. Cicek H, Duzgun A, Emre Z, Karaer Z. Seroprevalence of Babesia ovis in sheep around Afyon. Turk J Vet Anim Sci 2004; 28: 683-6.
63. Inci A. Gemlik askeri harasi atlarında Babesia caballi (Nuttall, 1910) ve Babesia equi (Laveran, 1901)'nin mikroskopik muayeneyle sap-tanması. Turk J Vet Anim Sci 1997; 21: 43-6.
64. Aktas M, Dumanli N. Malatya Sultansuyu Tarım işletmesi atlarında subklinik Babesia equi (Laveran, 1901) ve Babesia caballi (Nuttall, 1910) enfeksiyonlari. Turkiye Parazitol Derg 2000; 24: 55-6.
65. Kizilarlan F, Yildirim A, Duzlu, O, Inci A, Onder Z, Ciloglu A. Molecular detection and characterization of Theileria equi and Babesia caballi in horses (Equus ferus caballus) in Turkey. J Equine Vet Sci 2015; 35: 830-5. [\[CrossRef\]](#)
66. Inci A, Ica A, Duzlu O, Yildirim A, Biskin Z. Kayseri, Nevsehir, Nigde, Hatay, Adana, Osmaniye, Kahramanmaraş ve Gaziantep illerinde insanlarda gorulen kene enfestasyonlari. 15. Uluslararası Parazitoloji Kongresi; Kasim; 18-23; Kayseri ve Urgup: 2007b. p. 167-8.
67. Umur S, Hokelek M, Acici M, Gurler AT, Beyhan YM. Orta karadeniz bölgesinde insanlarda isirik sikayetiyle getirilen kene turleri. 15. Ulusal Parazitoloji Kongresi; Kasim; 18-23; Kayseri ve Urgup: 2007. p. 167.
68. Vatasever Z, Uzun R, Estrada-Pena A, Ergonul O. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. Ergonul O, Whitehouse CA, editors. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective. New York: Springer, Dordrecht; 2007. [\[CrossRef\]](#)
69. Vatasever Z, Gargili A, Aysul NS, Sengoz G, Estrada-Peña A. Ticks biting humans in the urban area of Istanbul. Parasitol Res 2008; 102: 551-3. [\[CrossRef\]](#)
70. Gargili A, Kar S, Yilmazer N, Cerit C, Sonmez G, Sahin F, et al. Evaluation of ticks biting humans in Thrace Province, Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010; 16: S141-6.
71. Gargili A, Kar S, Yilmazer N, Ergonul O, Vatasever Z. Different abundances of human-biting ticks in two neighboring provinces in Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2011; 17: 93-7.
72. Gunes T, Poyraz O, Vatasever Z. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ticks collected from humans, livestock, and picnic sites in the hyper endemic region of Turkey. Vector Borne Zoonotic Dis 2011; 11: 1411-6. [\[CrossRef\]](#)
73. Aktas M. A survey of ixodid tick species and molecular identification of tick-borne pathogens. Vet Parasitol 2014; 200: 276-83. [\[CrossRef\]](#)
74. Orkun O, Karaer Z, Cakmak A, Nalbantoglu S. Identification of tick-borne pathogens in ticks feeding on humans in Turkey. Plos NTD 2014a; 8: e3067. [\[CrossRef\]](#)
75. Orkun O, Karaer Z, Cakmak A, Nalbantoglu S. Spotted fever group rickettsiae in ticks in Turkey. Ticks Tick-borne Dis 2014b; 5: 213-8. [\[CrossRef\]](#)
76. Selcuk O, Aydin L, Girisgin AO, Senlik B, Ozakin C. Long-term investigations on tick infestations of human. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2015; 21: 795-8.
77. Merdivenci A. Turkiye'nin entomolojik cografiyasi (Turkiye'nin paraz-itolojik cografiyasi, s. 114-192). Ege Univ Tıp Fak Yayini 1965; No. 42. Izmir.
78. Merdivenci A. Turkiye'de kene larvalari üzerine arastirmalar. VI MT Biol Kongr 15-21 Agustos, Izmir, 1966, s. 251-68.
79. Merdivenci A. Istanbul'da insanlarda Ornithodoros conciceps Canestrini, 1890 infestasyonu. Turk Mikrobiol cem 30.5.1968 gunku toplantısında bildirilmistir. IU Tıp Fak Mec 1968; 31: 460-68.
80. Mimioglu MM. Veteriner ve Tibbi Arthropodoloji. Ank Univ. Vet Fak Yayin, No.295, Ders Kitabı. 196, Ank Univ Matbaasi, Ankara 1973, p. 343.
81. Kurtpinar H. Anadolu'da Argas reflexus Fabr. (guvercin kenisi)'nin insanlarda tevit ettigi sihhi bozukluklar üzerine arastirmalar. Turkish Bull Hyg Exp Bio 1957; 17 (3): 237-43.
82. Leblebicioglu H, Eroglu C, Erciyas-Yavuz K, Hokelek M, Acici M, Yilmaz H. Role of migratory birds in spreading Crimean-Congo hemorrhagic fever. Turk Emerg Infect Dis 2014; 20: 1331e1334.
83. Sert H, Yagci S, Albayrak I, Aktas M, Karaer Z. Turkiye'nin farkli bol-gelerinden yakalanan yarasalarda (Vespertilionidae, Rhinolophidae) kene (Acari: Ixodidae, Argasidae) enfestasyonu. T Parazitol Derg 2001; 25: 174-7.
84. Aydin L, Yildirimhan HS, Ugurtas IH. Marmara Bolgesindeki bazı kertenkele ve kabumbaga turlerinde kenelerin (Ixodidae) yayginligi. T Parazitol Derg 2002; 26: 84-6.
85. Yaman M, Zerek A. Bir Akdeniz Bukalemunu'nda (Chamaeleo chamaeleon) Rhipicephalus (Boophilus) kohlsi (Hoogstraal and Kaiser, 1960) Olgusu. FÜ Sağ Bil Derg 2016; 30: 55-6.
86. Beyhan YE, Mungan M, Babur C. Yurtdisi seyahat iliskili Amblyomma spp. olgusu (Amblyomma spp. case related to overseas travel). Turkiye Parazitol Derg 2014; 38: 48-50. [\[CrossRef\]](#)
87. Walker AR. Eradication and control of livestock ticks: biological, economic and social perspective. Parasitol 2011; 138: 945-59. [\[CrossRef\]](#)
88. Bekker PM. The history of dipping. Veld 1960; 20: 1-5.
89. Matthewson MD, Baker JAF. Arsenic resistance in species of multi-host ticks in the Republic of South Africa and Swaziland. J S Afr Vet Assoc 1975; 46: 341-4.
90. Drummond RO. Tick-borne livestock diseases and their vectors. Chemical control of ticks. Wld Anim Rev (FAO) 1983; 36: 28-33.

# Netosis: Nötrofilin Patojenle Savaşta Kullandığı Alternatif Savunma Yöntemi

Netosis: Alternative Defense Method Used by Neutrophils to Fight Pathogen

Kader Yıldız

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

## ÖZ

Nötrofiller organizmada doğal bağışıklığın ilk savunma hattını oluştururlar. Patojenle mücadelede üç savunma yöntemi kullanırlar (fagositozis, degranulasyon ve netosis). Bu derlemede netosis hakkında bilgi verilmesi hedeflenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Nötrofil, netosis, hücre dışı tuzak, NETs

**Geliş Tarihi:** 08.06.2016

**Kabul Tarihi:** 28.08.2016

## ABSTRACT

Neutrophils form the first line of defense of the innate immune system in organisms. They use three fighting methods to combat pathogens: phagocytosis, degranulation, and netosis. In this review, we aim to provide information about netosis.

**Keywords:** Neutrophils, netosis, extracellular trap, NETs

**Received:** 08.06.2016

**Accepted:** 28.08.2016

## GİRİŞ

Çok hücreli organizma yaşayabilmek için vücuda giren patojenlere karşı mücadele etmek zorundadır. Bu amaçla doğal ve kazanılmış bağışıklık olarak adlandırılan farklı tipte yanıtlar şekillendirir. Kazanılmış bağışıklık için vücuda giren antijenlerin savunma hücreleri tarafından tanınması gerekirken doğal bağışıklık antijen tanınmasından bağımsız gelişmektedir. Aslında bu iki yanıt kesin çizgilerle birbirinden ayırmak pek de mümkün değildir. Doğal bağışıklık vücuda giren patojene karşı genel ve hızlı bir savunma sağlar (1). Öncelikli görevi patojenleri enfeksiyon alanında sınırlandırmak ve sistematik olarak yayılmasını engellemektir (1, 2). Çeşitli immun sistem hücreleri (nötrofil, monosit/makrofaj, mast, katil ve dendrik hücreler) ile çok sayıda çözünebilir mediatörden oluşan doğal bağışıklık kompleks bir yapı göstermektedir (3). Bu derlemede doğal bağışıklığın

ilk savunma hattını oluşturan nötrofillerin patojenle mücadele stratejilerinden biri olan netosis ve bu amaçla geliştirdiği hücre dışı tuzaklar (NETs) hakkında bilgi verilmesi hedeflenmiştir.

Nötrofil ya da nötrofil granulositler memelilerde perifer kanda en çok bulunan lökosit alt tipidir (1). 12-15 µm çapındaki nötrofiller, bazofil ve eozinofillerle birlikte polimorf nükleer lökositler (PMN) olarak adlandırılır, bununla birlikte PMN'in %70'ini nötrofiller oluşturmaktadır (4). Kemik iliğinden üretilen (dakikada yaklaşık 7 milyon) ve salınımı homeostatik denge tarafından kontrol edilen nötrofillerin dolaşımdaki yarı ömürleri ortalama 6,7 saattir, dokulara geçmiş ise bu süre 1-2 güne kadar çıkar (1). Sitokinler ve bakteriyel ürünler gibi uyarımlar nötrofillerin yaşam süresini uzatmaktadır. Yangı sürecine girmezse apoptosis yolu ile ortadan kaldırılan nötrofiller makrofajlarca fagositosisle edilir

**Bu derleme, 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde sunulmuştur, 5-9 Ekim 2015, Erzurum, Türkiye.**

**This review has been presented at the 19th National Parasitology Congress, 5-9 October 2015, Erzurum, Turkey.**

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Kader Yıldız E.posta: kaderyildiz@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4936

©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)

(efferositosis) (5). Nötrofillerin dolaşımdaki sayısı enfeksiyonun da dahil olduğu stres durumlarında artar (1).

Nötrofiller, kompleman aktivasyonu sonrası şekillenen protein parçaları, fibrinolitik sistem ve kinin sisteminden elde edilen faktörler, lökosit ve trombosit ürünleri, bakteri ürünleri gibi kemotaktik ajanlar tarafından yangı bölgesine ya da enfeksiyon yerine çekilir (3). Vasküler permeabilite sonucunda damardan çıkan nötrofiller diapedezis ve kemotaksis ile yangı bölgesine gelen ilk hücreler olup vücuda giren yabancı tehdit hakkında doğal bağışıklıkta yer alan diğere hücrelere sinyal gönderir (1, 2). Bu özelliğı sebebiyle nötrofil vücuda giren patojenler için bağışıklık sisteminin seçkin unsuru olarak kabul edilir (3).

Enfeksiyon bölgesinde patojenlerle farklı stratejilerle savaşılabilecek silahlar taşıyan nötrofil doğal bağışıklıkta anahtar rolü oluşturur (2). Nötrofil, yalnızca patojenler için potansiyel etkili olması dışında konak için de oldukça toksik özellik gösteren, oldukça reaktif, fakat hedef spesifitesi zayıf efektör molekülleri barındırır. Bu moleküllerin çoğı "granül" olarak adlandırılan özel kompartmanlarında depolanır ve fagolizozom içinde patojene karşı etkili olur. Bazı granül içerikleri ise patojenle karşılaştıktan kısa bir süre sonra biçimde salınır (1, 2). Nötrofildeki granüller içeriklerine göre primer, sekonder ve tersiyer olarak sınıflandırılır. Primer granüller; myeloperoksidaz (MPO), cathepsin G, defensinler, elastase ve proteinaz 3 taşır. Sekonder granüller; kollogenaz, gelatinaz, lactoferrin ve sialidase, tersiyer granüller ise gelatinaz, B<sub>2</sub> mikroglobulin vd. içerir (6).

Yakın zamana kadar, organizmada bir patojenle karşılaştıran nötrofilin mücadelede iki ana strateji (fagositozis ve degranülasyon) kullandığı bilinmekteydi (2). Nötrofil yüzeyindeki çok sayıda reseptöre (toll-like reseptörler, antikoların Fc bölgeleri için reseptörler, C3b için reseptörler ve komplement sistemin obsonize eden molekül) bağlanan patojen fagozom şekillendirir ve böylelikle hücre içine alınır. Nötrofil neredeyse kendi büyüklüğünde partikülleri yutma yeteneğıne sahiptir. Fagositosisi takiben fagozom içindeki patojen non-oksidatif ve oksidatif öldürme mekanizması ile yok edilir. Non-oksidatif öldürme mekanizmasında farklı granül fraksiyonlarının membranları fagozomal membran ile birleşir ve granül içerikleri fagozoma dökülür. Oksidatif öldürme mekanizması (respiratorik yanma) ise reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) üretimi yoluyla olmaktadır. Nötrofile ait diğere bir savunma strateji olan degranulasyonda ise enfeksiyon çevresine patojenlere etkili moleküller salınarak onunla mücadele yapılır. Bu moleküller seçici olmadığı için konak dokusu üzerinde de patojen etkiye sahiptir (6).

Bu mekanizmalar dışında ilk kez Brinkmann vd. (2004) tarafından nötrofillerin patojenle mücadelede farklı bir stratejiye de sahip olduğunu belirlenmiştir (7). IL-8, phorbol myristate acetate ya da lipopolisakkarit ile uyarılan nötrofillerin "hücre dışı tuzaklar" (NETs) olarak tanımlanan yapılar oluşturduğı görülmüştür (7). Netosis olarak adlandırılan bu savunma mekanizmasının keşfi ile organizma için nötrofilin önemi bir kat daha artmıştır. Bu stratejide patojenle ya da bazı moleküllerle karşılaşılarak aktive olmuş nötrofilde gerçekleşen bir dizi hücre içi reaksiyon sonucunda hücre dışına çekirdek içeriğı salınmaktadır (8). İlk olarak nötrofillerden tanımlanan hücre dışı tuzak oluşumunun diğere granulositik hücreler (eozinofil ve mast hücreleri, tavuk heterofilleri, makrofaj/monositler) tarafından da şekillendirildiğı anlaşılmıştır (4, 9). Ancak eozinofillerin oluşturduğı NETs

yapılarının mitokondriyal DNA'dan teşekkül ettiğı ve yapısında histonlar bulunmadığı için hücre ölümüne sebep olmadığı belirlenmiştir (10). Bazı araştırmacılar nötrofil dışındaki bazı hücrelerin de oluşturmasından dolayı bu olayı etosis olarak adlandırmaktadır (6). İnsan, fare, sığır, keçi, kedi, köpek, koyun, balık, tavuk ve karidesin netosis şekillendirdiğı tespit edilmiştir. Netosis hem in vitro hem de in vivo gelişmektedir (11-21).

Omurgası DNA ve histonlardan oluşan NETs elektron mikroskopik olarak 15-17 nanometre çapında linear elementler ve bunların üzerinde yerleşmiş 50 nm çaplı protein granülleri olarak izlenir (10). Granular ve sitoplazmik proteinler taşıyan dekonpanse kromatinden oluşan NETs sadece DNase ile yıkılmaktadır (2). Netosis esnasında nötrofilde hücre içinde birbirini takip eden pek çok nükleer ve sitoplazmik değişiklikler görülmektedir (6). Nötrofil patojenle karşılaştığında önce antimikrobiyal özellikte ve NETs oluşumu için esansiyel olan ROS üretir. Elastaz ve MPO'nun granüllerden nükleusa nakli şekillenir. Çekirdekte histon modifikasyonu olur. Daha sonra nötrofilin çekirdeğı eu- ve heterokromatin ayırımını kaybeder ve karakteristik lobular formu kaybolur, nükleer membran şişer ve bunu granül membranlarının parçalanması takip eder, böylece nükleer, sitoplazmik ve granular içerikler birbiri ile karışır. Plazma membranının geçirgenliğı artar ve kromatin serbest kalır. Sonuçta hücre dışına protein/histonca zengin ve başlangıçtaki hücre büyüklüğü ile kıyasla 10-15 kat büyük bir alanda yayılan bulut benzeri NETs çıkışı olur (2). NETs yapısında histonlar (H1, H2A, H2B, H3, H4), bakterisidal permeabilite arttıran protein (BPI) gibi pek çok granül proteini, NE ve MPO oldukça bol miktarda bulunmaktadır (4).

Nötrofillerin patojenlerle savaşta barındırdıkları patojene karşı etkili maddelerin tamamını degranulasyon yolu ile salmak yerine bunları NETs oluşumunu takiben hücre dışı alana bırakmasının patojenle mücadelede bazı avantajları vardır (8). Nötrofiller NETs yapıları ile enfeksiyon bölgesinde öncelikli olarak fiziksel olarak çevreleme ya da sınırlama yapmaktadır. Bu durum nötrofilden salınan granül içeriklerinin birbiri ile sinerji yaparak patojen üzerine etkinliklerinin artmasına imkan sağlar. Aynı zamanda konak için de olumsuz etkili olan bu içeriklerin konak dokuları üzerindeki hasarı da minimize edilir ve bölgedeki yangısal yanıt düzenlenir. Fiziksel çevreleme olayı nötrofilin kullandığı diğere bir strateji olan fagositozisin de bir niteliğı olsa da fagositosiste patojenin hücre içine alınabilmesi için oldukça fazla hücrenel enerjinin kullanılması gerekir. Bu durumun aksine nötrofil NETs ile patojenleri ilave enerji kullanılmadan yakalar. Ayrıca NETs ortamda daha uzun süre kalmaktadır (2).

Netosisi tetikleyen çok fazla uyarım bulunmaktadır (4). Patojenler ve onların ürünleri ile bazı biyokimyasal ajanlar (phorbol-12-myristate-13-acetate, lipopolisakkarit, IL-8, TNF- $\alpha$ , monosodyum urat kristalleri, nitrik oksid), otoantikolar ve immun komplekslerin NETs oluşumunu tetiklediğı bilinmektedir (10).

Netosis, nekrosis ve apoptosisten pek çok yönden farklı bir hücre ölüm sürecidir. Nekroziste hücreden ekstrasellüler alana DNA salınımı yoktur. Hücrede nükleer loplardan gözden kaybolması, eu ve heterokromatin arasındaki farklılığın kaybolması nekrosis ve netosiste birbirine benzer olsa da nekrosis esnasında nükleer ve granül membranlar bozulmadan kalmaktadır. NETs formu aktivasyondan sonraki 10 dakika içinde şekillendiğini göstermiştir, bu proses apoptozisten daha hızlıdır (22). Netosis esnasında



DNA parçalanması yoktur, caspazların olaya karışmadığı gözlenir, ölen hücrelerin morfolojik görünümü netosis apoptoziste birbirinden farklıdır (10).

Netosisin iki farklı şekilde oluştuğu ileri sürülmüştür. Patogenin direkt uyarımı sonrasında 2-3 saat içinde aktive olan nötrofillerde nükleer ve granüler membranlar gözden kaybolur, plazma membranının yırtılarak granüler proteinler içeren nükleer içerik hücre dışı alana yayılır (2). Bu olay "suicidal netosis" olarak adlandırılmaktadır (10). Diğer bir mekanizmada ise nötrofiller ortamda patojene ait lipopolisakarit ve kan pulcukları varlığında birkaç dakika içinde NETs geliştirmektedir (2). "Vital netosis" olarak adlandırılan bu sürecin organizmada sepsis esnasında görülen vasküler obstrüksiyon esnasında şekillendiği görülmüştür (10). Suisidal netosiste patojenin direkt uyarımı ile nötrofiller 2-4 saat içinde aktive olur, nükleer ve granüler membranları ortadan kaybolur, plazma membranı yırtılarak granül proteinleri içeren nükleer içerik hücre dışı alana yayılır. "Hücre sel kamikaze" olarak adlandırılan suisidal netosis olayı yavaş bir proses olup nötrofilin ölmesi sonucunda hücre membranı yırtılarak hücre dışı alana NETs salınımı şekillenir. Bu sürece giren nötrofilin kemotaksis ve fagositoz gibi fonksiyonları olmaz. Vital netosis ise nötrofilin ölümüne sebep olmayan NETs salınımı prosesi olup suisidal netosise göre daha hızlı şekillenir (5-60 dakikada). Çekirdekdeki DNA nükleer membrandan sitoplazmaya doğru tomurcuklanır ve NETs nötrofil hücre zarı yırtılmadan dışarı çıkar. Vital netosis esnasında nötrofilde lizis görülmez ve çekirdeğini kaybeden nötrofil hala kemotaksis ve fagositoz benzeri fonksiyonel kapasiteye sahiptir (10).

Nötrofil patojenle karşılaştığında sahip olduğu savunma stratejilerinden (fagositosis, degranulasyon ve netosis) hangisini kullanacak sorusunun henüz net bir cevabı yoktur. Ancak NETs oluşumu sonucunda nötrofilin ölümü gerçekleştiği için bu savunma yolunun nötrofil için son olduğu düşünülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar sonucunda nötrofillerin patojenle karşı karşıya geldiğinde sahip olduğu üç stratejiyi de sırayla kullandığı belirlenmiştir (4). Patojenle karşılaşılan nötrofil ilk birkaç dakika içinde fagositosis ile patojenleri yok etmeye çalışır. Takibindeki 10 dakika içinde nötrofilin sekretuar vezikülleri degranüle olur, bunu gelatinaz granüller, spesifik granüler ve azurofil granüller takip eder. Daha sonra suisidal netosis süreci başlar (4). Ancak bu süreç esnasında patojenin fagosite edilmesini takiben nötrofilin lize olması tutulan bakteriyi tekrar serbest bırakacağı için nötrofilin normal fonksiyonlarını takiben suisidal netosis prosesine girmesi muhtemel değildir. Bu sebeple nötrofillerin patojenle karşılaştığında üç savunma stratejisini sırayla kullandığı görüşü nispeten zayıflamıştır. Araştırmacılar muhtemelen nötrofilin alt grupları olduğunu düşünmektedir. Bir grup nötrofil fagositosis gibi canlı hücre fonksiyonları yaparken diğer bir grup ise suicidal netosis sürecine girmektedir. In vitro çalışmalarda PMN'in %20-25'inin NETs ürettiğinin gözlenmesi bu teoriyi destekler niteliktedir (10).

Vital netosis sürecine giren ve bunun sonucunda intakt çekirdeğini kaybeden nötrofil organizmada işlev yapmaya devam eder mi sorusu bilim adamlarının kafasını meşgul etmektedir. Bilindiği gibi tüm eukaryotik hücreler yaşamlarına çekirdeğe sahip olarak başlar. Ancak çekirdeği olmadan da yaşayabilir ve fonksiyonunu

yapabilir. Örneğin eritrositler kemik iliğinde oluştuğunda bir çekirdeğe sahiptir ancak kan dolaşımına girmeden önce bunu kaybeder. Bununla birlikte eritrositler metabolik olarak aktiftir ve dolaşımda 120 gün canlı kalır. Eritrositlerin yanı sıra çekirdeksiz olan kan pulcukları dolaşımda yedi gün yaşar ve hemostazis, immunité, yangı ve kemotaksiste multiple fonksiyona sahiptir. Bu çekirdeksiz hücreler messenger RNA taşımaktadır (5, 10).

Nötrofillerin ana görevi organizmaya giren patojenleri uzaklaştırmaktır (10). Muhtemelen NETs, patojenlerin organizmaya yayılmasını engelleyerek, virulens faktörlerini inaktive ederek ve öldürerek enfeksiyonları yönetir (6, 23). Nötrofiller hem in vivo ve hem de in vitro koşullarda NETs yapıları şekillendirilmekte, patojenlerle mücadelede ROS ile non-oksidatif faktörleri de kullanmaktadır (4). Patojenin hücre duvarını ya da membranını parçalayan veya büyümesini engelleyen bu faktörler defensinler, katalisidinerler, MPO gibi proteinler ve peptidler, histonlar, bakteriyel permeabilite arttırıcı protein (BPI) ve katyonik serin proteazlar, cathepsin G, proteinaz 3 ve azurocidin'dir (24). Üstelik yüksek konsantrasyonda bu proteinler proteaz aktivitelerinden bağımsız olarak patojen üzerine etkilidir (2). NETs içeriğindeki histonların bazı bakterilere karşı bakterisidal aktivitesi kanıtlanmıştır (10). Potansiyel antibiyotikler olarak kabul edilen histonlar nanomolar konsantrasyonda parazitleri ve bakterileri öldürür. Histon toksisitesinin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte katyonik özellik göstermelerinden dolayı patojen membrana bağlanarak onları yıkımlar ya da geçirgen hale getirir (25). Histonlar tüm memeli hücrelerini öldürür ve sepsis patogeneziindeki toksisiteye karşı (24). Nötrofillerde en çok bulunan proteinlerden birisi olan MPO, uyarımı takiben nötrofillerden salınır ve NETs'in şekillenmesi için gereklidir (26).

Patojenle karşılaşılan nötrofil patojenlere zarar veren ve NETs'in şekillenmesi için esansiyel olan ROS üretir. Netosis oluşturan uyarımın çoğu multienzim kompleksi NADPH oksidaz tarafından üretilen ROS'a bağlıdır. NADP enzimlerini inhibe eden ilaçlar NETs salınımını da engeller. Kronik granümatöz enfeksiyona sahip hastalarda nötrofillerin NETs oluşturma kapasitesi yoktur (2). ROS'a bağlı olmayan NETs salınımı *L.donovani*'de gözlenmektedir. Netosis esnasındaki en önemli olay olan kromotin dekondeksasyonu nötrofillerdeki primer granüllerden nükleusa elastazın gelmesi sonucunda görülür ve enzim nükleusa bulunan histonları degrade eder. Takibinde MPO nükleusa gelir ve henüz bilinmeyen bir mekanizma ile kromotin dekondeksasyonu için elastaz ile birlikte çalışır (6).

NETs'in fonksiyonunun öncelikli olarak patojenin fiziksel olarak çevrelenmesi ve antibakteriyel etki olduğu belirlenmiştir. Enfeksiyon bölgesinde NETs tarafından oluşturulan fiziksel çevreleme/sınırlama ile nötrofilin granül içeriklerinin etkinlikleri arttırılır (sinerji imkanı), aynı zamanda granüllerin konak dokuları üzerindeki olumsuz hasarı da minimize edilir. NET'in antibakteriyel etkisi yapısında bulunan DNA, granüler içerik, histonlar ve bazı sitoplazmik proteinler (lactoferrin and cathepsins), enzimler (MPO ve elastaz) ile ilgilidir (1-3).

NETs pek çok bakteriyi ve *Candida albicans*'ı etkisiz hale getirmektedir, ayrıca HIV virusuna karşı da savunmaya katılır. Bakteri eliminasyon mekanizması tam olarak anlaşılammış olmakla beraber muhtemelen aynı yollar kullanılarak gerçekleşir

(5). Antimikrobiyal heterodimer olan calprotectin NETs'in majör antifungal komponentidir. Netosisin mantar enfeksiyonu esnasında fagositozdan ve degranulasyondan daha faydalı olmasının muhtemel sebebi mantar hifalarının fagositozisle alınmayacak kadar büyük olması olabilir (10).

Parazitlerin NETs oluşumunu tetiklediğine dair ilk kayıt 2008 yılına aittir (20). Zorunlu hücre içi yaşayan protozoonlardan biri olan *Plasmodium falciparum*'un NETs şekillendirdiği klinik çalışma ile belirlenmiştir (20). Bu parazit ile enfekte 6 yaş altı çocuklardan alınan kan örneklerinde NETs yapılarının varlığı görülmüş ve bu yapıların parazitli eritrosit ve trofozoitleri içerdiği tespit edilmiş, NETs oluşumunun aynı zamanda sıtma patogeneğinde de rolü olduğu ileri sürülmüştür (20).

*Plasmodium falciparum* dışında *Leishmania amazonensis*, *Leishmania major*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania chagasi*, *Leishmania donovani*, *Eimeria bovis*, *Besnoitia besnoiti*, *Eimeria arloingi*, *Cryptosporidium parvum* ve *Toxoplasma gondii*'nin NETs yapıları oluşturduğu belirlenmiştir (11-13, 27-29). Bu protozoonların yanı sıra *Schistosoma japonicum* (30), *Strongyloides stercoralis* (31), *Haemonchus contortus* (32)'un da NETs oluşumunu tetiklediği bildirilmiştir.

Nötrofil farklı parazit safhaları (takizoit, sporozoit, promastigot vd.) ile karşılaştığında aktive olur (33). NETs'in sporozoitler üzerine letal etki göstermediği (28) buna karşılık takizoitler üzerine farklı düzeylerde letal etkili olduğu belirlenmiştir (11-13). Bu sebeple NETs'in parazit üzerine letal etkisinin parazitin safhasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür (33). Nispeten daha büyük yapı ve kalın peliküle sahip olan sporozoit safhası NETs içeriğindeki antibakteriyel nitelikteki kimyasalların etkisini sınırlandırdığı ifade edilmiştir (33).

Netosis ekstrasellüler alanda gerçekleşmektedir (2, 24). NETs oluşumunu tetiklediği bilinen protozoonlar zorunlu hücre içi yaşayan parazitlerdir (11-13, 28, 29). Hücre içi protozoonlar konağa girdiklerinde yerleşebilecekleri uygun hücre arama safhası ya da konak hücresinde çoğalmayı takiben yeni konak hücrelerine ulaşabilmek için bulunduğu hücreyi patlattığı dönem hariç tüm yaşam çemberini konak hücresi içinde geçirmektedir (34). Konak hücresi içinde bulunmadığı zamanlar parazit nötrofillerin müdahalesine açıktır. Bu durum nötrofillere parazitin eliminasyonu ya da yeni konak hücrelerinin istilasının engellenmesi için bir şans vermekte, böylelikle organizmada parazitin sayısı azaltılmaya çalışılmaktadır (33).

Doğal bağışıklığın önemli bir unsuru olan netosis yanlış zamanda ya da düşük yoğunlukta ve istenmeyen bir yerde şekillenmişse organizmada olumsuz durumlara sebep olmaktadır (10). Sepsis esnasında PMN-platelet etkileşimi NETs salınmasını tetikler. Dolaşımdaki NETs damar endoteline hasar verebilir. Aynı zamanda bu kromatin iplikçikleri dolaşımda iskeleler oluşturarak trombus şekillenmesini sağlar ve böylelikle kan akışında bozukluk oluşur. Bu durum netosisin vende tromboz riskini arttırdığını gösterir (10). Preeklampsia ve NETs oluşumu arasında ilişki olduğu ileri sürülmüştür (10). Kanser hastalarında enfeksiyon-NETs-metastaz ile arasında bağlantı belirlenmiştir. Ciddi postoperatif enfeksiyonlardan müzdarip olan kanser hastalarında metastazdan ölüm oranının, enfekte olmayana göre daha yüksek olduğu

belirlenmiştir. NETs'in ana komponentlerinden birisi olan elastaz tümör hücre proliferasyonunu artırma yeteneğine sahiptir ve NETs dolaşımdaki tümör hücrelerinin metastazı teşvik eder (5).

NETs aynı zamanda bazı otoimmün hastalıkların patolojisine de katılmakta, otoimmün yanıtı arttırmaktadır (35). Organizmada sürekli NETs varlığı DNA, RNA ve spesifik proteinlere karşı otoantikorların fazla üretimine sebep olmaktadır. ANCA vaskülitisi, sistemik lupus erythematosus ve romatoid artritiste NETs patogenezi araştırılmıştır (35). Obesite ile ilgili insülin direncinin etiyolojisinde adipöz dokuda şekillenen yangıya katılan nötrofiller salgıladıkları elastaz ile insülin sinyal yolunu değiştirerek hepatositlerde insülin direnci şekillendirmektedir (36).

Sonuç olarak organizmada şekillenen doğal bağışıklığın önemli unsurlarından biri olan nötrofil patojenlerle mücadelede hücre dışı tuzaklar oluşturmaktadır. Organizmada doğal bağışıklığın önemli bir unsuru olan netosis immunitenin iki kenarı keskin kılıcı olarak kabul edilmektedir.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Çıkar Çatışması:** Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

**Finansal Destek:** Bu derleme TÜBİTAK (TOVAG 214O288) tarafından desteklenmiştir.

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

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

**Financial Disclosure:** This study was financially supported by TÜBİTAK (TOVAG 214O288).

## KAYNAKLAR

1. Mesa MA, Vasquez G. NETosis. *Autoimmun Dis* 2013; 1: 1-7. [CrossRef]
2. Papayannopoulos V, Zychlinsky A. NETs: a new strategy for using old weapons. *Trends Immunol* 2009; 30: 513-21. [CrossRef]
3. Kumar V, Sharma A. Neutrophils: cindirella of innate immune system. *Int Immunopharmacol* 2010; 10: 1325-34. [CrossRef]
4. Kaplan MJ, Radic M. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity. *J Immunol* 2012; 189: 2689-95. [CrossRef]
5. Timar CI, Lörincz AM, Ligeti E. Changing world of neutrophils. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 2013; 465:1521-33. [CrossRef]
6. Guimaraes-Costa AB, Nascimento MT, Wardini AB, Pinto-da-Silva LH, Saraiva EM. ETosis: A microbicidal mechanism beyond cell death. *J Parasitol Res* 2012; 929743. [CrossRef]
7. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004; 303: 1532-5. [CrossRef]
8. Branzk N, Papayannopoulos V. Molecular mechanisms regulating NETosis in infection and disease. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 513-30. [CrossRef]
9. Yousefi S, Simon D, Simon HU. Eosinophil extracellular DNA traps: molecular mechanisms and potential roles in disease. *Curr Opin Immunol* 2012; 24: 736-739. [CrossRef]
10. Manda A, Pruchniak MP, Arazna M, Demkow UA. Neutrophil extracellular traps in physiology and pathology. *Cent E J Immunol* 2014; 39: 116-21. [CrossRef]
11. Abi Abdallah DS, Lin C, Ball CJ, King MR, Duhamel GE, Denkers EY. *Toxoplasma gondii* triggers release of human and mouse neutrophil extracellular traps. *Infect Immun* 2011; 80: 768-77. [CrossRef]

12. Munoz Caro T, Hermosilla C, Silva LMR, Cortes H, Taubert A. Neutrophil extracellular traps as innate immune reaction against the emerging apicomplexan parasite *Besnoitia besnoiti*. *Plos one* 2014; 9: e91415. [\[CrossRef\]](#)
13. Silva LMR, Munoz Caro T, Gerstberger R, Vila-Viçosa MJM, Cortes HCE, Hermosilla C et al. The apicomplexan parasite *Eimeria arloingi* induces caprine neutrophil extracellular traps. *Parasitol Res* 2014; 113: 2797-807. [\[CrossRef\]](#)
14. Wardini AB, Guimaraes-Costa AB, Nascimento MT, Nadaes NR, Danelli MG, Mazur C, et al. Characterization of neutrophil extracellular traps in cats naturally infected with feline leukemia virus. *J Gen Virol* 2010; 91: 259-64. [\[CrossRef\]](#)
15. Jeffery U, Kimura K, Gray R, Lueth P, Bellaire B, LeVine D. Dogs cast NETs too: Canine neutrophil extracellular traps in health and immune-mediated hemolytic anemia. *Vet Immun Immunopathol* 2015; 168: 262-8. [\[CrossRef\]](#)
16. Pisanu S, Cubeddu T, Pagnozzi D, Rocca S, Cacciotto C, Alberti, A et al. Neutrophil extracellular traps in sheep mastitis *Vet Res* 2015; 46: 59. [\[CrossRef\]](#)
17. Palic D, Ostojic J, Andreassen CB, Roth JA. Fish cast NETs: Neutrophil extracellular traps are released from fish neutrophils. *Dev Comp Immun* 2007; 31: 805-16. [\[CrossRef\]](#)
18. Chuammitri P, Ostojic J, Andreassen CB, Redmond SB, Lamont SJ, Palic D. Chicken heterophil extracellular traps (HETs): novel defense mechanism of chicken heterophils. *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 129: 126-31. [\[CrossRef\]](#)
19. Koiwai K, Alenton RR, Kondo H, Hirono I. Extracellular trap formation in kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*) hemocytes is coupled with c-type lysozyme. *Fish Shellfish Immunol* 2016; 52: 206-9. [\[CrossRef\]](#)
20. Baker VS, Imade GE, Molta NB, Tawde P, Pam SD, Obadofin MO, et al. Cytokine-associated neutrophil extracellular traps and antinuclear antibodies in *Plasmodium falciparum* infected children under six years of age. *Malar J* 2008; 7: 41-64. [\[CrossRef\]](#)
21. Munoz-Caro T, Silva LMR, Rentería-Solis Z, Taubert A, Hermosilla C. Neutrophil extracellular traps in the intestinal mucosa of *Eimeria*-infected animals. *Asian Pac J Trop Biomed* 2016; 6: 301-7. [\[CrossRef\]](#)
22. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007; 176: 231-41. [\[CrossRef\]](#)
23. Simon D, Simon HU, Yousefi S. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases. *Allergy* 2013; 68: 409-16. [\[CrossRef\]](#)
24. Hahn S, Giaglis S, Chowdury CS, Hösl I, Hasler P. Modulation of neutrophil NETosis: interplay between infectious agents and underlying host physiology. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 439-53. [\[CrossRef\]](#)
25. Brinkmann V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J Cell Biol* 2012; 198: 773-83. [\[CrossRef\]](#)
26. Metzler KD, Fuchs TA, Nauseef WM, Reumaux D, Roesler J, Schulze I, et al. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity. *Blood* 2011; 117: 953-9. [\[CrossRef\]](#)
27. Guimaraes-Costa AB, Nascimento MT, Froment GS, Soares RP, Morgado FN, Conceicao-Silva F, et al. *Leishmania amazonensis* promastigotes induce and are killed by neutrophil extracellular traps. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 6748-53. [\[CrossRef\]](#)
28. Behrendt JH, Ruiz A, Zahner H, Taubert A, Hermosilla C. Neutrophil extracellular trap formation as innate immune reactions against the apicomplexan parasite *Eimeria bovis*. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 133: 1-8. [\[CrossRef\]](#)
29. Gabriel C, McMaster WR, Girard D, Descoteaux A. *Leishmania donovani* promastigotes evade the antimicrobial activity of neutrophil extracellular traps. *J Immunol* 2010; 185: 4319-27. [\[CrossRef\]](#)
30. Chuah C, Jones MK, Burke ML, McManus DP, Owen HC, Gobert GN. Defining a pro-inflammatory neutrophil phenotype in response to *Schistosoma* eggs. *Cell Microbiol* 2014; 16: 1666-77. [\[CrossRef\]](#)
31. Bonne-Annee S, Kerepesi LA, Hess JA, Wesolowski J, Paumet F, Lok JB, et al. Extracellular traps are associated with human and mouse neutrophil and macrophage mediated killing of larval *Strongyloides stercoralis*. *Microbes Infect* 2014; 16: 502-11. [\[CrossRef\]](#)
32. Munoz-Caro T, Rubio RMC, Silva LM, Magdowski G, Gartner U, McNeilly TN, et al. Leucocyte-derived extracellular trap formation significantly contributes to *Haemonchus contortus* larval entrapment. *Parasit Vectors* 2015; 8: 607. [\[CrossRef\]](#)
33. Hermosilla C, Munoz Caro T, Silva LMR, Ruiz A, Taubert A. The intriguing host innate immune response: novel anti-parasitic defence by neutrophil extracellular traps. *Parasitology* 2014; 141: 1489-98. [\[CrossRef\]](#)
34. Kreier JP. Editör. *Parasitic Protozoa*. Second Edition. London: Academic Press Inc.; 1993.
35. Darrah E, Andrade F. NETs: the missing link between cell death and systemic autoimmune diseases? *Front Immunol* 2013; 3: 428. [\[CrossRef\]](#)
36. Talukdar S, Oh da Y, Bandyopadhyay G, Li D, Xu J, McNelis J, et al. Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nat Med* 2012; 18: 1407-12. [\[CrossRef\]](#)

# İndirekt Floresan Antikor Test İle Tanı Konan *Leishmania* Enfeksiyonuna Bağlı Hemofagositik Sendrom

Hemophagocytic Syndrome due to *Leishmania* Infection Diagnosed with Immunofluorescence Antibody Test

Hakan Sarbay<sup>1</sup>, Yasemin Işık Balcı<sup>1</sup>, Selin Güler<sup>1</sup>, Meral Türk<sup>2</sup>, Mehmet Akın<sup>1</sup>, Aziz Polat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalı, Denizli, Türkiye

<sup>2</sup>Denizli Devlet Hastanesi, Tıbbi Parazitoloji Kliniği, Denizli, Türkiye

## ÖZ

Leishmaniasis, sıklıkla 5 yaş altında görülen retikuloendotelial sistemi tutan enfeksiyon hastalığıdır. Visseral enfeksiyon, uzun süreli ateş, kilo kaybı, halsizlik, pansitopeni, hepatosplenomegaliye sebep olabilir. Türkiye’de Visseral Leishmaniasis’ten (VL) sorumlu etken *Leishmania infantum*’dur. Bu yazıda İndirekt Floresan Antikor Test (IFAT) ile tanı konan *Leishmania* enfeksiyonuna bağlı hemofagositik sendrom sunulmuştur. Özellikle kemik iliği aspirasyonunda amastigot görülmeyen vakalarda, IFAT’ın VL tanısında çok önemli olduğunu düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** IFAT, Leishmaniasis, Hemofagositik Sendrom

**Geliş Tarihi:** 27.04.2016

**Kabul Tarihi:** 22.07.2016

## ABSTRACT

Leishmaniasis is a reticuloendothelial system disease that mostly observed before the age of 5. Visceral infection causes long-standing fever, weight loss, weakness, pancytopenia, and hepatosplenomegaly. *Leishmania infantum* is responsible for visceral leishmaniasis (VL) in Turkey. We present a case of hemophagocytic syndrome due to *Leishmania* infection diagnosed with an immunofluorescence antibody test (IFAT). *Leishmania* amastigotes were not observed on bone marrow aspiration. We consider that IFAT is very important for parasite detection in the diagnosis of VL in children, particularly when amastigotes are not obtained on bone marrow aspiration.

**Keywords:** IFAT, leishmaniasis, hemophagocytic syndrome

**Received:** 27.04.2016

**Accepted:** 22.07.2016

## GİRİŞ

Visseral leishmaniasis (VL), retikuloendotelial sistemi tutan parazit hastalığıdır (1). *Ülkemizde Ege ve Akdeniz bölgelerinde endemik seyretmektedir. Türkiye’de yapılan çalışmalarda VL’de etkenin L.infantum olduğu saptanmıştır* (2). Ana rezervuarı köpekler ve kemiricilerdir. Etkenin insana bulaşması enfekte dişi tatarcık sinekleri (phlebotomus, yakarca) ile olmaktadır (3).

*Leishmania* enfeksiyonlarına bağlı sekonder Hemofagositik Lenfositosis (HLH) gelişebilmektedir. HLH, lenfosit ve makrofajların artmış aktivasyonu sonucu fazla miktarda sitokin üretimiyle oluşan hiperinflamatuvar bir sendromdur

(4). Histiosit içine yerleşen *Leishmania*, *Mycobacterium tuberculosis* veya *Salmonella typhimurium* gibi intraselüler patojenler tarafından Toll Like reseptörlerin (TLR) direkt aktivasyonunun enfeksiyon ilişkili HLH’ye neden olduğu düşünülmektedir (5). *Leishmania* enfeksiyonuna bağlı gelişen HLH’de kemik iliği aspirasyonunda hemofagositoz ve *Leishmania* amastigotları görülebilmektedir (6).

Bu yazıda ateş, pansitopeni, hepatosplenomegali kliniği olan, kemik iliği aspirasyonunda hemofagositoz görülen fakat *Leishmania* amastigotları görülmeyen Immunofluorescence Antibody Test (IFAT) ile VL’e bağlı HLH tanısı konan hasta sunulmuştur.

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Hakan Sarbay E.posta: drhakansarbay@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4692

©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)

## OLGU SUNUMU

Ateş ve iştahsızlık nedeniyle başvuran hastanın bir haftadır 39-40°C'yi bulan ateş, halsizlik, iştahsızlık ve her iki bacağına ağrı şikayetleri bulunmaktaydı. Üç yaş dört aylık olan hastanın öyküsünde ailenin hayvancılıkla uğraştığı, hastanın hayvanla temas ve çiğ süttten yapılan peynir tüketim öyküsü mevcuttu. Fizik muayenesinde genel durum orta, soluk görünümündü. Servikal, supraklavikuler, aksiller, inguinal lenfadenopati saptanmadı. Karaciğer 5 cm, dalak 6 cm palpe edildi. Laboratuvar tetkiklerinde beyaz küre: 3140 /mm<sup>3</sup> (4.000-12.000/mm<sup>3</sup>), Hemogloblin: 7,3 gr/dl (>11 gr/dL), MCV: 85 (73-92), trombosit sayısı: 55.000 /mm<sup>3</sup> (150.000-450.000/mm<sup>3</sup>), AST: 98 IU/L (<45 IU/L), ALT: 60 IU/L (45 IU/L), LDH: 503 U/L (120-330 U/L), sedimentasyon: 54 mm/sa (<20 mm/sa), CRP: 7,3 mg/dL (<0,5 mg/dL), böbrek fonksiyon testleri ve elektrolitler normal saptandı. Periferik yaymasında nötrofil: %40, lenfosit: %54, monosit: %6, atipik hücre-blast yoktu, hipokromi ve anizositoz mevcuttu, trombositler her sahada ortalama 4-5 adet görüldü. Viral serolojik incelemelerinde Toxoplazma, CMV, Rubella, EBV testlerinde özellik saptanmadı. Brucella tüp aglütinasyon testi negatif saptandı. Leishmaniasis kültürü gönderildi. Hemofagositik sendrom düşünülen hastanın ferritin: 573 ng/mL (20-200 ng/mL), trigliserid: 193 mg/dL (32-99 mg/dL), kolesterol: 79 mg/dL (109-189 mg/dL), HDL: 3 mg/dL (35-84 mg/dL), LDL: 37 mg/dL (60-140 mg/dL), fibrinojen: 287 mg/dL (200-400 mg/dL) saptandı. Kemik iliği aspirasyonu normoselüler, heterojen görünümdeydi. Blast, amastigot görülmedi, 3 adet hemofagositoz görüldü. *Leishmania* kültüründe üreme olmadı. *Leishmania* IFAT istendi. Hastaya 1 gr/kg/gün dozunda 2 kez IVIG verildi. Takiplerinde ateş yüksekliği devam eden hastaya HLH 2004 protokolü başlandı. Tedavinin 3. gününde hastanın ateşi normal sınırlara geriledi. *Leishmania* IFAT pozitif gelen hastaya lipozomal amfoterisin-B tedavisi 3 mg/gün dozunda 7 gün verildi. Tedavi başlangıcının 15. gününde laboratuvar tetkiklerinde, beyaz küre: 7.840 /mm<sup>3</sup>, hemogloblin: 8,6 gr/dL, trombosit sayısı: 204.000 /mm<sup>3</sup>, tedavinin 30. gününde beyaz küre: 9.200 /mm<sup>3</sup>, hemogloblin: 10,1 gr/dL, trombosit sayısı: 223.000 /mm<sup>3</sup> saptandı. Hastanın kontrol kemik iliği aspirasyonu normal olarak değerlendirildi. Tedavi sonrası fizik muayenesinde hepatosplenomegali saptanmadı. Kontrol için gönderilen *Leishmania* IFAT negatif saptandı.

## TARTIŞMA

Visseral leishmaniasis, daha çok çocuklarda görülen, retiküloendotelial sistemi tutan protozoon enfeksiyonudur. Kuluçka süresi 10-14 günden 10 yıla kadar değişebilmekle birlikte ortalama 2-4 aydır. VL olgularının %80'i beş yaş altındaki çocuklardır. Hastalığın bulgularının özgül olmaması ve kuluçka döneminin uzun olması nedeniyle çocuklarda tanı koymak zordur (7). Hastamız 3 yaş 4 aylık olup şikayetleri bir haftadır mevcuttu.

Sekonder HLH, enfeksiyon etkenleri içinde viral nedenlerden en sık CMV ve EBV enfeksiyonlarına, paraziter nedenlerden en sık *Leishmania* enfeksiyonlarına bağlı olarak gelişmektedir (8). HLH'de ateş, hepatosplenomegali, anemi, nötropeni, trombositopeni, hepatit, karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk, hiperferritinemi, hipofibrinojenemi, hipertrigliseridemi gibi klinik ve laboratuvar bulgular görülebilmektedir. Kemik iliği aspirasyonunda hemofagositoz %60 vakada görülebilir. Klinik ve laboratuvar şüphe varlığında kemik iliği aspirasyonunda hemofagositozun olmaması tanıdan uzaklaştırmamalıdır (9). Hastamızda 1 haftadır

39-40°C bulan ateş, halsizlik, iştahsızlık ve her iki bacağına ağrı şikayetleri fizik muayenesinde hepatosplenomegalisi bulunmaktaydı. Laboratuvar tetkiklerinde pansitopeni, karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme ve hiperferritinemi mevcuttu. Yapılan kemik iliği aspirasyonunda 3 adet hemofagositoz görüldü. Mevcut bulgularla HLH 2009 tanı kriterlerine göre 3 major, 2 minör kriter ile HLH tanısı konuldu ve HLH 2004 tedavi protokolü başlandı.

*Leishmania* enfeksiyonu, hem HLH'ye yol açabilir, hem de HLH'yi ateş, splenomegali, sitopeniye neden olduğundan taklit edebilir (10). Akut başlangıçlı hastalıkta ateş yüksekliği, solukluk, halsizlik, iştahsızlık ve karın şişliği en sık başvuru nedenleridir. Fizik muayenede, en sık bulgu masif splenomegalidir. Hepatomegali ve lenfadenopati de görülebilmektedir. Yurdumuzda yapılan çalışmalarda hepatosplenomegali %97,7-99, solukluk ise %50-99 saptanmıştır (11). Dokularda amastigotların gösterilmesi veya kültürde organizmanın üretilmesi ile kesin tanı konulabilmektedir. Karaciğer biyopsisi ve dalak ponksiyonu değerli tanı yöntemleri olsalar da her ikisi de kanama riski sebebiyle pratikte kullanılmamaktadır. Kemik iliği aspirasyonu güvenilir bir tanı yöntemidir. Amastigotlar, Giemsa ve Wright boyalarıyla %54-86 olguda görülmektedir (12). Spesifik *Leishmania* antikolarını belirlemek üzere ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), IFAT, kompleman birleşmesi, hemagglutinasyon gibi tanı yöntemleri de kullanılmaktadır. IFAT, VL tanısı için sıkça kullanılan bir yöntemdir. Promastigot ve amastigot formlarından hazırlanan antijenler kullanılmaktadır ve %90 olumlu sonuç vermektedir (13). Literatürde asemptomatik olup IFAT pozitif saptanan olgular vardır (14). Ayrıca klinik bulgular ile birlikte IFAT pozitifliğinin VL tanısı için çok anlamlı olduğu bildirilmiştir (15). Ülkemizden yapılan bir çalışmada kemik iliği aspirasyonunda amastigotların görülme oranı %69,2 olmasına rağmen IFAT ile tüm hastaların VL olduğu saptanmıştır (16). Başka bir çalışmada 4 hastanın ikisinde kemik iliği aspirasyonunda amastigot saptanmamış, diğer 2 hastanın kemik iliği aspirasyonu aile izni olmadığı için yapılamamıştır. Bu hastalara VL tanısı IFAT ile konulmuştur (17). Hastamızda kemik iliği aspirasyonunda amastigot görülmedi. *Leishmania* kültüründe üreme olmadı. HLH 2004 protokolü başlanan hastanın *Leishmania* IFAT pozitif gelmesi üzerine VL bağlı HLH tanısıyla tedaviye lipozomal amfoterisin-B tedavisi eklendi. Kemik iliği aspirasyonunun yapılamadığı veya yapıp da amastigotların görülemediği hastalarda serolojik tanı yöntemlerinin kullanılmasının çocukluk yaş grubunda fatal seyredebilecek bir hastalığın tanısını koymada çok önemli olduğunu düşünmekteyiz.

## SONUÇ

Sonuç olarak *Leishmania* enfeksiyonundan şüphe duyulan hastalarda kemik iliği aspirasyonunda amastigot görülmesi bile IFAT ile antijen tayini yapılabileceği ve *Leishmania* enfeksiyonlarının HLH ile birlikteliğinin olabileceği unutulmamalıdır.

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

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - H.S., Y.I.B.; Tasarım - H.S.; Denetleme - Y.I.B., A.P.; Kaynaklar - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Malzemeler - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - M.A., A.P.; Analiz ve/veya Yorum - H.S., Y.I.B., S.G., M.T., M.A., A.P.; Literatür Taraması - H.S.; Yazıyı Yazan - H.S., Y.I.B.; Eleştirel İnceleme - A.P., M.A., M.T.

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

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

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

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

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

**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. Minodier P, Garnier JM. Childhood visceral leishmaniasis in Provence. *Arch Pediatr* 2000; 7: 572-7. [CrossRef]
2. Ozensoy S, Ozbel Y, Turgay N Alkan MZ, Gul K, Gilman-Sachs A, et al. Serodiagnosis and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 363-9.
3. Günay Ü, Baytan B, Güneş AM. Çocukluk Çağında Kala-Azar. *Güncel Pediatri* 2005; 3: 86-9.
4. Rosado FG, Kim AS. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on diagnosis and pathogenesis. *Am J Clin Pathol* 2013; 139: 713-27. [CrossRef]
5. Verbsky JW, Grossman WJ. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: diagnosis, pathophysiology, treatment and future perspectives. *Ann Med* 2006; 38: 20-31. [CrossRef]
6. Gülez P, Hızarcıoğlu M, Dinçel N. Visceral Leishmaniasis ile Birlikte Hemofagositik Sendrom: İki Olgu Sunumu. *J Pediatr Inf* 2011; 5: 106-9.
7. Tanir G, Ozkan AT, Daglar E. Pediatric visceral leishmaniasis in Turkey. *Pediatrics International* 2006; 48: 66-9. [CrossRef]
8. Veerakul G, Sanpakit K, Tanphaichitr VS, Mahasandana C, Jirarattanasopa N. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in children: an analysis of etiology and outcome. *J Med Assoc Thailand*. 2002; 85: 530-41.
9. Chandrakasan S, Filipovic AH. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: advances in pathophysiology, diagnosis and treatment. *J Pediatr* 2013; 163: 1253-9. [CrossRef]
10. Roupheal NG, Talati NJ, Vaughan C, Cunningham K, Moreria R, Gould C. Infections associated with haemophagocytic syndrome. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 814-22. [CrossRef]
11. Meral A, Sevinir B, Gunay Ü. The re-emergence of visceral leishmaniasis: important diagnostic features. *J Trop* 2001; 47: 187-8.
12. Özgüven V. Kala-Azar. In: *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*: Ankara: Güneş Kitapevi, 2000;233-7.
13. Kuman HA, Altıntaş N. Leishmanialar. *Protozoon Hastalıkları*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi 1996; 79-100.
14. Ozensoy Töz S, Sakru N, Ertabaklar H, Demir S, Sengul M, Ozbel Y. Serological and entomological survey of zoonotic visceral leishmaniasis in Denizli Province, Aegean Region, Turkey. *New Microbiol* 2009; 32: 93-100.
15. Brustoloni YM, Cunha RV, Dorval ME, Oshiro ET, Pontes ER, Oliveira AL, et al. Comparison of conventional methods for diagnosis of visceral leishmaniasis in children of the Center-West Region of Brazil. *Braz J Infect Dis* 2007; 11: 106-9. [CrossRef]
16. Yılmaz EA, Tanır G, Tuygun N, Özkan AT. Visceral Leishmaniasis in 13 pediatric patients in Turkey: Treatment Experience. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2009; 33: 259-62.
17. Balci YI, Turk M, Ozgur A, Kucuktasci K. Dört Çocuk Hastada İndirekt Floresan Antikor Test kullanımı ile Visceral Leishmaniasis Tanısının Değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2011; 35: 114-6. [CrossRef]



# Van Yöresinde Fırsatçı Bir Protozoon Olan *Cyclospora cayetanensis*: Yedi Vaka Sunumu

*Cyclospora cayetanensis*, Opportunistic Protozoan Parasite, in Van Province, Turkey: A Report of Seven Cases

Zeynep Taş Cengiz, Yunus Emre Beyhan, Hasan Yılmaz

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

## ÖZ

Bu çalışmanın amacı Van, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında belirlenen yedi *Cyclospora cayetanensis* (*C. cayetanensis*) vakasını sunmaktır. Çalışmamızda, hastanemizin çeşitli polikliniklerinden gönderilen hastaların dışkı örneklerine nativ-Lugol, formol-etil asetat ve modifiye asit-fast boyama yöntemleri uygulanmıştır. *C. cayetanensis* ile enfekte olan hastaların hepsi 15 yaşından büyüktür. Vakalarımızın hiçbirinin yurtdışı seyahat hikayesi yoktur. Yedi vakamızdan sadece biri immunosupresedir. Tedavi için hastalara trimet-hoprim-sulfamethoxazole (160/800 mg) uygulanmıştır. Sonuç olarak hekimlerin ishal ve karın ağrısı olan hastalarda cyclosporiosisi de dikkate alması gerektiği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Cyclosporiosis, Van, Türkiye

**Geliş Tarihi:** 23.10.2015 **Kabul Tarihi:** 12.07.2016

## ABSTRACT

The aim of this study is to report seven *Cyclospora cayetanensis* (*C. cayetanensis*) cases determined in Yuzuncu Yil University Medical Faculty Parasitology Laboratory, Van province, Turkey. In the study native-Lugol, formalin-ethyl acetate and modified acid-fast staining methods were performed to stool samples of the patients sent from outpatient clinics of the hospital. All of the patients infected with *C. cayetanensis* were older than 15 years. In our cases there were not a history of international travel. Only one of our seven cases was immunosuppressed. Trimethoprim-sulfamethoxazole (160/800 mg) was administered for the treatment of the patient. In conclusion, it was understood that the physicians should consider cyclosporiosis in the patients with diarrhea and abdominal pain.

**Keywords:** Cyclosporiosis, Van, Turkey

**Received:** 23.10.2015 **Accepted:** 12.07.2016

## GİRİŞ

*Cyclospora cayetanensis* (*C. cayetanensis*) taksonomik olarak Apicomplexa şubesinin Coccidia alt sınıfında yer alır. Tüm dünyada morbidite ve mortaliteye neden olan bu parazit diyarenin önemli sebeplerinden biridir. Bu parazit enfekte immunokompetan hastalarda hafif ya da orta düzeyde kendini sınırlayan ishal görülür. İmmunitesi yetersiz olan hastalarda ise ciddi bağırsak bozuklukları ve uzun süren ishal görülür. Bu parazitozun coğrafik dağılımı, mevsimselliği ve bulaşma şeklini etkileyen faktörler hakkında önemli bilgi boşlukları vardır. Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde

*C. cayetanensis*'in epidemiyolojisi henüz tam olarak bilinmemektedir (1-4).

Bu çalışmanın amacı Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında belirlenen yedi *C. cayetanensis* vakasını sunmaktır.

## OLGULARIN SUNUMU

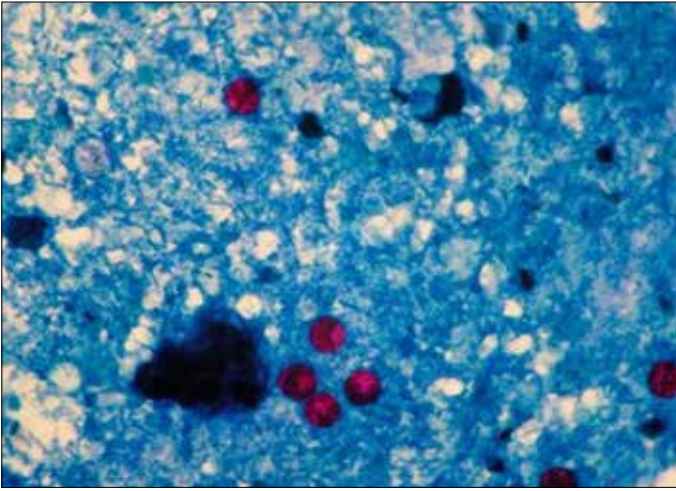
Bu çalışmada hastanemizin çeşitli polikliniklerinden gönderilen hastaların dışkı örnekleri, önce nativ-Lugol yöntemi ile incelenmiştir. Daha sonra formol-etil asetat çöktürme yöntemi ile çoklaştırma işlemi yapılarak örnekler modifiye asit-fast

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Zeynep Taş Cengiz E.posta: ztas72@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4572

©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



**Resim 1.** Vakalarımızda belirlenen *C. cayetanensis*'in modifiye asit-fast boyamada görünümü

boyama yöntemi ile boyanmıştır (5). Boyanan preparatlar immersion objektifinde incelenmiş ve ortalama 8-10 µm büyüklüğünde olduğu görülen etkenlerin çoğunun değişen yoğunlukta boya aldığı ve pembe tonlarında boyandığı, bazısının da hiç boya almayarak renksiz olduğu görülmüştür (Resim 1).

Vakalarımızın hepsi 15 yaşından büyüktür. Dört vakamızın (4, 5, 6 ve 7. vakalar) biyokimyasal, hematolojik ve mikrobiyolojik parametrelerinin normal aralıklar içerisinde olduğu görülmüştür. Vakalarımızın hiçbirinin yurtdışı seyahat hikayesi yoktur. Birinci vakaya 10 gün, diğer vakalara ise bir hafta boyunca günde iki defa olmak üzere trimetoprim-sulfametoksazole (160/800 mg) tedavisi uygulanmıştır. Hastaların dışkı örnekleri tedaviden bir hafta sonra tekrar incelenmiş ve hiçbirinin dışkı örneğinde etkene rastlanmamıştır.

### 1. Olgu

Yirmi altı yaşında erkek hasta kırsal kesimde ikamet etmekte ve immunsupresedir. Bu vakada arter anevrizması ve tromboz tanısı konulduktan sonra, pulse steroid ve heparin uygulanmasını takiben ishal, ateş ve karın ağrısı şikayeti olmuştur. Vakanın bazı biyokimyasal ve hematolojik parametreleri şöyledir: AST (aspartate aminotransferase) 57 U/L (↑), ALT (alanine aminotransferase) 166 U/L (↑), LDH (lactate dehidrogenase) 1146 U/L (↑), WBC (white blood cell)  $16.7 \times 10^9/\text{mm}^3$  (↑).

### 2. Olgu

Şehrin kenar bir mahallesinde ikamet eden, otuz dört yaşında, erkek bir hasta ishal, karın ağrısı, bulantı, kusma, halsizlik ve ateş şikayetleri ile müracaat etmiştir. Vakada, AST 52 U/L (↑), ALT 66 U/L (↑) olarak belirlenmiştir.

### 3. Olgu

Kırsal alanda ikamet eden 35 yaşındaki hasta ishal ve karın ağrısı şikayetleri ile müracaat etmiştir. Hastada AST 72 U/L (↑), ALT 104 U/L (↑), LDH 587 U/L (↑) olarak saptanmıştır.

### 4. Olgu

On altı yaşında kadın hasta ishal, karın ağrısı ve iştahsızlık şikayetleri ile başvurmuştur. Şehrin kenar mahallesinde ikamet etmektedir.

### 5. Olgu

Şehrin kenar bir mahallesinde ikamet eden hasta; ishal, karın ağrısı, bulantı, kusma, halsizlik ve ateş şikayetleri ile başvurmuştur. Hasta 23 yaşında, hamile bir kadındır.

### 6. Olgu

Kırsal alanda ikamet eden vakamız, 30 yaşında bir erkektir. Hasta; ishal, karın ağrısı, bulantı, kusma, halsizlik, ateş ve terleme şikayetleri ile başvurmuştur.

### 7. Olgu

Şehrin kenar mahallesinde ikamet eden 48 yaşındaki kadın hasta karın ağrısı ve ishal şikayetleri ile müracaat etmiştir.

## TARTIŞMA

*C. cayetanensis*'e dünyanın hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerinde rastlanmakla beraber bu parazit tropik ve subtropik bölgelerde daha sık görülmektedir. Hem ülkemizde hem de dünyada yapılan araştırmalarda cyclosporiasis AIDS hastaları ve kanserli hastalar gibi immunitesi bozulmuş hasta gruplarında daha çok rastlandığı ancak bazen de immunitesi normal kişilerde bu etkenin belirlendiği görülmüştür (2-4, 6).

Cyclosporiasis; ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalarda hem immünkompramize hem de immunokompetan bireylerde belirlenmiştir. Tsang ve ark. (7) 38 yaşında, diyare şikayeti olan HIV+ bir kadında, Koç ve ark. (8) 50 yaşında kronik diyare, kusma ve ateş şikayetleri olan HIV+ bir kadında (ülkemizde belirlenen ilk vaka), Büğet ve ark. (9) diyare şikayeti olan akut myeloblastik lösemi tanısı almış yedi yaşındaki erkek çocukta, Sakakibara ve ark. (10) seyahat öyküsü ve sulu diyare şikayeti olan 42 yaşındaki bir kadında, Taşbakan ve ark. (11) karın ağrısı, diyare ve mide bulantısı şikayetleri ve seyahat öyküsü olan 32 yaşındaki bir kadında, Yazar ve ark. (12) ishal şikayeti olan 18, 26 ve 34 yaşlarındaki immunokompetan üç kadında, Çiçek ve ark. (13) diyare ve karın ağrısı şikayetleri olan 20 ve 50 yaşlarındaki immunokompetan iki kadında etkene rastlamışlardır.

Yukarıda belirtilen çalışmalarda vakalarda görülen ortak şikayetler genellikle diyare ve karın ağrısı olmuştur. Çalışmamızda da hastaların hepsinde bu şikayetler mevcut olup ayrıca üç vakada bulantı, üç vakada kusma, üç vakada halsizlik, dört vakada ateş, bir vakada iştahsızlık, bir vakada ise terleme şikayeti olmuştur. Birinci, 2 ve 3. vakalarımızda AST ve ALT değerlerinin yüksek olduğu görülmüştür. Dört vakamızın biyokimyasal, hematolojik ve mikrobiyolojik parametrelerinin normal aralıklar içerisinde olduğu saptanmıştır.

Vakalarımızın üçünün kırsal alanlarda, diğerlerinin ise şehrin kenar mahallelerinde ikamet etmesinin, parazitin alınması ve enfeksiyonun meydana gelmesinde bir faktör olabileceği tahmin edilmektedir. Yöremizin özellikle kenar mahallelerinde su ve kanalizasyon alt yapısının yeterli olmaması, insanların hijyen kurallarına yeterince uymaması, ailelerin kalabalık olması gibi nedenler cyclosporiasis gibi paraziter hastalıkların görülmesine zemin hazırlamaktadır.

Vakalarımız trimetoprim-sulfametoksazole (160/800 mg) ile başarılı bir şekilde tedavi edilmiş ve tedavinin sonlanması sonrasında hastaların cyclosporiasis ile ilişkili şikayetlerinin son bulduğu görülmüştür.

## SONUÇ

Çalışmamızda immunitesi hem normal olan hem de bozulmuş olan hastalarda cyclosporiasis rastlanmış olması bu parazitoz için sadece immunitesi bozulmuş olan hastalara odaklanılmaması ve hekimlerin ishal, karın ağrısı gibi şikayetlerle başvuran hastalarda bu etkeni de dikkate almaları gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Hasta Onamı:** Çalışmanın retrospektif tasarımından dolayı hasta onamı alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - Z.T.C.; Tasarım - Z.T.C., Y.E.B.; Denetleme - H.Y., Z.T.C.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - Z.T.C., Y.E.B.; Analiz ve/veya Yorum - H.Y., Z.T.C., Y.E.B.; Literatür Taraması - Z.T.C., Y.E.B.; Yazıyı Yazan - Z.T.C.; Eleştirel İnceleme - H.Y.

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

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

**Informed Consent:** Written informed consent was not obtained due to the retrospective nature of the study.

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

**Author Contributions:** Concept - Z.T.C.; Design - Z.T.C., Y.E.B.; Supervision - H.Y., Z.T.C.; Data Collection and/or Processing - Z.T.C., Y.E.B.; Analysis and/or Interpretation - H.Y., Z.T.C., Y.E.B.; Literature Review - Z.T.C., Y.E.B.; Writing - Z.T.C.; Critical Review - H.Y.

**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. Chacín-Bonilla L, Barrios F, Sanchez Y. Epidemiology of Cyclospora cayetanensis infection in San Carlos Island, Venezuela: strong association between socio-economic status and infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007; 101: 1018-24. [\[CrossRef\]](#)
2. Mansfield LS, Gajadhar AA. Cyclospora cayetanensis, a food- and waterborne coccidian parasite. *Vet Parasitol* 2004; 126: 73-90. [\[CrossRef\]](#)
3. Saksirisampant W, Prownebon J, Saksirisampant P, Mungthin M, Siripatanapipong S, Leelayoova S. Intestinal parasitic infections: prevalences in HIV/AIDS patients in a Thai AIDS-care centre. *Ann Trop Med Parasitol* 2009; 103: 573-81. [\[CrossRef\]](#)
4. Shields JM, Olson BH. Cyclospora cayetanensis: a review of an emerging parasitic coccidian. *Int J Parasitol* 2003; 33: 371-91. [\[CrossRef\]](#)
5. Korkmaz M, Ok ÜZ. Parazitolojide Laboratuvar. Bornova-İzmir: Meta Basım; 2011.
6. Al-Braiken FA, Amin A, Beeching NJ, Hommel M, Hart CA. Detection of Cryptosporidium amongst diarrhoeic and asymptomatic children in Jeddah, Saudi Arabia. *Ann Trop Med Parasitol* 2003; 97: 505-10. [\[CrossRef\]](#)
7. Tsang OT, Wong RW, Lam BH, Chan JM, Tsang KY, Leung WS. Cyclospora infection in a young woman with human immunodeficiency virus in Hong Kong: a case report. *BMC Res Notes* 2013; 6: 521. doi: 10.1186/1756-0500-6-521. [\[CrossRef\]](#)
8. Koç AN, Aygen B, Şahin İ, Kayabaş Ü. Cyclospora sp. associated with diarrhea in a patient with AIDS in Turkey. *Turk J Med Sci* 1998; 28: 577-8.
9. Büğet E, Büyükbaba-Boral Ö, Kırkoyun-Uysal H, Ağırbaşı H, Yalman N, Anak S, et al. Case report: C.cayetanensis diarrhea was firstly documented in Turkey. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2000; 30: 162-5.
10. Sakakibara Y, Takigawa A, Kawabata Y, Hirotsu T, Mukai K, Matsumoto K, et al. An imported Japanese case of cyclosporiasis. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi* 2010; 107: 1290-5.
11. Taşbakan M, Yolasiğmaz A, Pullukçu H, Sipahi OR, Yamazhan T, Turgay N, et al. A rare gastroenteritis pathogen: Cyclospora. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2010; 34: 95-7.
12. Yazar S, Mıstık S, Yaman O, Yıldız O, Özcan H, Şahin İ. Three diarrheal cases caused by Cyclospora cayetanensis in Kayseri. *Türkiye Parazitolojisi Dergisi* 2009; 33: 85-8.
13. Çiçek M, Uçmak F, Özekinci T. Two diarrhea cases caused by Cyclospora cayetanensis. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45: 553-7.

# Cerebral Alveolar Echinococcosis Concomitant with Liver and Lung Lesions in a Young Adult Patient: Case Report and Literature Review

Genç Yetişkinde Karaciğer ve Akciğer Kitlelerinin Eşlik Ettiği Serebral Alveolar Ekinokokkoz: Olgu Sunumu ve Literatürün Gözden Geçirilmesi

Osman Ersegun Batçık<sup>2</sup>, Ahmet Öğrenci<sup>3</sup>, Orkun Koban<sup>4</sup>, Murat Şakir Ekşi<sup>1</sup>, Turgay Bilge<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Orthopedic Surgery, University of California at San Francisco, San Francisco, USA

<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Rize Recep Tayyip Erdoğan University School of Medicine, Rize, Turkey

<sup>3</sup>Clinic of Neurosurgery, Batman State Hospital, Batman, Turkey

<sup>4</sup>Clinic of Neurosurgery, Kurtkoy Ersoy Hospital, İstanbul, Turkey

<sup>5</sup>Clinic of Neurosurgery, Private Practice, İstanbul, Turkey

## ABSTRACT

We present the case of a 25-year-old male harboring multiple brain lesions mimicking tumor metastasis that were revealed to be caused by *Echinococcus multilocularis*. Cerebral echinococcosis with multiple lesions is rare and might be confused with a brain abscess, tuberculoma, or metastatic tumor disease. Brain magnetic resonance imaging and serological studies are helpful in the differential diagnosis. In case of *E. multilocularis*, cerebral invasion is the late stage of the disease that necessitates an aggressive treatment protocol.

**Keywords:** Cerebral echinococcosis, metastasis, albendazole

**Received:** 29.11.2015

**Accepted:** 10.06.2016

## ÖZ

Bu olgu sunumunda, metazatik beyin tümörünü taklit eden, çoklu beyin lezyonları olan 25 yaşında erkek bir hastadan bahsedilmektedir. Çoklu beyin lezyonları olan serebral ekinokokkoz nadirdir ve beyin absesi, tüberküloza ile metazatik beyin tümörü ayrıncı tanıları içinde yer alır. Beyin manyetik rezonans görüntüleme ve serolojik çalışmalar ile ayrıncı tanı mümkündür. *E. multilocularis* hastalığında beyin invazyonu hastalığın geç evresinde gerçekleşir ve bu aşamada agresif tedaviler uygulanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Serebral ekinokokkoz, metastaz, albendazol

**Geliş Tarihi:** 29.11.2015

**Kabul Tarihi:** 10.06.2016

## INTRODUCTION

Larval forms of the taeniid cestode of *Echinococcus* cause human echinococcosis. There are six species of *Echinococcus*: *E. granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli*, *E. oligarthrus*, *E. shiquicus*, and *E. felidis*. *E. granulosus* is the most common species in humans (1). *E. multilocularis* was first defined in the 1950s (2). *E. multilocularis* is a tapeworm that is 1.2–4.5 mm in size and causes alveolar echinococcosis (3, 4). *E. multilocularis* has an exogenous budding pattern, invades surrounding tissues, and completes its life cycle by transmission between two different hosts (1, 4).

We present the case of a 25-year-old male harboring multiple brain lesions mimicking tumor metastasis that were revealed to be caused by *E. multilocularis*.

## CASE REPORT

A 25-year-old male visited an outpatient clinic due to dizziness, headache, and seizure. He was a seasonal worker. His motor strength was normal. He had bilateral horizontal nystagmus, and his Romberg test result was positive. His Babinski reflex was extensor bilaterally. Brain contrast-enhanced T1-weighted magnetic resonance imaging (MRI)

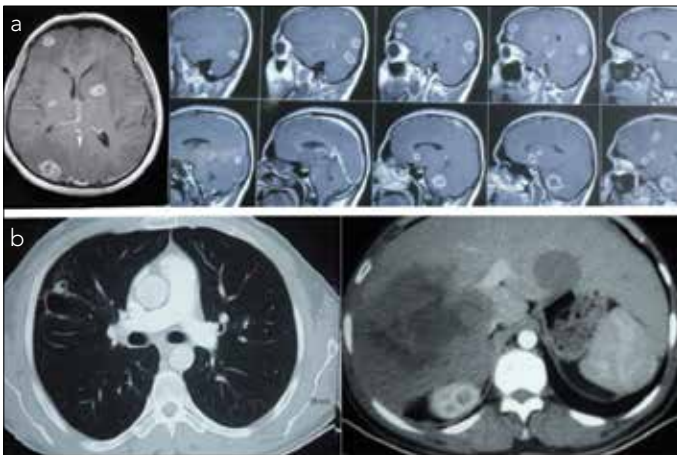
**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Murat Şakir Ekşi E.mail: muratsakireksi@gmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2016.4624

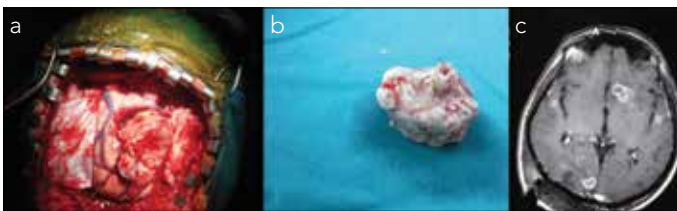
©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolderg.org

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





**Figure 1. a-b.** Contrast-enhanced multiple brain lesions are supra- and infratentorially present on T1-weighted MRI (a); some other lesions are observed in the right lung and in the liver (b)



**Figure 2. a-c.** One of the multiple lesions in the brain was excised (a, b); immediate post-operative brain MRI depicts en bloc resection of the lesion that was present in the right occipital lobe (c)

depicted 19 lesions with irregular borders and peripheral ring enhancement. Four lesions were comparatively large: one each in the right occipital lobe, right frontal lobe, left parietal lobe, and left cerebellum (Figure 1a). Tumor metastasis was the initial diagnosis. To find the primary origin, chest and abdominal computed tomography (CT) scans were performed, which revealed diffusely disseminated lesions in the liver and one lesion in the right lung (Figure 1b). His laboratory test results were normal, except his erythrocyte sedimentation rate, which was 80 mm/h. With this finding and the fact that he originate from an area endemic to echinococcosis, parasitic infestation became the differential diagnosis. The hemagglutination test for echinococcosis was positive. To relieve the mass effect and edema in the brain, the lesion in the right occipital lobe was excised en bloc (Figure 2a-c). The lesion had smooth borders with the brain parenchyma. The pathology was compatible with *Echinococcus multilocularis*. The patient was referred to an infectious disease specialist with albendazole 2×400 mg. However, the lesions did not respond to albendazole therapy. Praziquantel was added to the chemotherapeutic regimen. The patient's condition progressively deteriorated, and he died one year after the surgery.

## DISCUSSION

Cerebral echinococcosis is observed in 0.5–3% of patients with echinococcosis and is mostly seen in children and young adults. It comprises 3–4% of all intracranial lesions (5, 6). There is a male preponderance, with a male: female ratio of 1.5:1. The most

common species diagnosed in the brain are *E. granulosus* (97.1%) and *E. multilocularis* (2.9%) (6).

A supratentorial location, particularly in the parietal lobe, is the most common location for cerebral echinococcosis. The posterior cranial fossa and ventricles are rare locations (5-8). In the current case, there were multiple brain lesions caused by *E. multilocularis* not only in the supratentorial area but almost everywhere inside the cranium. Presentation in multiple locations is quite rare (9). Underlying mechanisms for multiple cerebral lesions of echinococcosis have been proposed to be caused by the rupture of a solitary cyst or embolization of cyst particles from ruptured cysts inside remote organs (5, 7, 8, 10). Concomitant organ infestation is seen in 18% of patients with cerebral echinococcosis (6).

Clinical signs and symptoms in patients with cerebral echinococcosis are headache, increased intracranial pressure, papilledema (63%), optic atrophy, nausea, vomiting, cranial nerve palsy, seizure (24%), focal neurological findings, cognitive deficit, ataxia, speech disorder, visual disturbances, head swelling, difficulty in swallowing, and chorea (6, 11-16).

In the differential diagnoses, tumor metastasis, tuberculoma, and abscess formation are present. Metastatic tumors harbor enhanced nodules. Peripheral edema around the ring enhancement is seen in abscesses. In such circumstances, concomitant clinical and laboratory findings might be present with the abscess. On T2-weighted MRI, the abscess is hyperintense, whereas alveolar echinococcosis is hypointense. A tuberculoma has nodular homogenous enhancement (5, 16-18). Cerebral echinococcosis with multiple lesions has similar radiological findings. Calcification on a CT scan has been reported (6, 9, 16). Contrast enhancement and pericystic edema result from recurrences of echinococcosis, which lead to inflammatory reactions in the infection zone (5, 6, 16). In alveolar echinococcosis, the inflammatory reaction forms a capsule around the lesion that is as hard as the cartilage tissue (16). Human leucocyte antigen (HLA) B8 positivity is associated with metastasis of *E. multilocularis* (19). Due to difficulties in diagnosis, a definitive diagnosis can be made via specimen analysis (6). Our patient had concomitant lung and liver disease, which may have led to the embolization of the infection to the supra- and infratentorial brain.

The recurrence rates of cerebral echinococcosis are 13% and 4% after the surgery-only and surgery with chemotherapy approaches, respectively. The mortality rate is 10% for cerebral echinococcosis. However, the mortality rate is higher in patients with multiple lesions than in those with a single lesion (13 vs. 7%) (6). Cerebral metastasis is observed in only 1% of patients with alveolar echinococcosis and is considered as the terminal stage of the disease (16). The aim of surgery is to excise symptomatic lesion(s) with a pronounced mass effect.

Albendazole and mebendazole are two anthelmintic drugs, yet albendazole is preferable due to its better pharmacokinetic properties. Routine complete blood count and liver function studies should be conducted during follow-up with albendazole (16). Further studies are necessary to develop better treatment

protocols in patients with cerebral echinococcosis, particularly those with multiple brain lesions and who are resistant to surgery and chemotherapy.

## CONCLUSION

Cerebral echinococcosis with multiple brain lesions is rare and can be confused with a brain abscess, tuberculoma, or metastatic tumor disease. Brain MRI and serological studies are helpful in the differential diagnosis. Surgery is indicated whenever the intracranial mass effect and/or edema are observed in symptomatic patients. In case of *E. multilocularis*, cerebral invasion indicates the late stage of the disease, necessitating aggressive treatment protocols that should be analyzed in further clinical and laboratory studies.

**Informed Consent:** The informed consent could not be retrieved due to the decease of the patient and discontinuity of follow-up.

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

**Author Contributions:** Concept - M.Ş.E., A.Ö., O.K., O.E.B.; Design - M.Ş.E., A.Ö.; Supervision - A.Ö., T.B.; Funding - A.Ö., O.E.B., T.B.; Materials - O.K., O.E.B., T.B.; Data Collection and/or Processing - A.Ö., M.Ş.E.; Analysis and/or Interpretation - M.Ş.E., A.Ö., O.E.B.; Literature Review - M.Ş.E.; Writing - O.E.B., M.Ş.E., A.Ö., O.K.; Critical Review - T.B.

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

**Financial Disclosure:** Murat Sakir Eksi, M.D. was supported by a grant from Tubitak (The Scientific and Technological Research Council of Turkey), Grant number: 1059B191400255.

**Hasta Onamı:** Olgunun ölümü sebebiyle klinik takip devam etmediğinden onam alınamamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - M.Ş.E., A.Ö., O.K., O.E.B.; Tasarım - M.Ş.E., A.Ö.; Denetleme - A.Ö., T.B.; Kaynaklar - A.Ö., O.E.B., T.B.; Malzemeler - O.K., O.E.B., T.B.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - A.Ö., M.Ş.E.; Analiz ve/veya Yorum - M.Ş.E., A.Ö., O.E.B.; Literatür Taraması - M.Ş.E.; Yazıyı Yazan - O.E.B., M.Ş.E., A.Ö., O.K.; Eleştirel İnceleme - T.B.

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

**Finansal Destek:** Murat Şakir Eksi, MD Tübitak (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) bursu ile desteklenmiştir, Burs numarası: 1059B191400255.

## REFERENCES

1. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. Int J Infect Dis 2009; 13: 125-33. [CrossRef]
2. Tappe D, Kern P, Frosch M, Kern P. A hundred years of controversy about the taxonomic status of Echinococcus species. Acta Trop 2010; 115: 167-74. [CrossRef]
3. Thompson RC. Biology and systematics of Echinococcus. In: Thompson RC, Lymbery AJ, editors. Echinococcus and hydatid disease. London: CAB International; 1995. p. 1-37.
4. Wang X, Ding J, Guo X, Zheng Y. Current Understandings of Molecular Biology of Echinococcus multilocularis, a Pathogen for Alveolar Echinococcosis in Humans- a Narrative Review Article. Iran J Parasitol 2015; 10: 329-37.
5. El-Shamam O, Amer T, El-Atta MA. Magnetic resonance imaging of simple and infected hydatid cysts of the brain. Magn Reson Imaging 2001; 19: 965-74. [CrossRef]
6. Turgut M. Intracranial hydatidosis in Turkey: its clinical presentation, diagnostic studies, surgical management, and outcome. A review of 276 cases. Neurosurg Rev 2001; 24: 200-8. [CrossRef]
7. Bukte Y, Kemaloglu S, Nazaroglu H, Ozkan U, Ceviz A, Simsek M. Cerebral hydatid disease: CT and MR imaging findings. Swiss Med Wkly 2004; 134: 459-67.
8. Tuzun M, Altinors N, Arda IS, Hekimoglu B. Cerebral hydatid disease CT and MR findings. Clin Imaging 2002; 26: 353-7. [CrossRef]
9. Gana R, Skhissi M, Maaqili R, Bellakhdar F. Multiple infected cerebral hydatid cysts. J Clin Neurosci 2008; 15: 591-3. [CrossRef]
10. Al Zain TJ, Al-Witry SH, Khalili HM, Aboud SH, Al Zain FT, Jr. Multiple intracranial hydatidosis. Acta Neurochir (Wien) 2002; 144: 1179-85. [CrossRef]
11. Yaka U, Aras Y, Aydoseli A, Akcakaya MO, Sencer A, Imer M, et al. Primary multiple cerebral hydatid disease: still symptomatic despite pathological confirmed death of the cyst. Turk Neurosurg 2013; 23: 505-8.
12. Cavusoglu H, Tuncer C, Ozdilmac A, Aydin Y. Multiple intracranial hydatid cysts in a boy. Turk Neurosurg 2009; 19: 203-7.
13. Iplikcioglu AC, Ozek MM, Ozer AF, Ozgen T. Periventricular hydatid cyst presenting with hemichorea. Childs Nerv Syst 1992; 8: 292-3. [CrossRef]
14. Kaya U, Ozden B, Turker K, Tarcan B. Intracranial hydatid cysts. Study of 17 cases. J Neurosurg 1975; 42: 580-4. [CrossRef]
15. Onal C, Unal F, Barlas O, Izgi N, Hepgul K, Turantan MI, et al. Long-term follow-up and results of thirty pediatric intracranial hydatid cysts: half a century of experience in the Department of Neurosurgery of the School of Medicine at the University of Istanbul (1952-2001). Pediatr Neurosurg 2001; 35: 72-81. [CrossRef]
16. Aras Y, Sabancı PA, Boyalı O, Aydoseli A, Güllüoğlu M, Bilgiç MB, et al. Alveolar Echinococcosis with Cranial Metastasis: Case Report and Review of the Literature. Türk Nöroşir Derg 2014; 24: 298-305.
17. Nazaroglu H, Ozates M, Bilici A, Simsek M. Multilocular cerebral hydatid disease with extracalvarial extension. AJR Am J Roentgenol 1999; 172: 1455-6. [CrossRef]
18. Tuzun M, Hekimoglu B. Hydatid disease of the CNS: imaging features. AJR Am J Roentgenol 1998; 171: 1497-500. [CrossRef]
19. Shcherbakov AM. [Human echinococcosis: the role of histocompatibility antigens in realizing infestations and the characteristics of their course]. Med Parazitol (Mosk) 1993: 13-8.



# Postoperative Wound Myiasis Caused by *Sarcophaga carnaria*

*Sarcophaga carnaria*'nın Neden Olduğu Postoperatif Yara Myiasisi

Sefa Ergün<sup>1</sup>, Ozan Akıncı<sup>1</sup>, Serhat Sirekbasan<sup>2</sup>, Ahmet Kocaeli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of General Surgery, İstanbul University Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

<sup>2</sup>Department of Clinical Microbiology, İstanbul University Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

## ABSTRACT

Myiasis is a parasitic infection caused by dipteran larvae settling in living tissue and organs. Infestation is generally found in tropical and rural areas, where interaction with animals is common. It is diagnosed based on the evidence of the existence of dipteran larvae in tissues and organs. When planning the treatment, identifying the type of larvae is as important as identifying the infected organ or system. In this case report, we present the case of a female who had a biliary tract injury caused by laparoscopic cholecystectomy and who developed a postoperative enterocutaneous fistula and myiasis caused by third-stage *Sarcophaga* sp. larvae at the incision area.

**Keywords:** Myiasis, *Sarcophaga*, wound

**Received:** 27.11.2016

**Accepted:** 08.06.2016

## ÖZ

Myiasis, diptera larvalarının canlı doku ve organlara yerleşmesi sonucu oluşan paraziter bir enfeksiyondur. Myiasis özellikle tropikal coğrafya ve hayvansal temasın yoğun olduğu kırsal kesimde gözlenen bir enfestasyondur. Tanı, doku ve organda diptera takımına ait larvaların görülmesiyle konulur. Tedavi planlanırken etkilenen organ veya sistemin yanı sıra larva tiplendirmesi de önem arz eder. Bu olgu sunumumuzda laparoskopik kolesistektomi operasyonu sonrası safra yolu yaralanması nedeniyle opere edilen, postoperatif enterokutan fistül gelişen ve insizyon yerinde üçüncü evre *Sarcophaga* sp. larvalarının myiazise yol açtığı bir kadın hasta ile ilgili deneyimimizi paylaşacağız.

**Anahtar Kelimeler:** Myiasis, *sarcophaga*, yara

**Geliş Tarihi:** 27.11.2016

**Kabul Tarihi:** 08.06.2016

## INTRODUCTION

Myiasis is the infestation of vertebrates by dipteran larvae settling in living tissue and organs (1, 2). In mammals, dipteran larvae can feed on the host's living or dead tissue, liquid body substance, or ingested food and can cause a broad range of infestations depending on the location in the body and the relationship between the larvae and the host (2). It can be widely seen in tropical climates and is more often found in animals than in humans. In stock-breeding areas, particularly in summer, the number of myiasis cases increase. Poor hygiene, low socioeconomic status, coming into contact with animals, advanced age,

mental retardation, wounds, diabetes mellitus, and vascular diseases are predisposing factors for myiasis in humans. In the International Classification of Diseases-10, it can be classified as dermal, subdermal, cutaneous, wound, nasopharyngeal, ophthalmic, auricular, intestinal, and urogenital (3). However, based on the type of pathogens and infestation, it can be grouped as obligatory, facultative, and accidental (4). Myiasis that develops in a hospital setting is referred to as nosocomial myiasis. It is mostly seen in intensive care patients with hypoesthesia or disturbed consciousness, preventing the patient from sensing contact from the fly (5).

**Address for Correspondence / Yazışma Adresi:** Dr. Sefa Ergün E-mail: sefaergun@yahoo.com

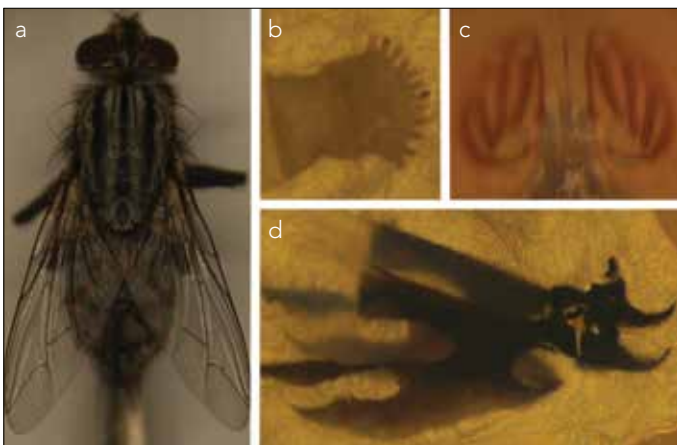
DOI: 10.5152/tpd.2016.4621

©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.



**Figure 1. a-b.** The larvae on the wound were collected on a gauze. The wound discharge and the wound after the larvae were cleaned



**Figure 2. a-d.** *Sarcophaga* sp. (a) Adults obtained from the larvae; (b) Larval anterior spiracle; (c) Larval posterior spiracle; (d) Cephalopharyngeal skeleton

The most common factor of myiasis is Calyptratae species consisting of *Sarcophaga*, *Oestridae*, *Calliphora*, and *Muscoidea* families (6). These flies lay their eggs or larvae in open tissue or cavities. After 15–24 h, the larvae hatch and reach the larvae 3 stage in a couple of days (7, 8).

In this case report, we present a female living in İstanbul who had a biliary tract injury after laparoscopic cholecystectomy and who developed a postoperative enterocutaneous fistula and myiasis caused by *Sarcophaga* sp. larvae at the incision area.

## CASE REPORT

Our patient was a 75-year-old housewife living in central İstanbul who had a history of congestive heart failure. She underwent laparoscopic cholecystectomy for cholelithiasis 5 months earlier. She underwent hepaticojejunostomy for a biliary track injury and later developed an enterocutaneous fistula. After 45 days, she was brought to our clinic by her relatives for medical dressing of

the wound. When the wound was opened, 18 living larvae were observed. Anamnesis revealed that the patient was cared for by her daughter for the past 2 weeks and that the bandage was not opened for the last 2 days.

A physical examination revealed that the incision of the operation in the right subcostal part of the abdomen did not fully heal; there was a stoma bag due to a discharge, redness, and swelling around the incision (Figure 1). Eighteen living larvae were collected by forceps and kept in a sterile container containing saline. There were no signs of deep tissue penetration. A wound swab was collected. The wound was treated by 0.9% saline and povidone iodine.

The patient's vital signs were as follows: body temperature on admission 37.1°C; pulse, 86/min, and blood pressure, 115/56 mm/Hg. Her white blood cell count (WBC) was 5.000 mm<sup>3</sup>; neutrophils were 79.5%, lymphocytes were 8.7%, monocytes were 11.7%, and eosinophils were 0.1%. Her C-reactive protein level was 20 (normal<5) mg/L. Wound swab samples were positive for *Escherichia coli*, *Candida albicans*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The patient was put on antibiotic treatment for infectious diseases based on her antibiogram. Her wound was periodically cleaned. No larvae were observed in the follow-ups. A control examination performed after 3 weeks showed no inflammation, redness, or discharge in the wound area.

The collected larvae were sent to the Medical Microbiology Department of Cerrahpasa Medical Faculty in saline. The living and dead larvae were macroscopically and microscopically examined in the laboratory; they were then examined under a stereomicroscope (Olympus, 10×). The larvae were 8–11 mm in length.

Some living larvae were placed in chicken liver to let them complete their larval stage and obtain adult flies. Larvae, which completed their development when placed on wood flour to initiate pupation, and adult flies were obtained after pupation. Later,

forms of the sclerites at the front end of the larvae and stigmata at the front and back ends of the larvae were examined for their number and structure to attempt to identify the larval stage and species of the fly. Some living larvae were kept in a chamber for 12 days at 24°C in 50% partial humidity to complete their stages and morph into flies. Adult flies obtained from living larvae were investigated, and the identified characteristics were compared with those in the larval stage (9, 10).

It was determined that the examined larvae and adult flies belonged to *Sarcophaga* sp. (Figure 2).

Written informed consent was received from the patient.

## DISCUSSION

Myiasis is an ectoparasitic infestation prevalent in tropical and subtropical climates with an increased incidence in individuals living in rural areas, who are in close contact to animals, with low socioeconomic status, and who have poor hygiene, open wound, diabetes, mental retardation, and vascular diseases and are at an advanced age. Adult flies causing myiasis lay their eggs in living tissue, organs, and cavities, particularly in summer. Myiasis can be accompanied by pain, redness, itching, and secondary bacterial infections (2, 6, 11, 12). Myiasis is known to cause tissue deconstruction. Along with the mechanical effect of the larvae, the collagenase they excrete causes the deconstruction (13).

*Sarcophaga* species causing myiasis may also carry polioviruses, *Salmonella* sp. and *Shigella* sp. bacteria along with protozoa, and some helminthes (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Hymenolepis nana*, and *Ascaris lumbricoides*), and they pose a threat to public health (14).

Wound myiasis occurs when a fly larva settles in the open wound of a mammalian host. These infestations may be caused by facultative or obligatory parasites. In our patient, *Sarcophaga* belonged to the facultative group, which is more likely to cause local destruction, deep tissue invasion, and secondary infection (2). There were no findings of deep tissue invasion observed in our patient.

Wound myiasis initially occurs when flies lay eggs in necrotic, bleeding, and abscessed lesions. Wounds with high alkaline pH discharge (pH: 7.1–7.5) are more akin to breeding (15). Neuropathic ulcers, psoriasis, seborrheic keratosis, onychomycosis, skin lymphoma, basal cell carcinoma, herpes zoster virus infection, leprosy, and impetigo can increase the occurrence of myiasis (2).

In 1986, Arbit et al. (16) reported a *Sarcophaga* infestation in squamous cell carcinoma of the scalp and skull. In Spain, Merino et al. (17) reported patients with myiasis with superficial localization in the leg and ear and stated that the removal of larvae and infected tissue plays the main role in treatment.

In 2011, Ahmad et al. (18) reported on patients with gastrointestinal myiasis caused by *Sarcophaga* species and showed that these cases were mostly encountered in patients with poor hygiene and a low socioeconomic environment.

In Turkey, Türk et al. (19) reported a 14-year-old child with nasal myiasis who was hospitalized in the intensive care unit because

of a road accident.

Settling of dipteran larvae after death is referred to as postmortem colonization, and in forensic science, the growth of larvae can be used in calculating the time of death (20).

Increasing international tourist and business trips result in an increase in diseases caused by infectious agents. Myiasis is the fifth most occurring dermatological disease, with a rate of 7.3–11% (21).

Basic treatment for myiasis includes the collection of all visible larvae, debridement in cases of necrotic tissue, antiseptic solution irrigation, and daily changing of medical dressing. It has been reported that antibiotic treatments and anti-parasitic medications can be used against complications (22, 23).

Myiasis can cause panic to patients and healthcare personnel. As preventive measures, it is important to pay attention to personal hygiene, wash all produce before eating, avoid sleeping outside or naked in epidemic areas, wear long clothes, and dress open wounds (24).

In the treatment of some necrotic wounds, maggots are used as the means of debridement, disinfection and healing. The most commonly used larvae are *Lucilia sericata*. These larvae should be kept sterile before a procedure can be performed (2, 25).

## CONCLUSION

People living in tropical and rural areas, with open wounds, and a predisposing disease have a risk of myiasis. As a means of prevention, people with an open wound should seek medical attention in healthcare centers and pay attention to personal hygiene. In particular, in summer, people should be careful in patient care and wound treatment.

---

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

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

**Author Contributions:** Concept - S.E., A.K.; Design - S.E., O.A.; Supervision - S.E., A.K.; Funding - O.A., S.S.; Materials - S.E., O.A., S.S.; Data Collection and/or Processing - S.E., O.A., S.S.; Analysis and/or Interpretation - S.E., A.K.; Literature Review - S.E., O.A.; Writing - S.E., O.A., S.S.; Critical Review - A.K., S.E.

**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.

---

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

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - S.E., A.K.; Tasarım - S.E., O.A.; Denetleme - S.E., A.K.; Kaynaklar - O.A., S.S.; Malzemeler - S.E., O.A., S.S.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - S.E., O.A., S.S.; Analiz ve/veya Yorum - S.E., A.K.; Literatür Taraması - S.E., O.A.; Yazıyı Yazan - S.E., O.A., S.S.; Eleştirel İnceleme - A.K., S.E.

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

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

## REFERENCES

- Schmidt, Gerald D, Larry S. Roberts, and John Janovy. Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology. Wm. C. Brown, 1996.
- Francesconi F, Lupi O. Myiasis. Clin Microbiol Rev 2012; 25: 79-105. [\[CrossRef\]](#)
- Kamala R, et al. Oral Myiasis-A Case Report. Indian Journal of Public Health Research & Development, 2013, 4.3: 130.
- Kettle DS. "Medical and Veterinary Entomology. CAB International, Wallington." (1990).
- Hira PR, Assad RM, Okasha G, Al-Ali FM, Iqbal J, Mutawali KE, et al. Myiasis in Kuwait: nosocomial infections caused by *Lucilia sericata* and *Megaselia scalaris*. Am J Trop Med Hyg 2004; 70: 386-9.
- Stevens JR, Wallman JF. The evolution of myiasis in humans and other animals in the Old and New Worlds (part I): phylogenetic analyses. Trends Parasitol 2006; 22: 129-36. [\[CrossRef\]](#)
- Dinçer Ş. İnsan ve Hayvanlarda Myiasis. Özcel MA, Daldal N, editors. Parazitolojide Artropod Hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitolojisi Dergisi Yay No: 13, İzmir, 1997, p. 169-34.
- Kılıç K, Arslan MO, Kara M. Kars' ta Bir Kadında *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae)'nin Neden Olduğu Postoperatif Yara Myiasisi. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2011; 35: 43-6. [\[CrossRef\]](#)
- Ferrar P. A guide to breeding habits and immature stages of diptera cyclorrhapha. In: Lyneborg L. Entomonograph. Vol. 8. Vinderup, Denmark, 1987: Part 1-2.
- Merdivenci A. Myiasis Fly, Medical Entomology. Istanbul Univ. Medical Faculty Press, Istanbul, 1973.
- Zumpt F, Stimie M. Myiasis in Man and Animals in the Old World. A Textbook for Physicians, Veterinarians and Zoologists. Myiasis in Man and Animals in the Old World. A Textbook for Physicians, Veterinarians and Zoologists. 1965.
- Talari AS, Sadr F, Doroodgar A, Talari MR. Wound myiasis caused by *Lucilia sericata*. Arch Iranian Med 2004; 7: 128-9.
- Ciftcioglu N, Altintas K, Haberal M. A case of human orotrachealmyiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*. Parasitol Res 1997; 83: 34-6.
- Ahmad AK, Abdel-Hafeez EH, Makhloof M, Abdel-Raheem EM. Gastrointestinal Myiasis by Larvae of *Sarcophaga* sp. and *Oestrus* sp. in Egypt: Report of Cases, and Endoscopic and Morphological Studies. Korean J Parasitol 2011; 49: 51-7. [\[CrossRef\]](#)
- Goddard J. Physician's guide to arthropods of medical importance. CRC Press, 2012. [\[CrossRef\]](#)
- Arbit E, Varon RE, Brem SS. Myiatic scalp and skull infection with diptera *Sarcophaga*: case report. Neurosurgery 1986; 18: 361-362. [\[CrossRef\]](#)
- Merino FJ, Campos, A, Nebreda T, Canovas C, Cuezva F. [Cutaneous myiasis by *Sarcophaga* sp.]. Enferm Infecc Microbiol Clin 2000; 18: 19-21.
- Ahmad, A. K., Abdel-Hafeez, E. H., Makhloof, M., & Abdel-Raheem, E. M. Gastrointestinal myiasis by Larvae of *Sarcophaga* sp. and *Oestrus* sp. in Egypt: report of cases, and
- Türk M, Aşar I, Ozbel Y, Sener AG, Uner A, Türker M. A case of nasomyiasis whose agent was *Sarcophaga* sp. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2006; 30: 330-2.
- Sanford MR, Whitworth TL, Phatak DR. Human wound colonization by *Lucilia eximia* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): myiasis, perimortem, or postmortem colonization? J Med Entomol 2014; 51: 716-9. [\[CrossRef\]](#)
- Hochedez P, Caumes E. Common skin infections in travelers. J Travel Med 2008; 15: 252-62. [\[CrossRef\]](#)
- Weber, Albert, et al. Zoonoses: infectious diseases transmissible from animals to humans. Washington, DC: ASM Press, 2003.
- Sesterhenn AM, Pfützner W, Bräulke DM, Wiegand S, Werner JA, Taubert A. Cutaneous manifestation of myiasis in malignant wounds of the head and neck. Eur J Dermatol 2009; 19: 64-8.
- Blacklock B, Thompson MG. A study of the tumbu-fly *Cordylobia anthropophaga* Grunberg in Sierra Leone. Ann Trop Med Parasitol 1923; 17: 443-510. [\[CrossRef\]](#)
- Nigam Y, Bexfield A, Thomas S, Ratcliffe NA. Maggot therapy: the science and implication for CAM Part I—history and bacterial resistance. Evid Based Complement Alternat Med 2006; 3: 223-7. [\[CrossRef\]](#)

# Sarcophaga'nın Neden Olduğu İki Orta Kulak Miyazı Olgusu

## Two Cases of Myiasis of Middle Ear Caused by Sarcophaga

Erdal Polat<sup>1</sup>, Serhat Sirekbasan<sup>1</sup>, Hakkı Caner İnan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz, Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

### ÖZ

Miyazis, omurgalı canlıların dokularında sinek larvalarının yerleşmesiyle oluşan infektif bir durumdur. Bu sunuda orta kulak miyazı ve etken sineklerin türlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Laboratuara % 10 formaldehit ve serum fizyolojik içerisinde gönderilen larvalar stereo-mikroskop (Olympus 10X) ile incelenmiştir. Canlı larvaların bir kısmı erişkin hale getirilerek larva evresindeki ve erişkin haldeki özelliklerinden yararlanılarak tanımlanmıştır. Larvaların ve erişkin hale getirilen sineğin *Sarcophaga* sp. olduğu belirlenmiştir. Her iki hastada da orta kulak miyazına neden olan sinek türünün *Sarcophaga* sp. olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Sarcophaga*, orta-kulak miyazı, larva

**Geliş Tarihi:** 26.05.2015

**Kabul Tarihi:** 15.07.2016

### ABSTRACT

Middle ear myiasis and factors determining the types of flies. To the laboratory in saline with 10% formaldehyde and sent them larvae stereo-microscope (Olympus 10x) were examined. Adult by making one portion of the surviving larvae instar larvae and adults are defined utilizing state properties. The larvae and live larvae of the fly *Sarcophaga* sp. rendered adults were determined. In both patients, the middle ear causing myiasis flies species *Sarcophaga* sp. was determined to be.

**Keywords:** *Sarcophaga*, middle-ear myiasis, larvae

**Received:** 26.05.2015

**Accepted:** 15.07.2016

### GİRİŞ

Beslenmek veya evrimlerini tamamlamak amacıyla insan ve hayvanların doku veya organlarına yerleşen dipter larvalarının oluşturduğu parazitliğe miyaz denir. Miyaz belirtileri tutulan organlara ve parazitin türüne göre farklılık gösterir. Miyazın durumu etkenin türüne, sayısına, yaranın derinliğine, büyüklüğüne ve yerine bağlıdır. Miyaz oluşturan larvalar çoğunlukla yara yeri, göz, burun, kulak, idrar yolları, barsak, anüs bölgesi ve vajinada tutulum sağlarken bazen de sağlam deriye yerleşebilirler (1-3). Bazı durumlarda larvalar sadece ölü ve kokuşmuş dokulara yerleşerek salgıladıkları salgılar ile ölü dokuyu debride eder, yarada kolonize olmuş

mikroorganizmaları yiyerek, eriterek ve öldürerek yarıyı dezenfekte ederler. *Lucilia sericata* larvalarında durum böyledir. Bu şekilde temizlenen yaralar hızlı bir şekilde iyileşirler (4, 5). Ancak bazı sinek türlerine ait larvalar salgıladıkları salgılar ile nekrotik kısımları temizledikten sonra sağlam dokulara zarar verebilirler.

### OLGULARIN SUNUMU

#### Olgu 1

Ağustos 2012'de Kulak Burun Boğaz Polikliniği'nden kronik otitis media tanısı almış hastadan çıkartılan canlı larvalar serum fizyolojik içerisinde laboratuvarımıza gönderilmiştir. Bu

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr. Erdal Polat E.posta: erdalp@istanbul.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2016.4209

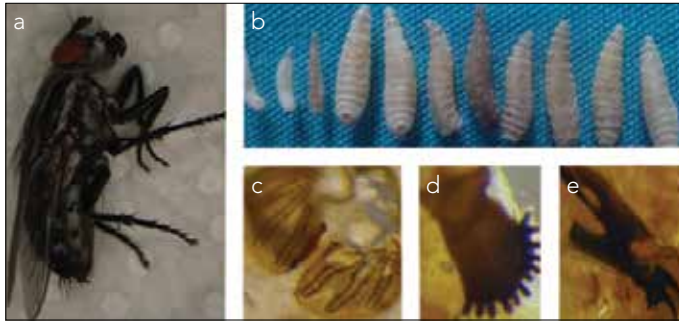
©Copyright 2016 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

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





**Resim 1.** Canlı larvaların evrelerini tamamlaması ve erişkin sinek elde edilmesi için kafes modeli



**Resim 2. a-e.** (a) Erişkin sinek, (b) Larvalar, (c) Arka stigmat (Posterior spiracle), (d) Ön stigmat (Anterior spiracle), (e) Head skeleton

çalışma için hasta bilgilendirilmiş ve gerekli onam belgesi kendisinden alınmıştır.

## Olgu 2

13.12.2012 tarihinde hastanemiz Kulak Burun Boğaz Polikliniği'ne kulakta ağrı, kaşıntı ve akıntı şikâyeti ile başvuran hastanın fizik muayenesinde görülen larvalar %10 formaldehit içerisinde alınarak tür tayini için laboratuvarımıza gönderilmiştir. Çalışma için hastadan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Laboratuvarımıza gönderilen canlı ve ölü larvalar önce makroskopik olarak incelenmiştir. Canlı larvaların bir kısmı larva evrelerinin tamamlaması ve erişkin sinek elde edilmesi için tavuk karaciğeri alınmıştır. Gelişimini tamamlayan larvaların pupa dönemine geçmeleri için odun talaşına alınmış, burada pupa haline geçen larvalardan erişkin sinekler elde edilmiştir (Resim 1). Larvaların bir kısmı ise mikroskopta incelenmiş, ön uçlarında yer alan ağız-yutak iskeletinin şekline, anterior ve posterior stigmaların yapılarına ve deliklerinin sayılarına bakılarak, larvaların evreleri ve hangi sinek türüne ait olduğu belirlenmeye çalışılmıştır. Canlı larvalardan elde edilen erişkin sinekler incelenmiş ve belirlenen özellikleri larva evresindeki özellikleri ile karşılaştırılmıştır (Resim 2), (1-3, 6).

Ölü ve canlı larvaların, canlı larvalardan erişkin hale getirilen sineklerin *Sarcophaga* sp. olduğu belirlenmiştir.

## TARTIŞMA

Erişkin dönemde insan paraziti olmayan bitki özülüyle beslenen, ancak larva evrelerinde insanların, hayvanların doku ve organlarına yerleşerek miyaza neden olan sinekler Diptera takımının Brachycera alttakımında yer alırlar. Bu sinekler tıbbi entomolojide miyaz sinekleri olarak adlandırılırlar (1-3). Miyaz sinekleri normal olarak hayvanların leşleri ve bitkisel maddelerle beslenerek doğadaki dönüşüme yardımcı olurlar. Miyaz sinekleri bu özelliklerinden dolayı adli tıpta ölüm zamanının ve yerinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır (7). Ancak bu sineklerin dişileri, bazen insan ve hayvanların hastalıklı dokularına yumurtlar veya larvaları-

nı bırakarak miyaza neden olurlar. Larvalar ölü dokularla beslenirler veya daha derinlere geçip sağlam dokulara saldırabilirler. Bu grupta Sarcophagidae, Calliphoridae, Muscidae ve Phoridae ailelerinde yer alan sinekler vardır (1-3). Bazı larvalar yalnız ölü dokulara saldırır ve yaranın temizlenmesine yardımcı olurlar. Calliphoridae ailesinde yer alan *L. sericata* türü sinek larvalarında durum böyledir (4, 5). Bu sineklerin larvalarının yara yüzeyindeki enfekte dokuları yiyerek yarası temizlemesi Larva Debridman Tedavisi (LDT) olarak adlandırılır.

Sarcophagidae ailesine ait sinek larvalarının oluşturduğu miyaz olgularına, diğer sinek ailelerinin oluşturduğu miyaz olgularından daha fazla rastlanmaktadır. Bizim tespit ettiğimiz miyaz olgularının etkeni de Sarcophagidae ailesine aitti.

Türk ve ark. (8) 2006 yılında *Sarcophaga* sp. oluşturduğu bir nazal miyaz, Yazar ve ark. (9) 2005 yılında *Sarcophaga* sp. oluşturduğu bir nozokomiyal oral miyaz, Bayındır ve ark. (10) 2010 yılında *Wohlfahrtia magnifica*'nın neden olduğu bilateral aural miyaz olgularını bildirmişlerdir.

Bunun nedeni bu sinek ailesinin ovipar olmasıdır. Erişkin dişi sineğin kuluçka kesesi içerisinde gelişen canlı larvaların hızlı bir şekilde dışarı fırlatılmasıdır. Besin ile temas eden larvalar hemen gelişimini sürdürmeye başlarlar. Ovipar olan miyaz sineklerinde ise erişkin dişi sinekler önce yumurtalarını uygun bir yere bırakmalıdırlar. Yumurtadan larvaların çıkış süresi 22°C'de %50 nemde 10 ile 30 saat arasında değişmektedir (11). Ancak bu şekilde yumurtadan çıkan larvalar miyaz oluşturabilir. Bununla beraber larvalar yaralarda ve sindirim sisteminde fakültatif parazit olarak bulunabilirler. Bazen yaraları veya hastalıklı vücut deliklerini istila ederler. Bunlar sağlam dokulara geçip ciddi lezyonlar oluşturabilirler.

## SONUÇ

Sonuç olarak miyaz oluşumunda hijyen ve sanitasyonun yetersizliği önemlidir. Sağlık birimlerinde ve hastanelerde yara bakımı ile ilgilenen personelin eğitilmesi günümüzde görülen miyaz olgularının sayısını önemli ölçüde azaltabileceğini düşünmekteyiz.

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

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - E.P., S.S., H.C.İ.; Tasarım - E.P., S.S.; Denetleme - E.P., S.S.; Kaynaklar - S.S.; Malzemeler - S.S., H.C.İ.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - E.P., S.S.; Analiz ve/veya Yorum - E.P., S.S.; Literatür Taraması - S.S., H.C.İ.; Yazıyı Yazan - E.P., S.S.; Eleştirel İnceleme - E.P., S.S.

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

**Finansal Destek:** Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

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

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

**Author Contributions:** Concept - E.P., S.S., H.C.İ.; Design - E.P., S.S.; Supervision - E.P., S.S.; Funding - S.S.; Materials - S.S., H.C.İ.; Data Collection and/or Processing - E.P., S.S.; Analysis and/or Interpretation - E.P., S.S.; Literature Review - S.S., H.C.İ.; Writing - E.P., S.S.; Critical Review - E.P., S.S.



**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. Unat EK, Samastı M. Tıp Entomolojisi. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M editör. Unat'ın Tıp Parazitolojisi, İnsanın Ökaryonlu Parazitleri ve Bunlarla Oluşan Hastalıkları. İstanbul, V. baskı, Cerrahpaşa Tıp Fak. Vakfı; 1995; 140-57.
2. Daldal N, Atambay M. Myiasis (Miyaz). Özcel MA editör. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir, Türkiye Parazitoloji Derneği; 2007; 867-81.
3. Merdivenci A. Miyaz sinekleri, Tıbbi Entomoloji. İstanbul Üniversitesi. 1973. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul.
4. Polat E, Çakan H, İpek T, Larva Debridman Tedavisi (LDT). Türk Aile Hek Derg 2010; 14: 188-91. [\[CrossRef\]](#)
5. Polat E, Aksöz İ, Arkan H, Coşkunpınar H, Akbaş F, Onaran İ. Gene expression profiling of *Lucilia sericata* larvae extraction/secretion-treated skin wounds. Gene 2014; 550: 223-9. [\[CrossRef\]](#)
6. Ferrar P. A Guide to the Breeding Habits and Immature Stages of Diptera Cyclorrhapha. In: Lyneborg, L. (Ed.), Entomonograph, vol. 8. Scandinavian Science Press, Leiden, Copenhagen. 1987: Part 1-2.
7. Kökdener M, Polat E. Insect succession on dog (*Canis lupus familiaris* L.) carcasses in Samsun province, Turkey. Mu Ent Zool 2013; 9: 858-69.
8. Türk M, Afşar İ, Özbel Y, Aslı Gamze Şener AG, Üner A, Türker M. A Case of Nasomyiasis Whose Agent Was *Sarcophaga* sp. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 330-2.
9. Yazar S, Dik B, Yalcin S, Demirtas F, Yaman O, Ozturk M, Sahin I. Nosocomial Oral Myiasis by *Sarcophaga* sp. in Turkey. Yonsei Med J 2005; 46: 431-4. [\[CrossRef\]](#)
10. Bayındır T, Miman Ö, Miman MC, Atambay M, Şaki CE. Bilateral Aural Myiasis (*Wohlfahrtia magnifica*): A Case with Chronic Suppurative Otitis Media. Türkiye Parazit Derg 2010; 34: 65-7.
11. AS Kamal. Comparative study of thirteen species of sarcophagous. Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) I. Bionomics. Ann Entomol Soc Am 1958; 51: 261-71. [\[CrossRef\]](#)