



Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

Özgün Araştırmalar / Original Investigations

PCR in the Diagnosis of Trichomoniasis in Men

Erkeklerde Trichomoniasis de PZR Etkinliği

T. Mutlu Yar et al.; Malatya, İzmir, Türkiye

Çiçekdağı'nda Sığırlarda Neosporosis

Neosporosis in Cattle Raised in Çiçekdağı

Kader Yıldız ve ark.; Kırıkkale, Ankara, Türkiye

Phlebotomus papatasi Örneklerinde Saptanan Parasitik Akar: *Eustigmaeus johnstoni*

Eustigmaeus johnstoni: Parasitic Mite Species Detected in *Phlebotomus papatasi*

Metin Pekağırbaş ve ark.; Aydın, İzmir, Manisa, Erzincan, Türkiye

Akne Vulgaris ve Rozasea

Acne Vulgaris and Rosacea

Nergiz Turan ve ark.; Malatya, Türkiye

Toxoplasma gondii in Sheep

Koyunlarda *Toxoplasma gondii*

Dilek Özmütlu Çakmak and Bilge Karatepe.; Nigde, Turkey

Leishmania Türlerinin Kriyoprezervasyonu

Cryopreservation of *Leishmania* Species

İbrahim Çavuş ve ark.; Manisa, Türkiye

Sıtmada Etken Madde Taramaları

Scanning Drug Substances in Malaria

Ahmet Özbilgin ve ark.; Manisa, Türkiye

Endemik Bitkilerinin *Toxoplasma gondii* Üzerindeki Etkisi

Effect of Endemic Plant Extracts on *Toxoplasma gondii*

Zeynep Özlem Doğan Şığva ve ark.; İzmir, Manisa, Türkiye

Citation Abbreviation: Türkiye Parazitol Derg

Cilt / Volume: 41 Sayı / Issue: 3 Eylül / September 2017

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

Yusuf Özbel
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 Director
Gökhan ÇİMEN

Publication Coordinators
Betül ÇİMEN
Zeynep YAKIŞIRER
Gizem KAYAN
Melike Buse ŞENAY

Ceren ALĞIN
Okan AYDOĞAN

Publication Secretary
Özlem ÇAKMAK

Project Coordinator
Hakan ERTEN

Project Assistants
Aylin ATALAY
Şükriye YILMAZ
Cansu ERDOĞAN

Graphics Department

Ünal ÖZER
Neslihan YAMAN
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 Balcioğlu

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 Kuru

Gülhane Tıp Fakültesi Parazitoloji
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
*Department of Parasitology, Gülhane Medical School
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 Doğanay

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

TRKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

Uluslararası Danışma Kurulu / International Advisory Board

A. Tümay Gürler

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

Abdullah İnci

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

Adil Allahverdiyev

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

Ahmet Gökçen

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

Ahmet Özbilgin

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

Ahmet Üner

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

Ali Ahmet Kilimcioğlu

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

Ali Aydoğdu

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

Alparslan Yıldırım

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

André-Denis G. Wright

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

Anıl İça

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

Aykut Özkul

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

Aynur Gülanber

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

Ayşe Caner

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

Ayşe Çakmak

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

Ayşegül Taylan Özkan

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

Ayşegül Ünver

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

Aytül Önal

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

Bahadır Gönenc

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

Barış Sarı

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

Bayram Ali Yukan

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

Bayram Şenlik

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

Bekir Keskin

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

Bijen Kıvçak

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

Bilal Dik

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

Bilge Karatepe

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

Burk A. Dehority

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

Cem Ecmel Şaki

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

Cem Vuruşaner

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

Chizu Şanjoba

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

Çağrı Büke

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



Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

Çiğdem Banu Çetin

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

Çiler Akisü

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

Daniela Pilarska Kirilova

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

Davut Alptekin

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

Derya Dirim Erdoğan

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

M. Emin Limoncu

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

Engin Araz

Gülhane Tıp Fakültesi, Parazitoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye
Department of Parasitology, Gülhane Military Medical Academy, Ankara, Turkey

Ergün Köroğlu

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

Erol Ayaz

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

Erol Tokşen

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

Esin Güven

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

Esmâ Kozan

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

Fadile Yıldız Zeyrek

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

Ferda Şevinc

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 Doğruman Al

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

Gönül Dinç

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

Gülây Vural

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

Gülnaz Çulha

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

Gürol Cantürk

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

Hamdi 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, İstanbul University, İstanbul, 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, İstanbul University, İstanbul, Turkey

Hüseyin Arkan

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

Hüseyin Bilgin Bilgiç

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



Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

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, İzmir, Turkey*

İsmet Özel

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

Kor Yereci

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

Adnan Menderes Üniversitesi Fen Fakültesi,
Ekoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye
*Department of Ecology, Science and Letters,
Adnan 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, İzmir, 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, İzmir, Turkey*

Mucide Ak

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

Mustafa Kaplan

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

Münir Aktaş

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



Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

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

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

Nazir Dumanlı

Fırat 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 Aysul

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

Nurşen Alpagut-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 Sarımehtemtoğlu

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 Mıman

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

Sami Şimşek

Fırat 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*

Seray Töz

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



Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

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, İzmir, 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*

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, İzmir, 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

Ondokuz 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, İzmir, Turkey*

Tuğrul Dereli

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

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

Veli Yılmaz Çırak

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

Volkan Akyol

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

Yaşar Ali Öner

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

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, İzmir, Turkey*

Zafer Karaer

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

Zati Vatanserver

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 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, SCO-

PUS, 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 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

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

Yazarlara Bilgi

Yazarlara Bilgi sayfası derginin basılı versiyonunda ve 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.

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, SCOPUS, 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. 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

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

Information for Authors

Information for authors is published in the journal and is available on the web site 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 adresinden elektronik olarak gönderilmelidir.

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

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

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

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

Erakinci 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



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.

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) 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

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.

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



Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

EDİTÖRDEN

2017 yılının üçüncü sayısını 8 özgün araştırma makalesi, 3 olgu sunumu ve 1 derleme yazısı olmak üzere 12 makale ile çıkarmaktayız.

Özgün araştırmalarda, ihmal edilen bir konu olan erkek hastalarda trichomoniasis tanısını ele alan bir araştırma, süt ineklerinde neosporiasis ile koyunlarda toxoplasmosis seroprevalanslarını araştıran iki makale, gittikçe daha sık karşılaştığımız *Demodex* enfestasyonunu ortaya koyan bir araştırma bulunmaktadır. Ayrıca, *Leishmania*'ların kriyoprezervasyonunu açıklayan ve sıtma tedavisinde etken madde taramalarında *in vivo* ve *in vitro* olarak kullanılabilir yöntemleri açıklayan bir makale yer almaktadır. Son özgün makalemizde ise iki endemik bitkinin *T. gondii* üzerine olan etkileri incelenmiştir. Olgu sunumlarında da üç farklı olguya detaylı olarak yer verilmiştir.

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 2017 with a total of 12 studies including 8 original research articles, 3 case reports, and 1 review.

Of the original research articles, one is about the diagnosis of trichomoniasis, which is a disregarded issue, in male patients. Two articles investigate the seroprevalence of neosporiasis in cows and toxoplasmosis in sheep. And another original article is about *Demodex* infestation, which is more frequently encountered. Moreover, there is an article explaining the cryopreservation of *Leishmania* and the methods that can be used as *in vivo* and *in vitro* in scanning active agents for the treatment of malaria. In the last original article, the effects of two endemic plants on *T. gondii* are investigated. In addition to the original research articles, 3 different cases are presented in detail.

It has been noticed that 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 emphasize on this point because complete submission of these forms while loading an article will shorten the process.

I would like to restate 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 works and knowledge.

Prof. Dr. Yusuf Özbel
Chief Editor



Türkiye Parazitoloji Dergisi

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / ORIGINAL INVESTIGATIONS

- 130 **Diagnosis of Trichomoniasis in Male Patients on Performing Nested Polymerase Chain Reaction**
Erkek Hastalarda Trichomoniasis Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Kullanımının Etkinliğinin Araştırılması
T. Mutlu Yar, Mehmet Karakuş, Seray Töz, Aysun Bay Karabulut, Yusuf Özbel, Metin Atambay
- 135 **Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde Yetiştirilen Süt İneklerinde *Neospora caninum*'un Seroprevalansı**
Seroprevalence of Neospora caninum in Dairy Cattle Raised in Çiçekdağı District of Kırşehir Province
Kader Yıldız, Sami Gökpinar, Neslihan Sürsal, Rukiye Değirmenci
- 139 **Aydın'da Yakalanan *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) Örneklerinde Saptanan Parazit Bir Akar Türü: *Eustigmaeus Johnstoni* Zhang & Gerson (Acari: Stigmaeidae)**
Eustigmaeus Johnstoni Zhang & Gerson (Acari: Stigmaeidae) a Parasitic Mite Species Detected in Phlebotomus papatasi (Diptera: Psychodidae) Specimens Collected from Aydın, Turkey
Metin Pekağırbaş, Mehmet Karakuş, Suha Kenan Arserim, Salih Doğan, Hasan Eren, Seray Töz, Yusuf Özbel
- 143 **Akne Vulgaris ve Rozase Hastalarında Deri Sebum, pH ve Nem Değerlerinin Demodex Enfestasyonuna Etkisi**
The Effect of Skin Sebum, pH, and Moisture on Demodex Infestation in Acne Vulgaris and Rosacea Patients
Nergiz Turan, Yelda Kapıcıoğlu, Gülbahar Saraç
- 148 **Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Sheep from Nevşehir Province in Turkey**
Nevşehir Yöresi Koyunlarında Toxoplasma gondii'nin Seroprevalansı
Dilek Özmutlu Çakmak, Bilge Karatepe
- 152 **Manisa İlimizde Görülen Leishmaniasis Etkeni *Leishmania Türlerinin* Kriyoprezervasyonu**
Cryopreservation of Leishmania Species in Manisa Province
İbrahim Çavuş, Fulya Ocağ, Tuğba Kaya, Ahmet Özbilgin
- 156 **Sıtmada Etken Madde Taramalarında *in vivo* ve *in vitro* Modeller: Pilot Çalışma**
In vivo and in vitro Models for Scanning Drug Substances in Malaria: Pilot study
Ahmet Özbilgin, İbrahim Çavuş, Alicem Nuraydın, Tuğba Kaya
- 164 ***Centaurea lydia* (Peygamber Çiçeği) ve *Phlomis nissolii* (Çalba) Endemik Bitkilerinin *Toxoplasma gondii* Üzerine Etkisi**
Effect of Extracts of the Endemic Plants Centaurea lydia and Phlomis nissolii on Toxoplasma gondii
Zeynep Özlem Doğan Şığva, Ezgi Eylül Hasvatan, Gizem Gülen, Remzi Uslu, Beyza Eryıldız, Cenk Durmuşkahya, Hüsnüye Kayalar, Ahmet Özbilgin, Metin Korkmaz, Cumhur Gündüz

DERLEME / REVIEW

- 169 **Dicrocoeliosis Epidemiyolojisinde Kara Salyangozlarının Önemi**
Importance of Land Snails in Dicrocoeliosis Epidemiology
Gözde Gürelli

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- 173 **Amazon Ormanlarından Dönen Bir Gezginde *Dermatobia hominis*'in Neden Olduğu Fronküler Miyaz**
Furuncular Myiasis Caused by Dermatobia hominis in a Traveler Returning from the Amazon Jungle
Ferit Kuşcu, Kerem Mazhar Özsoy, Aslıhan Ulu, Behice Kurtaran, Süheyla Kömür, Ayşe Seza İnal, Yeşim Taşova, Hasan Salih Zeki Aksu
- 177 **Kronik Hepatit B-*Leishmania* Koinfeksiyonu**
Chronic Hepatitis B and Leishmania Coinfection
Tuna Demirdal, Ümmü Sena Sarı, Salih Atakan Nemli, Serap Ural, Sibel El
- 180 **Rare But Life-Threatening Complication of Hydatid Disease**
Nadir Fakat Hayati Tehdit Eden Bir Kist Hidatik Komplikasyonu
Fatih Karakaya, Çağdaş Kalkan, Melek Karakaya, Necati Örmeci

Diagnosis of Trichomoniasis in Male Patients on Performing Nested Polymerase Chain Reaction

Erkek Hastalarda Trichomoniasis Tanısında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Kullanımının Etkinliğinin Araştırılması

T. Mutlu Yar¹, Mehmet Karakuş², Seray Töz², Aysun Bay Karabulut³, Yusuf Özbel², Metin Atambay¹

¹Department of Parasitology, Turgut Özal Medical Center, İnönü University Faculty of Medicine Malatya, Turkey

²Department of Parasitology, Ege University Faculty of Medicine, İzmir, Turkey

³Department of Biochemistry, Turgut Özal Medical Center, İnönü University Faculty of Medicine Malatya, Turkey

Cite this article as: Yar TM, Karakuş M, Töz S, Bay Karabulut A, Özbel Y, Atambay M. Diagnosis of Trichomoniasis in Male Patients on Performing Nested Polymerase Chain Reaction. Türkiye Parazit Derg 2017; 41: 130-4.

ABSTRACT

Objective: Trichomoniasis is a parasitic infection that occurs with the settlement of *Trichomonas vaginalis* in female and male urinary and reproductive tracts. This infection is generally asymptomatic in males, and males are thought to be a carrier for the transmission of infection. In this study, our aim was to detect trichomoniasis using nested polymerase chain reaction among males who were referred to a hospital with suspected urinary tract infection.

Methods: Urine samples were collected from 138 male patients between 18 and 50 years of age who were referred with suspected urinary system infection to the Urology Outpatient Clinic at Malatya University Medical Center Malatya between December 2013 and May 2014. Direct microscopy, two different culture methods, and nested Polymerase chain reaction (PCR) were performed for the investigation of *T. vaginalis* in urine samples.

Results: Urinary tract infection was diagnosed in 47 of the 138 patients according to white and red blood cell counts in the urine samples. *T. vaginalis* infection was detected in 6.5% (9/138) of the suspected patients by nested PCR, while none of the samples tested positive by direct microscopy and culture examinations. Statistical significance was found between infection of the urinary tract and nested PCR positivity for *T. vaginalis*.

Conclusions: According to our results, nested PCR is the most sensitive method for the detection of trichomoniasis in male patients. We strongly recommend using nested PCR for the differential diagnosis of urinary infections in males.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, direct microscopy, culture, nested PCR

Received: 09.08.2016

Accepted: 20.06.2017

ÖZ

Amaç: Kadın ve erkekte idrar ve üreme yollarında *Trichomonas vaginalis*'in yerleşmesi ile oluşan parasite enfeksiyon Trichomoniasis olarak adlandırılır. Erkeklerde bu enfeksiyon büyük çoğunlukla asemptomatik seyretmekte ve parazitin bulaşmasında taşıyıcı rolü üstlendikleri düşünülmektedir. Bu çalışmada trichomoniasis tanısı koyulmayan erkeklerdeki gizli taşıyıcılığı Nested Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile açığa çıkarmak amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmada Malatya İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi'ne Aralık 2013-Mayıs 2014 tarihleri arasında idrar yolu enfeksiyonu ön tanısı ile Üroloji Polikliniğine başvuran 18-50 yaş arası 138 erkek hastadan idrar örnekleri; direct mikroskopik bakı, kültür ve Nested PZR yöntemleri ile incelenmiştir.

Bulgular: Direkt mikroskopi ve kültür yönteminde *T. vaginalis*'e rastlanılmakzen, Nested PZR yöntemi ile %6,5 (9/138) hastada *T. vaginalis* DNA'sı pozitif bulunmuş ayrıca pozitif bulunan hastalar ile idrar yolu enfeksiyonu arasındaki ilişki de istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olduğu tespi edilmiştir.

Sonuç: *T. vaginalis* ile enfekte erkeklerin çoğunda semptom bulunmadığı için *T. vaginalis* araştırılması açısından gözardı edildiği, gizli taşıyıcı olarak hastalığı yaymaya devam ettikleri, *T. vaginalis*'in saptanmasında Nested PZR yönteminin çok hassas ve gizli taşıyıcıları açığa çıkarmak amacıyla tanıda mutlaka kullanılması gereken bir yöntem olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *T. vaginalis*, enfeksiyon, direktmikroskopi, kültür, Nested PZR

Geliş Tarihi: 09.08.2016

Kabul Tarihi: 20.06.2017

Address for Correspondence / Yazışma Adresi: Mutlu Yar, E.mail: mutluyaraycan@gmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5016

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

INTRODUCTION

Trichomonas vaginalis is an important and curable sexually transmitted infection (STI), and worldwide, the number of people estimated to have this infection is 187 million adults (15 to 49 years of age) (1). *T. vaginalis* infection causes vaginitis and cervicitis with profuse, frothy vaginal discharge and dysuria; pelvic inflammatory disease; preterm birth; and low-birth weight babies in women and urethral discharge (non-gonococcal urethritis), which is often asymptomatic and can be associated with prostatitis, epididymitis, and male factor infertility, in men. In addition, *T. vaginalis* infection has been implicated as a significant risk factor in the sexual transmission of human immunodeficiency virus (HIV) and other possible bacterial and viral STIs as well as of cervical cancer (2-5).

There are limited studies on trichomoniasis among female and male patients in Turkey. *T. vaginalis* was found in 8 (7%) of 116 women (114 and 2 were in the reproductive and postmenopausal periods, respectively) showing nonspecific vaginal discharge during their gynecological examination by microscopy and the cysteine-peptone-liver-maltose (CPLM) culture method (6). A total of 253 women (aged from 20 to 48 years) with abnormal vaginal discharge who applied to the Obstetrics and Gynecology outpatient clinic were enrolled, and 22 (8.69%) trichomoniasis cases were detected by performing a direct native examination and Giemsa staining (7).

T. vaginalis infection in male urine samples was diagnosed in 3 (2.7%) and 1 (0.9%) out of 110 patients with urethritis and control group without any symptoms admitted to the urology clinic by direct microscopic examination of the centrifuged urine samples, respectively (8).

Urine samples of 768 male patients were examined for *T. vaginalis* infection by microscopy, and 3 patients (0.2%) were found to be positive (9). Urethral discharge in 85 male patients with non-gonococcal urethritis was investigated for *T. vaginalis* infection, and 5 (5.8%) and 2 (1.4%) positive results were found on performing microscopy and trypticase-yeast extract-maltose (TYM) culture, respectively (10). Urethral discharge and urine sediments of 100 male patients with non-gonococcal urethritis were examined for *T. vaginalis* infection, and 12 (12%) and 4 (4%) positive results were found, respectively. None of the samples showed positivity on performing CPLM culture (11).

Trichomoniasis is usually asymptomatic or shows nonspecific clinical symptoms; worldwide, diagnosis based on laboratory test results is crucial for the treatment and control of the disease (2). Conventional diagnostic techniques involved direct examination of the parasite and CPLM and TYM culture methods. Culture methods are time consuming; they have lower sensitivity than other diagnostic methods and are not standard suitable tests in routine diagnostic laboratories. Direct microscopy of the parasite is a cheap, fast, and sensitive method but requires vaginal or urethral discharge samples and an examination to be performed immediately. Because of all these reasons, there is a requirement for sensitive, time-independent, standard tests using noninvasive sampling for diagnosing trichomoniasis. In recent years, techniques using Polymerase chain reaction (PCR) have provided new approaches to increase the sensitivity as well as to use noninvasive body fluids such as urine (2, 3, 12-14). In the present study, we aimed to detect *T. vaginalis* infection in urine samples

obtained from males by performing nested PCR and to compare the results with those obtained using conventional methods.

METHODS

Sampling

Samples were collected from 138 males who were admitted to the Urology Outpatient Clinic in Medical Faculty Turgut Özal Center of Malatya İnönü University located in Malatya between December 2013 and May 2014. The inclusion criteria were (i) males between 18 and 50 years of age, (ii) complaints related to the urinary tract, and (iii) biochemical analyses of urine (counts of white and red blood cells). Two tubes of urine samples were collected from the patients: one for direct examination and the other for culture inoculation.

Urinary tract infection criteria: The presence of more than five leucocytes with more than three erythrocytes in urine sediments of the patients in a high-power (400×) microscopic field was accepted as urinary tract infection (15-16).

Ethical permission was provided from Malatya University Medical Faculty Ethical Committee (protocol no: 2013/149), and urine biochemical analysis data of the patients were obtained from hospital records.

Direct microscopy and culture

Wet mount preparations of urine samples of the patients were prepared immediately from first-void urine samples after centrifuging at 400 rpm for 5 min, and sediments were examined under a 40× objective for the detection of *T. vaginalis* trophozoites.

Cysteine-peptone-liver-maltose and TYM cultures were prepared according to the previous literature (17). At least 1 ml of the urine sediment was inoculated into both culture tubes and was incubated at 37°C for a week. Then, tubes were examined every 2 days for the presence of *T. vaginalis* infection.

DNA isolation

First-void urine samples were centrifuged at 8000 rpm for 10 min, and the pellet was stored at -20°C until DNA was isolated. After dissolving the pellet under room temperature, DNA was isolated using a Qiagen DNA Easy Blood & Tissue kit (Hilden, Germany) according to the manufacturer's protocol and was stored at -20°C until Nested PCR was performed.

Nested PCR

Before the experiments, the PCR protocol was optimized using DNA obtained from a local *T. vaginalis* isolate. The first (TVC3F/ TVC4R) and second PCR (TVC11F/ TVC12R) primer sets were used as previously reported (2). PCR was performed using ready-to-use master mix (Nano Helix Co., Ltd. Helix Amp™) with 20 ng of DNA and 10 pmol of each primer. PCR conditions were as follows: 95°C for 2 min, followed by 35 cycles of 20 s at 95°C, 40 s at 50°C, 40 s at 72°C, and 5 min at 72°C. PCR products were visualized after performing gel electrophoresis on GelRed™-stained 1.2% agarose gel. The detection of band in 237 bp was accepted to be positive. To eliminate DNA contamination, PCR, DNA isolation, and gel electrophoresis were performed in separate rooms.

Statistical analysis

Statistical associations between positivity and urinary tract infection were determined by applying Fisher's exact test.

RESULTS

Totally, 138 males were included; their mean age was average 36 years. According to the biochemical analyses of the urine sediment, 47 of the 138 patients tested positive for urinary tract infection.

We could not detect any *T. vaginalis* trophozoites by direct microscopy and culture methods, whereas 237 bp bands were observed in gel electrophoresis by nested PCR in 9 of the 138 patients (6.5%) (Figure1). Fisher's exact Test results revealed a significant relationship between urinary tract infection and nested PCR positivity (p=0.003) (Table 1 and 2).

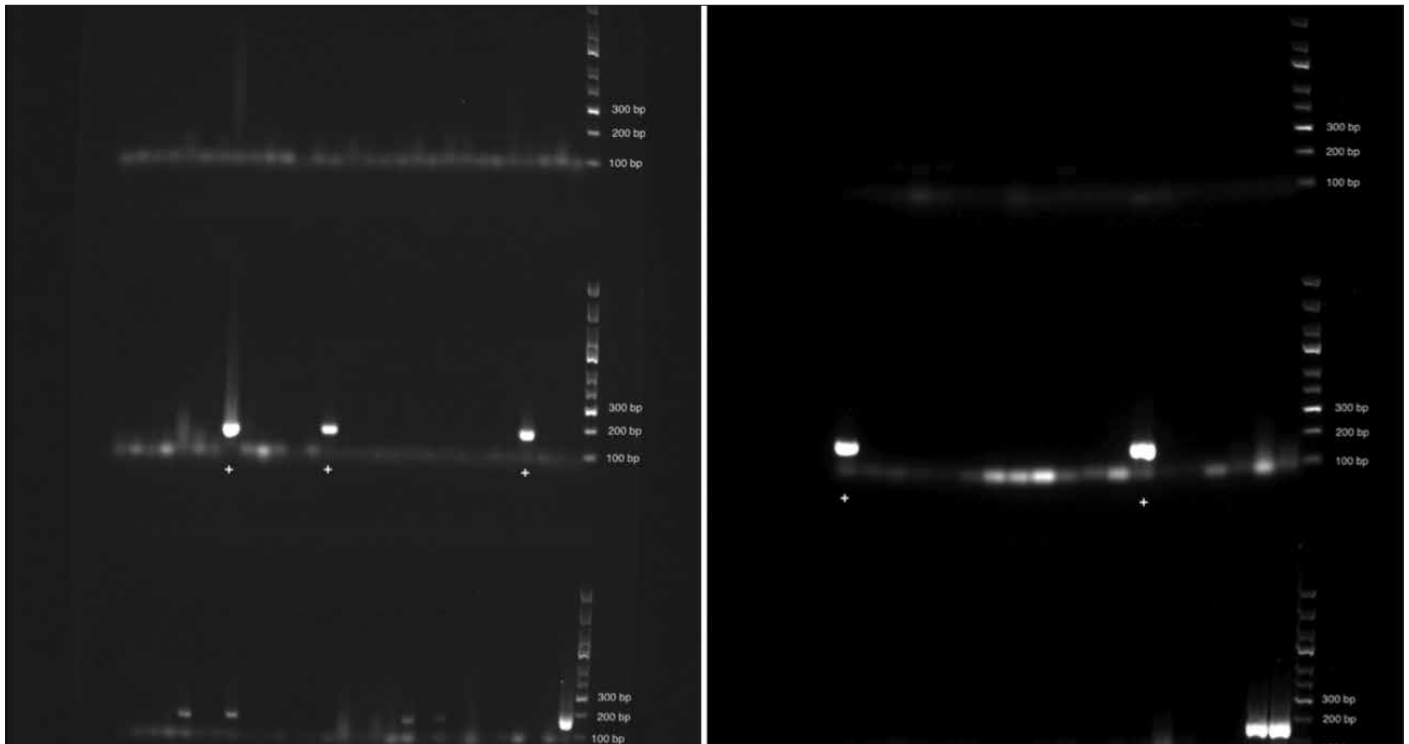


Figure 1. Nested Polymerase chain reaction gel electrophoresis showing in trichomoniasis-positive urine samples

Table 1. Results of patients positive for *Trichomonas vaginalis* infection

Patient No	Age	Direct Microscopy	Culture	PCR	Leucocyte/HPF	Erythrocyte/HPF
37	49	NEG	NEG	POS	271	12
43	34	NEG	NEG	POS	35	43
55	25	NEG	NEG	POS	965	28
63	32	NEG	NEG	POS	49	33
66	18	NEG	NEG	POS	NEG	NEG
77	48	NEG	NEG	POS	306	14
79	41	NEG	NEG	POS	25	5
105	46	NEG	NEG	POS	125	38
117	28	NEG	NEG	POS	3	7

PCR: polymerase chain reaction; HPF: highest possible frequency; NEG: negative; POS: positive

Table 2. Relationship between nested PCR and urinary tract infection

		Infection		Total (%)
		Negative (%)	Positive (%)	
Nested PCR	Negative (%)	89 (69.5)	40 (30.5)	129 (100)
	Positive (%)	2 (20.0)	7 (80.0)	9 (100)
Total		91 (65.9)	47 (34.1)	138 (100)

PCR: Polymerase chain reaction

DISCUSSION

The estimation of the total number of new patients with important STIs such as *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis* infections and syphilis between the ages of 15 and 49 years showed that trichomoniasis is the most abundant infection globally (1).

The infection is reported to be asymptomatic in 70 to 80% of infected men; in those with symptoms, urethral discharge and dysuria are the main symptoms (4-5). Techniques for PCR have been developed to detect *T. vaginalis* infection in women; however, the detection of *T. vaginalis* infection in men by PCR has received less attention. Urine-based PCR assays for men have been described and PCR of urine samples from men was found to be much more sensitive than culture methods for detecting *T. vaginalis* infection. PCR screening of *T. vaginalis* infection among men with recurrent lower urinary tract symptoms was strongly recommended as a part of public health initiatives to control trichomoniasis (3).

There are limited studies on trichomoniasis among female and male patients in Turkey. *T. vaginalis* infection was found 4.5%, 7%, and 8.69% among women with vaginal discharge by conventional methods such as microscopy and culture in Turkey (3-6-7). *T. vaginalis* infection was diagnosed in 2.7% and 0.9% male patients with urethritis and in an asymptomatic control group by microscopy of centrifuged urine samples, respectively (8). Similarly, 0.2% of urine samples of male patients were found to be positive by microscopy (9). However, positivity rates of 5.8% and 1.4% were revealed by microscopy and culture methods using urethral discharge of male patients with non-gonococcal urethritis, respectively (10). Similarly, urethral discharge and urine sediments of male patients with non-gonococcal urethritis showed positivity rates of 12% and 4%, while none of the samples tested positivity by the culture method (11). In the present study, urine samples were chosen as their collection is a non-invasive sampling method and nested PCR was performed as a sensitive and specific method; our results were compared with those of conventional methods such as microscopy and culture method. We found no positivity using microscopy and culture methods, but a positivity rate of 6.5% was detected by performing nested PCR, which is comparable with other results obtained in previous studies that used urethral discharge and/or urine samples. To our knowledge, our study is the first on trichomoniasis among male patients in Malatya, Turkey. In a previous study in 2008 that was conducted in female patients in Malatya, *T. vaginalis* infection was detected at 4.6% from vaginal discharge samples on performing microscopy and culture methods in 2008. These results show that there is a need for standard routine diagnostic assays such as nested PCR for the correct and timely treatment as well as for the control of trichomoniasis.

The presence of more than five leucocytes and more than three erythrocytes in urine sediments of patients under a high-power (400×) microscopic field is accepted as urinary tract infection respectively. One of the reasons for microscopic hematuria is urinary tract infection (15-16). In the present study, according to white and red blood cell counts in urine, 47 out of the 138 patients tested positive for urinary tract infection. Fisher's exact Test

results revealed a statistically significant relationship between urinary tract infection and nested PCR positivity ($p=0.003$) (Table 1, 2). There were two *T. vaginalis*-positive patients without urinary tract infection. Urine analysis of one of them was negative for leucocytes and erythrocytes and accepted as asymptomatic infection. The other patient showed three leucocytes and seven erythrocytes, which can be a sign of suspected urinary tract infection. There is a requirement for conducting further studies with trichomoniasis patients to understand the relationship between laboratory analyses and trichomoniasis.

Male trichomoniasis can be a source of infection for the partner, and trichomoniasis has been implicated as a significant risk factor for the sexual transmission of HIV and other possible STIs as well as of cervical cancer (2-4).

CONCLUSION

Direct microscopic, culture and Nested PZR methods were applied to investigate the presence of *T. vaginalis* in urine specimens of working male patients and it was concluded that Nested PZR method is more sensitive than the other methods. Although the PZR method is an expensive method, it improves the diagnostic sensitivity and makes the hidden carriers in the community more open to treatment of more cases. In addition, asymptomatic persons should also be screened to remove those affected, to determine the actual prevalence of the disease in the population, it is recommended for taking precautions.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received from Malatya Üniversitesi, Medical Faculty of the Ethics Committee (Decision Date: 2013 Decision No: 149).

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

Peer-review: Externally peer-reviewed.

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

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Malatya Üniversitesi, Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan alınmıştır (Karar Tarihi: 2013 Karar No: 149).

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastadan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - M.A.; Tasarım - M.A., M.Y.; Denetleme - M.Y., M.A., S.T.; Kaynaklar - S.T., Y.Ö.; Malzemeler - M.K., M.Y.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - M.Y., A.B.K.; Analiz ve/veya Yorum - M.Y., M.A.; Literatür Taraması - M.Y.; Yazıyı Yazan - M.Y., S.T., M.A.; Eleştirel İnceleme - M.A., S.T.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

REFERENCES

1. World Health Organization. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections-2008. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, ISBN 9789241503839, Geneva. 2012.
2. Banda CI, Joseph K, Secor EW, Jones AL, Sautter RL, Hammerschlag RM, et al. Development of PCR assays for detection of *T. vaginalis* urine specimens. J Clin Microbiol 2013; 51: 1298-300. [CrossRef]
3. Lee JJ, Moon HS, Lee TY, Hwang SH, Ahn MH, Ryu JS. PCR for Diagnosis of Male *Trichomonas vaginalis* Infection with Chronic Prostatitis and Urethritis. Korean J Parasitol 2012; 50: 157-9. [CrossRef]
4. Soba B, Skvarc M, Maticic M. Trichomoniasis: a brief review of diagnostic methods and our experience with real-time PCR for detecting infection. Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat 2015; 24: 7-10. [CrossRef]
5. Kissinger P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. BMC Infect Dis 2015; 15: 307. [CrossRef]
6. Aral Akarsu G. Investigation of *Trichomonas vaginalis* in Patients with Nonspecific Vaginal Discharge. Türkiye Parazitoloj Derg 2006; 30: 19-21.
7. Sönmez Tamer G, Keçeli Ozcan S, Yücesoy G, Gacar G. The Relation Between Trichomoniasis and Contraceptive Methods. Türkiye Parazitoloj Derg 2009; 33: 266-9.
8. Çulha G, Görür S, Helli A, Akçin S., Kiper AN. The Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in male patients with urethritis who referred to Mustafa Kemal University Hospital Urology Clinic. Turk Hij Den Biyol Derg 2008; 65: 37-41.
9. Ustun S, İlter T. Investigation of the Frequency of *T. vaginalis* in Patients Who Presented at the Urine Laboratory of the Gastroenterology Clinic Türkiye Parazitoloj Derg, 2004; 28: 83-5.
10. Tanyüksel M, Başustaoğlu AC, Batsallar M, Haznedaroğlu T, Ozyurt M, Gün H. Study of *Trichomonas vaginalis*'in male patients with nongonococcal urethritis by microscopy, culture (TYM Medium) and latex agglutination test procedure. Türkiye Parazitoloj Derg 1995; 19: 340-4.
11. Özbilgin A, Nazlı O, Tuzcuoğlu Y, Özcel MA, Mulazımoğlu N. Trichomoniasis in male nongonococcal urethritis. Türkiye Parazitoloj Derg 1992; 16: 43-8.
12. Ertabaklar H, Caner A, Döşkaya M, Demirtaş LO, Töz SO, Ertuğ S. Comparison of polymerase chain reaction with wet mount and culture methods for the diagnosis of trichomoniasis. Türkiye Parazitoloj Derg 2011; 35: 1-5. [CrossRef]
13. Karaman Ü, Karadağ N, Atambay M, Arserim Kaya NB, Daldal N. A Comparison of Cytological and Parasitological Methods in the Diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. Türkiye Parazitoloj Derg 2008; 32: 309-12.
14. Sakru N, Toz SO, Yetkin AC, Akıncı PC, Kırca U. Increased sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolation from vaginal secretions by subsequent blind passage of preliminary negative cultures. Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 52: 75-6. [CrossRef]
15. Daniels R. Urinalysis: Delmar's guide to laboratory and diagnostic tests. Canada, Cengage Learning 2002: 905-908.
16. Fischbach FT, Barnett Dunning M. Microscopic examination of Urine sediment: A manual of laboratory and diagnostic tests (Ed: Quincy McDonald), 7th ed. USA: Lippincott Williams &Wilkins, 2004: 207-221.
17. Garcia LS. Parasite recovery: Culture Methods, Animal Inoculation, and Xenodiagnosis, In Diagnostic Medical Parasitology, 4th Ed. Washington DC: USA, American Society for Microbiology; 2001: 850-872.

Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde Yetiştirilen Süt İneklerinde *Neospora caninum*'un Seroprevalansı

Seroprevalence of *Neospora caninum* in Dairy Cattle Raised in Çiçekdağı District of Kırşehir Province

Kader Yıldız¹, Sami Gökpinar¹, Neslihan Sürsal², Rukiye Değirmenci³

¹Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye

³Veteriner Hekim

Cite this article as: Yıldız, K, Gökpinar S, Sürsal N, Değirmenci R. Seroprevalence of *Neospora Caninum* in Dairy Cattle Raised in Çiçekdağı District of Kırşehir Province. Türkiye Parazit Derg 2017; 41: 135-8.

ÖZ

Amaç: Günümüzde dünya üzerinde sığırların en önemli abort nedenlerinden biri olarak kabul edilen *Neospora caninum* hem et hem de süt endüstrisinde önemli ekonomik kayba sebep olmaktadır. Bu çalışmada Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde yetiştirilen süt sığırı işletmelerinde örneklenen ineklerde *N. caninum* seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu çalışmada 116 inekten serum örneği toplanmıştır. Toplanan serumların *N. caninum* antikorları bakımından ticari Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) test kiti (VMRD c-ELISA) kullanılarak incelenmiştir.

Bulgular: Sığırların % 18,1'i *N. caninum* yönünden seropozitif bulunmuştur. Neosporosis seroprevalansı döl tutmama problemi olan ineklerde % 23,4, abort yapanlarda ise % 33,3 oranında tespit edilmiş, klinikçe sağlıklı görünümde olan ineklerde ise bu oran % 7,8 olmuştur ($p=0,006$). En yüksek seropozitiflik görülen ırklar sırasıyla Holstein, Simental ve Montofon olmuştur ($p=0,008$).

Sonuç: Çiçekdağı ilçesindeki sığırlarda neosporosisin yayılmasını önlemek için hem parazitin son konağı olan köpekler hem de sığırlar yönünden kontrol tedbirleri alınması gerekir.

Anahtar kelimeler: *Neospora caninum*, sığır, seroprevalans, Kırşehir, Çiçekdağı

Geliş Tarihi: 02.01.2017

Kabul Tarihi: 21.06.2017

ABSTRACT

Objective: *Neospora caninum* is one of the most important causes of abortion in cattle worldwide and causes significant economic losses in the meat and dairy industries. This study aimed to determine the seroprevalence of *N. caninum* in dairy cattle raised in Çiçekdağı district of Kırşehir province.

Methods: One hundred sixteen serum samples collected from dairy cattle were analyzed for *N. caninum* antibodies by a commercial Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) kit (VMRD c-ELISA).

Results: The seropositivity rate was 18.1% in the cattle examined. The seroprevalence of *N. caninum* was 23.4% in dairy cattle with fertility problems, 33.3% in cattle with a history of abortion, and 7.8% in clinically healthy dairy cattle ($p=0.006$). Cattle breeds with highest seropositivity rates were Holstein, Simmental, and Brown Swiss ($p=0.008$).

Conclusion: Control measures should be taken for both dogs as final host of the parasite cattle to prevent the spread of neosporosis in cattle in Çiçekdağı district.

Keywords: *Neospora caninum*, cattle, seroprevalence, Kırşehir, Çiçekdağı

Received: 02.01.2017

Accepted: 21.06.2017

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Kader Yıldız, E.mail: kaderyildiz@hotmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5218

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

Günümüzde sığırların en önemli enfeksiyöz kaynaklı abort sebeplerinden biri olarak kabul edilen *Neospora caninum* hem et hem de süt endüstrisinde önemli ekonomik kayba sebep olan bir protozoon parazittir (1). Sığırdı öncelikle plasenta ve fötüs hastalığı olan neosporosiste görülen klinik belirti abortur. Ekonomik kayıpların ana sebepleri sığır sürülerinde abort, infertilite, süt veriminde düşme, veteriner hekim masrafları ve hayvanların üretimden çıkarılarak kesime gönderilmesidir. Çiftliklerin pek çoğunda bu parazite bağlı ekonomik kaybın yıllık %2-5 civarında olduğu, bazılarındaki ise %20'ye kadar çıkabildiği bildirilmiştir (2).

Apicomplexa anacında yer alan *N. caninum* zorunlu hücre içi yerleşim gösteren bir protozoondur. Parazitin yaşam çemberinde köpek, gri kurt, çakal ve dingo son konak bunun yanı sıra sığır, koyun, keçi, geyik ve diğer gevişenler ile at, kemirgen ve köpek ve kızıl tilki ise ara konak rolü üstlenir (3-5). Parazit, arakonakların sinir dokusunda (beyin ve omurilik) hücre içi kistler oluşturur. Kistlerin içi bradyzoit adı verilen enfektif dönemle doludur (6). Arakonaktaki doku kistleri son konak canlılar tarafından ağız yoluyla alınır. Parazit ince bağırsak epitel hücrelerinde (eşeyli ve eşeyli) çoğalır ve en erken enfeksiyonu takiben 5. günde dışkı ile sporlanmamış oocyst çıkışı olur (6). Dışkıyla çıkan oocyst formları ancak doğada sporlandıktan sonra ara konak için enfektif hale gelir (6, 7).

Arakonaklar doğada bulunan sporlanmış oocystleri ağız yoluyla alır. Sindirim kanalında açığa çıkan sporozoitler arakonağın bağırsak duvarını delerek çeşitli organlara dağılır (çekirdekli tüm hücrelere, örneğin sinir hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, endotel ve kas hücreleri gibi) (6, 7). Hücre içine giren tachyzoitler endodiyozeni ile çoğalır ve bulunduğu hücreyi patlatarak yeni hücrelere apical kompleks yapılarını kullanarak girerler. *N. caninum*, ara konakların sinir dokularındaki hücrelerde yaklaşık 4 mikron çaplı duvara sahip, yuvarlak-oval, septumsuz doku kistleri oluşturur (6, 7).

Neospora caninum konaklarına horizontal ve vertikal yolla bulaşır. Transplasental ya da kongenital bulaşma olarak da adlandırılan vertikal yol sığırlarda en sık görülen bulaşma yoludur (8). Sığırdı ekzojen ve endojen transplasental olmak üzere iki şekilde bulaşma gerçekleşir (8). Ekzojen transplasental bulaşmada; daha önce enfekte olmamış inek *N. caninum* ile ilk kez gebeliği esnasında karşılaştığında parazit plasental yolla fötusa iletilir. Endojen transplasental bulaşmada ise gebelikten önce enfekte olan ineğin dokularında şekillenen parazite ait kistler gebelik esnasında yeniden aktif hale geçerek plasental yolla fötüsü enfekte eder (9, 10). Neosporosisle enfekte ineklerde tipik bir klinik belirti izlenmediğinden parazitin canlı hayvanlardaki tanısında en çok kullanılan yöntem serolojidir (7).

Türkiye'de köpek (11) ve buzağıdan (12) klinik neosporosis bildirilmiş, sığırlardaki neosporosis seropozitivitesi %2-35,07 arasında rapor edilmiştir (13, 14). Bu çalışma ile sığırlarda üreme sistemini etkileyerek sürülerde ciddi ekonomik kayıplar oluşturan yaygın bir protozoon olan *N. caninum*'un Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde yetiştirilen süt sığırları işletmelerinden örneklenen ineklerde seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışma Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde 10 hayvandan fazla inek barındıran süt sığırları işletmelerinde yürütülmüştür. Çalışma kapsamında yörede farklı işletmelerdeki 116 sığırlın vena jugularisinden usulüne uygun olarak kan örnekleri anticoagulant bulunmayan tüp içerisine alınmıştır. Örneklenen hayvanlara ait epidemiyolojik bilgiler (yaş, ırk ve üreme problemi olup olmadığı) kaydedilmiştir. Çalışmayla ilgili olarak örneklenen sığırlardan kan alınmasına dair Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan olur alınmıştır (25.02.2015 tarih ve 15/17 sayı). Sığırlardan alınan kan örneklerinin serumu çıkarılarak -20°C de muhafaza edilmiştir. Toplanan serumların *N. caninum* antikorları bakımından incelenmesinde ticari Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) test kiti (c-ELISA, VMRD, Washington, USA) kullanılmıştır. Toplanan serum örnekleri oda sıcaklığına geldikten sonra vortekslenmiş ve ticari kitin protokolüne göre incelenmiştir. Stop solüsyonu eklendikten sonra mikropylet spektrofotometrede (Mindray MR-96A, Schenzen, China) 620 nm dalga boyunda okutulmuştur. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde t-testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Çalışma kapsamında Çiçekdağı ilçesinden örneklenen sığırların % 18,1'i *N. caninum* yönünden seropozitif bulunmuştur. Sığırlara ait epidemiyolojik veriler Tablo 1'de sunulmuştur. İncelenen sığırların 65'i üreme problemine (47 döl tutmama problemi, 18'i abort yapmış)

Tablo 1. Çiçekdağı yöresinden örneklenen sığırlara ait epidemiyolojik veriler

Epidemiyolojik veri	İncelenen sığır sayısı	Seropozitif sığır sayısı	%
Yaş*			
1 yaşlı	21	1	4,7
2 yaşlı	19	4	21
3 yaşlı	22	4	18,1
4 yaşlı	20	4	20
5 yaşlı	22	5	22,7
6 yaşlı	12	2	16,6
Toplam	116	21	18,1
İrk**			
Montofon	38	2	5,2
Holstein	47	14	29,7
Simental	31	5	16,1
Toplam	116	21	18,1
Üreme problemi***			
Üreme problemi olan	65	17	26,1
Döl tutmama	47	11	23,4
Atık yapan	18	6	33,3
Klinik olarak sağlıklı	51	4	7,8
Toplam	116	21	18,1
*P>0,05 **P=0,008 ***P=0,006			

sahip, 51'i ise klinik olarak sağlıklı görünümündedir. Neosporosis seroprevalansı döl tutmama problemi olan ineklerde % 23,4, abort yapanlarda ise % 33,3 oranında tespit edilmiş, klinikçe sağlıklı görünümde olan ineklerde ise bu oran %7,8 olmuştur. *N. caninum* seropozitifliği bakımından üreme problemi olan ineklerde klinik olarak sağlıklı görünümdeki ineklere göre anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p=0,006$). En düşük seropozitivite 1 ve 6 yaşlı sığırlarda (%4,7 ve %16,6) gözlenmiş olmakla birlikte örneklenen ineklerde yaşa bağlı bir artış görülmemiştir ($p>0,05$). En yüksek neosporosis seropozitifliği Holstein ırkı ineklerde görülmüştür (%29,7), bunu Simental (%16,1) ve Montofon ırkı (%5,2) takip etmiştir ($p=0,008$).

TARTIŞMA

Neosporosis dünya üzerinde sığır yetiştiricilerinin problemidir (15-18). Türkiye'de farklı coğrafi bölgelerde bulunan sığırlarda neosporosis seropozitivitesinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda parazit; Marmara Bölgesi'nde %5,1-10,87 (19-21), İç Anadolu Bölgesi'nde %5,5-13,96 (22-26), Doğu Anadolu Bölgesi'nde %2-8,19 (27-30), Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ise %7,5 oranında kaydedilmiştir (31). Bu çalışmada Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde yetiştirilen süt sığırı işletmelerinde ineklerde *N. caninum* seroprevalansı % 18,1 olarak tespit edilmiştir.

Türkiye İstatistik Kurumu 2015 yılı verilerine göre Kırşehir'de 141.475 baş sığır bulunmakta (http://www.tuik.gov.tr/HbGetir.do?id=21822&tb_id=6) ve civardaki illerin et ihtiyacının önemli bir kısmı, Kırşehir'den sağlanmaktadır. Kırşehir Yöresi'ndeki 1998 yılında yapılan retrospektif bir çalışmada sığırlarda neosporosis seropozitifliği %19,55 olarak bildirilmiştir (22). Yine Kırşehir yöresinde keçilerde *N. caninum* seropozitivitesi ise %2,43 oranında kaydedilmiştir (14). Bu çalışmada Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde yetiştirilen süt sığırı işletmelerinde ineklerde *N. caninum* seroprevalansının %18,1 olduğu saptanmıştır. Neosporosis ile ilgili Kars yöresi sığırlarından elde edilen bilgiler ışığında Akca et al. (13), *N. caninum*'un bu yöreye dışarıdan ithal edilen hayvanlarla sokulmuş olabileceğini ifade etmiştir. Bu çalışmada ise kan örnekleri alınan hayvanların Çiçekdağı yöresinde yetiştirildiği, başka bir bölgeden buraya getirilmediği hayvan sahiplerinden öğrenilmiştir. Konuya ilişkin daha önceki yayınlar (14, 22) da göz önüne alındığında parazitin Kırşehir yöresinde geçmişten bugüne devam ettiği ifade edilebilir.

Kırşehir Yöresi'nde sığır yetiştiriciliğinde enfeksiyöz hastalıklara ilişkin sorunlar zaman zaman yaşanmaktadır. Bunlar arasında özellikle üreme sistemini etkileyen ve takibinde fötüs kaybı ile sonuçlanan hastalıklar işletmelerde ekonomik olarak önemli kayıplara sebep olmaktadır. Çiftliklerin pek çoğunda bu parazite bağlı ekonomik kaybın yıllık %2-5 civarında olduğu, bazılarında ise % 20'ye kadar çıkabildiği bildirilmiştir (2). Bu oranlarla paralel olarak neosporosis kaynaklı yıllık bazda ekonomik kayıp bazı ülkelerde hesaplanmıştır (32). Bu kayıp Avustralya'da 100 milyon Avustralya doları, Kaliforniya'da 35 milyon Amerikan doları, İsviçre'de ise 9,7 milyon eurodur (32). Türkiye'de sığır yetiştiriciliğinde neosporosis'e bağlı kayıp hususunda henüz net bilgi yoktur. Sığır yetiştiriciliğinde hedef her bir düvenin ilk buzağısını iki yaşında doğurması ve takibinde her yıl yavru olmasıdır (33). İngiltere'de ineğin buzağılama aralığındaki bir günlük gecikmenin üreticiye ortalama 4,8 Amerikan Doları kayba mal olduğu bildirilmiştir (34). Türkiye'de ineğin iki buzağılama arasında geçen sürede bir günlük gecikmenin üreticiye maliyetinin 11 litre sütün bedeline eşdeğer olduğu

hesaplanmıştır (35). İki buzağılama arasındaki sürenin uzamasının yanı sıra özellikle döl tutmama ya da düşük yapma problemi ile genç hayvanların yetiştiricilikten çıkarılıp kesime gönderilmesi de ciddi ekonomik kayba sebep olmaktadır. Türkiye'de abort geçmişi olan sığır serumlarında yapılan retrospektif bir çalışmada neosporosis seropozitivitesi %35,07 olarak kaydedilmiştir (14). Kars yöresinde abort yapan sığırlarda *N. caninum* seropozitifliği %7,4 oranında bildirilmiştir (36). Türkiye'nin üç farklı ilinde abort yapan 234 süt ineğinin %6,83'ünde neosporosis seropozitifliği rapor edilmiştir (25). Bu çalışmada ise neosporosis seroprevalansı döl tutmama problemi olan ineklerde %23,4, abort yapanlarda ise %33,3 oranında belirlenmiştir.

SONUÇ

Çiçekdağı ilçesindeki sığırlarda neosporosisin yayılmasını önlemek için hem köpekler hem de sığırlar yönünden kontrol tedbirleri alınması gerekir. Köpeklerin sığır yemlerinin olduğu yerlere girişine engellenmesi, buzağılamayı ya da düşük yapmayı takiben plasenta ve atık materyalinin köpeklerin yemesine izin verilmemesi, ayrıca köpeklerin çiğ et ya da kesim artığı yemesinin önüne geçilmesi gerekmektedir. *N. caninum*'un sığırlar arasında vertikal yolla bulaştığı bilinmektedir. Bu sebeple bu parazit yönünden seropozitif olduğu belirlenen hayvanların damızlıktan çıkarılması önerilebilir.

Etik Komite Onayı: Etik komite onayı Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'dan alınmıştır (25.02.2015 tarih ve 15/17 sayı).

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - K. Y., R. D.; Tasarım - K. Y., R. D.; Denetleme - K. Y.; Kaynaklar - K. Y., S. G., N. S.; Malzemeler - K. Y., N. S.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - R. D., S. G., K. Y., N. S.; Analiz ve/veya Yorum - K. Y.; Literatür Taraması - K. Y.; Yazıyı Yazan - K. Y.; Eleştirel İnceleme - K. Y.

Teşekkür: Çalışmayı maddi olarak destekleyen Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne teşekkür ederiz (Proje no: 2015/60).

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2015/60).

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from Kırıkkale University, Local Ethics Committee of Animal Experiments (Date: 25.02.2015, no: 15/17).

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

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

Acknowledgement: We would like to thank Kırıkkale University Scientific Research Fund Unit (Project no: 2015/60).

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

Financial Disclosure: This work was financially supported by Kırıkkale University Scientific Research Fund Unit (Project no: 2015/60).

KAYNAKLAR

1. Hobson JC, Duffield TF, Kelton D, Lissemore K, Hietala SK, Leslie KE, et al. *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle. J Am Vet Med Assoc 2002; 221: 1160-4. [CrossRef]
2. Goodswen SJ, Kennedy PJ, Ellis JT. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. Infect Genet Evol 2013; 13: 133-50. [CrossRef]
3. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol 1998; 28: 1473-8. [CrossRef]
4. Gondim LFP, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. Coyotes (*Canis latris*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol 2004; 34: 159-61. [CrossRef]
5. Dubey JP, Jenkins MC, Rajendran C, Miska K, Ferreira LR, Martins J, et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. Vet Parasitol 2011; 181: 382-7. [CrossRef]
6. Schnieder T. Veterinärmedizinische Parasitologie. 6., vollst. überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey, Germany, 2006.
7. Ortega-Mora LM, Gottstein B, Conraths FJ, Buxton D. Protozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for Diagnosis and Control. CAB International, 2007.
8. Trees AJ, Williams DJ. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. Trends Parasitol 2005; 21: 558-61. [CrossRef]
9. Fioretti DP, Pasquai P, Diaferia M, Mangili V, Rosignoli L. *Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. J Vet Med B 2003; 50: 399-404. [CrossRef]
10. Guy CS, Williams DJL, Kelly DF, McGarry JW, Guy F, Bjorkman C, et al. *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. Vet Rec 2001; 149: 443-9. [CrossRef]
11. Batmaz H, Şentürk S, Aydın L. Clinical neosporosis in a dog in Turkey. Aust Vet Pract 2004; 34: 108-110.
12. Kul O, Kabakci N, Yıldız K, Ocal N, Kalender H, İlkme NA. *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey. Vet Parasitol 2009; 159: 69-72. [CrossRef]
13. Akça A, Gokce HI, Guy CS, McGarry JW, Williams DJ. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey. Res Vet Sci 2005; 78: 123-6. [CrossRef]
14. Pişkin FÇ, Ütük AE. Prevalence of *Neospora caninum* in cows with stillbirth and abortion. Etlik Vet Mikrobiyol Derg 2009; 20: 23-6.
15. Haddad JPA, Dohoo IR, Van Leewen JA. A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle--a Canadian perspective. Can Vet J 2005; 46: 230-43.
16. Lopez-Gatius F, Santolaria P, Almería S. *Neospora caninum* infection does not affect the fertility of dairy cows in herds with high incidence of *Neospora*-associated abortions. J Vet Med B 2005; 52: 51-3. [CrossRef]
17. Schares G, Peters M, Wurm R, Burwald A, Conraths FJ. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. Vet Parasitol 1998; 80: 87-98. [CrossRef]
18. Weston JF, Williamson NB, Pomroy WE. Associations between pregnancy outcome and serological response to *Neospora caninum* among a group of dairy heifers. NZVJ 2005; 53: 142-8.
19. Öncel T, Bıyıkoğlu G. Sakarya yöresi süt sığırlarında Neosporosis caninum. Uludağ Üniv Vet Fak Derg 2003; 22: 87-89.
20. Bıyıkoglu G, Oncel T, Bağcı O. Serological survey of *Neospora caninum* infection. Indian Vet J 2005; 82: 345-6.
21. Aktaş M, Şaki CE, Altay K, Şimşek S, Ütük AE, Köroğlu E, Dumanlı N. Survey of *Neospora caninum* in cattle in some provinces in the Eastern Anatolian region. Türkiye Parazit Derg 2005; 29: 22-5.
22. Vural G, Aksoy E, Bozkır M, Küçükayan U, Ertürk A. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle herds in Central Anatolia, Turkey. Veterinarsky Arhiv 2006; 76: 343-9.
23. Kurtdede A, Küplülü S, Ural K, Cıngı CC, Güzel M, Karakurum MC, et al. Serodiagnosis of bovine neosporosis with immunocomb assay in Ankara region. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2006; 53: 207-9.
24. İça A, Yıldırım A, Düzlü O, İnci A. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in the region of Kayseri. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 92-4.
25. Yıldız K, Kul O, Babur C, Kilic S, Gazyagci AN, Celebi B, et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: special emphasis to serologic coexistence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*. Vet Parasitol 2009; 164: 306-10. [CrossRef]
26. Yıldız K, Gökpinar S. S Investigation of *Neospora caninum* tissue cysts in cattle. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2017; 64: 45-9.
27. Aktaş F, Vural G, Sezen İY. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle. Indian Vet J 2007; 84: 419-20.
28. Şimşek S, Ütük AE, Köroğlu E, Dumanlı N, Rişvanlı A. Seroprevalence of *Neospora caninum* in repeat breeder dairy cows in Turkey. Archiv Tierzucht 2008; 51: 143-8.
29. Alan M, Çetin Y, Şendağ S, Akkan HA, Karaca M. Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in cows in Van province. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2011; 17: 767-71.
30. Mor N, Akça A. Epidemiological Studies upon *Neospora caninum* in Cattle and Dogs in the Province of Kars, Turkey: A cross-sectional Study. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2012; 18: A193-9.
31. Sevgili M, Altas MG, Keskin O. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in the province of Şanlıurfa. Turk J Vet Anim Sci 2005; 29: 127-30.
32. Reichel MP, McAllister MM, Pomroy WE, Campero C, Ortega-Mora LM, Ellis JT. Control options for *Neospora caninum*--is there anything new or are we going backwards? Parasitology 2014; 141: 1455-70. [CrossRef]
33. Kaygısız F, Elmaz Ö, Ak M. Effects of Herd Fertility Losses on the Income of Enterprises. J Fac Vet Med Univ Erciyes 2008; 5: 5-10.
34. Esslemont RJ, Spincer I. The incidence ve costs of diseases in dairy herds. Daisy Report- Dairy Information System, University of Reading, No 2, 58, 1993.
35. Yalçın C, Cevger Y, Türkyılmaz K, Uysal G. Estimation of Milk Yield Losses From Subclinical Mastitis in Dairy Cows. Turk J Vet Anim Sci 2000; 24: 599-604.
36. Kacar C, Gokce HI, Akca A, Gungor O, Kaya S. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cows with abortion history and in dogs sharing the same area in the Kars Region, Turkey. Revue Med Vet 2012; 163: 343-7.

Aydın'da Yakalanan *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) Örneklerinde Saptanan Parazit Bir Akar Türü: *Eustigmaeus johnstoni* Zhang & Gerson (Acari: Stigmaeidae)

Eustigmaeus johnstoni Zhang & Gerson (Acari: Stigmaeidae) a Parasitic Mite Species Detected in *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) Specimens Collected from Aydın, Turkey

Metin Pekağırbaş¹, Mehmet Karakuş², Suha Kenan Arserim³, Salih Doğan⁴, Hasan Eren¹, Seray Töz², Yusuf Özbel²

¹Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Manisa, Türkiye

⁴Erzincan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzincan, Türkiye

Cite this article as: Pekağırbaş M, Karakuş M, Arserim SK, Doğan S, Eren H, Töz S, Özbel Y. *Eustigmaeus johnstoni* Zhang & Gerson (Acari: Stigmaeidae) a Parasitic Mite Species Detected in *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) Specimens Collected from Aydın, Turkey. *Türkiye Parazit Derg* 2017; 41: 139-42.

ÖZ

Amaç: Çalışmada, Aydın ilinde doğadan toplanan *Phlebotomus papatasi* kum sineği örneklerinde saptanan parazitik *Eustigmaeus johnstoni* Zhang ve Gerson akarının varlığının bildirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Aydın ili, Nazilli ilçesinde CDC ışıklı tuzaklar yardımıyla doğadan toplanan kum sinekleri lokalitelerine göre ayrılmıştır. Baş ve genital kısımları diseke edilerek stereo ve ışık mikroskobu altında incelenmiş, ayrıca mide içerikleri de olası parazitlerin varlığı yönünden kontrol edilmiştir. Kum sinekleri üzerinde karşılaşılan akarların literatüre dayalı şekilde tür teşhisleri yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmada 360 adet dişi, 378 adet erkek kum sineği örneği doğadan yakalanmış ve diseke edilmiştir. Diseksiyon ve preparasyonlar sırasında bir *Phlebotomus papatasi* (*P. papatasi*) örneğinin abdominal plevra bölgesinde *Eustigmaeus johnstoni* Zhang ve Gerson (*E. johnstoni*) türüne ait iki adet dişi parazitik akar bireyi tespit edilmiştir.

Sonuç: Türkiye'de *P. papatasi* üzerinde *E. johnstoni* türü parazitik akarın varlığını gösteren ilk bulgudur. Parazitik akarlar ve kum sinekleri arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar bu ilişkinin rastlantısal olmadığını göstermektedir. İlişkinin daha detaylı bilinmesi ve kum sinekleri üzerindeki etkilerinin kapsamlı bir şekilde gösterilmesi için konu hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kum sineği, *Phlebotomus papatasi*, Akar, *Eustigmaeus johnstoni*, Türkiye

Geliş Tarihi: 22.02.2017

Kabul Tarihi: 26.06.2017

ABSTRACT

Objective: We aimed to report the presence of the parasitic mite *Eustigmaeus johnstoni* Zhang & Gerson (*E. johnstoni*) on the sand fly species *Phlebotomus papatasi* (*P. papatasi*) collected in Aydın province, Turkey.

Methods: Sand flies were collected from nature by CDC light traps in Nazilli town in Aydın province and were separated according to collection localities. Head and genital areas were cut and mounted for species identification, and midgut contents were checked for the possible presence of *Leishmania* parasites under a light microscope. Mites detected in sand flies were diagnosed on the species level based on the literature.

Results: A total of 360 female and 378 male sand flies were caught. During dissection and preparation, two female *E. johnstoni* parasitic mite specimens belonging to the genus *Eustigmaeus* were detected on the abdominal pleura of *P. papatasi* specimens.

Conclusion: To our knowledge, this is the first study to report the presence *E. johnstoni* on *P. papatasi* in Turkey. Previous studies showing the relationship between parasitic mites and sand flies have indicated that this relationship is not accidental. More studies are needed to understand this relationship for obtaining more detailed information.

Keywords: Sand flies, *Phlebotomus papatasi*, Mites, *Eustigmaeus johnstoni*, Turkey

Received: 22.02.2017

Accepted: 26.06.2017

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Metin Pekağırbaş, E.mail: metin.pekagirbas@adu.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2017.5248

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

Kum sinekleri (Diptera: Psychodidae), leishmaniasise neden olan *Leishmania* cinsi protozoon parazitlere, tatarcık hummasına neden olan Filavivirus ailesinden çeşitli virüslere ve bartonellosise sebep olan *Bartonella baciliformis* gibi mikroorganizmalara biyolojik vektörlük yapmalarından dolayı halk sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir (1).

Kum sineklerinin bakteri, virüs veya protozoon gibi patojenlerin dışında mantar, nematod ve akar gibi iç-dış parazitlerle de ilişkide olduğu bildirilmektedir. Bunların bir kısmı kum sinekleri üzerinde öldürücü veya yaşam gücünü ya da üreme kapasitesini azaltıcı etki göstermektedir. Kum sinekleri yaşamlarının büyük bir kısmını mağara, hayvan barınakları, duvar çatlak ve yarıkları, kemircilerin yuvaları gibi karanlık ve nemli alanlarda geçirmektedirler. Bahsi geçen ortamların birçok entomopatojenin gelişmesi için elverişli olması nedeniyle kum sineklerinin biyolojik kontrolü için uygun olduğu düşünülmektedir (2).

Phlebotominae kum sinekleri ve bunların dış paraziti olan akarlar arasındaki ilişkiye dair bilgiler çok azdır. Bu alanda yapılan ayrıntılı bir çalışmada 39 farklı *Phlebotomus* türü üzerinde parazitlenen stigmatidler de (Acarı: Stigmatidae) dahil 14 farklı akar familyasının bulunduğu kaydedilmiştir (3). Stigmatidae ailesine bağlı akarların, bitki patojeni ajanların biyolojik kontrolünde sıklıkla kullanıldığı ve çoğunlukla yosun, liken ve çimen gibi çeşitli döküntülerde avcılık yaparak yaşamlarını serbest olarak sürdürdükleri bildirilmiştir. Bu aileye ait bazı akarların sadece kum sineklerinde parazitlendiği ve bunun sonucu olarak, kum sineği larvalarının ve erişkinlerinin yaşam sürelerinin olumsuz şekilde etkilendiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (4-8).

Dünyada 128 türle temsil edilen *Eustigmaeus* (Berlese, 1910), Stigmatidae ailesinin en büyük cinslerinden biridir (9-12). Ülkemizde şimdiye kadar bu cinsin 25 türü kaydedilmiştir (9, 10,13). *Eustigmaeus* cinsine ait beş türün şimdiye kadar böcekler üzerinde parazit olarak saptandığı, *Lutzomyia*, *Phlebotomus* ve *Sergentomyia* cinslerine ait sinekler dışında başka konakçıda parazitlenmediği bildirilmiştir (3, 14, 15).

Visseral ve kanin leishmaniasis açısından endemik bölge olan Aydın ilinde doğadan toplanan kum sineklerinde, *Leishmania* parazitlerinin direkt yöntem ile varlığının gösterilmesi amacıyla yürütülen bir çalışma esnasında gözlenen parazitik akarlar üzerine bu çalışma hazırlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışmanın esas materyalini *Phlebotomus papatasi* (*P. papatasi*) türü kum sinekleri ve bunlar üzerinden izole edilen *Eustigmaeus johnstoni* (*E. johnstoni*) türüne ait akar örnekleri oluşturmaktadır. Bu çalışma için etik komite onayına gerek duyulmamıştır.

Kum Sineklerinin Toplanması ve incelenmesi: Aydın ilinin Nazilli ilçesinde yürütülen çalışma kapsamında kum sineklerinin doğadan toplanması için çeşitli lokalitelere CDC (John W. Hock Co., Gainesville, FL, USA) ışıklı tuzaklar kurulmuştur. Işıklı tuzaklar akşamüzeri 18:00-20:00 saatleri arasında kurulmuş ve ertesi sabah 07:00-09:30 saatleri arasında toplanmıştır. Canlı

yakalanan kum sinekleri, tuzaklardan ağız aspiratörleri yardımıyla alınarak buldukları lokalitelere göre ayrı ayrı dinlenme kaplarına aktarılmıştır. Yürütülen çalışma prosedürleri gereği yakalanan kum sineklerinin baş ve genital bölgeleri tür tayinlerinin yapılması için ayrılmıştır. Dişi kum sineklerinin mide diseksiyonu stereo mikroskop (Olympus Co., Japan) altında yapılmıştır.

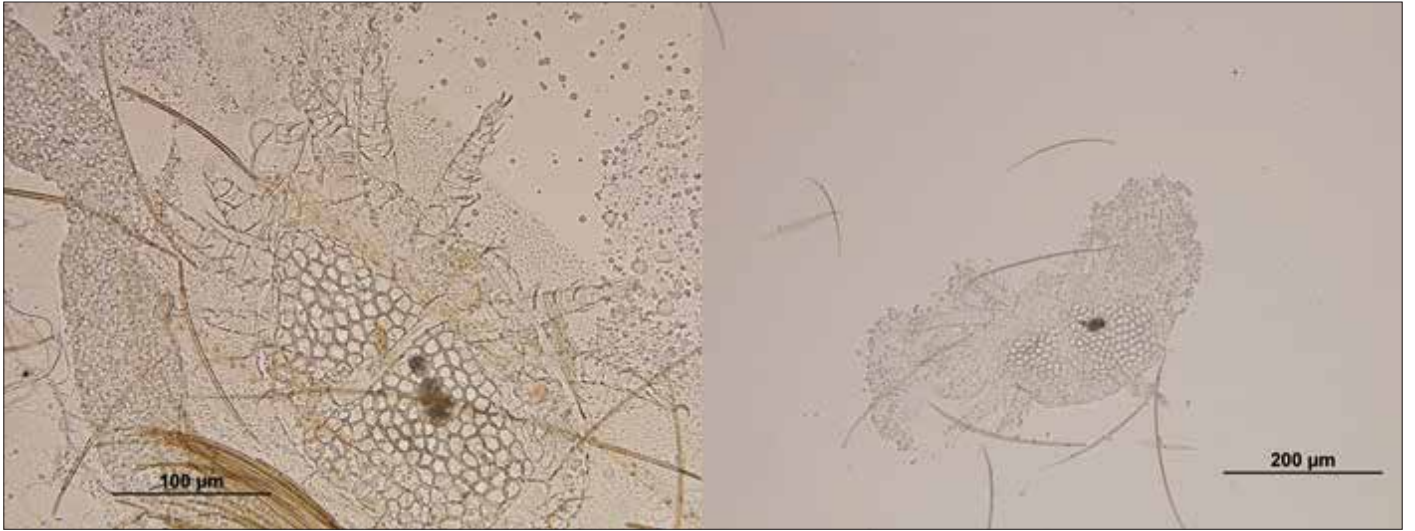
Akar Örneklerinin İncelenmesi: Saptanan akar örnekleri, vücudun plaklanma durumu, plakların deseni, sırt kıllarının sayısı ve şekli, göz taşıyıp taşımadığı, kallositlerin durumu, koksisternal plaklarının şekli, aggenital kıl sayısı ve bacaklardaki kıl donanımı gibi taksonomik karakterler açısından mikroskop altında incelemek teşhis işlemleri gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Çalışma kapsamında toplam 20 tane ışık tuzağı kümesi ve ahırların iç ve dış kısımlarına yerleştirilmiş ve 360 adet dişi, 378 adet erkek kum sineği toplanmıştır. Tuzakların yerleştirildiği ahır ve kümesler genellikle beton veya tuğladan inşa edilmiştir. Sinek tuzağı kurulan barınaklarda inek, koyun, keçi ve tavukların bulunduğu kaydedilmiştir. Ayrıca genellikle tüm evlerde köpek bulunduğu da görülmüştür. Örneklerin diseksiyon ve preparasyonu sırasında *Phlebotomus papatasi* (Şekil 1) olduğu saptanan dişi bir kum sineğinde 2 adet dişi akarın varlığına rastlanmış, literatüre dayalı gerçekleştirilen teşhis işlemlerinde örneklerin *Eustigmaeus johnstoni* olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 1. Akar ile enfeste halde bulunan dişi *Phlebotomus papatasi*



şekil 2. *Eustigmaeus johnstoni* (dişi)

Eustigmaeus johnstoni Zhang & Gerson

Vücutlarının oval yapıda olduğu gözlenmiştir. Üstten propodozoma, histerozoma ve suranal plakları ayırt edilebilmektedir. Plaklarının üzeri çokgensi şekillerden oluşan çukurluklu desene sahip olduğu ve göz bulunmadığı kaydedilmiştir. Propodozoma plağı 4 çift (*vi*, *ve*, *sci*, *sce*), histerozoma plağı 6 çift (*c*₁, *d*₁, *d*₂, *e*₁, *e*₂, *f*₁) ve sural plak 2 çift kıl (*h*_{1,2}) taşıdığı ve kılların dallı yapıda olduğu gözlenmiştir. Humeral plakların sırt plaklarıyla benzer desenli olduğu ve taşıdığı *c*₂ kılları sırt kıllarıyla benzer yapıda olduğu anlaşılmaktadır. Humeral bölgede kallosit gözlenmiştir. Gnatozoma ventralde 2 çift oral (*or*_{1,2}), 2 çift de subkapitum kıl (*m*, *n*) taşıdığı, koksisternal plaklarının bölündüğu ve dallı yapıdaki 1*a*, 3*a* ve 4*a* kıllarının bu plaklar üzerinde yer aldığı gözlenmiştir. Aggenital ve anogenital plaklar 3'er çift kıl (*ag*_{1,3} ve *ps*_{1,3}) taşımaktadır. Bacaklar çift tırnaklı ve II. bacak femuru 5 adet kıl taşımaktadır. I. ve II. bacağın genusunda *k* solenidiyumu bulunmektedir. IV. bacağın tarsusunda *w* solenidiyumu gözlenmemiştir.

İncelenen akar örnekleri: 2♀ *Eustigmaeus johnstoni*, *Phlebotomus papatasi*'nin abdominal plevrası'ndan (şekil 2).

Konakçı bilgileri. *Phlebotomus bergeroti*, *P. longicuspis*, *P. papatasi*, *P. sergenti*, *Sergentomyia africana*, *S. dreyfussi*, *S. magna*, *Sergentomyia* sp. (1, 11, 14-16).

Yayılışı: Hindistan, İnan, İspanya, İsrail, Kıbrıs, Mısır, Pakistan, Suudi Arabistan, Tunus, Türkiye ve Yemen (1, 2, 9, 11, 13-17).

TARTIşMA

Kum sinekleri medikal önemi olan virüslere, bakterilere ve leishmaniasise sebep olan *Leishmania* protozoonlarına vektörlük yaparlar. Dünya üzerinde 12 milyondan fazla insanın kum sineklerinin taşıdığı hastalıklar ile enfekte olduğu ve her yıl 2 milyon insanın da etkilendiği bildirilmektedir (18). Vektör kaynaklı hastalıkların kontrolü, biyokolojik ve kimyasal yöntemleri içeren etkili entegre vektör kontrol programları ile daha sürdürülebilir hale gelmiştir (19). Vektör kum sineklerinin gelişmesini sıcaklık, fotoperiyot, nem gibi birçok faktör etkilemektedir (20). Bunların ya-

nında entomopatojen parazitlerin de kum sineklerinin gelişim ve yaşama sürelerini etkilediği dolayısıyla vektör kontrol programları için alternatif olabileceği düşünölmektedir. Kum sinekleri üzerinde varlığı bildirilen parazitik akarlar da kum sineklerinin yaşam sürelerini azaltmaktadır (15).

Akarlar ile kum sinekleri arasındaki ilişki tam olarak açıklanamamıştır. İkili arasında bulunan ilişkinin foretik ya da parazitik olduğuna dair farklı görüşler bulunmaktadır. Adı geöen akarların doğada çiftleşme ve gelişmelerini, kum sineklerinin dinlenme ve üreme alanlarında gerçekleştirdiği varsayılmaktadır. Konu ile ilgili, kum sineklerinin üreme ve dinlenme bölgelerinde gerçekleştirilecek daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. *Phlebotomus papatasi* gibi domestik kum sineklerinde parazit akarların bulunması, memeli hayvanların konakladıkları alanlarda stigmaeid akarlarla rastlanılabileceğini göstermektedir (2, 3).

Eustigmaeus cinsinin dünya üzerindeki dağılımı ile ilgili çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiş ve günümüze kadar Phlebotominae kum sinekleri üzerinde parazitlenen *Eustigmaeus dyemkoumai* (21), *E. gamma*, *E. gorgosi*, *E. parasitica* (5) ve *E. johnstoni* (14) türlerinin varlığı bildirilmiştir. İnan'da gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, *Phlebotomus papatasi* üzerinde parazitlenen *E. johnstoni* türünün varlığı bildirilmiştir (15). *Eustigmaeus johnstoni*'nin dağılışı ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde Yemen, Filistin, Suudi Arabistan, Kıbrıs, Tunus, Pakistan, Hindistan, İspanya, İsrail ve Mısır'dan bildirildiği ve geniş bir dağılıma sahip olduğu gözlenmektedir (2, 9, 11, 13-17). Türkiye'de daha önce Özbel ve ark. (1) tarafından şanlıurfa'da yapılan bir çalışmada *Phlebotomus sergenti* üzerinde parazitlenen 15 akar bireyinin tamamının *E. johnstoni* türüne ait olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada *P. papatasi* üzerinde akara rastlanılmaması nedeniyle parazit akarlarla ilgili daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği vurgulanmaktadır. Dünyanın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda bildirilen enfeste kum sineklerinin vücutlarında oluşan yara izleri, *Eustigmaeus* ve kum sinekleri arasındaki ilişkinin rastlantısal olmadığına dair kanıt olarak gösterilmektedir (3, 14).

SONUÇ

Kum sineği ve akar arasındaki ilişkiye dair farklı ülkelerden yapılan çalışmalar parazitliğin rastlantısal olmadığını göstermektedir. *E. johnstoni* enfestasyonlarının kesin biyolojisinin yeterli düzeyde bilinmemesi, türe ait erkek birey ve ergin olmayan bireylerin kum sineklerinde varlığının bildirilmemesi nedeniyle ikili arasında bulunan ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için konu hakkında daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu çalışma, *E. johnstoni*'nin *Phlebotomus papatasi* üzerinde parazitlendiğini gösteren Türkiye'deki ilk çalışma özelliğini taşımaktadır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayına gerek yoktur.

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

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

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, 114S999 no'lu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: Not required in this study.

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - Y.Ö., S.T., M.K., M.P. Design M.P., M.K., S.K.A., S.D., Y.Ö.; Supervision - M.P., M.K., S.K.A., S.T., S.D., Y.Ö., H.E.; Funding - M.P., M.K., S.K.A., S.T., Y.Ö.; Materials - M.P., M.K., S.K.A., S.T., Y.Ö.; Data Collection and/or Processing - M.P., M.K., S.K.A., S.T., Y.Ö.; Analysis and/or Interpretation - M.P., M.K., S.D., S.T., Y.Ö.; Literature Review M.P., M.K., S.D.; Writing - M.P., M.K., S.D., Y.Ö., H.E., S.T., S.K.A.; Critical Review - M.P., M.K., S.K.A., S.T., S.D., H.E., Y.Ö.;

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

Financial Disclosure: This study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK)(project no. 114S999).

KAYNAKLAR

- Özbel Y, Akkafa F, Özensoy S, Balcıoğlu İC, Ulukanlıgil M, Alkan MZ. *Phlebotomus sergenti* üzerinde parazitlenen akarlar. Türkiye Parazit Derg 1999; 23: 153-155.
- Dinesh DS, Kumar V, Kesari S, Das P. Mites and spiders act as biological control agent to sand flies. Asian Pac J Trop Dis 2014; 4: 463-6. [CrossRef]
- Lewis DJ, Macfarlane D. The mites of Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). Parasitological Topics 1982; 1: 177-83.
- Chaudhri WM. New mites of the genus *Ledermuelleria*. Acarologia 1965; 7: 467-86.
- Gerson U. Mites of the genus *Ledermuelleria* (Prostigmata, Stigmaeidae) associated with mosses in Canada. Acarologia 1972; 13: 319-343.
- Gerson U, Smiley RL. Acarine biocontrol agents, an illustrated key and manual. Chapman and Hall 1990; p 174, New York.
- Faraji F, Ueckermann EA. A new species of *Mediolata* Canestrini from Spain (Acari: Stigmaeidae), re-description of *M. chanti* and a key to the known species of *Mediolata*. Zootaxa 2006; 1151: 27-39.
- Martinez-Sanchez A, Camacho AD, Quintero-Martinez MT, Alexandre-Aguilar R. Effect of ectoparasitic *Pimeliaphilus plumifer* mites (Acari: Pterygosomatidae) on *Meccus pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) and several other Chagas' disease vectors under laboratory conditions. Exp Appl Acarol 2007; 42: 139-49. [CrossRef]
- Doğan S. Checklist of raphignathoid mites (Acari: Raphignathoidea) of Turkey. Zootaxa 2007; 1454: 1-26.
- Dönel G, Doğan S. The stigmaeid mites (Acari: Stigmaeidae) of Kelkit Valley (Turkey). Zootaxa 2011; 2942: 1-56.
- Fan Q-H, Flechtmann CHW, De Moraes DJ. Annotated catalogue of Stigmaeidae (Acari: Prostigmata) with a pictorial key to genera. Zootaxa 2016; 4176: 1-199. [CrossRef]
- Stathakis TI, Kapaxidi EV, Papadoulis GTh. The genus *Eustigmaeus* Berlese (Acari: Stigmaeidae) from Greece. Zootaxa 2016; 4191: 1-102. [CrossRef]
- Erman O, Özkan M, Ayyıldız N, Doğan S. Checklist of the mites (Arachnida: Acari) of Turkey. Zootaxa 2007; 1532: 1-21.
- Zhang Z-Q, Gerson U. *Eustigmaeus johnstoni*, new species (Acari: Stigmaeidae), parasitic on phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). Tijdschrift voor Entomologie 1995; 138: 297-301.
- Badakhshan M, Sadraei J, Moin-Vaziri V. The first report of *Eustigmaeus johnstoni* (Acari: Stigmaeidae) parasitic mite of Phlebotominae sand flies from Iran. Iran J Arthropod Borne Dis 2013; 7: 94-8.
- Shehata M, Baker A. Mites infesting phlebotomine sandflies in southern Sinai, Egypt. Med Vet Entomol 1996; 10: 193-6. [CrossRef]
- Hajizadeh J, Khanjani M, Faraji F, Ueckermann EA. Stigmaeid mites of Guilan Province of Iran with description of a new species and a checklist for Iranian stigmaeid mites (Prostigmata: Stigmaeidae). Int J Acarology 2013; 39: 571-9. [CrossRef]
- WHO World Health Organization. Leishmaniasis. Available from: (http://www.who.int/leishmaniasis/en/).
- WHO World Health Organization. WHO Expert Committee, Vector Ecology, Technical Report Series 1972; No. 501, 41 pp.
- Ready PD, Croset H. Diapause and laboratory breeding of *Phlebotomus perniciosus* Newstead and *Phlebotomus ariasi* Tonnoir (Diptera: Psychodidae) from southern France. Bull Entomol Res 1980; 70: 511-23. [CrossRef]
- Abonnenc, E. Notes sur les acariens parasites des phlébotomes. Cahiers Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre Mer série. Entomol Med Parasit 1970; 8: 89-94.

Akne Vulgaris ve Rozase Hastalarında Deri Sebum, pH ve Nem Değerlerinin Demodex Enfestasyonuna Etkisi

The Effect of Skin Sebum, pH, and Moisture on *Demodex* Infestation in Acne Vulgaris and Rosacea Patients

Nergiz Turan¹, Yelda Kapıcıoğlu², Gülbahar Saraç²

¹Özel Melid Park Hastanesi, Malatya, Türkiye

²Inönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Malatya, Türkiye

Cite this article as: Turan N, Kapıcıoğlu Y, Saraç G. The Effect of Skin Sebum, pH, and Moisture on Demodex Infestation in Acne Vulgaris and Rosacea Patients. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2017; 41: 143-7.

ÖZ

Amaç: Akne vulgaris pilosebace üniten inflamatuvar bir hastalıdır. Rozase ise özellikle yüzü etkileyen, inflamatuvar bir deri hastalıdır. Bu çalışmada, A. vulgaris ve rozase hastalarında sebum, ph ve nem düzeylerinin *Demodex* spp gelişimine etkisinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmaya klinik olarak A. vulgaris ve rozase tanısı almış her gruptan 30 hasta kontrol grubu olarak da 60 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi.

Bulgular: Akne vulgarisli hastalarda her bir bölgede *Demodex* akarı 5/cm den fazla olanlarda 5/cm den az olanlarla karşılaştığımızda derinin yağlı asidik, kuru veya çok kuru olduğu saptandı. ancak nem değerinde anlamlı bir farklılık yoktu. Rozase hastalarında ise alın, sağ yanak ve burun bölgelerinin her birinde 5'den fazla *Demodex* olanlarda 5 ten az olanlara göre deri daha asidik ve kuru saptanırken yağlılık düzeyinde fark bulunmadı.

Sonuç: Akne vulgaris hastalarında derinin yağlı, asidik, ve kuru veya çok kuru olması, rozase hastalarında ise derinin normal yağ düzeyinde, asidik ve çok kuru olması *Demodex* spp gelişimini kolaylaştırıcı bir faktör olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: *Demodex*, Akne vulgaris, rozase, sebum

Geliş Tarihi: 20.09.2016

Kabul Tarihi: 31.07.2017

ABSTRACT

Objective: Acne vulgaris is an inflammatory disease involving the pilosebaceous unit. Rosacea is a chronic inflammatory skin disease that affects the face in particular. This study aimed to determine if skin sebum, pH, and moisture affect the number of *Demodex* spp. in acne vulgaris and rosacea patients.

Methods: This study focused on 30 patients each with acne vulgaris and rosacea. As a control group, 60 healthy individuals were included.

Results: In acne vulgaris patients, when compared to those with *Demodex* mite more than 5 /cm² in each area, less than 5/cm² were found to be oily, acidic, dry or very dry. However, there was no significant difference in moisture value. In patients with rosacea, the skin was acidic and dry in patients those with more than 5/cm² *Demodex* mites when compared to those with demodex mite less than 5 /cm² in patients in each of the right cheek and nose areas. There was no difference in skin oil level.

Conclusion: The oily, acidic, dry, and very dry skin of the acne vulgaris patients and the oily, acidic, and very dry skin of the rosacea patients are factors facilitating the development of *Demodex* spp.

Keywords: *Demodex*, *Acne vulgaris*, *rosacea*, *sebum*

Received: 20.09.2016

Accepted: 31.07.2017

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Gülbahar Saraç, E.mail: gulbaharsarac@gmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5068

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

Demodex spp, kıl follikülleri ve sebace glandlar içerisinde yaşayan asemptomatik saprofitik ekto parazitlerdir (1, 2). İnsanlarda *Demodex folliculorum* (DF) ve *Demodex brevis* (DB) olmak üzere sadece iki *Demodex* türü saptanmıştır (1, 3). DF, DB'den daha yaygındır ve çoğunlukla kıl foliküllerinin infundibular kısmına yerleşirken; DB daha derin olan sebace gland ve duktuslar içerisine yerleşir (1, 4).

Demodex folliculorum, insanlarda en yaygın bulunan ekto parazittir (5, 6). Deride sebace gland sayısının ve sebum yapımının belirgin olduğu yüzde en yüksek sayıda bulunur, diğer seboreik alanlarda nadir veya yoktur⁶. Sağlıklı deride enfestasyon oranı yaşla beraber artar ve orta yaş üzerindeki erişkinlerde prevalansı yaklaşık %100 olarak görülür (2, 3). Akne vulgaris, ergenlik döneminde başlayan, foliküler kanalda tıkanmaya bağlı olarak gelişen, yüz başta olmak üzere seboreik bölgelerde; komedon, papül, püstül ve nodüller gibi inflamatuvar lezyonlar ile kendini gösteren bir hastalıktır (7). Rozase; tekrarlayan flaşing atakları, daha sonrasında da sabit eritem, telenjektazi, papül ve püstüllerle karakterize, alevlenme ve iyileşme dönemleriyle seyreden kronik inflamatuvar fasial bir dermatozdur. Etyopatogeneze primere olarak vasküler aşırı aktivite ve fasial duyarlılık sorumlu tutulmaktadır. Bunun yanısıra, geçici eritemi tetikleyen emosyonel, hormonal, metabolik, nutrisyonel ve fiziksel faktörler de suçlanmaktadır. Ayrıca *Helicobakter pylori* (HP) enfeksiyonu gibi çeşitli sistemik hastalıkların kalıcı eritem ve telenjektazi oluşumuna; immün sistem anormalliği, artmış bozuk katelidinin üretimi ve DF enfestasyonunun inflamatuvar lezyonların gelişimine katkıları üzerinde de durulmaktadır (8).

Bu çalışmada, akne vulgaris ve rozase hastalarında deri sebum, pH ve nem değerlerinin DF enfestasyonu üzerine etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Hasta Grupları

Çalışmadan önce yerel etik kurul onayı alındı. Çalışmaya İnönü Üniversitesi Dermatoloji kliniğine başvuran hastalar alındı. 12 yaş ve üzeri 30 akne vulgaris, 30 rozase hastası alındı. Kontrol grubu ise dermatolojik muayenesinde akne vulgaris ve rozase lezyonları saptanmayan, yaş ve cinsiyetleri hasta grupları ile uyumlu 60 bireyden oluştu. Çalışmaya katılanların son 24 saat içerisinde yüzüne nemlendirici kremleri kullanmamış olması, ölçüm yapıldığı gün yüzünü sadece bir kez su ile yıkamış olması ve temizleyici ürün kullanmamış olması çalışmaya dahil olma kriterleri olarak belirlendi. Son 1 aydır akne vulgaris ve rozase için topikal ve sistemik tedavi alanlar, herhangi bir nedenle sistemik ilaç kullananlar, yüzde başka bir dermatolojik hastalığı olanlar (-herpes enfeksiyonu, impedigo, perioral dermatit, seboreik dermatit, lupus eritematosus gibi), gebe ve laktasyon döneminde olan olgular çalışmaya dahil edilmedi. Hastaların demografik özellikleri, *Demodex spp* sayısı, sebum-pH ve nem değerleri kaydedildi.

Derinin sebum, nem, pH değerlerinin ölçümü

Derinin sebum, pH, nem değerlerinin ölçümünde Sebumeter SM 810, Corneometer CM 825, Skin-pH-meter pH 900 (Courage+K-hazaka Electronic GmbH, Cologne, Germany) kombine ünitesi ve bununla bağlantılı bir bilgisayar kullanıldı. Ölçüm bu kombine üniteye bağlı üç farklı probun sırasıyla alın, sağ yanak, burun ve çene bölgelerine sebum için 30 saniye, pH için 3 saniye ve

nem için 1-2 saniye teması sağlanarak yapıldı. Bu kombine ünite-de, deri tipini belirleyen referans değerler yüzün bölgelerine ve cinsiyete göre farklılık göstermesi nedeni ile Sebumeter SM 810 kullanımında elde edilen µg sebum/cm² deri değeri; alın, burun ve çene bölgesinde 100'den küçük ise deri tipi kuru, 100-220 arasında ise normal, 220 ve üstünde ise yağlı olarak belirtilmiştir. Yanaklarda ise deri tipi, sebum değeri 70'den küçük ise kuru, 70-180 arasında ise normal, 180'den büyük ise yağlı olarak bildirilmiştir. Aynı şekilde Corneometer CM 825'de ölçülen değerler; bakılan tüm bölgeler için 50'nin altında ise çok kuru, 50-60 arasında ise kuru ve 60'ın üzerinde ise yeterli nem olarak değerlendirilmiştir. Skin-pH-meter pH 900'de ölçülen değerlerde ise kadınlar için; 3,5-4,3 arası asidik, 4,5-5,5 arası normal ve 5,7-6,5 arası alkali olarak belirtilmiştir. Erkeklerde ise 3,5-4,0 arası asidik, 4,3-5,5 arası normal ve 5,7-6,5 arası da alkali olarak değerlendirilmiştir.

Olguların yüz derisinin sebum, pH ve nemi; alın, sağ yanak, burun ve çene olmak üzere 4 farklı alanda tariflenen kombine ünite ile oda ısısında değerlendirildi.

Demodex varlığının araştırılması

DF yoğunluğu, yüzey alanı başına düşen parazit sayısı olarak kabul edildi. Buna göre 1 cm² alanda DF≥5 saptanması enfestasyon olarak değerlendirildi. Alın, sağ yanak, burun, çene olmak üzere toplam 4 standart bölge seçildi. Tüm hastalar ve kontrollerde DF yoğunluğuna bakıldı. DF, Parazitoloji Ünitesinde, standart yüzeyel deri biyopsisi (SYDB) olarak adlandırılan noninvaziv yöntem kullanılarak arandı. SYDB, siyanoakrilat yapıştırıcı bulunan bir mikroskop lamının lezyon üzerine bastırılması ve yapışkan uygulanmış lamın deride 1 dakika tutulup kaldırılmasından ibarettir.

İstatistiksel Analiz

Araştırma verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for Windows 13,0 version (SPSS Inc.,Chicago, USA) paket programı kullanılmıştır. Ölçülebilir değişkenlerin tanımlanmasında Aritmetik Ortalama (X) ± standart sapma (SD), kategorik verilerin tanımlanmasında ise sayı ve yüzde kullanıldı. Ölçülebilir değişkenlerin bazılarında normal dağılım göstermediği (p<0,05), bazılarında ise normal dağılım gösterdiği (p>0,05) Shapiro Wilk normallik testi ile saptandı. Bu nedenle, grupların karşılaştırılmasında unpaired t testi ve Mann-Whitney U testi, kategorik değişkenlerin değerlendirilmesinde ise Pearson Ki-Kare ve Fisher'in Kesin Ki-Kare analizi kullanıldı. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir, tüm olgular çalışmaya alındı.

BULGULAR

Hastalara ait bulgular

Çalışmamıza; 30 akne vulgaris, 30 rozaseali hasta, ayrıca yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 60 kişilik kontrol grubu alındı. Akne vulgaris hastaları, 15 erkek, 15 kadın, yaşları 15-28 arasında olup, yaş ortalaması 20,4±4,0 olarak saptandı. Kontrol grubunun ise; 15 erkek, 15 kadın olup yaş ortalaması 23,6±4,1 idi. Rozaseali hasta grubunun; 15 erkek, 15 kadın, yaşları 25-72 arasında olup, yaş ortalaması 46,5±13,0 olarak saptandı. Kontrol grubunu, yaşları 27-75 arasında değişen 15 erkek, 15 kadın oluşturmaktaydı. Yaş ortalaması 47,6±11,3 idi. Akne vulgarisli hastalarda 5, kontrol grubunda ise 2 kişide DF≥5 saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu (p=0,423). Ayrıca rozase hastalarında 10, kontrol grubunda 3 kişide DF≥5 bulundu. Burda ise gruplar arasında fark vardı (p=0,028).

Gruplara göre sebum değerleri (μg sebum/ cm^2 deri) ölçüm sonuçları

Akne vulgaris grubunda sırasıyla sebum değerinin ortalaması; alın bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $226,0 \pm 3,1$, $DF < 5$ olanlarda $129,2 \pm 63,9$ bulunup ark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Sağ yanak bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $183,0 \pm 2,3$, $DF < 5$ olanlarda $96,7 \pm 45,9$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,003$). Burun bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $224,2 \pm 3,5$, $DF < 5$ olanlarda $127,5 \pm 49,4$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,003$). Çene bölgesinde ise, $DF \geq 5$ olanlarda $132,3 \pm 1,1$, $DF < 5$ olanlarda $76,8 \pm 32,9$ bulunup burda da fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,02$). (Tablo-1)

Rozase grubunda sırasıyla sebum değerinin ortalaması; alın bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $211,6 \pm 40,6$, $DF < 5$ olanlarda $106,2 \pm 34,5$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Sağ yanak bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $172,6 \pm 33,7$, $DF < 5$ olanlarda $91,4 \pm 28,8$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Burun bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $185,0 \pm 63,6$, $DF < 5$ olanlarda $119,0 \pm 37,0$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,027$). Çene bölgesinde demodex sayısı 5 ve üzerinde olan olgu olmadığından karşılaştırma yapılamadı.

Gruplara göre pH değerleri ölçüm sonuçları

Akne vulgaris grubunda sırasıyla pH değerinin ortalaması; alın bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $3,8 \pm 0,2$, $DF < 5$ olanlarda $4,7 \pm 0,5$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Sağ yanak bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $4,0 \pm 0,3$, $DF < 5$ olanlarda $4,9 \pm 0,5$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,006$). Burun bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $3,9 \pm 0,2$, $DF < 5$ olanlarda $4,9 \pm 0,5$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Çene bölgesinde ise, $DF \geq 5$ olanlarda $3,9 \pm 0,1$, $DF < 5$ olanlarda $5,0 \pm 0,7$ bulunup burda da fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,02$). (Tablo-2)

Rozase grubunda sırasıyla pH değerinin ortalaması; alın bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $4,2 \pm 0,6$, $DF < 5$ olanlarda $5,2 \pm 0,7$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Sağ yanak bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $4,1 \pm 0,5$, $DF < 5$ olanlarda $5,2 \pm 0,6$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Burun bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $4,2 \pm 0,8$, $DF < 5$ olanlarda $5,3 \pm 0,7$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,009$). Çene bölgesinde demodex sayısı 5 ve üzerinde olan olgu olmadığından karşılaştırma yapılamadı.

Gruplara göre nem değerleri ölçüm sonuçları

Akne vulgaris grubunda sırasıyla nem değerinin ortalaması; alın bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $50,2 \pm 10,0$, $DF < 5$ olanlarda $59,3 \pm 7,5$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,08$). Sağ yanak bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $49,6 \pm 9,7$, $DF < 5$ olanlarda $60,1 \pm 7,2$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,04$). Burun bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $50,7 \pm 4,1$, $DF < 5$ olanlarda $59,2 \pm 5,2$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,01$). Çene bölgesinde ise, $DF \geq 5$ olanlarda $47,6 \pm 0,5$, $DF < 5$ olanlarda $56,7 \pm 6,3$ bulunup burda da fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,01$). (Tablo 3).

Rozase grubunda sırasıyla nem değerinin ortalaması; alın bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $48,4 \pm 6,7$, $DF < 5$ olanlar-

Tablo 1. Akne vulgaris hastalarında yüz bölgesine göre *Demodex spp.* mevcudiyetinin sebum değeri (μg sebum/ cm^2 deri) yönünden karşılaştırılması

Alanlar	$DF \geq 5$ olanlarda sebum değeri $X \pm SD$	$DF < 5$ olanlarda sebum değeri $X \pm SD$	p değeri	Deri tipi
Alın	$226,0 \pm 3,1$	$129,2 \pm 63,9$	0,001	yağlı
Sağ yanak	$183,0 \pm 2,3$	$96,7 \pm 45,9$	0,003	yağlı
Burun	$224,2 \pm 3,5$	$127,5 \pm 49,4$	0,003	yağlı
Çene	$132,3 \pm 1,1$	$76,8 \pm 32,9$	0,02	yağlı

Tablo 2. Akne vulgaris hastalarında yüz bölgesine göre *Demodex spp.* mevcudiyeti ile pH arasındaki ilişki

Alanlar	$DF \geq 5$ olanlarda pH değeri $X \pm SD$	$DF < 5$ olanlarda pH değeri $X \pm SD$	p değeri	Deri tipi
Alın	$3,8 \pm 0,2$	$4,7 \pm 0,5$	0,001	asidik
Sağ yanak	$4,0 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,5$	0,006	asidik
Burun	$3,9 \pm 0,2$	$4,9 \pm 0,5$	0,001	asidik
Çene	$3,9 \pm 0,1$	$5,0 \pm 0,7$	0,02	asidik

Tablo 3. Akne vulgaris hastalarında yüz bölgesine göre *Demodex spp.* mevcudiyeti ile nem arasındaki ilişki

Alanlar	$DF \geq 5$ olanlarda nem değeri $X \pm SD$	$DF < 5$ olanlarda nem değeri $X \pm SD$	p değeri	Deri tipi
Alın	$50,2 \pm 10,0$	$59,3 \pm 7,5$	0,08	Anlamlı değil
Sağ yanak	$49,6 \pm 9,7$	$60,1 \pm 7,2$	0,04	Çok kuru
Burun	$50,7 \pm 4,1$	$59,2 \pm 5,2$	0,01	Kuru
Çene	$47,6 \pm 0,5$	$56,7 \pm 6,3$	0,01	Çok kuru

Tablo 4. Rozase hastalarında yüz bölgesine göre *Demodex spp.* mevcudiyeti ile nem arasındaki ilişki

Alanlar	$DF \geq 5$ olanlarda nem değeri $X \pm SD$	$DF < 5$ olanlarda nem değeri $X \pm SD$	p değeri	Deri tipi
Alın	$48,4 \pm 6,7$	$60,9 \pm 7,5$	0,0001	Çok kuru
Sağ yanak	$44,1 \pm 2,7$	$58,7 \pm 8,8$	0,0001	Çok kuru
Burun	$48,6 \pm 8,6$	$57,9 \pm 6,5$	0,017	Çok kuru

da $60,9 \pm 7,5$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,0001$). Sağ yanak bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $44,1 \pm 2,7$, $DF < 5$ olanlarda $58,7 \pm 8,8$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$). Burun bölgesinde, $DF \geq 5$ olanlarda $48,6 \pm 8,6$, $DF < 5$ olanlarda $57,9 \pm 6,5$ bulunup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,017$). Çene bölgesinde Demodex sayısı 5 ve üzerinde olan olgu olmadığından karşılaştırma yapılamadı. (Tablo 4).

TARTIŞMA

Demodex spp. esas olarak yüzü etkileyen, sağlıklı bireylerin derisinde de bulunan saprofitik bir parazittir. Yüzün sebace gland sayısı ve sebum yapımının belirgin olduğu yerlerde en yüksek konsantrasyonda bulunurlar (9).

Akne vulgarisli hastalarda sebum-akne-DF ilişkisini araştırıldığı bir çalışmada seboreik deride DF'yi, normal ve kserotik deriye göre daha fazla bulmuşlardır. Ancak hastalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (10). Baysal ve arkadaşları (11) 101 akne vulgarisli hastanın %11,8'inde, Polat ve arkadaşları (12) ise 78 akne vulgarislinin %15,38'inde DF saptamışlardır. Çalışmamızda akne vulgarisli hastalarda DF \geq 5 hasta sayısı kontrol grubuna göre yüksek olmamakla birlikte alın, sağ yanak, burun ve çene bölgelerinin herbirinde DF \geq 5 olanlarda, DF $<$ 5 olanlara göre, sebum miktarını daha yüksek, pH'yı daha asidik ve nem düzeyini de kuru ya da çok kuru olarak bulduk. Alın bölgesindeki nem değeri hariç bütün değerlerde fark istatistiksel olarak da anlamlıydı. Ancak bu durumda tek başına sebum miktarının akne vulgariste DF gelişiminde yeterli olmadığını muhtemelen sebum konfigürasyonunda etkili olabileceğini düşündürmektedir. Biz bu durumu *Demodex* parazitlerinin yaşam alanının pilosebase üniteye bulunmasına bağlamaktayız. Çünkü artmış sebum üretimi ve bozuk keratinizasyon *Demodex spp.* için uygun bir yaşam ortamı oluşturmakta olup, bu parazitler sebum ve epitel artıklarıyla beslenmektedir (1).

Sebumun büyük kısmını oluşturan serbest yağ asitleri ve trigliseritlerin deri asiditesinin sağlanmasında önemli katkıları olduğuda bilinmektedir (13). *Demodex* parazitlerinin yaşam alanlarında sebumun bu özelliğinden dolayı asidik özellikte olduğunu düşünerek, normalde mikroorganizmalara karşı koruyucu olan bu asit ortamın, parazitlere etki etmediğini hatta var olabilmelerini kolaylaştırdığını düşünmekteyiz. Ayrıca derideki nem düzeyinin azalmasıyla klinikte görülen kuruluk, çatlamalar ve deskuamasyonun, deri homeostazının sürdürülmesinde kritik role sahip olan deri bariyer fonksiyonunda değişmeye neden olmakta ve bu durum derinin genel kalitesinin bozulmasıyla sonuçlanmaktadır (14). Bariyer fonksiyonundaki bozukluğun sekonder bir sonuçtan ziyade farklı deri hastalıkları için kritik bir faktör olduğuda belirtilmektedir (13). Bundan dolayı deri bütünlüğündeki her türlü azalmanın, parazitlerin invazyonunu kolaylaştırıp enfestasyonu başlatabileceğini düşünmekteyiz.

Rozase etyolojisi tam olarak bilinmeyen bununla birlikte, multifaktöryel olarak değerlendirilen bir hastalıktır. Bu hastalığın patogenezinde temel olarak, damarsal aşırı veya bozuk aktivite suçlanmaktadır. Ayrıca hastalığın etyolojisinde *Demodex* akarları önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Papiller dermal damarlardaki kan akımında artış, *Demodex ssp.* için favori bir yaşam alanı yada dermise invaze olma imkanı sağlar. Ayrıca bu parazitlerin foliküler açıklığı mekanik olarak tıkayarak ya da mikroorganizmalara vektör görevi görerek de rozase lezyonlarının gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülmüştür (15).

Papülopüstüller rozaseli hastalar genellikle kuru ve hassas bir ciltten şikayet ederler. Bu hastalarda yapılan bir çalışmada transepidermal su kaybının arttığı, nem seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (16). Yüz pH seviyeleri yüksek bulunmuştur (17). Sadece rozaseli hastalarda yapılan çalışmalarda Sibenge (18) 25 hastanın 20'sinde,

Basta (19) 50 rozaseli hastanın 43'ünde deri biyopsi örneklerinde DF'ye rastladıklarını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada da sağlıklı kontroller ile papülopüstüller rozaseli hastalar karşılaştırılmış ve *Demodex spp.* prevalans ve dansitesinin istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur (20). Bizde çalışmamızda rozaseli hastalarda DF \geq 5 hasta sayısını kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptadık. Ayrıca alın, sağ yanak ve burun bölgelerinin herbirinde DF \geq 5 olanlarda, DF $<$ 5 olanlara göre, sebum miktarını normal, pH'yı daha asidik ve nem düzeyini de çok kuru olarak bulduk. Tüm değerler istatistiksel olarak anlamlıydı. Sadece çene bölgesinde DF \geq 5 hasta olmadığından değerlendirme yapamadık. Bu durum *Demodex* akar sayısının artmasında sebumun tek başına değil de pH ve nem düzeyi ile beraber etkili olduğunu düşündürmektedir. Spesifik uzun zincirli doymuş yağ asidi seviyeleri düşerken, miristik asit seviyelerinin anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir. Palmitik asit ve palmitoleik asit ise en yüksek konsantrasyonda olan sebace yağ asitleri olmuştur. *Demodex spp.*'nin de rozaseli hastalarda sayısının artmış olması, bu tip sebace mikroçevrenin, akar çoğalmasında rol oynayabileceğini göstermektedir (21).

Bazı insan lökosit antijen (HLA) genlerini taşıyan kişilerin belli hastalıkları geliştirmeye daha yatkın olduğu bilinmektedir. Psoriasis vulgaris, alopesi areata ve atopik dermatit gibi hastalıklar ile HLA fenotipi arasında korelasyon saptanmıştır (22). Akilov ve Mumcuoğlu'nun, *Demodex* enfestasyonu ile HLA fenotipleri arasında bir birliktelik olup olmadığını saptamak için yaptıkları çalışmalarda, HLA A2 fenotipsiz hastalarda; CD8 sayısında düşüklük, lökositlerin fonksiyonel aktivitesinde azalma, IgA konsantrasyonunda artış, derin papüler ve papülopüstüller formlarda daha fazla izlenme, büyük deri alanlarında daha fazla etkilenme görülmüş. Bu alelin koruyucu rol aldığı ileri sürülmüştür (23).

SONUÇ

Demodex parazitleri rozasenin patogenezinde etkili olurken, sebum değerlerinde değişikliğe yol açacak muhtemel bir neden oluşturmamaktadır. Dolayısıyla rozase etyolojisinde rol oynadığı düşünülen *Demodex* parazitlerinin daha fazla (+)'liğinin (5 ve üzeri sayıda) olduğu bölgede sebumda bir değişiklik beklenmemektedir. Genetik olarak yatkın bireylerde normal düzeydeki sebum miktarı ile düşük pH ve nem düzeylerinin DF için patojeniteyi kolaylaştırdığını düşünmekteyiz. Ancak *Demodex* enfestasyonu ile sebum, pH ve nem değerleri arasındaki ilişkiyi net olarak ortaya koyabilmek için çok sayıda yeni çalışmaya ihtiyaç vardır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İnönü Üniversitesi Etik Kurulundan alınmıştır.

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

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - Y. K., N.T.; Tasarım - N.T., Y.K., G.S.; Denetleme - N.T., Y.K.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - N.T., Y.K., G.S.; Analiz ve/veya Yorum - Y.K., N.T.; Literatür Taraması - N.T., Y.K., G.S.; Yazıyı Yazan - N.T., Y.K., G.S.; Eleştirel İnceleme - Y.K., N.T., G.S.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemiştir.

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

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from İnönü University of the Ethics Committee.

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

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - Y.K., N.T.; Design - N.T., Y.K., G.S.; Supervision - N.T., Y.K.; Funding -Y.K., N.T., G.S.; Materials - Y.K., N.T.; Data Collection and/or Processing - Y.K., N.T.; Analysis and/or Interpretation - Y.K., N.T.; Literature Review - N.T., Y.K., G.S.; Writing - N.T., Y.K., G.S.; Critical Review - Y.K., N.T., G.S.; Other - Y.K., N.T., G.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. Baima B, Sticherling M. *Demodicidosis* Revisited. *Acta Derm Venereol* 2002; 82: 3-6. [CrossRef]
2. Roihu T, Kariniemi AL. *Demodex* mites in acne rosacea. *Journal of Cutaneous Pathology* 1998; 25: 550-2. [CrossRef]
3. Basta-Juzbasic A, Subic JS, Ljubojevic S. *Demodex folliculorum* in development of dermatitis rosaceiformis steroidica and rosacea-related diseases. *Clin Dermatol* 2002; 20: 135-40. [CrossRef]
4. Jansen T, Kastner U, Kreuter A, Altmeyer P. Rosacea-like *demodicidosis* associated with acquired immunodeficiency syndrome (case reports). *Br J Dermatol* 2001; 144: 139-42. [CrossRef]
5. Stephen MP, Thomas JH, Steven LD. Pustular folliculitis associated with *Demodex folliculorum*. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 1159-62. [CrossRef]
6. Forstinger C, Kitler H, Binder M. Treatment of rosacea-like demodicidosis with oral ivermectin and topical permethrin cream. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41: 775-7. [CrossRef]
7. Acar MA, Aksungur VL. Akne ve Benzeri Hastalılar. *Dermatoloji'de*. Edt. Tüzün Y, Güner MA, Serdaroğlu S, Oğuz O, Aksungur VL. 3. Basıkı.1. Cilt. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2008.
8. Erbağcı Z. Rozasea: Sınıflama ve Etiyopatogenezi. *Son Görüşler. Türkiye Klinikleri J Dermatol* 2005; 15: 105-16.
9. Erbağcı Z, Özgöztaşı O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998; 37: 421-5. [CrossRef]
10. Okyay P, Ertaabklar H, Savk E, Ertuğ S. Prevalence of *Demodex folliculorum* in young adults: relation with sociodemographic/hygienic factors and acne vulgaris. *JEADV* 2006; 20: 474-6. [CrossRef]
11. Baysal V, Aydemir M, Yorgancıgil B, Yıldırım M. Akne vulgaris patogenezinde DF'ların rolünün araştırılması. *T. Parazitoloj Derg* 1997;21;265-8.
12. Polat E, Aygün G, Ergin R, Aslan M, Kutlibay Z, Atlas K ve ark. Akne vulgaris patogenezinde DF ve P. acnes'in rolü. *T. Parazitoloj Derg* 2003; 27: 148-51.
13. Lee SH, Jeong SK, Ahn SK. An update of the defensive barrier function of skin. *Yonsei Med J* 2006; 47: 293-306. [CrossRef]
14. Rudikoff D. The effect of dryness on the skin. *Clin Dermatol* 1998; 16: 99-107. [CrossRef]
15. Erbağcı Z, Özgöztaşı O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998; 37: 421-5. [CrossRef]
16. Ní Raghallaigh S, Bender K, Lacey N, Brennan L, Powell FC. The fatty acid profile of the skin surface lipid layer in papulopustular rosacea. *Br J Dermatol* 2012; 166: 279-87. [CrossRef]
17. Lacey N, Ní Raghallaigh S, Powell FC. *Demodex* mites--commensals, parasites or mutualistic organisms? *Dermatology* 2011; 222: 128-30. [CrossRef]
18. Sibenge S, Gawkrödger DJ. Rozasea: a study of clinical patterns, blood flow, and the role of DF. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26: 590-3. [CrossRef]
19. Basta A, Skrlin J. DF in development of dermatitis rosaceiformis steroidica and rosacea-related diseases. *Clin Dermatol* 2002; 20: 135-40. [CrossRef]
20. Georgala S, Katoulis AC, Kylafis GD, Koumantaki-Mathioudaki E, Georgala C, Aroni K. Increased density of DF and evidence of delayed hypersensitivity reaction in subjects with papulopustular rosacea. *JEADV* 2001; 15: 441-4. [CrossRef]
21. Ní Raghallaigh S, Bender K, Lacey N, Brennan L, Powell FC. The fatty acid profile of the skin surface lipid layer in papulopustular rosacea. *Br J Dermatol* 2012; 166: 279-87. [CrossRef]
22. Eakilov OE, Mumcuoglu KY. Association between human demodicosis and HLA class1. *Clin EXP Dermatol* 2003; 28: 70-3. [CrossRef]
23. Mumcuoglu KY, Akilov OE. The role of HLA A2 and Cw2 in the pathogenesis of human demodicosis. *Dermatology* 2005; 210: 109-14. [CrossRef]

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Sheep from Nevşehir Province in Turkey

Nevşehir Yöresi Koyunlarında *Toxoplasma gondii*'nin Seroprevalansı

Dilek Özmutlu Çakmak¹, Bilge Karatepe²

¹Department of Biology, Niğde Ömer Halisdemir University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Niğde, Turkey

²Niğde Ömer Halisdemir University, Bor Vocational School, Niğde, Turkey

Cite this article as: Özmutlu Çakmak D, Karatepe B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Sheep from Nevşehir Province in Turkey. Türkiye Parazitoloj Derg 2017; 41: 148-51.

ABSTRACT

Objective: The goal of this study was to investigate the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) in sheep from Nevşehir Province in Turkey.

Methods: Blood samples were taken from 180 sheep aged between 1 and 7 years, which were randomly selected from seven different study sites in Nevşehir Province. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies to *T. gondii* was performed on all the serum samples.

Results: Eighteen (10%) serum samples were found to be seropositive for *T. gondii* antibodies. The highest seropositivity rate (11.53%) was found in sheep aged between 1 and 2 years, whereas the lowest seropositivity rate (8.51%) was found in sheep aged between 5 and 7 years old. Eighteen of the 162 ewes (11.1%) were found to be seropositive, whereas none of the 18 tested rams were seropositive. In addition, considering the study site location, the highest seropositivity rate was in Avanos (32%), whereas the lowest seropositivity rate was in Kozaklı (2.9%). The *T. gondii* seropositivity rates were statistically insignificant with regard to age groups and gender ($p>0.05$), whereas they were statistically significant ($p<0.05$) with regard to study centers.

Conclusion: This is the first serological report on toxoplasmosis in sheep from Nevşehir Province in Turkey.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, sheep, Nevşehir, seroprevalence, ELISA, Turkey

Received: 06.02.2017

Accepted: 02.08.2017

ÖZ

Amaç: Bu çalışma, İç Anadolu Bölgesinde Nevşehir yöresinde bulunan koyunlarda *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*)'nin seroprevalansının araştırılması amacı ile yapılmıştır.

Yöntemler: Çalışmanın materyali olarak Nevşehir ilinde 7 farklı çalışma merkezine ait (Gülşehir, Nevşehir Merkez, Kozaklı, Acıgöl, Avanos, Habektaş, Derinkuyu) 1-7 yaş arasında toplam 180 koyun rastgele seçilerek kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örneklerinin serumları çıkarılmış *T. gondii* antikorları yönünden ELISA testi ile incelenmiştir.

Bulgular: Nevşehir yöresinde ELISA testi ile incelenen toplam 180 koyunun 18 (%10)'ünün *T. gondii* antikorları yönünden seropozitif olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında en yüksek seropozitiflik %11,53 oranı ile 1-2 yaşındaki koyunlarda tespit edilirken en az seropozitiflik oranı ise %8,51 ile 5-7 yaş arası koyunlarda belirlenmiştir. Cinsiyetlere göre 162 koyunun 18 (%11,1)'inde seropozitiflik tespit edilmiş, buna karşılık 18 koçta seropozitiflik saptanmamıştır. Ayrıca çalışma merkezleri açısından koyunlarda en yüksek seropozitiflik %32 oranı ile Avanos'da, en düşük seropozitiflik ise %2,9 oranı ile Kozaklı'da tespit edilmiştir. Elde edilen seropozitiflik oranlarında; koyunların yaş grupları ve cinsiyetlerinin istatistiksel olarak önemli ($p>0,05$) olmadığı, çalışma merkezlerinin ise istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Sonuç: Nevşehir yöresinde koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin varlığı ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, koyun, Nevşehir, seroprevalans, ELISA, Türkiye

Geliş Tarihi: 06.02.2017

Kabul Tarihi: 02.08.2017

Address for Correspondence / Yazışma Adresi: Bilge Karatepe, E.mail: bkaratepe@ohu.edu.tr

DOI: 10.5152/tpd.2017.5245

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

INTRODUCTION

Toxoplasmosis is a zoonotic disease caused by the intracellular protozoan parasite *T. gondii*, and it may affect all mammals, humans, and birds (1-4). The definitive hosts for the *T. gondii* are cats and other felines, whereas the intermediate hosts are all the birds and mammals, including humans (2, 4-6).

Toxoplasmosis in sheep and other animals is subclinical. In some acute cases, toxoplasmosis may cause symptoms such as an increased body temperature, loss of appetite, diarrhea, lack of energy, and breathing problems. Those symptoms are generally not typical of the disease; therefore, the diagnosis of toxoplasmosis in sheep only by observing the symptoms is difficult. As with other organisms, the diagnosis of toxoplasmosis in living sheep can be achieved by various serological methods (1).

The Sabin-Feldman dye test (SFDT), indirect fluorescent antibody test (IFAT), indirect hemagglutination test (IHA), complement fixation test (CFT), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) are some of the various tests available to diagnose toxoplasmosis (1, 5, 6).

Previous studies conducted in Turkey indicate that the average prevalence of toxoplasmosis in sheep is 40%, with regional variations ranging between 2.8% and 95.7% (7-15).

The aim of this study was to determine the seroprevalence of *T. gondii* infection in sheep from Nevşehir Province in Turkey.

METHODS

Study Area

The material used in this study was the blood serum samples taken from randomly selected 180 sheep aged 1 to 7 years. This study included sheep from Nevşehir Province, located in the Central Anatolia Region, Turkey (with an altitude of 1260 m, 38° 37' N longitude-34°43' E latitude), where toxoplasmosis has not been previously detected. In the present study, Gulsehir, Nevşehir Central, Kozakli, Acigol, Avanos, Hacibektas, and Derinkuyu districts were chosen as study sites in Nevşehir Province. In Nevşehir, the annual average precipitation is 429.4 kg/m³, the average temperature 10.6°C, and the average relative humidity 60.6%.

Blood samples were collected in a sterile tube from the punctured jugular vein of sheep. Serum samples were obtained by centrifugation at room temperature (25°C), at 4 000 rpm for 10 minutes, and were stored at -20°C until analyzed. To detect the *T. gondii* antibodies, CHEKIT-Toxotest ELISA Test Kit (IDEXX, AG,

Switzerland) was used in the study. The ELISA test was performed according to the instructions listed on the commercial kit.

Reading and Calculation of Results

The test was performed according to the procedure described by the manufacturer and the results were assessed at a wavelength of 450nm using an ELISA microplate reader (MR-96A). The following equation was used:

$$\text{Value\%} = \frac{\text{O.D. sample} - \text{O.D. negative}}{\text{O.D. positive} - \text{O.D. negative}} \times 100$$

If the test sample's percentage value was greater than or equal to 100%, the test was considered to be positive. If the result was greater than or equal to 30% or less than 100%, the test was weakly positive. If the result was greater than or equal to 20% and less than 30%, the result was suspicious. Finally, if the result was less than 20%, the test was considered to be negative.

Statistical Analysis

The chi-squared test was applied to compare the rate of seropositivity between age groups, gender, and study sites. Statistical significance in this study was defined as p<0.05.

RESULTS

Out of the 180 sheep aged between 1 and 7 years from seven different sites in Nevşehir Province, the ELISA test showed that 18 sheep (10.0%) had anti-*T. gondii* antibodies.

According to Table 1, the highest seropositivity rate of 11.53% was detected in 1- to 2-year-old sheep, whereas the lowest seropositivity rate of 8.51% was detected in 5- to 7-year-old sheep. As a result, the seropositivity rate among the seropositive animals with regard to the age groups of the sheep was not statistically significant (p>0.05).

Table 1. *Toxoplasma gondii* seropositivity rate by ELISA in sheep with regard to age groups

Age Groups	Animals Examined	Positive Animals	Seropositivity Rate (%)
1-2	78	9	11.53
3-4	55	5	9.09
5-7	47	4	8.51
Total	180	18	10.0

Table 2. *Toxoplasma gondii* seropositivity rate with regard to the study centers

Study Site	Month	Animals Examined	Positive Animals	Seropositivity Rate (%)
Gulsehir	February	38	2	5.3 ^b
Centre	March	23	2	8.7 ^b
Kozakli	April	34	1	2.9 ^b
Acigol	May	30	2	6.7 ^b
Avanos	June	25	8	32.0 ^a
Hacibektas	July	11	1	9.1 ^b
Derinkuyu	August	19	2	10.5 ^b
TOTAL		180	18	10.0

^{a,b}The differences between a and b in the column are significant (p<0.05).

Table 2 shows the seropositivity rates in sheep according to the study sites. As the table indicates, the sheep in Avanos had the highest seropositivity rate (32.0%), whereas the lowest seropositivity rate was in Kozaklı (2.9%). As a result, the seropositivity rate of *T. gondii* among the seropositive animals with regard to the study sites was determined to be statistically significant ($p < 0.05$). In addition, the presence of cats was confirmed at all study sites.

With regard to the gender groups, out of 162 ewes, 18 (11.1%) were found to be seropositive, whereas no seropositivity was detected in the 18 rams tested. Seropositivity rates of the two gender groups were compared; the differences between the seropositive animals were not statistically significant ($p > 0.05$). Out of the 8 sheep that miscarried, none were found to be seropositive.

DISCUSSION

In Turkey, the seroprevalence of toxoplasmosis in sheep was 20%–39.28% as indicated by CFT (8, 13), 36% by ToxHAtest commercial kit (16), 14.66%–37% by LAT (9, 17), 22.5% in gravid ewes, 30.97% in ewes by IHA (12, 18), 22%–95.7% by ELISA (14, 18), 28.04%–88.70% by SFDI (7, 9, 10, 13, 19-23), and 13%–72% by IFAT (9, 24, 25).

In our study, the seroprevalence of *T. gondii* was 10% in sheep from Nevşehir in Turkey. This seropositivity rate of 10% is clearly lower than the seropositivity rates observed in other studies carried out in Turkey. The differences in the results from various studies can be attributed to various factors, such as geographic differences, various types of the serological tests employed, the type and number of sheep examined, and the number and density of the definitive host, cats. Moreover, the rate of seroprevalence in this study was similar to the results found in Konya (24).

The seroprevalence of anti-*T. gondii* antibodies in sheep has been reported in several countries. The *T. gondii* seropositivity was found to be 7.4% by IHAT, 9.2% by IgG-ELISA, and 25.2% by IgM-ELISA in Australia (26); 65.5% by MAT in USA (27); 13.9% in small flocks of sheep and 28.5% big flocks of sheep by LAT and IFAT in Uruguay (28); 2.5% by LAT in Pakistan (29); 24.50% by LAT and IHAT in Iran (30); 12% by IHAT and 28% by IIFT in Chile (31); 18.75% by LAT in Brazil (32); 3.6% by MAT in North America (33); 13.8%–74.5% in Syria (34); 28.4% by IgG-IFAT; 9% by IgM-IFAT and 11.1% PCR in Italy (35); 27.6% by IgG-ELISA in Morocco (36); 26.5% by IFAT in Iran (37); and 19.88% by ELISA and LAT in Pakistan (38).

The seropositivity rate of 10% detected in this study is lower than the seropositivity rates reported in other studies from different parts of the world (27, 28, 30-32, 34, 36-38). On the other hand, the rates of 3.6% and 2.5% observed by Dubey and Foreyt in North America (33) and Zaki in Pakistan (29), respectively, are lower than the seropositivity rates observed in Nevşehir. These differences can be attributed to the differences in country of study, the type of the serological tests used, the differences in the sheep examined, and the number of the definitive hosts, cats. Moreover, the seropositivity rate of 10% observed in this study is similar to the rates found in Australia (9.2%) and Italy (9–11.1%) (26, 35).

In the present study, although we found no differences in the *T. gondii* seroprevalence rates with regard to mean age among

sheep ($p > 0.05$), *T. gondii* antibodies in the 1–2-years age group were more common than in the 5–7-years age group. The difference was probably due to the presence of maternal antibodies or latent infection. In addition, other external factors, such as farm management or feeding behavior, could account for this discrepancy. Likewise, among the seropositive animals, statistical significance with regard to gender was not observed ($p > 0.05$). However, the *T. gondii* seropositivity prevalence rate among the seropositive animals with regard to the location of study centers was found to be statistically significant ($p < 0.05$), where Avanos was identified as having the highest seropositivity rate (32.0%), and Kozaklı the lowest seropositivity rate (2.9%). The differences between the seropositivity rates in the study centers could be attributed to the breeding conditions, the population of the definitive host cats, and the level of contact those cats have with sheep feeders and waterers.

CONCLUSION

The study results clearly identify the presence of *T. gondii* in the sheep from Nevşehir Province in Turkey. Consequently, *T. gondii* should be considered a possible cause of miscarriage in sheep. Therefore, considering the fact that cats are the definitive hosts and one of the most important factors in the spread of the infection, they should be kept away from the sheep feeders and waterers, and pens and the pastures, thus preventing contamination through cat feces (1, 2, 5). To determine the effects of toxoplasmosis on sheep breeding in Nevşehir, a larger study that would also investigate cats, the definitive hosts for *T. gondii*, is recommended.

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".

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - D.Ö.Ç., B.K.; Design - D.Ö.Ç., B.K.; Supervision - D.Ö.Ç., B.K.; Funding - D.Ö.Ç., B.K.; Materials - B.K.; Data Collection and/or Processing - D.Ö.Ç.; Analysis and/or Interpretation - D.Ö.Ç., B.K.; Literature Review - D.Ö.Ç.; Writing - D.Ö.Ç., B.K.; Critical Review - B.K.; Other - D.Ö.Ç., B.K.

Acknowledgement: The authors would like to thank to Niğde Ömer Halisdemir University Scientific Research Projects Unit that supported our study.

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

Financial Disclosure: This study is a summary of Dilek Özmutlu Çakmak's (first surname Öztürk) MSc thesis. This study was financially supported by Niğde Ömer Halisdemir University Scientific Research Projects Coordination Unit.

Etik Komite Onayı: Yazarlar çalışmanın World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects" prensiplerine uygun olarak yapıldığını beyan etmişlerdir.

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - D.Ö.Ç., B.K.; Tasarım - D.Ö.Ç., B.K.; Denetleme - D.Ö.Ç., B.K.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - D.Ö.Ç.; Analiz ve/veya Yorum - D.Ö.Ç., B.K.; Literatür Taraması - D.Ö.Ç.; Yazıyı Yazan - D.Ö.Ç., B.K.; Eleştirel İnceleme - B.K.

Teşekkür: Yazarlar, bu çalışmayı destekleyen Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür eder.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma Dilek Özmutlu Çakmak (önceki soyadı Öztürk)'in Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir. Bu çalışma Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir.

REFERENCES

1. Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. Inc Boca Raton Florida, CRC Press; 1988.
2. Levine ND. *Veterinary Protozoology*. Ames, Iowa State University Press; 1985.
3. Schmidt DG, Roberts LS. *Foundations of Parasitology*. Missouri, Times Mirror/Mosby College Publishing; 1989.
4. Soulsby E.J.L. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. Seventh Edition, England, Bailliere Tindall; 1986.
5. Dubey JP. *Toxoplasmosis*. JAVMA 1994; 205: 1593-8.
6. Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Intl J Parasitol 1998; 28: 1019-24. [CrossRef]
7. Aktas M, Dumanlı N, Babur C, Karaer Z, Ongor H. Determination of Seropositivity for *Toxoplasma gondii* Infection in Pregnant and Aborted Sheep in Elazığ and Vicinity by Sabin-Feldman (SF) Test. Turk J Vet Anim Sci 2000; 24: 239-41.
8. Altıntaş K. Abort yapan ve yapmayan koyunlara ait fotuslarla gebe olmayan koyunlarda *Toxoplasma* enfeksiyonu yönünden araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi. 1975.
9. Babur C, Karaer Z, Çakmak A, Yaralı C, Zeybek H. Ankara yöresinde Sabin-Feldman (SF), İndirekt Floresan Antikor (IFA), Latex Aglutinasyon (LA) testleri ile koyun toxoplasmosis'inin prevalansı. FÜ Sağlık Bil Derg 1996; 10: 273-7.
10. Babur C, İnci A, Karaer Z. Detection on seropositivity of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in around of Çankırı using Sabin-Feldman Dye test. Türkiye Parazitoloj Derg 1997; 21: 409-12.
11. Cicek H, Babur C, Karaer Z. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep using Sabin-Feldman (SF) dye test in Afyon province. AÜ Vet Fak Derg 2004; 51: 229-31.
12. Dumanlı N, Guler S, Koroglu E, Orak S. Elazığ yöresinde koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin yayılışı. Doğa Tr Vet Anim Sci 1991; 16: 10-8.
13. Ekmen H. *Toxoplasmosis'te enfeksiyon kaynakları*. 1-Koyun ve sığırlarda *Toxoplasma* antikorları. Mikrobiyol Bül 1967; 1: 243-8.
14. Mor N, Arslan MÖ. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Sheep in Kars Province. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2007; 13: 165-70. [CrossRef]
15. Sevgili M, Babur C, Nalbantoglu S, Karas G, Vatanser Z. Determination of seropositivity for *Toxoplasma gondii* in sheep in Şanlıurfa province. Turk J Vet Anim Sci 2005; 29: 107-11.
16. Arda M, Bisping W, Aydın N, İstanbulluoğlu E, Akay O, İzgur M, et al. An etiologic and serologic investigation of ovine abortions in Central Anatolia Region. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1987; 34: 195-206.
17. Zeybek H, Yaralı C, Nishikawa H, Nishikawa F, Dundar B. Ankara yöresi koyunlarında *Toxoplasma gondii*'nin prevalansının saptanması. Etlik Vet Mikrob Derg 1995; 8: 80-6.
18. Oz I, Ozyer M, Corak M. Adana yöresi sığır, koyun ve keçilerinde ELISA ve IHA testleri ile toxoplasmosisin yaygınlığının araştırılması. Etlik Vet Mikrob Derg 1995; 8: 87-99.
19. Babur C, Esen B, Bıyıkoglu G. Seroprevalence of *Toxoplasmosis gondii* in Sheep in Yozgat, Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2001; 25: 283-5.
20. Karatepe M, Babur C, Karatepe B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* detected by the Sabin-Feldman Dye Test in sheep in teh region of Gümüşhacıköy (Amasya). Türkiye Parazitoloj Derg 2001; 25: 110-112.
21. Karatepe B, Babur C, Karatepe M, Çakmak A, Nalbantoglu S. Seroprevalence of toxoplasmosis in sheep and goats in the Nigde province of Turkey. Indian Vet J 2004; 81: 974-6.
22. Ozturk C, Babur C, Aslan G. Mersin yöresinde koyunlarda ve mez-baha çalışanlarında Sabin-Feldman boya testi ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. Genel Tıp Derg 2002; 12: 21-4.
23. Yıldız K, Babur C, Kılıç S, Aydenizoz M, Dalkılıç I. Investigation of anti-*Toxoplasma* antibodies in slaughtered sheep and cattle as well as in workers in the abattoir of Kırkkale. Türkiye Parazitoloj Derg 2000; 24: 180-5.
24. Aköz M, Aydın I, Kamburgil K, Handemir E. Determination of *Toxoplasma gondii* Seroprevalence by Indirect Fluorescent Antibody (IFA) Test in Abortion Experienced and Abortion Inexperienced Sheep in Karapınar District of Konya. Vet Bil Derg 2009; 25: 37-43.
25. Sevinc F, Kamburgil K, Dik B, Guclu F, Aytekin H. The Seroprevalence of *Toxoplasmosis* by Indirect Fluorescent Antibody (IFA) Test in Ewes with and without Abortion in Konya Province. FÜ Sağlık Bil Derg 2000; 14: 137-42.
26. O'Donoghue PJ, Riley MJ, Clarke JF. Serological survey for *Toxoplasma* infections in sheep. Aust Vet J 1987; 64: 40-5. [CrossRef]
27. Dubey JP, Kirkbride CA. Enzootic toxoplasmosis in sheep in north-central United States. J Parasitol 1989; 75: 673-76. [CrossRef]
28. Savio E, Nietro A. Ovine toxoplasmosis: Seroconversion during pregnancy and lamb birth rate in Uruguayan sheep flocks. Vet Parasitol 1995; 60: 241-7. [CrossRef]
29. Zaki M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic animals in Pakistan. J Pak Med Assoc 1995; 45: 4-5.
30. Hashemi-Fesharki R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. Vet Parasitol 1996; 61: 1-3. [CrossRef]
31. Gorman T, Arancibia JP, Lorca M, Hird D, Alcaino H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (Llama pacos) in Chile. Prev Vet Med 1999; 40: 143-9. [CrossRef]
32. Pita Gondim LF, Barbosa Jr HV, Ribeiro Filho CHA, Saeki H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. Vet Parasitol 1999; 82: 273-6. [CrossRef]
33. Dubey JP, Foreyt WJ. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Rocky Mountain Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*). J Parasitol 2000; 86: 622-3. [CrossRef]
34. El-Moukdad AR. Serological studies on prevalence of *Toxoplasma gondii* in Awassi sheep in Syria. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2002; 115: 186-8.
35. Masala G, Porcu R, Madau L, Tanda A, Ibba B, Satta G, et al. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. Vet Parasitol 2003; 117: 15-21. [CrossRef]
36. Sawadogo P, Hafid J, Bellele B, Tran Manh Sung R, Chakdi M, Flori P, et al. Seroprevalence of *T. gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. Vet Parasitol 2005; 130: 89-92. [CrossRef]
37. Asgari Q, Mehrabani D, Moazzeni M, Akrami-Mohajeri F, Kalantari M, Motazedian MH, et al. The seroprevalence of ovine toxoplasmosis in Fars province, Southern Iran. Asian J Anim Vet Adv 2009; 4: 332-6. [CrossRef]
38. Lashari MH, Tasawar Z. Seroprevalence of toxoplasmosis in sheep in southern Punjab, Pakistan. Pak Vet J 2010; 30: 91-4.

Manisa İlimizde Görülen Leishmaniasis Etkeni *Leishmania* Türlerinin Kriyoprezervasyonu

Cryopreservation of *Leishmania* Species in Manisa Province

İbrahim Çavuş¹, Fulya Ocak², Tuğba Kaya¹, Ahmet Özbilgin¹

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

²Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Manisa, Türkiye

Cite this article as: Çavuş İ, Ocak F, Kaya T, Özbilgin A. Cryopreservation of *Leishmania* Species in Manisa Province. Türkiye Parazitol Derg 2017; 41: 152-5.

ÖZ

Amaç: Coğrafyamızda önemli bir sağlık problemi nedeni olan *Leishmania* türlerinin virülansının ve genetik materyalinin korunması için yapılacak kriyoprezervasyon yönteminin sağlıklı işleyip işlemediğinin gözlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) besiyerlerinde ardışık pasajlarla devam eden *Leishmania tropica*, *L. infantum*, *L. major* ve *L. donovani* suşları kullanılmıştır. NNN besiyerinde kültürü yapılan promastigotlar RPMI 1640 sıvı besiyerlerine aktarılmış ve logaritmik faza giren promastigotlar fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile 3 defa yıkanmıştır. Promastigot sayısı 10⁸ mL/promastigot olarak ayarlanmış ve üzerine %15 Dimetilsülfoksit (DMSO) eklenmiştir. *Leishmania* türlerinin her biri 12 ayrı steril kriyo tüplerine aktarılmıştır. Tüpler Coolcell kutularına yerleştirilerek -86°C'de bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün hızlı bir şekilde tüpler sıvı azot tankına aktarılmıştır. Sıvı azot tankına aktarılan kriyo tüpleri birer ay ara ile her *Leishmania* türünden birer adet çıkarılarak uygun şekilde çözündürülmüş ve NNN besiyerlerine ekimleri yapılmıştır.

Bulgular: Çalışma süresince her ay sıvı azot tankından çıkarılan *Leishmania* izolatlarının her birinin % 60-65 oranında canlılıklarını koruduğu ve NNN besiyerlerine yapılan ekimlerinde promastigotların 7.günde logaritmik faza girdiği gözlenmiştir. Mikroskop incelemelerinde promastigot yapılarında ve hareketlerinde anormallikler gözlenmemiştir.

Sonuç: Çalışmamızda leishmaniasis ile ilgili yapılması planlanan araştırmalarda kriyoprezervasyonun önemli olduğu ve DMSO ile yapılan kriyoprezervasyonun başarılı olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania* spp., Kriyoprezervasyon, Manisa, Türkiye

Geliş Tarihi: 27.02.2017

Kabul Tarihi: 11.07.2017

ABSTRACT

Objective: It was aimed to assess the success of the cryopreservation process which is carried out in order to preserve the genetic material and the virulence of the *Leishmania* species that are an important health problem in our region.

Methods: *Leishmania tropica*, *L. infantum*, *L. major*, and *L. donovani* strains in Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) medium in MCBU were used. Promastigotes cultured in the NNN medium were transferred to RPMI 1640 medium; promastigotes in the logarithmic phase were washed three times with PBS, and 15% dimethylsulfoxide (DMSO) was added. *Leishmania* species were transferred to 12 separate tubes. The tubes were stored at -86°C for one night by placing them in Coolcell boxes. The tubes were transferred into a liquid nitrogen tank. One cryotube per *Leishmania* strain is thawed monthly and cultured in NNN medium.

Results: For the duration of study it was observed that each *Leishmania* isolate preserved 60-65% of their viability and entered the logarithmic phase on the 7th day following the inoculation in the NNN medium. Abnormalities in the structures and movements of the promastigotes were not observed in microscopic examinations.

Conclusion: The following conclusions were made: cryopreservation is important for studies planned related to leishmaniasis and cryopreservation with DMSO is successful.

Key words: *Leishmania* spp., Cryopreservation, Manisa, Turkey

Received: 27.02.2017

Accepted: 11.07.2017

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: İbrahim Çavuş, E.mail: icvs26@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5267

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından düzenlenen 69. Dünya Sağlık Toplantısında benimsenen ihmal edilen tropikal hastalıklarından biri olan leishmaniasis, *Leishmania* parazitlerinin neden olduğu *Phlebotomus* cinsi enfekte dişi kum sineklerinin kan emmesi sırasında insanlara bulaştırdığı protozoon parazit hastalığıdır. Leishmaniasisin Visseral Leishmaniasis (VL), Post Kala Azar Dermal Leishmaniasis (PKDL), Kutanöz Leishmaniasis (KL) ve Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL) olmak üzere dört ana formu bulunmaktadır (1).

Dünyada ve ülkemizde en sık görülen kutanöz leishmaniasis formudur. Genellikle vücudun açık kalan bölgelerinde ülsere ve nodüler cilt lezyonlarına neden olması, skar kalması, ciddi sakatlıklar bırakması nedeniyle önemlidir (1-2).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre son beş yılda yaklaşık 1 milyon KL vakası rapor edilmiş ve 431 milyon insandan fazlası kutanöz leishmaniasis riski altındadır. Ülkemizde Güneydoğu Anadolu bölgesi başta olmak üzere Ege ve Akdeniz Bölgelerindeki illerimizde kutanöz leishmaniasis olguları sıkça bildirilmektedir. Ülkemizin bulunduğu coğrafik konum itibarıyla Asya ve Avrupa kıtalarını birbirine bağlayan köprü konumunda bulunması, kutanöz leishmaniasis endemik olduğu komşu ülkelerde meydana gelen iç karışıklıklar ve savaşlar nedeniyle bu bölgelerden ülkemize çok sayıda göçmen girişinin olması, iklimsel değişikliklere bağlı olarak endemik olmayan bölgelerden de kutanöz leishmaniasis vakalarının bildirilmesi leishmaniasis epidemiyolojisi açısından önemlidir (3).

Kriyoprezervasyon, özel koruyucu maddeler yardımıyla hücrelerin ya da dokuların düşük sıcaklıkta saklanması olayıdır. Kriyoprezervasyon esnasında hücrelerde bütün biyolojik aktiviteler ve biyokimyasal reaksiyonlar durdurulur.

Kriyoprezervasyon yönteminin kullanılması neticesinde suşların bakteri ve mantar kontaminasyonlarının önlenmesi, canlılıklarının ve ilaç direnci gibi biyolojik özelliklerini korunması, virülans özelliklerini ve antijenik yapılarını kaybetmeden uzun süre saklayabilmeleri sağlanmaktadır (4-5).

Bu çalışmamız coğrafyamızda önemli bir sağlık problemi nedeni olan ülkemizdeki hastalardan elde edilmiş *Leishmania* türlerinin (*Leishmania tropica*, *Leishmania infantum*, *Leishmania major* ve *Leishmania donovani*) virülansının ve genetik materyalinin korunması için yapılmakta olan kriyoprezervasyon yönteminin sağlıklı işleyip işlemediğini denemek amacıyla yapılmıştır.

YÖNTEMLER

Manisa ilimizde görülen KL ve VL hastalarından izole edilmiş ve Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında NNN besiyerlerinde ardaşık pasajlarla devam ettirilen *L. tropica*, *L. infantum*, *L. major* ve *L. donovani* suşları kullanılmıştır. NNN besiyerinde üreyen promastigotlar RPMI 1640 +%15 Fetal Bovine Serum +%1 Gentamisin solüsyonu ve %1 Penicillin/Streptomycin solüsyonu içeren sıvı besiyerlerine aktararak 25°C'deki etüv içerisinde 10 gün tutulmuştur. Logaritmik faza giren promastigotlar steril falcon tüplerine aktarılmış ve 4400 rpm 10 dk +4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üst kısım dökülerek pellet üzerine 10 ml fosfat tampon

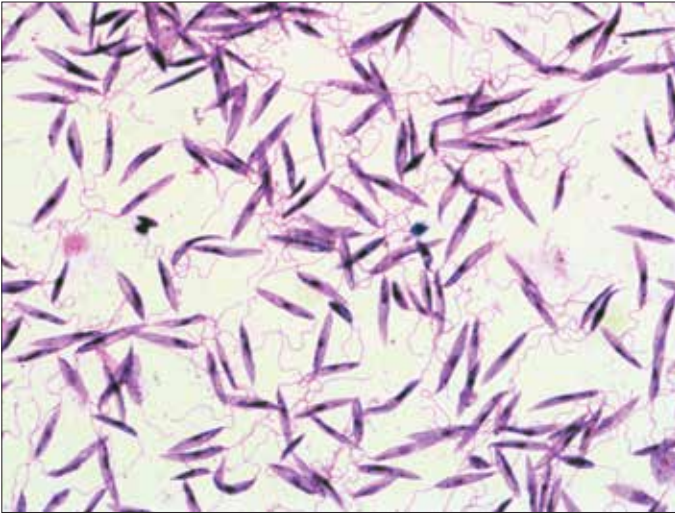


Şekil 1. Kriyoprezervasyonu yapılan promastigotların sıvı azot tankında arşivlenmesi

solüsyonu (PBS) eklenmiştir. Tekrar 4400 rpm 10 dk +4°C'de santrifüj edilmiş ve üst kısım santrifüj sonunda dökülmüştür. Bu yıkama işlemi 3 defa uygulanmıştır. Son yıkama işleminden sonra pellet üzerine PBS eklenerek promastigot sayısı 10^8 ml/promastigot olacak şekilde mikroskopta thoma lamı ile sayılarak ayarlanmıştır. Hazırlanan promastigot süspansiyonlarının üzerine %15 Dimetilsülfoksit (DMSO) eklenerek steril pastör pipeti yardımıyla homojen bir şekilde karıştırılması sağlanmıştır. Daha sonra steril internal kapaklı kriyo tüplerine 1 ml olacak şekilde aktarılmıştır. *L. tropica*, *L. infantum*, *L. major* ve *L. donovani* türlerinin her biri için 12 kriyo tüpü olacak şekilde 48 kriyo tüpü hazırlanmıştır. Kriyo tüpleri Coolcell kutularına yerleştirilerek -86°C'de bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün hızlı bir şekilde Coolcell kutularından çıkarılan kriyo tüpleri sıvı azot tankına aktarılmıştır (Şekil 1). Sıvı azot tankına aktarılan *L. tropica*, *L. infantum*, *L. major* ve *L. donovani* promastigotları içeren kriyo tüpleri bir yıl boyunca birer ay ara ile her türden birer adet çıkarılarak 37°C'lik su banyosunda eritilmiştir. Promastigotlar mikroskop altında hareketliliklerine ve Eozin boyası testine göre değerlendirilmeleri için Thoma lamı ile canlılık yüzdelere bakılmıştır. Her bir örnek NNN besiyerine ekimleri yapılarak 25°C'lik etüv içerisinde inkübasyona bırakılmıştır. Örnekler 3., 5., 7., ve 9. günlerde üremeleri açısından değerlendirilmiştir. Çalışma Helsinki Declaration'a uygun olarak yapılmıştır. Çalışmanın niteliği nedeniyle etik kurul alınmasına gerek yoktur. İstatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırma Statistical Packages for the Social Sciences (SPSS) istatistik programı ile anlamlılık derecesi $p < 0,05$ alınarak yapılmıştır.

BULGULAR

Sıvı azot tankından 12 ay boyunca her ay çıkarılan promastigotların % 60-65 oranında canlı olduğu tespit edilmiş ve NNN besiyerlerine yapılan ekimlerinde 7. günden itibaren logaritmik faza girerek 10^8 ml/promastigot yoğunluğunda olacak şekilde üredikleri görülmüştür. Her dört *Leishmania* izolatinde bir yıl boyunca aynı oranda canlılıklarını koruduğu ve NNN besiyerlerine yapılan ekimlerinde promastigotların 7.günde logaritmik faza girdiği gözlenmiştir. Ki-kare (χ^2) testi ile anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Mikroskop incelemelerinde promastigot yapıları ve hareketlerinde anormallikler (hücre içerisinde vakuol oluşumu, hareket azalması) gözlenmemiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Kriyoprezervasyondan sonra üretilen promastigotlar

TARTIŞMA

Hücre içi zorunlu parazit olan *Leishmania* parazitlerinin neden olduğu leishmaniasis, enfekte dişi kum sineklerinin (*Phlebotomus*) kan emmesi sırasında insanlara bulaştırdığı paraziter bir hastalıktır. İnsanların ve yaklaşık 70 hayvan türünün doğal rezervuar olduğu bildirilmektedir. (1-2).

Dünyada KL vakalarının %70'i Cezayir, Koska Rika, Afganistan, İran, Sudan, Brezilya, Kolombiya, Etiyopya, Peru, ve Suriye'de olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde Güneydoğu Anadolu, Ege ve Akdeniz Bölgelerindeki illerimizde sıkça görülmektedir. Son yıllarda ülkemizin bulunduğu coğrafyada yaşanan iç karışıklıklar ve savaşlar nedeniyle kutanöz leishmaniasisin endemik olduğu bölgelerden ülkemize çok sayıda göçmen girişi olmakta ve ülkemize gelen misafirler ülkemizin farklı bölgelerine yerleşmektedir. Bunun yanı sıra küresel iklim değişikliklerine bağlı olarak ekolojik dengede vektör ve rezervuarları etkileyen değişikliklerin olması son yıllarda endemik olmayan bölgelerden de KL vakaları bildirilmektedir (2, 6-8).

Kutanöz leishmaniasis etkeni *L. tropica* ve *L. major*'e ek olarak daha önceleri sadece VL etkeni olarak düşünülen *L. infantum* ve *L. donovani*'nin de moleküler düzeyde yapılan çalışmalar sonucunda KL etkeni olarak bildirilmiştir (9).

Kriyoprezervasyon, özel koruyucu maddeler yardımıyla hücrelerin ya da dokuların düşük sıcaklıkta saklanması olayıdır. Kriyoprezervasyon esnasında hücrelerde bütün biyolojik aktiviteler ve biyokimyasal reaksiyonlar durdurulur. Kriyoprezervasyon işleminde yavaş dondurma (slow freezing), hızlı dondurma (rapid freezing) ve vitrifikasyon (vitrification) olmak üzere üç yöntem kullanılmaktadır. Kriyoprezervasyonun temel amacı dondurma ve çözündürme esnasında oluşabilecek hücre içi buz kristallerinin oluşumunu engellemek ve oluşması muhtemel buz kristallerinden hücrelerin zarar görmesini önlemektir. Dondurma ve çözündürme prosedürleri her organizma için farklılık göstermektedir. Dondurma sırasında kullanılan kriyoprotektan maddelerin kriyoprezervatif özellikleri de dikkate alınarak dondurulacak organizmaya göre belirlenmelidir.

Çeşitli suşların uzun süre in vivo olarak deney hayvanı modellerinde ve in vitro kültür ortamlarında canlılıklarının sürekli olarak devam ettirilmesi suşların biyolojik ve kimyasal özelliklerinin ve antijenik özelliklerinin değişmesine, patojenitelerinin azalmasına neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca deney hayvanı modellerinin ve kültür pasajları insan kontaminasyon riskini de arttırmaktadır (10).

Kriyoprezervasyon yönteminin kullanılması neticesinde suşların bakteri ve mantar kontaminasyonlarının önlenmesi, canlılıklarının ve ilaç direnci gibi biyolojik özelliklerini koruması, virülan özelliklerini ve antijenik yapılarını kaybetmeden uzun süre saklayabilmeleri sağlanmaktadır. Aşı çalışmaları gibi uzun süreli deneysel çalışmalarda suşların güvenli bir şekilde saklanması istenmeyen farklılıkları ortadan kaldıracaktır (4-5, 11-15).

Çalışmamızda, *Leishmania* spp. parazitlerinin kriyoprezervasyonu ve bu örneklerin tekrar çalışmalar için uygun şekilde canlandırılarak kültürde üretme işlemleri yapılmıştır. Araştırmamızda kulanığımız kutanöz leishmaniasis etkeni dört tür *Leishmania*'nın bir yıl boyunca her ay sıvı azottan çıkarılan örneklerinde % 60-65 oranında canlılık olduğu tespit edilmiş ve NNN besiyerlerine yapılan ekimlerinde 7. günden itibaren logaritmik faza girdikleri görülmüştür. Benzer çalışmaların uygun şartlarda *Leishmania* amastigotları ile de yapıldığında benzer canlılık ve üreme oranlarını sağlayacağı düşünülmektedir. Kriyoprezervasyon işleminde kullanılan kriyoprotektan maddesi DMSO'nun *Leishmania* promastigotlarının canlılıklarını koruduğu ve *Leishmania* promastigotlarının kriyoprezervasyonu için uygun bir koruyucu olduğu düşünülmektedir.

Kriyoprezervasyon yapılmış örneklerde literatürlerde de belirtildiği gibi ileri çalışmalarda kullanılacak parazitin genetik materyalin değişmeden kalması, örneklerin virülanlığını kaybetmemiş olması ve laboratuvar iş yükünün azaltılarak meydana gelebilecek hataların en aza indirilebilmesi açısından da büyük önem taşımaktadır.

SONUÇ

Ülkemizde yeni KL ve VL vakaların ve yeni odakların çıkması ile önemli bir halk sağlığı sorunu olan leishmaniasis önemini daha da arttıracaktır. Çalışmamızda *Leishmania* türlerinin kriyoprezervasyonu ve kriyoprezervasyon sonrası canlandırma ve üretme işlemi başarı ile yapılmıştır.

Kriyoprezervasyonu yapılması planlanan suşlarda mutlaka uygun kriyoprezervasyon işlemleri ve kriyoprotektanların kullanılmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz. Türkiye'nin *Leishmania* hafızasının bu yolla oluşturulabileceği ve bu yöntemle oluşturulan izolat bankalarının ileride bu konuda yapılacak araştırmalara önemli kaynak oluşturacağı kanısına varılmıştır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik kurum onayına gerek yoktur.

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

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

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

Ethics Committee Approval: Approval from the ethics committee was not required in this study.

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - İ.Ç., F.O.; Design - F.O., A.Ö., T.K.; Supervision - F.O., İ.Ç.; Data Collection and/or Processing - A.Ö.; Analysis and/or Interpretation - A.Ö., F.O., İ.Ç.; Literature Review - F.O., İ.Ç., T.K.; Writing - İ.Ç., T.K., A.Ö.; Critical Review - A.Ö., İ.Ç.

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

- Özbel Y, Özensoy Töz S. Leishmaniasis. Özcel MA, Özbel Y, Ak M, editors. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları Kitabı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No: 22; 2007. p. 197-244.
- WHO, Leishmaniasis. Available from: www.who.int/leishmaniasis/en/
- OK UZ, Balcıoğlu IC, Taylan Ozkan A, Ozensoy S, Ozbel Y. Leishmaniasis in Turkey. Acta Trop 2002; 84: 43-8. [CrossRef]
- Miyata A. Cryo-Preservation of the Parasitic Protozoa. Jap J Trop Med Hyg 1975; 3: 161-200. [CrossRef]
- Duran N, Yarkin F, Allahverdiyev AM. The Effect Of The Various Freezing Methods On The Cell Viability Of Cryopreserved Hep-2 And Rabbit Kidney Cells. Türk Hij Den Biyol Derg 2001; 58: 53-60.
- Manual for case management of cutaneous leishmaniasis in the WHO Eastern Mediterranean Region, WHO Regional Office for the Eastern Mediterranean, WHO Regional Publications Eastern Mediterranean Series; 35, 2013.
- Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in, WHO Weekly Epidemiological Record, 2016; No 22, 91: 285-296.
- Du R, Hotez PJ, Al-Salem WS, Acosta-Serrano A. Old World Cutaneous Leishmaniasis and Refugee Crises in the Middle East and North Africa. PLoS Negl Trop Dis 2016; 1:e0004545. [CrossRef]
- Ertabaklar H, Ertuğ S, Çalışkan SÖ, Bozdoğan B. Determination of *Leishmania* Species by PCR-RFLP in the Smear Samples Taken from the Lesions of Cutaneous *Leishmaniasis* Cases. Mikrobiyol Bul 2016; 50: 300-6. [CrossRef]
- Özbilgin A, Östan İ, Kurt Ö. Kriyoprezervasyon. Korkmaz M, Ok ÜZ, editors. Parazitolojide Laboratuvar. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, No:23; İzmir 2011. p.405-9.
- Sağırkaya H, Bağış H. Cryopreservation of Mammalian Embryos. Uludağ Univ J Fac Vet Med 2003; 22: 127-35.
- Kousha S, Mohebbi M. Cryopreservation Methods for Different Species of *Leishmania*. Pejouhandeh 2000; 5: 157-64.
- Pegg DE. Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. Second Edition. Totowa, New Jersey. Day JG and Stacey GN; 2007.
- Callow LL, Farrant J. Cryopreservation of the Promastigote Form of *Leishmania tropica* var major at Different Cooling Rates. Int J Parasitol 1973; 3: 77-88. [CrossRef]
- Diamond LS. Freeze-Preservation of Protozoa. Cryobiology 1964; 1: 95-102.[CrossRef]

Sıtmada Etken Madde Taramalarında *in vivo* ve *in vitro* Modeller: Pilot Çalışma

In vivo and *in vitro* Models for Scanning Drug Substances in Malaria: Prestudy

Ahmet Özbilgin, İbrahim Çavuş, Alicem Nuraydın, Tuğba Kaya

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

Cite this article as: Özbilgin A, Çavuş İ, Nuraydın A, Kaya T. *In Vivo* and *In Vitro* Models for Scanning Drug Substances in Malaria: Prestudy. *Türkiye Parazit Derg* 2017; 41: 156-63.

ÖZ

Amaç: Dünya Sağlık Örgütü *Plasmodium* türlerinin "artemisinin" içeren ilaçlara da dirençli suşlarının ortaya çıkmasıyla tüm ülkeleri "Bir Sonraki Artemisinin Avı" sloganıyla bitkisel kaynaklı antimalaryal etken maddeleri araştırmaya teşvik etmektedir. Çalışacak genç araştırmacılara rehber olacak şekilde en temel ve basit olarak sıtmanın *in vivo* ve *in vitro* modellerinin kurularak ilaç araştırmalarında ve etken madde taramalarında yardımcı olması amacıyla planlanmıştır.

Yöntemler: *In vitro* çalışmamızda sıvı azot tankından çıkarılarak uygun koşullarda çözdürülen *Plasmodium berghei* genç trofozoitleri 0.1, 0.4, 0.8, 1.6, 6.4, 12.8 µg/mL konsantrasyonunda klorokin ve tetrasiklin ilaçları ile 24 saat +37°C'de jar içerisinde çalkalamalı etüvde inkübe edilerek takip edilmiştir. *In vivo* çalışmalarda Tetrasiklin grubu (TG) ve Klorokin grubuna (KG) intragastrik lavaj yoluyla 50 mg/kg dozunda tetrasiklin ve klorokin oral yolla, tedavi almamış kontrol grubuna (TAKG) aynı miktarda ve yolla serum fizyolojik verilmiştir. Farelerdeki parazitemi 24 gün boyunca takip edilmiştir.

Bulgular: *In vitro* ilaç çalışmamızda klorokinin 0.8 µg/mL dozda parazitemiyi baskıladığı görülürken, tetrasiklinin 1,6 µg/mL dozda parazitemiyi baskıladığı görülmüştür. *In vivo* ilaç çalışmamızda KG grubunda farelerde parazitemi yok olurken TG grubundaki farelerin hepsi 24. günde, TAKG grubundaki farelerin hepsi 12. günde ölmüştür.

Sonuç: Çalışmamız, klorokin temini geciktiğinde tetrasiklin tedavisi verilmesi ile paraziteminin ilerlemesinin geciktirilebileceği bu sürede klorokinin temin edilmesiyle ve tedaviye klorokin ile devam edilmesi durumunda hastanın ex olmasının önlenebileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Plasmodium*, *in vitro*, *in vivo*, Manisa, Türkiye

Geliş Tarihi: 25.04.2017

Kabul Tarihi: 03.08.2017

ABSTRACT

Objective: The World Health Organization (WHO) encourages all countries to investigate antimalarial drug substances derived from herbal sources with the slogan "Hunt of the Next Artemisinin" due to the emergence of resistant strains of *Plasmodium* species to artemisinin. In the broad and simple sense, it was planned to help guide the young researchers set *in-vitro* and *in-vivo* models of malaria in order to be used in drug research and active ingredient studies.

Methods: *In-vitro* study, young *Plasmodium berghei* trophozoites were removed from the liquid nitrogen tank and resuspended in appropriate conditions, followed by incubation with chloroquine and tetracycline at concentrations of 0.1, 0.4, 0.8, 1.6, 6.4, 12.8 µg/mL for 24 hours at +37°C in a shaking incubator. *In-vivo* studies, Tetracycline group (TG) and Chloroquine group (KG) were administered 50 mg/kg of tetracycline and chloroquine by intragastric lavage and untreated control group (TACG) were administered the same amount of saline via the same route. The suppression of parasitemia in mice was followed for 24 days.

Results: In our *in-vitro* study it was observed that 0.8 µg/mL of chloroquine and 1.6 µg/mL of tetracycline was enough to suppress parasitemia. In our *in-vivo* drug study, all of the mice in the TG group died at day 24, and all of the mice in the TAKG group died at day 12, with no parasitemia observed in the mice in the KG group.

Conclusion: Our study suggests that if tetracycline therapy is administered when the induction of chloroquine therapy is delayed, the exacerbation of the parasitemia may be prevented and when chloroquine is obtained chloroquine therapy can be commenced thus preventing the loss of the patient.

Keywords: *Plasmodium*, *in vitro*, *in vivo*, Manisa, Turkey

Received: 25.04.2017

Accepted: 03.08.2017

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Tuğba Kaya, E.mail: tugbakaya42@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5365

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

İnsanlık tarihinin eski zamanlarından bu yana bilinen sıtma, tarih boyunca tüm dünyanın ve Anadolu'nun en önemli hastalıklardan biri olmuştur. Uygurlık tarihi incelendiğinde, sıtma hastalığının Mezopotamya, Eti ve Yunan uygarlıklarının çöküş nedenleri arasında kabul edildiği görülmektedir.

Her 30 saniyede bir çocuğun sıtma nedeniyle hayatını kaybettiği dünyamızda nüfusun %40'ının sıtma riski altında bulunduğu, her yıl 300 milyon insanın enfekte olduğu ve yaklaşık 1 milyon kişinin sıtma nedeniyle hayatını kaybettiği bildirilmektedir. Bu nedenle 1998 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Birleşmiş Milletler Çocuk Fonu (UNICEF), Birleşmiş Milletler Gelişim Programı (UNDP) ve Dünya Bankası yeni bir mücadele başlatarak "Roll Back Malaria (RBM)" ortaklığını kurmuşlardır. Amacı 2010 yılına kadar tüm dünyada sıtma insidansını düşürmek ve risk altındaki bölgelerde yeni koruyucu önlemler geliştirmek olan bu kuruluşun planında, Türkiye Doğu Akdeniz Grubu Ülkeler içinde orta endemik riskli ülkeler arasında görülmektedir. Bu plan dahilinde WHO ve UNICEF' in yayınladığı 2005 yılı Dünya Sıtma raporunda; sıtma savaşında en büyük zorluğun ilaç direncinden kaynaklandığı ve yeni bulunan antimalaryal ilaç kombinasyonlarının hayat kurtarıcı olabileceği, pek çok ülkenin sıtma ilaç politikalarında değişiklik yaparak yeni tedavi kaynaklarına yöneldiği açıklanmaktadır (1, 2).

Sıtma ilaçlarına karşı gelişen parazit direnci günümüzde önemli sağlık sorunlarından biri olan sıtma ile savaşta başarı oranını düşürmektedir. Klorokin'e dirençli *P. falciparum* (KDPF) enfeksiyonları ilk olarak Güneydoğu Asya'da Tayland Kamboçya sınırındaki bölgede 1957 yılında görülmüş ve hızla Tayland'a yayılmıştır (3). Güney Amerika'da 1960 ve 1976 yıllarında Papua Yeni Gine'de KDPF enfeksiyonları bildirilmiştir (4, 5). Afrika'da 1978 yılında Kenya ve Tanzanya'ya seyahat eden kişilerde KDPF enfeksiyonları bildirilmiştir (6, 7). Direnç, 1983 yılından itibaren Afrika kıyı bölgelerinden içlere, Sudan, Uganda, Zambiya ve Malavi'ye yayılmıştır (8, 9). KDPF enfeksiyonlarının yayılması sonucu Tayland ve bazı Asya ve Güney Amerika ülkeleri 1973'te, Güney Afrika ülkelerinin bazıları 1988 ve bazıları da 1993 yıllarında birinci basamak ilaç seçeneği olan klorokini değiştirmişlerdir (10, 11). Klorokine dirençli *P. vivax* (KDPV) özellikle klorokinin yaygın olarak kullanıldığı bölgelerde görülmüştür. KDPV enfeksiyonları 1989 yılında Kolombiya'da, 1996 yılında Güney Amerika'da bildirilmiştir. Primakin, Kinin, Proguanil ve Primetamine karşı dirençli *P. vivax* olguları ise 1987 yılında Avustralya'dan bildirilmiştir (12, 13).

Daha sonra sıtma tedavisinde *Plasmodium*'ların dihidrofolat redüktaz ve dihidropteroat sentaz enzimlerini kodlayan genlerdeki özgül gen mutasyonlarının, antifolat kombinasyon ilaçlarına karşı gelişen direnci oluşturduğu gösterilmiştir (14). Tek başına kullanıldığında Atovakon'a karşı hızla direnç gelişebilmesine karşın, Proguanil Malaron™ kombinasyonunda veya Tetrasiklin gibi ikinci bir ilaçla kombine edildiğinde direnç çok daha yavaş gelişmektedir. Direncin sitokrom b genindeki nokta mutasyon sonucu geliştiği bildirilmiştir (15). Birçok ülkede hem *P. vivax* sıtmasında hem de *P. falciparum* sıtmasında hastalığın referans ilacı olan klorokine karşı direnç geliştiği belirlenmiştir. Dirençli *Plasmodium* türleri ile enfekte hastalarda *Artemisia annua* bitkisinden elde edilen "artemisinin" adlı etken maddenin sağaltımda oldukça etkili olduğu görülmüş ve dirençli olgularda bu maddeyi içeren

ilaçlar kullanılmaya başlanmıştır. Fakat 2009 yılında *Plasmodium* türlerinin "artemisinin" içeren ilaçlara da dirençli suşlarının ortaya çıkmaya başladığı bildirilmiştir. Bu nedenle sıtmanın tedavisinde yeni ilaçlara ve yeni ilaç kombinasyonlarının araştırılmasına ihtiyaç doğmuştur. Dünya Sağlık Örgütü günümüzde tüm ülkeleri "Bir Sonraki Artemisinin Avı" sloganıyla bitkisel kaynaklı antimalaryal etken maddeleri araştırmaya teşvik etmektedir. Bu nedenle sıtmanın tedavisinde yeni ilaçlara ve yeni ilaç kombinasyonlarının araştırılmasına ihtiyaç doğmuştur (16-19).

Yeni ilaçların geliştirilmesi ve değerlendirmesi süreci iki ana değerlendirme basamağından oluşmaktadır. Klinik öncesi değerlendirmede sentez edilen veya doğal kaynaklardan izole edilen kimyasal maddelerin, insanda hastalıkların tedavisinde kullanılmaları amacıyla klinik denemelere tabi tutulabilmeleri için önce mutlaka tarama testleri ve toksisite deneyleri yapılmalıdır. Tarama Testleri; yeni sentez edilen maddeler, genellikle toksisite deneylerine tabi tutulmadan önce tarama testlerine tabi tutulurlar. İn vitro ortamlarda tarama testleri yapılabilir ancak öngörülen etkinin özelliği nedeniyle bazı tarama testlerinin in vitro ortamda yapılması doğru olmayabilir. Eğer var ise tarama testlerinde hastalığı temsil eden hayvan modelleri mutlaka kullanılmalıdır. Bu sayede geliştirilme amacını oluşturan ve sahip olması öngörülen etki ya da etkileri gösteren maddeler belirlenir. Bu özelliği bulunmayan maddeler için deneme artık bu kademededir bitmiştir. Toksikite Testleri; ancak tarama testlerini başarı ile geçen bileşikler Toksikite Testlerine tabi tutulurlar. Bu aşamada fonksiyonel, biyokimyasal ve histopatolojik toksik etkileri incelenir. Klinik değerlendirme; basamağının ise Faz I, Faz II, Faz III ve Faz IV denemelerinden oluştuğu bildirilmektedir (20).

Çalışma sıtmanın tedavisinde yeni ilaç, ilaç kombinasyonları araştırılması ve etken madde taramaları konularında çalışacak genç araştırmacılara rehber olacak şekilde yardımcı olması amacıyla temel ve basit olarak planlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışmamızda *P. berghei* MRA-311 suşu kullanılmıştır. Kemiricilerin sıtma etkeni olan bu suş MR4-ATCC (American Type Culture Collection) Virginia, USA firmasından alınmıştır ve Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarlarında farelere 10 günde bir intravenöz pasajlar yapılarak canlılığı devam ettirilmiş ve daha sonra dereceli dondurma yöntemi ile kriyoprezervasyonu yapılarak saklanmıştır. Suş kullanılacağı zaman sıvı nitrojenden çıkarılarak hızlı bir şekilde +37°C'de çözülerek in vitro ve in vivo çalışmalarda bu suş kullanılmıştır. Çalışmalarımızda etken madde ve ilaç araştırma geliştirme çalışmalarına sıtmanın tedavisinde kullanılan klorokin (Sigma C6628; Saint Louis, USA) ve tetrasiklin (Sigma T3258; Saint Louis, USA) kullanılmıştır. Etik kurul onayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu / 11.04.2017 tarafından alınmıştır.

Sıtma in vitro model;

İn vitro ilaç çalışmaları için *Plasmodium*'ların genç trofozoit formlarına ihtiyaç vardır. Önceden in vitro kültürü yapılmış ve 24 saat sonunda 10⁷ olgun şizont ve merozoit formu bulunan süspansiyondan farelere yaklaşık 0,25 mL intravenöz olarak verilmiştir. Bu fareler 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık periyodu bulunan ortamda bırakıldıklarında 4. günde kabin içerisinde farenin göğüs kafe-

si açılarak intrakardiyak olarak steril şekilde yaklaşık %3'lük genç trofozoitleri bulunduran kan enjektör yardımı ile elde edilmiştir. Kan 8 dakika 1500 rpm'da çevrilerek çökeleğin üst tarafında oluşan *Plasmodium*'lar tarafından enfekte edilmiş eritrositleri içeren koyu halka dikkatlice alınmıştır. Alınan eritrositler %10'luk FCS içeren RPMI-1640'da dondurularak sıvı nitrojende saklanmıştır. İn vitro çalışmalarımızda bu dondurulan eritrositler kullanılmıştır.

İN vitro çalışmalarımız için genç trofozoitli eritrositleri içeren fare eritrosit solüsyonu santrifüjlenerek eritrosit çökeltisi elde edilmiştir. Elde edilen çökeltiye %10 FCS eklenmiş RPMI-1640 besiyeri ile %10 oranında sulandırılmıştır. Ardından kültür plaklarına 0,5 mL enfekte eritrosit solüsyonu ilave edilmiştir (Figür 1). Üzerlerine son dilüsyonları 0,1, 0,4, 0,8, 1,6, 6,4 ve 12,8 µgr/mL olacak şekilde RPMI-1640 besiyeri ile sulandırılmış 0,5'er mL klorokin (Sigma C6628; Saint Louis, USA) ve tetrasiklin (Sigma T3258; Saint Louis, USA) eklenmiştir. Ayrıca kontrol grubu için enfekte eritrosit süspansiyonu eklenmiş çukurlara sadece RPMI-1640 besiyeri de eklenmiştir. Eritrosit süspansiyonu mikrobiyolojik jar içine yerleştirilerek %5 CO₂, %5 O₂, %90 N₂ ortamı olan +37°C'lik çalkalamalı etüve kaldırılmıştır. CO₂ seviyesini artırmak ve O₂ seviyesini daha da azaltmak amacıyla kültür kaplarını koyduğumuz cam jar içine mumlar yerleştirilerek yakılmış ve ağzı kapatılmıştır (Figür 2). Kültivasyon 24 saat süre ile takip edilmiştir. Bu işlemler 3 kez tekrar edilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir (21).

Sıtmada *in vivo* Model

İN vivo çalışmalarımız için 3-4 aylık Balb/C cinsi erkek fareler kullanılarak 3 grup oluşturulmuştur. Tüm gruplardaki fareler 20-25 gr ağırlığında olup beslenmesinde standart hayvan yemi ve içme suyu olarak da çeşme suyu kullanılmıştır.

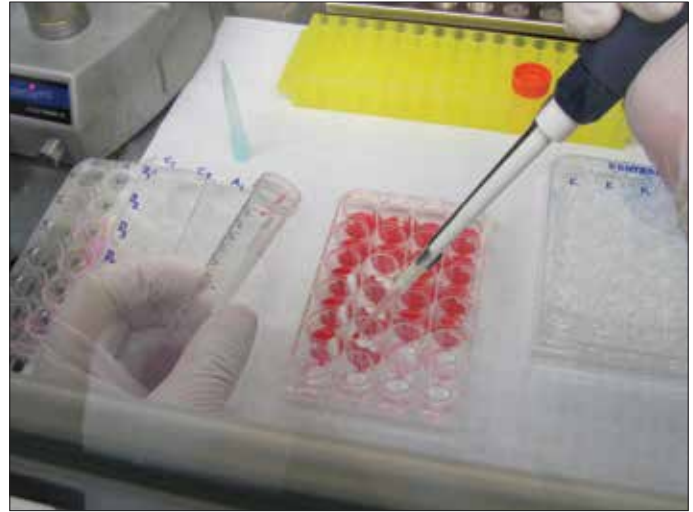
Yaklaşık %30 oranında parazitemisi bulunan enfeksiyonlu fareden alınmış ve fizyolojik su ile sulandırılarak 10⁸/mL *P. berghei* yoğunluğuna ayarlanan eritrosit solüsyonu her fareye kuyruk veninden 0,2 mL (2x10⁷ adet *P. berghei*) verilmiştir.

Çalışmamızda tetrasiklin grubu (TG), sıtma referans ilacı olan klorokin grubu (KG) ve tedavi almamış kontrol grubu (TAKG) olmak üzere 3 çalışma grubu oluşturulmuştur ve her grupta 6 adet fare olacak şekilde kafeslere alınmış etiketlenerek üzerlerine gerekli bilgiler yazılmıştır (22).

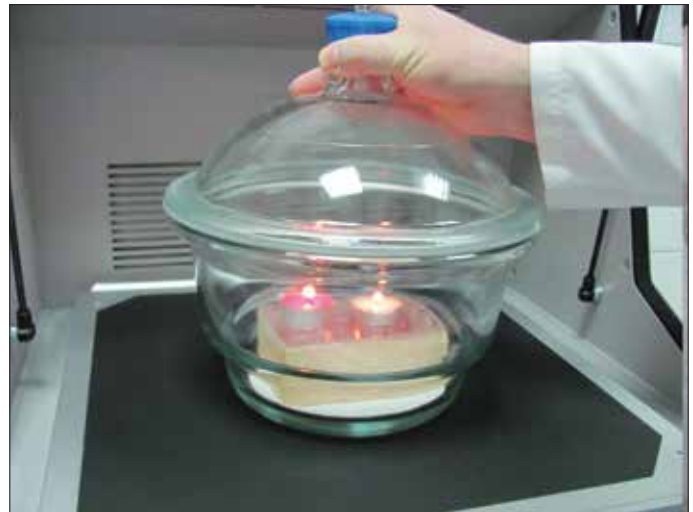
Farelere enfeksiyon verildikten 4, 24, 48, 72 saat sonra her gruba kendine özgü olan tedavi uygulanmaya başlanmıştır. TG ve KG gruplarına tedavi intragastrik lavaj yoluyla 50 mg/kg dozunda oral olarak uygulanmıştır. TAKG'na ise aynı miktarda serum fizyolojik verilmiştir (23, 24,25).

Farelere tedavi uygulandıktan sonra 2 günde bir kuyruk veninden kan alınmaya başlanmıştır. Alınan kan ile ince yama kan preparatları hazırlanmıştır. Preparatlar metil alkolle 2-3 dakika tespit edildikten sonra Giemsa boyama yöntemi ile boyanmıştır ve ışık mikroskobu ile 10 farklı sahadaki enfekte eritrositler sayılarak parazitemi oranı hesaplanmıştır (Figür 3-8). Bu işlemlere 2 günde bir kan alınmak üzere 24 gün boyunca devam edilmiştir

Farelerdeki parazitemi hesaplanmasında; her bir alanda 100 enfekte eritrosit sayılıp yüzdeleri alınarak toplanmıştır. Elde edilen değer 10 sahanın ortalamasını almak için 10'a bölünmüştür. Bu şekilde farelerdeki ortalama parazitemi yüzdesi hesaplanmıştır (26).



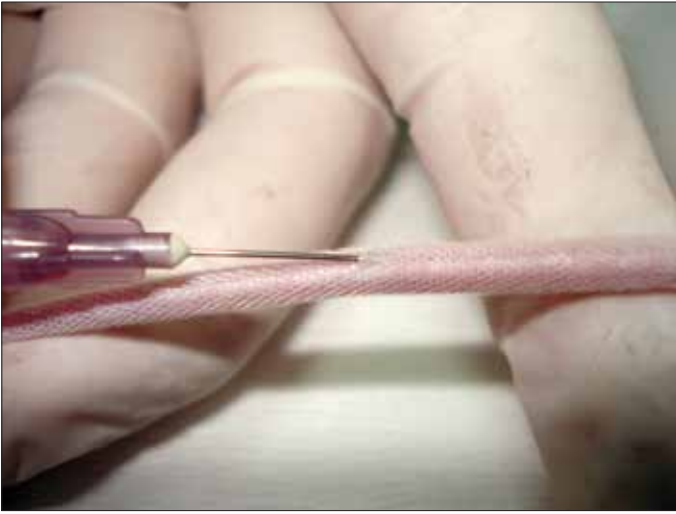
Figür 1. İn vitro direnç testleri



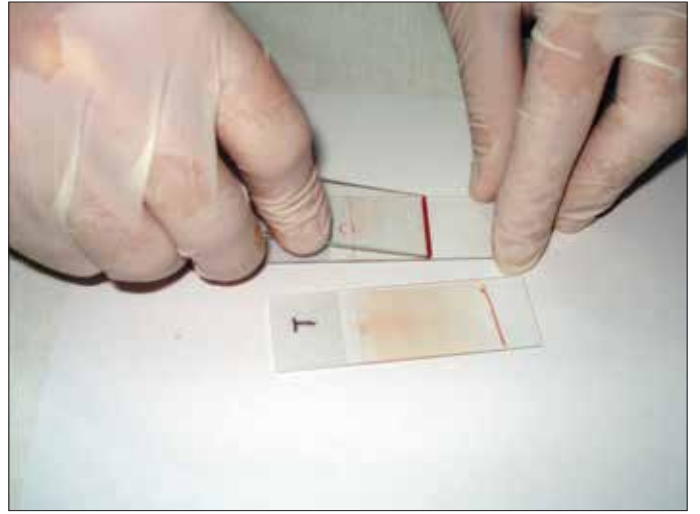
Figür 2. Mikrobiyolojik jar içinde *in vitro* kültürasyon



Figür 3. *P. berghei*'nin I.V. enfeksiyonunun enjeksiyonu için hayvanın zapturapt altına alma



Figür 4. *P.berghei*'nin I.V. enfeksiyonunun enjeksiyonu



Figür 7. Farelerin kan yaymalarının yapılması



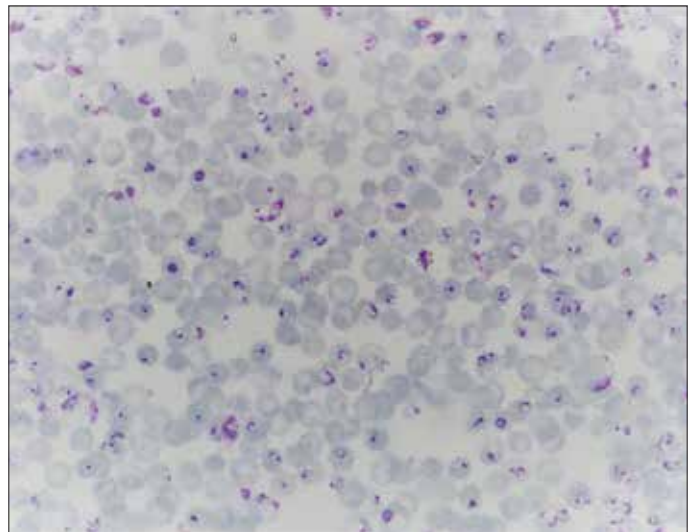
Figür 5. Farelere intragastrik gavaj yoluyla oral olarak ilaç uygulaması



Figür 8. Preparatların boyanması



Figür 6. Farelerden kan alınması



Figür 9. Kültür başlangıç ortamındaki *P. berghei*'nin genç trofozoitler (2. Saat)

BULGULAR

Plasmodium berghei'nin 24 saatlik kültüründe; kontrol grubunda inkübasyon süresinin başında enfekte eritrositlerin tamamında trofozoitler görülürken, 8-12 saatten itibaren olgun trofozoitler ve şizontlar, 22-24. saatte ise olgun şizontlar ve merozoitler saptanmıştır (Figür 9-12; Tablo 1).

İn vitro ilaç direnç testlerinde, klorokin içeren çukurcukların 0,8 µg/mL dozda klorokin içeren kısımlarında enfekte eritrositlerin tamamında trofozoit evresi bulunmuş, ancak şizont evresine geçişin engellendiği tespit edilmiştir. Tetrasiklin içeren gruplarda ise % 21 şizont evresine geçiş olduğu belirlenmiştir. 0,1 ve 0,4 olan ilaç dozlarında tetrasiklin çukurcuklarında sırasıyla %12, %0,5 oranlarında şizont evresi belirlenmiş, klorokin çukurcuklarında ise eritrositlerin tamamında trofozoit formları belirlenmiştir. İlaç dozu 1,6, 6,4 ve 12,8 µg/mL olan çukurcuklarda ise hem tetrasiklin hem de klorokin çukurcuklarında 24 saat sonunda enfekte eritrositlerin tamamında trofozoit formları belirlenmiştir.

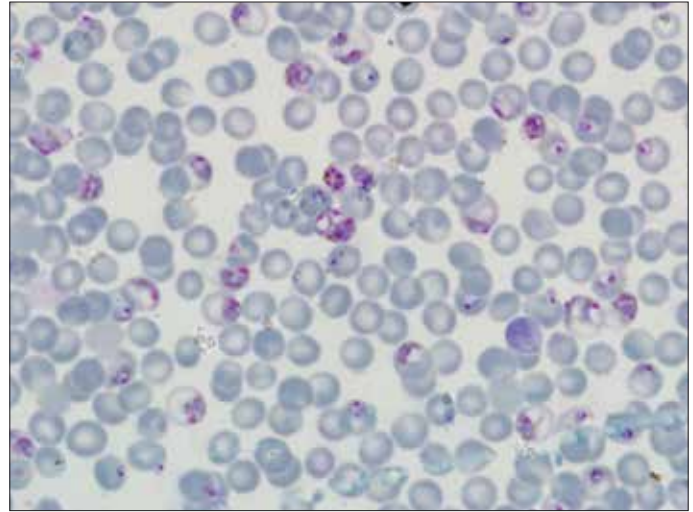
İn vivo ilaç çalışmalarımız sonucu ise tabloda görüldüğü üzere klorokin grubunda 4. günden itibaren parazitemi oranı azalmaya başlamış, 8. günde parazitemi oranı 0,26'ya kadar düşmüş ve 10. gün enfeksiyon tamamen ortadan kalkmıştır (Figür 13-16; Tablo 2). TAKG'unda parazitemi oranı devamlı olarak artarak 10.günde parazitemi oranı 28,92'ye ulaşmıştır ve 12. günde gruptaki tüm fareler ölmüştür. TG' unda ise 22. günde parazitemi oranı 29,82'ye yükselmiş ve 24. günde fareler ölmüştür. Aslında TG' unda TAKG' una paralel olarak parazitemi oranı devamlı olarak artmış ancak bu oran aşamalı ve yavaş bir şekilde arttığı için bu gruptaki farelerin yaşam ömrü uzamıştır. Ki-kare (χ^2) testi ile klorokin ve tetrasiklin

Tablo 1. Kültür başlangıcından itibaren zamana göre *P. berghei*'nin eritrositler formlarının gelişimi

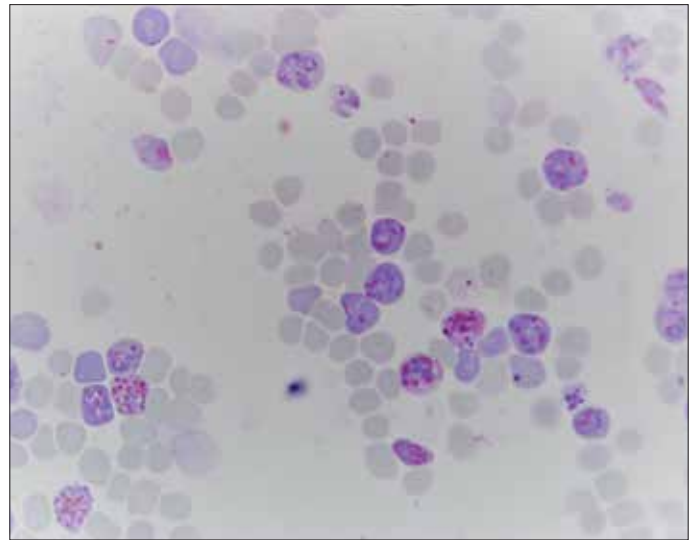
Genç Trofozoitler	Kültürün başlangıcından sonraki 6-7 saat
Olgun Trofozoitler	Kültürün başlangıcından sonraki 8-11 saat
Genç Şizontlar	Kültürün başlangıcından sonraki 12-16 saat
Olgun Şizontlar ve Merozoitler	Kültürün başlangıcından sonraki 22-24 saat

Tablo 2. İn vivo çalışma gruplarındaki parazitemi Oranları

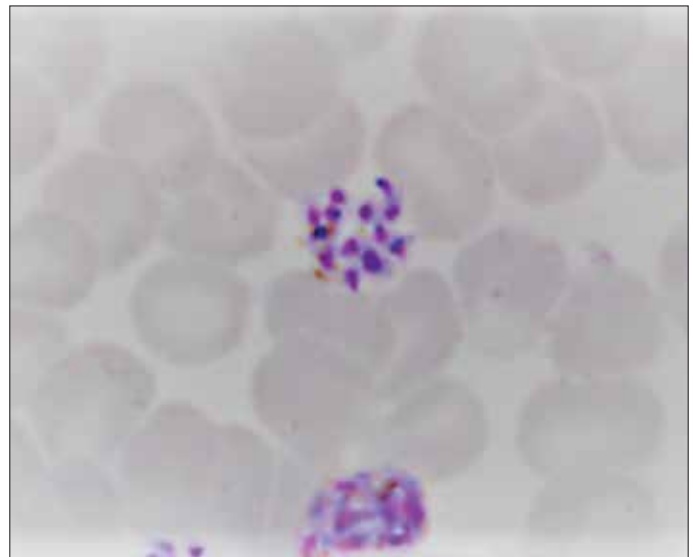
GÜN	TG	KG	TAKG
2	1,06	1,03	1,32
4	2,18	2,22	3,43
6	2,70	1,69	7,00
8	3,10	0,26	14,18
10	4,12	0,00	28,92
12	8,31	-	Ex
14	12,10	-	-
16	18,90	-	-
18	22,21	-	-
20	25,43	-	-
22	29,82	-	-
24	Ex	-	-



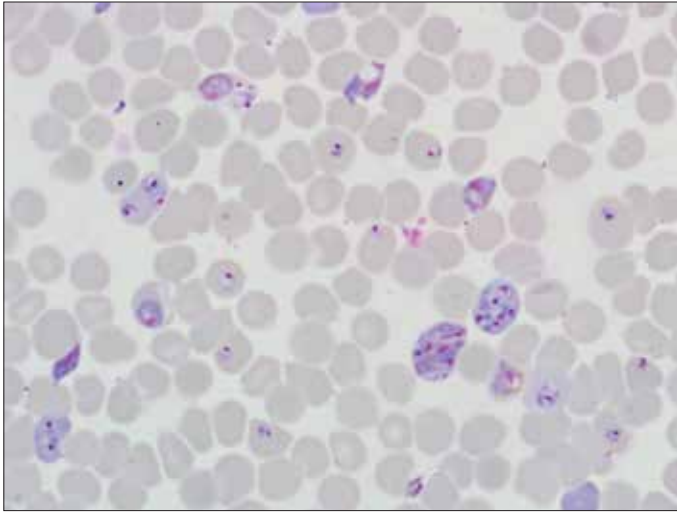
Figür 10. Kültür ortamındaki *P. berghei*'nin şizontlar (12. Saat)



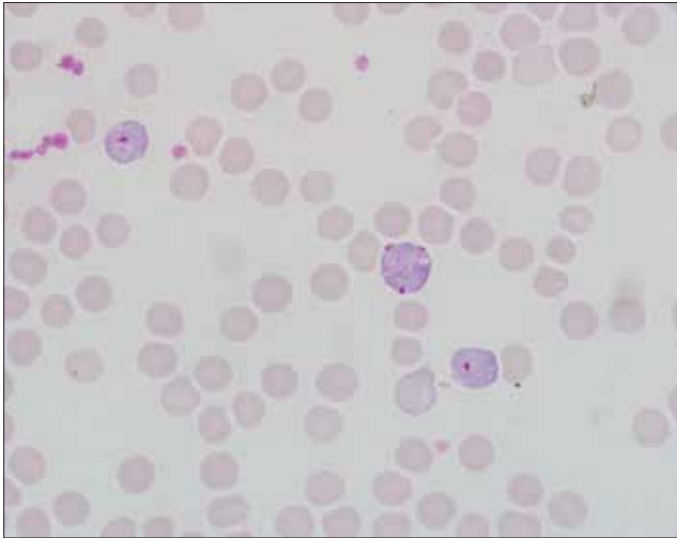
Figür 11. Kültür ortamındaki *P. berghei*'nin olgun şizontlar (22. Saat)



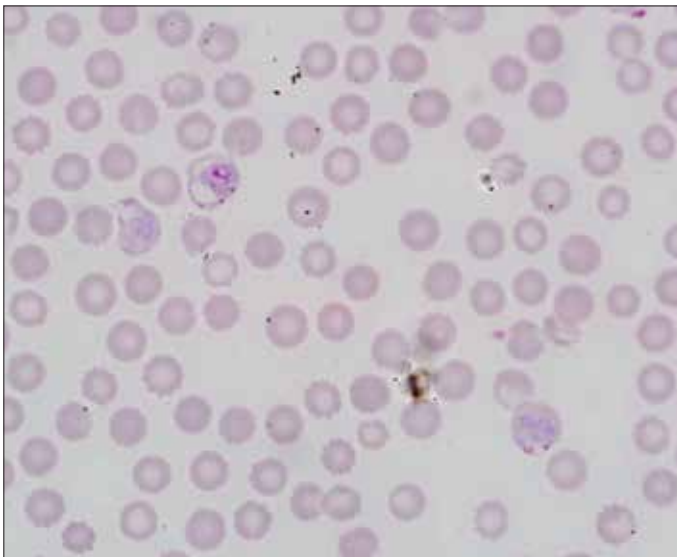
Figür 12. Kültür ortamındaki *P. berghei*'nin merozoitler (24. Saat)



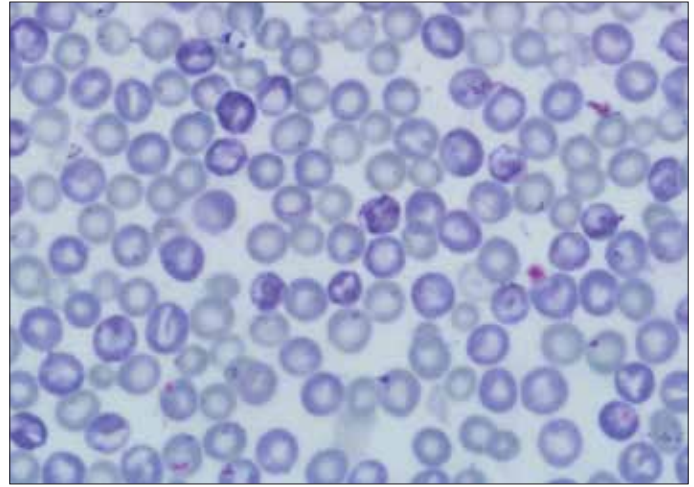
Figür 13. Tedavi Almamış Kontrol Grubu



Figür 14. Klorokin Grubu 4. gün kandaki parazitemi



Figür 15. Klorokin Grubu 6. gün kandaki parazitemi



Figür 16. Klorokin Grubu 10. günde kandaki paraziteminin kayboluşu

lin ilaç grupları arasında kandaki parazitemi açısından değerlendirildiğinde 6. güne kadar anlamlı bir fark görülmezken ($p>0,05$) 8. günden sonra ise anlamlı ($p<0,05$) bir fark bulunmuştur.

TARTIŞMA

Geniş spektrumlu antibiyotiklerden birisi olan ve 1940'ların başında keşfedilmiş olan tetrasiklinlerin, *Plasmodium* da dahil olmak üzere bir çok protozoa üzerine etkili olduğu belirtilmiştir. Ancak tetrasiklinlerin parazitler üzerine etkileri ile ilgili araştırmalar devam etmektedir. (27).

Klorokin kandaki eritrositer şizogoni şekillerine hızlı bir şekilde etkili olan, güvenli ve uygun dozlarda verildiğinde hasta tarafından iyi tolere edilebilen kan şizontosidi olarak değerlendirilmektedir (28, 29, 30, 31).

Biz bu çalışma da sıtma tedavisinde başarı ile kullanılan klorokini ve *Plasmodium*'lara karşı etkili olduğu bilinen tetrasiklini antimalarial etkisinden dolayı seçilmiştir. Seçilen bu iki ilacın *P. berghei* üzerine *in vivo* ve *in vitro* modellerdeki etkinliğini çalışarak Türkiye'de sıtma konusunda yapılacak olan *in vitro* ve *in vivo* modellerdeki ilaç çalışmaları ve etken madde taramaları için birçok araştırmacıya rehber olması amaçlanmıştır.

In vitro olarak 22-24 saatlik bir sürede parazitlerin halka formlarından olgun şizontlara dönüştüğü ve sadece bir gelişimsel döngü geçirdiği bildirilmiştir. Kültür ortamında, *P. berghei* olgun şizontlarının kendiliğinden patlayamadığı ve kültürde retikülosit miktarının az olduğundan merozoitlerin başka hücrelere girişinin sınırlı olduğu saptanmıştır. Parazitlerin gelişim oranı sıcaklığa bağlı olduğundan dolayı kültür ortamının sıcaklığının kritik öneme sahip olduğu rapor edilmiştir. Parazitlerin; 38.5°C'nin üzerinde dejenerasyonu olduğu ve 37°C'nin altında ise parazitlerin canlı olgun şizontlara dönüştüğü, ancak gelişim süresinin uzadığı bildirilmektedir. Parazitlerin 30°C sıcaklıkta bile olgun şizontlara dönüştüğü ancak bunun 48 saatten daha fazla sürdüğü belirtilmiştir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda genç trofozidler için kültür başlangıcından itibaren 6.-7. saatte kültürde görüldüğü bildirilirken, bu süre olgun trofozidler için kültür başlangıcından sonraki 12.-13. saatte, genç şizontların kültür başlangıcında sonraki 16.-17. saatte, olgun şizontların

ise kültür başlangıcından sonraki 21.-22. saatte görüldüğü belirtilmektedir (32, 21).

Bizde çalışmamızda kontrol kuyucuklarında genç trofozitolere kültür başlangıcından 6-7 saat sonra rastlarken, olgun trofozitolere, genç şizontlara, olgun şizontlara ve merozoitlere sırasıyla kültür başlangıcından sonraki 8-11, 12-16, 22-24 saat sonra rastladık.

İlaçsız kontrol grubu olarak *P. berghei*'lerin evrimini izlediğimiz kuyucukların tamamında kültürün tamamlandığı 24. saatin sonunda olgun şizont ve merozoitler görülmüştür.

İn vitro ilaç direnç testlerinde, klorokin içeren çukurcuklarda 24 saatin sonuna kadar 0,8 µg/mL dozda klorokin içeren kısımlarında enfekte eritrositlerin tamamında trofozoit evresi bulunmuş, ancak şizont evresine geçişin engellendiği tespit edilmiştir. Tetrasiklin içeren gruplarda ise % 21 şizont evresine geçiş olduğu belirlenmiştir. 0,1 ve 0,4 olan ilaç dozlarında ise, tetrasiklin çukurcuklarında sırayla %12, %0,5 oranlarında şizont evresi belirlenmiş, klorokin çukurcuklarında ise eritrositlerin tamamında trofozoit formları belirlenmiştir. İlaç dozu 1,6, 6,4 ve 12,8 µgr/mL olan çukurcuklarda ise hem tetrasiklin hem de klorokin çukurcuklarında 24 saat sonunda enfekte eritrositlerin tamamında trofozoit formları belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada *P. berghei* tedavisi için farelere 4 gün boyunca 50 mg/kg dozunda tetrasiklin verildiğinde güçlü antimalarial etki gösterdiği bildirilmiştir (25).

Yapılan diğer bir çalışmada ise 50 mg/kg oral dozla 3 gün boyunca klorokin verilen farelerde *Plasmodium*'un eritrosit formlarının 10. günde kanda tamamen temizlendiğinin görüldüğü bildirilmiştir (33).

Klorokin gruplarında tedavi dozu olarak günde tek doz 50 mg/kg olarak oral yolla 3 gün boyunca farelere klorokin verilen başka araştırmacıların yaptığı çalışmalarda da benzer sonuçların alındığı rapor edilmiştir (24, 34).

Klorokinin tedavi dozu olarak günde tek doz 50 mg/kg olarak oral yoldan 3 gün boyunca verilen çalışmalarda paraziteminin 10. günde tamamen kaybolduğu saptanmış ve klorokinin kemirgen sıtma türleri ile oluşturulan fare modellerinde gösterdiği bu etki farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmalara paralel olarak 50 mg/kg dozlarda oral olarak ilaç verilen gruplarda 10. gün paraziteminin tamamen kaybolduğu görülmüştür.

Tetrasiklin dozu olarak ise diğer araştırmacılar da kanda parazitemiyi sınırladığını bildirmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise ilk gün günde 2 kez, 2. ve 3. gün ise tek doz olarak 50 mg/kg tetrasiklin uygulandığında; tetrasiklinin parazitemiyi enfeksiyon başlangıcından 96. saate kadar sınırladığı, 96. saatten sonra bu baskılamanın azalmaya başladığı ve paraziteminin artarak 22. günde 29,82'ye ulaştığı, 24. gün ise gruptaki tüm farelerin öldüğü görülmüştür. Tetrasiklin grubunun klorokin grubuna göre parazitemiyi azaltmamış, tetrasiklin grubunda sadece parazitemiyi baskılamış, klorokin grubunda parazitemi 10. günde tamamen kaybolduğu görülmüştür. Kontrol grubunda ise parazitemi diğer iki gruba göre daha hızlı artarak 10. gün 29,82 ye ulaşmış ve 12. gün de gruptaki tüm farelerin öldüğü görülmüştür.

SONUÇ

Çalışacak genç araştırmacılara rehber olacak şekilde en temel ve basit olarak sıtmanın *in vivo* ve *in vitro* modelleri kurularak ilaç araştırmalarında ve etken madde taramalarında yardımcı olması amacıyla planlanan çalışmamızda aldığımız sonuçların literatür bilgileri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Ayrıca klinisyenlerin klorokin temininin gecikmesi durumunda hasta kaybının önlenmesi için tetrasiklin tedavisi verilmesinin parazitemiyi baskılayarak hastanın ölmesinin de ertelenebileceğini düşündürmüştür.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alınmıştır.

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

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

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the Manisa Celal Bayar University Faculty of Medicine Local Ethics Committee for Animal Experiments.

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

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

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. Who. World Malaria Report. Who And Unicef, (Available from: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9241593199/en/>)
2. World Malaria Report 2012. Available From: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2012/en/
3. Harinasuta T, Suntharasamai P, Viravan C. Chloroquine-Resistant *Falciparum* Malaria In Thailand. *Lancet* 1965; 2: 657-60. [CrossRef]
4. Moore DV, Lanier JE. Observations on Two *Plasmodium falciparum* Infections With an Abnormal Responce To Chloroquine. *Am J Trop Med Hyg* 1961; 10: 5-9. [CrossRef]
5. Grimond TR, Donovan KO, Riley ID. Chloroquine Resistant Malaria In Papua New Guinea. *P N G Med J* 1976; 19: 184-5.
6. Campbell CC, Chin W, Collins WE, Teutsch SM, Moss DM. Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* from East Africa: cultivation and drug sensitivity of the Tanzanian I/CDC strain from an American tourist. *Lancet* 1979; 2: 1151-4. [CrossRef]
7. Fogh S, Jepsen S, Effersoe P. Chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* Malaria in Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hgy* 1979; 73: 228-9. [CrossRef]

8. Ekue J, Ulrich Am. Chloroquine Resistant Malaria İn Zambia. Br Med J Clin Res Ed 1983; 286: 1315-6. [CrossRef]
9. Who. Onori, E. *Plasmodium Falciparum* Drug Resistance İn Africa. 60, Pp: 899-906, Geneva, Switzerland (1984).
10. Boland PB, Kazembe PN, Oloo AJ, Himonga B, Barat LM, Ruebush TK. Chloroquine İn Africa. Trop Med Int Health 1998; 3: 543-52. [CrossRef]
11. Boland PB, Ettling M. Making Malaria Treatment Policy İn The Face Of Drug Resistance. Ann Trop Med Parasitol 1999; 93: 5-23. [CrossRef]
12. Kshirsagar NA, Gogtay NJ, Rajgor D, Dalvi SS, Wakde M. An unusual case of multidrug-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Mumbai (Bombay), India. Ann Trop Med Parasitol 2000; 94: 189-90. [CrossRef]
13. Boland PB. Drug Resistance İn Malaria. Who, Cdc Monograph 2001; Pp: 2-25.
14. Plowe CV, Kublin JG, Duombo OK. P. *Falciparum* Dihydrofolate Reductase and Dihydropteroate Synthase Mutations: Epidemiology and Role in Clinical Resistance to Antifolates. Drug Resistance Updates 1998; 1: 389-96. [CrossRef]
15. Makler MT, Palmer CJ, Ager AL. A Review of Practical Techniques for the Diagnosis of Malaria. Ann Trop Med Parasitol 1998; 92: 419-33. [CrossRef]
16. Who. Monograph On Good Agricultural Collection Practices For *Artemisia Annua*. Who Library Cataloguing-İn Publication Data, (2006).
17. Who. The Hunt For The Next Artemisinin, Tdr News, No.79, Dec. (2007).
18. Who. World Malaria Report, Who Library Cataloguing-İn-Publication Data, Isbn 978 92 4 156390, (2009a).
19. Who. Containment Of Artemisinin Tolerant Parasites İn South-East Asia Version 1, 28 April, Pp: 1-11, (2010b).
20. Kayaalp OS. Klinik-Öncesi Değerlendirmesi. Klinik Farmakolojinin Esasları Ve Temel Düzenlemeler. S.29-46. 4. Baskı, Faryal Matbaacılık, Ankara, (2008).
21. Östan İ, Kurt Ö, Özbişgin A. *Plasmodium berghei*'nin *In vitro* Kültürü: Klorokin Ve Artesunat İlaç Direnç Testlerinin Uygulanması. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2013; 19: 909-12. [CrossRef]
22. Muregi FW, Ishih A, Miyase T, Suzuki T, Kino H, Amanod T, Mkoji GM, Terada M. Antimalarial Activity Of Methanolic Extracts From Plants Used İn Kenyan Ethnomedicine And Their İnteractions With Chloroquine (Cq) Against A Cq-Tolerant Rodent Parasite, İn Mice. J Ethnopharmacol 2007; 111: 190-5. [CrossRef]
23. Ural İO, Kayalar H, Durmuskahya C, Cavuş İ, Özbişgin A. *In vivo* Antimalarial Activity Of Methanol And Water Extracts Of *Eryngium Thorifolium* Boiss (Apiaceae Family) Against *P. berghei* in Infected Mice. Tropical Journal Of Pharmaceutical Research August 2014; 13: 1313-7. [CrossRef]
24. Elufioye TO, Agbedahunsi JM. Antimalarial Activities Of *Tithonia Diversifolia* (Asteraceae) And *Crossopteryx Febrifuga* (Rubiaceae) On Mice *in Vivo*. J Ethnopharmacol 2004; 93: 167-71. [CrossRef]
25. Draper MP, Bhatia B, Assefa H, Honeyman L, Garrity-Ryan LK, Verma AK, et al. *In vitro* And *In vivo* Antimalarial Efficacies Of Optimized Tetracyclines. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57: 3131-6. [CrossRef]
26. Girginkardeşler N, Balcıoğlu İC, Değerli K, Limoncu ME, Ok ÜZ, Özbişgin A. Trimetoprim-Sülfametaksazol, Eritromisin Ve Klorokinin Farellerdeki *Plasmodium yoelii* Enfeksiyonuna Karşı İn Vivo Etkilerinin Karşılaştırılması. Türkiye parazitoloj derg 1997; 21: 233-6.
27. Gaillard T, Madamet M, Pradines B. Tetracyclines İn Malaria. Malar J 2015; 14: 445. [CrossRef]
28. Kuman HA. Sıtma (Malaria). Ed. Özcel, M. A. Gap'ı Tehdit Eden Parazit Hastalıkları. S: 31-55. T Paraz Dern Yayın No:13, 19959, (1993).
29. Özcel MA. Sıtma Epidemiyolojisi. Tıbbi Parazit Hastalıkları Kitabı. Editör: Özcel MA. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 22. Bölüm; Kan Ve Dokularda Görülen Protozoon Hastalıkları. S:79-140, İzmir, (2007).
30. Who. Guidelines For The Treatment Of Malaria. Second Edition, Geneva, Switzerland, Pp:13-56 (2009b).
31. Özbişgin A, Topluoğlu S, EsS, İşlek E, Mollahaliloloğlu S, Erkoç Y. Sağlıkta Dönüşüm Programı Kapsamında Sıtmayla Savaş Programının Detaylı Analiz Ve Değerlendirme Çalışması Ed: Prof. Dr. Recep Akdağ T.C. Sağlık Bakanlığı Analiz Raporu 2-40, Ankara (2010).
32. Janse CJ, Ramesar J, Waters AP. *Plasmodium berghei*: General Parasitological Methods. Laboratory Guide Book, 2004; Pp:1-14, Leiden University Medical Center (Lumc) Press, Netherland, 2004.
33. Özbişgin A, Kayalar H, Östan İ, Durmuşkahya C, Tabak T, Yakın V, Aşar K, Muslu H. Türkiye'de Yayılış Gösteren Bazı Endemik Bitki Türlerinin Sıtma Modellerinde Antimalaryal Etkisinin Araştırılması: Klinik Öncesi Tarama Testleri. Tübitak Projesi, Tübitak Proje No: 108S168, 2011.
34. Girginkardeşler N, Balcıoğlu İC, Değerli K, Limoncu ME, Ok ÜZ, Özbişgin A. Trimetoprim-Sülfametaksazol, Eritromisin Ve Klorokinin Farellerdeki *Plasmodium yoelii* Enfeksiyonuna Karşı İn Vivo Etkilerinin Karşılaştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg 1997; 21(3), S. 233-6.

Centaurea lydia (Peygamber Çiçeği) ve *Phlomis nissolii* (Çalba) Endemik Bitkilerinin *Toxoplasma gondii* Üzerine Etkisi

Effect of Extracts of the Endemic Plants *Centaurea lydia* and *Phlomis nissolii* on *Toxoplasma gondii*

Zeynep Özlem Doğan Şığva¹, Ezgi Eylül Hasvatan², Gizem Gülen², Remzi Uslu², Beyza Eryıldız², Cenk Durmuşkahya³, Hüsniye Kayalar⁴, Ahmet Özbilgin⁵, Metin Korkmaz⁶, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²İzmir Büyükşehirli Özel Türk Koleji, İzmir, Türkiye

³İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Orman Fakültesi, Orman Botaniği Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

⁶Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Doğan Şığva ZÖ, Hasvatan EE, Gülen G, Uslu R, Eryıldız B, Durmuşkahya C, Kayalar H, Özbilgin A, Korkmaz M, Gündüz C. Effect of Extracts of the Endemic Plants *Centaurea lydia* and *Phlomis nissolii* on *Toxoplasma gondii*. Türkiye Parazitol Derg 2017; 41: 164-8.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada *Centaurea lydia* (Peygamber çiçeği) ve *Phlomis nissolii* (Çalba) endemik bitkilerinden elde edilen ekstraktların *T. gondii* trofozoitleri ile enfekte edilmiş fibroblast hücre kültüründe potansiyel antitoksoplazma etkinlikleri araştırılmışı amaçlanmıştır.

Yöntemler: *Centaurea lydia*' in hekzan, kloroform, metanol ekstraktlarının ve *Phlomis nissolii*' nin etanol, kloroform ve infüzyon ekstraktlarının sitotoksisiteleri WST-1 testi ile kolorimetrik değerlendirilmiştir. Endemik bitki ekstraktları ile muamele edilmiş (55 µg/ml) ve kontrol WI-38 hücre hatları 5×10⁵ *T. gondii* trofozoiti ile enfekte edilmiş, 7. gün, 14. gün ve 24. günde besi yerindeki parazit sayısı belirlenmiştir.

Bulgular: *C. lydia* ve *P. nissolii* ekstraktlarının 0,86-55 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlarının WI-38 hücre hattında herhangi bir sitotoksik bir etki saptanmamış ve bu ekstraktların fibroblast hücre hattı üzerinde sitotoksosite göstermemesi olumlu bir etki olarak değerlendirilmiştir. *C. lydia* ekstresi 55 µg/mL konsantrasyonu *T. gondii* trofozoitlerine karşı belirgin bir aktivite göstermiştir. Trofozoit sayısında ekstre verilmeyen grupta 47,5 katlık bir artış saptanırken, *C. lydia* ekstresi verilen grupta ise 84 katlık bir azalma saptanmıştır. *P. nissolii* ekstresi verilen grupta ise 36 katlık bir artış saptanmış ve antitoksoplazma aktivitesi göstermemiştir.

Sonuç: Endemik bitki *C. lydia* ekstresinin toksoplazmozis tedavisi için iyi bir aday ilaç olabileceği gösterilmiştir. *In vitro* olarak gösterilen bu etkinliğin *in vivo* hayvan modellerinde araştırılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Toxoplasma gondii*, *Centaurea lydia*, *Phlomis nissolii*, sitotoksosite, hücre kültürü

Geliş Tarihi: 11.07.2017

Kabul Tarihi: 21.08.2017

ABSTRACT

Objective: This study aimed to investigate the potential antitoxoplasma activities of extracts of the endemic plants *Centaurea lydia* and *Phlomis nissolii* in a fibroblast cell culture infected with *T. gondii* trophozoites.

Methods: WI-38 cell lines treated with plant extracts (55 µg/mL each) and an untreated control were infected with 5×10⁵ *T. gondii* trophozoites, and the number of parasites in the medium was determined on days 7, 14, and 24.

Results: No cytotoxic effects of *C. lydia* and *P. nissolii* extracts were detected at concentrations of 0.86–55 µg/mL in the WI-38 cell line, and the absence of the cytotoxicity of these extracts on the fibroblast cell line was considered as a positive effect. *C. lydia* extract at 55 µg/mL had marked activity against *T. gondii* trophozoites. A 47.5-fold increase was observed in the number of trophozoites in the control group, while a 84-fold decrease was found in the *C. lydia* extract group. However, a 36-fold increase was detected in the *P. nissolii* extract group, indicating no antitoxoplasma activity.

Conclusion: The extract of *C. lydia*, an endemic plant, was found to be a good drug candidate for treating toxoplasmosis. The *in vitro* activity of the extract of this endemic plant should be further investigated in animal models *in vivo*.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, *Centaurea lydia*, *Phlomis nissolii*, cytotoxicity, cell culture

Received: 11.07.2017

Accepted: 21.08.2017

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Zeynep Özlem Doğan Şığva, E.mail: ozlemdogan99@gmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5451

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

GİRİŞ

Toksoplazmozis, zorunlu hücre içi paraziti olan *Toxoplasma gondii* tarafından oluşturulan, tüm memelilerde ve kanatlılarda görülen yaygın bir enfeksiyondur. Etken insana, kedi ve kedi dışkısı bulaşmış besinlerdeki ookistlerle, doku kisti taşıyan çiğ veya az pişmiş etlerin ağız yoluyla alınmasıyla, enfekte anneden fetüse plasenta yolu ile veya kan yoluyla bulaşabilir (1, 2). Toksoplazmozis tedavisinde ilk tercih olarak pirimetamin ve sülfadiazinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Ancak enfeksiyonu geçirmekte olan gebe kadınlarda bebeğe geçişi engellemek için kullanıldıklarında veya bağışıklığı baskılanmışlarda kullanımlarını sınırlayacak düzeyde ciddi yan etkiler gelişebileceği gösterilmiştir. Bu tür durumlarda bu olgular spiramisin, atovaquon veya klindamisin ile tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Kansere tedavisi, organ transplantasyonları ve HIV enfeksiyonu gibi bağışıklığı baskılanan olgu sayılarındaki artış ve bu olgularda bu fırsatçı enfeksiyonun ağır seyretmesi nedeniyle, *T. gondii*'ye yönelik yeni ilaçların geliştirilmesi ayrı bir önem taşımaktadır (3-5).

Dünyanın sadece belirli bir yerinde bulunan ve belirli iklim şartlarında yetişen, başka yerde yetişmeyen bitkilere "endemik bitkiler" adı verilmektedir. Türkiye'nin endemik bitki türleri bakımından oldukça zengin bir varlığa sahip olduğu ve Avrupa'daki 2,500 endemik bitki türüne karşılık, tek başına Türkiye'de 3,000 endemik tür bulunduğu belirtilmektedir (6). Bu tür zenginliklerimiz yeni ilaçların geliştirilmesi için iyi bir aday olabilir. *Centaurea lydia* (Peygamber Çiçeği), Asteraceae familyasına ait olup, bu genus Akdeniz bölgesi ve Batı Asya ülkelerinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Antioksidan, antimikrobiyal, antitümoral ve antiinflamatuar özelliklere sahip çok sayıda sekonder metabolit açısından zengin bir genustur. *Centaurea* türlerinden elde edilen seskiterpen yapısındaki bileşiklerin sitotoksik ve antitümoral özellikte oldukları bulunmuştur (7, 8).

Phlomis nissolii (Çalba), Labiatae familyasına ait olup, bu familyaya ait bitkiler özellikle flavonoid içeriği bakımından zengin bitkilerdir. Bu familyaya dahil *Phlomis* türleri, uçucu yağlar, flavonoidler gibi sekonder metabolit içermektedirler. *Phlomis* türlerinin içerdiği bu sekonder bileşiklerin çeşitliliği nedeniyle biyolojik aktivite araştırmaları da oldukça geniş çapta ve farklı alanlarda yapılmıştır. *In vivo* şartlarda antidiyabetik, antialerjik, analjezik, antiülserojenik, antiinflamatuar etkileri yanısıra, *in vitro* şartlarda damar koruyucu, antibakteriyel ve antifungal etkileri ve antikanser aktiviteleri de araştırılmıştır. *Phlomis armeniaca*'dan izole edilen fenil propanoid, kafeik asit, fenetil alkol ve fenetil alkol glikozitlerinin çeşitli kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *Phlomis* türlerinden izole edilen bileşiklerin hücre çoğalmasını engellenmesini ve hücre döngüsü arrestine neden olduğu gösterilmiştir (9, 10).

Bu çalışmada, *C. lydia* ve *P. nissolii* endemik bitkilerinden elde edilen ekstraktların antitoksoplazma etkinliğinin, *T. gondii* ile enfekte edilmiş WI-38 hücre kültürlerinde araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Parazit: Çalışmamızda; hücre kültüründe kullanılan *T. gondii* RH Ankara suşu trofozoitleri, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında yürütülen, intraperitoneal BALB/c fare pasajından alınmıştır.

Bileşikler: Çalışmamızda kullanılan *Centaurea lydia*'in hekzan, kloroform, metanol ekstraktlarının ve *Phlomis nissolii*'nin etanol, kloroform ve infüzyon ekstraktlarını TÜBİTAK 108S168 nolu projeden sağlanmıştır (11). Bitki ekstraktlarının 5,5 mg/mL izotonik stok solüsyonları hazırlanmıştır.

WI-38 hücre kültürü: Normal insan fetal akciğer fibroblast hücre hattı WI-38 hücreleri, %10 fetal sıgır serum (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail), %1 L-glutamin (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail), 100IU/ml penisilin ve 10 mg/mL streptomisin (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail) içeren RPMI 1640 (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail) besiyerinde, 37°C'de ve %95 nem, %5 CO₂'li etüvde çoğaltılmıştır.

Sitotoksikite Analizi: IC₅₀ dozu, µm düzeyde, %50 inhibisyona neden olan, inhibitör konsantrasyonudur. *C. lydia* ve *P. nissolii* ekstraktlarının sitotoksik etkisini incelemek amacıyla WST-1 testi ve tripan mavisi boyası testleri uygulanmıştır. WI-38 hücre hattına uygulanan endemik bitki ekstraktlarının sitotoksikite WST-1 testi (Roche, Basel, İsviçre) ile kolorimetrik değerlendirilmiştir. Bitki ekstraktları için 1×10⁴ hücre/ml bulunan 96 kuyucuklu platlerde 55-0,86 µg/mL ardışık azalan konsantrasyonlarının 24., 48. ve 72. saatlerde çalışılmış ve WST-1 1/10 dilue olacak şekilde ilave edilmiştir. WST1 ilavesinden sonra 37°C, %95 nem ve %5 CO₂'li etüvde inkübe edilmiştir. İki saat boyunca her yarım saat de bir mikropilaka okuyucusunda (Multiscan, FC Termo Scientific, Waltham, ABD) 450 absorban 620 referans aralığında okunarak optik dansite değerlendirilmiştir. *C. lydia* ve *P. nissolii* ekstraktları 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır. Hücre canlılığı yüzdesi her bir kuyucukta ölçülen optik dansite değerinin kontrol optik dansite değerine bölünmesi ve yüz ile çarpılması ile hesaplanmıştır.

Endemik Bitki Ekstresi Uygulanması: Tüm yüzeyi kaplamış 25 cm²'lik flasklerdeki (Biological Industries, Beit Haemek, İsrail) WI-38 hücre hattı 5×10⁵ *T. gondii* trofozoiti ile enfekte edilmiş, 21 gün sürecek deney düzeneğinde kontrol ve etken maddelerin uygulandığı farklı 3 çalışma grupları oluşturulmuştur. Fibroblast hücre hatlarına sitotoksikite saptanmayan en yüksek doz (55 µg/mL) bitki ekstraktları uygulanmıştır. Hücre kültür ortamındaki trofozoitler Neubauer lamı ile sayılmış mL parazit sayısı hesaplanmış 5 mL besiyerindeki toplam *T. gondii* trofozoit sayısı belirlenmiştir. Sayım işlemi üç kez tekrarlanmıştır.

1. Grup: Kontrol grubudur. Bu grupta WI-38 hücrelerine sadece 5×10⁵ *T. gondii* paraziti uygulanmıştır.

2. Grup: Etken madde-1 grubudur. Bu grupta 5 × 10⁵ *T. gondii*'li WI-38 hücrelerine *P. nissolii* bitki ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanmıştır.

3. Grup: Etken madde-2 grubudur. Bu grupta 5×10⁵ *T. gondii*'li *C. lydia* bitki ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanmıştır.

İstatistiksel analizler: Grupların karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile gerçekleştirilmiştir. Analizler GraphPad Prism v6.0 (San Diego, ABD) yazılımında yapılmış ve anlamlılık derecesi p<0,05 olarak alınmıştır.

BULGULAR

Endemik Bitki Ekstresi sitotoksitesi: *Centaurea lydia*' nın hekzan, kloroform, metanol ekstralarının ve *Phlomis nissolii*' nin etanol, kloroform ve infüzyon ekstralarının WI-38 hücre hattında 0,86-55 µg/mL ardışık konsantrasyonlarının doz ve zamana bağlı bir sitotoksitesi saptanmamıştır (Şekil 1). Endemik bitki ekstralarının fibroblastlar üzerinde sitotoksite göstermemesi olumlu bir etki olarak değerlendirilmiştir.

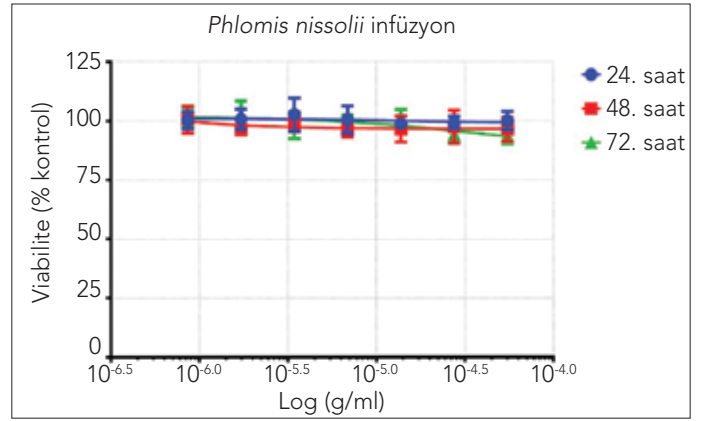
Endemik Bitki Ekstresilerinin in vitro *T. gondii* proliferasyonu üzerine etkileri: Kontrol grubunda, 5×10^5 *T. gondii* ile enfekte edilen WI-38 hücrelerinde takizoitlerinin 48. saat sonunda hücre içine girdikleri ve çoğaldıkları gözlemlenmiş ve 7. günde trofozoit sayısı $2,38 \times 10^7$ 'ye ulaşmıştır. Başlangıç takizoit sayısı ile karşılaştırıldığında 47,5 katlık bir artış saptanmıştır (Resim 1a, Şekil 2).

P. nissolii infüzyon ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanan etken madde-1 grubunda antitoksoplazma aktivitesi saptanmamıştır. *P. nissolii* ekstresi 55 µg/mL konsantrasyonda trofozoit sayısı 7. günde $1,80 \times 10^7$ olarak belirlenmiş ve başlangıca göre 36 katlık bir artış bulunmuştur (Resim 1b, Şekil 2).

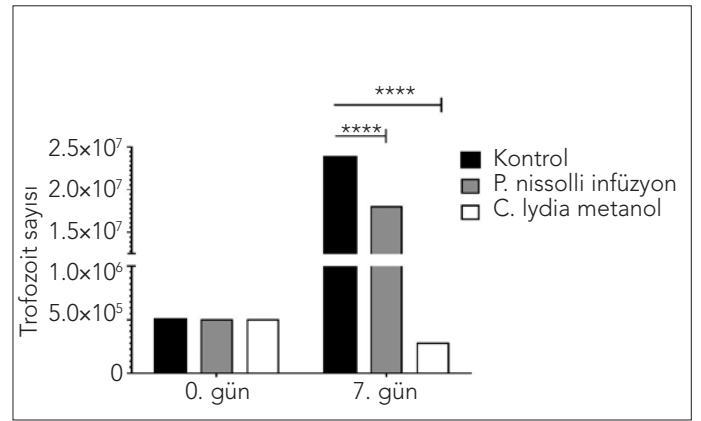
C. lydia metanol ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu konsantrasyonu uygulanan etken madde-2 grubunda *T. gondii* proliferasyonunun inhibisyonunda belirgin bir aktivite göstermiştir. *C. lydia* ekstresi ekstre uygulamasıyla 7. günde trofozoit sayısı $2,8 \times 10^5$ olarak belirlenmiş ve başlangıca göre %44 oranında bir azalma saptanmıştır. Yedinci gündeki *C. lydia* ekstresindeki trofozoit sayısını kontrol grubu ile karşılaştırıldığında parazit sayısında belirgin bir azalma (84 kat) saptanmıştır ($p < 0,0001$, Resim 1c, Şekil 2). On dört ve 21. günlerde de bu sayının değişmediği gözlenmiştir. Kontrol ve *P. nissolii* gruplarında ise sekizinci günde WI-38 hücrelerin tümü lizis olduğu için değerlendirilememiştir (Resim 1d)

TARTIŞMA

T. gondii tek hücreli, zorunlu hücre içi parazittir. Son yıllarda *T. gondii*' nin hücre kültüründe takizoitlerin davranışları konusunda çok sayıda araştırma yapılmaktadır (12). Döşkaya ve ark. yaptıkları çalışmada; *T. gondii* RH Ankara suşu takizoitlerinin hücre kültüründe büyümesi ve daha sonra *in vivo* da tanı amaçlı üretime geçilebilmesini araştırmışlardır. Bu sebeple miyeloma, HeLa, Hep-2 ve Vero hücre kültürlerinde *T. gondii* takizoitlerini 2 ay süre ile üretilmiştir. İlk inkübasyonda takizoitlerin boyutu $3 \times 5,7$ µm iken üretimin devamında ortalama takizoit boyutunda küçülme saptamışlardır. İki ay sonunda verimi artsa da miyelom hücre kültüründe takizoitlerin boyutu $1 \times 2,1$ µm olarak belirlemişlerdir (13). Benzer şekilde Chatterton ve ark. *T. gondii* için kültür metotları geliştirmek ve hızlı ve canlı takizoit üretmeyi amaçlayan çalışma yapmışlardır. Bu bağlamda HeLa hücre hattında 37°C de 48-144 saatte *T. gondii* üretebilmişlerdir. Takizoit miktarı $\geq 1 \times 10^6$ mL ve ≥ 90 canlılık olarak tespit etmişlerdir. Kültür 37°C den 25°C ye transfer edildiğinde maksimum enfeksiyonda stabil kalabilmişler (enfeksiyon sonrası 48-54-saat) ve 25°C de anlamlı olarak birçok kültür 783/811 (% 96,5) %90 canlılığa sahip olduğu görmüşlerdir. Yedi gün sonunda 25°C de HeLa hücre kültüründe kaliteli bir şekilde takizoitlerin görüldüğünü ve geliştirdikleri bu sistemin güçlü ve gerektiğinde standart kalitede takizoitlerin seri bir halde üretimini sağlayabilir olduğu görüşünü savunmaktadırlar (14). Çalışmamızda; *T. gondii* takizoitlerinin WI-38 hücre hattında 48. saatte



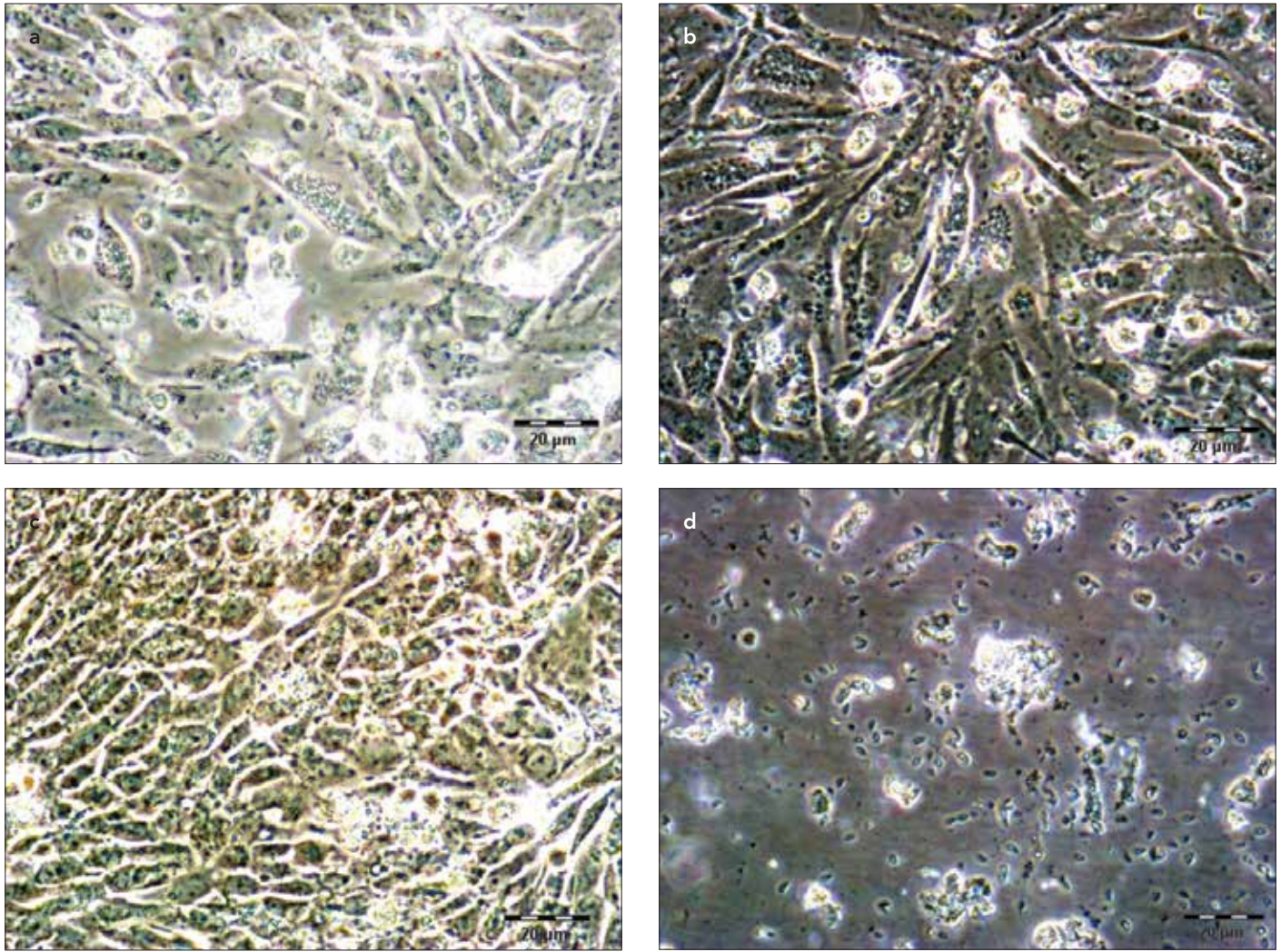
Şekil 1. Endemik bitki ekstralarının sitotoksite analiz sonuçları



Şekil 2. Endemik bitki ekstralarının toxoplasma canlılığı üzerine etkisi. Kontrolle göre 7. gün *P. nissolii* ve *C. lydia* uygulamasında trofozoit sayısında anlamlı azalma saptanmıştır (****, $p < 0,0001$)

çoğaldıkları ve 8. günde tüm hücreleri lize uğrattıkları bulgusuna dayanarak WI-38 hücre hattın *T. gondii* takizoitlerinin üretimi için uygun bir model sistem olabileceğini ileri sürmekteyiz.

Çeşitli bitki ekstralarının antitoksoplazma etkinlikleri üzerine çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. *Sophora flavescens* Aiton, *Sinomenium acutum* (Thunb.) Pulsatilla koreana, *Ulmus macrocarpa*, *Torilis japonica* bitkilerinin alkol ekstralarının *T. gondii* ve *Neospora caninum* kültürleri üzerindeki antiprotozoal etkilerinin araştırıldığı çalışmada; Youn ve ark. tarafından ekstralar final konsantrasyon aralığı 19,5-625 ng/mL olacak şekilde seri halde ilgili besiyeri ile dilüe edilmiş ve *T. gondii* ve *N. caninum* içeren equine dermal (E-derm) hücrelerine takizoitleri ilave edilmiştir. Parazit büyüme inhibisyonu, ^3H -uracil incorporation kullanılarak parazit uygulaması yapılmayan kontrol grubu ile karşılaştırılarak ölçülmüştür. Bu bitkiler uzun yıllardır Asya ülkelerinde insan parazitlerine karşı kullanılmaktadır. *T. japonica*' nın 312 ng/mL konsantrasyonun *T. gondii* proliferasyonunu % 99,7 inhibe ettiği ve *S. flavescens*' in ise aynı konsantrasyonda % 98,5 inhibe ettiği gösterilmiştir (15). Çalışmamızda ise *C. lydia* metanol ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanan etken madde-2 grubunda *T. gondii* proliferasyonunun inhibisyonunda belirgin bir aktivite göstermiştir. *C. lydia* ekstresi uygulaması ile 7. günde trofozoit sayısında başlangıca göre %44 oranında bir azalma saptanırken, bu azalmanın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 84 kata ulaştığı saptanmıştır.



Resim 1. a-d. Kontrol ve bitki ekstresi uygulanan WI-38 hücre hatları 5×10^5 *T. gondii* trofozoiti ile enfekte edildikten sonra 7. gün görüntüleri. Bitki ekstresi uygulanmamış kontrol grubunda trofozoit sayısı $2,38 \times 10^7$ (a), *P. nissolii* infüzyon ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanan WI-38 hücre hattında trofozoit sayısı $1,80 \times 10^7$ (b), *C. lydia* metanol ekstresinin 55 µg/mL konsantrasyonu uygulanan WI-38 hücre hattında trofozoit sayısı $2,8 \times 10^5$ (c), Kontrol ve *P. nissolii* gruplarında ise sekizinci günde WI-38 hücrelerin lizisi (d)

Endemik bitki olan *C. lydia* ekstresinin antitoksoplazma aktivitesi açısından önemli olduğunu ve ekstre fraksiyonlarının daha ileri çalışmalar ile değerlendirilmesi gerektiğini ileri sürmekteyiz.

Youn ve ark. (15) *T. japonica* ve *S. flavescens*' in 625 ng/mL konsantrasyonun yüksek sitotoksitesiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda; *C. lydia*' nın hekzan, kloroform, metanol ekstrelerinin ve *P. nissolii*' nin etanol, kloroform ve infüzyon ekstrelerinin WI-38 hücre hattında 55 µg/mL gibi yüksek sayılabilecek konsantrasyonunun doz ve zamana bağlı bir sitotoksitesite göstermemesini bitki ekstrelerinin konağa zarar verme açısından minimum düzeyde olduğu şeklinde değerlendirilmiştir.

T. gondii' nin bulunduğu Apikompleksa sınıfında sıtma etkeni Plasmodium, Cryptosporidium gibi çok sayıda patojenik protozoa bulunmaktadır. Bu sınıftaki türlerin bazılarında uygulanan tedaviler yeterli olmamakta veya ilaçlara karşı direnç gelişimi sorun oluşturabilmektedir. Özbilgin ve ark. yaptıkları çalışmada endemik bitkilerin antimalaryal etkilerini *in vivo* olarak araştırmışlardır. On ikinci günde *C. lydia* ekstresinin %26,1, *P. nissolii* ekstresinin ise %13,75 ora-

nında parazitemiyi baskıladığını göstermişlerdir. En yüksek antimalaryal etkileri *C. polyclada*' da saptanmış olup %66,91 baskılanma söz konusudur (11). Çalışmamız ile Özbilgin ve ark. çalışmasında ki benzer bulgular Apikompleksa grubundaki parazit etkenlerinin tedavisinde kullanılabilecek yeni ilaçların geliştirilmesinde bu ekstrelerin bir model olabileceğini desteklemektedir. *T. gondii*'nin *in vitro* ortamda kolaylıkla çoğaltılabilmesi ve rodent modellerinin olması, kullanılan bileşiklerin etkinliğinin ve farmakokinetiklerinin değerlendirilmesinde önemli bir avantaj olarak değerlendirilebilir.

SONUÇ

Lydia ekstresi toksoplazmozis tedavisi için iyi bir aday ilaç olabilir. *In vitro* olarak gösterilen bu endemik bitki ekstre etkinliğinin *in vivo* hayvan modellerinde araştırılması gerektiği kanısına varılmaktadır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik kurum onayına gerek yoktur.

Hasta Onamı: Bu çalışma için hasta onamına gerek yoktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - C.G., M.K.; Tasarım - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Denetleme - C.G., M.K.; Kaynaklar - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Malzemeler - A.Ö., H.K. C.D.; Veri Toplanması ve/veya işlenmesi - Z.Ö.D.Ş., E.E.H., G.G., R.U., B.E.; Analiz ve/veya Yorum - C.G., M.K.; Literatür taraması - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Yazıyı Yazan - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Eleştirel İnceleme - C.G., M.K., A.Ö.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

Ethics Committee Approval: Approval from the ethics committee was not required in this study.

Informed Consent: Not required in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - C.G., M.K.; Design - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Supervision - C.G., M.K.; Resource - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Materials - A.Ö., H.K. C.D.; Data Collection and/or Processing - Z.Ö.D.Ş., E.E.H., G.G., R.U., B.E.; Analysis and/or Interpretation - C.G., M.K.; Literature Search - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Writing - C.G., Z.Ö.D.Ş.; Critical Reviews - C.G., M.K., A.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. Dubey J, Lindsay D. Biology of *Toxoplasma gondii* in Cats and Other Animals in World Class Parasites: Volume 9. Opportunistic Infections: *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, and *Microsporidia*. Kluwer Academic Publisher; 2004.
2. Innes EA. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 1997; 20: 131-8. [\[CrossRef\]](#)
3. Nath A, Sinai AP. Cerebral Toxoplasmosis. *Curr Treat Options Neurol*. 2003; 5: 3-12. [\[CrossRef\]](#)
4. Norrby R, Eilard T, Svedhem A, Lycke E. Treatment of toxoplasmosis with trimethoprim-sulphamethoxazole. *Scand J Infect Dis*. 1975; 7: 72-5. [\[CrossRef\]](#)
5. Petersen E, Schmidt DR. Sulfadiazine and pyrimethamine in the postnatal treatment of congenital toxoplasmosis: what are the options? *Expert Rev Anti Infect Ther* 2003; 1: 175-82. [\[CrossRef\]](#)
6. Meral A. Çeşitlilik ve endemizm açısından türkiye'nin bitki örtüsü. *Coğrafya Dergisi* 2005; 13: 27-55.
7. El-Najjar N, Dakdouki S, Darwiche N, El-Sabban M, Saliba NA, Gali-Muhtasib H. Anti-colon cancer effects of Salograviolide A isolated from *Centaurea ainetensis*. *Oncol Rep* 2008; 19: 897-904. [\[CrossRef\]](#)
8. Koukoulitsa E, Skaltsa H, Karioti A, Demetzos C, Dimas K. Bioactive sesquiterpene lactones from *Centaurea* species and their cytotoxic/cytostatic activity against human cell lines *in vitro*. *Planta Med* 2002; 68: 649-52. [\[CrossRef\]](#)
9. Kirmizibekmez H, Calis I, Perozzo R, Brun R, Donmez AA, Linden A, et al. Inhibiting activities of the secondary metabolites of *Phlomis brunneogaleata* against parasitic protozoa and plasmodial enoyl-ACP Reductase, a crucial enzyme in fatty acid biosynthesis. *Planta Med* 2004; 70: 711-7. [\[CrossRef\]](#)
10. Saracoglu I, Inoue M, Calis I, Ogihara Y. Studies on constituents with cytotoxic and cytostatic activity of two Turkish medicinal plants *Phlomis armeniaca* and *Scutellaria salviifolia*. *Biol Pharm Bull* 1995; 18: 1396-400. [\[CrossRef\]](#)
11. Ozbilgin A, Durmuskahya C, Kayalar H, Ostan I. Assessment of *in vivo* antimalarial activities of some selected medicinal plants from Turkey. *Parasitol Res* 2014; 113: 165-73. [\[CrossRef\]](#)
12. Akarsu GA, Salin D. *In vitro* cultivation of *Toxoplasma gondii* in various cell cultures. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010; 30: 598-602. [\[CrossRef\]](#)
13. Doskaya M, Degirmenci A, Cicek C, Ak M, Korkmaz M, Guruz Y, et al. Behaviour of *Toxoplasma gondii* RH Ankara strain tachyzoites during continuous production in various cell lines. *Parasitology* 2006; 132: 315-9. [\[CrossRef\]](#)
14. Chatterton JM, Evans R, Ashburn D, Joss AW, Ho-Yen DO. *Toxoplasma gondii* *in vitro* culture for experimentation. *J Microbiol Methods* 2002; 51: 331-5. [\[CrossRef\]](#)
15. Youn HJ, Lakritz J, Kim DY, Rottinghaus GE, Marsh AE. Anti-protozoal efficacy of medicinal herb extracts against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 2003; 116: 7-14. [\[CrossRef\]](#)

Dicrocoeliosis Epidemiyolojisinde Kara Salyangozlarının Önemi

Importance of Land Snails in Dicrocoeliosis Epidemiology

Gözde Gürelli

Kastamonu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Kastamonu, Türkiye

Cite this article as: Gürelli G. Importance of Land Snails in Dicrocoeliosis Epidemiology. Türkiye Parazit Derg 2017; 41: 169-72.

ÖZ

Dicrocoeliosis, küçük karaciğer kelebeği *Dicrocoelium* spp. (Trematoda, Dicrocoeliidae)' nin geviş getiren hayvanlar ve insan da dahil diğer bir çok hayvan türünün safra kanallarında ve safra kesesinde parazitlenmesiyle sebep olduğu helminthosis bir hastalıktır. *Dicrocoelium*'un biyolojik yaşam döngüsünde, kara salyangozları birinci ve karıncalar ikinci ara konak olarak görev yaparlar. Kara salyangozlarının hepatopankreaslarında sporosist ve serkarya larval safhaları, karıncaların abdomen ve beyinlerinde metaserkarya larval safhası yaşamaktadır. Türkiye'de bu parazite birinci ara konaklık yapan kara salyangozları *Helicopsis derbentina*, *H. protea*, *H. krynickii*, *Cernuella virgata*, *Trochoidea pyramidata*, *Cochicella acuta*, *Monacha carthusiana*, *Helicella candicans*, *Helix aspersa*, *H. lucorum* ve *Chondrus tournefortianus*'tur. Özellikle geviş getiren hayvanlarda yaygın olan bu parazitik hastalık, karaciğeri etkileyerek hayvanlarda kilo kaybına ve süt üretiminin azalmasına neden olabilmektedir. Kurak habitatların genişlemesi ve parazitin antihelmintik ilaçlara direnç kazanması nedeniyle dicrocoeliosis kayıtları artmaktadır. Bu çalışma *Dicrocoelium*'un epidemiyolojisi ve kontrol yöntemleri ile ilgili bilgiler içermektedir.

Anahtar Kelimeler: Dicrocoeliosis, *Dicrocoelium*, Kara salyangozu, Epidemiyoloji

Geliş Tarihi: 01.12.2016

Kabul Tarihi: 19.06.2017

ABSTRACT

Dicrocoeliosis is a helminthosis caused by the small liver fluke *Dicrocoelium* spp. (Trematoda, Dicrocoeliidae) parasitizing in the bile ducts and gall bladder of ruminants as well as many other animal species including humans. In the biological life cycle of *Dicrocoelium*, land snails are first intermediate hosts and ants are second intermediate hosts. Sporocysts and cercaria, which are larval stages, live in the hepatopancreas of land snails and metacercaria, which is also the larval stage, lives in the abdomen and brain of ants. Land snails, which are the first intermediate host of this parasite in Turkey, include *Helicopsis derbentina*, *Helicopsis protea*, *Helicopsis krynickii*, *Cernuella virgata*, *Trochoidea pyramidata*, *Cochicella acuta*, *Monacha carthusiana*, *Helicella candicans*, *Helix aspersa*, *Helix lucorum*, and *Chondrus tournefortianus*. Dicrocoeliosis is widespread in ruminants and affects their liver, which can lead to weight loss and reduced milk production. The number of reports on dicrocoeliosis is increasing due to the expansion of dry habitats and parasites becoming resistant to antihelmintic drugs. This study provides information on the epidemiology and control methods of *Dicrocoelium*.

Keywords: Dicrocoeliosis, *Dicrocoelium*, Land snail, Epidemiology

Received: 01.12.2016

Accepted: 19.06.2017

GİRİŞ

Dicrocoeliosis, küçük karaciğer kelebeği *Dicrocoelium* spp. (Trematoda, Dicrocoeliidae)'nin geviş getiren hayvanlar ve insan da dahil bir çok hayvan türünün safra kanallarında ve safra kesesinde parazitlenmesiyle sebep olduğu helminthosis bir hastalıktır (1-4). *Dicrocoelium* cinsine bağlı en önem-

li türler *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899, *D. hospes* Looss, 1907, *D. chinensis* (Sudarikov ve Ryjikov, 1951) Tang ve Tang, 1978 ve *D. suppereri* Hinaiday, 1983 (syn. *D. orientalis* Sudarikov ve Ryjikov, 1951)'dir. *D. dendriticum* Amerika, Asya, Kuzey Afrika ve Avrupa'dan, *D. hospes* Afrika'dan, *D. chinensis* Asya'dan ve *D. suppereri*

Bu çalışma, Uluslararası Taşköprü Pompeiopolis Bilim Kültür Sanat Araştırmaları Sempozyumu'nda sunulmuştur, (10-12 Nisan 2017), Kastamonu, Türkiye.

This study was presented in the International Taşköprü Pompeiopolis Science Culture Art Research Symposium, (10-12 April 2017), Kastamonu, Turkey.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Gözde Gürelli, E.mail: ggurelli@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5177

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

eski Sovyetler Birliği ve Avusturya'dan kaydedilmiştir. *Dicrocoelium*, Dicrocoeliidae familia (aile)'sı, Plagiorchioidea superfamilia (üstaile)'sı, Plagiorchiata subordo (alttakım)'su, Plagiorchiida ordo (takım)'su ve Epitheliocystida superordo (üsttakım)'suna dahildir (2). *Dicrocoelium*'un biyolojik yaşam döngüsünde, kara salyangozları birinci ve karıncalar ikinci ara konak olarak görev yaparlar. Kurak habitatların genişlemesi ve parazitin antihelmintik ilaçlara direnç kazanması nedeniyle dicrocoeliosis kayıtları artmaktadır (1, 3, 4). Bu çalışma *Dicrocoelium*'un epidemiyolojisi ve kontrol yöntemleri ile ilgili bilgiler içermektedir.

Dicrocoeliosis Epidemiyolojisinde Kara Salyangozlarının Önemi

Safra kanalları ve safra kesesinde kronik hastalığa neden olan *Dicrocoelium dendriticum*, 8-12 mm boyunda ve 2-3 mm genişliğinde bir helminttir. Operkulumlu, oval koyu kahverengi yumurtaları küçüktür (35-45 µm x 22-30 µm) ve mirasidyum içermektedir (3). *Dicrocoelium* epidemiyolojisi ara konakların ve son konakların mevcudiyetine, bunun yanında çevre şartlarına da bağlıdır. Ara konaklar için uygun biyotoplar kuru, kalkersi veya alkalin topraklardır (2, 4). Böyle bir çevrede son konaklar (koyun, keçi, sığır, deve, manda, at, eşek, tavşan, domuz, köpek, insan) tarafından dışkıyla dışarıya atılan yumurtalar sıcaklık değişimlerine ve çevreye dayanıklıdır. Mirasidyum içeren yumurtalar kış aylarını geçirir ve arazide 20 aydan fazla enfekte kalabilir (3, 4).

Birinci ara konaklar olan kara salyangozları tarafından mirasidyumlu yumurtaların ağız yoluyla alınmasıyla, mirasidyum bağırsakta yumurtadan çıkar, bezli orta bağırsak epiteline penetre olarak hepatopankreasa göç eder ve burada I. nesil sporosistleri oluşturur. Birinci ara konak olan salyangozlarda mirasidyumun serkaryalara dönüşümü 3-4 ay sürmektedir. Her bir mirasidyum sadece bir I. nesil sporosisti oluşturur ve bu safhanın yaşamı oldukça kısadır. I. nesil sporosistlerin kendilerine ait bir vücut duvarı yoktur, karaciğerin lobülleri arasındaki bölgelere girer ve bu bölgelerin şeklini alır. I. nesil sporosistlerden poliembriyonu (eşaysız çoğalma) ile II. nesil sporosistler, II. nesil sporosistlerden de poliembriyonu ile serkaryalar meydana gelir (1-8). II. nesil sporosistler içerdikleri serkaryaların morfolojik özelliklerine göre 3 gruba ayrılmaktadır. İlk safhadaki II. nesil sporosistler olgunlaşmamış embriyoları (germinal hücreler kümesi) içeren ince uzun keseler şeklindedir. İkinci safhadaki II. nesil sporosistlerde olgunlaşmış ve serkaryaya farklılaşmaya başlayan embriyolar veya olgunlaşmamış serkaryalar mevcuttur. Son safhadaki sporosistlerde serkaryalar olgunlaşmış yapıdadır (2, 7, 9-11) (Şekil 1). Salyangozda aynı anda görülen farklı gelişim evreleri enfeksiyonun farklı zamanlarda alındığını veya aynı zamanda alınan parazit yumurtalarının birbirini takip eden larval gelişim geçirdiğini göstermektedir (2, 10). Her bir sporosiste 10-40 serkaryaya bulunabilmektedir (1, 9).

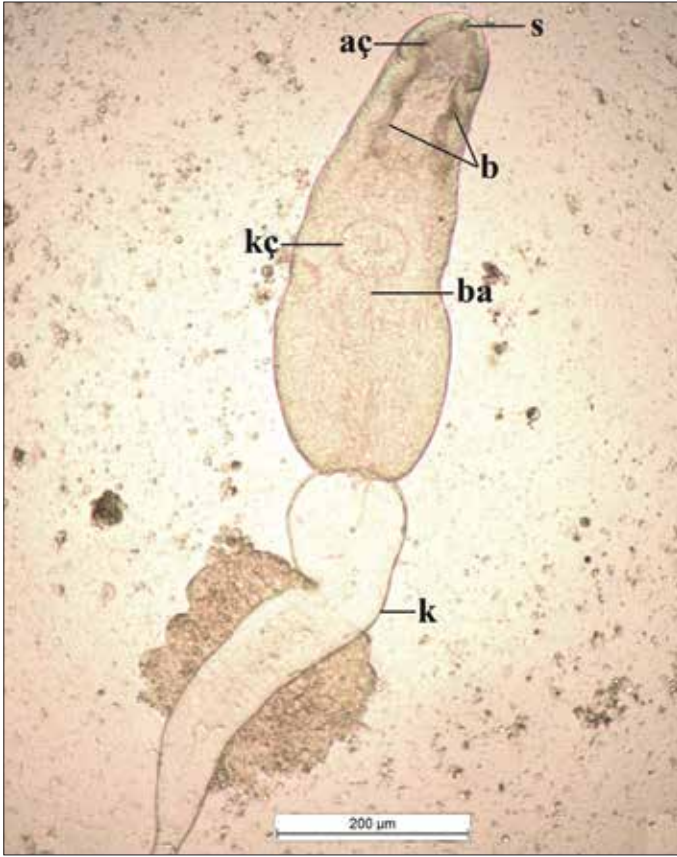
Salyangozlar özellikle ilkbahar ve sonbaharda aktif oldukları için enfeksiyonu alma riski bu aylarda yüksektir. Sonbaharda enfeksiyonu alan salyangozlar kışı geçirebilir ve salyangoz aktifleştiği zaman hepatopankreaslarındaki safhalarda aktifleşerek gelişimlerine devam etmektedir, salyangozlar enfekte şekilde 2-3 yıl yaşayabilir (1). Enfeksiyonun yaygınlığı salyangozun yaşı ve büyüklüğüne göre değişmektedir, yaş ve büyüklük arttıkça enfeksiyon şiddeti de artmaktadır (2, 11-13).



Şekil 1. Son safhadaki II. nesil sporosist ve olgunlaşmış serkaryalar (8)

Kara salyangozlarında aktivite, ışık yoğunluğu, nem, sıcaklık, toprak nemi ve günün zamanı gibi dış faktörlere bağlıdır. Dicrocoeliosis epidemiyolojisinde birinci ara konak olan salyangozların *D. dendriticum* yumurtalarını alma periyodu salyangozların aktivitesine ve parazit bu hayvanlardaki yaşamına bağlıdır. Birinci ara konaklarda larval safhaların gelişimi salyangozun türü, yaşı, beslenme bölgesi, enfekte doz, ilgili nem, sıcaklık ve diğer pek çok faktör etkiler (2). Arazi koşullarında ise sıcak ayların salyangozdaki larval gelişimi hızlandırdığı tespit edilmiştir (14). Kara salyangozlarının hepatopankreaslarında yaşayan larval safhaların bu organ üzerinde etkileri olduğu tespit edilmiştir. Hepatopankreas üzerindeki en önemli etkiyi mevcut larvaların büyüklüğü ve sayısı gösterir. Hepatopankreasın glikojen içeriği azalır ve yağ cisimcikleri belirir. Larvaların boşaltım ürünleri hepatopankreas üzerinde doku eritici etkiye sahiptir. Ayrıca larvalar, hepatopankreastan hücre pigmentlerinin serbest bırakılmasına ve bu nedenle salyangoz vücudunun pigmentlenmesine sebebiyet verir (15, 16).

Dicrocoelium serkaryalarında, biri ön bölgede ağız çekmeni, diğeri orta bölgede karın çekmeni olmak üzere 2 çekmen bulunur. Ağız çekmeninin ön ucunda bir stilet (iğnecik) mevcuttur. Bu yapı *Dicrocoelium* serkaryasına özgü bir özelliktir. Ağız çekmeninin biraz altında bağırsak ikiye çatallanır ve bağırsak kolları karın çekmenine kadar devam eder. Gövdenin arkasında basit yapıda kuyruk bulunur. Serkaryanın bu çeşidine Xiphidiocercaria denir (9) (Şekil 2).



Şekil 2. Serkarya, aç: ağız çekmeni, b: bağırsak, ba: boşaltım apareyi, k: kuyruk, kç: karın çekmeni, s: stilet (6)

Türkiye’de bu parazite birinci ara konaklık yapan kara salyangozları *Helicopsis derbentina*, *H. protea*, *H. krynickii*, *Cernuella virgata*, *Trochoidea pyramidata*, *Cochicella acuta*, *Monacha carthusiana*, *Helicella candicans* (Çanakkale ve Bursa), *Helix aspersa* (İzmir ve Mersin), *H. lucorum* (Kastamonu ve Afyonkarahisar) ve *Chondrus tournefortianus* (Kastamonu)’tur (6-8, 17-19).

Serkaryalar dış ortama bırakılmadan önce ağız çekmenlerindeki stiletleri, enzimatik ürünleri ve kuyruklarının yardımıyla solunum boşluğuna göç eder ve burada en az 5000 serkaryalı 2 mm çapında mukoz toplar oluşur. Salyangoz yerde sürünürken serkaryalı mukoz toplar solunum deliğinden düşer ve bitkilere yapışır (2, 20-23). Mukuslu serkaryalı kümelerin canlılığı doğada birkaç gün kadar sürer (1). İkinci ara konak olan karıncalar (*Formica* spp.) tarafından serkaryaların ağız yoluyla alınmasıyla, serkaryalar kuyruklarını kaybeder ve etraflarına kalınca bir kist duvarı salgılayarak metaserkarya larvalarını oluşturur. Serkaryalardan 1 veya 2 tanesi subözofageal ganglion (beyine), diğerleri abdomene yerleşerek metaserkaryaları oluşturur. Beyindeki metaserkarya larvasına beyin kurdu denir ve hava soğuduğunda (özellikle akşam saatlerinden itibaren sabaha kadar), beyindeki metaserkarya karıncaların sinir sistemi üzerine etki yaparak, mandibula kaslarının (tetani) kasılmasına neden olur. Bu şekildeki karıncalar bitkilerin üzerine sabitlenir (1-4, 24). Karıncalar tarafından serkaryaların alınmasından 1,5-2 ay sonra karıncalar son konaklar için enfekte hale gelir. Mart-Kasım ayları arası karıncaların aktif zamanıdır ve son konaklar tarafından karıncaların ağız yoluyla alınmasıyla parazitin yaşam döngüsü tamamlanır (1-

4, 14, 25). Schuster (26)’a göre enfeksiyonun şiddeti karıncaların büyüklüğüne bağlıdır, karınca türüne veya karıncaların toplanma zamanına bağlı değildir. Kış uykusundaki metaserkaryalı karıncalar dicrocoeliosis epidemiyolojisinde önemlidirler. Karıncanın abdomeninde metaserkaryalar 1 veya daha fazla yıl kalarak bahar ayında enfeksiyon için rol oynarlar (27). Ülkemizde sadece *Formica rufibarbis*’in bu parazite ikinci ara konaklık yaptığı tespit edilmiştir (24).

Bazı enfekte karıncalar kış ayları boyunca yuvalarında kış uykusu halinde canlı kalabilir ve bir sonraki yıl ilkbahar başlangıcından itibaren Kasım’a kadar enfeksiyon riskini artırır. Son konakların safra kanallarında bulunan ergin kurtların sayısı, karıncaların aktivite periyodu ile birlikte artmaktadır. Karıncaların son konaklar tarafından alınmasından 2 ay kadar sonra *D. dendriticum* yumurtalarının son konaklar tarafından bırakılması en üst seviyeye çıkar ve bu oran sonbaharın sonu ile kışa denk düşer. Bu yüzden sayıca bol ve aktif olan salyangozların yumurtalarla teması ilkbahara rast gelir (2, 14).

Son konaklar tarafından enfekte karıncaların ağız yoluyla alınmasıyla metaserkarya larvası duodenal enzimler yardımıyla kistten çıkar ve koledok kanalı (ductus choledochus) yoluyla safra kanallarına ve safra kesesine yerleşir (1, 3, 4, 25). Parazitin safra kanallarına yerleşmesi için birkaç saat (24 saate kadar) gereklidir (14). Son konaklarda hastalık öncesi dönem 7-9 hafta (2 ay), parazitin bütün yaşam döngüsü ise 6 ay sürer (1, 3). Safra kanallarına ve safra kesesine yerleşen ergin kelebekler dicrocoeliosis (dicrocoeliasis) adı verilen hastalığa neden olur (1-3, 28, 29).

Dicrocoeliosis’te safra kanallarının çeperi kalınlaşır (fibrosis) ve safra kanalları genişler (1, 3, 21, 28, 29). Çok ağır enfeksiyonlarda safra kanallarının kalınlaşmasıyla karaciğer şişer. Safra kanallarında yanma ve ergin trematodların ağız çekmenlerindeki stiletleri nedeniyle safra kanallarının yüzeylerinde irritasyon meydana gelir (3). Ayrıca safra kanallarında tıkanmalara ve safranın bağırsaklara akmasını engelleme, safra taşı oluşumuna sebebiyet verir (21, 28- 31). Karaciğer zayıflar, yüzeyinde yaralar ve beyaz benekler oluşur (3). Parazitler tarafından serbest bırakılan metabolik ürünlerin toksik etkisi nedeniyle patolojik bozukluklar görülür. Parazitlerin yükselen sayısı ile birlikte, monositlerde ve eozinofillerde yükselme meydana gelir (1). Hastalığın son konaklardaki klinik belirtileri kansızlık, ödem, zayıflık, siroz, sarılık, karın bölgesinde şişkinlik, karaciğerde büyüme (hepatomegali) ve ağrı, ishal veya kabızlık, mide bulantısı ve kusmadır (1, 3, 4, 14, 21, 23, 28-33). Bu hastalık hayvanlarda et ve süt üretiminde azalma meydana getirir. *D. dendriticum*’un son konağa tahribatı; karaciğerdeki ergin kelebeklerin sayısı ve enfeksiyon zamanının uzunluğuna bağlıdır. Ergin bireyler hayvanlarda 6 yıl kadar yaşayabilir (2, 33).

Dicrocoeliosis zoonotik bir hastalıktır. Enfeksiyonun yapısıyla ilgili olarak, insanlar sadece nadir durumlarda kazara bitkilerin üzerindeki enfekte karıncaların ağız yoluyla alınmasıyla enfekte olabilir. Bu sebepten çocuklar sık sık enfekte olabilir. Hastalıktan korunmak için karıncalı sebze ve meyveler yenmemelidir (1, 23, 31, 32).

SONUÇ VE ÖNERİLER

D. dendriticum’un kontrolü epidemiyolojisinin karışık olmasından dolayı zordur (3). Karıncaların yaygınlığından dolayı geniş getiren hayvanlar sabah ve geç saatlerde otlatılmamalıdır (1, 3-4). Hastalıklı hayvanlar tedavi edilmelidir ve yumurtalarla çevrenin tekrar enfekte olmasını engellemek için tedavi 6 haftalık aralıklarla düzenli bir

şekilde yapılmalıdır (1). Ara konakların kontrol metotları sadece küçük alanlar için uygundur, yüksek maliyetleri geniş alanlarda kullanımına engel olur. Ekolojik nedenlerden dolayı ara konakların kimyasal kontrolü uygun değildir. Küçük alanlarda salyangozların ve karıncaların kontrolü tavuk, ördek, kaz, hindi yetiştirilerek sağlanabilir. Ayrıca karınca yuvalarının giriş bölgesi ağaç dallarıyla kapatılarak, hastalığın son konaklara geçişi azaltılabilir (1, 3, 4).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - G.G.; Tasarım - G.G.; Denetleme - G.G.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - G.G.; Analiz ve/veya Yorum - G.G.; Literatür Taraması - G.G.; Yazıyı Yazan - G.G.; Eleştirel İnceleme - G.G.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Yazar bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - G.G. Design - G.G.; Supervision - G.G.; Funding - G.G.; Materials - G.G.; Data Collection and/or Processing - G.G.; Analysis and/or Interpretation - G.G.; Literature Review - G.G.; Writing - G.G.; Critical Review - G.G.; Other - G.G.

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

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

Kaynaklar

- Ducháček L, Lamka J. Dicrocoeliosis-the present state of knowledge with respect to wildlife species. Acta Vet Brno 2003; 72: 613-26. [CrossRef]
- Manga-González MY, González-Lanza C, Cabanas E, Campo R. Contributions to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of *dicrocoeliosis dendriticum*. Parasitol 2001; 123: 91-114. [CrossRef]
- Otranto D, Traversa D. A review of dicrocoeliosis of ruminants including recent advances in the diagnosis and treatment. Vet Parasitol 2002; 107: 317-35. [CrossRef]
- Otranto D, Traversa D. Dicrocoeliosis of ruminants: a little known fluke disease. Trends Parasitol 2003; 19: 12-5. [CrossRef]
- Cheng TC. General Parasitology. 2nd Edition. Florida: Academic Press Inc; 1986.
- Gürelli G, Alay M. First record of the natural infection of *Chondrus tournefortianus* (Mollusca: Pulmonata) by Dicrocoeliidae (Digenea) larval stages in Kastamonu, Turkey. North-West J Zool 2016; 12: 188-91.
- Gürelli G, Göçmen B. Natural Infection of *Helix aspersa* (Mollusca: Pulmonata) by Dicrocoeliidae (Digenea) larval stages in Izmir, Turkey. Türkiye Parazit Derg 2007; 31: 150-3.
- Gürelli G, Alay M, Koymalı S. Kastamonu civarında dağınık gösteren *Helix lucorum* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Pulmonata)'da Dicrocoeliid (Trematoda: Digenea) larval safhalarının yaygınlığı. Türkiye Parazit Derg 2014; 38: 37-40. [CrossRef]
- Gürelli G. İzmir civarında dağınık gösteren bahçe salyangozu *Helix aspersa* Müller, 1774 (Mollusca, Pulmonata)'da karaciğer kelebeklerinin yaygınlığı. Yüksek Lisans Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enst; 2006.
- González-Lanza C, Manga-González MY, Campo R, Del-Pozo MP. Larval development of *Dicrocoelium dendriticum* in *Ceruella (Xeromagna) cespitum arigonis* under controlled laboratory conditions. J Helminthol 1997; 71: 311-7. [CrossRef]
- Manga-González MY. Some aspects of the biology and helminthofauna of *Helicella (Helicella) itala* (Linnaeus, 1758) (Mollusca). Natural infection by Dicrocoeliidae (Trematoda). Rev Ibé. Parasitol, Extraordinario 1987; 131-48.
- Alunda JV, Rojo-Vazquez FA. Effect of infection rate and host age on the intramolluscan development of *Dicrocoelium dendriticum*. Helminthologia 1983; 20: 251-8.
- Schuster R. Infection patterns in the first intermediate host of *Dicrocoelium dendriticum*. Vet Parasitol 1993; 47: 235-43. [CrossRef]
- Manga-González MY, González-Lanza C. Field and experimental studies on *Dicrocoelium dendriticum* and Dicrocoeliasis in northern Spain. J Helminthol 2005; 79: 291-302. [CrossRef]
- Schuster R. Zur Beeinflussung von *Helicella obvia* durch *Dicrocoelium-Parthenitae*. Angew Parasitol 1992; 33: 61-4.
- Smyth JD. The Physiology of Trematodes. 1th Edition. Edinburgh: Oliver and Boyd Ltd; 1966.
- Kalkan A. *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 in Turkey I. Field studies of intermediate and final hosts in the South Marmara Region, 1968. Br Vet J 1971; 127: 67-75. [CrossRef]
- Kartal K, Köse M, Eser M. The Prevalance of larval stages of small liver fluke *Dicrocoelium dendriticum* in the first intermediate host *Helix lucorum* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Pulmonata) in Afyonkarahisar district. Kocatepe Vet J 2015; 8: 51-5.
- Köse M, Eser M, Kartal K, Bozkurt, MF. Infections of larval stages of *Dicrocoelium dendriticum* and *Brachylaima* sp. in brown garden snail, *Helix aspersa*, in Turkey. Korean J Parasitol 2015; 53: 647-51. [CrossRef]
- Krull WH, Mapes CR. Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: Dicrocoeliidae), Including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Müller). III. Observations on the slimeballs of *Dicrocoelium dendriticum*. Cornell Vet 1952; 42: 253-76.
- Merdivenci A, Baturalp I, Samasti M. Copro-parasitological study of the coastal villages of Istanbul on the Sea of Marmora. Turk Hij Tecr Biyol Derg 1978;38: 52-8.
- Oytun HŞ. Tıbbi Parazitoloji. 1th Edition. Ankara: Ankara Üniversitesi Yayınları; 1968.
- Unat EK. Tıbbi Parazitoloji. 1th Edition. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları; 1960.
- Kalkan A. Türkiye'de *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss 1899. II-Güney Marmara Bölgesinde ikinci arakonakçı (karınca) tespiti üzerine çalışmalar. Etlik Vet Bak Ens Derg 1976; 4: 11-37.
- Krull WH, Mapes CR. Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 (Trematoda: Dicrocoeliidae), Including its relation to the intermediate host *Cionella lubrica* (Müller). IX. Notes on the cyst, metacercaria, and infection in the ant, *Formica fusca*. Cornell Vet 1953; 43: 389-410.
- Schuster R. Factors influencing the metacercarial, intensity in ants and the size of *Dicrocoelium dendriticum* metacercarial cysts. J Helminthol 1991; 65: 275-9. [CrossRef]
- Tarry DW. *Dicrocoelium dendriticum*: the life cycle in Britain. J Helminthol 1969; 43: 403-16. [CrossRef]
- Merdivenci A. Klinik Parazitoloji. 1th Edition. İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım AŞ; 1984.
- Göçmen B. Genel Parazitoloji. 1th Edition. İzmir: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi; 2000.
- Yaşarol Ş. Medikal Parazitoloji. 1th Edition. İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları; 1984.
- Beaver PC, Jung RC, Cupp EW. Clinical Parasitology. 9th Edition. Philadelphia: Lea and Febriger; 1984.
- Çetin ET, Anç Ö, Töreci K. Tıbbi Parazitoloji. 1th Edition. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları; 1983.
- Marquardt WC, Demaree RS, Grieve RB. Parasitology and Vector Biology. 2nd Edition. California; Academic Press; 2000.

Amazon Ormanlarından Dönen Bir Gezginde *Dermatobia hominis*'in Neden Olduğu Fronküler Miyaz

Furuncular Myiasis Caused by *Dermatobia hominis* in a Traveler Returning from the Amazon Jungle

Ferit Kuşçu¹, Kerem Mazhar Özsoy², Aslıhan Ulu¹, Behice Kurtaran¹, Süheyla Kömür¹, Ayşe Seza İnal¹, Yeşim Taşova¹, Hasan Salih Zeki Aksu¹

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Cite this article as: Kuşçu F, Özsoy KM, Ulu A, Kurtaran B, Kömür S, Seza İnal A, Taşova Y, Aksu HSZ. Furuncular Myiasis Caused by *Dermatobia hominis* in a Traveler Returning from the Amazon Jungle. Türkiye Parazit Derg 2017; 41: 173-6.

ÖZ

Amazon Ormanlarına yaptığı seyahatten dönen 39 yaşında erkek hasta sağ parietal bölgedeki saçlı derisinde bulunan fronküler lezyon şikayeti ile başvurdu. Verilen uygun antimikrobiyal tedaviye rağmen lezyon düzelmedi. Cerrahi girişim yapılan lezyondan *Dermatobia hominis* larvası çıkarıldı. İnsan botfly sineği, *D. hominis*, Orta ve Güney Amerika seyahatinden dönen gezginlerde fronküler miyazın en sık etkenidir. Cerrahi olarak larvanın çıkarılması ana tedavi seçeneğidir. Sekonder bakteriyel enfeksiyon gelişimi de akılda bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Miyaz, *Dermatobia hominis*, Botfly

Geliş Tarihi: 30.05.2016

Kabul Tarihi: 12.03.2017

ABSTRACT

A 39-year-old man who was returning from the Amazon Jungle and had no medical history presented with a furuncular lesion on his right parietal scalp. Despite receiving appropriate antimicrobial treatment, his lesion did not heal. After surgical intervention, a *Dermatobia hominis* larva was extracted. The human botfly *D. hominis* is the most common causative agent of furuncular myiasis among travelers returning from Central and South America. Surgery is the main treatment option, and secondary bacterial infection should be kept in mind.

Keywords: Myiasis, *Dermatobia hominis*, Botfly

Received: 30.05.2016

Accepted: 12.03.2017

GİRİŞ

Miyaz, insan ve omurgalı hayvanların, doku ve organ boşluklarının, bazı Diptera larvaları ile enfestasyonu ve bu larvaların canlı veya ölü dokular, vücut sıvı maddeleri ve besin artıkları ile beslenmeleri sonucu meydana getirdiği lezyonları ifade etmek için kullanılmaktadır (1). Miyaz canlılarda, kütanöz, nazofarengal, oküler, intestinal/enterik veya ürogenital tutulum gibi farklı formlarda ortaya çıkabilmektedir. Deri miyazı, neden olan larvanın türüne bağlı olarak üç klinik görüntüyle ortaya çıkabilmektedir: Fronküler miyaz, migratuar miyaz ve yara (travmatik) miyazı (2, 3). Oestridae ailesi "*Cuterebrinae*, *Oestrinae*, *Gasterophilinae* ve *Hypodermatinae*" olmak üzere

re dört alt aileye ayrılmaktadır. *Cuterebrinae* alt ailesinde altı genus içinde Yeni Dünya'da tanımlanmış 70 tür bulunmaktadır. Bunlardan *Dermatobia hominis* ve *Cuterebra* türleri insanlarda fronküler miyaza neden olabilmektedir (4).

Amerika'da fronküler miyazın en önemli etkeni *Dermatobia hominis*'tir ve sıklıkla yüksek ısı ve neme sahip Meksika, Orta ve Güney Amerika'da bulunur (2). Özellikle Orta ve Güney Amerika'nın tropikal bölgelerinden dönen gezginlerde kütanöz miyaz artış gösteren bir problemdir (5).

İnsan Botfly (*D. hominis*) sineğinin karmaşık ve benzersiz bir yaşam döngüsü vardır. Erişkin sinek tarafından bırakılan yu-

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Ferit Kuşçu, E.mail: feritkuscugmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.4927

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

murtalar, vektör görevi gören kan emici başka bir sineğin karın bölgesine yapışır (6, 7). Sıcak kanlı bir hayvan ya da insan ile temas durumunda vücut ısısının etkisiyle yumurtadan çıkan birinci evre larva deriden içeri ağrısız bir şekilde girer. Larvanın dermise ulaşması ile her bir papülde tek bir larvanın olduğu, larvanın solunumunu sağlaması için hava ile irtibatı sağlayan merkezinde bir por bulunan fronküler bir lezyon gelişir. Beş ile 10 hafta içinde ikinci ve üçüncü evreye dönüşen larva, müdahale edilmezse kendiliğinden genellikle geceleyin dışarı çıkıp düşer. Konaktan düşen larva, dış ortamda yaklaşık bir ay sonra çoğalabilecek yetişkin sineğe dönüşür ve yaşam döngüsü tamamlanmış olur (8).

Bu olguda Amazon Ormanları seyahatinden dönen bir hastada *D. hominis*'in neden olduğu fronküler miyaz olgusu sunulmuştur.

OLGU SUNUMU

Yaklaşık iki haftadır başının sağ tarafında, saçlı deride ağrılı şişlik ile birlikte az miktarda akıntı şikayeti olan, 39 yaşında erkek hasta, hastanemiz Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvurdu. Detaylı alınan öyküsünde hasta, bir hafta önce Güney Amerika seyahatinden döndüğünü belirtti. Yaklaşık iki ay süren bu seyahatinde Amazon Ormanlarında doğa yürüyüşlerine katıldığını ve vücudunun farklı bölgelerinden bir çok böcek ve sinek tarafından ısırıldığını belirtti. Fizik muayenesinde hastanın sağ parietal bölgesindeki saçlı deride, 2 cm çapında, endüre, merkezinde ufak bir ülserin bulunduğu, serohemorajik bir akıntının eşlik ettiği fronküler lezyon görüldü (Resim 1). Hastanın laboratuvar tetkiklerinden tam kan sayımında lökosit 6500/mm³, CRP <0,3 mg/dL, eritrosit sedimentasyon hızı ise 3 mm/saat idi.

Ülsere lezyondan sürüntü kültürü alındıktan sonra hastaya ampirik olarak amoksisilin/klavulanat 1000 mg günde iki kez başlandı. Alınan yara kültürü sonucunda metisiline hassas *Staphylococcus aureus* üremesi tespit edildi. Başlanan antibiyotik tedavisi uygun olması nedeniyle tedaviye devam edildi. Hastanın tedavisinin 10. gününde akıntıda azalma olmasına rağmen lezyonda gerileme olmaması üzerine drenaj ve debridman açısından değerlendirilmek üzere Beyin Cerrahisi konsültasyonu istendi. Lokal anestezi altında lezyona yapılan insizyon sonrasında bir adet 1,5 cm uzunluğunda oval yapıda, orta segmenti üzerinde birbirine paralel kemerlerin üzerinde siyah çengelleri bulunan larva dışarıya çıkarıldı (Resim 2, 3, 4). Lokal yıkama sonrası lezyon kapatıldı. Hastanın seyahatten geldiği bölge göz önünde bulundurulunca *D. hominis* miyazından şüphelenildi ve larvaya ait fotoğraflar bu konuda uzman olan bir medikal entomologa gönderildi ve larva 3. evre *D. hominis* larvası olarak tanımlandı. Hastanın takibinde herhangi bir komplikasyon gelişmeden, lezyon tamamen iyileşti. Verilerin paylaşımı için hastadan onam alındı.

TARTIŞMA

Ülkemizden değişik zamanlarda ve farklı bölgelerden bildirilmiş insan miyaz olguları mevcuttur ve bu olguların çoğu, okuler, nazal, gingival, aural gibi mukozal tutulum ile seyreden ya da kronik yaralar üzerinde gelişen miyaz olgularıdır (9-11). Kütanöz fronküler miyazın ise en sık etkenleri olan *D. hominis* Güney Amerika'da, *Cordylobia anthropophaga* ise Afrika'nın tropikal bölgelerinde bulunması nedeniyle (1-2), fronküler miyaz ülkemizde pek beklenmemektedir. Ancak bu bölgelere seyahat öyküsü olan ve iyileşmeyen fronküler lezyon ile başvuran hastalarda *D. hominis*



Resim 1. Sağ parietal bölgedeki saçlı deride görülen ortası ülser, hiperemik, fronküler lezyon



Resim 2. Cerrahi insizyonla çıkarılan oval yapıda *D. hominis* larvası, lateral görünüm

ve *C. anthropophaga* akılda bulundurulmalıdır. Literatürde ülkemizden bildirilen sadece bir tane *D. hominis*'e bağlı miyaz olgusu mevcuttur, bizim hastamızda olduğu gibi bu olguda da Güney Amerika'ya seyahat öyküsü vardır (12).

Botfly yumurtası açılıp, memeli konak derisine penetre olduktan sonra larvanın gelişiminde 3 farklı evre gözlenir. Her bir evredeki larva farklı bir şekle sahiptir. Birinci evre larva 1-7 gün arasında



Resim 3. Larvanın orta segmenti üzerinde birbirine paralel uzanan kemerler üzerindeki çengeller



Resim 4. a,b. Anterior spirakül (a), posterior spirakül (b)

gelişir ve bulbus formunda kurt benzeri bir yapıya sahiptir. İkinci evre larva şişe boynu şeklinde bir yapıya sahiptir ve anterior kısmı geniş, posterior kısmı ise anterior kısımdan farklı olarak dardır, bu evre 7-20 gün arasında görülür. Üçüncü evredeki larva ise silindirik yapıda, yaklaşık 23 mm uzunluğunda ve 6 mm genişliğindedir. Her bir evrede larvanın orta segmentini çevreleyen ve geriye doğru çıkıntı yapan çengeller vardır. Larvanın ventral anterior kısmında bulunan ağız açıklığı iki adet kanca veya bukkal maksillaya sahiptir; bunlar güçlü sklerotik yapıya ve koyu bir pigmentasyona sahip anterior sefalofarengeal yapılardır. Larvadaki ağız kancaları, konağa bağlanma, dokuları delme ve beslenmeyi sağlar (13).

Bizim olgumuzda da çıkarılan larvanın şeklinin şişe boynu benzeri olmaması, silindirik yapıda olması ve boyutları nedeniyle üçüncü evre larva olarak değerlendirildi.

Kütanöz fronküler miyaz nedeni olan *D. hominis*, tam ortasında düzgün sınırlı bir giriş deliğinin olduğu inflame kistik nodüller bir lezyon oluşmasına neden olur. Lezyonlar sıklıkla saçlı deri, yüz ve ekstremiteler gibi açık vücut bölgelerinde görülmektedir. Hastalarda şikayet olarak kaşıntı ve özellikle geceleri artan ağrı yakınması olabileceği belirtilmektedir (14). Bizim hastamızda da belirtilen şekilde, saçlı deride, ortasında serohemorajik akıntılı milimetrik ülserin olduğu, fronküler bir lezyon mevcuttu.

İnsan Botfly (*D. hominis*) miyazına bağlı karşılaşılabilecek en sık komplikasyon sekonder bakteriyel enfeksiyonlardır (1). Enfekte lezyonlarda uygun antibiyoterapi verilmesi de akılda bulundurulmalıdır. Genellikle ılımlı bir klinik seyir göstermesine rağmen, literatürde kafa kemiklerinin tam gelişmediği bir infansta beyne invazyon sonrası fatal seyreden bir *D. hominis* olgusu bildirilmiştir (15).

İnsan Botfly (*D. hominis*) miyazında, larvanın çıkarılması için lezyona, yapıştırıcı, domuz yağı, mineral yağlar ve vazelin uygulaması ile larvanın hava alışının engellenebileceği ancak bu uygulamalarla optimal sonuçların elde edilemeyeceği belirtilmektedir. Dolayısıyla larvanın ikinci veya üçüncü evresinde cerrahi olarak çıkarılması önerilmektedir. Eğer larva çıkarılmadan doğal gelişimine bırakılırsa 5-10 hafta içinde olgunlaşarak, kendiliğinden dışarı çıkacaktır (2).

SONUÇ

Güney Amerika ülkelerine seyahat etme ve özellikle doğa aktiviteleri öyküsü olan kişilerde iyileşmeyen kütanöz fronküler lezyonlarda mutlaka *D. hominis*'e bağlı miyaz akılda bulundurulmalıdır. Larvanın çıkarılması tedavide yeterli bir girişimdir. Gelişebilecek sekonder bakteriyel enfeksiyonlar açısından hasta takip edilmelidir.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastadan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - F.K., K.M.Ö.; Tasarım - F.K., S.K., A.U.; Denetleme - H.S.Z.A., Y.T.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - F.K., B.K., A.S.İ.; Analiz ve/veya Yorum - F.K., A.U.; Literatür Taraması - F.K., K.M.Ö.; Yazıyı Yazan - F.K., B.K., A.U.; Eleştirel İnceleme - Y.T., H.S.Z.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

Informed Consent: Written informed consent was obtained patient who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - Fikir - F.K., K.M.Ö.; Design - F.K., S.K., A.U.; Supervision - H.S.Z.A., Y.T.; Data Collection and/or Processing - F.K., B.K., A.S.İ.; Analysis and/or Interpretation - F.K., A.U.; Literature Review - F.K., K.M.Ö.; Writing - F.K., B.K., A.U.; Critical Review - Y.T., H.S.Z.A.

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. Dinçer Ş. İnsan ve Hayvanlarda Myiasis. Özcel MA, Daldal N Eds. Artropod Hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, İzmir, 1997. s.169-233.
2. Robbins K, Khachemoune A. Cutaneous myiasis: a review of the common types of myiasis. Int J Dermatol 2010; 49: 1092-8. [CrossRef]
3. Hall M, Wall R. Myiasis of humans and domestic animals. Adv Parasitol 1995; 35: 257-334. [CrossRef]
4. Otranto D, Traversa D, Guida B, Tarsitano E, Fiorente P, Stevens JR. Molecular characterization of the mitochondrial cytochrome oxidase I gene of Oestridae species causing obligate myiasis. Med Vet Entomol 2003; 17: 307-15. [CrossRef]
5. Villalobos G, Vega-Memije ME, Maravilla P, Martinez-Hernandez F. Myiasis caused by *Dermatobia hominis*: countries with increased risk for travelers going to neotropical areas. Int J Dermatol 2016; 55: 1060-8. [CrossRef]
6. Gordon PM, Hepburn NC, Williams AE, Bunney MH. Cutaneous myiasis due to *Dermatobia hominis*: a report of six cases. Br J Dermatol 1995; 132: 811-4. [CrossRef]
7. Guse ST, Tieszen ME. Cutaneous myiasis from *Dermatobia hominis*. Wilderness Environ Med 1997; 8: 156-60. [CrossRef]
8. Sancho E. *Dermatobia*, the neotropical warble fly. Parasitol Today 1988; 4: 242-6. [CrossRef]
9. Akçakaya AA, Sargın F, Aslan Zİ, Sevimli N, Sadıgov F. External ophthalmomyiasis seen in a patient from Istanbul, Turkey. Türkiye Parazitol Derg 2014; 38: 205-7. [CrossRef]
10. Cevik C, Kaya OA, Akbay E, Ozkan M, Kahraman A, Uçak M. An unusual *Wohlfahrtia magnifica* myiasis case localized in cutaneous and subcutaneous tissues in a patient with head-neck cancer. Türkiye Parazitol Derg 2014; 38: 135-7. [CrossRef]
11. Bayındır T, Miman O, Miman MC, Atambay M, Saki CE. Bilateral aural myiasis (*Wohlfahrtia magnifica*): a case with chronic suppurative otitis media. Türkiye Parazitol Derg 2010; 34: 65-7
12. Vancı Balcı FK, Ünver A, Ataman S, Güler E, Töz S, Turgay N et al. Brezilya Gezisi Sonrası *Dermatobia hominis*'in Neden Olduğu Ciltaltı Miyaz Olgusu. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 29 Eylül-5 Ekim; Denizli-Türkiye: 2013. PB157. p.276.
13. de Filippis T, Leite AC. Morphology of the second- and third-instar larvae of *Dermatobia hominis* by scanning electron microscopy. Med Vet Entomol 1998; 12: 160-8. [CrossRef]
14. Cestari T, Pessato S, Ramosesilva M. Tungiasis and myiasis. Clin Dermatol 2007; 25: 158-64. [CrossRef]
15. Rossi MA, Zucoloto S. Fatal cerebral myiasis caused by tropical warble fly, *Dermatobia hominis*. Am J Trop Med Hyg 1973; 22: 267-9. [CrossRef]

Kronik Hepatit B-*Leishmania* Koinfeksiyonu

Chronic Hepatitis B and *Leishmania* Coinfection

Tuna Demirdal, Ümmü Sena Sarı, Salih Atakan Nemli, Serap Ural, Sibel El

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Demirdal T, Sarı ÜS, Nemli SA, Ural S, El S. Chronic Hepatitis B and Leishmania Coinfection. Türkiye Parazit Derg 2017; 41: 177-9.

ÖZ

Visseral leishmaniasis, dünyanın pek çok bölgesinde endemik olarak görülen, tedavi edilmediği takdirde yaşamı tehdit eden bir enfeksiyon hastalığıdır. Ateş, kilo kaybı, hepatosplenomegali, pansitopeni gibi semptom ve bulgular nedeniyle kronik karaciğer hastalıkları ile benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada kronik hepatit B enfeksiyonu olduğu bilinen, karaciğer biyopsisi ile rastlantısal olarak tanı konulan bir visseral leishmaniasis olgusu sunulmuştur. Visseral leishmaniasis, bir enfeksiyon hastalığı olarak kronik karaciğer hastalıklarının ayırıcı tanısında dikkate alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Visseral leishmaniozis, Kronik hepatit B, Karaciğer biyopsi

Geliş Tarihi: 10.11.2016

Kabul Tarihi: 03.08.2017

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis is an endemic disease in many parts of world, and if untreated, it is a potentially life-threatening infectious disease. It is similar to chronic liver disease because of signs and symptoms such as fever, weight loss, hepatosplenomegaly, and pancytopenia. In this study, we present a case of visceral leishmaniasis, which is known to be a chronic hepatitis B infection, that was coincidentally diagnosed with liver biopsy. Visceral leishmaniasis should be considered as an infectious disease in the differential diagnosis of chronic liver diseases.

Keywords: Visceral leishmaniasis, Chronic hepatitis B, Liver biopsy

Received: 10.11.2016

Accepted: 03.08.2017

GİRİŞ

Visseral leishmaniasis (kala-azar ya da Dum-Dum ateşi), insana tatarcık sineklerinin (*Phlebotomus*) sokmasıyla bulaşan, *Leishmania* genusuna ait birçok protozoal parazitin neden olduğu, zoonotik bir enfeksiyondur. Etkenin rezervuarı enfekte insanlar ve köpeklerdir (1). Hastalık, dünyada tropikal ve subtropikal bölgede yaşayanlar için halen ciddi bir sağlık sorunudur. Her yıl 90'dan fazla ülkede yaklaşık 200.000-400.000 kişi bu hastalığa yakalanmaktadır. Retüküloendotelial sistemi etkileyen VL (visseral leishmaniasis)'in kronik seyirinde, hepatosplenomegali, ateş, halsizlik ve kilo kaybı görülür. Anemi, lökopeni, trombositopeni, hipoalbuminemi ve hiper-gamaglobulinemi önemli laboratuvar bulgularıdır (2). Kronik karaciğer hastalıkları seyirinde de benzer bulgular karşımıza çıkabilir. Özellikle kronik karaciğer hasarının son dönem yansıması olan karaciğer sirozu ayırıcı tanısında, VL göz önünde bulundurulmalıdır (3).

Bu çalışmada, kronik hepatit B tanısıyla karaciğer biyopsisi yapılan ve bu sırada VL tanısı konulan bir olgu sunulmuştur.

OLGU SUNUMU

Yetmiş yaşında erkek hasta, iki aydır var olan kilo kaybı ve terleme şikâyetleri ile iç hastalıkları polikliniğine başvurmuş. Hastanın laboratuvar bulgularında; karaciğer enzim yüksekliği, HbsAg pozitifliği, hipoalbuminemi, anemi ve lökopeni saptanmış. Kantitatif serum HBV DNA düzeyi negatif bulunmuş. Sorgulamasında alkol kullanım öyküsü olmadığı öğrenilmiş. Hasta tanı amaçlı karaciğer biyopsisi yapılmak üzere gastroenteroloji kliniğine gönderilmiş.

Hastanın bir hafta sonra, şikâyetlerinde gerileme olmaması nedeniyle kliniğimize başvurusunda kilo kaybı, halsizlik ve terleme şikâyetleri devam etmekteydi. İzmir'in Bornova ilçesinde ikamet eden hastanın anamnezinde seyahat öyküsü yoktu. Fizik muayenede; ateş: 36°C, nabız: 80 atım/dk

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Ümmü Sena Sarı, E-mail: ummusenasari@gmail.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5134

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

ve ritmik, tansiyon arteryel: 130/60 mmHg, solunum sayısı: 16/ dakika olup, batin muayenesinde splenomegali saptandı. Diğer sistem muayeneleri olağandı. Laboratuvar incelemelerinde; lökosit sayısı: 3550/mm³, (%56 nötrofil, %1 lenfosit, %1,7 bazofil, %15 monosit), trombosit sayısı: 203.000/mm³, hemoglobin: 9,5 g/dL, açlık kan glukozu: 235 mg/dL, AST: 110 IU/mL, ALT: 107 IU/mL, albümin: 2,2 g/dL, globülin: 4,2 g/dL, AFP: 3,8 ng/mL, eritrosit sedimentasyon hızı: 67 mm/saat, C-reaktif protein: 9,3 mg/dL idi. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ile yapılan serolojik incelemede; HBsAg: (+), anti-HBs: (-), HBeAg: (-), Anti-HBe: (+), anti-HBc IgG: (+), anti-HCV: (-), Delta antijeni: (-), Delta antikoru: (-), HBV DNA: negatif idi. Batin ultrasonografi-sinde; karaciğer parankiminde grade 2 hepatosteatoz, dalak ve karaciğer boyutunda artış görüldü. Karaciğer biyopsi örneklerinin patolojik incelemesinde, kronik hepatit B enfeksiyonu lehine bulguların yanı sıra makrofajlar içinde leishmania amastigotlarına rastlandı.

Patolojik tanı kliniğe ulaşıncaya, hastaya lipozomal amfoterisin-B tedavisi başlandı. İlk 5 gün 200 mg/gün, daha sonra 14. gün ve 21. gün 50 mg/gün şeklinde uygulandı. Tedavi ile birlikte hastada dramatik olarak klinik iyileşme gözlemlendi. Sedimentasyon, CRP ve karaciğer enzim seviyeleri geriledi. Hastanın bir ay sonraki kontrol muayenesinde herhangi bir yakınması yoktu. Laboratuvar bulgularının normal seviyelere geldiği görüldü. Kronik HBV enfeksiyonu tanısıyla izlemine devam edildi.

TARTIŞMA

Visseral leishmaniasis (VL), ülkemizin de içinde bulunduğu geniş bir coğrafyada endemik olarak görülmektedir. Bu bölgelerde, yaklaşık 350 milyon kişi risk altında yaşamaktadır. Her yıl yaklaşık 20.000 kişi VL nedeniyle ölmektedir (2). Yüksek mortalite riski göz önüne alınarak, özellikle endemik bölgelerde, ayırıcı tanıda akla getirilmesi gereken bir enfeksiyon hastalığıdır.

Ülkemizde daha çok çocukluk çağında ve sporadik olarak görülmesi, erişkin vakalarda tanıda gecikmeye neden olmaktadır (4). Kurşun ve arkadaşlarının (5) çalışmasında hastalığın başlangıcından tanıya kadar geçen sürenin ortalama 75 gün olduğu bildirilmiştir. Hematolojik maligniteler, organ transplantasyonu, immünsüpresif ilaç kullanımı ve karaciğer sirozu gibi altta yatan durumlar, bulguların VL lehine yorumlanmasını geciktirmektedir (5, 6).

Türkiye’de VL’nin Akdeniz tipi görülmekte ve sıklıkla 2-12 yaş çocuklarda enfeksiyona yol açarken, erişkinlerde daha nadir olup genellikle immun yetmezlikli olgularda görülmektedir (7). Son yıllarda, birçok ülkede artan HIV enfeksiyonu ve organ transplantasyonuna paralel olarak, VL olgularında artış bildirilmiştir (8, 9). Ülkemizde henüz bildirilen HIV/Leishmania ko-enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Yine Türkiye’de böbrek transplantlı bir olguda, tekrarlayan VL atakları ölümlü sonuçlanmıştır (10). Olgumuzda ise, beklenenin aksine altta yatan bir immünsüpresif durum tespit edilmemiştir.

Farklı coğrafi bölgelerde, Kala-azar, Dum Dum ateşi, Assam ateşi, infantil splenomegali gibi farklı isimlerle anılan hastalık, ateş, kilo kaybı, hepatosplenomegali, pansitopeni ve hipergamaglobulinemi ile karakterizedir. Bu bulgular nedeniyle sıtma, salmonelloz, bakteriyel endokardit başta olmak üzere nadiren kronik karaciğer

hastalıkları ile karıştırılabilir (1). Kronik karaciğer hastalıklarının nihai evresi olan karaciğer sirozu, dekompanseasyon gelişmemiş ise sessiz seyirli olabilir. Batı dünyasında en sık siroz nedeni alkol ve hepatit C iken, doğuda kronik hepatit B’dir. VL hastalarında hepatit virüslerine ait bulguların varlığı tanıyı daha da güçleştirebilir (6, 11). Zamanında ve doğru tanı bu hastalar için hayat kurtarıcı olurken, tanıda gecikme ne yazık ki ölümlü sonuçlanabilir (11, 12). Etiyolojik nedenlerin aydınlatılması ve fibrozisin belirlenmesi için, karaciğer sirozu tanısında, karaciğer biyopsisi halen altın standart yöntemdir (3). Visseral leishmaniasis tanısında da kullanılan bir tanı yöntemi olması nedeniyle karaciğer biyopsisi, VL ve kronik karaciğer hastalıkları ayırımında faydalı olmaktadır (11). Olgumuz, kliniğimize başvurusundan önce, kilo kaybı, hepatosplenomegali, HbsAg pozitifliği, anemi, lökopeni, hipoalbuminemi, hipergamaglobulinemi bulguları nedeniyle kronik viral hepatit B tanısı almış ve karaciğer biyopsisi yapılmıştır.

Visseral leishmaniasis tanısında, klinik bulguların pozitif prediktif değeri klasik semptomların varlığında oldukça yüksektir. Ancak kesin tanı için halen parazitin direkt gösterilmesine yönelik yöntemler kullanılmaktadır (13). İmmünofloresan antikor ve rK39 dipstick test yardımcı tanı testleridir. Parazitolojik tanı yöntemleri; dokuda amastigotların gösterilmesi, ‘Novy-MacNeal-Nicolle’ (NNN) veya ‘Schneider Insect Medium’ besiyerinde promastigotların üretilmesi veya PCR ile saptanmasıdır (1). Boyalı preparatta parazitin direk incelenmesi amacıyla, kemik iliği, lenf nodu, dalak ve karaciğer aspirasyon örnekleri kullanılmaktadır. Bu methodun özgüllüğü yüksek olup, duyarlılığı incelenen preparata göre değişmektedir. Karaciğer aspirasyonu duyarlılığı düşük olmasına rağmen daha güvenilirdir (13). Ayrıca kemik iliği negatifken genellikle pozitif bulunur (1). Olgumuzun karaciğer biyopsi materyalinin boyalı incelemesinde, makrofajlar içinde leishmania amastigotları görülerek kesin tanı konulmuştur.

Henüz etkili bir aşının bulunmaması, VL’in tedavi ve kontrolünde kemoterapiyi zorunlu kılmaktadır. Elli yılı aşkın süredir VL tedavisinde neredeyse tek ilaç beş değerlikli antimon bileşikleridir. Bu ilaçlara karşı son yıllarda artan direnç oranları, yan etkiler ve uygulamadaki zorluklar yeni tedavilere kapı açmıştır (14). Ancak yeni ilaçların yüksek maliyetli olduğu ve duyarlı suşların bulunduğu bölgelerde beş değerlikli antimon bileşikler halen kullanılmaktadır (1). Anti-leishmanial preparatlar içinde en yüksek etkinliğe sahip olması, uzun süre hastanede yatış gerektirmemesi ve düşük yan etki profili nedeniyle lipozomal amfoterisin-B, günümüzde ilk tercih tedavi haline gelmiştir. Yapılan çalışmalarda %90-98 kür oranları bildirilmiştir (15). İmmüno-kompetan hastalarda 1-5.gün, 14.gün ve 21.gün 3mg/kg/gün dozunda önerilmektedir (1). Olgumuz da lipozomal amfoterisin-B ile başarılı bir şekilde tedavi edilmiştir.

SONUÇ

Tedavi edilmediği takdirde yüksek oranda ölümcül olabilen visseral leishmaniasis, kronik karaciğer hastalığı dâhil birçok hastalığı taklit edebilir. Özellikle endemik bölgelerde ayırıcı tanısının zamanında ve doğru yapılması, gereksiz girişimsel işlemlerin ve gelişebilecek ciddi komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir.

Hasta Onamı: Çalışmamızın retrospektif tasarımından dolayı etik kurul onayı alınmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - Ü.S.S.; Tasarım - S.U., S.E.; Denetleme - T.D.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - Ü.S.S., S.U.; Analiz ve/veya Yorum - T.D.; Literatür Taraması - S.A.N., S.E.; Yazıyı Yazan - Ü.S.S.; Eleştirel İnceleme - T.D., S.A.N.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

Informed Consent: Informed consent was not received due to the retrospective nature of the study

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - Ü.S.S. Design - S.U., S.E.; Supervision - T.D.; Data Collection and/or Processing - Ü.S.S., S.U.; Analysis and/or Interpretation - T.D.; Literature Review - S.A.N., S.E.; Writing - Ü.S.S.; Critical Review - T.D., S.A.N.

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. Magill AJ. *Leishmania* Species: Visceral (Kala-Azar), Cutaneous, and Mucosal Leishmaniasis. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eight edition. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2015. p. 3091-107.
2. WHO: Programmes: Leishmaniasis <http://www.who.int/leishmaniasis/en/> (erişim tarihi: 29.04.16)
3. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. Lancet 2008; 371: 838-51. [CrossRef]
4. Güleç SG, Kızılyer Y, Karaman S, Erdem E, Urgancı N. Case report: the efficacy of amphotericin B in visceral leishmaniasis. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2010; 34: 73-5.
5. Kurşun E, Turunç T, Demiroğlu YZ, Solmaz S, Arslan H. Evaluation of fourteen adult cases with visceral leishmaniasis. Mikrobiyoloji Bul 2013; 47: 500-6. [CrossRef]
6. Bayan K, Tuzun Y, Gullu N, Yılmaz S. From Preceding Diagnosis of Complicated Liver Cirrhosis to Kala-Azar in a Patient with Chronic Hepatitis B: Case Report. Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol 2009; 16: 27-9.
7. 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. [CrossRef]
8. Van Griensven J, Carrillo E, López-Vélez R, Lynen L, Moreno J. Leishmaniasis in immunosuppressed individuals. Clin Microbiol Infect 2014; 20: 286-99. [CrossRef]
9. Ozkan AT, Yalçinkaya T, Kiliç S, Babür C, Schallig HD. Investigation of *Leishmania infantum* seropositivity in HIV/AIDS patients. Mikrobiyoloji Bul 2008; 42: 113-7.
10. Zümrütdal A, Erken E, Turunç T, Çolakoğlu Ş, Demiroğlu YZ, Özelsancak R, et al. Delayed and overlooked diagnosis of an unusual opportunistic infection in a renal transplant recipient: visceral leishmaniasis. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2010; 34: 183-5. [CrossRef]
11. Prakash A, Singh NP, Sridhara G, Malhotra V, Makhija A, Garg D, et al. Visceral Leishmaniasis masquerading as chronic liver disease. J Assoc Phys India 2006; 54: 893-4.
12. Giannitrapani L, Soresi M, La Spada E, Tripodo C, Montalto G. Progressive visceral leishmaniasis misdiagnosed as cirrhosis of the liver: a case report. J Med Case Rep 2009; 25: 7265. [CrossRef]
13. Sakkas H, Gartzonika C, Levidiotou S. Laboratory diagnosis of human visceral leishmaniasis. J Vector Borne Dis 2016; 53: 8-16.
14. Singh OP, Singh B, Chakravarty J, Sundar S. Current challenges in treatment options for visceral leishmaniasis in India: a public health perspective. Infect Dis Poverty 2016; 5: 19. [CrossRef]
15. Bern C, Adler-Moore J, Berenguer J, Boelaert M, den Boer M, Davidson RN et al. Liposomal amphotericin B for the treatment of visceral leishmaniasis. Clin Infect Dis 2006; 43: 917-24. [CrossRef]



Rare But Life-Threatening Complication of Hydatid Disease

Nadir Fakat Hayati Tehdit Eden Bir Kist Hidatik Komplikasyonu

Fatih Karakaya¹, Çağdaş Kalkan¹, Melek Karakaya², Necati Örmeci¹

¹Department of Gastroenterology, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

²Department of Internal Medicine, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

Cite this article as: Karakaya F, Kalkan Ç, Karakaya M, Örmeci N. Rare But Life-Threatening Complication of Hydatid Disease. Türkiye Parazitoloj Derg 2017; 41: 180-2.

ABSTRACT

Cystic echinococcosis is an infectious disease that is potentially associated with the biliary tract. Of thousand cases of hydatid cysts that were successfully treated by the Örmeci method, only two presented with cholangitis subsequent to the percutaneous treatment. These cases were treated with endoscopic retrograde cholangiopancreatography, and this study provides details regarding the clear fistulization of hydatid cysts into the biliary tract.

Keywords: Örmeci method, cystic echinococcosis, cholangitis

Received: 21.09.2016

Accepted: 31.07.2017

ÖZ

Kistik Ekinokokkozis safra yolları ile ilişkili olabilecek bir enfeksiyöz hastalıktır. Binden fazla hidatik kist hastası Örmeci metodu ile başarılı bir şekilde tedavi edildi, sadece iki olguda perkütan tedavi sonrası kolanjit gelişti. Bu olgular endoskopik retrograt kolanjiopankreatografi ile tedavi edildi ve bu yazı ile hidatik kistin biliyer fistülizasyonu net bir şekilde göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Örmeci method, cystic echinococcosis, cholangitis

Geliş Tarihi: 21.09.2016

Kabul Tarihi: 31.07.2017

INTRODUCTION

Cystic echinococcosis is an infectious disease that is caused by the parasite *Echinococcus granulosus*. Dogs and other canids are the main sources of these parasites. The disease is predominantly observed in the Middle East, Eastern Europe, Africa, Far East, Australia, New Zealand, and South America; it is prominent in areas with populations having a lower socioeconomic status (1). The following two percutaneous approaches are widely used for treating cystic echinococcosis: (a) puncture, aspiration, injection, and re-aspiration (PAIR) method and (b) Örmeci method. The Örmeci method involves injecting a mixture comprising two-thirds of pure alcohol and one-third of aetoxisclerol (1% polidocanol) into 2% of the cystic volume using a 22-gauge needle. The treatment of type CE3B hydatid cyst (WHO classification) (2) is contraindicated by the PAIR method. Those cysts can be treated by the Örmeci method (3). Percutaneous approaches for treating cystic echinococcosis have several advantages compared with surgical intervention. Although success

rates are high for both therapeutic methods, percutaneous methods have the advantage in that they can be used on an outpatient basis and are associated with an absence of mortality, low morbidity, and reduced hospital stay. It has been occasionally observed that the hydatid cyst can rupture in the biliary duct or intrapleural or peritoneal space. Such a rupture results in obstructive jaundice and cholangitis. The latter can cause the development of life-threatening septicemia and hence should be immediately treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) (3, 4).

In this study, we present two cases wherein the hydatid cyst ruptured in the biliary ducts, and the patients required treatment by ERCP. A thorough literature review is also presented.

CASE REPORT

CASE 1

A 57-year-old male patient presented with pain and discomfort in the right upper quadrant. Abdominal ultrasonography (US) revealed the presence of type CE3B hydatid cyst, mea-

Address for Correspondence / Yazışma Adresi: Fatih Karakaya, E.mail: mfkarakaya@yahoo.com

DOI: 10.5152/tpd.2017.5078

©Copyright 2017 Turkish Society for Parasitology - Available online at www.tparazitolog.org

©Telif hakkı 2017 Türkiye Parazitoloji Derneği - Makale metnine www.tparazitolog.org web sayfasından ulaşılabilir.

suring 90×77 mm in diameter, located in segment 6–7 of the liver. Laboratory test results of the patient were as follows: aspartate amino transferase (AST), 23 U/L; alanine amino transferase (ALT), 23 U/L; total bilirubin, 0.5 mg/dL; direct bilirubin, 0.1 mg/dL; gamma-glutamyl transferase (GGT), 27 U/L; and alkaline phosphatase (ALP), 74 U/L. The patient was successfully treated by the Örmeci method (2) and discharged after the treatment. Fifteen days after the percutaneous treatment, the patient was admitted to our emergency service with complaints of jaundice and pain in the right upper quadrant. Selected laboratory test results of the patient were as follows: AST, 125 U/L; ALT, 334 U/L; total bilirubin, 6.3 mg/dL; direct bilirubin, 4 mg/dL; GGT, 273 U/L; ALP, 149 U/L; lipase, 685 U/L; and C-reactive protein (CRP), 34 mg/L. As the case was strongly suggestive of cholangitis, abdominal US was performed, which revealed that the biliary tract was dilated and that the diameter of the common bile duct had increased to 13 mm. Filling defects were observed inside the common bile duct. All oral intake of the patient was stopped, and intravenous meropenem treatment was initiated. The patient underwent ERCP, in which the contents of the germinative layer of the hydatid cysts were removed by balloon sweeping (Video). Subsequent to this procedure, cholangitis was observed to regress. The final laboratory test results of the patient were as follows: AST, 19 U/L; ALT, 23 U/L; total bilirubin, 1 mg/dL; direct bilirubin, 0.4 mg/dL; GGT, 136 U/L; ALP, 123 U/L; and CRP, 25 mg/L. During the follow-up visits of up to 16 months after the treatment, there was no recurrence of either the hydatid cyst or cholangitis, and the patient was concluded to be cured. Informed consent was obtained from patient before presentation.

CASE 2

A 64-year-old male patient presented with fullness in the right upper quadrant. Abdominal US revealed the presence of a Garby type 3B hydatid cyst (as per WHO guidelines), measuring 100×89 mm in diameter, located in segment 7 of the liver. Laboratory test results of the patient were as follows: AST, 14 U/L; ALT, 22 U/L; total bilirubin, 1.2 mg/dL; direct bilirubin, 0.6 mg/dL; GGT, 78 U/L; and ALP, 80 U/L. The patient was successfully treated by the Örmeci method. Six days after the percutaneous treatment, the patient was admitted to our emergency service with complaints of abdominal pain and fever. Selected laboratory test results of the patient were as follows: AST, 47 U/L; ALT, 65 U/L; total bilirubin, 1.2 mg/dL; direct bilirubin, 0.6 mg/dL; GGT, 211 U/L; ALP, 276 U/L; and CRP, 265 mg/L. Abdominal US revealed a cystic lesion, measuring 10 cm in diameter, located in the right lobe of the liver along with minimal prominence in the intrahepatic bile ducts. Intravenous piperacillin/tazobactam treatment was initiated. ERCP was performed, and the diagnosis of rupture of hydatid cyst in the biliary ducts and communication of the hydatid cyst with the bile ducts was confirmed (Figure 1). By balloon sweeping, the contents of the germinative layer of the hydatid cyst, located in the common bile duct, were removed. Five days after the treatment, selected laboratory test results of the patient were as follows: AST, 12 U/L; ALT, 21 U/L; total bilirubin, 0.4 mg/dL; direct bilirubin, 0.2 mg/dL; GGT, 240 U/L; ALP, 136 U/L; and CRP, 113 mg/L. After 7 days, cholangitis was again observed in the patient, possibly because of the evacuation of some germinative membrane pieces into the common bile duct. The patient



Figure 1. Fistulization of the hydatid cyst to the bile ducts

underwent surgery owing to the proximity of the hydatid cyst to the bile ducts. Subsequent to this surgical procedure, the patient was observed to be cured of the complaint. Informed consent was obtained from patient before presentation.

DISCUSSION

The hydatid cyst is an important public healthcare problem in endemic areas such as Eastern Europe and Mediterranean countries such as Turkey, South Africa, South America, Far East, and Australia. The indirect hemagglutination test is sensitive and can be used for the diagnosis. However, it has now been replaced by the enzyme immunoassay (EIA) for the initial screening of sera. Specific confirmation of reactivity can be obtained by the demonstration of specific echinococcal antigens using immunoblot assays. Eosinophilia is present in <25% of infected individuals. Imaging methods such as ultrasonography, CT, and MRI are also used to diagnose hydatid cysts (5).

Hydatid cysts have the potential to develop complications such as the formation of fistulae between cysts and biliary ducts, rupture of the cyst and leakage of its contents in the biliary ducts, fistulization of the cyst into the pleural or peritoneal spaces or into structures located within the thoracic cavity, abscess formation because of secondary infections at the cyst site, fistulization of the cyst to the skin or gastrointestinal tract, and sudden death (3, 6). It is recommended that patients with such complications of hydatid disease should be treated by endoscopic or surgical methods.

Of the 980 patients who were treated by the Örmeci method, only two cysts ruptured in the biliary ducts. High intra-cystic pressure can occasionally cause hydatid cysts to spontaneously rupture in various cavities.

A meta-analysis of 21 studies was performed by Smego *et al.*, which revealed that 34 (4.4%) of 769 patients who presented with cystic echinococcosis were observed to have fistulae between the cyst and bile ducts; these patients were treated using the PAIR method (7). In contrast, of 980 patients with cystic echino-

cocciosis who were percutaneously treated using Örmeci method, only two showed fistulization of the cyst into the biliary duct with the eventual development of cholangitis (0.2%).

Golemanov *et al.* reported that 8.9% of patients who presented with hydatid cysts of ≥ 10 cm in diameter developed fistulization when treated a second time by the PAIR method (8).

Type 3B hydatid cysts (WHO Classification) are contraindicated for the treatment by PAIR method. However, the Örmeci method can be successfully used for this type of hydatid cyst. The diameters of the cysts treated by our method were 10 and 9 cm. When the diameter of the hydatid cyst is increased, the injected amount of pure alcohol and povidocanol into cyst is also increased without aspiration. Besides multipuncture percutaneous treatment can be require for type 3B hydatid cyst so that multipuncture sides may be another reason for fistulization.

In a report, Borahma *et al.* reported that 16 patients presented with severe cholangitis subsequent to hydatid cysts. After endoscopic sphincterotomy, the fistulas between the bile ducts and hydatid cysts were healed in 80% of the patients (4). Cholangitis caused by a ruptured hydatid cyst can be successfully treated using endoscopic sphincterotomy. Hydatid cysts of >9 cm in diameter and multipuncture of type CE3B cysts may have a risk for developing fistulae during the percutaneous treatment.

CONCLUSION

On the basis of the results presented herein, we recommend that patients with type CE3B hydatid cysts that are >9 cm in diameter and/or cases of multipuncture percutaneous treatment, there is an increased risk for the occurrence of fistulization; therefore, type CE3B hydatid cysts should be closely followed up, and in the case of fistulization, the cysts should be immediately treated with endoscopic sphincterotomy.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastadan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - F.K., N.Ö.; Tasarım - F.K., M.K.; Denetleme - N.Ö.; Kaynaklar - F.K., Ç.K.; Malzemeler - F.K., Ç.K., M.K., N.Ö.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - F.K., Ç.K., M.K., N.Ö.; Analiz ve/veya Yorum - F.K., N.Ö.; Literatür Taraması - F.K., Ç.K., M.K., N.Ö.; Yazıyı Yazan - F.K., N.Ö.; Eleştirel İnceleme - F.K., Ç.K., M.K., N.Ö.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

Informed Consent: Written informed consent was obtained patient who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - F.K., N.Ö. Design - F.K., M.K.; Supervision - N.Ö.; Funding - F.K., Ç.K.; Materials - F.K., Ç.K., M.K., N.Ö.; Data Collection and/or Processing - F.K., Ç.K., M.K., N.Ö.; Analysis and/or Interpretation - F.K., N.Ö.; Literature Review - F.K., Ç.K., M.K., N.Ö.; Writing - F.K., N.Ö.; Critical Review - F.K., Ç.K., M.K., N.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.

Video 1. Removing germinative layer of the hydatid cysts by balloon sweeping



REFERENCES

1. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17:107-35. [CrossRef]
2. Giorgio A, Di Sarno A, de Stefano G, Liorre G, Farella N, Scognamiglio U, et al. Sonography and clinical outcome of viable hydatid liver cysts treated with double percutaneous aspiration and ethanol injection as first-line therapy: efficacy and long-term follow-up. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 186-92. [CrossRef]
3. Örmeci N. PAIR vs Örmeci technique for the treatment of hydatid-cyst. *Turk J Gastroenterol* 2014; 25: 358-64. [CrossRef]
4. Borahma M, Afifi R, Benelbarhdadi I, Ajana FZ, Essamri W, Essaid A. Endoscopic retrograde cholangio pancreatography in ruptured liver hydatid cyst. *Indian J Gastroenterol* 2015; 34: 330-34. [CrossRef]
5. Akkaya H, Akkaya B, Gönülcü S. Hydatid Disease Involving Some Rare Sites in the Body *Turkiye Parazitoloj Derg* 2015; 39: 78-82. [CrossRef]
6. Dziri C, Haouet K, Fingerhut A. Treatment of hydatid cyst of the liver: where is the evidence? *World J Surg* 2004; 28: 731-6. [CrossRef]
7. Smego RA Jr, Bhatti S, Khaliq AA, Beg MA. Percutaneous aspiration-injection-reaspiration drainage plus albendazole or mebendazole for hepatic cystic echinococcosis: A meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1073-83. [CrossRef]
8. Golemanov B, Grigorov N, Mitova R, Genov J, Vuchev D, Tamarozzi F et al. Efficacy and safety of PAIR for cystic echinococcosis: experience on a large series of patients from Bulgaria. *Am J Trop Med Hyg* 2011; 84: 48-51. [CrossRef]