

Özgün Araştırmalar / Original Investigations

In-silico Screening and Leishmania

In-silico Taraması ve Leishmania

Fakher Rahim, Farnoush Shadnoush, Jasem Saki, Reza Arjmand;
Ahvaz, Iran

Evaluation of Malaria Blood Smears

Sıtma Kan Yaymalarının Değerlendirilmesi

Selma Usluca, Cahit Babur, Özlem Kurtcebe, Seher Topluoğlu, Selçuk Kılıç; Ankara, Turkey

Sıtma Olgularımızın Değerlendirilmesi

Evaluation of Malaria Cases

Nagehan Didem Sarı, Gülşen Yörük; İstanbul, Türkiye

Germinal Membran ve Kist Sıvısının Analizi

Analysis of Membrane and Cyst Fluid

Berna Hamamcı, Güneş Açıkgöz, Erol Kılıç, Kerem Karaaslan, Ülfet Çetinkaya, Tülin Durgun Yetim, İbrahim Yetim; Hatay, Kayseri, Türkiye

Sarcocystis Species Infection in Slaughtered Cattle

Kesilmiş Sığırlarda Sarcocystis Türlerinin Yol Açtığı Enfeksiyonlar

Ehsan Faghiri, Aida Davari, Reza Nabavi; Zabol, Iran

Endoparasites in Sheep in Erzurum

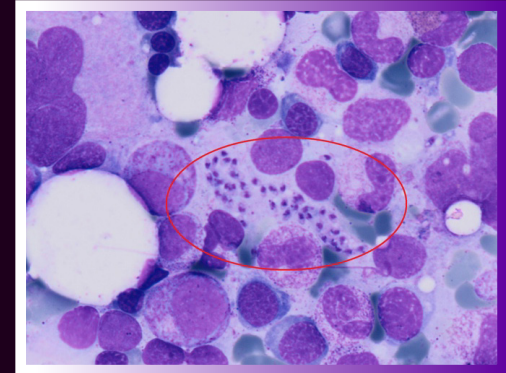
Erzurum Koyunlarındaki Endoparazitler

Muzafer Akyüz, Rıdvan Kirman, Sali Yaya, Hatice Gülbeyen, Esin Güven; Erzurum, Turkey

Rozasede Demodex

Demodex in Rosacea

Dursun Türkmen, Gamze Türkoğlu; Malatya, Türkiye



■ **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, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey
yusuf.ozbel@ege.edu.tr
yusuf.ozbel@gmail.com
ORCID No: 0000-0001-8335-1997

Baş Editör / Editor-in-Chief

Yusuf Özbel

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey
yusuf.ozbel@ege.edu.tr
yusuf.ozbel@gmail.com
ORCID No: 0000-0001-8335-1997

Biyoistatistik Editörü / Biostatistical Consultant

Aliye Mandıracıoğlu

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Public Health Care, Faculty of Science, Ege University, İzmir, Turkey
aliye.mandiracioglu@ege.edu.tr
ORCID No: 0000-0002-0873-4805

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

Ziya Alkan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey
m.ziya.alkan@ege.edu.tr
ORCID No: 0000-0003-3738-4768

Nermin Şakru

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye
Department of Microbiology, School of Medicine, Trakya University, Edirne, Turkey
nsakru@yahoo.com
ORCID No: 0000-0002-1312-7233

Seray Töz

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey
seray.ozensoy.toz@ege.edu.tr
ORCID No: 0000-0001-5957-8665

Nevin Turgay

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey
nevin.turgay@ege.edu.tr
ORCID No: 0000-0003-4517-3223

Özlem Miman

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Dokuz Eylül University, İzmir, Turkey
ozlem.miman@deu.edu.tr
ORCID No: 0000-0003-3415-4959



Galenos Yayınevi Kurucusu ve Sahibi/
Galenos Publishing House Owner and Publisher
Erkan Mor

Genel Yayın Koordinatörü/Publication
Coordinator
Burak Sever

Web Koordinatörleri/Web Coordinators
Turgay Akpınar
Fuat Hocalar

Grafik Departmanı/Graphics Department
Ayda Alaca
Çiğdem Birinci
Gülşah Özgül

Finans Koordinatörü/Finance Coordinator
Sevinç Çakmak

Proje Koordinatörleri/Project Coordinators
Günay Selimoğlu
Hatice Balta

Proje Asistanları/Project Assistants
Duygu Yıldırım
Gamze Aksoy
Melike Eren
Saliha Tuğçe Güdücü

Araştırma&Geliştirme/Research&Development
Mert Can Köse
Mevlûde Özlem Akgüney

Yayınevi İletişim/Publisher Contact

Address: Molla Gürani Mah. Kaçamak Sk. No: 21/1
34093 İstanbul, Turkey
Telefon/Phone: +90 (212) 621 99 25
Faks/Fax: +90 (212) 621 99 27
E-posta/E-mail: info@galenos.com.tr/
yayin@galenos.com.tr
Web: www.galenos.com.tr
Publisher Certificate Number: 14521
Publishing Date: December 2019
E-ISSN: 2146-3077
Üç ayda bir yayımlanan süreli yayındır.
International scientific journal published quarterly.



İ. Cüneyt Balcıoğlu

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı,
Manisa, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Celal Bayar
University, Manisa, Turkey
drcbal@yahoo.com

Songül Delibaş

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim
Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Dokuz Eylül
University, İzmir, Turkey
songul.bdelibas@deu.edu.tr

Mert Döşkaya

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir,
Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Ege University,
İzmir, Turkey
mert.doskaya@ege.edu.tr
ORCID No: 0000-0001-6868-008X

Özgür Kuru

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Parazitoloji Anabilim Dalı,
Ankara, Türkiye
Department of Parasitology, Gulhane Military Medical
Academy, Ankara, Turkey
okoru@gata.edu.tr

Özgür Kurt

Acıbadem Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul,
Türkiye
Department of Microbiology, School of Medicine, Acıbadem
Üniversitesi, İstanbul, Turkey
oz1605@hotmail.com
ORCID No: 0000-0001-5575-588X

■ Biyoloji/Biology**Hüseyin Çetin**

Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Antalya,
Türkiye
Akdeniz University Faculty of Science, Department of
Biology, Antalya, Turkey
hccetin@akdeniz.edu.tr
ORCID No: 0000-0002-9758-6356

■ Veteriner Parazitoloji / Veterinary Parasitology**Atıla Akça**

Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim
Dalı, Kars, Türkiye
Department of Parasitology, School of Veterinary Medicine,
Kafkas University, Kars, Turkey
atilaakca@hotmail.com
ORCID No: 0000-0002-7903-3950

Ayşen Gargılı

Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
Department of Nursing, Faculty of Health Sciences,
Marmara University, İstanbul Turkey
agargili@yahoo.com
ORCID No: 0000-0001-6677-1498

Veli Yılğör Çırak

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye
Department of Parasitology, Faculty of Veterinary
Medicine, Uludağ University, Bursa, Turkey
vcirak@uludag.edu.tr
ORCID No: 0000-0003-0570-2514

Tülin Karagenc

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye
Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,
Adnan Menderes University, Aydın, Turkey
tulinkaragenc@yahoo.com

Bayram Şenlik

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye
Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,
Uludağ University, Bursa, Turkey
bsenlik@uludag.edu.tr
ORCID No: 0000-0003-2964-2245

Sami Şimşek

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim
Dalı, Elazığ, Türkiye
Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,
Fırat University, Elazığ, Turkey
ssimsek@firat.edu.tr
ORCID No: 0000-0002-3567-326X

Ahmet Doğanay

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,
Ankara, Turkey
doganay@veterinary.ankara.edu.tr



■ Uluslararası Danışma Kurulu /International Advisory Board

Tümay Güler

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

Ahmet Üner

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

Ali Ahmet Kilimcioğlu

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

Ali Aydoğdu

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

A. İhsan Diker

Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölümü Parazitoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye
Balıkesir University Faculty of Veterinary Medicine Department of Pre-Clinical Sciences Department of Parasitology, Balıkesir, 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

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

Anıl İça

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

A. Onur Girişgin

Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölümü Parazitoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye
Bursa Uludağ University Faculty of Veterinary Medicine Department of Pre-Clinical Sciences Department of Parasitology, Bursa, 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

Aysu Değirmenci Döşkaya

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

Ayşe Caner

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

Ayşegül Ünver

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

Aytül Önal

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

Bahadır Gönenç

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



Bariş Sarı

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

Bayram Ali Yukarı

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

Bayram Şenlik

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

Bekir Keskin

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

Bijen Kuvçak

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

Çağrı Büke

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

Chizu Sanjoba

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

Çiğdem Banu Çetin

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

Çiler Akisü

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

M. Emin Limoncu

Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek YO, Manisa, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

Derya Dirim Erdoğan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Vocational school of Health Care Services, Celal Bayar University, Manisa, Turkey

Emrah Şimşek

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Klinik Öncesi Bilimler Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye
emrahsimsekerciyes.edu.tr

Engin Araz

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

Ergün Köroğlu

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

Erol Ayaz

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

Erol Tokşen

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

Esin Güven

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

Esma Kozan

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

Fadile Yıldız Zeyrek

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye



Department of Microbiology, School of Medicine, Harran University, Şanlıurfa, Turkey

Ferda Sevinç

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

Feride Kırçalı

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

Feyzullah Güçlü

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

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

Gökman Zafer Pekmezci

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölümü Su Ürünleri ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye
Ondokuz Mayıs University Faculty of Veterinary Medicine Department of Pre-Clinical Sciences Department of Water and Diseases, Samsun, Turkey

Gülay 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, School of Medicine, Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey

Gürol Cantürk

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
Department of Forensic Medicine, School 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 Avcioğlu

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, School 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, School 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 Ertağlar

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye
Department of Parasitology, School 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 Can

Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Molecular Biology, Division of Biology, Ege University Faculty of Science, İzmir, Turkey

İ. Soner Koltuş

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye
Department of Parasitology, School of Medicine, Çukurova University, Adana, Turkey

A. İhsan Diker

Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Balıkesir, Türkiye
ihсандiker@yahoo.com

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, School 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

Khosrow Hazrati Tappeh

Urmia Tıp Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji ve
Mikoloji Anabilim Dalı, Urmia, İran
Urmia Tıp Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji ve
Mikoloji Anabilim Dalı, Urmia, İran

Kirami Ölgen

Ege Üniversitesi Edebiyat Fakültesi, Coğrafya Bölümü, İzmir,
Türkiye
Department of Geography, Faculty of Letters, Ege
University, İzmir, Turkey

Kor Yereli

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim
Dalı, Manisa, Türkiye
Department of Parasitology, School 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,
School 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

Cemal Oğuz

Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi, Erzurum, Türkiye
Faculty of Science, Atatürk University, Erzurum, Turkey

Fatih Şimşek

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

Özkan Arslan

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

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

Ziya Alkan

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

Mehmet Karakuş

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
Department of Biotechnology, Health of Sciences University
Health of Sciences Institute, İstanbul, 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, School of Medicine, İnönü
University, Malatya, Turkey

Metin Korkmaz

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

Mucide Ak

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı,
İzmir, Türkiye
Department of Parasitology, School 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 Açıçı

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



Mustafa Demirci

Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Microbiology, School of Medicine, Katip
Çelebi University, İzmir, Turkey

Mustafa Kaplan

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, Türkiye
Department of Parasitology, School 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, School 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

Naciye Güllüz 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, School of Medicine, Ege
University, İzmir, Turkey

Nermin Şakru

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

Nevin Turgay

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

Department of Parasitology, School of Medicine, Ege
University, İzmir, Turkey

Nihal Doğan

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

Nilgün Daldal

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

Nogay Girginkardeşler

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim
Dalı, Manisa, Türkiye
Department of Parasitology, School 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 Sarımehtemetoğlu

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, School of Medicine, Uludağ
University, Bursa, Turkey

A. Onur Girişgin

Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji
Anabilim Dalı, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Bursa, Türkiye
onurgirisgin@gmail.com

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, School of Medicine, Acıbadem University, İstanbul, Turkey

Özlem Miman

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

Özlem Tünger

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye
Department of Microbiology, School 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 School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

Renate Radek

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

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, School 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, School of Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey

Seray Töz

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

Serdar Değer

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

Serdar Düşen

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

Serdar Paşa

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

Serkan Bakırcı

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

Serpil Değerli

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye
Department of Parasitology, School 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, School of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey

Soner Uzun

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



Songül Delibaş

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

Tuğrul Dereli

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
Department of Dermatology, School 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 Akarca

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

Department of Gastroenterology, School of Medicine, Ege University, İzmir, Turkey

Ülgen Z. Ok

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

Ümit Çimli Aksoy

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

Veli Yılğör Çırak

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

Volkan Akyol

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

Yaşar Ali Öner

İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
Department of Microbiology, Çapa School of Medicine, İstanbul University, İstanbul, 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, School 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

Gökmen Zafer Pekmezci

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Klinik Öncesi Bilimler Bilim Dalı, Samsun, Türkiye
zpekmezci@omu.edu.tr

Zati Vatansever

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, School of Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey

Zeynep Taş

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



AMAÇ KAPSAM

Türkiye Parazitoloji Dergisi (Türkiye Parazitoloj Derg), Türk Parazitoloji Derneği'nin çift-kör hakemli, açık erişimli bilimsel yayın organıdır. Dergi Mart, Haziran, Eylül ve Aralık aylarında olmak üzere üç ayda bir yayınlanır ve dört sayıda bir cildi tamamlanır. Yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.

Türkiye Parazitoloji Dergisi; tıp, veterinerlik ve biyoloji alanlarında parazitoloji konulu klinik ve deneysel araştırma makaleleri, olgu sunumları, derleme ve editöre mektup türünde yayınladığı yüksek bilimsel standartlara sahip makalelerle uluslararası literatüre katkı sunmaktadır.

Derginin hedef kitlesi, tıbbi ve veteriner parazitoloji alanlarında ve biyoloji bilim dalının ilgili birimlerinde çalışan tüm bilim insanları ve bu alanlardaki yüksek lisans öğrencileridir.

Derginin editöryel ve yayın süreçleri "International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)", "World Association of Medical Editors (WAME)", "Council of Science Editors (CSE)", "Committee on Publication Ethics (COPE)", "European Association of Science Editors (EASE)" ve "National Information Standards Organization (NISO)" organizasyonlarının kılavuzlarına uygun olarak biçimlendirilir. Türkiye Parazitoloji Dergisi, "Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice)" ilkelerini benimsemiştir.

Türkiye Parazitoloji Dergisi, PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, BIOSIS Previews Biological Abstracts, CABI Abstracts and Bibliographic Databases, SCOPUS, Embase, J-Gate, ROOT INDEXING, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin Türk Medline ve Türkiye Atıf Dizini tarafından indekslenmektedir.

Makale değerlendirme ve yayın işlemleri için yazarlardan ücret talep edilmemektedir. Tüm makaleler <http://turkiyeparazitolderg.org/tr/Anasayfa> sayfasındaki online makale değerlendirme sistemi kullanılarak dergiye gönderilmelidir. Derginin yazım kurallarına, gerekli formlara ve dergiyle ilgili diğer bilgilere web sayfasından erişilebilir.

Derginin tüm masrafları Türkiye Parazitoloji Derneği tarafından karşılanmaktadır. Basılı kopyalarda tıbbi ilaç, malzeme ve cihaz üreticilerinin reklamları yayınlanabilir. Reklam vermek isteyenlerin Editöryel Ofis ile iletişime geçmeleri gerekmektedir. Reklam görselleri sadece Baş Editör onayı ile yayınlanmaktadır.

Dergide yayınlanan makalelerde ifade edilen bilgi, fikir ve görüşler Türkiye Parazitoloji Derneği, Baş Editör, Editörler, Yayın Kurulu ve Yayıncı'nın değil, yazar(lar)ın bilgi ve görüşlerini yansıtır. Baş Editör, Editörler, Yayın Kurulu ve

Yayıncı, bu gibi yazarlara ait bilgi ve görüşler için hiçbir sorumluluk ya da yükümlülük kabul etmemektedir.

Yayınlanan tüm içeriğe <http://turkiyeparazitolderg.org/tr/Anasayfa> adresinden ücretsiz olarak erişilebilir. Basılı kopyalar Türkiye Parazitoloji Derneği üyelerine ücretsiz olarak dağıtılır.

Dergide yayınlanan içeriğin tüm telif hakları Türkiye Parazitoloji Derneği'ne aittir.

Baş Editör

Prof. Dr. Yusuf Özbel

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

Tel: +90 232 390 47 24 / +90 232 373 00 08

Faks: +90 232 388 13 47

E-mail: yusuf.ozbel@ege.edu.tr / yusuf.ozbel@gmail.com

Açık Erişim Politikası

Dergide açık erişim politikası uygulanmaktadır. Açık erişim politikası Budapest Open Access Initiative (BOAI) <http://www.budapestopenaccessinitiative.org/> kuralları esas alınarak uygulanmaktadır.

Açık Erişim, "[hakem değerlendirmesinden geçmiş bilimsel literatürün], İnternet aracılığıyla; finansal, yasal ve teknik engeller olmaksızın, serbestçe erişilebilir, okunabilir, indirilebilir, kopyalanabilir, dağıtılabilir, basılabilir, taranabilir, tam metinlere bağlantı verilebilir, dizinlenebilir, yazılıma veri olarak aktarılabilir ve her türlü yasal amaç için kullanılabilir olması"dır. Çoğaltma ve dağıtım üzerindeki tek kısıtlama yetkisi ve bu alandaki tek telif hakkı rolü; kendi çalışmalarının bütünlüğü üzerinde kontrol sahibi olabilmeleri, gerektiği gibi tanınmalarının ve alıntılanmalarının sağlanması için, yazarlara verilmelidir.

Baskı İzinleri

CC BY-NC-ND lisansı altında yayınlanan materyalin ticari amaçlı kullanım (satış vb.) için telif hakkı sahibi ve yazar haklarının korunması için izin gereklidir. Baskı izinleri için başvurular Editör ofisine yapılmalıdır.



AIMS AND SCOPE

Turkish Journal of Parasitology (Türkiye Parazitolojisi Dergisi) is the double-blind peer-reviewed, open access, international publication organ of Turkish Society for Parasitology. The journal is a quarterly publication, published on March, June, September and December and its publication languages are Turkish and English.

Turkish Journal of Parasitology aims to contribute to the international literature by publishing original clinical and experimental research articles, case reports, review articles, and letters to the editor biological, medical and veterinary parasitology.

The journal's target audience includes researchers, physicians and healthcare professionals who are interested or working on medical and veterinary parasitology, and relevant disciplines of biology, as well as PhD and MSc students studying on these topics.

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal is in conformity with the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

Turkish Journal of Parasitology is currently indexed in PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, BIOSIS Previews Biological Abstracts, CABI Abstracts and Bibliographic Databases, SCOPUS, Embase, J-Gate, ROOT INDEXING, TUBITAK ULAKBİM TR, Turkish Medline and Turkish Citation Index.

Processing and publication are free of charge with the journal. No fees are requested from the authors at any point throughout the evaluation and publication process. All manuscripts must be submitted via the online submission system, which is available at <http://turkiyeparazitolderg.org/eng/Anasayfa>. The journal guidelines, technical information, and the required forms are available on the journal's web page.

All expenses of the journal are covered by the Turkish Society for Parasitology. Potential advertisers should contact the Editorial Office. Advertisement images are published only upon the Editor-in-Chief's approval.

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in the journal reflect the views of the author(s)

and not the opinions of the Turkish Society for Parasitology, editors, editorial board, and/or publisher; the editors, editorial board, and publisher disclaim any responsibility or liability for such materials.

All published content is available online, free of charge at <http://turkiyeparazitolderg.org/eng/Anasayfa>. Printed copies of the journal are distributed to the members of the Turkish Society for Parasitology, free of charge.

Turkish Society for Parasitology holds the international copyright of all the content published in the journal.

Editor in Chief

Yusuf Özbel, MD, Prof

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

Phone: +90 232 390 47 24 / +90 232 373 00 08

Fax: +90 232 388 13 47

E-mail: yusuf.ozbel@ege.edu.tr / yusuf.ozbel@gmail.com

Open Access Policy

This journal provides immediate open access to its content on the principle that making research freely available to the public supports a greater global exchange of knowledge.

Open Access Policy is based on the rules of the Budapest Open Access Initiative (BOAI) <http://www.budapestopenaccessinitiative.org/>. By "open access" to peer-reviewed research literature, we mean its free availability on the public internet, permitting any users to read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of these articles, crawl them for indexing, pass them as data to software, or use them for any other lawful purpose, without financial, legal, or technical barriers other than those inseparable from gaining access to the internet itself. The only constraint on reproduction and distribution, and the only role for copyright in this domain, should be to give authors control over the integrity of their work and the right to be properly acknowledged and cited.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License.



YAZIM KURALLARI

Türkiye Parazitoloji Dergisi (Türkiye Parazitoloj Derg), Türk Parazitoloji Derneği'nin çift-kör hakemli, açık erişimli bilimsel yayın organıdır. Dergi Mart, Haziran, Eylül ve Aralık aylarında olmak üzere üç ayda bir yayınlanır ve dört sayıda bir cildi tamamlanır. Yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.

Türkiye Parazitoloji Dergisi; tıp, veterinerlik ve biyoloji alanlarında parazitoloji konulu klinik ve deneysel araştırma makaleleri, olgu sunumları, derleme ve editöre mektup türünde yayınladığı yüksek bilimsel standartlara sahip makalelerle uluslararası literatüre katkı sunmaktadır.

Derginin editöryel ve yayın süreçleri, "International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)", "World Association of Medical Editors (WAME)", "Council of Science Editors (CSE)", "Committee on Publication Ethics (COPE)", "European Association of Science Editors (EASE)" ve "National Information Standards Organization (NISO)" organizasyonlarının kılavuzlarına uygun olarak biçimlendirilmiştir. Türkiye Parazitoloji Dergisi'nin editöryel ve yayın süreçleri, "Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice)" ilkelerine uygun olarak yürütülmektedir.

Özgünlük, yüksek bilimsel kalite ve atıf potansiyeli bir makalenin yayına kabulü için en önemli kriterlerdir. Gönderilen yazıların daha önce başka bir elektronik ya da basılı dergide, kitapta veya farklı bir ortamda sunulmamış ya da yayınlanmamış olması gerekir. Daha önce başka bir dergiye gönderilen ancak yayına kabul edilmeyen yazılar hakkında dergi önceden bilgilendirilmelidir. Bu yazıların eski hakem raporlarının Yayın Kuruluna gönderilmesi değerlendirme sürecinin hızlanmasını sağlayacaktır. Toplantılarda sunulan çalışmalar için, sunum yapılan organizasyonun tam adı, tarihi, şehri ve ülkesi belirtilmelidir.

Türkiye Parazitoloji Dergisi'ne gönderilen tüm makaleler çift-kör hakem değerlendirme sürecinden geçmektedir. Tarafsız değerlendirme sürecini sağlamak için her makale alanlarında uzman en az iki dış-bağımsız hakem tarafından değerlendirilir. Dergi Yayın Kurulu üyeleri tarafından gönderilecek makalelerin değerlendirme süreçleri, davet edilecek dış bağımsız editörler tarafından yönetilecektir. Bütün makalelerin karar verme süreçlerinde nihai karar yetkisi Baş Editör'dedir.

Araştırmaların kabul edilen etik kurallar çerçevesinde yapıldığını temin etmek için yazarların etik uygunluk konusunda bilgi vermeleri gerekmektedir. İnsanlar üzerinde yapılan klinik ve deneysel çalışmalar, ilaç araştırmaları ve bazı olgu sunumları için "World Medical Association Declaration of Helsinki, Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013, www.wma.net) çerçevesinde hazırlanmış Etik Komisyon raporu gerekmektedir. Gerekli görülmesi halinde Etik Komisyon raporu veya eşdeğeri olan resmi bir yazı yazarlardan talep edilebilir. İnsanlar üzerinde yapılmış deneysel çalışmaların sonuçlarını bildiren yazılarda, çalışmanın yapıldığı kişilere uygulanan prosedürlerin niteliği tümüyle açıklandıktan sonra, onaylarının alındığına ilişkin bir açıklama ile onay alınan etik kurul adı ve onay numarasına makalenin Yöntemler

bölümünde yer verilmelidir. Hastaların kimliklerinin gizliliğini korumak yazarların sorumluluğundadır. Hastaların kimliğini açığa çıkarabilecek fotoğraflar için hastadan ya da yasal temsilcilerinden alınan imzalı izinlerin de gönderilmesi gereklidir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar için de uluslararası etik kurallara uygunluğu gösteren komite onayı ilgili hayvan etik kurulundan alınmalıdır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda etik kurul onayının yanı sıra, hayvanlara ağrı, acı ve rahatsızlık verilmemesi için yapılmış olanlar açık olarak makalede belirtilmelidir.

Bütün makalelerin benzerlik tespiti denetimi, iThenticate yazılımı aracılığıyla yapılmaktadır.

Yayın Kurulu, dergimize gönderilen çalışmalar hakkındaki intihal, atıf manipülasyonu ve veri sahteciliği iddia ve şüpheleri karşısında COPE kurallarına uygun olarak hareket edecektir.

Yazar olarak listelenen herkesin ICMJE (www.icmje.org) tarafından önerilen yazarlık kriterlerini karşılaması gerekmektedir. ICMJE, yazarların aşağıdaki 4 kriteri karşılamasını önermektedir:

1. Çalışmanın konseptine/tasarımına; ya da çalışma için verilerin toplanmasına, analiz edilmesine ve yorumlanmasına önemli katkı sağlamış olmak; VE
2. Yazı taslağını hazırlamış ya da önemli fıkırsel içeriğin eleştirel incelemelerini yapmış olmak; VE
3. Yazının yayından önceki son halini gözden geçirmiş ve onaylamış olmak; VE
4. Çalışmanın herhangi bir bölümünün geçerliliği ve doğruluğuna ilişkin soruların uygun şekilde soruşturulduğunun ve çözümlendiğinin garantisini vermek amacıyla çalışmanın her yönünden sorumlu olmayı kabul etmek.

Bir yazar, çalışmada katkı sağladığı kısımların sorumluluğunu almasına ek olarak, diğer yazarların çalışmanın hangi kısımlarından sorumlu olduğunu da teşhis edebilmelidir. Ayrıca, yazarlar birbirlerinin katkılarının bütünlüğüne güven duymalıdır.

Yazar olarak belirtilen her kişi yazarlığın dört kriterini karşılamalıdır ve bu dört kriteri karşılayan her kişi yazar olarak tanımlanmalıdır. Dört kriterin hepsini karşılamayan kişilere makalenin başlık sayfasında teşekkür edilmelidir.

Yazarlık haklarına uygun hareket etmek ve hayalet ya da lütuf yazarlığın önlenmesini sağlamak amacıyla sorumlu yazarlar makale yükleme sürecinde www.turkiyeparazitolog.org adresinden erişilebilen Yazar Katkı Formu'nu imzalamalı ve taranmış versiyonunu yazıyla birlikte göndermelidir. Yayın Kurulu'nun gönderilen bir makalede "lütuf yazarlık" olduğundan şüphelenmesi durumunda söz konusu makale değerlendirme yapılmaksızın reddedilecektir. Makale gönderimi kapsamında; sorumlu yazar makale gönderim ve değerlendirme süreçleri boyunca yazarlık ile ilgili tüm sorumluluğu kabul ettiğini bildiren kısa bir ön yazı göndermelidir.

Türkiye Parazitoloji Dergisi; gönderilen makalelerin değerlendirme sürecine dahil olan yazarların ve bireylerin,

YAZIM KURALLARI

potansiyel çıkar çatışmasına ya da önyargıya yol açabilecek finansal, kurumsal ve diğer ilişkiler dahil mevcut ya da potansiyel çıkar çatışmalarını beyan etmelerini talep ve teşvik eder.

Bir çalışma için bir birey ya da kurumdan alınan her türlü finansal destek ya da diğer destekler Yayın Kurulu'na beyan edilmeli ve potansiyel çıkar çatışmalarını beyan etmek amacıyla ICMJE Potansiyel Çıkar Çatışmaları Formu katkı sağlayan tüm yazarlar tarafından ayrı ayrı doldurulmalıdır. Editörler, yazarlar ve hakemler ile ilgili potansiyel çıkar çatışması vakaları derginin Yayın Kurulu tarafından COPE ve ICMJE rehberleri kapsamında çözülmektedir.

Derginin Yayın Kurulu, itiraz ve şikayet vakalarını, COPE rehberleri kapsamında işleme almaktadır. Yazarlar, itiraz ve şikayetleri için doğrudan Editöryel Ofis ile temasa geçebilirler. İhtiyaç duyulduğunda Yayın Kurulu'nun kendi içinde çözemediği konular için tarafsız bir temsilci atanmaktadır. İtiraz ve şikayetler için karar verme süreçlerinde nihai kararı Baş Editör verecektir.

Türkiye Parazitoloji Dergisi 'ne makale gönderen yazarlar makalelerinin telif haklarını Türkiye Parazitoloji Derneği'ne devretmeyi kabul ederler. Reddedilen makalelerin telif hakları yazarlarına geri iade edilir. Türkiye Parazitoloji Dergisi her makalenin www.turkiyeparazitolderg.org adresinden erişebileceğiniz Yayın Hakkı Devir Formu ile beraber gönderilmesini talep eder. Yazarlar, basılı ya da elektronik formatta yer alan resimler, tablolar ya da diğer her türlü içerik dahil daha önce yayınlanmış içeriği kullanırken telif hakkı sahibinden izin almalıdırlar. Bu konudaki yasal, mali ve cezai sorumluluk yazarlara aittir.

Dergide yayınlanan makalelerde ifade edilen görüşler ve fikirler Türkiye Parazitoloji Dergisi, Baş Editör, Editörler, Yayın Kurulu ve Yayıncı'nın değil, yazar(lar)ın bakış açılarını yansıtır. Baş Editör, Editörler, Yayın Kurulu ve Yayıncı bu gibi durumlar için hiçbir sorumluluk ya da yükümlülük kabul etmemektedir. Yayınlanan içerik ile ilgili tüm sorumluluk yazarlara aittir.

MAKALE HAZIRLAMA

Makaleler, ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2017 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>) ile uyumlu olarak hazırlanmalıdır. Randomize çalışmalar CONSORT, gözlemsel çalışmalar STROBE, tanısal değerli çalışmalar STARD, sistematik derleme ve meta-analizler PRISMA, hayvan deneyli çalışmalar ARRIVE ve randomize olmayan davranış ve halk sağlığıyla ilgili çalışmalar TREND kılavuzlarına uyumlu olmalıdır.

Makaleler sadece www.turkiyeparazitolderg.org adresinde yer alan derginin online makale yükleme ve değerlendirme sistemi üzerinden gönderilebilir. Diğer ortamlardan gönderilen makaleler değerlendirilmeye alınmayacaktır.

Gönderilen makalelerin dergi yazım kurallarına uygunluğu ilk olarak Editöryel Ofis tarafından kontrol edilecek, dergi yazım kurallarına uygun hazırlanmamış makaleler teknik düzeltme

talepleri ile birlikte yazarlarına geri gönderilecektir.

Yazarların; Yayın Hakkı Devir Formu, Yazar Katkı Formu ve ICMJE Potansiyel Çıkar Çatışmaları Formu'nu (bu form, tüm yazarlar tarafından doldurulmalıdır) ilk gönderim sırasında online makale sistemine yüklemeleri gerekmektedir. Bu formlara www.turkiyeparazitolderg.org adresinden erişilebilmektedir.

Başlık sayfası: Gönderilen tüm makalelerle birlikte ayrı bir başlık sayfası da gönderilmelidir. Bu sayfa;

- Makalenin Türkçe ve İngilizce başlıkları ile 50 karakteri geçmeyen kısa başlıklarını,
- Yazarların isimlerini, kurumlarını, eğitim derecelerini ve ORCID ID numaralarını,
- Finansal destek bilgisi ve diğer destek kaynakları hakkında detaylı bilgiyi,
- Sorumlu yazarın ismi, adresi, telefonu (cep telefonu dahil), faks numarası ve e-posta adresini,
- Makale hazırlama sürecine katkıda bulunan ama yazarlık kriterlerini karşılamayan bireylerle ilgili bilgileri içermelidir.

Özet: Editöre Mektup türündeki yazılar dışında kalan tüm makalelerin Türkçe ve İngilizce özetleri olmalıdır. Özgün Araştırma makalelerinin özetleri "Amaç", "Yöntemler", "Bulgular" ve "Sonuç" alt başlıklarını içerecek biçimde hazırlanmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Tüm makaleler en az 3 en fazla 5 anahtar kelimeyle birlikte gönderilmeli, anahtar sözcükler özetin hemen altına yazılmalıdır. Kısaltmalar anahtar sözcük olarak kullanılmamalıdır. Anahtar sözcükler "National Library of Medicine (NLM)" tarafından hazırlanan "Medical Subject Headings (MeSH)" veritabanından seçilmelidir.

Makale Türleri

Özgün Araştırma: Ana metin "Giriş", "Yöntemler", "Bulgular", "Tartışma" ve "Sonuç" alt başlıklarını içermelidir. Özgün Araştırmalarla ilgili kısıtlamalar için lütfen Tablo 1'i inceleyiniz.

Sonucu desteklemek için istatistiksel analiz genellikle gereklidir. İstatistiksel analiz, tıbbi dergilerdeki istatistik verilerini bildirme kurallarına göre yapılmalıdır (Altman DG, Gore SM, Gardner MJ, Pocock SJ. Statistical guidelines for contributors to medical journals. Br Med J 1983; 7; 1489-93). İstatistiksel analiz ile ilgili bilgi, Yöntemler bölümü içinde ayrı bir alt başlık olarak yazılmalı ve kullanılan yazılım kesinlikle tanımlanmalıdır.

Birimler, uluslararası birim sistemi olan International System of Units (SI)'a uygun olarak hazırlanmalıdır.

Editöryel Yorum: Dergide yayınlanan bir araştırmanın, o konunun uzmanı olan veya üst düzeyde değerlendirme yapan bir hakemi tarafından kısaca yorumlanması amacıyla taşımaktadır. Yazarları, dergi tarafından seçilip davet edilir. Özet, anahtar sözcük, tablo, şekil, resim ve diğer görseller kullanılmaz.



YAZIM KURALLARI

Derleme: Yazının konusunda birikimi olan ve bu birikimleri uluslararası literatüre yayın ve atıf sayısı olarak yansıtmış uzmanlar tarafından hazırlanmış yazılar değerlendirmeye alınır. Yazarları dergi tarafından da davet edilebilir. Bir bilgi ya da konunun klinikte kullanılması için varlığı son düzeyi anlatan, tartışan, değerlendiren ve gelecekte yapılacak olan çalışmalara yön veren bir formatta hazırlanmalıdır. Ana metin "Giriş", "Klinik ve Araştırma Etkileri" ve "Sonuç" bölümlerini içermelidir. Derleme türündeki yazılarla ilgili kısıtlamalar için lütfen Tablo 1'i inceleyiniz.

Olgu Sunumu: Olgu sunumları için sınırlı sayıda yer ayrılmakta ve sadece ender görülen, tanı ve tedavisi güç olan hastalıklarla ilgili, yeni bir yöntem öneren, kitaplarda yer verilmeyen bilgileri yansıtan, ilgi çekici ve öğretici özelliği olan olgular yayına kabul edilmektedir. Ana metin; "Giriş", "Olgu Sunumu", "Tartışma" ve "Sonuç" alt başlıklarını içermelidir. Olgu Sunumlarıyla ilgili kısıtlamalar için lütfen Tablo 1'i inceleyiniz.

Editöre Mektup: Dergide daha önce yayınlanan bir yazının önemini, gözden kaçan bir ayrıntısını ya da eksik kısımlarını tartışabilir. Ayrıca derginin kapsamına giren alanlarda okurların ilgisini çekebilecek konular ve özellikle eğitici olgular hakkında da Editöre Mektup formatında yazılar yayınlanabilir. Okuyucular da yayınlanan yazılar hakkında yorum içeren Editöre Mektup formatında yazılarını sunabilirler. Özet, anahtar sözcük, tablo, şekil, resim ve diğer görseller kullanılmaz. Ana metin alt başlıksız olmalıdır. Hakkında mektup yazılan yayına ait cilt, yıl, sayı, sayfa numaraları, yazı başlığı ve yazarların adları açık bir şekilde belirtilmeli, kaynak listesinde yazılmalı ve metin içinde atıfta bulunulmalıdır.

Tablo 1: Makale türleri için kısıtlamalar

Makale türü	Sözcük limiti	Özet sözcük limiti	Kaynak limiti	Tablo limiti	Resim limiti
Özgün Araştırma	3500	250 (Alt başlıklı)	30	6	7 ya da toplamda 15 resim
Derleme	5000	250	50	6	10 ya da toplamda 20 resim
Olgu Sunumu	1000	200	15	Tablo yok	10 ya da toplamda 20 resim
Editöre Mektup	500	Uygulanamaz	5	Tablo yok	Resim yok

Tablolar

Tablolar ana dosyaya eklenmeli, kaynak listesi sonrasında sunulmalı, ana metin içerisindeki geçiş sıralarına uygun olarak numaralandırılmaz. Tabloların üzerinde tanımlayıcı bir başlık yer almalı ve tablo içerisinde geçen kısaltmaların açılımları tablo altına tanımlanmalıdır. Tablolar Microsoft Office Word dosyası içinde "Tablo Ekle" komutu kullanılarak hazırlanmalı ve kolay okunabilir şekilde düzenlenmelidir. Tablolarda sunulan veriler ana metinde sunulan verilerin

tekrarı olmamalı; ana metindeki verileri destekleyici nitelikte olmalıdır.

Resim ve Resim Altyazıları

Resimler, grafikler ve fotoğraflar (TIFF ya da JPEG formatında) ayrı dosyalar halinde sisteme yüklenmelidir. Görseller bir Word dosyası dokümanı ya da ana doküman içerisinde sunulmamalıdır. Alt birimlere ayrılan görseller olduğunda, alt birimler tek bir görsel içerisinde verilmemelidir. Her bir alt birim sisteme ayrı bir dosya olarak yüklenmelidir. Resimler alt birimleri belli etme amacıyla etiketlenmemelidir (a, b, c vb.). Resimlerde altyazıları desteklemek için kalın ve ince oklar, ok başları, yıldızlar, asteriskler ve benzer işaretler kullanılabilir. Makalenin geri kalanında olduğu gibi resimler de kör olmalıdır. Bu sebeple, resimlerde yer alan kişi ve kurum bilgileri de körleştirilmelidir. Görsellerin minimum çözünürlüğü 300DPI olmalıdır. Değerlendirme sürecindeki aksaklıkları önlemek için gönderilen bütün görsellerin çözünürlüğü net ve boyutu büyük (minimum boyutlar 100x100 mm) olmalıdır. Resim altyazıları ana metnin sonunda yer almalıdır.

Makale içerisinde geçen tüm kısaltmalar, ana metin ve özette ayrı ayrı olmak üzere ilk kez kullanıldıkları yerde tanımlanarak, kısaltma tanımının ardından parantez içerisinde verilmelidir.

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

Ana metin içerisinde cihaz, yazılım, ilaç vb. ürünlerden bahsedildiğinde ürünün ismi, üreticisi, üretildiği şehir ve ülke bilgisini içeren ürün bilgisi parantez içinde verilmelidir; "Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA)".

Tüm kaynaklar, tablolar ve resimlere ana metin içinde uygun olan yerlerde sıraylanumara verilerek atıf yapılmalıdır.

Özgün araştırmaların kısıtlamaları, engelleri ve yetersizliklerinden Sonuç paragrafı öncesi "Tartışma" bölümünde bahsedilmelidir.

Kaynaklar

Atıf yapılırken en son ve en güncel yayınlar tercih edilmelidir. Atıf yapılan erken çevrimiçi makalelerin DOI numaraları mutlaka sağlanmalıdır. Kaynakların doğruluğundan yazarlar sorumludur. Dergi isimleri Index Medicus/Medline/PubMed'de yer alan dergi kısaltmaları ile uyumlu olarak kısaltılmalıdır. Altı ya da daha az yazar olduğunda tüm yazar isimleri listelenmelidir. Eğer 7 ya da daha fazla yazar varsa ilk 6 yazar yazıldıktan sonra "et al" konulmalıdır. Ana metinde kaynaklara atıf yapılırken parantez içinde Arabik numaralar kullanılmalıdır. Farklı yayın türleri için kaynak stilleri aşağıdaki örneklerde sunulmuştur:

Dergi makalesi: Blasco V, Colavolpe JC, Antonini F, Zieskiewicz L, Nafati C, Albanese J, et al. Long-term outcome in kidney recipients from donors treated with hydroxyethylstarch 130/0.4 and hydroxyethylstarch 200/0.6. Br J Anaesth 2015; 115: 797-8.



YAZIM KURALLARI

Kitap bölümü: Sherry S. Detection of thrombi. In: Strauss HE, Pitt B, James AE, editors. Cardiovascular Medicine. St Louis: Mosby; 1974.p.273-85.

Tek yazarlı kitap: Cohn PF. Silent myocardial ischemia and infarction. 3rd ed. New York: Marcel Dekker; 1993.

Yazar olarak editör(ler): Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

Toplantıda sunulan yazı: Bengissson S. Sothemin BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sept 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992.p.1561-5.

Bilimsel veya teknik rapor: Smith P. Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX) Dept. of Health and Human Services (US). Office of Evaluation and Inspections: 1994 Oct. Report No: HHSIGOE 169200860.

Tez: Kaplan SI. Post-hospital home health care: the elderly access and utilization (dissertation). St. Louis (MO): Washington Univ. 1995.

Yayına kabul edilmiş ancak henüz basılmamış yazılar: Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med In press 1997.

Erken Çevrimiçi Yayın: Aksu HU, Ertürk M, Gül M, Uslu N. Successful treatment of a patient with pulmonary embolism and biatrial thrombus. Anadolu Kardiyol Derg 2012 Dec 26. doi: 10.5152/akd.2013.062. [Epub ahead of print]

Elektronik formatta yayınlanan yazı: 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](http://www.cdc.gov/ncidod/EID/cid.htm).

REVİZYONLAR

Yazarlar makalelerinin revizyon dosyalarını gönderirken, ana metin üzerinde yaptıkları değişiklikleri işaretlemeli, ek olarak, hakemler tarafından öne sürülen önerilerle ilgili notlarını "Hakemlere Cevap" dosyasında göndermelidir. Hakemlere Cevap dosyasında her hakemin yorumunun ardından yazarın cevabı gelmeli ve değişikliklerin yapıldığı satır numaraları da ayrıca belirtilmelidir. Revize makaleler karar mektubunu takip eden 30 gün içerisinde dergiye gönderilmelidir. Makalenin revize versiyonu belirtilen süre içerisinde yüklenmezse, revizyon seçeneği iptal olabilir. Yazarların revizyon için ek süreye ihtiyaç duymaları durumunda uzatma taleplerini ilk 30 gün sona ermeden dergiye iletmeleri gerekmektedir.

Yayına kabul edilen makaleler dil bilgisi, noktalama ve biçim açısından kontrol edilir. Yayın süreci tamamlanan makaleler, yayın planına dahil edildikleri sayıyla birlikte yayınlanmadan önce erken çevrimiçi formatında dergi web sitesinde yayına alınır. Kabul edilen makalelerin baskıya hazır PDF dosyaları sorumlu yazarlara iletilir ve yayının onaylarının 2 gün içerisinde dergiye iletilmesi istenir.

Baş Editör

Prof. Dr. Yusuf Özbel

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

Tel: +90 232 390 47 24 / +90 232 373 00 08

Faks: +90 232 388 13 47

E-mail: yusuf.ozbel@ege.edu.tr / yusuf.ozbel@gmail.com



INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Turkish Journal of Parasitology (Türkiye Parazitolojisi Dergisi) is the double-blind peer-reviewed, open access, international publication organ of Turkish Society for Parasitology. The journal is a quarterly publication, published on March, June, September and December and its publication languages are Turkish and English.

Turkish Journal of Parasitology aims to contribute to the international literature by publishing original clinical and experimental research articles, case reports, review articles, and letters to the editor biological, medical and veterinary parasitology.

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Council of Medical Journal Editors (ICMJE), the World Association of Medical Editors (WAME), the Council of Science Editors (CSE), the Committee on Publication Ethics (COPE), the European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal conforms to the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

Originality, high scientific quality, and citation potential are the most important criteria for a manuscript to be accepted for publication. Manuscripts submitted for evaluation should not have been previously presented or already published in an electronic or printed medium. The journal should be informed of manuscripts that have been submitted to another journal for evaluation and rejected for publication. The submission of previous reviewer reports will expedite the evaluation process. Manuscripts that have been presented in a meeting should be submitted with detailed information on the organization, including the name, date, and location of the organization.

Manuscripts submitted to Turkish Journal of Parasitology will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all submissions.

To ensure that the research has been conducted according to accepted ethical principles, authors should declare information on ethical compliance. For studies involving human participants, an approval of research protocols by the Ethics Committee in accordance with international agreements (World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," amended in October 2013, www.wma.net) is required for experimental, clinical, and drug studies and for some case reports. Information on patient consent, the name of the ethics committee, and the ethics committee approval number should also be stated in the Methods section of the manuscript. For manuscripts concerning experimental research on animals, an approval of research protocols by an Animal Ethics Committee in accordance with international principles is required. If required, ethics

committee reports or an equivalent official document will be requested from the authors. For studies carried out on animals, the measures taken to prevent pain and suffering of the animals should be stated clearly.

All submissions are screened by a similarity detection software (iThenticate by CrossCheck).

In the event of alleged or suspected research misconduct, e.g., plagiarism, citation manipulation, and data falsification/fabrication, the Editorial Board will follow and act in accordance with COPE guidelines.

Each individual listed as an author should fulfill the authorship criteria recommended by the International Committee of Medical Journal Editors

(ICMJE - www.icmje.org). The ICMJE recommends that authorship be based on the following 4 criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
1. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
1. Final approval of the version to be published; AND
1. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

In addition to being accountable for the parts of the work he/she has done, an author should be able to identify which co-authors are responsible for specific other parts of the work. In addition, authors should have confidence in the integrity of the contributions of their co-authors.

All those designated as authors should meet all four criteria for authorship, and all who meet the four criteria should be identified as authors. Those who do not meet all four criteria should be acknowledged in the title page of the manuscript.

Turkish Journal of Parasitology requires corresponding authors to submit a signed and scanned version of the authorship contribution form (available for download through <http://turkiyeparazitolderg.org/eng/Anasayfa>) during the initial submission process in order to act appropriately on authorship rights and to prevent ghost or honorary authorship. If the editorial board suspects a case of "gift authorship," the submission will be rejected without further review. As part of the submission of the manuscript, the corresponding author should also send a short statement declaring that he/she accepts to undertake all the responsibility for authorship during the submission and review stages of the manuscript.

Turkish Journal of Parasitology requires and encourages the authors and the individuals involved in the evaluation process of submitted manuscripts to disclose any existing or potential conflicts of interests, including financial, consultant, and institutional, that might lead to potential bias or a conflict of interest. Any financial grants or other support received for a submitted study from individuals or institutions should be disclosed to the Editorial Board. To disclose a potential conflict of interest, the ICMJE Potential

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Conflict of Interest Disclosure Form should be filled in and submitted by all contributing authors. Cases of a potential conflict of interest of the editors, authors, or reviewers are resolved by the journal's Editorial Board within the scope of COPE and ICMJE guidelines.

The Editorial Board of the journal handles all appeal and complaint cases within the scope of COPE guidelines. In such cases, authors should get in direct contact with the editorial office regarding their appeals and complaints. When needed, an ombudsperson may be assigned to resolve cases that cannot be resolved internally. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all appeals and complaints.

When submitting a manuscript to Turkish Journal of Parasitology, authors accept to assign the copyright of their manuscript to Turkish Society for Parasitology. If rejected for publication, the copyright of the manuscript will be assigned back to the authors. Turkish Journal of Parasitology requires each submission to be accompanied by a Copyright Transfer Form (available for download at <http://turkiyeparazitolderg.org/eng/Anasayfa>). When using previously published content, including figures, tables, or any other material in both print and electronic formats, authors must obtain permission from the copyright holder. Legal, financial and criminal liabilities in this regard belong to the author(s).

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in Turkish Journal of Parasitology reflect the views of the author(s) and not the opinions of the editors, the editorial board, or the publisher; the editors, the editorial board, and the publisher disclaim any responsibility or liability for such materials. The final responsibility in regard to the published content rests with the authors.

MANUSCRIPT PREPARATION

The manuscripts should be prepared in accordance with ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2017 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>). Authors are required to prepare manuscripts in accordance with the CONSORT guidelines for randomized research studies, STROBE guidelines for observational original research studies, STARD guidelines for studies on diagnostic accuracy, PRISMA guidelines for systematic reviews and meta-analysis, ARRIVE guidelines for experimental animal studies, and TREND guidelines for non-randomized public behavior.

Manuscripts can only be submitted through the journal's online manuscript submission and evaluation system, available at <http://turkiyeparazitolderg.org/eng/Anasayfa>. Manuscripts submitted via any other medium will not be evaluated.

Manuscripts submitted to the journal will first go through a technical evaluation process where the editorial office staff will ensure that the manuscript has been prepared and submitted in accordance with the journal's guidelines. Submissions that do not conform to the journal's guidelines will be returned to the submitting author with technical correction requests.

Authors are required to submit the following:

- Copyright Transfer Form,
- Author Contributions Form, and
- ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form (should be filled in by all contributing authors)
- during the initial submission. These forms are available for download at <http://turkiyeparazitolderg.org/eng/Anasayfa>.
- Preparation of the Manuscript
- Title page: A separate title page should be submitted with all submissions and this page should include:
- The Turkish and English full title of the manuscript as well as a short title (running head) of no more than 50 characters,
- Name(s), affiliations, highest academic degree(s) and ORCID ID's of the author(s),
- Grant information and detailed information on the other sources of support,
- Name, address, telephone (including the mobile phone number) and fax numbers, and email address of the corresponding author,
- Acknowledgment of the individuals who contributed to the preparation of the manuscript but who do not fulfill the authorship criteria.

Abstract: A Turkish and an English abstract should be submitted with all submissions except for Letters to the Editor. Submitting a Turkish abstract is not compulsory for international authors. The abstract of Original Articles should be structured with subheadings (Objective, Methods, Results, and Conclusion). Please check Table 1 below for word count specifications.

Keywords: Each submission must be accompanied by a minimum of three to a maximum of five keywords for subject indexing at the end of the abstract. The keywords should be listed in full without abbreviations. The keywords should be selected from the National Library of Medicine, Medical Subject Headings database (<https://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>).

Manuscript Types

Original Articles: This is the most important type of article since it provides new information based on original research. The main text of original articles should be structured with Introduction, Methods, Results, Discussion, and Conclusion subheadings. Please check Table 1 for the limitations for Original Articles.

Statistical analysis to support conclusions is usually necessary. Statistical analyses must be conducted in accordance with international statistical reporting standards (Altman DG, Gore SM, Gardner MJ, Pocock SJ. Statistical guidelines for contributors to medical journals. *Br Med J* 1983; 7; 1489-93). Information on statistical analyses should be provided with a separate subheading under the Materials and Methods section and the statistical software that was used during the process must be specified.



INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Units should be prepared in accordance with the International System of Units (SI).

Editorial Comments: Editorial comments aim to provide a brief critical commentary by reviewers with expertise or with high reputation in the topic of the research article published in the journal. Authors are selected and invited by the journal to provide such comments. Abstract, Keywords, and Tables, Figures, Images, and other media are not included.

Review Articles: Reviews prepared by authors who have extensive knowledge on a particular field and whose scientific background has been translated into a high volume of publications with a high citation potential are welcomed. These authors may even be invited by the journal. Reviews should describe, discuss, and evaluate the current level of knowledge of a topic in clinical practice and should guide future studies. The main text should contain Introduction, Clinical and Research Consequences, and Conclusion sections. Please check Table 1 for the limitations for Review Articles.

Case Reports: There is limited space for case reports in the journal and reports on rare cases or conditions that constitute challenges in diagnosis and treatment, those offering new therapies or revealing knowledge not included in the literature, and interesting and educative case reports are accepted for publication. The text should include Introduction, Case Report, Discussion, and Conclusion subheadings. Please check Table 1 for the limitations for Case Reports.

Letters to the Editor: This type of manuscript discusses important parts, overlooked aspects, or lacking parts of a previously published article. Articles on subjects within the scope of the journal that might attract the readers' attention, particularly educative cases, may also be submitted in the form of a "Letter to the Editor." Readers can also present their comments on the published manuscripts in the form of a "Letter to the Editor." Abstract, Keywords, and Tables, Figures, Images, and other media should not be included. The text should be unstructured. The manuscript that is being commented on must be properly cited within this manuscript.

Table 1: Limitations for each manuscript type

Type of manuscript	Word limit	Abstract word limit	Reference limit	Table limit	Figure limit
Original Article	3500	250 (Structured)	30	6	7 or total of 15 images
Review Article	5000	250	50	6	10 or total of 20 images
Case Report	1000	200	15	No tables	10 or total of 20 images
Technical Note	1500	No abstract	15	No tables	10 or total of 20 images
Letter to the Editor	500	No abstract	5	No tables	No media

Tables

Tables should be included in the main document, presented after the reference list, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text. A descriptive title must be placed above the tables. Abbreviations used in the tables should be defined below the tables by footnotes (even if they are defined within the main text). Tables should be created using the "insert table" command of the word processing software and they should be arranged clearly to provide easy reading. Data presented in the tables should not be a repetition of the data presented within the main text but should be supporting the main text.

Figures and Figure Legends

Figures, graphics, and photographs should be submitted as separate files (in TIFF or JPEG format) through the submission system. The files should not be embedded in a Word document or the main document. When there are figure subunits, the subunits should not be merged to form a single image. Each subunit should be submitted separately through the submission system. Images should not be labeled (a, b, c, etc.) to indicate figure subunits. Thick and thin arrows, arrowheads, stars, asterisks, and similar marks can be used on the images to support figure legends. Like the rest of the submission, the figures too should be blind. Any information within the images that may indicate an individual or institution should be blinded. The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI. To prevent delays in the evaluation process, all submitted figures should be clear in resolution and large in size (minimum dimensions: 100 × 100 mm). Figure legends should be listed at the end of the main document.

All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. The abbreviation should be provided in parentheses following the definition.

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.

When a drug, product, hardware, or software program is mentioned within the main text, product information, including the name of the product, the producer of the product, and city and the country of the company (including the state if in USA), should be provided in parentheses in the following format: "Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA)"

All references, tables, and figures should be referred to within the main text, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text.

Limitations, drawbacks, and the shortcomings of original articles should be mentioned in the Discussion section before the conclusion paragraph.

References

While citing publications, preference should be given to the latest, most up-to-date publications. If an ahead-of-print

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

publication is cited, the DOI number should be provided. Authors are responsible for the accuracy of references. Journal titles should be abbreviated in accordance with the journal abbreviations in Index Medicus/ MEDLINE/PubMed. When there are six or fewer authors, all authors should be listed. If there are seven or more authors, the first six authors should be listed followed by "et al." In the main text of the manuscript, references should be cited using Arabic numbers in parentheses. The reference styles for different types of publications are presented in the following examples.

Journal Article: Rankovic A, Rancic N, Jovanovic M, Ivanović M, Gajović O, Lazić Z, et al. Impact of imaging diagnostics on the budget – Are we spending too much? *Vojnosanit Pregl* 2013; 70: 709-11.

Book Section: Suh KN, Keystone JS. Malaria and babesiosis. Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR, editors. *Infectious Diseases*. Philadelphia: Lippincott Williams; 2004.p.2290-308.

Books with a Single Author: Sweetman SC. Martindale the Complete Drug Reference. 34th ed. London: Pharmaceutical Press; 2005.

Editor(s) as Author: Huizing EH, de Groot JAM, editors. *Functional reconstructive nasal surgery*. Stuttgart-New York: Thieme; 2003.

Conference Proceedings: Bengissson S. Sothemin BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. *MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics*; 1992 Sept 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. pp.1561-5.

Scientific or Technical Report: Cusick M, Chew EY, Hoogwerf B, Agrón E, Wu L, Lindley A, et al. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Risk factors for renal replacement therapy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS), Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Kidney Int: 2004. Report No: 26.

Thesis: Yılmaz B. Ankara Üniversitesindeki Öğrencilerin Beslenme Durumları, Fiziksel Aktiviteleri ve Beden Kitle İndeksleri Kan Lipidleri Arasındaki İlişkiler. H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2007.

Manuscripts Accepted for Publication, Not Published Yet: Slots J. The microflora of black stain on human primary

teeth. *Scand J Dent Res*. 1974.

Epub Ahead of Print Articles: Cai L, Yeh BM, Westphalen AC, Roberts JP, Wang ZJ. Adult living donor liver imaging. *Diagn Interv Radiol*. 2016 Feb 24. doi: 10.5152/dir.2016.15323. [Epub ahead of print].

Manuscripts Published 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](http://www.cdc.gov/ncidod/EID/cid.htm).

REVISIONS

When submitting a revised version of a paper, the author must submit a detailed "Response to the reviewers" that states point by point how each issue raised by the reviewers has been covered and where it can be found (each reviewer's comment, followed by the author's reply and line numbers where the changes have been made) as well as an annotated copy of the main document. Revised manuscripts must be submitted within 30 days from the date of the decision letter. If the revised version of the manuscript is not submitted within the allocated time, the revision option may be canceled. If the submitting author(s) believe that additional time is required, they should request this extension before the initial 30-day period is over.

Accepted manuscripts are copy-edited for grammar, punctuation, and format. Once the publication process of a manuscript is completed, it is published online on the journal's webpage as an ahead-of-print publication before it is included in its scheduled issue. A PDF proof of the accepted manuscript is sent to the corresponding author and their publication approval is requested within 2 days of their receipt of the proof.

Editor in Chief

Yusuf Özbek, MD, Prof

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

Phone: +90 232 390 47 24 / +90 232 373 00 08

Fax: +90 232 388 13 47

E-mail: yusuf.ozbel@ege.edu.tr / yusuf.ozbel@gmail.com



İÇİNDEKİLER/CONTENS

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / ORIGINAL INVESTIGATIONS

- 158 **In-Silico Identification of the Best Compound Against *Leishmania infantum*: High Throughput Screening of All FDA Approved Drugs**
Leishmania infantum'a Karşı En İyi Bileşimin Silico Olarak Tanımlanması: Tüm FDA Onaylı İlaçların Yüksek Verimli Tarama
 Fakher Rahim, Farnoush Shadnoush, Jasem Saki, Reza Arjmand; Ahvaz, Iran
- 165 **Evaluation of Malaria Blood Smears Sent to National Malaria Reference Laboratory**
 Doğrulama Laboratuvarına Gönderilen Sıtma Kan Yaymalarının Değerlendirilmesi
 Selma Usluca, Cahit Babur, Özlem Kurtcebe, Seher Topluoğlu, Selçuk Kılıç; Ankara, Turkey
- 170 **Kliniğimizde 2012-2018 Yılları Arasında Yatırılan 31 Sıtma Olgusunun Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi**
 Retrospective Evaluation of 31 Malaria Cases Hospitalized in Our Clinic Between 2012-2018
 Nagehan Didem Sarı, Gülşen Yörük; İstanbul, Türkiye
- 175 **Ekinokokkozis'te Germinal Membran ve Kist Sıvısının Raman Spektroskopisi ile Moleküler Düzeyde Biyokimyasal Analizi**
 Biochemical Analysis of Germinal Membrane and Cyst Fluid by Raman Spectroscopy in Echinococcosis
 Berna Hamamcı, Güneş Açıkgöz, Erol Kılıç, Kerem Karaaslan, Ülfet Çetinkaya, Tülin Durgun Yetim, İbrahim Yetim; Hatay, Kayseri, Türkiye
- 182 **Histopathological Survey on *Sarcocystis* Species Infection in Slaughtered Cattle of Zabol-Iran**
 Zabol-İran'da Kesilen Sığırlarda *Sarcocystis* Türlerinin Yol Açtığı Enfeksiyonlar Üzerine Histopatolojik İnceleme
 Ehsan Faghiri, Aida Davari, Reza Nabavi; Zabol, Iran
- 187 **Endoparasites Determined by Fecal Examination in Sheep in Erzurum Province**
 Erzurum İlinde Yetiştirilen Koyunlarda Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitler
 Muzaffer Akyüz, Rıdvan Kirman, Sali Yaya, Hatice Gülbeyen, Esin Güven; Erzurum, Turkey
- 194 **Rozase Hastalarında *Demodex* Enfestasyonu**
Demodex Infestation in Patients with Rosacea
 Dursun Türkmen, Gamze Türkoğlu; Malatya, Türkiye
- 198 **Üniversite Öğrencilerinde *Demodex* spp. Yaygınlığının Araştırılması: Sağlık Bilimleri Fakültesi Örneği**
 The Investigation of Prevalence of *Demodex* spp. in University Students: The Case of the Faculty of Health Sciences
 Sinem Naz Sevgen, Neriman Mor; Kars, Türkiye
- 204 **Tıbbi Sülük Türleri *Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*'nın İç ve Dış Morfolojik Özellikleri**
 Internal and External Morphological Characteristics of the Medicinal Leech Species *Hirudo sulukii* and *Hirudo verbana*
 Naim Sağlam; Elazığ, Türkiye



İÇİNDEKİLER/CONTENS

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- 210 Visceral Leishmaniasis in A Patient Presenting with Fever of Unknown Origin: A Case Report From a Low-endemic Region of Turkey
Türkiye'nin Düşük Endemik Bölgesinden Nedeni Bilinmeyen Ateşle Başvuran Bir Visseral Leyişmaniyaz Olgusu
Muhammed B. Jaiteh, Nursel Çalık Başaran, Lale Özışık, Orkun Akman, Nasib Hasanlı, Sema Tortop, Büşra Betül Özmen Çapın, Sabine Hüseyinova, Ayşegül Üner, Ahmet Çağkan İnkaya; Ankara, Turkey
- 213 An Oral Myiasis Case Caused by Diptera (Calliphoridae) Larvae in Turkey
Türkiye'de Diptera (Calliphoridae) Larvalarının Neden Olduğu Bir Oral Miyazis Olgusu
Zeynep Taş Cengiz, Hasan Yılmaz, Yunus Emre Beyhan, Ümit Yakan, Abdurrahman Ekici; Van, Antalya, Turkey
- 216 Türkiye'de Bir Kobay (*Cavia porcellus*)'da *Chirodiscoides caviae* Enfestasyonu ve Fipronil ile Tedavisi
Infestation of *Chirodiscoides caviae* in a Guinea pig (*Cavia porcellus*) at Turkey and Fipronil Treatment
Meral Aydenizöz, Sami Gökpinar; Kırıkkale, Türkiye

2019 İNDEKS / 2019 INDEX

2019 Hakem Dizini - 2019 Referee Index
2019 Yazar Dizini - 2019 Author Index
2019 Konu Dizini - 2019 Subject Index



EDİTÖRDEN

Bu sayımızı, ikisi yurtdışından olmak üzere dokuz özgün araştırma makalesi ve üç olgu sunumu olmak üzere 12 makale ile çıkarmaktayız.

Özgün araştırmalar arasında; Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Sıtma Referans Laboratuvar'ına gelen çok sayıda örneğin sonuçlarını irdeleyen bir çalışma ve eliminasyon öncesi saptanan sıtma olgularının detaylarının verildiği bir çalışma ile koyunların bağırsak parazitlerini belirleyen bir çalışmaya yer verilmiştir. Ayrıca, Demodex enfestasyonu ile ilgili iki ayrı araştırma ile son yıllarda alternatif tedavide yaygın olarak kullanılmaya başlanan tıbbi sülükleri morfoloji olarak inceleyen bir araştırma bu sayı kapsamına alınmıştır.

Olgu sunumlarında ise yine ilginç bulacağınızı düşündüğümüz visseral leishmaniasis, oral myiasis ve kobayda C. caviae enfestasyonunun tedavisi ile ilgili olmak üzere üç farklı konuda olguya detaylı olarak yer verilmiştir.

2019 yılında yayınladığımız dört sayıda yer alan makalelerin incelenmesinde bizlere yardımcı olan hakem hocalarımıza ve yardımcı editör arkadaşlarımıza minnet ve teşekkürlerimi belirtmek isterim.

Dergimize gönderilen yazılarda 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 olmasını umuyorum.

Prof. Dr. Yusuf Özbel

Baş Editör

In-Silico Identification of the Best Compound Against *Leishmania infantum*: High Throughput Screening of All FDA Approved Drugs

Leishmania infantum'a Karşı En İyi Bileşimin Silico Olarak Tanımlanması: Tüm FDA Onaylı İlaçların Yüksek Verimli Tarama

✉ Jasem Saki¹, ✉ Farnoush Shadnoush¹, ✉ Reza Arjmand², ✉ Fakher Rahim³

¹Cellular and Molecular Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

²Department of Medical parasitology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

³Thalassemia and Hemoglobinopathies Research Center, Health research institute, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Cite this article as: Saki J, Shadnoush F, Arjmand R, Rahim F. In-Silico Identification of the Best Compound Against *Leishmania infantum*: High Throughput Screening of All FDA Approved Drugs. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43(4):158-64.

ABSTRACT

Objective: Current in-silico research was designed and administered for the screening of 20000 Food and Drug Administration-approved drug compounds with the goal of finding promising drugs against lipophosphoglycan (LPG) and γ -glutamylcysteine synthetase (γ -GCS) of *Leishmania infantum*.

Methods: After the protein sequence of both targets was taken, the 3D structures of protein of interest were predicted and validated. Molecular docking was done among the two putative targets (LPG and γ -GCS) and approved compounds were selected using AutoDock 4.2 program to predict ligand-receptor interactions.

Results: After docking experiment was done on 20000 drug compounds, a total number of seven ligands, two for γ -GCS receptor and five for LPG receptor, were assigned as novel, potent anti-leishmanial drugs based on their binding affinity and energy. Of those, five ligands possessed cytotoxic and anti-cancer characteristics and showed good binding capacity to LPG receptor with Δ_{Gbinding} up to 8.5 kcal/mol more negative; while two compounds showed good binding capacity to glutamyl receptor with Δ_{Gbinding} up to 7.8 kcal/mol more negative.

Conclusion: The latest software-based methods are powerful tools for scanning and predicting new peptide templates specific to biological targets in organisms for new drug discovery. However, the use of *in vitro* and *in vivo* techniques is a requirement for better evaluation of the potential of projected ligands with the help of in-silico approaches, identifying molecular mechanism of action of the more active compounds is possible. This can help in defining the most likely molecular target, so that the subsequent optimization using *in vitro* and *in vivo* techniques can be undertaken.

Keywords: In-silico, lipophosphoglycan, γ -glutamylcysteine synthetase, molecular docking, cytotoxic and anti-cancer activity

ÖZ

Amaç: Mevcut in-silico araştırması, *Leishmania infantum* lipofosfoglikan (LPG) ve γ -glutamilsistein sentetazına (γ -GCS) karşı umut verici ilaçlar bulmak amacıyla 20000 Gıda ve İlaç İdaresi onaylı ilaç bileşiklerinin taranması için tasarlandı ve uygulandı.

Yöntemler: Her iki hedefin protein sekansı alındıktan sonra, 3D yapıları tahmin edildi ve doğrulandı. Moleküler yerleştirme iki varsayılan hedef (LPG ve γ -GCS) arasında yapıldı ve ligand-reseptör etkileşimlerini tahmin etmek için AutoDock 4.2 programı kullanılarak onaylanmış bileşikler seçildi.

Bulgular: Yirmi bin ilaç bileşiği üzerinde deney yapıldıktan sonra, γ -GCS reseptörü için iki ve LPG reseptörü için beş olmak üzere toplam yedi ligand, bağlanma afiniteleri ve enerjilerine göre yeni, güçlü anti-leishmanial ilaçlar olarak belirlenmiştir. Bunlardan 5 ligand 8,5 kcal/mol'e kadar daha negatif Δ_{Gbinding} ile LPG reseptörüne iyi bağlanma kapasitesi gösteren sitotoksik ve anti-kanser özelliklere sahipti. Bunlardan 2 ligand, 7,8 kcal/mol'e kadar daha negatif Δ_{Gbinding} ile glutamyl reseptörüne iyi bir bağlanma kapasitesi gösterdi.

Sonuç: En yeni yazılım tabanlı yöntemler, yeni ilaç keşfi için organizmalarda biyolojik hedeflere özgü yeni peptid şablonlarını taramak ve tahmin etmek için güçlü araçlardır. Bununla birlikte, *in vitro* ve *in vivo* tekniklerin kullanımı, öngörülen ligandların



Received/Geliş Tarihi: 21.01.2019 Accepted/Kabul Tarihi: 15.08.2019

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Fakher Rahim, Ahvaz University of Medical Sciences Health Research Institute, Thalassemia and Hemoglobinopathies Research Center, Molecular Medicine, Ahvaz, Iran

E-mail/E-Posta: bioinfo2003@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-2857-4562

potansiyelinin daha iyi değerlendirilmesi için bir gerekliliktir. İn-silico yaklaşımların yardımı ile daha aktif bileşiklerin moleküler düzeyde etki mekanizmasının tanımlanması mümkün olmaktadır ve böylece en olası moleküler hedef belirlenebilmekte ve *in vitro* ve *in vivo* teknikleri kullanarak sonraki optimizasyon yapılabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: İn-silico, lipofosfoglikan, γ -glutamilsistein sentetaz, moleküler yerleştirme, sitotoksik ve anti-kanser aktivitesi

INTRODUCTION

The protozoan parasites of *Leishmania* spp. are the causative agents of a neglected disease called leishmaniasis, being considered as a significant health concern in tropical and subtropical regions of the world (1). This infection usually disseminates via the bite of a female sand fly and renders different clinical manifestations from cutaneous ulcers to mostly pernicious visceral leishmaniasis (VL) (2). Approximately, one hundred nations have documented leishmaniasis infection with 350 million at-risk individuals residing in endemic territories. As a global perspective, 12 million people are infected and the incidence rates for VL is calculated to be 0.2-0.4 million cases annually (3). Over ninety percent of VL cases occur in six countries, including Brazil, India, Sudan, Bangladesh, South Sudan and Ethiopia (4). Multiple factors are involved in the incidence of leishmaniasis, comprising sandfly and reservoir control issues, increased traditional traveling, suppressed host immunity due to disease complications and some drugs, lack of efficacious immunoprophylaxis as well as drug resistance to traditional therapies (5,6). It has been disclosed that currently administered anti-leishmanial drugs are costly and may possess toxicity and develop drug resistance; hence, it is an urgent need for the development of novel, safe and affordable drugs to combat leishmaniasis (7,8). Approved drugs, especially those approved by Food and Drug Administration (FDA), have favorable or validated pharmacokinetic properties and toxicological profiles, and the repositioning of existing drugs for new indications can potentially avoid expensive costs associated with early-stage testing of the hit compounds (9). The fundamentals of drug discovery rely on the determination of a distinct protein and/or metabolic pathway specific to the pathogen (10). Bioinformatics is a computer-based interdisciplinary approach for various inter-molecular prediction purposes such as peptide-receptor interactions (11). Recognizing structure-activity associations using in-silico screening would efficiently lead us to identify specific drug targets for such neglected infections (12). The conventional drug discovery needs about 14 year and approximately 2.5 billion USD to approve and launch a new drug. To overcome time and cost obstacles to conventional drug discovery the process of assessing new indication for existing and approved drugs called drug repositioning (DR), has been introduced so far. Through taking advantage of drugs already in clinical use for other indications or drugs that have cleared early safety phases of trials, DR can reduce the time and cost of the drug discovery process. Several in-silico approaches have been established to apply the DR, including omics-based and molecular docking based approaches.

Trypanothione is a crucial molecule in the initial confront with host macrophages, neutralizing their reactive oxidative species and redox potential maintenance (13,14). During its biosynthesis, the enzyme γ -glutamylcysteine synthetase (γ -GCS) catalyses the first and rate-limiting phase and possess imperative action in parasite survival, rendering it as a considerable drug target (15,16). In contrast to other trypanosomatid species, the glycocalyx of *Leishmania* parasites constitutes of phosphoglycosylated glycans anchors of glycosylphosphatidylinositol (GPI). One of

the most outstanding glycoconjugates of the *Leishmania* surface membrane is lipophosphoglycan (LPG) (17). This molecule may be an appropriate drug target since it is a strong agonist of toll-like receptors, inhibits the activation of protein kinase C, harnesses complement system and damages phagolysosome maturation (18). In this experimental study, we aimed to investigate in-silico anti-leishmanial activity of 3358 FDA-approved compounds against above-mentioned drug targets of *Leishmania infantum* (*L. infantum*) and compared to amphotericin B and glucantime.

METHODS

Template Selection and Confirmation

At first, the FASTA format of amino acids sequences of LPG (Uniprot ID: A4I4C9) and γ -GCS (Uniprot ID: A4HY37) for *L. infantum* were gathered from the UniProt Database (<https://www.uniprot.org>), and was used in BLAST analysis. Then, a program search protein databases using a protein query called BLASTP was run against the protein data bank to find a three-dimensional (3D) determined structure according to the best alignment scores. Subsequently, respective 3D structural models for both molecules were created using Swiss-Model online software (<https://swissmodel.expasy.org>), then validated by Protein Model Portal (<https://www.proteinmodelportal.org>), saves v5.0 (<http://servicesn.mbi.ucla.edu/SAVES/>), and Protein Structure Evaluation Suite & Server (<http://www.prosess.ca>) web servers.

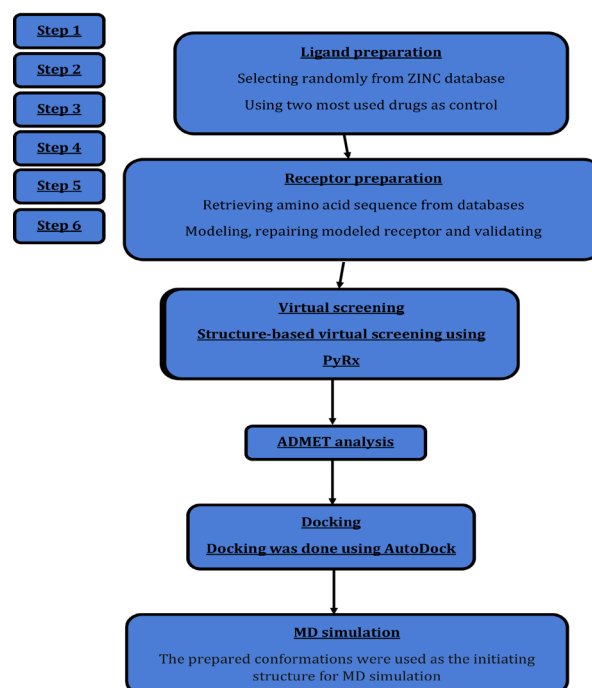


Figure 1. Schematic workflow for finding potential drug, ligands and receptors specific to the *L. infantum* receptor

Finally, the selected protein was simulated using GROMACS 5.1.3 software (19) for 100 ns base on the ABMER03 force field. The flow diagram of finding potential drug, ligands and receptors specific to the *L. infantum* receptor has given in details (Figure 1).

Ligands Library Preparation

We used a method for template and FDA approved drug selection that we conducted and published previously (20). In brief, 20000 FDA approved drugs were randomly extracted from the ZINC database and tested against two selected receptors. For comparative study, the 3D structure of two known anti-leishmanial drugs from Drug Bank (<https://www.drugbank.ca>) and PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) databases were screened and appointed. Thus, a library of potential ligands was built. Also, two drug targets and FDA-approved drug compounds were prepared for molecular docking. All ligands in the pdbqt format were retrieved using openbabel software and their energy was minimized by MMFF94 force field.

Virtual Screening, and Control Setting

In this study, we used structure-based virtual screening, a computational-aided technique used in the early-stage drug discovery campaign to search a chemical compound library for novel bioactive molecules against a drug target of interest (21). We used PyRx Software for virtual screening procedure. All 20000 selected FDA-approved drugs were docked using AutoDock Vina in PyRx 0.8 (22). These drugs with their chemical structure, physical properties, and clinical indications have been retrieved from various public databases, including PubChem, CheMBL, DrugBank, and DrugCentral (23). Glucantime and amphotericin B were used as control drugs in our experiment because they are standard treatment options for VL.

Molecular Docking

The AutoGrid section of AutoDock tools was employed to compute the grid maps of all LPG and γ -GCS molecules, taking into account large enough ones to include surface and active site. AutoDock 4.3 software was used for docking the chosen drug compounds into the active site of LPG and γ -GCS. The Lamarckian genetic algorithm-based AutoDock 4.2 was applied for ligand-receptor interactions. To increase docking efficiency, the total number of 63800 runs were performed for each drug target. Upon yielding docking values, cluster analysis was fulfilled in accordance with the root mean square (0.5Å).

The ligands were sketched and geometrically minimized using ACD ChemsSketch (www.acdlabs.com) and Marvin Sketch (www.chemaxon.com), respectively. The ligands and proteins were then prepared using AutoDock Tools 1.5.6 (www.autodock.scripps.edu). The proteins were added with polar hydrogen and given by Kollman charge, whereas the ligands were given by Gasteiger charges. The grid was centered on each protein binding site and the docking was then performed using AutoDock Vina embedded in PyRx version 8.0 (www.autodock.scripps.edu). The hit of protein was selected based on the lowest mean of free energy of binding ($D G_{\text{bind}}$), whereas a combination of a low $D G_{\text{bind}}$ and hydrogen bond interaction was considered to select the hit of the ligand. The selected docking pose was visualized using discovery studio 3.5 (www.accelrys.com).

In the following, AutoDock Vina and AutoDock 4.2 were assigned to calculate free energy charge of binding and binding affinity. Below equation corresponds to computation of estimated free energy charge of binding: (6)

estimated free energy charge of binding = torsional free energy of ligand + final inter - molecular energy

Molecular Dynamic (MD) Simulation

After preparing the template and ligands, the prepared conformations were used as the initiating structure for molecular dynamic (MD) simulation. The acquired conformation of MD, as well as the docked ligands, were engaged in the MD simulation process. All MD simulations were done using the GROMACS 5.1.3 software package and the AMBER03 force field, in a box with dimensions of 96×95×100 Å. The force field parameters were acquired from the antechamber module (22) of the Amber program, using the GAFF force field (23). Partial charges of the ligands were assigned using the AM1-BCC model (24), and an energy minimization method was performed. After energy minimization, a position restraint process was accomplished in association with NVT and NPT ensembles. Finally, the selected protein was simulated using GROMACS 5.1.3 software (19) for 100 ns base on the ABMER03 force field.

RESULTS

In total, three and seven templates were predicted using Swiss-model for LPG and γ -GCS, respectively. The best model for LPG was the second model, whereas the best one for γ -GCS was the first template, with XP_001468657.1 vs XP_001464978.1 sequence identities, e-values of 1.18962e-124 vs 2.26415e-140 and final total model energies of -12670.841 kJ/mol vs -12892.576 kJ/mol (Figure 2A and 2B).

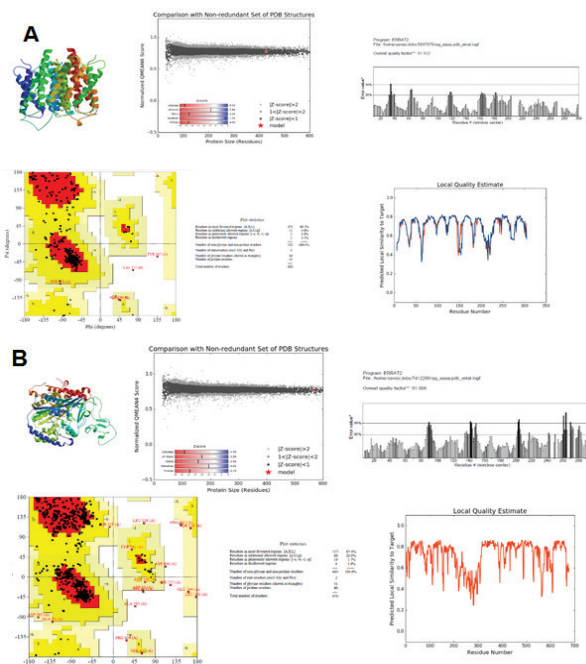


Figure 2. A) The LPG model from *L. infantum* using homology modeling software, B) The γ -GCS model from *L. infantum* using homology modeling software. The upper, left figure shows the prepared model for the receptor of interest, the upper, right figure shows model validation with ERRAT, the bottom left figure shows Ramachandran plot with the percentage of amino acids in favored and allowed regions, and the bottom, right figure shows the detail of model local quality

Model validation was also done and Ramachandran plots were calculated for LPG and γ -GCS, suggesting 99.1% vs. 97.4% residues in the allowed region, respectively. According to ERRAT program results, the total quality factors of provided models for LPG and γ -GCS were as 91.912 and 91.008, respectively. Chemical properties of selected FDA-approved compounds were given in detail in Table 1.

After the accomplishment of docking on 20000 drug compounds, a total number of seven ligands, two for γ -GCS receptor and five for LPG receptor, were assigned as novel, potent anti-leishmanial drugs based on their binding affinity and energy (Table 2).

Of these, five ligands possessed cytotoxic and anti-cancer characteristics that showed a good binding capacity to LPG receptor with $\Delta G_{\text{binding}}$ up to 8.5 kcal/mol more negative (Figure 2A, C, D, E); while, two compounds showed good binding capacity to Glutamyl receptor with $\Delta G_{\text{binding}}$ up to 7.8 kcal/mol more negative (Figure 3A and B). The selected compound 186 inserted in the hydrophobic pocket created by Met237, Val241, Ser254, and Gly260, as shown in Figure 2A. The compound 427 inserted in the hydrophobic pocket created by Thr104, Lys107, Met237, Thr238, and Val241, as shown in Figure 2B. The compound 446

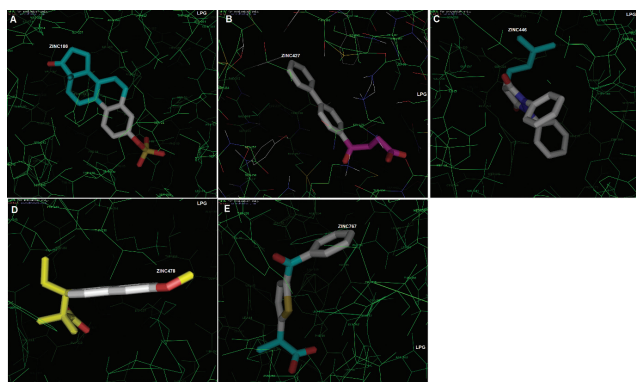


Figure 3. A) Experimental ligand no. 186 (zinc186) that showed H-binding to LPG receptor, B) experimental ligand no. 427 (ZINC427) that showed H-binding to lipophosphoglycan (LPG) receptor C) experimental ligand no.446 (ZINC446) forms H-bond with LPG receptor, D) experimental ligand no.478 (ZINC478) forms H-bonds with LPG receptor, E) Experimental ligand no.767 (ZINC767) that showed H-binding to LPG receptor form *L.infantum*. The selected compound 183 inserted in the hydrophobic pocket created by Gly321, Val381, Ser474, Gln479, and Arg498, as shown in Figure 3A. The compound 648 inserted in the hydrophobic pocket created by Pro91, Leu189, Glu192, Ser474, and Trp477, as shown in Figure 3B.



Figure 3. A) Experimental ligand no. 183 (zinc183) that showed H-binding to γ -GCS receptor, B) experimental ligand no. 648 (ZINC648) that showed H-binding to γ - GCS receptor form *L. infantum*

GCS: Glutamylcysteine synthetase

Table 1. Chemical characteristics of selected FDA-approved drugs

Ligand	pH range	xlogP	Apolar desolvation (kcal/mol)	Polar desolvation (kcal/ml-L)	H-bond donors	H-bond acceptors	Net charge	tPSA (Å ²)	Molecular weight (g/mol)	Rotatable bonds	Heavy atoms
ZINC08101183	Reference (pH 7)	2.72	-5.96	-18.25	4	8	0	129	530.658	3	38
ZINC03830648	Reference (pH 7)	5.05	2.14	-9.61	0	4	0	52	48.603	2	33
ZINC00000767	Reference (pH 7)	3.28	8.84	-44.43	0	3	-1	57	259.306	4	18
ZINC00001427	Reference (pH 7)	3.04	9.57	-46.3	0	3	-1	57	253.277	5	19
ZINC00001446	Reference (pH 7)	4.41	9.04	-53.1	0	4	-1	50	319.384	4	24
ZINC03876186	Reference (pH 7)	0.84	6.27	-49.4	0	5	-1	84	349.428	2	24
ZINC00000478	Reference (pH 7)	4.88	2.45	-51.68	0	3	-1	49	285.363	5	21

FDA: Food and drug administration

Table 2. Report of potential anti-leishmanial new drugs using docking results

Ligand	Binding energy	Δ G	Binding affinity	Drug name	PubChem CID	MW (g/mol)	MF	Safety summary	Use
Glutamyl receptor									
ZINC08101183	-4.73	-7.83	-9.5	Proscillaridin	CID 4951	530.658	C ₃₀ H ₄₂ O ₈	-----	Potential cytotoxic and anti-cancer property
ZINC03830648	-6.49	-7.28	-8.9	Deladroxone	CID 5284538	448.603	C ₂₉ H ₃₆ O ₄	-----	Anti-inflammatory
LpG receptor									
ZINC00000767	-8.13	-8.49	-7.2	Tiaprofenic acid	CID 190591	260.307	C ₁₄ H ₁₂ O ₃ S	-----	A non-steroidal anti-inflammatory drug
ZINC00001427	-7.61	-8.02	-7.9	Fenbufen	CID 3335	254.285	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	-----	A non-steroidal anti-inflammatory drug
ZINC00001446	-7.08	-8.48	-8.4	Feprazone	CID 35455	320.392	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₂	-----	Anti-inflammatory,
ZINC03876186	-7.72	-7.88	-7.8	Estrone sulfate	CID 3001028	350.429	C ₁₈ H ₂₂ O ₅ S	-----	Potential cytotoxic and anticancer property
ZINC00000478	-7.71	-7.86	-8.0	Methallenestril	CID 10599	286.371	C ₁₈ H ₂₂ O ₃	-----	Potential cytotoxic and anticancer property
Control drugs for glutamyl receptor									
Amphotericin B	-6.91	283.77	-12.8	Amphotericin B	CID 5280965	924.091 g/mol	C ₄₇ H ₇₃ NO ₁₇	-----	Macrolide antifungal antibiotic
Meglumine antimonate	-4.32	223.76	-4.5	Meglumine antimonate	CID 64953	365.98 g/mol	C ₇ H ₁₈ NO ₈ Sb	-----	Antimony salt of meglumine that is used in the treatment of leishmaniasis
Control drugs for LPG receptor									
Amphotericin B	-5.64	279.25	-11.4	Amphotericin B	CID 5280965	924.091 g/mol	C ₄₇ H ₇₃ NO ₁₇	-----	Macrolide antifungal antibiotic
Meglumine antimonate	-3.93	241.15	-3.9	Meglumine antimonate	CID 64953	365.98 g/mol	C ₇ H ₁₈ NO ₈ Sb	-----	Antimony salt of meglumine that is used in the treatment of leishmaniasis

* MW: Molecular weight, MF: Molecular formula

inserted in the hydrophobic pocket created by Val111, Thr166, Tyr169, Met253, and Gly257, as shown in Figure 2C. The compound 478 inserted in the hydrophobic pocket created by Thr104, Lys107, Ala110, Ser254, and Gly257, as shown in Figure 2D. The compound 767 inserted in the hydrophobic pocket created by Thr48, Leu82, Met92, Leu195, and Asn260, as shown in Figure 2E.

DISCUSSION

The routine medications used against VL usually entail cytotoxicity, discomfort, and development of resistant strains (7,24-26). Hence, peptides with various metabolic activity may be considered as potent vaccine candidates and drug targets (27,28). During the invasion, *Leishmania* expresses a wide spectrum of proteins with different metabolic and/or pathogenic activity (29,30). A number of such proteins have been discerned as drug targets for modern leishmaniasis treatment, including dihydrofolate reductase, pteridine reductase enzymes, protein kinases and topoisomerases (6,31,32). With respect to the function of γ-GCS and LPG in immune evasion and parasite survival (15,18), we selected them as robust drug targets in our investigation, which hadn't been assessed previously. As the most plentiful GPI-anchored molecule of *Leishmania* promastigotes, LPG has been proved to be central to complement inhibition, macrophage entrance, transformation to amastigote form and tolerance to hydrolytic and oxidant circumstances (33). The thiol redox metabolism is one of the outstanding genetic hallmarks of *Leishmania* (34). Trypanothione [T (SH)₂] system constitutes a considerable part of reduced thiols, which equips the parasite to withstand drugs with antimonial elements (35-37). The first step of T (SH)₂ biosynthesis is catalyzed by γ-GCS enzyme, which has also been identified in an evolutionary-related organism, *Trypanosoma brucei* (*T. Brucei*) (34,38). Wild resistant isolates (39) or cultivated *Leishmania* parasites (40) have been shown to overexpress or amplify the γ-GCS gene. Furthermore, RNAi knock-down of the respective gene resulted in cell death of *T. brucei* (41). These findings

highlight the significance of γ -GCS, the important rate-limiting catalyzer of glutathione biosynthesis, as a compelling drug target for modern leishmaniasis treatment options.

The “*in-silico*” analysis which stands for computer-based biological experiments, is a state-of-the-art and accurate method to discover exclusive bioactive compounds, which may represent novel metabolic pathways and/or a powerful affinity to a certain target (42). In this sense, several studies have identified unprecedented molecules for various drug targets in *Leishmania*, such as pteridine reductase1, trypanoredoxin peroxidase and sterol biosynthesis (43-48), as well as in other single-celled eukaryotes enclosing *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium hominis*, *Plasmodium* and *Trypanosoma cruzi* (49-51). Current in-silico investigation was aimed to screen and predict the anti-leishmanial potency of 3358 FDA-approved compounds against both drug targets in *L. infantum* in comparison to amphotericin B and glucantime for the discovery of new biochemical molecules. Using computer-aided tools, only seven out of 3358 tested compounds were qualified to be a biological ligand for our targets, three with anti-tumor activity and the others with anti-inflammatory features. Approving the antiprotozoal activity of certain compounds with anti-cancer or anti-inflammatory properties is one of the significant advances. The putative cytotoxicity induced by anti-cancer compounds in *Leishmania* may arise from the truth that both tumor cells and parasites assign biochemical analogies, which impact DNA and polyamine metabolism, glucose catabolism and the pathways of protein kinases (52). Similar to apoptosis pathway of multicellular livings, a fascinating mechanism of programmed cell death has also been recognized in protists such as *Leishmania* spp., which could be a rational explanation for outlandish anti-leishmanial effects of some antitumor substrates (53,54). So far, a number of anticancer drugs with various mechanisms of action have been tested for the aim of leishmaniasis treatment *in vitro* and *in vivo*, including doxorubicin (interaction with DNA), aniline-acrydines (topoisomerase II inhibition), phospholipid analogues (lipid metabolism inhibition and cell membrane destruction), 8-hydroxyquinolines (inhibition of electron transfer chain) and sunitinib (tyrosine kinase inhibitor) (32). Among these, tamoxifen, raloxifene, imiquimod, imatinib and sunitinib possessed good results in leishmaniasis animal models and are appropriate candidates for further evaluations (32). The efficacy of some anticancer protein kinase inhibitors was evaluated by Sanderson et al. (55), showing sarafenib, lapatinib and sunitinib as bioactive compounds against *L. donovani* amastigotes in murine macrophages. In the context of anti-leishmanial activity of anti-inflammatory drugs, few compounds have been examined and less is understood regarding how they would impress the parasite molecular targets. For instance, murine systematic leishmaniasis was shown to be inhibited by acetyl salicylic acid-induced nitric oxide immunomodulation (56); however, this finding doesn't indicate a ligand-target interplay. Thus, the impact of anti-inflammatory drugs on potent *Leishmania* drug targets requires further in-silico and *in vitro* excavation and is still open to question.

In total, high-throughput computer-aided analyses showed us a number of anti-inflammatory and anti-cancer compounds with anti-leishmanial activity, according to their well-established interaction to the respective parasite ligands (γ -GCS and LPG). However awaits *in vitro*, *in vivo* and clinical validations, such repurposed compounds would inhibit the parasite survival more efficiently than control drugs, as confirmed by in-silico investigations and obviates the need for current costly drugs with significant side effects.

CONCLUSION

With the advent of the computer era, software-based tools have paid a huge contribution in accurate predictions, comprising epitope mapping, drug-target interactions, etc. This cutting-edge method helps us to screen and predict novel peptide templates specific to biological targets in organisms leading to novel drug discovery. The present study demonstrated seven potent antileishmanial ligands out of 20000 FDA-approved explored compounds exist for LPG and γ -GCS drug targets. Although, *in vitro* and *in vivo* confirmations are also an inevitable requisite for further assessment of the potentiality of the predicted ligands. With the help of in-silico approaches identifying the molecular mechanism of action of the more active compounds was possible; thus, could define the most likely molecular target, so that the subsequent optimization using *in vitro* and *in vivo* techniques can be undertaken.

* Ethics

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval name and number are respectively IR.AJUMS.REC and 1396614.

Informed Consent: A consent form was completed by all participants.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Concept: F.R., F.S., J.S., R.A., Design: F.R., F.S., J.S., R.A., Data Collection or Processing: F.R., F.S., J.S., R.A., Analysis or Interpretation: F.R., F.S., J.S., R.A., Literature Search: F.R., F.S., J.S., R.A., Writing: F.R., F.S., J.S., R.A.

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

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

REFERENCES

1. Kevric I, Cappel MA, Keeling JH. New world and old world Leishmania infections: a practical review. *Dermatol Clin* 2015;33:579-93.
2. Postigo JAR. Leishmaniasis in the world health organization eastern mediterranean region. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36 Suppl 1:S62-5.
3. Leishmaniasis W. WHO, Fact Sheet No. 375. WHO: Geneva, Switzerland. 2015.
4. Alvar J, Velez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PloS One* 2012;7:e35671.
5. Dujardin JC. Risk factors in the spread of leishmaniases: towards integrated monitoring? *Trends Parasitol* 2006;22:4-6.
6. Khademvatan S, Adibpour N, Eskandari A, Rezaee S, Hashemitabar M, Rahim F. In silico and in vitro comparative activity of novel experimental derivatives against Leishmania major and Leishmania infantum promastigotes. *Exp Parasitol* 2013;135:208-16.
7. Chakravarty J, Sundar S. Drug resistance in leishmaniasis. *J Glob Infect Dis* 2010;2:167-76.
8. Thakur C, Sinha G, Pandey A, Kumar N, Kumar P, Hassan S, et al. Do the diminishing efficacy and increasing toxicity of sodium stibogluconate in the treatment of visceral leishmaniasis in Bihar, India, justify its continued use as a first-line drug? *Ann Trop Med Parasitol* 1998;92:561-9.
9. Ma D-L, Chan DS-H, Leung C-H. Drug repositioning by structure-based virtual screening. *Chem Soc Rev* 2013;42:2130-41.
10. Drews J. Drug discovery: a historical perspective. *Science* 2000;287:1960-4.
11. Rahim F. An in silico development of selective inhibitor for histamine receptors. *Biotechnology* 2010;9:157-63.
12. Adibpour N, Rahim F, Rezaeei S, Khalaj A, Ebrahimi A. In silico designing selective inhibitor of drugs, medicinal plants compounds and experimental

- ligands for pteridine reductase targeting visceral leishmaniasis. *Afr J Microbiol Res* 2012;6:917-26.
13. Castro H, Tomás AM. Peroxidases of trypanosomatids. *Antioxidants & redox signaling*. 2008;10(9):1593-606.
 14. Flohe L, Hecht H, Steinert P. Glutathione and trypanothione in parasitic hydroperoxide metabolism. *Free Radic Biol Med* 1999;27:966-84.
 15. Griffith OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol Med* 1999;27:922-35.
 16. Orlowski M, Meister A. Partial reactions catalyzed by γ -glutamylcysteine synthetase and evidence for an activated glutamate intermediate. *J Biol Chem* 1971;246:7095-105.
 17. Forestier C-L, Gao Q, Boons G-J. Leishmania lipophosphoglycan: how to establish structure-activity relationships for this highly complex and multifunctional glycoconjugate? *Front Cell Infect Microbiol* 2015;4:193.
 18. Lima JB, Araújo-Santos T, Lázaro-Souza M, Carneiro AB, Ibraim IC, Jesus-Santos FH, et al. Leishmania infantum lipophosphoglycan induced-Prostaglandin E 2 production in association with PPAR- γ expression via activation of Toll like receptors-1 and 2. *Scientific Reports* 2017;7:14321.
 19. Van Der Spoel D, Lindahl E, Hess B, Groenhof G, Mark AE, Berendsen HJ. GROMACS: fast, flexible, and free. *J Comput Chem* 2005;26:1701-18.
 20. Zarezade V, Abolghasemi M, Rahim F, Veisi A, Behbahani M. In silico assessment of new progesterone receptor inhibitors using molecular dynamics: a new insight into breast cancer treatment. *J Mol Model* 2018;24:337.
 21. Li Q, Shah S. Structure-Based Virtual Screening. *Methods Mol Biol* 2017;1558:111-24.
 22. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem* 2010;31:455-61.
 23. Romero GA, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America—a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4:e584.
 24. Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:111-26.
 25. Singh N, Kumar M, Singh RK. Leishmaniasis: current status of available drugs and new potential drug targets. *Asian Pac J Trop Med* 2012;5:485-97.
 26. Tivman TS, Santos AO, Ueda-Nakamura T, Dias Filho BP, Nakamura CV. Recent advances in leishmaniasis treatment. *Int J Infect Dis* 2011;15:e525-e32.
 27. Davis AJ, Kedzierski L. Recent advances in antileishmanial drug development. *Curr Opin Investig Drugs* 2005;6:163-9.
 28. Kedzierski L, Sakthianandeswaren A, Curtis JM, Andrews PC, Junk PC, Kedzierska K. Leishmaniasis: current treatment and prospects for new drugs and vaccines. *Curr Med Chem* 2009;16:599-614.
 29. Sibley L. Intracellular parasite invasion strategies. *Science* 2004;304:248-53.
 30. Vannier-Santos M, Martiny A, Souza WD. Cell biology of Leishmania spp.: invading and evading. *Curr Pharm Des* 2002;8:297-318.
 31. Gilbert IH. Inhibitors of dihydrofolate reductase in Leishmania and trypanosomes. *Biochim Biophys Acta* 2002;1587:249-57.
 32. Keighobadi M, Akhtari J, Fakhar M, Emami S, Mirzaei H. An Overview on Anticancer Drugs with Antileishmanial Activity. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2018;28:154-65.
 33. Späth GF, Garraway L, Turco SJ, Beverley SM. The role (s) of lipophosphoglycan (LPG) in the establishment of Leishmania major infections in mammalian hosts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:9536-41.
 34. Mukherjee A, Roy G, Guimond C, Ouellette M. The γ -glutamylcysteine synthetase gene of Leishmania is essential and involved in response to oxidants. *Mol Microbiol* 2009;74:914-27.
 35. Mandal G, Wyllie S, Singh N, Sundar S, Fairlamb A, Chatterjee M. Increased levels of thiols protect antimony unresponsive Leishmania donovani field isolates against reactive oxygen species generated by trivalent antimony. *Parasitology* 2007;134:1679-87.
 36. Mittal MK, Rai S, Ashutosh, Ravinder, Gupta S, Sundar S, et al. Characterization of natural antimony resistance in Leishmania donovani isolates. *Am J Trop Med Hyg* 2007;76:681-8.
 37. Wyllie S, Vickers TJ, Fairlamb AH. Roles of trypanothione S-transferase and trypanedoxin peroxidase in resistance to antimonials. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:1359-65.
 38. Abbott JJ, Ford JL, Phillips MA. Substrate binding determinants of Trypanosoma brucei γ -glutamylcysteine synthetase. *Biochemistry* 2002;41:2741-50.
 39. Mukherjee A, Padmanabhan PK, Singh S, Roy G, Girard I, Chatterjee M, et al. Role of ABC transporter MRPA, γ -glutamylcysteine synthetase and ornithine decarboxylase in natural antimony-resistant isolates of Leishmania donovani. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:204-11.
 40. Haimeur A, Brochu C, Genest P-A, Papadopoulou B, Ouellette M. Amplification of the ABC transporter gene PGPA and increased trypanothione levels in potassium antimonyl tartrate (SbIII) resistant Leishmania tarentolae. *Mol Biochem Parasitol* 2000;108:131-5.
 41. Huynh TT, Huynh VT, Harmon MA, Phillips MA. Gene knockdown of γ -glutamylcysteine synthetase by RNAi in the parasitic protozoa Trypanosoma brucei demonstrates that it is an essential enzyme. *J Biol Chem* 2003;278:39794-800.
 42. Saeidnia S, Manayi A, Abdollahi M. The pros and cons of the in-silico pharmaco-toxicology in drug discovery and development. *Int J Pharm* 2013;9:176-81.
 43. Ferrari S, Morandi F, Motiejunas D, Nerini E, Henrich S, Luciani R, et al. Virtual screening identification of nonfolate compounds, including a CNS drug, as antiparasitic agents inhibiting pteridine reductase. *J Med Chem* 2011;54:211-21.
 44. Gundampati RK, Sahu S, Srivastava AK, Chandrasekaran S, Vuddanda PR, Pandey RK, et al. In silico and in vitro studies: trypanedoxin peroxidase inhibitor activity of methotrexate for antileishmanial activity. *Am J Infect Dis* 2013;9:117.
 45. Herrmann FC, Sivakumar N, Jose J, Costi MP, Pozzi C, Schmidt TJ. In Silico Identification and In Vitro Evaluation of Natural Inhibitors of Leishmania major Pteridine Reductase I. *Molecules* 2017;22:2166.
 46. Kaur J, Kumar P, Tyagi S, Pathak R, Batra S, Singh P, et al. In silico screening, structure-activity relationship, and biologic evaluation of selective pteridine reductase inhibitors targeting visceral leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:659-66.
 47. Scotti L, Ishiki H, Mendonca F, Da Silva M, Scotti M. In-silico analyses of natural products on leishmania enzyme targets. *Mini Rev Med Chem* 2015;15:253-69.
 48. Croft SL, Coombs GH. Leishmaniasis—current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol* 2003;19:502-8.
 49. Dasgupta T, Chitnumsub P, Kamchonwongpaisan S, Maneeruttanarungroj C, Nichols SE, Lyons TM, et al. Exploiting structural analysis, in silico screening, and serendipity to identify novel inhibitors of drug-resistant falciparum malaria. *ACS Chem Biol* 2009;4:29-40.
 50. Pelphrey PM, Popov VM, Joska TM, Beierlein JM, Bolstad ES, Fillingham YA, et al. Highly efficient ligands for dihydrofolate reductase from Cryptosporidium hominis and Toxoplasma gondii inspired by structural analysis. *J Med Chem* 2007;50:940-50.
 51. Santos CC, Lionel JR, Peres RB, Batista MM, da Silva PB, de Oliveira GM, et al. In vitro, in silico and in vivo analysis of novel aromatic amidines against Trypanosoma cruzi. *Antimicrob Agents Chemother* 2017;AAC02205-17.
 52. Perez JM, Fuertes MA, Nguewa PA, Castilla J, Alonso C. Anticancer compounds as leishmanicidal drugs: challenges in chemotherapy and future perspectives. *Curr Med Chem* 2008;15:433-9.
 53. Deponte M. Programmed cell death in protists. *Biochim Biophys Acta* 2008;1783:1396-405.
 54. Lee N, Bertholet S, Debrabant A, Muller J, Duncan R, Nakhasi H. Programmed cell death in the unicellular protozoan parasite Leishmania. *Cell Death Differ* 2002;9:53-64.
 55. Sanderson L, Yardley V, Croft SL. Activity of anti-cancer protein kinase inhibitors against Leishmania spp. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:1888-91.
 56. Nahrevanian H, Jalalian M, Farahmand M, Assmar M, Rastaghi AE, Sayyah M. Inhibition of murine systemic leishmaniasis by acetyl salicylic acid via nitric oxide immunomodulation. *Iran J Parasitol* 2012;7:21-8.

Evaluation of Malaria Blood Smears Sent to National Malaria Reference Laboratory

Doğrulama Laboratuvarına Gönderilen Sıtma Kan Yaymalarının Değerlendirilmesi

● Selma Usluca¹, ● Cahit Babur¹, ● Özlem Kurtcebe², ● Seher Topluoğlu², ● Selçuk Kılıç¹

¹General Directorate of Public Health, Department of Microbiology Reference Laboratories and Biological Products, Ankara, Turkey

²General Directorate of Public Health, Department of Zoonotic and Vector-borne Diseases, Ankara, Turkey

Cite this article as: Usluca S, Babur C, Kurtcebe Ö, Topluoğlu S, Kılıç S. Evaluation of Malaria Blood Smears Sent to National Malaria Reference Laboratory. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43(4):165-9.

ABSTRACT

Objective: Although the disease has been eliminated in Turkey malaria continues to be a threat due to increase in the number of people coming from or going to countries where the disease is endemic. In this study, we aimed to evaluate blood smears sent to the National Malaria Reference Laboratory within the malaria surveillance system.

Methods: From March 2016 to July 2018 a retrospective study was conducted to compare the results of Malaria Reference Laboratory and Public Health Laboratories. A total of 16.827 blood stains were sent to our laboratory for approval.

Results: In Public Health Laboratories, 315 (1.88%) of the smears were positive, 16.510 (98.12%) were negative, and in the National Malaria Reference Laboratory 252 (1.50%) were positive, 16.466 were negative. In the Public Health Laboratories, one of the two samples considered to be malaria suspected was positive in the National Malaria Reference Laboratory and one was negative. In Public Health Laboratories 35.88% of smears were *P. falciparum*, 27.30% were *Plasmodium* spp., 20.96% were *P. vivax*, 14.92% were mixed infection, 0.63% were *P. malariae*, 0.31% were *P. ovale*, and in the Reference Laboratory 49.60% were *Plasmodium* spp., 29.37% were *P. falciparum*, 16.27% were *P. vivax*, 4.36% were mixed infection, 0.40% were *P. malariae*.

Conclusion: In order to malaria surveillance system to be maintained in a healthy manner, preparation, staining, coding, packaging, transportation of blood slides is very important. Also if necessary, continuing training of laboratory staff working in malaria diagnosis is crucial.

Keywords: Malaria, *Plasmodium*, surveillance, microscopy, public health

ÖZ

Amaç: Türkiye’de elimine edilmiş olmasına rağmen sıtma, hastalığın endemik olduğu ülkelere gelen veya bu ülkelere giden insanların sayısındaki artış nedeniyle bir tehdit olmaya devam etmektedir. Bu çalışmada, sıtma surveyans sistemi kapsamında Ulusal Sıtma Referans Laboratuvarı’na gönderilen kan yaymalarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Mart 2016 ile Temmuz 2018 arasında Ulusal Sıtma Referans Laboratuvarı ve Halk Sağlığı Laboratuvarı’larının sonuçlarını karşılaştırmak için retrospektif bir çalışma yapılmıştır. Laboratuvarımıza doğrulama için toplam 16,827 kan yayma örneği gönderilmiştir.

Bulgular: Halk Sağlığı Laboratuvarları’nda preparatların 315’i (%1,88) pozitif, 16.510’u (%98,12) negatif olarak değerlendirilirken, Ulusal Sıtma Referans Laboratuvarı’nda 252’si (%1,50) pozitif, 16.466’sı negatif olarak değerlendirildi. Halk Sağlığı Laboratuvarları’nda sıtma şüpheli olarak değerlendirilen iki örnekten biri Ulusal Sıtma Referans Laboratuvarı’nda pozitif, biri ise negatif olarak değerlendirildi. Halk Sağlığı Laboratuvarları’nda pozitif olarak belirlenen preparatlardan %35,88’i *P. falciparum*, %27,30’u *Plasmodium* spp., %20,96’sı *P. vivax*, %14,92’si miks enfeksiyon, %0,63’ü *P. malariae*, %0,31’i *P. ovale* olarak belirlenirken, Referans Laboratuvarında %49,60’ı *Plasmodium* spp., %29,37’si *P. falciparum*, %16,27’si *P. vivax*, %4,36’sı miks enfeksiyon, %0,40’ı *P. malariae* olarak belirlendi.

Sonuç: Sıtma surveyans sisteminin sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi için kan yaymalarının hazırlanması, boyanması, kodlanması, paketlenmesi, taşınması çok önemlidir. Ayrıca gerektiğinde sıtma tanısı koyan laboratuvar personelinin eğitimi çok önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Sıtma, *Plasmodium*, surveyans, mikroskopi, halk sağlığı



Received/Geliş Tarihi: 13.05.2019 Accepted/Kabul Tarihi: 19.08.2019

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Selma Usluca MD, General Directorate of Public Health, Department of Microbiology Reference Laboratories and Biological Products, Ankara, Turkey

Phone/Tel: +90 505 253 71 23 **E-mail/E-Posta:** selmausluca@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-8934-439X

INTRODUCTION

Turkey is located in the middle of the land called the World Island, consisting of Asia, Europe and Africa, and in the subtropical zone near Caucasasia, Balkans and Middle East. Malaria has been one of the most significant diseases in Anatolian history where *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), *Plasmodium malariae* (*P. malariae*) and *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) were the causative agents of autochthonous transmission (1). Malaria has been a notifiable disease since 1930 and all the health institutions are required to report all the malaria cases (2). In 1946, the Directorate of Malaria Control was set up under the Ministry of Health and Social Assistance (3). Turkey, active surveillance founded in 1957 by launching the National Malaria Eradication Program, and this led to the 1970 control of infection (1). Active case detection through house-to-house visits by sanitarians (every two weeks during the transmission season and once a month at other times) included within the surveillance system. Every clinical malaria case is confirmed by testing in quality-controlled laboratories, supervised by a national Reference Laboratory (3). In 1983 the eradication program was replaced with a "Malaria Control Program". After the implementation of this program the highest number of cases with malaria was reported as 84,345 in 1994. After 1995, the number of malaria cases showed a regular decline down to 10,224 in 2002 (1). Turkish Ministry of Health launched a big-scale health policy entitled "Health Transformation Program" in 2003, with an aim to supply more efficient and higher quality health services. With regards to the planning and delivery of these services, the priority has been given to the preventive means, Primary Health Care Services has been strengthened and on issues like proper functioning of Public Health Services and the efficient control of epidemic diseases has been focused. After the establishment of Health Transformation Program, the number of malaria cases has been on regular decline after 2003, down to 796 in 2006. Consequently, considering that the optimum conditions for malaria eradication have been achieved in Turkey, Tashkent Declaration was signed and approved by the Ministry of Health in 2006 and the current program was changed to "Malaria Elimination Program of Turkey" (1). The Malaria Elimination Program adopted a comprehensive and integrated approach, directing interventions to the main components of the epidemiological process-source of infection, mode of transmission and receptive population. Turkey's strong political commitment was backed up by the necessary operational and technical capacity to achieve interruption of transmission and maintain results (3). Turkey has eliminated the disease but malaria continues to be a threat due to increase in numbers of the people coming from or going to the countries where the disease is endemic and increased risk of expansion of vector habitats as a result of climate change which may make the conditions favorable for reintroduction of local malaria transmission. Primary laboratory diagnosis of malaria is conducted at all clinical laboratories at governmental and private hospitals and outpatient clinics as well as at the Public Health Laboratories. Every clinical malaria case is confirmed by testing in quality-controlled laboratories, supervised by a National Reference Laboratory. Laboratory quality assurance and control is carried out by L1 type Public Health Laboratories and by National Malaria Reference Laboratory. Evaluated blood samples by L2 type Public Health Laboratories send all positives and 20% of negative ones to L1 type Public Health Laboratories. L1 type Public Health Laboratories, on the other hand, send all positive

slides and 20% of those which were evaluated as negative in L2 type Public Health Laboratories to the National Malaria Reference Laboratory for confirmation (4). Since 2012, the National Malaria Reference Laboratory, Microbiology Reference Laboratories Department of the Turkish Public Health Institute has been used as a national reference laboratory, re-confirming positive smears and examining 20% of the negative smears already cross-checked in the control laboratories (3).

In this study, we aimed to evaluate blood smears sent to the National Malaria Reference Laboratory within the malaria surveillance system.

METHODS

After blood samples are collected by active and passive surveillance, they are evaluated by L2 type Public Health Laboratories and all positives and 20% of negative ones are sent to L1 type Public Health Laboratory. L1 type Public Health Laboratories, on the other hand, send all positive slides and 20% of those which were evaluated as negative in L2 type Public Health Laboratories to the National Malaria Reference Laboratory for confirmation.

In this retrospective study malaria test results of Provincial Public Health Laboratories and National Malaria Reference Laboratory in Turkey from March 2016 to July 2018 were analyzed. The records of National Malaria Reference Laboratory evaluated by means of compliance with the Provincial Public Health Laboratories results. Excel file was used to evaluate the data of the samples. This study follows the principles of the Declaration of Helsinki.

RESULTS

Of the 16,827 blood smears, 20 smears sent to our laboratory for confirmation between March 2016 and July 2018 were found to be broken which made the evaluation impossible and it was found that 97 (0.58%) smears did not reach our laboratory despite being included in the sent lists. When monthly dispatches were evaluated, it was determined that 13 of the 17 provinces (76.47%) regularly send and 4 provinces (23.53%) irregularly send the blood slides. It was determined that 7 (53.85%) of the dispatched provinces did not encode the smears as determined or that there were differences between smears and list's codes and 6 of them (46.15%) coded as determined. The results of evaluation of laboratories are given in Table 1. In Public Health Laboratories, 315 (1.88%) of the smears were positive, 16,510 (98.12%) were negative, and in the National Malaria Reference Laboratory 252 (1.50%) were positive, 16,466 were negative. In the Public

Table 1. Evaluation of laboratories results

	Number of positive smears	Number of negative smears	Total
Provincial laboratories (Public Health Laboratories)	315 (1.88%)	16.510 (98.12%)	16.825 ^a
National Malaria Reference Laboratory	252 (1.50%)	16.466 (97.85%)	16.827 ^b

^aTwo smears were evaluated as suspicious in the province (one was positive in the Reference Laboratory and the other was negative), ^b109 smears were considered incomplete in Reference Laboratory due to inappropriate slide preparation (97) and broken smears (12)

Health Laboratories, one of the two samples considered to be malaria suspected was positive in the National Malaria Reference Laboratory and one was negative. Parasite species-level results of the smears that are considered as positive are given in Table 2. In Public Health Laboratories 35.88% of smears were *P. falciparum*, 27.30% were *Plasmodium* spp., 20.96% were *P. vivax*, 14.92% were mixed infection, 0.63% were *P. malariae*, 0.31% were *P. ovale*, and in the Reference Laboratory 49.60% were *Plasmodium* spp., 29.37% were *P. falciparum*, 16.27% were *P. vivax*, 4.36% were mixed infection, 0.40% were *P. malariae*. Compliance of the evaluation results of the laboratories is indicated in Table 3.

DISCUSSION

Besides irrigated agriculture, resistances to anti-malarial drugs and to insecticides are some of the other factors that might affect the pattern of malaria prevalence rates (5). One of the factors contributing to the reemergence of malaria is human migration. People move for a number of reasons, including environmental deterioration, economic necessity, conflicts, and natural disasters. Identifying and understanding the influence of these population movements can improve prevention measures and malaria control programs (6). Turkey has a high risk of malaria transmission because of increasing internal and external population mobility (5). History shows that an increase in migration from neighbouring countries may cause a rise in malaria importation. It is important to consider the effect that continuing political instability in the Syrian Arab Republic may have on malaria status in Turkey. Maintaining epidemiological surveillance of malaria to ensure prompt detection and treatment of cases, as well as a timely response to any emergency, will also be important (3). Robust and responsive surveillance systems are critical for elimination of malaria. In countries pursuing malaria elimination, when the number of incidences is low enough, rapid reporting of cases should be implemented (7). Most malaria

control programs have passive surveillance systems to identify, treat, and report individuals who present themselves to health facilities. The passive case detection only detects symptomatic patients and overlook individuals who are not seeking treatment. On the contrary, active surveillance which involves screening of population by visiting door to door, targeting of all subjects with fever or history of fever is suitable for difficult and hard-to-reach areas in an attempt to increase access to care in underserved areas. In a study of India, by active case detection and passive case detection in the Baihar Public Health Center villages, microscopic examination of blood smears and malaria parasite rates were determined. Comparison of results of the two methods revealed that active case detection in villages provided a relatively large number of malaria positive cases compared to passive case detection in Public Health Center villages. The population that is not visiting health facilities is inbred to surrounding population in receiving regions, thus creating new foci. By treating these individuals, it not only protects the society but has also leads to a significant reduction in transmission density (8). In our country, passive and active surveillance is carried out together, especially the importance of active surveillance studies in controlling malaria is understood when the course of the disease is evaluated over the years.

In a study of Bhutan, of the 2.514 blood smears assessed, it was decided by the Vector-borne Disease Control Program official that 1.160 (46.14%) was of excellent quality (defined as any stain or stain-free problem and containing both thick and thin films). More than half of the blood smears were optimally evaluated at least in one feature. The biggest problem was that only 56% of smears were prepared with both thick and thin smears (38% had only a thick smear). The fact that the number of blood smears sent for verification is lower than expected may suggest that there is no admissibility in this part of the process. Other deficits were less common (91% normal size, 88% equal and 93% satisfactorily stained). Sixty smears (2.4%) were broken in Vector-borne Disease Control Program and could not be evaluate for cross control (9). In our study, of the 16.827 smears, 12 smears sent to our laboratory for confirmation were found to be broken which made the evaluation impossible and it was found that 97 smears did not reach our laboratory despite being included in the sent lists. It was determined that seven (53.85%) of the dispatched provinces did not encode the smears as determined or that there were differences between smears and list's codes, and six of them (46.15%) coded as determined.

In a study of Indonesia, in passive surveillance, the collected thick and thin blood smears from suspected cases of malaria was immediately examined by experienced microscopists. Quality assurance was performed by a regional specialist certified microscope and 10% of randomly selected negatives for all positive

Table 2. Laboratories results according to *Plasmodium* species

	Provincial laboratories	National Malaria Reference Laboratory
<i>P. falciparum</i>	113 (35.88%)	74 (29.37%)
<i>P. vivax</i>	66 (20.96%)	41 (16.27%)
<i>P. ovale</i>	1 (0.31%)	0
<i>P. malariae</i>	2 (0.63%)	1 (0.40%)
<i>P. knowlesi</i>	0	0
Mixed infection	47 (14.92%)	11 (4.36%)
<i>Plasmodium</i> spp.	86 (27.30%)	125 (49.60%)
Total	315	252

Table 3. Compliance of evaluation results of the laboratories

Provincial laboratories	National Malaria Reference Laboratory			
		Number of positive smears	Number of negative smears	Total
	Number of positive smears	243 (77.64%)	70 (22.36%)	313 (1.88%)
	Number of negative smears	8 (0.05%)	16.397 (99.95%)	16.405 (98.12%)
	Total	251 (1.50%)	16.467 (98.50%)	16.718 ^a

^a109 smears were considered incomplete in Reference Laboratory due to inappropriate slide preparation (97) and broken smears (12)

cases. For all positive cases, more cross-control was performed at provincial level, and inconsistent results were resolved between Primary Health Care and district-level microscopists. Laboratory test results 41 of 42 record-positive malaria cases reported in passive surveillance were confirmed positively in the second evaluating (16 *P. vivax*, 20 *P. falciparum*, 2 *P. knowlesi* and 3 *P. malariae*). In reactive case detection, 1,495 were tested positive by microscopy (1 *P. vivax* and 2 *P. falciparum*). A total of 43 cases of malaria were identified, which combined passive and active surveillance data. Of these, 15 (34.9%) were *P. vivax*, 8 (18.6%) were *P. falciparum* and 20 (46.5%) were *Plasmodium knowlesi* (*P. knowlesi*). As a note, *P. knowlesi* infections were misdiagnosed as 10 *P. falciparum*, seven *P. vivax*, one *P. malariae* and two unclear by microscopy (10). A total of 3,004 blood smears were evaluated in the study comparing the effectiveness of the microscopy of the laboratory in the field and the central laboratory in the malaria active surveillance program in Western Thailand. In the absence of parasites in at least 50-100 areas in the field laboratory, the first thin film was considered negative and each smear was evaluated for approximately five minutes. Subsequently, all blood smears were evaluated by an experienced microscopist for 20 minutes and first thin film was considered negative when no parasites were detected in at least 100 areas. All smears with incompatible results and 20% of smears with compatible results were checked by a different expert. It was determined that 5.2% of the samples examined by experienced microscopist were *P. falciparum*, 5.9% were *P. vivax* and 0.1% were both mixed infection. It has been reported that 84.4% of *P. falciparum* positive smears and 93.9% of *P. vivax* positive smears have a parasitemia rate of less than 500/ μ L. The specificity of the field microscopy for *P. falciparum* positive smears was 99.3%, the sensitivity was 10.0%, the specificity for *P. vivax* positive smears was 38.7% and the sensitivity was 93.9%. It was reported that field microscopy was not an effective method for active malaria surveillance in Western Thailand, where prevalence and parasitemia rates were low (11). When the literature is evaluated, it is seen that problems faced by the surveillance system are similar in many countries. In our study, in L2 laboratories, 1.88% of blood smears were evaluated as positive and 98.12% of them were evaluated as negative while 1.50% of the blood smears were found out to be positive and 97.85% were found out to be negative in Reference Laboratory. Two smears were evaluated as suspicious in the province (one was positive in the Reference Laboratory and the other was negative). It was determined that Public Health Laboratories evaluated 0.25% of smears as false negative. One possible reason for this may be the inadequate preparation quality. Sufficient blood samples should be used when preparing the smear. The use of a small amount of blood sample may cause the diagnosis to be missed out in patients with low parasitemia and homogeneous spread of the preparation is not possible. In the same way, it is not possible to blood smear preparation homogeneously in case of excessive blood samples and microscopic evaluation cannot be made precisely because the blood cells overlap and diagnosis can be omitted. The second important issue may be lack of adequate staining quality of the smear. It is necessary to prepare the Giemsa stain fresh each time, to prepare stain appropriately, to apply staining times appropriately, to stain the amount and manner to completely cover each preparation, to wash smear without damaging and to remove the excess stain. If Giemsa stain is not freshly prepared, stain precipitate may cause artifacts and may cause false positive

results. The third important issue is that the patient has been treated, has a low rate of parasitemia, has mixed infection. In the case of a low parasitemia rate, there may be false negativity, or diagnosis of minor species may be missed, especially in case of mixed infection. Microscopic diagnosis becomes more difficult in treated patients because of the disturbed morphological structure of the parasite. The type of pathogen is another important issue affecting the outcome. For example, the rate of parasitemia is high in malaria cases caused by *P. falciparum*, while the rate of parasitemia is low in malaria cases caused by *P. vivax*. Finally, the lack of experience of microscopist evaluating smear and lack of sufficient time to evaluate smears due to workload of laboratory are among the reasons for discordant results.

In a study carried out in Iranshahr, one of the most important malaria endemic regions of Iran, information such as smear size, staining quality, quality of microscope and type of microscope were collected by 3,783 Giemsa stained smears collected in field diagnostic laboratories. All preparations were then re-examined by an experienced microscopist and the results were compared. 91.7% of smears are thick film and 8.3% are thin smears. According to staining quality, 34% of smears were good, 39.2% were medium and 26.8% were low quality. As a result of evaluation of microscopist in the field, it was determined that 73.2% of 295 smears were *P. vivax*, 26.4% were *P. falciparum*, 0.4% were mixed infection, and 72.7% of 315 positive smears were *P. vivax*, 26.4% were positive. *P. falciparum* was found to be 1% mixed infection. The results of this study showed that 99% of the diagnosis of malaria in the field was perfectly diagnosed. This high quality of malaria diagnosis in Iranshahr was thought to be related to the experience of microscopists and effective training programs, and the impact of educational strategies on improving malaria diagnosis was demonstrated (12). In order to support microscopic diagnosis, the National Malaria Reference Laboratory provides theoretical and practical training for the diagnosis of malaria for employees of the Public Health Laboratory in 81 provinces. However, due to frequent displacement of these staff, need for experienced staff remains.

In our study of blood smears evaluated; 35.88% were *P. falciparum*, 20.96% *P. vivax*, 0.31% *Plasmodium ovale*, 0.63% *P. malariae*, 14.92% mixed infection, 27.30% *Plasmodium* spp. has been determined by L2 laboratories. The results of re-evaluation of these blood smears in the Reference Laboratory are as follows: 29.37% *P. falciparum*, 16.27% *P. vivax*, 0.40% *P. malariae*, 4.36% mixed infection and 49.60% of *Plasmodium* spp. In the Reference Laboratory, some of smears could only be diagnosed at genus level and no identification could be made at species level. This is due to the fact that some of the smears were broken in such a way that they could not be examined adequately during dispatch from Public Health Laboratories to the National Malaria Reference Laboratory, that some smears were not prepared with adequate quality, they were not stained or that some smears were prepared as thick film which did not allow diagnosis at species level, thin smears have not been sent. When the evaluation results of both laboratories were compared, it was revealed that there were differences between the differentiation rates of all *Plasmodium* species. We found that the blood smear cross-check assessment revealed a lack of diagnostic accuracy and demonstrated the need to take remedial measures. Since discrepancies between the results may be the source of new infections, it is thought that training of the Provincial Public Health Laboratory personnel

in terms of microscopic evaluation should be updated. In our country, malaria surveillance system is performed only in the form of microscopic evaluation of blood smear preparations. Public Health Laboratories send the blood sample taken from the patient to the National Malaria Reference Laboratory for verification purposes separately from the surveillance system in order to avoid the diagnosis to be missed in suspicious cases. Microscopy, rapid diagnostic test and molecular tests are applied together by the Reference Laboratory and the patient results are given. Although there is a difference between the evaluation results of Public Health Laboratories and National Malaria Reference Laboratory, the diagnosis is not missed. However, even if the Reference Laboratory has performed the laboratory validation of that patient, since the patient's blood smear evaluation is blinded, it is given its results on the surveillance system only according to microscopic evaluation.

Compared with polymerase chain reaction, the sensitivity of microscopy and rapid diagnosis test for malaria diagnosis was reported as 75% (13). For this reason, it is important to give routine patient results by using three methods together in our laboratory.

CONCLUSION

Probability of incorrect result is reduced by combination of more than one method in routine diagnosis of malaria. But as microscopic diagnosis is the only method used at provincial level experience of microscopist is very important. In order to malaria surveillance system to be maintained in a healthy manner, preparation, staining, coding, packaging and transportation of blood slides is very important and if necessary, continuing training of laboratory staff working in malaria diagnosis is crucial.

* Ethics

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was not received.

Informed Consent: Patient consent was not obtained.

Peer-review: Externally and internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Concept: S.U., C.B., O.K., S.T., S.K., Design: S.U., C.B., O.K., S.T., S.K., Data Collection or Processing: S.U., Analysis or Interpretation: S.U., Literature Search: S.U., C.B., O.K., S.T., S.K., Writing: S.U., S.T.

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

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

REFERENCES

- Ozbilgin A, Topluoglu S, Es S, Islek E, Mollahaliloglu S, Erkok Y. Malaria in Turkey: successful control and strategies for achieving elimination. *Acta Trop* 2011;120:15-23.
- Umumi Hıfzısıhha Kanunu - Public Hygiene Law number: 1593. accepted on 24/24/1930. URL: <http://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.3.1593.pdf> [Accessed 03 April 2019].
- World Health Organization, Eliminating malaria case-study 5, the long road to malaria elimination in Turkey.2013;1-79.URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/94961/9789241506403_eng.pdf;jsessionid=C5E98B6064B31FE6090E661EA2E4D987?sequence=1 [Accessed 03 April 2019].
- Circular on the Execution of Malaria Disease Management Services, number 2016/2, Ministry of Health. URL: <https://kms.kaysis.gov.tr/Home/Goster/128894?AspxAutoDetectCookieSupport=1> [Accessed 03 April 2019].
- Piyal B, Akdur R, Ocaktan E, Yozgatligil C. An analysis of the prevalence of malaria in Turkey over the last 85 years. *Pathog Glob Health* 2013;107:30-4.
- Martens P, Hall L. Malaria on the move: human population movement and malaria transmission. *Emerg Infect Dis* 2000;6:103-9.
- Ohrt C, Roberts KW, Sturrock HJW, Wegbreit J, Lee BY, Gosling RD. Information systems to support surveillance for malaria elimination. *Am J Trop Med Hyg* 2015;93:145-52.
- Singh N, Bharti PK, Kumre NS. Active v. passive surveillance for malaria in remote tribal belt of Central India: implications for malaria elimination. *Pathog Glob Health* 2016;110:178-84.
- West N, Gyeltshen S, Dukpa S, Khoshnood K, Tashi S, Durante A, et al. An evaluation of the National Malaria Surveillance System of Bhutan, 2006-2012 as it approaches the goal of malaria elimination. *Front Public Health* 2016;4:1-10.
- Herdiana H, Cotter C, Coutrier FN, Zarlinda I, Zelman BW, Tirta YK, et al. Malaria risk factor assessment using active and passive surveillance data from Aceh Besar, Indonesia, a low endemic, malaria elimination setting with *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium vivax*, and *Plasmodium falciparum*. *Malar J* 2016;15:468:1-15.
- Coleman RE, Maneechai N, Rachaphaew N, Kumpitak C, Miller RS, Soyseng V, et al. Comparison of field and expert laboratory microscopy for active surveillance for asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in Western Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2002;67:141-4.
- Darania HY, Ranjbar M, Saidzadeh SA, Manouchehria K, Shahbakhsh N, Aminifarde M. The quality of field malaria diagnosis in Iranshahr, Iran. *J Vect Borne Dis* 2005;42:74-6.
- Jayasingh A, Rompicherla V, Nandagopal Radha RK, Shanmugam P. Comparative study of peripheral blood smear, rapid antigen detection, ELISA and PCR methods for diagnosis of malaria in a tertiary care centre. *J Clin Diagn Res* 2019;13:8-11.

Kliniğimizde 2012-2018 Yılları Arasında Yatırılan 31 Sıtma Olgusunun Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi

Retrospective Evaluation of 31 Malaria Cases Hospitalized in Our Clinic Between 2012-2018

✉ Nagehan Didem Sarı, ✉ Gülşen Yörük

İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Sarı ND, Yörük G. Kliniğimizde 2012-2018 Yılları Arasında Yatırılan 31 Sıtma Olgusunun Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43(4):170-4.

ÖZ

Amaç: Malaria, *Plasmodium* cinsi parazitlerin sebep olduğu bir enfeksiyon hastalığıdır. Ülkemizde 2011 yılından itibaren sporadik olgu görülmemesine rağmen seyahatlerle import olgular görülmeye devam etmektedir. Bu çalışmada hastanemizde yatırılarak tedavi edilen sıtma olgularının klinik ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Hastanemizde 2012-2018 yılları arasında yatırılarak tedavi edilen 31 olgu retrospektif olarak değerlendirildi. Olguların verilerine hastane veri kayıt sisteminden ulaşıldı. Olguların demografik verileri, profilaksi ve tedavi bilgileri, seyahat ettikleri ülkeler, yakınmaları, fizik muayene ve laboratuvar bulgularına ilişkin veriler kaydedildi.

Bulgular: Belirtilen süre zarfında toplam 31 olgu tespit edildi. Olgularının %54,83'ü (17/31), *P. falciparum*, %32,25'i (10/31) *P. vivax* ve %12,9'u *P. falciparum-P. vivax* karma enfeksiyonuydu. Karma enfeksiyonlar çalışma dışı bırakıldı. Olguların hiç biri sıtmaya karşı uygun profilaktik ajan kullanmamıştı ve hepsinde üşüme-titreyle yükselen ateş yakınması mevcuttu. En sık karşılaşılan patolojik laboratuvar bulgusu trombositopeni ve lökopeniydi. Olguların %51,85'ine (14/27) non-spesifik tanılarla antibiyotik başlanmıştı. Tanıları kalın damlanın ve periferik yaymanın Giemsa ile boyanmasıyla konuldu. Hızlı antijen testi hastaların %81,48'inde (22/27) uygulandı. Hastaların hiçbirinin yoğun bakım ihtiyacı olmadı.

Sonuç: Sıtma endemik bölgeye seyahat edecek kişilere seyahat öncesinde bilgi verilerek bu kişilerin kemoproflaksi almaları sağlanmalıdır. İmport olgularda mortalitesi yüksek olabilen *P. falciparum* ilk planda düşünülmesine rağmen tedavisi nüks açısından farklı olan *P. vivax*'da göz ardı edilmemelidir.

Anahtar Kelimeler: Malaria, seyahat ilişkili enfeksiyonlar, retrospektif çalışma

ABSTRACT

Objective: Malaria is an infection disease caused by *plamodium* parasite. Sporadic cases have not been observed since 2011, but imported cases still present owing to travel. In this study, we aimed to evaluate labotauary and clinical findings patients with malaria who were hospitalized and treated in our hospital.

Methods: Between January 2012-November 2018, a total of 31 adult patients was evaluated retrospectively, in terms of their epidemiological, physical examination and laboratory findings, complaints, countries they traveled to, prophylaxis and treatment that they received. Data of the patients were taken from the hospital's database.

Results: A total of 31 cases were diagnosed as having malaria. The causative microorganism was *P. falciparum* in 54.83% (17/31) of the patients, *P. vivax* in 32.25% (10/31), and *P. falciparum-P. vivax* co-infection in 12.9% (4/31) of the patients. Co-infections were excluded from the study. None of the cases had used prophylactic drugs for prevention of malaria. All of the cases suffered from chills with fever. The most frequently encountered pathologic laboratory findings were thrombocytopenia and leucopenia. Antibiotics had been initiated in 51.85% (14/27) of the patients with non-specific diagnoses. Rapid antigen test was used in 8148% (22/27) of cases. None of cases needed intensive care.

Conclusion: It is important to inform persons who plan to visit malaria endemic areas about malaria and to make them take appropriate prophylaxis against malaria. Although *P. falciparum* which has a high mortality rate may be considered in the first plan, *P. vivax*, treatment of which is different due to risk of relapse, should not be overlooked.

Keywords: Malaria, travel-related infection, retrospective study

Geliş Tarihi/Received: 17.12.2018 Kabul Tarihi/Accepted: 25.08.2019

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Nagehan Didem Sarı, İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

Tel/Phone: +90 212 459 60 95 **E-Posta/E-mail:** drdidemsari@hotmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-9400-0997



GİRİŞ

Sıtma, dünyanın bir çok bölgesinde endemik olması, eradikasyon programının da başarı ile yürütüldüğü ülkelerde de dış kaynaklı olgular olarak görülmesi nedeniyle halen dünya çapında sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Kontrol programlarının kapsamı ve finans olanakları oldukça gelişmiş ve sonuçta hastalığın insidans ve mortalitesinde belirgin azalma görülmüştür. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2017 raporunda dünya çapında 216 milyon sıtma olgusu tespit edildiği ve 445.000 ölüm gerçekleştiği bildirilmiştir. DSÖ verilerine göre hastalık yükünün ve ölümlerin en sık olduğu bölge Sahra altı Afrika ülkeleridir ve sıtma olgularının %88'i ve tüm ölümlerin %90'ı Afrika kıtasında görülmektedir. Dünya nüfusunun yaklaşık %40'ının sıtma açısından risk altında olduğu, 2000-2015 tarihleri arasında dünya genelindeki sıtma insidansının %41 azaldığı ve ölüm oranının %50 düştüğü bildirilmektedir (1). Sahra altı Afrika'da sık görülen *P. falciparum* iken diğer bölgelerde *P. vivax* baskın tiptir. Ülkemizde başarılı sıtma savaş programı neticesinde 2010 yılı itibarıyla eliminasyon aşamasına giren sıtmada bildirilen olgular ön planda *P. falciparum* ve özellikle de endemik ülkelere seyahat öyküsü olan kişilerle sınırlanmıştır. Yerel kaynaklı sıtma 2011 yılından beri tespit edilmemiş olup 2017 yılında yayınlanan sağlık istatistiklerine göre 2016 yılında 218 dış kaynaklı sıtma olgusu bildirilmiştir (2-4).

Bu çalışmada hastanemizde 2011-2017 yılları arasında *P. falciparum* ve *P. vivax* tanısı alıp, tedavi verilen olguların epidemiyolojik, klinik, laboratuvar bulguları incelenerek karşılaştırılmıştır.

YÖNTEMLER

İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Ocak 2011-Aralık 2017 tarihleri arasında yatırılarak tedavi edilen sıtma tanılı tüm olgular retrospektif olarak değerlendirildi. Olguların yaş, cinsiyet, başvuru şikayetleri, yurt dışında bulunduğu ülke, daha önce sıtma tanısı alıp almadığı, profilaktik ilaç kullanma durumu, başvuru esnasındaki ateşli gün sayısı, bulantı, kusma, ishal, sarılık, kas ağrısı gibi ateşe eşlik eden bulgular, hepatomegali, splenomegali gibi fizik muayene bulguları, lökosit, hemoglobin, trombosit, laktat dehidrogenaz, aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), total ve direkt bilirubin, üre, kreatinin, c-reaktif protein (CRP) gibi laboratuvar bulguları kaydedildi. Hastaların tümünde Giemsa ile boyanmış, periferik yayma preparatı ışık mikroskopunda değerlendirilmiş, İstanbul sıtma savaş ekiplerince de doğrulanmış ve bazılarında da hızlı tanı testleri uygulanmıştır. İlaçları yine aynı kurumca temin edilmiştir. İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 12/07/2019 tarih ve 1905 no'lu kararı ile alınmıştır.

BULGULAR

Ocak 2011-Aralık 2017 tarihleri arasında kliniğimizde sıtma tanısıyla takip edilen toplam 31 olgu tespit edildi. Bu olguların %54,83'ü (17/31) *P. falciparum*, %32,25'i (10/31) *P. vivax*, %12,9'u (4/31) *P. falciparum* ve *P. vivax* birlikteydi. Kombine *P. falciparum* ve *P. vivax* olan olgular çalışma dışı bırakıldı. Olguların dördü yabancı uyruklu, yirmi üçü endemik bölgelere seyahat etmiş olan vatandaşlarımızdır. Olgularımızın hiç biri profilaktik tedavi almamıştı. Yirmi beş olgu ilk atağını geçirirken, ikisinin üçünden fazla atağı olmuştu. Yabancı uyruklu olan hastalardan dördünün üçten fazla sıtma geçirme anamnezi vardı, ikisi

yetersiz tedavi edilmişti. Tüm hastaların ortak yakınması üşüme ve titreme ile yükselen ateş ve halsizlikti. Bazı hastalarda da kas ağrısı (n=20), baş ağrısı (n=18), ishal (n=10), karın ağrısı (n=8), sarılık (n=7), bulantı-kusma (n=6) vardı. Hastaların %22'sine (6/27) üriner sistem enfeksiyonu, %29,62 (8/27) üst solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla acil serviste antibiyotik reçete edilmişti. Sıtma tanısı almadan önce geçen ateşli gün ortalama sayısı 6,4 gündü (2-60 gün). Fizik muayenede en sık patolojik bulgu splenomegali (n=18) ve hepatomegali (n=6) idi. Hastaların %60'ında splenomegali, %10'unda bilinç değişikliği mevcuttu. Hastaların başvuru anındaki belirti ve bulguları Tablo 1'de verilmiştir. Hastaların hepsinin trombosit sayısı <150.000/mm³ olup, onu takiben lökopeni (n=18) <5000/mm³, biyokimyasal olarak LDH ve CRP yüksekliği vardı. Hastaların başvurusunda tespit edilen laboratuvar parametreleri Tablo 2'de verilmiştir. Hastaların hiçbirinin yoğun bakım veya diyaliz ihtiyacı olmadı. *P. falciparum* geçirmekte olan hastalardan ikisine trombosit replasmanı yapıldı. Olguların tanıları ateşli dönemde yapılan kalın damla ve periferik yayma preparatlarının Giemsa ile boyarak eritrosit içinde Plasmodium parazitlerinin görülmesi ile konmuştu. Hastaların %16,1'si (n=5) hariç hepsine sıtma hızlı tanı testi uygulanmıştır. Hepsinin tedavisi halk sağlığı kurumu tarafından temin edilmiştir. Uygulanan ilaçlar *P. falciparum* için artemeter-lumefantrin (Coartem®, 1 tablet =20 mg artemeter ve 120 mg lumefantrine, Novartis, Basel, Switzerland), iken *P. vivax* için primakin + artemeter - lumefantrin'di.

Hastalar ortalama 5,03 (±1,2) gün hastanede yatırılarak takip edildi. Tüm hastalar poliklinikten takip edilmek üzere şifa ile taburcu edildi. Hiç bir olgunun 2 aylık takiplerinde nüks görülmedi.

TARTIŞMA

Sıtma erken tanı konularak tedavi edilmezse ölümcül seyredebilecek bir enfeksiyon hastalığıdır. DSÖ raporuna göre sıtma enfeksiyon hastalıklarından ölümlerde dünyada beşinci, Afrika'da ise ikinci sırada yer almaktadır. 2010-2015 yılları arasında risk altındaki nüfuslardaki sıtma insidansı %21 düşmüştür. Afrika kıtasında sıtma yükü orantısız olarak yüksektir, 2015 yılında tüm sıtma olgularının %90'ı, ölümlerin %92'si Afrika kıtasındadır.

Tablo 1. Başvuru anında belirti ve bulgular

Belirti ve bulgular	<i>P. falciparum</i> (n=17)	<i>P. vivax</i> (n=10)
Yaş (yıl)	36 (18-62)	24 (19-30)
Ateşli gün	4,2 (2-10)	10,1 (2-60)
Tanı öncesi antibiyotik	10	4
Yatış günü	5,92 (2-9)	4,4 (3-7)
Tekrarlama	3	3
Ateş	17	10
Üşüme-titremler	16	10
Bulantı-kusma	7	5
İshal	3	2
Kabızlık	1	2
Hepatomegali	4	2
Splenomegali	12 (%70,58)	8 (%80)

Tablo 2. *P. falciparum*'a ve *P. vivax*'a bağlı sıtma tanısı alan olguların laboratuvar özellikleri

Laboratuvar değerleri	<i>P. falciparum</i>		<i>P. vivax</i>	
	Ort. değer	Alt-üst sınır	Ort. değer	Alt-üst sınır
Lökosit (/μL)	5,028	2620-8150	5024	3100-8150
Hemoglobin (gr/dL)	13,25	9,7-17,2	12,02	7,8-15
Trombosit (/μL)	55,253	13000-132000	79400	28000-132000
AST (U/Lt)	54,11	20-135	54,2	21-158
ALT (U/Lt)	54,8	20-124	61,1	10-174
LDH (U/Lt)	394,3	213-532	413,7	283-520
Total bilirubin (mg/dL)	3,22	0,1-18,4	1,5	0,64-2,23
Direkt bilirubin (mg/dL)	1,44	0,1-9,7	0,3	0,2-0,68
Kreatinin (mg/dL)	1,09	0,9-1,63	0,9	0,71-1,27
CRP (mg/dL)	13,6	4,8-14,9	14,9	1,19-49

AST: Aspartat transaminaz, ALT: Alanin aminotransferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz, CRP: C-reaktif protein, Ort. değer: Ortalama değer

Seyahat olanaklarının artması, ülkeler arası göç ve iş gücü hareketliliğindeki artış, Suriye'den ülkemize kontrolsüz göç nedeniyle ülkemiz halen sıtma tehdidi altındadır. Hastanemizde son 7 yılda sıtma nedeniyle izlenen tüm olgular import olgu idi. Ülkemizden 2010 yılına kadar yapılan yayınlarda *P. vivax* baskın sıtma türü olarak bildirilirken, son yıllarda *P. falciparum*'un baskın tür hale geçtiği bildirilmektedir. Buna rağmen bizim çalışmamızda *P. vivax*/*P. falciparum* oranı 10/17 olup, birbirine yakındır (5-14). Yıllar içinde yerli olgu sayısının yok olması başarılı sıtma savaş uygulamalarını göstermektedir. İmport olguların artışı yurtdışı seyahat imkanlarını artması, mevsimlik işçi ve eğitim faaliyetlerinin uluslararası düzeye gelmesiyle açıklanabilir. Olgularımızın 3'ü turistik gezi, diğerleri ise mevsimlik işçi grubundandı.

Sıtma her iki cinste de görülmesine rağmen olgularımızın hepsi erkekti. Bu durumu erkek cinsiyette seyahat ve iş gücü hareketliliğinin daha fazla görülmesiyle açıklanabilir.

Sıtma olguları her yaşta görülebilmeye rağmen import olgu serilerinin çoğu 15 yaş üzerindeki olgulardır (5-14). Bu durum yetişkinlerin seyahat, iş ve turistik maksatlı daha sık seyahat etmeleri nedeniyle olabilir. Klinikimizde yatan hastaların yaş ortalaması 31 (±2,5), *P. falciparum* 36 yıl, *P. vivax* 24 yıl idi.

Hastalarımızın seyahat anamnezleri incelendiğinde *P. falciparum* tanısı alanların Afrika kıtasına (Uganda, Kamerun, Etiyopya, Nijerya, Gana, Kongo) *P. vivax* tanısı alanların da Uzakdoğu'ya (Afganistan, Pakistan, Hindistan) seyahatlerinin olduğu görüldü. Bu dağılımın DSÖ sıtma epidemiyolojik bilgileriyle uyumlu olduğu görüldü.

Ateş yakınması her iki grupta da en sık karşılaşılan bulguydu. *P. falciparum* tanısı alan olguların tanı öncesi ortalama 4,2 gün ateş yakınması olmuş ve %28,8'ine üst solunum yolu enfeksiyonu, %10'una da üriner enfeksiyon tanısıyla antibiyotik reçete edilmişti. *P. vivax* tanısı alan hastalarında sıtma tanısı öncesinde ortalama 10,2 gün ateş yakınması olmuş ve %40'ına üst solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla antibiyotik reçete edilmişti. Periyodik ateş, tekrarlayan *P. falciparum* geçiren 2 hastada mevcuttu.

Olgularda tipik sıtma nöbetlerinin olmayışı immünitelerinin yetersizliğine bağlanabilir. Ayrıca sıtmanın ilk ataklarında da bu durumun görülebileceği bildirilmiştir (15).

Sıtma nöbetleri esnasında eritrositlerin parçalanmasıyla anemi, parçalanmış eritrositlerden serbest kalan pigmentlerin

kanda artmasıyla sarılık, bunların retikuloendotelial sistemde depolanmasıyla hepatosplenomegali gelişir (15). Hastaların fizik muayenesinde hepatomegali, splenomegali, abdominal hassasiyet, bağırsak alışkanlıklarının değişimi gözlenebilir. Splenomegali, eritrosit yıkımının artması nedeniyle olup hastalığın süresini gösteren bir ölçüttür. Ülkemiz kaynaklı çalışmalarda Mert ve ark. (6) sıtma tanısı alan olgularda %91 splenomegali, %55'inde hepatomegali, Şengöz İnan ve ark. (16) %72 splenomegali, Gül ve ark. (17) %67 splenomegali, %46 hepatomegali saptamıştır. Bizim çalışmamızda *P. falciparum*'lu olgularda %70,58 (n=12) *P. vivax*'lı olgularda %80 (n=8) splenomegali mevcuttu. Hastalığın süresini gösteren ölçüt olarak kabul edildiğinde başvuru öncesi ateş yakınmalarının *P. vivax* tanısı konulan olgularda ortalama 10 gün olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda kan tablosundaki değişikliklerin yelpazesi çok geniştir. Anemi %26-70, lökopeni %13-40, trombositopeni %48-80 oranında rastlanmıştır. Bizim çalışmamızda anemi sık gözlenen bir bulgu olmayıp ön planda trombositopeni izlenmiştir. *P. falciparum*'lu olgularda ortalama trombosit sayısı 55 235/mm³, iken *P. vivax*'lı olgularda 79 400/mm³ idi. *P. falciparum* sıtması 2 hastada spontan kanama görülmesi üzerine trombosit replasmanı yapıldı. Lökopeni (<4000/mm³) *P. falciparum*'da %47,05 (n=8), *P. vivax*'da %50 (n=5) olarak izlendi. Sıtma serilerinde AST/ALT yüksekliği %32-60 görülmüşken bizim çalışmamızda *P. falciparum*'lu olgularda %41, *P. vivax*'lı olgularda %30 olarak görüldü.

Standart tanı yöntemi, kan örneklerinden periferik yayma ve kalın damla preparatlarının hazırlanıp Giemsa boyasıyla boyandıktan sonra x100'lük objektifte incelenerek parazitin görülmesidir. İlk preparat negatif olsa bile, klinik olarak sıtma şüphesi mevcutsa, 12 saat arayla hazırlanan preparatlarda parazit aranmalıdır. Kalın damla boyama, en sensitif teknik olmakla birlikte, tür tayini için ince yaymalar kullanılır (18). İnce yaymada rastlanan *Plasmodium* türleri; içinde birden fazla *Plasmodium* içeren eritrositlerin bulunması, enfekte eritrosit formlarının normal boyarlarda olması, eritrosit içi parazitlerin eritrositin 1/6'sını kaplayacak şekilde küçük olması ve eritrosit içinde birden fazla sayıda bulunması nedeni ile *P. falciparum* ve bazı eritrositlerin normal boyutlardan daha büyük olması, parazitlerin eritrositin 1/3'ünü kaplayacak kadar büyük olması nedeni ile *P. vivax* olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda ilk incelemede tanı konulamayan olmadı. İstanbul

Halk Sağlığı ekipleri olguların %83,6'sına hızlı tanı testi uyguladı. Kan örneklerinde üretici firmanın talimatına göre OptiMAL hızlı test (DiaMed OptiMAL, Cressier, Switzerland) çalışıldı. Test sonucunda dipstik üzerinde kontrol bandı ile birlikte koyu bir band oluşmuşsa *P. vivax*, iki band oluşmuşsa *P. falciparum* olarak kabul edildi.

Sıtma tedavisinde parazit türü ve bölgenin olası direnç durumu gözönüne alınarak hızlı bir şekilde tedavi başlanmalıdır. Komplike olmayan *P. falciparum* sıtmasının tedavisinde seçilecek ilaç artemeter + lumefantrin, artesunat + amodiaquine, artesunat + meflokin, dihidroartemisinin + pioeraquanin, artesunat + sulfadoxin/primetamin'dir (19). Bizim *P. falciparum* olgularımızın hepsin de artemeter + lumefantrin kullanıldı ve tedavinin 48. saati itibarıyla ateş yanıtı alındı. Olguların hepsi oral ilaçlarla tedavi edildi.

P. vivax sıtmasının tedavisinde karaciğere yerleşen hipnozoit formların eliminasyonu için primakin vazgeçilmez bir seçenektir. DSÖ malarya kılavuzunda artemisinin derivelerine primakin eklenmesini önermiştir. Serimizde mevcut olan 10 *P. vivax* olgusu artemeter + lumenfantrin + primakin kombinasyonu ile tedavi edilmiştir. Aynı kılavuzda ağır/ciddi malarya tanımlamasında kriterler; bilinç bulanıklığı veya koma, yardımsız ayağa kalkamama, 24 saatte ikiden fazla konvülsiyon geçirme, asidoz, hipoglisemi (kan şekerinin <40 mg/dL), ciddi malaryal anemi (Hb <7 mg/dL), renal yetmezlik, hiperbilirubinemi (Tbil >3 mg/dL), pulmoner ödem, anormal spontan kanama, şok ve hiperparazitemi bulgularının olması olarak bildirilmiştir. Trombositopeni ölümü ilişkili bulunmadığından kriterler içine alınmamıştır. Bizim *P. falciparum* olgularımızdan, trombosit <20.000/mm³ olan iki olgudan birinde hematüri, diğerinde dişeti kanaması olması üzerine trombosit infüzyonu yapılmıştır. Her iki gruptaki hastalarında yoğun bakım ihtiyacı olmamıştır.

Sıtmanın endemik olarak görüldüğü ülkelere seyahat edecek kişilere uygulanan kemoprofilaksi mortalite ve morbiditeyi azaltmaktadır. Sıtmada kemoprofilaksinin yeterliliği ilaç direncine ve önerilen süre ve dozda kullanımına bağlı olarak değişmektedir (20). Yurtdışına gidecek vatandaşlara Hudut ve Sahiller Sağlık Genel Müdürlüğü'nün web sayfasında gidilecek ülkenin bulaşıcı hastalık durumu ve yaptırılması gerekli aşılar ve sıtma profilaksisi için ilaç önerileri mevcuttur. Meflokin 250 mg tablet haftalık (haftada 1x250 mg tablet alınmak üzere seyahate çıkmadan bir hafta önce başlanır, seyahat boyunca ve seyahatten sonra dört hafta daha devam edilir. Atovaquone/Proguanil tablet günde 1 kez 250/100 mg olmak üzere yolculuktan bir iki gün önce başlanır. Seyahat süresince ve döndükten sonra bir hafta devam edilir ya da doksisisiklin 100 mg kapsül günlük (günde 1x100 mg tablet alınmak üzere seyahate çıkmadan bir gün önce başlanır, seyahat boyunca ve seyahatten sonra dört hafta daha devam edilir (20).

Hastalarımızın %30 kadarı seyahatleri öncesinde malarya açısından bilgi almış ancak profilaktik ilaç kullanmamıştır.

SONUÇ

Sıtma endemik bölgeye seyahat edecek kişilere seyahat öncesinde bilgi verilerek kemoprofilaksi kullanmaları sağlanmalıdır. Ayrıca bu bölgelerden dönen veya daha öncesinde bu bölgelerde bulunmuş olan ateşli veya ateş hikayesi olanlarda ayırıcı tanıda sıtma düşünülmelidir. İmport olgularda mortalitesi yüksek olabilen *P. falciparum* ilk planda düşünülmesine rağmen tedavisi nüks açısından farklı olan *P. vivax*'da göz ardı edilmemelidir.

* Etik

Etik Kurul Onayı: İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 12/07/2019 tarih ve 1905 no'lu kararı ile alınmıştır.

Hasta Onayı: Hastalara yapılan tüm invaziv girişimler için hasta dosyalarında onayları mevcut olup, çalışmamız retrospektif olduğundan hastalardan çalışma için ayrıca onam alınmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu içinde olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Konsept: N.D.S., Dizayn: N.D.S., Veri Toplama veya İşleme: N.D.S., Analiz veya Yorumlama: G.Y., Literatür Arama: N.D.S., Yazan: N.D.S.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/252038/1/9789241511711-eng.pdf?ua=1> Accessed September 11, 2017.
2. Turkish Statistical Institute http://www.turkstat.gov.tr/VeriBilgi.do?alt_id=39 Accessed March 20, 2016.
3. Turkish Ministry of Health Health Statistics Yearbook 2014. Available at <https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/EN%20YILLIK.pdf> Accessed September 25, 2017.
4. Eliminating Malaria The long road to malaria elimination in Turkey. Available at http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94961/1/9789241506403_eng.pdf Accessed September 25, 2017.
5. Bozkurt İ, Karşoğlu M, Esen Ş. Clinical and laboratory features of travel-associated malaria; a University Hospital experience. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob* 2018;7:7-26.
6. Mert A, Özars R, Tabak F, Bilir M, Öztürk R, Aktuğlu Y. Malaria in Turkey: A review of 33 cases. *Eur J Epidemiol*. 2003;18:579-82.
7. Sağmak Tartar A, Akbulut A. Epidemiological, clinical, and laboratory evaluation of Plasmodium falciparum malaria cases followed in Firat University Hospital: A 6 year retrospective Analysis. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 2018;42:1-5.
8. Sargın-Altunok E, Aynioğlu, Azak-Karali E, Mutlu B, Willke A. Kocaeli ilinde yurtdışı kaynaklı Plasmodium falciparum sıtması: 16 olgunun değerlendirilmesi. *Klinik Derg*. 2016;29: 86-9.
9. İnkaya AÇ, Kaya F, Yıldız İ, Uzun Ö, Ergüven S. Plasmodium falciparum sıtması: Yurt dışı kaynaklı üç olgunun değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bül*. 2016;50: 328-32.
10. Parlak E, Ertürk A, Çayır Y, Parlak M. Sporadik bir bölgede: dört import sıtma olgusu. *Türk Parazitoloji Derg*. 2013;37:161-4.
11. Ural S, Aslan S, Kaptan F, El S, Sezak N, Demirdal T. Artemeter/lumefantrinle tedavi edilen Kamerun kaynaklı bir Plasmodium falciparum sıtması olgusu. *Klinik Derg*. 2015;28: 35-7.
12. Önen Y, Çulha G, Ocak S, Savaş L, Güllü M. Yurtdışı kökenli Plasmodium falciparum sıtması: dört olgu sunumu. *Türk Parazitoloji Derg*. 2007;31: 256-9.
13. Erdem İ, Öztürk-Engin D, Çomoğlu Ş, et al. Birden fazla organ tutulumu olan bir ciddi Plasmodium falciparum sıtması olgusu. *Klinik Derg*. 2005;18: 80-2.
14. Bayram Delibaş S, Akısı Ç, Aksoy Ü, et al. Plasmodium falciparum ve Plasmodium ovale'nin etken olduğu importe bir miks sıtma olgusu. *Türk Parazitoloji Derg*. 2005; 29: 63-7.

15. Fairhurst RM, Welles TE. Plasmodium Species (Malaria). In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2015. p. 3437-62.
16. Şengoz İnan A, Erdem İ, Oztürk Engin D, Hitit G, Ceran N, Şenbayrak S, ve ark. Sıtma: 40 Olgunun Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg 2010; 34: 147-51.
17. Gul O, Sevgi DY, Gunduz A, Hamidi AA, Oncul A, Konuklar A.Ş, ve ark. Kliniğimizde Yatarak Takip Edilen Sıtma Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi. Ş.E.E.A.H. Tıp Bulteni 2016; 50: 142-6.
18. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları(UMS) cilt3.Mikrobiyolojik tanımlama/ Parazitoloji 2015:3-13
19. World Health Organization. Guidelines for the treatment of malaria. 3rd Edition. Available at http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162441/1/9789241549127_eng.pdf?ua=1&ua=1 Accessed August 30, 2017.
20. Turkey's General Directorate of Health for Borders and Coasts. Available at <http://www.hssgm.gov.tr/EN/> Accessed September 4, 2017.

Ekinokokkozis'te Germinal Membran ve Kist Sıvısının Raman Spektroskopisi ile Moleküler Düzeyde Biyokimyasal Analizi

Biochemical Analysis of Germinal Membrane and Cyst Fluid by Raman Spectroscopy in Echinococcosis

İB Berna Hamamcı¹, İB Güneş Açıkgöz¹, İB Erol Kılıç², İB Kerem Karaaslan³, İB Ülfet Çetinkaya⁴,
İB Tülin Durgun Yetim³, İB İbrahim Yetim²

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Hatay, Türkiye

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

³Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

⁴Erciyes Üniversitesi, Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Kayseri, Türkiye

Cite this article as: Hamamcı B, Açıkgöz G, Kılıç E, Karaaslan K, Çetinkaya Ü, Durgun Yetim T, Yetim İ. Ekinokokkozis'te Germinal Membran ve Kist Sıvısının Raman Spektroskopisi ile Moleküler Düzeyde Biyokimyasal Analizi. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43(4):175-81.

ÖZ

Amaç: Hydatidosis, *Echinococcus granulosus*'un larva evresinin neden olduğu zoonotik paraziter bir enfeksiyondur. Çalışmada, karaciğer tutulumu olan hastaların cerrahi sırasında elde edilen germinal membran ve kist sıvılarının Raman spektroskopisi ile moleküler düzeyde biyokimyasal yapılarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmada, germinal membran ve kist sıvılarının mitokondriyal gen bölgesine göre moleküler karakterizasyonları belirlenmiş ve filogenetik analizleri yapılmıştır. Örneklerde Raman spektroskopisi kullanılarak 300-1800 cm⁻¹ arasındaki spektral bantlar incelenmiştir.

Bulgular: PZR analizleri sonucunda hastalardan elde edilen germinal membranlarda ve kist sıvılarında yaklaşık 400 bp büyüklüğünde DNA bandı elde edilmiştir. Germinal membranda 780, 880, 970, 1151, 1200, 1270 cm⁻¹'de, kist sıvısında 780 ve 1200 cm⁻¹'de farklı pikler gözlenmiştir. 1333-1335 cm⁻¹'de elde edilen en şiddetli spektral bantların CH₃CH₂ kollajen ve polinükleotit zincirini gösteren modlar olduğu belirlenmiştir. Bu ise, *E. granulosus*'un moleküler düzeyde biyokimyasal yapısını gösteren spesifik pik olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç: Mikroorganizmaların tanımlanmasında ve biyolojik dokuların biyokimyasal analizlerinde; moleküler, serolojik ve konvansiyonel farklı tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlere ek olarak Raman spektroskopisinin hızlı, tahribatsız ve non-invaziv bir yöntem olduğu yapılan çalışmada gösterilmiştir. Dolayısıyla mikroorganizmaların temel biyokimyasal bileşenlerinin moleküler düzeyde analiz edilebilmesi bakımından alternatif bir yöntem olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Echinococcus granulosus*, Raman spektroskopisi, biyokimyasal analiz

ABSTRACT

Objective: Hydatidosis is a zoonotic parasitic infection caused by the larval stage of *Echinococcus granulosus*. The aim of this study was to investigate the biochemical structures of germinal membrane and cyst fluids obtained from patients with liver involvement during surgery, by Raman spectroscopy at the molecular level.

Methods: Molecular characterization of germinal membrane and cyst fluid according to mitochondrial gene region was determined and phylogenetic analysis was performed. Raman spectroscopy was used in samples and spectral bands between 300 and 1800 cm⁻¹ were examined.

Results: As a result of PCR, approximately 400 bp DNA band was obtained from germinal membranes and cyst fluids gathered from patients. Peaks were observed at 780, 880, 970, 1151, 1200, 1270 cm⁻¹ for germinal membrane and at 780 and 1200 cm⁻¹ for



Geliş Tarihi/Received: 06.02.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 21.08.2019

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Dr. Berna Hamamcı, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Hatay, Türkiye

Tel/Phone: +90 533 436 97 99 **E-Posta/E-mail:** uzmberna@hotmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-3411-2935

cyst fluid. The highest spectral bands were obtained at 1333-1335 cm^{-1} and were determined to be modes indicating the CH_3CH_2 collagen and polynucleotide chain.

Conclusion: In the identification of microorganisms and biochemical analysis of biological tissues; different diagnostic methods such as molecular, serological and conventional methods are used. In addition to these methods, Raman spectroscopy has been shown in studies to be a fast, non-destructive and noninvasive method. Therefore, it is thought to be an alternative method for analyzing the basic biochemical components of microorganisms at molecular level.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, Raman spectroscopy, biochemical analysis

GİRİŞ

Hidatik kist (HK), *Echinococcus granulosus*'un larva evresinin neden olduğu zoonotik bir paraziter enfeksiyondur. Ülkemiz de dahil hayvancılığın yaygın olduğu birçok ülkede önemli bir halk sağlığı sorununu teşkil etmekte ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır (1). *E. granulosus*'un larva formu, ara konakta kistik özellik göstermekte ve çoğu olguda benign tümör gibi davranmaktadır (2). Zoo-coğrafik yapı farklılığı, iklim koşulları, sosyo-ekonomik durum, halkın eğitim düzeyine bağlı olarak HK prevalansı değişiklik gösterir. *E. granulosus*'un genetik çeşitliliği; rastlantısal ara konak olan insanlarda hastalığın epidemiyolojisi, tedavisi ve kontrolü için oldukça önemlidir (3).

Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar ile *E. granulosus*'un taksonomisi yeniden belirlenmiş ve yeni suşlar ortaya çıkmıştır. Mitokondriyal DNA sekanslarına göre on farklı genetik yapı (G1-10 genotipleri) tanımlanmıştır. Suşlar arasındaki ara konak ve gelişimsel farklılıklar parazitle mücadeleyi ve kontrol çalışmalarını olumsuz yönde etkilemektedir (4). Son yapılan çalışmalara göre *E. granulosus* suşları; G1-G3 *E. granulosus sensu stricto*, G4 *E. equinus*, G5 *E. ortleppi* ve G6-G10 ise *E. canadensis* olarak sınıflandırılmaktadır (5).

Dünyada bazı ülkelerde yapılan çalışmalarda bu genotiplerden en yaygınının G1 genotipi olduğu belirlenmiştir. *E. granulosus sensu stricto* (G1=evcil koyun suşu) insan ve hayvanlarda kistik ekinokokkосуza neden olan etiyolojik ajanlardan biridir. Bu sesto dünya çapında yaygın bir dağılıma sahiptir. Özellikle köpeklerle yakın temasta olabilen hayvan yetiştiricilerinin bulunduğu fakir ve kırsal kesimi etkilemektedir (6).

Echinococcus türlerinin ara konaklarda oluşturdukları kistler; dıştan damarsız, eozinofilik laminar tabaka ile en içte protoskolekslerin geliştiği germinal membrandan (10-15 μ) oluşur. *E. multilocularis* haricindeki türlerin kistlerinde konak dokusu tarafından çevrelenmiş; endotel hücreleri, eozinofiller ve dev hücreleri içeren, fibroblast ve kapillerden zengin fibröz bir adventisiya tabakası bulunur (7-9). Kist tabakalarının biyokimyasal yapısı, hastalığın metabolizması, fizyolojisi ve immünolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (10,11).

Raman spektroskopisi (RS); tahribatsız olarak herhangi bir bileşik, doku veya sıvının hızlı bir şekilde tanımlanma, birbirinden farklı numuneleri analiz edebilme özelliğinden dolayı, son yıllarda tıbbi bilimler açısından önemi giderek artmaya başlamıştır. Kan, idrar, tükürük, ter gibi vücut sıvılarında, hastalık veya hücre yüzey antijenlerinin belirlenmesi amacıyla özellikle son 20 yılda birçok çalışmada kullanılan güçlü bir analitik tekniktir (12-18). Toksik ajanlar/ilaçlar, hastalık, hücre ölümü ve farklılaşması gibi hücresel biyokimyasal değişikliklerin belirlenmesinde RS oldukça etkindir. Bazı biyolojik numunelerin incelenmesinde RS tek başına yetersiz kalmaktadır. Bundan dolayı Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) yöntemi kullanarak, Raman sinyallerinin şiddeti artırılabilir (16-19). Işının gümüş, altın, bakır gibi bazı metallerin iletim bandındaki elektronları uyarılmasıyla üzerine absorbe edilen moleküllerde görülen zenginleşmeye Raman

zenginleşmesi veya SERS denir. RS'nin tek başına yeterli olmadığı bazı incelemelerde SERS metodunun kullanılması avantaj sağlamaktadır (20,21). SERS metodu, metal nanoparçacıklar üzerinden analiz edilmesi yönünden RS'den ayrılır. Metal nano parçacıklar, yüzeyde lokalize elektromanyetik alan oluşturarak RS şiddetini artırır. SERS metodu günümüze kadar; biyolojik numunelerin analizi, parazitemi durumu, hücrenin biyokimyasal süreçleri, hastalıkların tanısı, kanser hücrelerin tanımlanması, bakteri türlerinin sınıflandırılması, gen ekspresyon tahmini ve ilaçların teşhisi gibi amaçlarla uygulanmaktadır (22-26). Metalik nano yapılar arasında, altın nanoparçacıklar (AuNP) ve gümüş nanoparçacıklar (AgNP), tıbbi alanda büyük ilgi görmektedir. AgNP birbirine metalik olarak bağlanmış gümüş atomlarından oluşan nano boyutlu yapılardır. Bu partiküller farklı fiziksel, optik ve kimyasal özelliklerinin yanında, anti-bakteriyel etkileri de bilinmektedir. AgNP'ler (elektriksel olarak pozitif) ile parazit (elektriksel olarak negatif) arasındaki elektrostatik etkileşimle skolitik etki gerçekleştirebilir. Ancak SERS metodunda kullanılan AgNP'ler skolitik etki göstermezler.

Çalışmada ekinokokkoziste germinal membran ve kist sıvılarının analizleri ile biyokimyasal yapılarının incelenmesi için Raman spektroskopisinin hızlı, tahribatsız ve non-invaziv bir yöntem olduğu düşünüldüğünden dolayı mikroorganizmaların temel biyokimyasal bileşenlerinin moleküler düzeyde analiz edilebilmesi bakımından alternatif bir yöntem olarak SERS metodu ile incelenmesi ve *E. granulosus*'un larval formunun moleküler düzeyde biyokimyasal haritasının gösterilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Örneklerin Elde Edilmesi

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi'nde, karaciğer kist hidatik tanısı konulan ve hastaların cerrahi tedavisi sırasında elde edilen germinal membran ve kist sıvıları kullanılmıştır. Çalışmada germinal membran ve kist sıvıları mitokondriyal gen bölgesine göre moleküler karakterizasyonları belirlenmiş ve filogenetik analizleri yapılmıştır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Total genomik DNA örneklerinden mitokondriyal JB3 ve JB4.5 primerleri kullanılarak *CO1* geninin yaklaşık 400 bp'lik bölgesi çoğaltılmış ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ürünü elde edilmiştir (Tablo 1). DNA izolasyonu Gene AllExgeneCell SV Mini Kit (GeneAll, Korea) prosedürüne göre çalışılmıştır. Elde edilen PZR ürünlerinden Sanger dizileme protokolü ile DNA dizi analizi yapılmıştır. BLAST analizi ve MEGA programı ile filogenetik analizleri yapılarak DNA dizi analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Mitokondriyal PZR işleminde toplam 25 μL 'lik hacimde bir karışım hazırlanmıştır (Tablo 2). PZR amplifikasyonunda 95 °C'de 5 dk başlangıç denatürasyonunu takiben, toplam 35 döngü 95 °C'de 45 sn denatürasyon, 55 °C'de 45 sn primer birleşmesi ve 72 °C'de 45 sn sentezi gerçekleştirilmiştir. Son döngüyü takiben 72 °C'de 7 dk son uzama işlemi yapılmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

On hastanın karaciğerinden elde edilen fertil kist sıvıları ve aynı hastalara ait germinal membranlar analizler yapıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Fertil kist sıvıları santrifüj edilerek protoskolekslerin çökmesi sağlandıktan sonra süpernatant uzaklaştırılarak dipteki kısım kullanılmıştır. Germinal membranlardan ise bir kesit alınarak quartz camlı ve Raman sinyallerinde değişime neden olmayan lamalar üzerine yerleştirilmiştir. Hazırlanan numuneler 20 µL gümüş nanoparçacık kullanılarak spektrumları elde edilmiştir.

AgNP'lerin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

AgNP'ler Lee ve Meisel (27) yöntemine göre sentezlenmiştir. Oluşan AgNP'leri karakterize etmek için UV/Görünür bölge spektrofotometresi ve Taramalı Elektron Mikroskobu analiz ünitesi (JEOL 5500/OXFORD Inca-X) kullanılmıştır.

Raman Spektroskopisi

Yapılan incelemelerde 785 nm lazere ve Charge-Coupled Device detektöre sahip Renishaw in Via RS kullanılmış ve 300-1800 cm⁻¹ arasındaki spektral bantlar incelenmiştir. Tüm ölçümler için elde etme süresi, lazer gücü ve exposure süresi sırasıyla 10 sn, 5 mW ve 1 sn olarak alındı. Veriler, WiRe 3.2 yazılımı (Renishaw plc,

Wotton-under-Edge, İngiltere) kullanılarak elde edildi. Spektra ön işleme (yani, dördüncü polinom taban çizgisi düzeltmesi ve vektör normalizasyonu), analiz ve çizim, MATLAB® (Matlab 7.13, Mathworks, Natick, MA, ABD) programı kullanılarak gerçekleştirildi.

Bu çalışma için etik kurul onayı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (etik kurul no: 19/012017/02).

BULGULAR

PZR analizleri sonucunda hastalardan elde edilen germinal membranlarda ve kist sıvılarında yaklaşık 400 bç büyüklüğünde DNA bandı elde edilmiştir (Şekil 1).

Mitokondrial CO1 gen bölgesi dizi analizleri sonuçları 3 grupta sınıflandırılmıştır. Hasta gruplarının karşılaştırma sonucunda dizilimlerinde bazı farklılık saptanmış olup izolatlar arasında genetik akrabalıkları 3 grubunda %99 oranında elde edilmiştir. Filogenetik analizler sonucunda izolatların *E. granulosus* (G1-G3) kompleksi içinde yer aldığı gözlenmiştir. Elde edilen veriler BLAST search ile Genbank'ta bulunan sonuçlarla karşılaştırılması sonucunda; Hatay ilinden toplanan ve bu çalışmaya dahil edilen insan izolatlarının hepsinin *E. granulosus sensu stricto* (G1) olduğu belirlenmiştir (Şekil 2).

Tablo 1. *Echinococcus granulosus* izolatlarının PZR analizinde ve tiplendirilmesinde kullanılan primerler

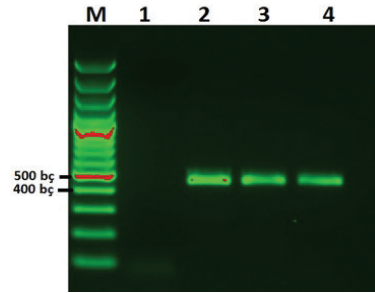
Tür	Gen	Primer	Sekans	Amplicon
<i>Echinococcus</i> spp.	mt-CO1	JB3 JB4.5	(5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3') (5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3')	400 bç

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

Tablo 2. Mitokondriyal PZR işleminde kullanılan PZR karışımı ve PZR amplifikasyonu

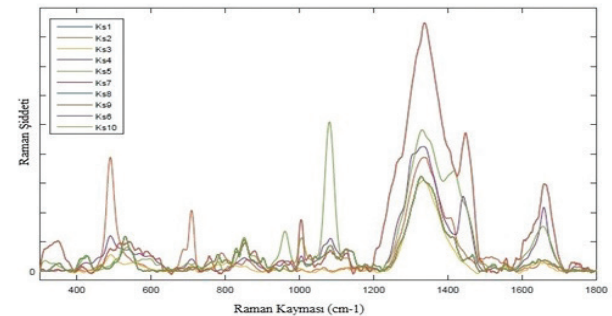
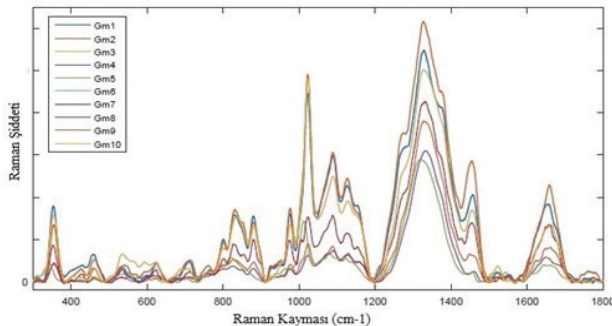
PZR karışımı (µL)	PZR amplifikasyonu
10x reaksiyon buffer 2,5	95 °C 5 dk
dNTP (2,5 mM) 2	95 °C 45 sn
JB3 (20 pmol/µL) 0,5	55 °C 45 sn
JB4.5 (20 pmol/µL) 0,5	72 °C 45 sn 35 döngü
Taq DNA pol. (5 ünt./µL) 1	72 °C 7 dk
DNA 1	
Distile su 17,5	
Toplam 25	

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu, sn: Saniye, dk: Dakika



Şekil 1. *E. granulosus* PZR ürünlerinin %1,5'lik etidyum bromidle boyanmış agaroz jeldeki görüntüsü; M: 100 bç DNA ladder, 1: Negatif kontrol, 2-3-4: Hasta örnekleri

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu



Şekil 2. Çalışmada elde edilen izolatların ve referans dizilerin filogenetik ilişkisi

Moleküler çalışmaları yapılmış olan bu örnekler ayrıca RS ile incelenmiştir. Çalışmada, fertil kistlerden elde ettiğimiz germinal membran ve kist sıvılarının Raman spektrumları arasında belirgin bazı farklılıklar elde edilmiştir. Elde edilen bu spektral pikler literatürdeki normal ve patolojik dokulardan elde edilen Raman spektrumlarının oluşturulduğu veriler ile karşılaştırılmıştır (17,28-42).

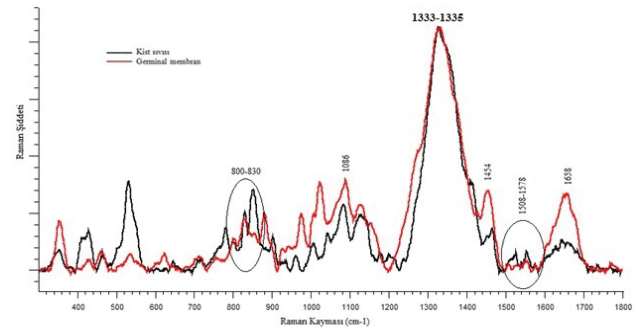
Yapılan çalışmada elde edilen spektrumların hangi biyokimyasal bileşenlere ait olduğu Tablo 3'de gösterilmiştir. Germinal membran ve kist sıvısının içeriğindeki farklılıklardan dolayı karakteristik pikler değerlendirilmiştir (Şekil 3). Örneklerin Raman spektrumları moleküler düzeyde protein, karbonhidrat, yağ ve nükleik asitlere ait biyokimyasal haritalanması elde edilmiştir.

Germinal membran ve kist sıvısı için 300-1800 cm^{-1} arasındaki spektral bölge incelenmiştir. 780, 880, 970, 1156, 1200, 1270 cm^{-1} 'de belirgin olarak farklı pikler gözlenmiştir. Elde edilen bu piklerden 880, 970, 1156, 1270 cm^{-1} noktalarında germinal membranda güçlü spektral pikler gözlenirken kist sıvısında bu noktalarda spektral özellik görülmemiştir. Kist sıvısında ise 780 ve 1200 cm^{-1} noktalarında farklı spektral bantlar gözlenmiştir (Şekil 4).

Germinal membrandan elde edilen spektrumlardaki şiddetli pikler; 880, 1020, 1086, 1333-1335, 1454 ve 1662 cm^{-1} bantlarında elde edilmiş ve patolojik dokuların teşhisi için genellikle normal dokulara göre protein deformasyonlarını gösteren önemli piklerdir. 1454 cm^{-1} 'deki, metilen ($-\text{CH}_2-$) deformasyonuna bağlı

Amid II proteininin; 1658 cm^{-1} 'de elde edilen spektral bandın ise karbonil ($\text{C}=\text{O}$) gerilmesine bağlı Amid I proteinlerinin tepe noktaları olarak bulunmuştur. 1274 cm^{-1} 'deki pikin ise Amid III'e ait olduğu düşünülmektedir.

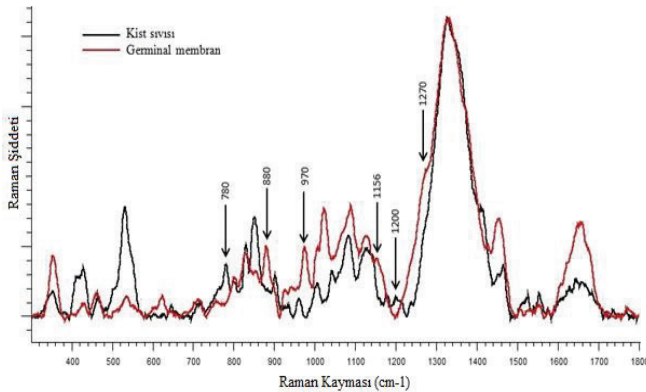
Germinal membranın Raman spektrumunda 752-1006 cm^{-1} 'de elde edilen spektral bantlar proteinlerin farklı titreşim modlarını ve aminoasitlerin kalıntıları olarak gösterilebilir. Normal dokularda lipitler baskın spektrum vermektedir ancak bening tümörlerde genellikle yüksek protein içeriğine sahip olacağından bulgularımızda proteinlere ait titreşim modları daha baskın elde edilmiştir. Ancak bu titreşim modları proteinlerin küçük yoğunluk varyasyonlarıyla sınırlandırılarak gösterilmiştir. Germinal membran da nükleik asitler, triptofan ve fenil alanin proteinlerinin daha yüksek sinyaller oluşturduğunu ancak



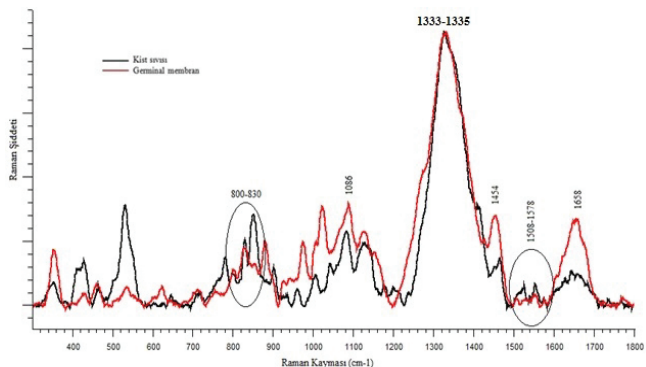
Şekil 5. Germinal membran ve kist sıvılarının Raman spektrumlarından elde edilen ortak pikler

Tablo 3. Germinal membran ve kist sıvılarından elde edilen raman spektrumunun temel bantları

Raman kayması	Biyomolekül
622	Fenilalanin
780	Urasil bazı
802	Triptofan
800-830	Prolin, hidroksiprolin, triozin, fosfodiester bağları, DNA şeker fosfat omurgası
880	hidroksiprolin
943	Prolin, valin
974-978	CH_3 proteinlerin deformasyonu
1006	Karotenoitler
1086	Fosfolipit
1124	Fosfolipit
1200	Amide III
1270	Amide III
1333-1335	Polinükleotit (DNA pürin bazları)
1454	Metilen ($-\text{CH}_2-$) deformasyonuna bağlı Amid II
1508	Sitozin
1520	Karotenoitler
1577	Amid II protein ve nükleik asitlerin
1658	Karbonil ($\text{C}=\text{O}$) gerilmesine bağlı Amid I



Şekil 3. On hastanın germinal membran ve kist sıvılarından elde edilen Raman spektrumları



Şekil 4. Germinal membran ve kist sıvılarının Raman spektrumlarından elde edilen farklı pikler

fosfolipit, prolin ve valin aminoasitlerin oluşturduğu Raman sinyallerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Protein ve aminoasitlere ait Raman spektrumları; 622 ve 1006 cm^{-1} (fenilalanin), 802 cm^{-1} (triptofan), 880 cm^{-1} (hidroksiprolin), 943 cm^{-1} 'de (prolin ve valin) olarak saptanmıştır. 974-978 cm^{-1} 'de elde edilen spektral bant ise protein deformasyonu şeklinde yorumlanmıştır.

Elde edilen diğer spektral pikler incelendiğinde; 1151 cm^{-1} 'de; C-C, C-N gerilmesi (proteinler), normal dokuda olmayan karotenoidler, 1274 cm^{-1} 'de tipik fosfolipitler, proteinlerde ki Amid III bandı ve Alfa heliks proteinlerde ki C-N gerilmesi, 880 cm^{-1} 'de C-C-N⁺ simetrik gerilme, hidroksiprolin ve triptofan, 970 cm^{-1} 'de lipitler (kolesterol), fosforilasyona uğramış proteinlerin ve hücrel nükleik asitlerin fosfo monoester grupları olarak belirlenmiştir (Şekil 4).

715, 1020 ve 1333-1335 cm^{-1} 'de elde edilen Raman bantlarının nükleik asitlere ait olduğu belirlenmiştir. Genellikle kanserleşmiş dokularda görülen 1086 cm^{-1} 'de oluşan tepe noktasının şekere (C₂OH) ait olan önemli bir pik olarak saptanmıştır.

Kist sıvısından elde edilen spektral pikler değerlendirildiğinde ise, 780 cm^{-1} 'de urasil bazı ve sitozin/urasil nükleotidleri, 1200 cm^{-1} 'de nükleik asitler, fosfatlar ve Amide III proteinlerine ait spektral titreşim modlarının biyokimyasal özellikleri elde edilmiştir (Şekil 4).

Germinal membran ve kist sıvısının Raman spektrumunda aynı spektral desenlerden elde edilen pikler değerlendirilmiştir. 800-943 cm^{-1} 'deki spektral pikler; protein bantları, tümörlerin yapısal protein modları, prolin ve hidroksiprolinin C-C gerilmesi, fosfodiester bağları, DNA'nın şeker fosfat omurgası ve tirozine ait titreşim modları olarak bulunmuştur. 1086 ve 1124 cm^{-1} 'deki spektral pikler ise; fosfolipitlere ait olarak belirlenmiştir. Hem germinal membran hem de kist sıvılarından elde ettiğimiz 1508, 1520, 1554, 1577 cm^{-1} 'deki spektral pikler sırasıyla; sitosin, karotenoidler, Amid II protein ve nükleik asitlerin titreşim modlarına ait olduğu bulunmuştur (Şekil 5).

Membran oluşumuna fosfolipit, serbest yağ asidi ve kolesterol, sıvıların içeriğinde ise sadece fosfolipitlerin bulunduğu, her ikisinin yapısının yoğun antejinik özelliklere sahip olduğu saptanmıştır. 1333-1335 cm^{-1} 'de elde edilen en şiddetli spektral bantın CH₃CH₂ kollajen ve polinükleotit (DNA pürin bazları) zincirini gösteren modlara ait olduğu belirlenmiştir. Bu Raman bandı *E. granulosus*'un moleküler yapısını gösteren spesifik bir pik olarak değerlendirilmiştir. 1658 cm^{-1} 'deki spektral bantın ise α heliks yapı ve Amid I proteinlerine ait olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu spektral desenin germinal membranda daha yüksek bir titreşim modu gösterdiği gözlenmiştir. 1658 cm^{-1} 'deki pik, kanserli hücrelerdeki amino asitlerin CH₃ asimetrik deformasyonuna karşılık gelmektedir (Şekil 5).

TARTIŞMA

Bu çalışmada RS kullanılarak SERS metodu ile *E. granulosus*'a ait germinal membran ve kist sıvılarının moleküler düzeyde biyokimyasal kompozisyonları belirlenmeye çalışıldı.

Bir hücrenin Raman spektrumu, hücrenin biyokimyasal bileşiminin zengin bir "parmak izini" temsil eder. Bu nedenle farklı hücrel tepkileri başlatan farklı toksik maddeler ve biyokimyasal değişiklikler Raman spektrumlarında belirgin olarak ortaya konulabilmektedir. Fizyolojik koşullarda muhafaza edilen canlı

hücrelerden herhangi bir invaziv girişim ve kontrast artırıcı kimyasallar kullanılmasına gerek kalmadan RS ile hücrenin moleküler kompozisyonları belirlenebilmektedir (40).

Bugüne kadar yapılan araştırmalar incelendiğinde kemik, kornea, servikal doku, akciğer, göğüs, deri, gastrointestinal doku, beyin, karaciğer, tükürük, hem proteinleri, lenfositler, insan kan hücreleri ve kanser hücreleri gibi birçok biyolojik doku örnekleri RS ile incelenmiştir. Ancak *E. granulosus* ve diğer parazitlerin biyokimyasal yapılarını haritalayabilecek SERS metodu ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarda bildirilen biyolojik dokuların spektrumları ile *E. granulosus*'a ait germinal membran ve kist sıvılarının spektrumları karşılaştırılarak biyokimyasal kompozisyonları belirlenmeye çalışılmıştır.

Hidatik kistlerin biyokimyasal kompozisyonları hastalığın fizyolojisinde, metabolizmasında ve immünolojisinde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca biyokimyasal varyasyon, farklı ara konaklardaki suş varyasyonunu da yansıtabilmektedir (43). Farklı ara konaklardan elde edilen hidatik kist tabakaları ve bunu çevreleyen konak dokusunun serolojik yöntemlerle biyokimyasal parametrelerinin araştırıldığı çalışmada; kolesterol, trigliserit, üre, ürik asit, kreatin ve bilirubin analizleri elde edilmiştir. Kolesterol, bilirubin ve kreatinin en yüksek konsantrasyonda germinal tabakada olduğu ve diğer organlara göre biyokimyasal analiz sonuçlarının konsantrasyon miktarlarının değiştiği bildirilmiştir (44).

Yapılan farklı çalışmalarda 2700-3500 cm^{-1} 'deki spektral bölge değerlendirildiğinde yağ asit zincirleri, fosfolipitler, kolesterol, kreatin, proteinler ve nükleik asitleri gösterilmiştir (17,45). Çalışmamızda ise 300-1800 cm^{-1} arasındaki spektral bölge değerlendirildiğinden dolayı germinal membran ve kist sıvısına ait nükleik asit, karbonhidrat, protein ve lipitlere ait spektral pikler analiz edilmiş fakat germinal membranda olması gerek kreatin gösterilememiştir.

Normal ve patolojik dokulardan elde edilen Raman spektrumları önemli farklılıklar göstermektedir. Normal dokuların spektral profili, yüksek seviyelerde lipitlerin göstergesidir. Hem benign hem de malign olan patolojik dokuların spektral profili, daha fazla protein ve daha az lipit varlığına işaret etmektedir. Ayrıca, patolojik dokular arasında, malign doku benign dokuya kıyasla nispeten daha fazla lipit içermektedir (39).

Zheng ve ark. (46) sağlıklı ve ekinokokkozisli hastaların serum örneklerinde RS kullanarak tanı ve tahminlerini gerçekleştirmişlerdir.

Cheng ve ark.'da (47) yapmış oldukları çalışmada 28 ekinokokkozis hastası ve 38 sağlıklı kişide RS yöntemi kullanılır. RS ölçümleri, iki grup kan serumu örneği üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Raman spektrumları gösterisi olarak ekinokokkozisli kan serumunun yansıtıcılığının, normal insan kan serumundan daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Sağlıklı ve ekinokokkozisli kişilerde ki ortalama kesin tanı oranının %92,121 olarak elde etmişlerdir. Sonuç olarak Zheng ve ark. (46), Cheng ve ark.'nın (47) yaptıkları çalışma sonucunda geleneksel tanı yöntemleri ile karşılaştırıldığında RS'nin düşük maliyetli, kolay kullanımlı, ekinokokkozun hızlı analizi ve doğru teşhisi açısından avantajları olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Raman spektroskopinin ekinokokkozis için non-invaziv ve hızlı tespiti için önemli potansiyele sahip olduğunu belirtmişlerdir.

E. granulosus'un larva formu olguların çoğunda benign bir tümör gibi davranmaktadır. Bu nedenle RS ile bu larval formun mikro

yapısını, dokunun ve kist sıvısının biyokimyasal bileşenlerini analiz etmek için önemli bir potansiyele sahiptir. Elde edilen spektrumların özellikleri, germinal membran ve kist sıvısının moleküler düzeyde biyokimyasal bileşimlerinde ki farklılıkları göstermekte avantaj sağlamaktadır.

SONUÇ

Mikroorganizmaların tanımlanmasında ve biyolojik dokuların biyokimyasal analizlerinde moleküler, serolojik ve konvansiyonel gibi farklı tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlere ek olarak Raman spektroskopisinin hızlı, tahribatsız ve non-invaziv bir yöntem olduğu yapılan çalışmada gösterilmiştir. Dolayısıyla mikroorganizmaların temel biyokimyasal bileşenlerinin moleküler düzeyde analiz edilebilmesi bakımından alternatif bir yöntem olacağı düşünülmektedir. Ayrıca bir sonraki çalışmalarda sağlam, kanserli dokularla karşılaştırmalı analizleri yapılarak tanı ve teşhisinde doğruluğunun ve güvenilirliğinin artırılmasını istiyoruz.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma için etik kurul onayı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (etik kurul no: 19/012017/02).

Hasta Onayı: Alınmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu içinde olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Konsept: B.H., G.A., Dizayn: B.H., G.A., Veri Toplama veya İşleme: B.H., G.A., E.K., K.K., Ü.Ç., T.D.Y., İ.Y., Analiz veya Yorumlama: B.H., G.A., E.K., K.K., Ü.Ç., T.D.Y., İ.Y., Literatür Arama: B.H., G.A., E.K., K.K., Ü.Ç., T.D.Y., İ.Y., Yazan: B.H., G.A., E.K., K.K., Ü.Ç., T.D.Y., İ.Y.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Özbilgin A, Kilimcioglu AA. Kistik echinococcosis. Özcel MA (Editör). Özcel'in tıbbi parazit hastalıklarında. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği 2007;541-66.
- Meerkhan AA. Biochemical Study of Germinal and Laminated Layers of Hydatid Cyst of Echinococcus granulosus and Surrounding Host Tissues Isolated from Different Intermediate Hosts. IJCEBS 2013;1:4.
- Budak Yıldırım FA, Yıldız K, Çakır Ş, Gazıyağcı AN. Kırıkkale Bölgesinde Koyun Kökenli Echinococcus granulosus İzolatlarının Moleküler Karakteri. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010;16:245-250.
- Thompson RCA, Lymbery AJ. The nature, extent and significance of variation within the genus Echinococcus. Adv Parasitol 1988;27:209-58.
- Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics of the genus Echinococcus (Cestoda: Taeniidae). Int J Parasitol 2013;43:1017-29.
- Alvarez Rojas CA, Romig T, Lightowlers MW. Echinococcus granulosus sensu lato genotypes infecting humans—review of current knowledge. Int J Parasitol 2014;44:9-18.
- McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. The Lancet 2003;362:1295-304.
- Czermak BV, Akhan O, Hiemetzberger R, Zelger B, Vogel W, Jaschke W, et al. Echinococcosis of the liver. Abdom Imaging 2008;33:133-43.
- Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Echinococcosis (1. baskı) Hidatoloji Derneği Yayın No:1. 2004; 129-238.
- Thompson RCA, Lymbery AJ. Echinococcus and hydatid disease, 1st ed. Wallingford, CAB International. 1995.
- Radfar MH, Iranyar N. Biochemical profiles of hydatid cyst fluids of Echinococcus granulosus of human and animal origin in Iran. J Vet 2004;4:435-42.
- Sikirzhitskaya A, Sikirzhitski V, McLaughlin G, Lednev IK. Forensic Identification of Blood in the Presence of Contaminations Using Raman Microspectroscopy Coupled with Advanced Statistics: Effect of Sand, Dust, and Soil. J Forensic Sci 2013;58:1141-8.
- Sikirzhitski V, Virkler K, Lednev I.K. Discriminant Analysis of Raman Spectra for Body Fluid Identification for Forensic Purposes. Sensors. 2010; 10: 2869-2884.
- Virkler K, Lednev IK. Raman spectroscopic signature of blood and its potential application to forensic body fluid identification. Anal Bioanal Chem 2010;396:525-34.
- An JH, Shin KJ, Yang WI, Lee HY. Body fluid identification in forensics. BMB Reports 2012;45:545-553.
- Nottingham I. Raman Spectroscopy Cell-based Biosensors. Sensors 2007;7:1343-58.
- Talari Z, Movasaghi S, Rehman I. Raman spectroscopy of biological tissues. Journal Applied Spectroscopy 2015;50:1.
- Gremlich HU, Yan B. Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials. Marcel Dekker Inc. New York, 2001.
- Kneipp K, Kneipp H, Kneipp J. Surface-enhanced Raman scattering in local optical fields of silver and gold nanoaggregates—from single-molecule Raman spectroscopy to ultrasensitive probing in live cells. Acc Chem Res 2006;39:443-50.
- Fleischmann M, Hendra PJ, McQuillan AJ. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. Chem Phys Lett 1974;26:163-6.
- Kumar CSSR. Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012;553-86.
- Khlebtsov BN, Khanadeev VA, Panfilova EV, Bratashov DN, Khlebtsov NG. Gold nanoisland films as reproducible SERS substrates for highly sensitive detection of fungicides. ACS Appl. Mater. Interfaces 2015;7:6518-29.
- Guicheteau J, Argue L, Emge D, Hyre A, Jacobson M, Christesen S. Bacillus Spore Classification via Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Principal Component Analysis, Appl. Spectrosc 2008;62:267-72.
- Sun L, Irudayaraj J. Quantitative surface-enhanced Raman for gene expression estimation. Biophys J 2009;96:4709-16.
- Meng J, Tang X, Zhou B, Xie Q, Yang L. Designing of ordered two-dimensional gold nanoparticles film for cocaine detection in human urine using surface-enhanced Raman spectroscopy. Talanta 2017;164:693-9.
- Berger AG, Restaino SM, White IM. Vertical-flow paper SERS system for therapeutic drug monitoring of flucytosine in serum. Anal Chim Acta 2017;949:59-66.
- Lee PC, Meisel D. Adsorption and Surface-Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols. J Phys Chem 1982;86:3391-5.
- Shetty G, Kendall C, Shepherd N, Stone N, Barr H. Raman spectroscopy: Elucidation of biochemical changes in carcinogenesis of oesophagus. Br J Canc 2006;94:1460-4.
- Cheng WT, Liu MT, Liu HN, Lin SY. Micro-Raman spectroscopy used to identify and grade human skin pilomatrixoma. Microsc Res Tech 2005;68:75-9.
- Liu Z, Davis C, Cai W, He L, Chen X, Dai H. Circulation and long-term fate of functionalized, biocompatible single-walled carbon nanotubes in mice probed by Raman spectroscopy. Proc Natl Acad Sci Unit States Am 2008;105:1410-5.
- Dukor RK. Vibrational spectroscopy in the detection of cancer. Biomedical Applications 2002;5:3335-59.

32. Chan JW, Taylor DS, Zwerdling T, Lane SM, Ihara K, Huser T. Micro-Raman spectroscopy detects individual neoplastic and normal hematopoietic cells. *Biophys J* 2006;90:648-56.
33. Krafft C, Neudert L, Simat T, Salzer R. Near infrared Raman spectra of human brain lipids. *Spectrochim. Acta Mol Biomol Spectrosc* 2005;61:1529-35.
34. Malini R, Venkatakrishna K, Kurien J, Pai KM, Rao L, Kartha VB, et al. Discrimination of normal, inflammatory, premalignant, and malignant oral tissue: A Raman spectroscopy study. *Biopolymers* 2006;81:179-93.
35. Sigurdsson S, Philipsen PA, Hansen LK, Larsen J, Gniadecka M, Wulf HC. Detection of skin cancer by classification of Raman spectra. *IEEE Trans Biomed Eng* 2004;51:10.
36. Stone N, Kendall C, Smith J, Crow P, Barr H. Raman spectroscopy for identification of epithelial cancers. *Faraday Discuss* 2004;126:141-57.
37. Kendall C, Day J, Hutchings J, Smith B, Shepherd N, Barr H, et al. Evaluation of Raman probe for oesophageal cancer diagnostics. *Analyst* 2010;135:3038-41.
38. Schulz H, Baranska M. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. *Vib Spectrosc* 2007;43:13-25.
39. Chowdary MV, Kumar KK, Kurien J, Mathew S, Krishna CM. Discrimination of normal, benign, and malignant breast tissues by Raman spectroscopy. *Biopolymers* 2006;83:556-69.
40. Huang J, Liu S, Chen Z, Chen N, Pang F, Wang T. Distinguishing Cancerous Liver Cells Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Technol Cancer Res Treat* 2016;15:36-43.
41. Chen Y, Dai J, Zhou X, Liu Y, Zhang W, Peng G. Raman spectroscopy analysis of the biochemical characteristics of molecules associated with the malignant transformation of gastric mucosa. *PLoS One* 2014;9:93906.
42. Liu CH, Zhou Y, Sun Y, Li JY, Zhou LX, Boydston-White S, et al. Resonance Raman and Raman spectroscopy for breast cancer detection. *Technol Cancer Res Treat* 2013;12:371-82.
43. Shaafie IA, Khan AH, Rambabu K. Biochemical profiles of hydatid cyst fluids of *Echinococcus granulosus* of human and animal origin in Libya. *J Helminthol* 1999;73:255-8.
44. Merza ASW, Mero WMS. Study on Biochemical Parameters on Hydatid Cyst Layers (Laminated and Germinal) and Surrounding Host Tissues Isolated From Different Intermediate Host. *Science Journal of University of Zakho* 2013;1:22-30.
45. Rehman S, Movasaghi Z, Tucker AT, Joel SP, Darr JA, Ruban AV, et al. Raman spectroscopic analysis of breast cancer tissues: Identifying differences between normal, invasive ductal carcinoma and ductal carcinoma in situ of the breast tissue. *J Raman Spectrosc* 2007;38:1345-51.
46. Zheng X, Lü G, Du G, Yue X, Lü X, Tang J, et al. Raman spectroscopy for rapid and inexpensive diagnosis of echinococcosis using the adaptive iteratively reweighted penalized least squares-Kennard-stone-back propagation neural network. *Laser Phys Lett* 2018;15:085702.
47. Cheng J, Xu L, Lü G, Tang J, Mo J, Lü X, et al. Study on the echinococcosis blood serum detection based on Raman spectroscopy combined with neural network. *Optoelectron Lett* 2017;13:77-80.

Histopathological Survey on *Sarcocystis* Species Infection in Slaughtered Cattle of Zabol-Iran

Zabol-İran'da Kesilen Sığırlarda Sarcocystis Türlerinin Yol Açtığı Enfeksiyonlar Üzerine Histopatolojik İnceleme

✉ Ehsan Faghiri, ✉ Aida Davari, ✉ Reza Nabavi

University of Zabol Faculty of Medicine, Department of Pathobiology, Zabol, Iran

Cite this article as: Faghiri , Davari A, Nabavi R. Histopathological Survey on *Sarcocystis* Species Infection in Slaughtered Cattle of Zabol-Iran. Türkiye Parazit Derg 2019;43(4):182-6.

ABSTRACT

Objective: Sarcocystosis is an important zoonotic protozoal disease with worldwide distribution and wide range of hosts. The aim of the present study was to determine the intensity of *Sarcocystis* spp. infection and to show histopathological features of their cystic lesions in slaughtered cattle of Zabol- Iran.

Methods: From April to September 2018, 500 tissue samples from esophagus, heart, diaphragm, tongue and masticatory muscles were prepared from 100 slaughtered cattle. All samples were fixed in 10% neutral buffered formalin and routine tissue processing protocol was performed.

Results: The microscopic results showed that 92.2% of specimens had thin-walled cysts of *S. cruzi* and 14% had thick-walled *Sarcocystis* (*S. hirsuta* and *S. hominis*) but macrocyst was only observed in one cattle. The positivity rate of thin walled cysts was 58.8% for heart, 13.9% for masticatory muscles, 10.2% for tongue, 9.3% for esophagus and 7.8% for diaphragm. The positivity rate of thick walled cysts was 32.8% for esophagus, 28.6% for tongue, 22.9% for heart, 15.7% for masticatory muscles and 0% for diaphragm, which could represent either *S. hominis* or *S. hirsuta*. The most infected tissue was heart and the least infected tissue was diaphragm. Thin walled cysts (*S. cruzi*) were mostly found in heart and were less found in diaphragm. However, thick-walled cysts (*S. hirsuta* and *S. hominis*) were mostly detected in esophagus. No thick-walled cysts were found in diaphragm muscle .

Conclusion: A high positivity rate of sarcocystosis in slaughtered cattle in Zabol abattoir revealed heavily environmental contamination of Sistan region by this important parasitic disease.

Keywords: Cattle, sarcocystosis, thin-walled cyst, thick-walled cyst

ÖZ

Amaç: Sarkosistozis, dünya çapında yaygın bir dağılıma sahip ve çok çeşitli konakları olan önemli bir zoonotik protozoal hastalıktır. Bu çalışmanın amacı; Zabol-İran'da kesilen sığırlarda *Sarcocystis* spp. enfeksiyonunun yoğunluğunu belirlemek ve sarkosistis kistik lezyonlarının histopatolojik özellikleri göstermektir.

Yöntemler: Nisan-Eylül 2018 tarihleri arasında kesilen 100 sığırın özofagus, kalp, diyafram, dil ve çiğneme kaslarından 500 doku örneği hazırlanmıştır. Tüm numuneler %10 nötr tamponlu formalin ile sabitlenmiştir ve tüm numunelere rutin doku işleme protokolü uygulanmıştır.

Bulgular: Mikroskopik sonuçlar, örneklerin %92,2'sinde *S. cruzi*'nin ince duvarlı kistleri, %14'ünde kalın duvarlı *Sarcocystis* (*S. hirsuta* ve *S. hominis*) olduğunu, ancak makrokistin sadece bir sığırdaki görüldüğünü göstermiştir. İnce duvarlı kistlerin pozitiflik oranı kalp için %58,8, çiğneme kasları için %13,9, dil için %10,2, özofagus için %9,3 ve diyafram için %7,8 idi. *S. hominis* ve *S. hirsuta*'yı temsil edecek şekilde kalın duvarlı kistlerin pozitiflik oranı özofagus için %32,8, dil için %28,6, kalp için %22,9, çiğneme kasları için %15,7 ve diyafram için %0 idi. En çok enfekte olan doku kalp ve en az enfekte olan doku diyaframı. İnce duvarlı kistler (*S. cruzi*) çoğunlukla kalpte bulundu ve diyaframda en az bulundu. Ancak, özofagusta kalın duvarlı kistler (*S. hirsuta* ve *S. hominis*) tespit edildi. Diyafram kasında kalın duvarlı kist bulunmadı.

Sonuç: Zabol mezbahasında kesilen sığırlarda sarkosistosisin yüksek pozitiflik oranı, Sistan bölgesinin bu önemli paraziter hastalıkla ağır çevresel kontaminasyonunu ortaya çıkarmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Sığır, sarkosistosis, ince duvarlı kist, kalın duvarlı kist



Received/Geliş Tarihi: 02.07.2019 Accepted/Kabul Tarihi: 26.08.2019

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Aida Davari MD, University of Zabol Faculty of Medicine, Department of Pathobiology, Zabol, Iran
Phone/Tel: +98 5434822253 E-mail/E-Posta: davari.aida1@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-5598-4172

INTRODUCTION

Sarcocystosis is an important protozoan intracellular parasitic disease with global distribution in broad range of wild and domestic animal species as well as humans (1). *Sarcocystis* spp. have obligatory two-host life cycle and cause muscle cysts formation by merogony stage in herbivorous mammals (such as cattle, buffaloes, sheep and pigs) as intermediate hosts. Besides, sporogony and gamogony stages take place in carnivores and humans (by consumption of undercooked meat) as definitive hosts (2,3). In previous researches, three species of *Sarcocystis* have been reported in cattle: *S. cruzi*, *S. hirsuta*, and *S. hominis*, with canids, felids, and primates, as definitive hosts, respectively. Among these, *S. cruzi* with more than 90% prevalence in adult cattle cardiac muscle has the most occurrence reports in many countries in the world (4). *S. hirsuta* and *S. hominis* with less infection rates in comparison with *S. cruzi*, mostly have been found in esophagus and striated muscles (but less in cardiac muscle) (3,5); however, epidemiological reports have been scarce in the last few years. In Iran, there are only two reports about the occurrence of macroscopic type of sarcocystosis in cattle (*S. hirsuta*) (5,6).

Identification of *Sarcocystis* spp. is complicated. Although, molecular methods are insufficiently convenient for species identifications because of high genetic similarity; the ultrastructure observation of primary cyst wall technique is considered to be one possible reliable method for identifying *Sarcocystis* spp (6,7).

Based on the reports from different provinces of Iran, infection rate of sarcocystosis in adult bovine muscles is absolutely high (8-15), but there is no information about intensity of this parasitic disease in Sistan region. So, the present research aims to determine the intensity of infection and histopathological investigation of *Sarcocystis* spp. cystic lesions in slaughtered cattle of Zabol abattoir.

METHODS

Collection of Samples

From April to September 2018, 100 slaughtered cattle in Zabol industrial slaughterhouse were randomly examined for the presence of *Sarcocystis* macroscopically and microscopically. A total of 500 tissue samples with the size of 1x1x0.5 cm from esophagus, heart, diaphragm, tongue and masticatory muscles of these cattle were obtained.

This manuscript was conducted on slaughtered cattle and does not contain clinical or experimental studies and patient data.

Microscopic Examination

All specimens were fixed in 10% neutral buffered formalin for 24 hours, then embedded in paraffin, sectioned at 5 µm with microtome, stained with hematoxylin and eosin staining according to routine protocol and finally submitted to light microscopy for examination of *Sarcocystis* spp. cystic lesions. Considering to the histologically differences of the wall thickness of *S. cruzi* (thin-walled sarcocyst) and *S. hirsuta*, or *S. hominis* (thick-walled sarcocyst), the found cysts were counted under light microscope and their wall thickness was measured by micrometry method using ocular micrometer (micro-scale).

Statistical Analysis

For statistical evaluation, data analysis was performed using SPSS version 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), and chi-square test. Significance level was considered as $p < 0.05$.

RESULTS

Out of 100 cattle examined, only one cattle (1%) showed macroscopic type of *Sarcocystis* spp. In this case, numerous milky-white colored spindle-shaped macrosarcocysts of *S. hirsuta* were observed in the tunica muscularis of masticatory muscle (Figure 1). In microscopic evaluation, spherical shape cysts with a mean 14 µm in diameter impacted with bradyzoites were observed. The cysts wall thickness was more than 2 µm (Figure 2). Totally, 531 cysts were observed in 500 tissue samples and all 100 cattle (100%) were involved with *Sarcocystis* spp. at least in one of their organs, histologically. Thin-walled *Sarcocystis* corresponding with *S. cruzi* were found in 92.2% of specimens, while 14% had thick-walled cysts (*S. hirsuta* or *S. hominis*). The distribution of thin-walled and thick-walled microscopic cysts in different muscles of cattle is summarized in Table 1. The chi-square test showed significant differences between frequencies of *Sarcocystis* in different muscles ($p < 0.001$). The highest incidence of thin-walled cysts (*S. cruzi*) was in heart muscles, whereas thick-walled cysts (*S. hirsuta* and *S. hominis*) were mostly observed in the esophagus. In addition, thin-walled sarcocysts have a lower frequency (7.8%) in the diaphragm muscle compared to other muscles.

In histopathological examination, the different shapes of microcysts (spherical, oval or elongated) with thin or thick



Figure 1. Masticatory muscle of cattle showing multiple macrosarcocysts (*S. hirsuta*), in the tunica muscularis (arrows)

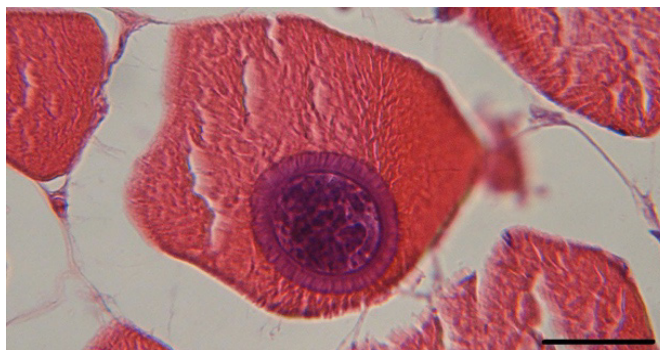


Figure 2. Microscopic section of masseter muscle of the cattle showing round shape thick-walled (more than 2µm) sarcocyst (*S. hirsuta* or *S. hominis*) (H&E, scale bar=35 µm)

distinct walls were observed in over mentioned muscles but no inflammatory reaction was found around the cysts or surround the infected muscle fibers (Figures 3-5).

DISCUSSION

Sarcocystosis is an important zoonotic disease with economic impact and worldwide distribution in various animal species and human being. Many considerable researches have been conducted about the importance and prevalence of this disease in different intermediate hosts and various countries (1,2,16-21). Although, there are many reports of sarcocystosis occurrence in domestic animals (especially cattle) in Iran (9,10,13-15), but most studies have not attempted to identify the species of the parasite in cattle. Moreover, considering the popularity of cattle meat consumption in Sistan region, up to now, there has not been any study about intensity of this disease in Zabol city.

In histopathological investigation, thin-walled sarcocysts (<1 µm) identify as *S. cruzi* and Thick-walled sarcocysts (2-7µm) identify as *S. hirsuta* or *S. hominis* using micrometry method (3,22). Based on the abovementioned method, the results of the present study revealed that all cattle and all tissue samples were infected with *Sarcocystis* spp. (92.2% of tissue samples with *S. cruzi* and 14% with *S. hirsuta* or *S. hominis*). These findings are in accordance to some investigations which have found in other countries: 100% in Brazil (23), 100% in Argentina (4), 100% in the United States (3), 97.4% in Belgium (24), 97.8% in Iraq (25) and 93.4% in

Turkey (Iran border countries) (26). Whereas, the infection rate in the present study is considerable higher than Egypt, 7.45 (20), Malaysia, 36.2% (2), Philippines, 55% (27) and Ethiopia 82% (28). Besides, in comparison to other areas of Iran, the frequency of sarcocystosis in cattle in the present study (100%) is consistent with Shiraz, 100% (9), Kerman, 100% (11), Hamadan, 100% (14), Bojnurd, 100% (13), Tabriz, 100% (5), Ahvaz, 100% (15) and higher than Isfahan, 89% (12), Shahrekord, 91% (10) and Karaj, 96/8% (29). Aforementioned researches which are conducted in various parts of Iran demonstrate that cattle contamination to *Sarcocystis* spp. is notable. The first detection of macroscopic type of sarcocystosis in cattle (*S. hirsuta*) in Iran was reported by Shekarforoush et al. (6). In this case report, several spindle-shaped macrocysts were observed in diaphragmatic muscle. In a related study, the incidence of macroscopic sarcocysts in cattle slaughtered in Tabriz was declared 8.2%, predominantly in esophagus muscle (5).

In the present study macro-sarcocysts in cattle (*S. hirsuta*) were observed in one case (1%) and in the masticatory muscle. In this study the shape and size of macrocysts were come in agree with over mentioned studies. In other studies, in Iran, no macroscopic cysts were found in cattle which were examined for *Sarcocystis* infection (11-14,17,29). The results of the microscopic examination in the current study revealed that the frequency of thin-walled sarcocysts (*S. cruzi*) and thick-walled sarcocysts (*S. hirsuta* or *S. hominis*) were 92.2% and 14%, respectively and all cattle were infected with sarcocystosis at least in one of their organs. The most infected tissue was cardiac muscle (58.8% for thin-walled cysts) and esophagus (32.8% for thick-

Table 1. Distribution of thin-walled and thick-walled microscopic sarcocysts in different muscles of cattle slaughtered in Zabol abattoir

Type of muscle	Thick-walled sarcocyst	Thin-walled sarcocyst	Total number
	Number (%)	Number (%)	(%)
Heart	16 (22.9%)	271 (58.8%)	287 (54%)
Tongue	20 (28.6%)	47 (10.2%)	67 (12.6%)
Esophagus	23 (32.8%)	43 (9.3%)	66 (12.4%)
Diaphragm	0 (0%)	36 (7.8%)	36 (6.8%)
Masseter	11 (15.7%)	64 (13.9%)	75 (14.1%)
Total number (%)	70 (100%)	461 (100%)	531 (100%)

The percentages have been prepared columnar

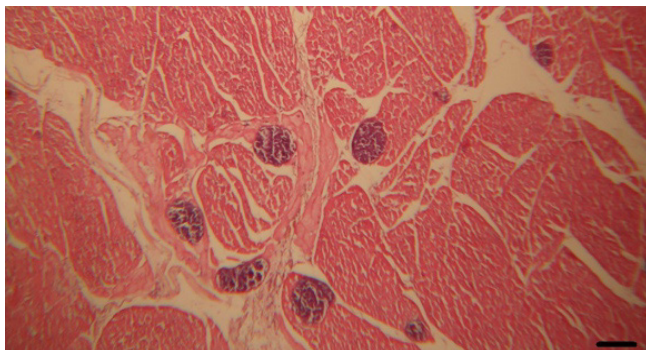


Figure 3. Cardiac muscle of a cattle showing multiple large round and oval shape thin-walled (less than 1 µm) sarcocysts (*S. cruzi*) around the Purkinje cells without any tissue reactions (H&E, scale bar=130 µm)

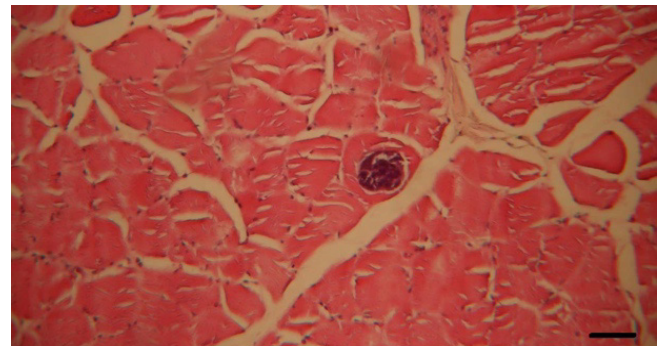


Figure 4. Spherical shape thin-walled (less than 1 µm) sarcocyst (*S. cruzi*) in the esophagus of cattle. The cyst initiated no inflammatory reaction (H&E, scale bar=70 µm)

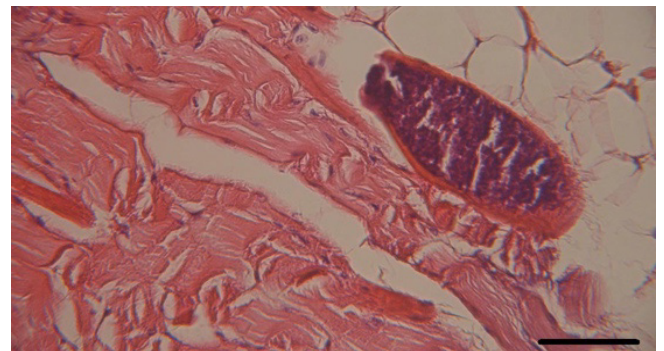


Figure 5. Elongated thin-walled (1 µm) sarcocyst (*S. cruzi*) in the tongue muscle of cattle. The cyst initiated no inflammatory reaction (H&E, scale bar=90 µm)

walled cysts) and the less was diaphragm (for both of thin and thick-walled cysts, 7.8% and 0% respectively). According to these findings, previous researches have demonstrated that *S. cruzi* is predominantly occurred in cardiac muscle (23,29,30). The frequency of thick-walled sarcocysts in the present study (14%) is lower than two other studies (12,29), 21% and 34/4%, respectively. Additionally, opposite to the results of Nourollahi Fard et al. (29) which reported that thick-walled sarcocyst mostly were detected in diaphragm, in our study diaphragm showed no thick-walled cyst. It seems useful to do accurate recognition of *S. hirsuta* and *S. hominis* thick-walled cyst but it was not possible for us considering some problems in ultrastructure observation of primary cysts wall via electron microscopy which is too expensive and difficult to access (30).

In present histopathological investigation, opposite to some studies which reported the existence of inflammatory reactions around some sarcocysts continuing to degeneration (18,21,29), no inflammatory reaction was found.

CONCLUSION

The results of present study demonstrate high frequency of *S. cruzi* in comparison with low frequency of *S. hirsuta* and *S. hominis*. Considering to this fact that the *Sarcocystis* parasite can cause economic losses in livestock animals and could be a threat to the human community health, future investigation about parasite phylogeny and prevention procedures seems to be useful.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the University of Zabol for financial support as well as the Mohammad Abad industrial slaughterhouse for their excellent cooperation.

* Ethics

Ethics Committee Approval: This manuscript was conducted on slaughtered cattle and does not contain clinical or experimental studies and patient data.

Informed Consent: This manuscript was conducted on slaughtered cattle and does not contain clinical or experimental studies and patient data.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Concept: E.F., A.D., R.N., Design: E.F., A.D., R.N., Data Collection or Processing: E.F., A.D., R.N., Analysis or Interpretation: E.F., A.D., R.N., Literature Search: E.F., A.D., R.N., Writing: E.F., A.D., R.N.

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

Financial Disclosure: University of Zabol (Grant number: UOZ_GR_9517_87)

REFERENCES

- Hosseini SR, Shakerian A, Tahamtan N. Survey of *Sarcocystis* infection in slaughtered sheep in Isfahan, Qom and Shahre-Kord, Iran. *J Anim Vet Adv* 2012;11:2683-6.
- Latif B, Vellayan S, Heo CC, Al-Bayati SM, Al-Amiry AM. High prevalence of muscular sarcocystosis in cattle and water buffaloes from Selangor, Malaysia. *Trop Biomed* 2013;30:699-705.
- Fayer R, Esposito DH, Dubey JP. Human infections with *Sarcocystis* species. *Clin Microbiol Rev* 2015;28:295-311.
- More G, Basso W, Bacigalupe D, Venturini MC, Venturini L. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *J Parasitol Res* 2008;102:671-5.
- Mirzaei M, Rezaei H. A survey on *Sarcocystis* spp. infection in cattle of Tabriz city, Iran. *J Parasit Dis* 2016;40:648-51.
- Shekarforoush SS, Razavi SM, Abbasvali M. First detection of *Sarcocystis hirsuta* from cattle in Iran. *IJVR* 2013;14:155-7.
- Dubey JP, Speer CA, Fayer R. *Sarcocystosis of Animals and Man*. 2nd ed. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press; 1989.
- Hamidinejat H, Raz Jalali MH, Nabavi L. Survey on *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle in south-west of Iran, emphasized on evaluation of muscle squash in comparison with digestion method. *J Anim Vet Adv* 2010;9:1724-6.
- Shekarforoush SS, Razavi SM, Ahmadi H, Sarihi K. Study on prevalence of *Sarcocystis* in slaughtered cattle in Shiraz. *JVR* 2004;59:33-7.
- Bonyadian M, Meshki B. Study on infestation of cow carcasses to *Sarcocystis* spp in slaughtered cows in Shahrekord by impression method. *Pajouhesh-va-Sazandegi* 2001;19:14-8.
- Nourollahi Fard SR, Asghari M, Nouri F. Survey of *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle in Kerman, Iran. *Trop Anim Health Prod* 2009;41:1633-6.
- Nourani H, Matin S, Nouri A, Azizi H. Prevalence of thin-walled *Sarcocystis cruzi* and thick-walled *Sarcocystis hirsuta* or *Sarcocystis hominis* from cattle in Iran. *Trop Anim Health Prod* 2010;42:1225-7.
- Salehi M, Adinezhade A, Mosazade A, Besharati R, Bahari P. The prevalence of *Sarcocystis* infection in sheep and cattle in Bojnurd, North Khorasan Province, Iran. *J Zoonoses* 2014;1:60-3.
- Parandin F, Feizi F, Maghsood AH, Matini M, Roshan A, Fallah MA. Survey on *Sarcocystis* infection rate in slaughtered cattle and sheep by macroscopic inspection and pepsin digestion methods in Hamadan abattoir, Iran, 2014. *Sci J Hamdan Univ Med Sci* 2015;22:210-6.
- Rahdar M, Kardooni T. Molecular identification of *Sarcocystis* spp. in sheep and cattle by PCR-RFLP from southwest of Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2017;10:e12798.
- Daryani A, Alaei R, Dehghan MH, Arab R, Sharif M, Ziaei H. Survey of *Sarcocystis* infection in slaughtered sheep and buffaloes in Ardabil, Iran. *J Anim Vet Adv* 2006;5:60-2.
- Shekarforoush SS, Razavi SM, Dehghan SA, Sarihi K. Prevalence of *Sarcocystis* species in slaughtered goats in Shiraz, Iran. *Vet Rec* 2005;156:418-20.
- Valinezhad A, Oryan A, Ahmadi N. *Sarcocystis* and its complications in camels (*Camelus dromedarius*) of eastern provinces of Iran. *Korean J Parasitol* 2008;46:229-34.
- Farhang-Pajuh F, Yakhchali M, Mardani K. Molecular determination of abundance of infection with *Sarcocystis* species in slaughtered sheep of Urmia, Iran. *Vet Res Forum* 2014;5:181-6.
- Ahmed AM, Elshraway NT, Youssef AI. Survey on *Sarcocystis* in bovine carcasses slaughtered at the municipal abattoir of El-Kharga, Egypt. *Vet World* 2016;9:1461-5.
- Zangana IK, Hussein SN. Prevalence of *Sarcocystis* species (*Sarcocystis ovis* and *Sarcocystis capricanis*) in tongue muscle of sheep and goats in Duhok province, Kurdistan region, north Iraq. *Sci J Koya Univ* 2017;5:36-40.
- Wouda W, Snoep JJ, Dubey JP. Eosinophilic myositis due to *Sarcocystis hominis* in a beef cow. *J Comp Pathol* 2006;135:249-53.
- Silva NRS, Rodrigues RJD, Araujo FAP, Beck C, Olicheski AT. Detection of bovine *Sarcocystis cruzi* cysts in cardiac muscles: a new technique of concentration for diagnostic. *Acta Sci Vet* 2002;30:127-9.
- Vangeel L, Houf K, Chiers K, Vercruysse J, Dherde K, Ducatelle R. Molecular based identification of *Sarcocystis hominis* in Belgian minced beef. *J Food Prot* 2007;70:1523-6.

25. Latif BM, Al-Delemi JK, Mohammed BS, Al-Bayati SM, Al-Amiry AM. Prevalence of *Sarcocystis* spp. in meat producing animals in Iraq. Vet Parasitol 1999;84:85-90.
26. Kamber U, Arslan MO, Gulbaz G, Tasci GT, Akca A. Identification of *Sarcocystis* spp. by polymerase chain reaction and microscopic examination in various beef products (minced meat, meatballs, fermented sausage). Turk J Vet Anim Sci 2018;42:1-6.
27. Claveria FG, Petersen B, Macabagdal MR, Farolan RJ, Farrol MA, Gonzalvo F, et al. A survey of bovine, bubaline and swine sarcocystosis in the Philippines. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1997;28:173-8.
28. Woldemeskel M, Gebreab F. Prevalence of sarcocysts in livestock of northwest Ethiopia. Zentralbl Veterinarmed B 1996;43:55-8.
29. Nourollahi Fard SR, Kheirandish R, Sattari S. Prevalence and histopathological finding of thin-walled and thick-walled Sarcocysts in slaughtered cattle of Karaj abattoir, Iran. J Parasit Dis 2015;39:272-5.
30. Ghisleni G, Robba S, Germani O, Scanziani E. Identification and prevalence of *Sarcocystis* spp. cysts in bovine canned meat. Food Control 2006;17:691-4.

Endoparasites Determined by Fecal Examination in Sheep in Erzurum Province

Erzurum İlinde Yetiştirilen Koyunlarda Dışkı Bakısı ile Tespit Edilen Parazitler

● Muzaffer Akyüz, ● Rıdvan Kirman, ● Sali Yaya, ● Hatice Gülbeyen, ● Esin Güven

Atatürk University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Erzurum, Turkey

Cite this article as: Akyüz M, Kirman R, Yaya S, Gülbeyen H, Güven E. Endoparasites Determined by Fecal Examination in Sheep in Erzurum Province. Türkiye Parazitol Derg 2019;43(4):187-93.

ABSTRACT

Objective: The aim of the current study was to determine the presence and prevalence of *Eimeria* and helminth species in sheep raised in Erzurum province by using fecal examination.

Methods: Faecal samples were collected from a total of 784 sheep raised in Aziziye, Yakutiye and Palandöken districts between February-March 2019. The samples were examined by Fulleborn's flotation, Benedect sedimentation, and Baermann-Wetzel methods.

Results: *Eimeria* spp. and helminths were found in 49.36% (387/784) and 74.11% (581/784) of the samples, respectively. Identified *Eimeria* species were as follows: *E. parva* (59.68%), *E. ovina* (51.67%), *E. faurei* (47.80%), *E. ahsata* (39.27%), *E. granulosa* (36.62%), *E. punctata* (28.42%), *E. pallida* (26.09%), *E. ovinoidalis* (18.34%), *E. crandallis* (16.79%), *E. intricata* (15.76%), *E. weybridgetensis* (11.36%) and *E. marsica* (6.20%). Helminth species identified at genus/species level were *Dicrocoelium* spp. (33.91%), *Fasciola* spp. (5.68%), *Paramphistomum* spp. (2.58%), *Moniezia* spp. (5.85%), *Trichostrongylid* type egg (49.05%), *Marshallagia* spp. (38.73%), *Nematodirus* spp. (20.98%), *Trichuris* spp. (14.46%), *Protostrongylus* spp. (18.42%), *Dictyocaulus filaria* (2.41%) and *Muellerius capillaris* (1.38%).

Conclusion: Parasitic diseases cause important economic losses in livestock industry. In following years, it is aimed to plan prevention and control strategies for the parasites detected in this area in line with the data of this study and to share this data with the animal breeders.

Keywords: Erzurum, sheep, flotation, sedimentation, Baermann-Wetzel

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, Erzurum ilinde yetiştirilen koyunlarda *Eimeria* ve helmint türlerinin varlığını ve yaygınlığını dışkı bakısı ile ortaya koymaktır.

Yöntemler: Dışkı örnekleri, Şubat-Mart 2019 tarihlerinde Aziziye, Yakutiye ve Palandöken ilçelerinde yetiştirilen farklı yaş ve cinsiyetteki 784 koyundan toplandı. Toplanan dışkı örnekleri Fulleborn flotasyon, Benedek sedimentasyon ve Baermann-Wetzel metotları ile incelendi.

Bulgular: İncelenen örneklerde, *Eimeria* oocystleri %49,36 (387/784), helmint etkenleri ise %74,11 (581/784) oranlarında saptandı. *Eimeria* spp. pozitif örneklerde; *E. parva* (%59,68), *E. ovina* (%51,67), *E. faurei* (%47,80), *E. ahsata* (%39,27), *E. granulosa* (%36,62), *E. punctata* (%28,42), *E. pallida* (%26,09), *E. ovinoidalis* (%18,34), *E. crandallis* (%16,79), *E. intricata* (%15,76), *E. weybridgetensis* (%11,36) ve *E. marsica* (%6,20) türleri belirlendi. Cins/tür bazında tanımlanan helmint etkenleri şunlardır: *Dicrocoelium* spp. (%33,91), *Fasciola* spp. (%5,68), *Paramphistomum* spp. (%2,58), *Moniezia* spp. (%5,85), *Trichostrongylid* tip yumurta (%49,05), *Marshallagia* spp. (%38,73), *Nematodirus* spp. (%20,98), *Trichuris* spp. (%14,46), *Protostrongylus* spp. (%18,42), *Dictyocaulus filaria* (%2,41) ve *Muellerius capillaris* (%1,38).

Sonuç: Parazitler enfeksiyonlar, hayvan yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. İlerleyen dönemlerde, bu çalışmanın verileri doğrultusunda bu bölge hayvanlarında saptanan parazitlere yönelik koruma ve kontrol çalışmalarının planlanması ve hayvan yetiştiricileri ile bu bilgilerin paylaşılması düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Erzurum, koyun, flotasyon, sedimentasyon, Baermann-Wetzel



Received/Geliş Tarihi: 16.07.2019 Accepted/Kabul Tarihi: 13.09.2019

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Muzaffer Akyüz MD, Atatürk University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Erzurum, Turkey

Phone/Tel: +90 531 515 20 28 E-mail/E-Posta: muzaffer.akyuz@atauni.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-6095-7870

INTRODUCTION

Sheep raising is economically important in the world, as well as in the Erzurum region and Turkey. It is one of the primary sources of animal protein needed for human nutrition. Due to the subtropical climatic conditions of Turkey, inappropriate sheep husbandry systems and parasitic drug resistance, sheep are at high risk to parasitic infections (1,2). Gastrointestinal (GI) parasites are the serious causative species of both clinical and subclinical diseases in sheep which lead to growth retardation, weight loss, mortality, decrease in milk and wool productivity, thus causing tremendous economic losses (2). Therefore, it is very important to investigate the presence and prevalence of disease species, application of appropriate preventive measures and treatment with effective anti-parasitic drugs will aid in the improvement of animal health and economic gain. Based on necropsy and coprological examinations conducted in sheep in different continents and regions of the world, reports showed that the prevalence rate of *Eimeria* and helminth infections ranges between 4.2-92.9% (3-7) and 0.2-100% (4,8-10), respectively. The results of the studies carried out on sheep faecal samples in Turkey, the following 37.3-100% *Eimeria* spp. (11-16) and 0.39-100% helminth (16-18) prevalence were reported. In past years, some studies of sheep parasites presented in Erzurum region (19-21) but contemporarily no comprehensive study has been conducted on endoparasitic fauna of sheep, in Erzurum province. The purpose of this study was to investigate the presence and prevalence of parasitic species at sheep faecal samples by quantitative and qualitative coprological techniques in Erzurum region.

METHODS

Ethics Committee Approval

Ethical approval of the study was obtained from the Ethics Committee of Atatürk University of Veterinary Faculty (approval number: 2019/01).

Study Area

The study was conducted in Erzurum province of Turkey between February-March 2019. The province is the fourth largest city in Turkey with a surface area of 25.066 km² and located in the northeastern part. It is situated at an elevation of 1853 m above sea level with an average annual temperature of 5.8 °C (42.4 °F) and characterized by continental climatic conditions. Erzurum has large expanses of meadows and pastures with a rate of approximately 64.7%. The greenish nature of the meadows and pastures is maintained through all year by sufficient rainfall with average annual precipitation of 425 mm.

Sample Size

According to the Turkey Statistical Institute (TUIK), Erzurum has the 1.85% of Turkey's sheep population. The total sheep number in the country is approximately 35.194.972 and 649.716 of them are raised in Erzurum (22). The distribution of sheep breeds in Erzurum is 83%, 13%, 2% and 2% for Morkaraman, Akkaraman, Hemşin, and others, respectively. To determine the sample size, the data of TUIK was considered and 784 (95% confidence level, 3.5% confidence interval) sheep found to be enough to represent Erzurum's sheep population. The sample size in terms of the districts was calculated by stratified sampling method.

Sample Collection

Samples were collected from private sheep farms located in Aziziye, Yakutiye and Palandöken districts between February-March 2019. These districts have similar climatic and geographical conditions. In this study, a total of 784 (females (n): 667, males (n): 117, <1 age group (n): 186, >1 age group (n): 598, race: Morkaraman) clinically healthy sheep faecal samples were collected. The sheep found at meadow or pasture at least once, no administration of antiparasitic drug during the last 3 months and to be raised in Erzurum region were the properties of the sheep that sampled. The faecal samples were collected directly from the rectum of each animal and placed in screw-capped labeled plastic containers. The age, sex, breed, and raising address of the animals were recorded.

Laboratory Techniques

Collected faecal samples were immediately transported to the Parasitology Laboratory of Veterinary Faculty, Atatürk University. At first, faecal samples were macroscopically investigated in term of consistency, presence of blood, mucus and cestode proglottids. Later on, each of the fecal samples were processed by Fuelleborn's flotation, Benedect sedimentation, Baermann-Wetzel methods and then examined microscopically for the presence of *Eimeria* spp. oocysts, trematode and cestode eggs, nematode eggs and larvae. Evaluation and identification of the parasitic species at the genus and/or species level were performed by using light microscope (Nikon Eclipse Ci, Japan) and digital camera system (Nikon DS-Fi2, Japan). Quantitative analysis was conducted on all *Eimeria* positive faecal samples to determine oocysts per gram (OPG) by McMaster's technique (23). The severity of the *Eimeria* infection was evaluated as mild (<1.800 OPG), moderate (1.800-6.000 OPG) and severe (>6000 OPG) (24). Then, 2% K₂Cr₂O₇ was added to *Eimeria* positive samples and exposed to sporulation under laboratory conditions by stirring regularly. Identification of sporulated *Eimeria* oocysts was performed based on morphological features (25). Helminth eggs were defined based on morphological criteria of the eggs at genus/species level, and then eggs per gram (EPG) was calculated in positive samples. Infection degree was evaluated based on EPG as mild (<500), moderate (500-1000) and severe (>1000). Nematode larvae were defined at genus and/or species level according to the morphological criteria (26).

Statistical Analysis

Positive samples were identified and enumerated. The count data were subjected statistically by SPSS 20 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), chi-square (x²) test to attain associations of sex, age, OPG and EPG at p<0.05.

RESULTS

The macroscopic examination of the samples revealed that the feces were in normal consistency and not containing blood, mucus, or cestode proglottids. Out of 784 faecal samples, 683 (87.12%) were found to be positive with at least one parasite. Respectively, 49.36% (387/784) and 74.11% (581/784) sheep were infected with *Eimeria* spp. and helminth species. Whereas 102 (13.01%) sheep infected with only *Eimeria* species, 285 (36.35%) had mix infection with *Eimeria* species and helminths. Identified *Eimeria* species were as follows: *E. parva*, *E. ovina*, *E. faurei*, *E. ahsata*, *E. granulosa*, *E. punctata*, *E. pallida*, *E. ovinoidalis*,

E. crandallis, *E. intricata*, *E. weybridgeensis* and *E. marsica* (Figure 1). Among the *Eimeria* species, *E. parva* has the highest prevalence of 59.68% (231/387) (Figure 2). In positive samples, 3 to 8 *Eimeria* species were determined. The infection with 8 *Eimeria* species were including *E. parva*, *E. ovina*, *E. faurei*, *E. granulosa*, *E. pallida*, *E. ovinoidalis*, *E. crandallis* and *E. marsica*.

The prevalence of infection was significantly ($p < 0.05$) higher in <1 age group than >1 age group. With regards to sex, the prevalence of infection was higher in females than in males and the difference was insignificant ($p > 0.05$) (Table 1).

OPG was calculated as 1.550 (100-12.850) on average. The intensity of infection in age groups (<1 age group: moderate and severe; >1 age group: mild) showed statistically significant differences ($p < 0.05$). The moderate and severe OPG range in females was at high rate while mild OPG range was high in males ($p > 0.05$) (Table 2).

The prevalence rates of helminth infections were as follows; 28.95% (227/784) trematode, 4.34% (34/784) cestode, 60.1% (471/784) GI nematode, and 15.94% (125/784) lungworm. At least one helminth agent was determined in 74.11% (581/784) of

the samples. Identified helminth species at genus or species level were as follows: *Dicrocoelium* spp. (25.13%, 197/784), *Fasciola* spp. (4.21%, 33/784), *Paramphistomum* spp. (1.91%, 15/784), *Moniezia* spp. (4.34%, 34/784), trichostrongylid type egg (36.35%, 285/784), *Nematodirus* spp. (15.56%, 122/784), *Marshallagia* spp. (28.7%, 225/784), *Trichuris* spp. (10.71%, 84/784), *Dictyocaulus filaria* (*D. filaria*) (1.79%, 14/784), *Protostrongylus* spp. (13.65%, 107/784) and *Muellerius capillaris* (*M. capillaris*) (1.02%, 8/784). Trichostrongylid type eggs had the highest [49.05% (285/581)] and *M. capillaris* had the lowest [1.38% (8/581)] rate in helminth positive samples (Figure 3, 4, 5).

Table 1. Distribution of *Eimeria* infection in age and sex group

		n/N	%	p
Sex	♀	332/667	49.78	>0.05
	♂	55/117	47.01	
Age	<1	132/186	70.97	<0.05
	>1	255/598	42.64	

n: Number of *Eimeria* positive animals, N: Total number of animals

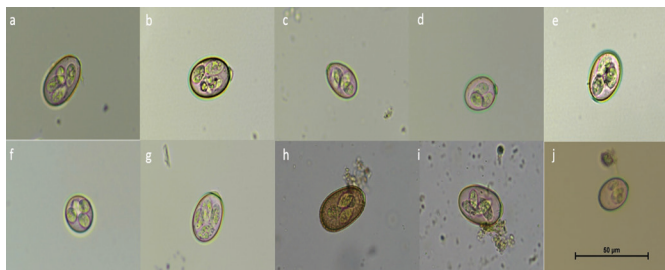


Figure 1. a: *E. faurei*, b: *E. granulosa*, c: *E. marsica*, d: *E. ovina*, e: *E. ovinoidalis*, f: *E. parva*, g: *E. weybridgeensis*, h: *E. intricata*, i: *E. ahsata*, j: *E. crandallis*, Magnification: 400x; Scale bar: 50 µm

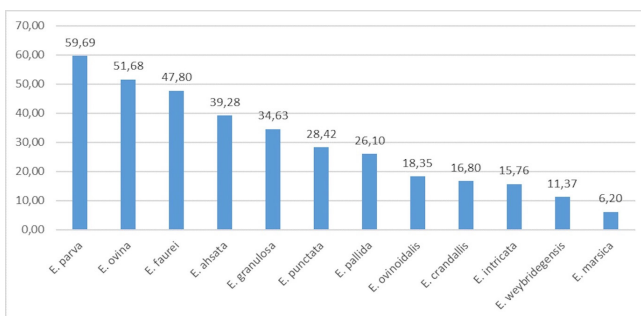


Figure 2. Number of positive animals (n)=387

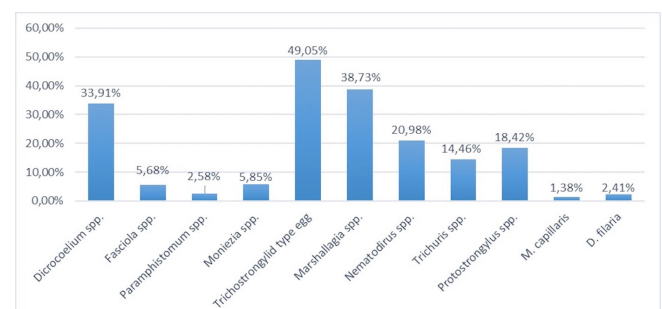


Figure 3. Number of positive animals (n)=581

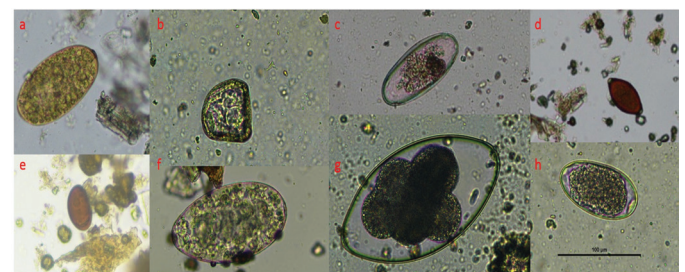


Figure 4. a: *Fasciola* spp., b: *Moniezia* spp., c: *Marshallagia* spp., d: *Trichuris* spp., e: *Dicrocoelium* spp., f: *Paramphistomum* spp., g: *Nematodirus* spp., h: Trichostrongylid type egg, Magnification: 200x, scale bar: 100 µm

Table 2. Age and sex-wise OPG range in infective sheep

		Age		p	Sex		p
OPG		<1 N=132 n (%)	>1 N=255 n (%)		♀ N=332 n (%)	♂ N=55 n (%)	
OPG	Mild	20 (15.15)	205 (80.39)	<0.05	204 (61.45)	36 (65.45)	>0.05
	Moderate	80 (60.60)	45 (17.65)		97 (29.22)	15 (27.27)	
	Severe	32 (24.24)	5 (1.96)		31 (9.34)	4 (7.27)	

N: Number of *Eimeria* positive animals, n: Number of infected animals with related OPG range, OPG: Oocysts per gram

The helminth infection rate was determined higher in the >1 age group than <1 age group, and the dependency of positivity to the age was found insignificant ($p>0.05$). The positivity rate was found higher in females than males ($p>0.05$) (Table 3).

The presence of *Dicrocoelium* spp. and *Marshallagia* spp. was higher in females than males ($p<0.05$) (Table 4).

Single and mix parasite infection rates are shown in Table 5.

EPG was counted as 550 (100-3750) on average. The intensity of infections in age groups (<1 age group: moderate and severe; >1 age group: mild) showed statistically significant differences ($p<0.05$). The severe OPG range was higher in females, while mild and moderate OPG ranges higher in males ($p>0.05$) (Table 6).

Table 3. Prevalence of helminth species in the age and sex groups

		n/N	%	p
Sex	♀	500/667	74.96	>0.05
	♂	81/117	69.23	
Age	<1	133/186	71.51	>0.05
	>1	448/598	74.92	

n: Number of helminth positive animals, N: Total number of animals

Table 4. Prevalence of helminth species in the age and sex groups

	Sex		Age	
	♀ N=667 n (%)	♂ N=117 n (%)	<1 N=186 n (%)	>1 N=598 n (%)
<i>Dicrocoelium</i> spp.	181a (27.13)	16b (13.67)	44 (23.65)	153 (25.58)
<i>Fasciola</i> spp.	27 (4.04)	6 (5.12)	11 (5.91)	22 (3.67)
<i>Paramphistomum</i> spp.	12 (1.79)	3 (2.56)	5 (2.68)	10 (1.67)
<i>Moniezia</i> spp.	27 (4.04)	7 (5.98)	10 (5.37)	24 (4.01)
Trichostrongylid type egg	239 (35.83)	46 (38.32)	55 (29.57)	230 (38.46)
<i>Nematodirus</i> spp.	105 (15.74)	17 (14.52)	32 (17.20)	90 (15.05)
<i>Marshallagia</i> spp.	210a (31.48)	15b (12.82)	50 (26.88)	175 (29.26)
<i>Trichuris</i> spp.	69 (10.34)	15 (12.82)	20 (10.75)	64 (10.70)
<i>Dictyocaulus filaria</i>	13 (1.94)	1 (0.85)	4 (2.15)	10 (1.67)
<i>Protostrongylus</i> spp.	85 (12.74)	22 (18.80)	24 (12.90)	83 (13.87)
<i>Muellerius capillaris</i>	7 (1.04)	1 (0.85)	3 (1.61)	5 (0.83)

N: Number of sampled animals, n: Number of animals infected with the related species. Number of different lowercase letters (n) in the same line represents significant difference ($p<0.05$)

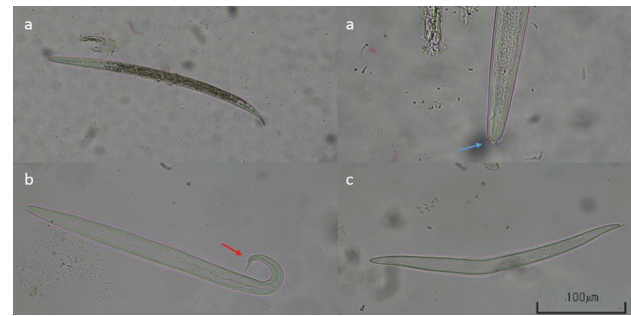


Figure 5. a: *D. filaria* (blue arrow: protruding knob of the head), b: *M. capillaris* (red arrow: the thorny structure on the tail), c: *Protostrongylus* spp. Magnification: 100-200x, scale bar: 100 µm

Table 5. Single and mix infection rates of GI parasites according to the presence of oocytes and eggs in sheep

		n/N	%
Single	Trichostrongylid type egg	58	8.49
	<i>Marshallagia</i> spp.	63	9.22
	<i>Nematodirus</i> spp.	14	2.05
	<i>Trichuris</i> spp.	11	1.61
Double	<i>Eimeria</i> spp. + Trichostrongylid type egg	72	10.54
	<i>Eimeria</i> spp. + <i>Marshallagia</i> spp.	31	4.54
	<i>Eimeria</i> spp. + <i>Nematodirus</i> spp.	7	1.02
	<i>Eimeria</i> spp. + <i>Moniezia</i> spp.	10	1.46
	<i>Eimeria</i> spp. + <i>Trichuris</i> spp.	20	2.99
	Trichostrongylid type egg + <i>Marshallagia</i> spp.	36	5.27
	Trichostrongylid type egg + <i>Nematodirus</i> spp.	5	0.73
	Trichostrongylid type egg + <i>Moniezia</i> spp.	2	0.29
	Trichostrongylid type egg + <i>Trichuris</i> spp.	9	1.32
	<i>Marshallagia</i> spp. + <i>Nematodirus</i> spp.	10	1.46
	<i>Marshallagia</i> spp. + <i>Moniezia</i> spp.	1	0.15
	<i>Marshallagia</i> spp. + <i>Trichuris</i> spp.	3	0.44
	<i>Moniezia</i> spp. + <i>Trichuris</i> spp.	1	0.15
	<i>Nematodirus</i> spp. + <i>Moniezia</i> spp.	1	0.15
	<i>Nematodirus</i> spp. + <i>Trichuris</i> spp.	1	0.15
Triple	<i>Eimeria</i> spp. + 2 GI helminth	69	10.10
	GI helminth	22	3.22
>Triple	<i>Eimeria</i> spp. + 3 GI helminth	24	3.51
	<i>Eimeria</i> spp. + 4 GI helminth	7	1.02
	GI helminth	4	0.59

N: Number of animals infected with at least one parasite, 683, n: Number of animals infected with related species, GI= Gastrointestinal

Table 6. Age and sex-wise EPG range in infective sheep

		Age			Sex		
		<1 N=98 n (%)	>1 N=373 n (%)	p	♀ N=407 n (%)	♂ N=64 n (%)	p
EPG	Mild	16 (16.33)	251 (67.29)	<0.05	27 (55.77)	40 (62.50)	>0.05
	Moderate	67 (68.37)	114 (30.56)		160 (31.31)	21 (32.81)	
	Severe	15 (15.31)	8 (2.14)		20 (4.91)	3 (4.69)	

N: Number of GIN infected animals, n: Number of infected animals with related EPG range, EPG: Eggs per gram

DISCUSSION

The presence and prevalence of *Eimeria* and helminth species in sheep were revealed by qualitative and quantitative coprological techniques and it was observed that 87.12% of the sampled sheep was infected with at least one parasitic agent.

The prevalence of *Eimeria* infection, a common problem in all sheep breeding countries worldwide, is reported between 11.4-92.9% (3-7) in the world and 37.3-100% (11-16) in Turkey. In the previous studies conducted in sheep in different provinces of Turkey, the prevalence of *Eimeria* species was between 56% and 100% (12,13,15,16). The prevalence was 49.36% in this study which is lower than the mentioned studies. In contrast, Sayın et al. (11), reported a lower prevalence (37.26%) in their study including sheep samples from different cities in the Aegean region. *Eimeria* species have high morbidity as a result of high flock population, poor sanitation, irregular litter removal, immunosuppression connected with stress factors and concurrent infections (2,6).

The differences in the prevalence of *Eimeria* infections in regions or provinces are related to the variation in climate, husbandry and nutrition, sheepfold conditions, anticoccidial drug usage, breed, age, health and immunity status of the sheep and diagnostic methods used for the analysis.

Currently, fifteen *Eimeria* species are known to infect sheep (25). In Turkey, twelve *Eimeria* species have been identified so far (13,15) and all those species were observed in the present study. Immunity is one of the most important factors affecting the presence and prevalence of *Eimeria* infections. The host's immunity can change depending on the age and sex of the animal. In the earlier studies, findings of more prevalent *Eimeria* infections in females than males caused by some stress-factors such as pregnancy, lambing, and lactation were reported (6,27). In the present study, compatible results with those studies were obtained. Specific immunity develops against recurrent *Eimeria* infections with the advance in age of the animals. The *Eimeria* spp. infections were found higher in <1 age group than >1 age group at the present study, and this result is similar with the previous studies (6,28). The OPG ranges, moderate and severe in <1 age group while mild in >1 age group were determined. Similar result was reported by other researchers (5,27,28). In the earlier ages of the sheep when the immune system is not developed accurately, the oocyst output rates are at high levels for *Eimeria* infections. The oocyst output rates decrease with the advancing ages and re-infections. Moderate and severe OPG in females, and mild OPG in males were determined in this study. Similar result was reported by Khan et al. (27) and Yakhchali and Golami (29). High levels of OPG in females is clarified by high number of oocyst production

as a result of immune depression due to physiological stress factors such as pregnancy, lambing, and lactation (6).

The prevalence of helminths in sheep was reported between 0.2-100% around the world in the studies based on necropsy and stool examination (4,8-10). The prevalence of trematodes, cestodes, GINs, and lung nematodes were reported between 3.1-72.6% (30,31), 7.56-21% (16,32), 0.39-100% (16-18) and 7.8-34% (16,33), respectively, in Turkey. In this study, the prevalence of trematodes, cestodes, GINs, and lung nematodes were determined as 28.95%, 4.34%, 60.10%, and 15.94%, respectively. The present results were lower than the results of earlier studies of India (34,35) 77.75-90.11%; Turkey (16,17) 75-100% and Spain (8) 100%. Distinctly, lower rates than this study were stated in India (68.55%), Ethiopia (63.33%) and Germany (62.8%) (9,24,36). The differences in the prevalence of helminth infections depend on many factors including the parasite (biological features), host (genetic resistance, age, physiological status) and environmental factors (climate, elevation, husbandry system). The pasture composition, animal diversity and the rate of herds and flocks in the same pasture are very important in the transmission of helminths due to the contamination of the pasture (9,37,38). In addition, antiparasitic drug usage, sample size, and co-infections have effect on the prevalence of the parasitic infections (9,34).

Trichostrongylid type eggs were found at the highest rate (49.5%) among the helminth positive samples which can be explained by the direct life cycle of these species. These results are supported by the studies of some researchers (9,10,16,37). The helminth infections were more prevalent in females (74.96%) than males (69.23%) in this study. Similar results were reported by Khajuria et al. (36) and Belina et al. (9). In contrast, Idris et al. (24), and Yasmin et al. (39), stated that helminth infections were more prevalent in males (24,39). Similar to the *Eimeria* infection, physiological stress factors which cause immunodepression are responsible for the high prevalence of helminth infections in females (35). Age is another factor that affects the prevalence of GI parasites. In general, adults are more resistant to the parasitic infections than younger animals due to age-related changes in the host immunity. In this study, higher infection rate was observed in adults which was in line with the results of Belina et al., (2017) and Singh (2017) (9,34). On the contrary, Idris et al., (2012) and Khajuria et al., (2013) presented higher infection rate in young animals (24,36). The reasons of higher infection rate in adults can be explained by the spread on large areas during grazing, overfeeding on contaminated pastures and more exposure to stress factors. The EPG ranges were determined as severe in the

<1 age group and females, mild and moderate infection in the >1 age group and males. The variety among the age groups can be commented with the immunity resulting from recurrent infection in the meantime the variety in the sex groups can be explained by the physiological status effect similar to the OPG ranges. The EPG range was determined higher in young animals by Idris et al., (2012), and in females by Khajuria et al., (2013) similar to the present study. But, on the other hand, some studies presented higher EPG range in males (24,36).

CONCLUSION

This study reports the presence and prevalence of *Eimeria* spp, GI system helminths and lung nematodes in sheep flocks in Erzurum province of Turkey. Considering the high prevalence of these parasites in study area, it is concluded that effective control and management programs should be applied including proper usage of anthelmintics and anticoccidials to improve the health and productivity of the animals.

* Ethics

Ethics Committee Approval: Ethical approval of the study was obtained from the Ethics Committee of Atatürk University of Veterinary Faculty (approval number: 2019/01).

Informed Consent: Informed consent is not necessary as it is an animal experiment.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Concept: E.G., M.A., R.K., S.Y., H.G., Design: E.G., M.A., R.K., S.Y., H.G., Data Collection or Processing: E.G., M.A., R.K., S.Y., H.G., Analysis or Interpretation: M.A., Literature Search: M.A., Writing: M.A., E.G.

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

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

REFERENCES

- Bölükbaş C S, Doğanay A. Helminth enfeksiyonların da alternatif kontrol yaklaşımları. Türkiye Parazit Derg 2007;31:322-6.
- Taylor M A. Emerging parasitic diseases of sheep. Vet Parasitol 2012;189:2-7.
- Wang C R, Xiao J Y, Chen A H, Chen J, Wang Y, Gao Y F, et al. Prevalence of coccidial infection in sheep and goats in northeastern China. Vet Parasitol 2010;174:213-7.
- Katharina R, Lea H, Claudia B, Sonja W, Christian E, Christina S. 10-year parasitological examination results (2003 to 2012) of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, rabbits and hedgehogs. Parasitol Res 2017;116:3315-30.
- Carrau T, Silva L M R, Pérez D, Failing K, Martínez-Carrasco C, Macías J, et al. Associated risk factors influencing ovine *Eimeria* infections in southern Spain. Vet Parasitol 2018;263:54-8.
- Mohamaden W I, Sallam N H, Abouelhassan E M. Prevalence of *Eimeria* species among sheep and goats in Suez Governorate, Egypt. J Vet Med Sci 2018;6:65-72.
- Oliveira de Macedoa L, Santosa M A B, Marinho da Silva N M, Maciel do Rêgo Barrosa G M, Alves L C, Giannelli A, et al. Morphological and epidemiological data on *Eimeria* species infecting small ruminants in Brazil. Small Rum. Res 2019;171:37-41.
- Pedreira J, Paz-Silva A, Sanchez-Andrade R, Suarez J L, Arias M, Lomba C, et al. Prevalences of gastrointestinal parasites in sheep and parasite-control practices in NW Spain. Prev Vet Med 2006;75:56-62.
- Belina D, Giri A, Mengistu S, Eshetu A. Gastrointestinal Nematodes in Ruminants: The Parasite Burden, Associated Risk Factors and Anthelmintic Utilization Practices in Selected Districts of East and Western Hararge, Ethiopia. J Vet Sci 2017;8:2-7.
- Brahma A, Jas R, Das S, Ghosh J. Prevalence of Gastrointestinal Helminth Infection in Garole Sheep of Sundarban Delta in West Bengal. Indian J Anim Res 2018;8:57-60.
- Sayın F, Kahyaoglu T, Çakmak A. Ege Bölgesinde (İzmir, Manisa, Aydın) koyun ve keçilerde *Eimeria* türlerinin tespiti. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1986;33:90-6.
- Demir S. *Eimeria* species in sheep slaughtered in Bursa meat and fish plant. Acta Parasitol 1995;19:132-9.
- Arsalan M O, Umut S, Kara M. The prevalence of Coccidian Species in Sheep in Kars Province of Turkey. Trop Anim Health Prod 1999;31:161-5.
- Özer E, Şaki C E. Türkiye'de coccidiosis. In: Coccidiosis. Dincer S, Editör. Türkiye Parazit Derg İzmir; 2001. p. 151-162.
- Kaya G. Prevalence of *Eimeria* Species in Lambs in Antakya Province. Turk J Vet Anim Sci 2004;28:687-92.
- Gül A, Kılınç S G. Bingöl Belediye Mezbahasında Kesimi Yapılan Koyun ve Keçilerde Dışkı Bakılarına Göre Endoparazitlerin Yaygınlığının Araştırılması. Dicle Üniv Vet Fak Derg 2016;2:61-6.
- Umut S, Yukarı B A. An Abattoir Survey of Gastro-Intestinal Nematodes in Sheep in the Burdur Region, Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2005;29:1195-201.
- Sevimli F. Checklist of small ruminant gastrointestinal nematodes and their geographical distribution in Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2013;37:369-79.
- Kurtpınar H. Erzurum, Kars ve Ağrı vilayetleri sığır, koyun ve keçilerinin yaz aylarına mahsus parazitleri ve bunların doğurdukları hastalıklar. Türk Vet Hekim Dern Derg 1956;26:3226-32.
- Kurtpınar H. Erzurum, Kars ve Ağrı vilayetleri sığır, koyun ve keçilerinin yaz aylarına mahsus parazitleri ve bunların doğurdukları hastalıklar. Türk Vet Hekim Dern Derg 1957;27:3320-5.
- Vural A, Doğru C, Onar E, Özkoç Ü. Erzurum bölgesi kuzularında parazitler fona tesbiti ve parazitlerin et verimine olan etkileri. Pendik Vet Mikrob Enst Derg 1980;12:27-47.
- TUIK, 2018, Available from: URL: <https://biruni.tuik.gov.tr/hayvancilikapp/hayvancilik.zul>.
- Maff. Fisheries and Food. Reference Book. In: H M S O editors. Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques. London; 1986. 5pp.
- Idris A, Moors E, Sohnrey B, Gaul, M. Gastrointestinal nematode infections in German sheep. Parasitol Res 2012;110:1453-9.
- Pelledry L P. Coccidia and Coccidiosis. Parey, Berlin, 2. Auflage, 1974, 723-761.
- Soulsby E J L. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. 6rd ed. Bailliere; 1986.
- Khan M N, Rehman T, Iqbal Z, Sajid M S, Ahmad M, Riaz M. Prevalence and Associated Risk Factors of *Eimeria* in Sheep of Punjab, Pakistan", World Acad Sci Eng Technol 2011;80:1329-34.
- Chartier C, Paraud C. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. Small Ruminant Res 2012;103:84-92.
- Yakhchali M, Golami E. *Eimeria* infection (Coccidia: Eimeriidae) in sheep of different age groups in Sanandaj city, Iran. Veterinarski Arhiv 2008;78:57-64.
- Çaya H. Adana ili Mezbahalarında Kesilen Küçük Ruminantlarda Karaciğer Helminth Enfeksiyonlarının şiddeti ve Yayılışı. AVKAE Dergisi 2012;2:1-17.

31. Değer M S, Biçek K, Karakuş A. Prevalence of *Dicrocoelium dentriticum* in sheep and goats slaughtered in Van region (Van municipality slaughterhouse). Van Vet J 2017;28:21-4.
32. Aydın A. Hakkari Belediye Mezbahasında Kesilen Hayvanlarda Anolocephalidae Türlerinin Yayılışı. YYU Vet Fak Derg 2013;24:5-8.
33. Yıldırım A, İça A. Kayseri Yöresinde Koyunlarda Akciğer Kıl Kurdu Enfeksiyonlarının Prevalansı. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2015;2:73-8.
34. Singh R, Bal M S, Singla L D, Kaur P. Detection of anthelmintic resistance in sheep and goat against fenbendazole by faecal egg count reduction test. J Parasit Dis 2017;41:463-6.
35. Bansal D K, Agrawal V, Haque M. A slaughter house study on prevalence of gastrointestinal helminths among small ruminants at Mhow, Indore. J Parasit Dis 2015;39:773-6.
36. Khajuria J K, Katoch R, Yadav A, Godara R, Gupta S K, Singh A. Seasonal prevalence of gastrointestinal helminths in sheep and goats of middle agro-climatic zone of Jammu province. J Parasit Dis 2013;37:21-5.
37. Kantzoura V, Kouam M K, Theodoropoulou H, Feidas H, Theodoropoulos G. Prevalence and Risk Factors of Gastrointestinal Parasitic Infections in Small Ruminants in the Greek Temperate Mediterranean Environment", Open Vet J (OJVM) 2012;2:25-33.
38. Merlin A, Chauvin A, Madouasse A, Froger S, Bareille N, Chartier C. Explaining variability in first grazing season heifer growth combining individually measured parasitological and clinical indicators with exposure to gastrointestinal nematode infection based on grazing management practice. Vet Parasitol 2016;225:61-9.
39. Yasmin C, Otoi T, Setiadi M A, Karja N W K. Maturation and fertilisation of sheep oocytes cultured in serum-free medium containing silk protein sericin. Acta Vet Hung 2015;63:110-7.

Rozase Hastalarında *Demodex* Enfestasyonu

Demodex Infestation in Patients with Rosacea

✉ Dursun Türkmen¹, ✉ Gamze Türkoğlu²

¹Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Kliniği, Malatya, Türkiye

²Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Malatya, Türkiye

Cite this article as: Türkmen D, Türkoğlu G. Rozase Hastalarında *Demodex* Enfestasyonu. Türkiye Parazitol Derg 2019; 43(4):194-7.

ÖZ

Amaç: Rozase, etiyolojisi tam olarak bilinmeyen ancak multifaktöryel olduğu düşünülen bir hastalıktır. *Demodex* spp. kıl follikülleri ve sebace glandlar içerisinde yaşayan asemptomatik saprofitik ektoparazitlerdir. Bu çalışmada, hastanemizdeki rozase nedeniyle takip edilen hastalarda yüzeysel deri biyopsisi yöntemi kullanılarak *Demodex* spp. sıklığının araştırılması ve kontrol grubu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmaya, 77 rozase tanılı hasta ile 31 kontrol hastası dahil edildi. Hastalarda *Demodex* spp. yoğunluğunun tespiti için, non-invaziv standart yüzeysel deri biyopsisi yöntemi uygulandı. Tanıda cm²'de ≥ 5 *Demodex* spp. görülmesi pozitif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Hastaların yaş ortalaması 44,5 $\pm$ 14,6 iken, kontrol grubunun yaş ortalaması 48,2 $\pm$ 14,9 idi. Hastaların %55,1'inde eritemato-telenjektatik, %43,5'inde papülopüstüler ve %3,9'unda fimatöz tipte lezyonlar görüldü. Rozase tanılı hastaların %33,8'inde *Demodex* enfestasyonu pozitif iken kontrol grubunda bu oran %9,7 idi. Fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Rozase tanılı hastalarda cinsiyete göre *Demodex* spp. pozitifliği bakımından anlamlı bir fark saptanmadı.

Sonuç: Rozase tanılı hastalarda *Demodex* enfestasyonunun önemi son yıllarda artmaktadır. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalar da göz önüne alınarak, rozase ön tanısı düşünülen hastaların öncelikli olarak *Demodex* spp. yönünden araştırılmasının erken tanı ve tedavi bakımından yararlı olacağını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Rozase, *Demodex* spp., dermatoz, enfestasyon

ABSTRACT

Objective: Although the etiology of rosacea is not known exactly, it is thought as a multifactorial disease. *Demodex* spp. are asymptomatic saprophytic ectoparasites living in hair follicles and sebaceous glands. The aim of this study was to investigate the frequency of *Demodex* spp. in patients with rosacea and compare with the control group by using superficial skin biopsy method.

Methods: Seventy seven patients with rosacea and 31 control patients were included in the study. In patients, for the determination of density of *Demodex* spp., non-invasive standard superficial skin biopsy method was applied. Detection of ≥ 5 /cm² *Demodex* spp. was considered positive.

Results: The mean age of the patients was 44.5 $\pm$ 14.6 years and the mean age of the control group was 48.2 $\pm$ 14.9 years. Of the patients, 55.1% had erythema-telangiectatic type, 43.5% had papulopustular type, and 3.9% had fimatous type lesions. *Demodex* infestation was positive in 33.8% of the patients with rosacea and this rate was 9.7% in the control group. Difference was statistically significant. There was no significant difference in *Demodex* spp. positivity in terms of gender in patients with rosacea.

Conclusion: The importance of *Demodex* infestation in patients with rosacea has been increasing in recent years. Considering some studies conducted in our country, we think that the investigation of *Demodex* spp. in patients who are considered to have rosacea will be beneficial in the terms of early diagnosis and treatment.

Keywords: Rosacea, *Demodex* spp., dermatosis, infestation

GİRİŞ

Rozase genetik ve çevresel faktörlerin tetiklemesi sonucu gelişen, yaygın, kronik enflamatuvar bir dermatozdur. Yüzün orta bölgesine lokalize olup eritem, telenjektazi, papüller ve püstüllerle

karakterizedir. Dört klinik alt tipi tanımlanmıştır: Eritematotelenjektatik, papülopüstüler, fimatöz ve oküler rozase (1-3). Doğal immün sistemin düzensizliği, kronik enflamatuvar cevaplar, nörovasküler değişiklikler, mikroorganizmalar, ultraviyole radyasyona maruz kalma ve diğer çevresel



Geliş Tarihi/Received: 03.06.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 09.09.2019

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Dr. Dursun Türkmen, Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Kliniği, Malatya, Türkiye

Tel/Phone: +90 530 223 69 55 **E-Posta/E-mail:** dursunturkmen44@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-9076-4669

tetikleyiciler, alınan gıdalar ve kimyasallar, tek başlarına veya kombinasyon halinde, rozaseden sorumlu olabilir (4,5). Ayrıca *Demodex folliculorum* enfestasyonunun rozasedeki enflamatuvar lezyonların gelişimine katkıları üzerinde de durulmaktadır (6)

Demodex spp. kıl follikülleri ve sebace glandlar içerisinde yaşayan asemptomatik saprofitik ektoparazitlerdir (7,8). İnsanlarda *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* olmak üzere iki türü tespit edilmiştir (7,9). *Demodex folliculorum*, *Demodex brevis*'den daha yaygın olup genellikle kıl folliküllerinin infundibular kısmına yerleşir. Buna karşılık *Demodex brevis* sebace gland ve duktuslar içerisinde yerleşir ki bundan dolayı *Demodex folliculorum*'a göre daha derinde yer alır (7,10). *Demodex folliculorum* insanlarda en yaygın olarak saptanan ektoparazitlerdir (11,12).

İnsanlarda alın, yanaklar, burun, çene ve nazolabiyal bölge en sık enfestasyon gelişen yerler olup, nadir de olsa boyun, saçlı deri, kulak, göğüs, sırt, meme, kalça ve genital organlar gibi vücudun değişik bölgelerinde de saptanabilmektedirler. *Demodex* spp. bazen sağlıklı bireylerin kıl folliküllerinde hiçbir patolojiye sebep olmadan kalabildiği halde, deri hijyeninin iyi olmadığı ya da immün sistemin zayıf olduğu durumlarda fırsatçı patojen olarak akne, rozase, perioral dermatit, seboroik dermatit ve blefarit gibi bazı hastalıkların patogeneğinde rol alabilmektedir (13-17).

Bu çalışmada, hastanemizde rozase nedeniyle takip edilen hastalarda yüzeysel deri biyopsisi yöntemi kullanılarak *Demodex* spp. sıklığının araştırılması ve kontrol grubu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışma Helsinki Deklarasyonu'na uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma Malatya Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır ve çalışmada yer alan tüm hastalardan yazılı onam alınmıştır.

Çalışmaya, Ocak 2019-Mayıs 2019 tarihleri arasında dermatoloji polikliniğine başvuran, 77 rozase hastası dahil edildi. Sistemik enflamatuvar hastalığı veya enflamatuvar dermatozu olanlar ile son bir ay içerisinde herhangi bir sistemik ilaç alanlar çalışma dışı bırakıldı. Hastanemizde rozase tanısıyla takip edilen hastaların dosyaları retrospektif olarak incelenerek yaş, cinsiyet, hastalık süresi, ailede rozase öyküsü, rozase tipi, tutulum bölgeleri ile cm² başına *Demodex* spp. sayısı kaydedildi. Dermatoloji polikliniğimize başka sebeplerle başvuran ve sistemik hastalığı veya enflamatuvar dermatozu olmayan, yaş ve cinsiyet olarak rozase grubuna benzer, toplam 31 hasta kontrol grubu olarak alındı. Rozase ve kontrol hastalarının demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de görülmektedir.

Hastalarda *Demodex* spp. yoğunluğunun tespiti için, hastanemizin mikrobiyoloji ünitesinde, en uygun yöntem olan non-invaziv standart yüzeysel deri biyopsisi yöntemi uygulandı. Temiz bir lam üzerine bir damla siyanoakrilat (Japon yapıştırıcı) damlatıldı. Hastanın lezyonlu deri bölgesine bastırılarak bir dakika kadar tutuldu ve geri çekildi. İşlem sırasında hastanın gözlerinin kapalı tutulması istendi. Alınan örneğin üzerine immersiyon yağı damlatılarak lamel ile kapatıldı. Preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus CX31, Japan) x10 ve x40 büyütmelemlerde cm²'deki *Demodex* spp. yoğunluğuna bakıldı. Tanıda cm²'de 5 ve daha fazla *Demodex* spp. görülmesi pozitif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS (SPSS for Windows, Version 25.0, SPSS Inc, U.S.A) paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Nitel

değişkenlere ait veriler sayı ve yüzde olarak, nicel değişkenlere ait veriler ise, ortalama ± standart sapma olarak verildi. Hasta ve kontrol grubunun *Demodex* yoğunluğunun karşılaştırılmasında ki-kare testi, yaş ortalamasının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. P<0,05 düzeyinde anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda 77 rozase hastası ve 31 kontrol hastası yer aldı. Hastaların yaş ortalaması 44,5±14,6 (minimum=17, maksimum=85) iken, kontrol grubunun yaş ortalaması 48,2±14,9 idi. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0,05) (Tablo 1). Rozase hastalarının %72,7'sinde hastalık süresinin bir yıldan fazla olduğu belirlendi ve %16,9'unda ailede rozase öyküsü mevcuttu. Hastaların %51,9'unda rozase tipi

Tablo 1. Rozase ve kontrol hastalarının demografik ve klinik özellikleri

Özellikler	Rozase (n=77)	Kontrol (n=31)	P
Cinsiyet			
Erkek n (%)	19 (24,7)	12 (38,7)	0,16
Kadın n (%)	58 (75,3)	19 (61,3)	
Yaş, yıl			
Mean ± SS	44,5±14,6	48,2±14,9	
Ailede rozase			
Var	13 (%16,9)		
Yok	64 (%83,1)		
Hastalık süresi			
<1 yıl	21 (%27,3)		
1-3 yıl	27 (%35,1)		
3-5 yıl	16 (%20,8)		
5-10 yıl	6 (%7,8)		
≥10 yıl	7 (%9,1)		
Rozase tipi			
Eritemato - telenjektatik	40 (%51,9)		
Papülopüstüler	34 (%44,2)		
Fimatöz	3 (%3,9)		
Oküler	-		
Yanma			
Var	63 (%81,8)		
Yok	14 (%18,2)		
Kaşıntı			
Var	34 (%44,2)		
Yok	43 (%55,8)		
Lokalizasyon			
Yanak	27 (%35,1)		
Yanak + alın	20 (%26)		
Yanak + alın + burun	12 (%15,6)		
Yanak + burun	12 (%15,6)		
Yanak+alın+burun+çene	4 (%5,2)		
Alın	1 (%1,3)		
Alın + burun	1 (%1,3)		
SS: Standart sapma			

eritemato-telenjektatik, %44,2'sinde papülopüstüler iken %3,9'u fimatöz (rinofima) idi. Hastaların %35,1'inde lezyonlar sadece yanak bölgesinde, %26'sında yanak + alın bölgesine lokalize idi. Hastaların %84,1'inde yanma şikayeti, %49,3'ünde kaşıntı şikayeti vardı (Tablo 1).

Demodex spp. yoğunluğuna baktığımızda rozase hastalarının %33,8'inde *Demodex* enfestasyonu pozitif iken kontrol grubunda *Demodex* pozitifliği %9,7 oranındaydı. Fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,021$) (Tablo 2). Rozase hastalarında cinsiyete göre *Demodex* pozitifliği bakımından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 3). Rozase hastaları yaşa göre iki alt gruba ayrıldı ve *Demodex* spp. pozitifliği bakımından karşılaştırıldığında 45 yaş ve üzeri olan hastalarda *Demodex* spp. pozitifliği daha fazlaydı, fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$) (Tablo 4). Papülopüstüler rozase ile eritematotelenjektatik grup arasında da *Demodex* spp. pozitifliği bakımından bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Fimatöz tip rozaseli (rinofima) üç hastada da *Demodex* spp. pozitif idi.

TARTIŞMA

Rozase hastalığı etiyojisi tam olarak bilinmemekle beraber, multifaktöryel olduğu düşünülmektedir. Patogeneğinde temel olarak, damarsal aşırı veya bozuk aktivite suçlanmaktadır. Bununla birlikte etiyojisi *Demodex* akarlarının önemli bir faktör olduğu belirtilmektedir. Papiller dermal damarlarda kan akımının arttığı ve bunun da *Demodex* spp. için elverişli bir yaşam alanı sağladığı ya da dermise invaze olmasını kolaylaştırdığı belirtilmiştir. Yine bu akarların foliküler açıklığı mekanik olarak

tıkadığı veya mikroorganizmalara vektör görevi görerek de rozase lezyonlarının gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülmüştür (16).

Roihu ve Kariniemi (8), yüz derisindeki *Demodex* akarlarının prevalansını araştırdıkları çalışmalarında rozaseli 80, fasiyal ekzematöz erüpsiyonlu 40 ve diskoid lupus eritematozuslu 40 hastadan biyopsi örnekleri almışlar, akar sıklığının rozase grubunda (%51) çalışma grubunun geri kalanına göre (ekzemada %28, diskoid lupusta %31) anlamlı derecede yüksek oranlar elde etmişlerdir. Yazarlar ayrıca enfekte olmuş saç foliküllerinin çevresinde bir lenfositik hücre sızıntısı gördüklerini ve *Demodex* akarlarının akne rozasedeki enflamatuvar reaksiyonda rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (18). Diğer bazı yazarlar rozasenin papülopüstüler fazında yüksek dansitede *Demodex folliculorum* yoğunluğu tespit etmişler ve rozasenin papülopüstüler fazındaki patojenik rolünü desteklediğini öne sürmüşlerdir (19,20). Buna karşılık çalışmamızda papülopüstüler rozaseli hastalarla eritematotelenjektatik grup arasında *Demodex* spp. pozitifliği bakımından böyle bir fark saptanmamıştır.

Çalışmamızda genel olarak rozase hastalarının %33,8'inde *Demodex* pozitifliği ($\geq 5/\text{cm}^2$) saptanmıştır. Rozaseli hastalarda deri biyopsi örneklerinde *Demodex folliculorum*'un araştırıldığı iki çalışmada Basta-Juzbasic 50 rozaseli hastanın 43'ünde (%86), Sibenge 25 hastanın 20'sinde (%80), *Demodex folliculorum* tespit ettiklerini rapor etmişlerdir (9,21). Cengiz ve ark. (22) 67 hastanın %47,8'inde *Demodex* yoğunluğunu $\geq 5/\text{cm}^2$, Yücel ve ark. (23) ise mikrobiyoloji laboratuvarına rozase öntanısıyla gönderilen hastaların %60,7'sinde *Demodex* spp. pozitifliği saptamışlardır.

İlimizde daha önce yapılan kontrol grubuyla karşılaştırmalı bir çalışmada bizim çalışmamıza benzer olarak %33,3 oranında *Demodex folliculorum* pozitifliği elde edilmiştir (24). Bir başka çalışmada ise papülopüstüler rozaseli hastalar sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmış ve *Demodex* spp. prevalans ve dansitesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu rapor edilmiştir (25). Bazı çalışmalarda *Demodex folliculorum* <5 olan hastalar da pozitif olarak kabul edildiği için enfestasyon oranları çok yüksek rapor edilmiştir. Kontrol grubundaki *Demodex* pozitiflikleri ve herhangi bir patolojiye sebep olmadıkları göz önünde bulundurulduğunda *Demodex folliculorum* sayısının $\geq 5/\text{cm}^2$ patojenite kriteri olarak alınmasının daha uygun olacağı kanaatindeyiz.

SONUÇ

Rozase hastalarında *Demodex* enfestasyonunun önemi son yıllarda artmaktadır. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalar da gözönüne alınarak, rozase öntanısı düşünülen hastaların öncelikli olarak *Demodex* spp. yönünden araştırılmasının erken tanı ve tedavi bakımından yararlı olacağını düşünüyoruz.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışma Malatya Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Hasta Onayı: Çalışmada yer alan tüm hastalardan yazılı onam alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Konsept: D.T., G.T., Dizayn: D.T., Veri Toplama veya İşleme: D.T., G.T., Analiz veya Yorumlama: D.T., Literatür Arama: D.T., Yazan: D.T.

Tablo 2. Rozase ve kontrol hastalarında *Demodex* yoğunluğu

Demodex sayısı n (%)	Rozase hastaları (n=77)	Kontrol (n=31)	p değeri
Negatif			
0/cm²	2 (2,6)	13 (41,9)	0,021
1-4/cm²	49 (63,6)	15 (48,4)	
Toplam	51 (66,2)	28 (90,3)	
Pozitif			
5-9/cm²	23 (29,9)	3 (9,7)	
10-14/cm²	3 (3,9)	-	
Toplam	26 (33,8)	3 (9,7)	

Tablo 3. Rozase hastalarında *Demodex* pozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı [n (%)]

	Erkek	Kadın	Toplam	p değeri
Pozitif	7 (36,8)	19 (32,8)	26 (33,8)	0,96
Negatif	12 (63,2)	39 (67,2)	51 (66,2)	
Toplam	19	58	77	

Tablo 4. Rozase hastalarında *Demodex* pozitifliğinin yaş grubuna göre dağılımı [n (%)]

	17-44 yaş	45-85 yaş	Toplam	p değeri
Pozitif	10 (27)	16 (40)	26 (33,8)	0,33
Negatif	27 (73)	24 (60)	52 (66,2)	
Toplam	37	40	77	

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Gallo RL, Granstein RD, Kang S, Mannis M, Steinhoff M, Tan J, et al. Standard classification and pathophysiology of rosacea: The 2017 update by the National Rosacea Society Expert Committee. *J Am Acad Dermatol* 2018;78:148-55.
- Jones DA. Rosacea, reactive oxygen species, and azelaic acid. *J Clin Aesthet Dermatol* 2009;2:26-30.
- Woo YR, Lim JH, Cho DH, Park HJ. Rosacea: Molecular Mechanisms and Management of a Chronic Cutaneous Inflammatory Condition. *Int J Mol Sci* 2016;17:1562.
- Steinhoff M, Schaubert J, Leyden JJ. New insights into rosacea pathophysiology: a review of recent findings. *J Am Acad Dermatol* 2013;69:15-26.
- Vemuri RC, Gundamaraju R, Sekaran SD, Manikam R. Major pathophysiological correlations of rosacea: a complete clinical appraisal. *Int J Med Sci* 2015;12:387-96.
- Erbağcı Z. Rozasea: Sınıflama ve Etyopatogeneizde Son Görüşler. *Türkiye Klinikleri J Dermatol* 2005;15:105-16.
- Baima B, Sticherling M. Demodicidosis revisited. *Acta Derm Venereol* 2002;82:3-6.
- Roihu T, Kariniemi AL. *Demodex* mites in acne rosacea. *J Cutan Pathol* 1998;25:550-2.
- 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.
- 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.
- Stephen MP, Thomas JH, Steven LD. Pustular folliculitis associated with *Demodex folliculorum*. *J Am Acad Dermatol* 1986;15:1159-62.
- 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.
- Rufli T, Mumcuoğlu Y. The hair follicle mites *D. folliculorum* and *D. brevis*: biology and medical importance. *Dermatology* 1981;162:1-11.
- Bonnar E, Eustace P, Powell FC. The *Demodex* mite population in rosacea. *J Am Acad Dermatol* 1993;28:443-8.
- Özçelik S. Parazitoloji'de artropod hastalıkları ve vektörler. Editörler, Özcel MA, Daldal N. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 1997.s.339-62.
- Erbağcı Z, Özgöztaş O. The significance of *Demodex folliculorum* density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998;37:421-5.
- Isa NHM, Loong LW, Fang GH, Mohamad AM, Razali N, Rani NR, et al. Demodicosis among university medical students in Malaysia and the effects of facial cleanser and moisturizer usage. *S Asian J Trop Med Public Health* 2011;42:1375-80.
- Roihu T, Kariniemi AL. *Demodex* mites in acne rosacea. *J Cutan Pathol* 1998;25:550-2.
- Forton F, Seys B. Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993;128:650-9.
- Abd-El-Al AM, Bayoumy AM, Abou Salem EA. A study on *Demodex folliculorum* in rosacea. *J Egypt S Parasitol* 1997;27:183-95.
- 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.
- Cengiz ZT, Yılmaz H, Özkol HU, Ekici A, Ödemiş N. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Parazitoloji Laboratuvarına Başvuran Hastalarda *Demodex* sp.'nin Prevalansı. *Türkiye Parazitol Derg* 2014;38:9-11.
- Yücel A, Yılmaz M. Rosacea Ön Tanılı Hastalarda *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis* Yaygınlığının Araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg* 2013;37:195-8.
- Turan N, Kapıcıoğlu Y, Saraç G. Akne Vulgaris ve Rozase Hastalarında Deri Sebum, pH ve Nem Değerlerinin Demodeks Enfestasyonuna Etkisi. *Türkiye Parazitol Derg* 2017;41:143-7.
- 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.

Üniversite Öğrencilerinde *Demodex* spp. Yaygınlığının Araştırılması: Sağlık Bilimleri Fakültesi Örneği

The Investigation of Prevalence of Demodex spp. in University Students: The Case of the Faculty of Health Sciences

✉ Sinem Naz Sevgen¹, ✉ Neriman Mor²

¹Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İlköğretim Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

²Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

Cite this article as: Sevgen SN, Mor N. Üniversite Öğrencilerinde *Demodex* spp. Yaygınlığının Araştırılması: Sağlık Bilimleri Fakültesi Örneği. Türkiye Parazitol Derg 2019;43(4):198-203.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı çoğunlukla ergen dönemdeki bireylerden oluşan üniversite öğrencilerinde *Demodex* spp.'nin yaygınlığını belirlemektir.

Yöntemler: Üniversite öğrencilerine *Demodex* spp.'nin risk faktörlerinin sorgulandığı anket uygulandı. Örnekler Standart Yüzeysel Deri Biyopsi yöntemiyle alındı ve ışık mikroskobu altında incelendi.

Bulgular: Araştırmaya katılan, 291 hemşirelik bölümü öğrencisinin 126'sında (%43,3), 84 ebeklik bölümü öğrencisinin 34'ünde (%40,5) ve erkeklerde %47,3, kadınlarda %40,2 oranında olmak üzere toplam 375 öğrencinin 160'ında (%42,7) *Demodex* spp. varlığı tespit edildi. Fondöten/makyaj ürünleri kullananlar ile kullanmayanlar arasında ve epilasyon yaptıranlar ile yaptırmayanlar arasında *Demodex* spp.'nin yaygınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Diğer değişkenler ile etkenin görülme sıklığı arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Sonuç: Kars ilinde üniversite öğrencilerinde *Demodex* spp.'nin oldukça yaygın olduğu sonucuna varılmıştır. Bunun sonucunda dermatologların özellikle bu yaş grubundaki bireylerin yüz bölgesinde şekillenmiş olan dermatozların etiyoloji ve patogenezinde *Demodex* spp. varlığını da göz önünde bulundurmaları gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Demodex* spp., üniversite öğrencileri, epidemiyoloji, Kars

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to determine the prevalence of *Demodex* spp. in college students, mostly adolescent individuals.

Methods: A questionnaire including questions about the risk factors of *Demodex* spp. was administered to college students. Samples were taken with Standard Superficial Skin Biopsy method and examined under light microscope.

Results: Presence of *Demodex* spp. was detected in 160 (42.7%) students out of 375 totally; 126 out of 291 nursing students (43.3%) and 34 out of 84 midwifery students (40.5%). It was detected in 47.3% of males and 40.2% of females. There was a statistically significant difference in terms of the prevalence of *Demodex* spp. between those who used foundation cream/make-up products and those who did not, and between those who removed hair and those who did not ($p<0.05$). There was no relationship between other variables and *Demodex* spp. prevalence.

Conclusion: It is concluded that *Demodex* spp. is very common among college students in Kars. Dermatologists should also consider the existence of *Demodex* spp. in the etiology and pathogenesis of dermatoses which develops in the facial region of individuals in this group of age.

Keywords: *Demodex* spp., college students, epidemiology, Kars

Geliş Tarihi/Received: 13.11.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 04.12.2019

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Neriman Mor, Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye
Tel/Phone: +90 474 225 12 65 E-Posta/E-mail: nery.man@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-3674-8120

GİRİŞ

Dünya genelinde ırk ve cinsiyet farkı göstermeksizin yaygın olarak görülen *Demodex folliculorum* ve *Demodex brevis*, insanlarda kalıcı ektoparazitlerdir. Ayrıca birçok hayvanda da saptanan akar yaşadığı bölgede meydana gelen bazı deri bozukluklarına bağlı olarak sayısı artmakta ve bu nedenle deride kaşıntı, eritem ve papülopüstüler lezyonlar geliştirmektedir *Demodex* spp.'nin deride meydana getirdiği enfestasyon, demodicosis olarak adlandırılmıştır (1,2).

İnsanlarda çene, dış kulak yolu, yanak, sırt, kalça, meme başları ve genital bölge gibi vücudun farklı yerlerinde kıl folikülleri, derinin yağ bezleri ve kıl diplerinde yaşamaktadır (1,3). Deri temizliğine dikkat edilmemesi, yoğun olarak kozmetik ürünlerin kullanılması ve bu ürünlerin deriden düzenli olarak temizlenmemesi veya kullanılan ürünlerin temizliğine dikkat edilmemesi gibi durumlarda akarın görülme sıklığı artmaktadır. Yaz mevsiminde genellikle daha fazla terlemeye bağlı olarak sebum üretiminin vücutta artması, yağlı bir deri tipine sahip olunması, yaşın ilerlemesi, immün sistemin bireyde yetersiz olması veya steroid kullanımı gibi sebeplerle baskılanmış olmasıyla bu parazite karşı patojenitenin artabileceği belirtilmiştir (1,4).

Türkiye’de yapılan çalışmalarda *Demodex* spp. pozitifliği ve pozitifliğine etki eden faktörler farklı gruplarda değerlendirilmiştir (1,5-11). Gençlerde ergenlik döneminde akne vulgaris en sık rastlanılan deri problemlerinden biridir. Yapılan meta analizlere göre blefarit, akne vulgaris, rozasea, gibi hastalıklarda *Demodex* spp. görülme sıklığının anlamlı derecede fazla bulunduğu belirtilmiştir (12). Bu sebeple X ilinde, üniversite öğrencilerinde *Demodex* spp. yaygınlığını belirlemek, enfestasyon ile ilişkisi olabileceği düşünülen epidemiyolojik verileri içeren anket çalışması yapılarak bu verilerin *Demodex* spp. yaygınlığı ile ilişkisini ortaya koymak ve ileride sağlık personeli olarak çalışacak olan sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerine enfestasyon hakkında eğitim verilerek bilinç düzeyini artırmak ve farkındalık yaratmak amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı (tarih: 01.02.2017 ve sayı: 80576354-050-99/19) ve araştırmanın yapıldığı üniversite birim yönetiminden yazılı izin (tarih: 03.03.2017 ve sayı: 81829502/900/67) ile 2017-2018 eğitim-öğretim yılında üniversite öğrencilerinde yürütülmüştür. Araştırmanın evrenini oluşturan sağlık bilimleri fakültesi hemşirelik (n=711) ve ebelik (n=143) bölümlerinde öğrenimlerine devam eden toplam 854 aktif öğrenci bulunduğu tespit edilmiştir. Çalışmada evrenin tümüne ulaşılması hedeflenmiştir. Fakat gönüllülük ilkesine bağlı kalınarak araştırmada örneklem seçimine gidilmiş olup hemşirelik bölümünden 291, ebelik bölümünden 84 olmak üzere toplam 375 öğrenci çalışmanın materyalini oluşturmuştur.

Demodex spp. ile ilgili verilen eğitim seminerlerinden sonra, araştırmaya katılmaya gönüllü olan öğrencilerin aydınlatılmış onamları alınmış ve enfestasyon ile ilişkisi olabileceği düşünülen risk faktörlerinin sorgulandığı anket uygulanmıştır. Daha sonra çalışmaya alınan öğrencilerin yüzlerinden standart bölgeler olarak saydığımız burun, yanak, çene ve alından selofan bant yöntemi (SBY) ve standart yüzeyel deri biyopsisi (SYDB) yöntemleri

ile örnekler toplanmıştır. Ancak pilot uygulama sırasında SB yönteminden ziyade SYDB yöntemiyle ve yüzde yanak bölgesinde daha yoğun akarların görüldüğü tespit edilmiştir. Bu sebeple çalışmamızda SYDB yöntemi ve bölge olarak yanak tercih edilerek materyal toplanmaya devam edilmiştir. Alınan örneklerden hazırlanan preparatlar laboratuvarında ışık mikroskopunda 10X ve 40X büyütmelemlerle cm²deki *Demodex* spp. yoğunluğuna bakılarak akarların erişkin, larva, nimf ve yumurta formları incelenmiştir (Resim 1). Örneklerin değerlendirilmesinde bir cm²lik alandaki akar yoğunluğu 5 ve daha fazla ise pozitif olarak kabul edilmiştir. Parazit saptanan bütün öğrenciler dermatoloji kliniğine tedavi alması için yönlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme için SPSS 24 versiyonu kullanıldı. Özellikler için tanımlayıcı istatistikler sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Kategorik verileri karşılaştırmak için “ki-kare testi” yapılmıştır ve tüm değerlendirmelerde p<0,05 değeri anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Araştırmada yaşları 17-30 arasında değişen 131’i erkek ve 244’ü kadın olmak üzere toplam 375 üniversite öğrencisinden SYDB yöntemiyle yanak bölgesinden örnekler alındı ve 160’ında (%42,7) *Demodex* spp.’ye rastlanmıştır.

Öğrencilerin çeşitli demografik özellikleri ile *Demodex* spp. varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05) (Tablo 1).

Öğrencilerin diğer anket sorularına vermiş oldukları yanıtlara göre “fondöten/makyaj” kullanımı ile ilgili “evet/hayır” yanıtları arasında ve “epilasyon” yaptıran ve yaptırmayanlar arasında parazitin görülme sıklığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Fakat diğer parametreler ile *Demodex* spp. görülme durumu arasında anlamlılık saptanamamıştır (p>0,05) (Tablo 2).

TARTIŞMA

İnsanda parazitlenen *Demodex* türleri, ülkemizde ve dünya genelinde her ırktan insanda ve her iki cinsiyette yaygın olarak görülmektedir. İlk defa 1841 yılında *Demodex folliculorum* Henle ve Berger tarafından saptanmıştır. Daha sonra 1842’de detaylı olarak Simon tarafından ilk kez tanımlanmıştır (1,3). Türkiye’de ise ilk olarak Saygı ve ark. (13) tarafından insanlarda *Demodex* enfestasyonu SBL ile alınan perianal bölgeden hazırlanan preparatın incelenmesiyle saptanmıştır. İnsanda kıl folikülleri ve sebace bezlere yerleşerek parazitlenen *Demodex* türleri kozmopolit bir yayılım gösterirler (1,13). Yapılan epidemiyolojik



Resim 1. *Demodex* spp.'nin yumurta, larva, nimf ve erişkin hali (orijinal)

Tablo 1. *Demodex* spp.'nin öğrencilerin demografik özellikleri göre dağılımı

Anket soruları			Demodex spp.			Total	Anlamlılık Değeri	χ²
	Pozitif		Negatif					
	n	%	n	%				
Bölüm	Hemşirelik	126	43,3	165	56,7	291	0,64	0,212
	Ebelik	34	40,5	50	59,5	84		
Cinsiyet	Erkek	62	47,3	69	52,7	131	0,18	1,788
	Kadın	98	40,2	146	59,8	244		
Yaş	17-20	38	43,2	50	56,8	88	0,98	0,023
	21-24	115	42,4	156	57,6	271		
	25-28	7	43,8	9	56,3	16		
Medeni durum	Bekar	158	42,6	213	57,4	371	0,76	0,089
	Evli	2	50,0	2	50,0	4		
Yaşanılan yer	Şehir	101	42,8	135	57,2	236	0,26	0,027
	Kırsal	59	42,4	80	57,5	139		
Ev yaşam durumu	Yurt	107	42,3	146	57,7	253	0,94	0,112
	Kişiyeye ait ev	35	44,3	44	55,7	79		
	Diğer	18	41,9	25	58,1	43		
Çalışma durumu	Çalışmayan	157	42,9	209	57,1	366	0,56	0,328
	Çalışan	3	33,3	6	66,7	9		
Genel toplam		160	42,7	215	57,3	375		

çalışmalarda *Demodex* enfestasyonu; Çin'de ortaokul düzeyinden üniversite öğrencilerini de kapsayacak şekilde toplam 756 öğrenci üzerinde yapılan bir çalışmada %67,6 oranında *Demodex* yaygınlığı tespit edilmiştir (14). Malezya'da öğrenciler üzerinde yapılan bir çalışmada 390 tıp öğrencisinde %17,2 oranında *Demodex* enfeksiyonunu saptamışlardır (15). Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde bizim çalışmamıza benzer olarak Kaplan ve ark. (6), Elazığ'da toplam 258 üniversite öğrencisinde selofan bant ve SYDB yöntemiyle yaptıkları çalışmada %10,07 oranında *Demodex* spp. tespit etmişlerdir. Karaman ve ark. (7), Ordu ilinde yurtlarda kalan yaşları 18-30 arasında değişen toplam 300 üniversite öğrencisinde SYDB yöntemi ile %37 oranında *Demodex* spp. rapor etmişlerdir. Yine Özdemir ve ark.'nın (16) yaptığı çalışmada, Giresun ilinde sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerinin %29,7'sinde *D. folliculorum*, %19,5'inde *D. brevis* olmak üzere 270 öğrencinin %47,4'ünde *Demodex* spp. pozitifliği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise hemşirelik bölümü öğrencilerinin %43,3'ünde, ebelik bölümü öğrencilerinin %40,5'inde olmak üzere toplam 375 öğrencinin %42,7'sinde *Demodex* spp. varlığına rastlanmıştır. Diğer çalışmalardaki yayılış oranı ile çalışmamızda belirlenen oranın ortalama olarak yakın olduğu görülmüştür.

Demodex folliculorum'ün pozitifliğinde cinsiyet ele alındığında, deri biyopsisi alınarak yapılan bir çalışmada pozitif hastaların %87'si kadın, %13'ü erkek hastaların oluşturduğu bildirilirken (17), Ordu'da üniversite öğrencilerinde erkeklerde (%56,7), kadınlara (%43,3) oranla daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (7). Yine Erzincan'da yapılan bir çalışmada %65,5 erkeklerde, %60,3 oranda kadınlarda *Demodex* spp. pozitifliği bildirilmiştir (9). Yapılan bu çalışmada ise benzer şekilde erkeklerde (%47,3), kadınlara (%40,2) oranla daha yüksek bulunmuştur. Fakat cinsiyetler arasındaki

görülme farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu sonuç Karaman ve ark. (7) ile Tilki ve ark. (9)'nın belirlediği sonuçla uyumludur.

Demodex spp.'nin ırk farkı gözetmeksizin dünya genelinde yaygınlık gösterdiği ve sağlıklı deride yaş faktörü ile bağlantılı olan enfestasyon oranının, yaşlılarda %100'e ulaştığı belirtilmiştir (18). Bir çok çalışmada enfestasyonun bebek ve çocuklarda görülmeyip, ergenlikten itibaren yaş ile doğru orantılı olarak en yüksek seviyeye ulaştığı bildirilmiştir (3,5,8-10,19). Üniversite okuyan gençlerde yapmış olduğumuz çalışmamızda 17-20 yaş aralığında %43,2, 21-24 yaş aralığında %42,4, 25-28 yaş aralığında %43,8 oranında parazit saptanmış olup istatistiksel olarak yaş ile parazitin görülmesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Bunun sebebinin öğrencilerin yaş aralıklarının birbirine yakın olmasından ve çalışmamıza alınan bireylerin 30 yaş altında olmalarından kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir.

Epilasyon veya diğer kişisel bakım yöntemleri (sir ağda, lazer) yaptırmayan bireylerde daha fazla *Demodex* spp. pozitifliği görülmüştür. Ancak istatistiki olarak sadece "epilasyon" yaptıran ve yaptırmayanlar arasında parazitin görülme sıklığı anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu durum akarın besini olan sebumun folikülün içerisinden epilasyon veya diğer kişisel bakım yöntemleri ile uzaklaştırıldığından akara daha az rastlanılacağını düşündürmüştür. Bu sonuç Karaman ve ark. (7)'nin yaptığı çalışma ile uyumludur.

Makyaj malzemelerinin folikülü mekanik olarak tıkayarak, parazitin göçünü ve solunumunu engelleyerek ve aynı zamanda alkol gibi antiseptikler içerdikleri için toksik etki ile *Demodex* akarlarının yok edilmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (20).

Tablo 2. Demodex spp.'nin öğrencilerin ankette verdikleri cevaplara göre dağılımı

	Anket soruları	Demodex spp.				Total	Anlamlılık değeri	χ ²
		Pozitif		Negatif				
		n	%	n	%			
Deri tipi	Yağlı	69	45,1	84	54,9	153	0,73	0,625
	Kuru	32	41,0	46	59,0	78		
	Karma	59	41,0	85	59,0	144		
Güneş kremi	Evet	33	37,9	54	62,1	87	0,30	1,039
	Hayır	127	44,1	161	55,9	288		
Epilasyon	Evet	3	15,8	16	84,2	19	0,01	5,910
	Hayır	157	44,1	199	55,9	356		
Lazer	Evet	4	33,3	8	66,7	12	0,50	0,441
	Hayır	156	43,0	207	57,0	363		
Sir ağda	Evet	18	35,3	33	64,7	51	0,25	1,312
	Hayır	142	43,8	182	56,2	324		
Yüz yıkama	Hiç	0	0,0	1	100,0	1	0,33	4,529
	Arada	4	25,0	12	75,0	16		
	Günde bir kez	10	37,0	17	63,0	27		
	Sabah akşam	85	46,7	97	53,3	182		
	Sık sık	61	40,9	88	59,1	149		
Banyo yapma sıklığı	Haftada 1	12	37,5	20	62,5	32	0,73	0,620
	Haftada 2	88	42,1	121	57,9	209		
	Her gün	60	44,8	74	55,2	134		
Nemlendirici krem	Evet	81	42,9	108	57,1	189	0,94	0,006
	Hayır	79	42,5	107	57,5	186		
Fondöten/makyaj	Evet	55	36,4	96	63,6	151	0,04	4,027
	Hayır	105	46,9	119	53,1	224		
Yüzde kaşıntı	Evet	32	44,4	40	55,6	72	0,73	0,115
	Hayır	128	42,2	175	57,8	303		
Yüzde kızarıklık	Evet	37	39,8	56	60,2	93	0,51	0,420
	Hayır	123	43,6	159	56,4	282		
Gözde kaşıntı	Evet	39	44,3	49	55,7	88	0,72	0,128
	Hayır	121	42,2	166	57,8	287		
Kulakta kaşıntı	Evet	20	39,2	31	60,8	51	0,59	0,287
	Hayır	140	43,2	184	56,8	324		
Deri hastalığı	Evet	10	38,5	16	61,5	26	0,65	0,202
	Hayır	150	43,0	199	57,0	349		
Hastalık	Evet	11	42,3	15	57,7	26	0,96	0,001
	Hayır	149	42,7	200	57,3	349		
Havlu türü	Kağıt	7	36,8	12	63,2	19	0,56	1,145
	Havlu	107	41,5	151	58,5	258		
	Her ikisi de	46	46,9	52	53,1	98		
Ortak havlu kullanımı	Ev̇et	12	33,3	24	66,7	36	0,23	1,418
	Hayır	148	43,7	191	56,3	339		

Başka bir çalışmada ise *Demodex* akarlarının makyaj yapmayan ve kozmetik kullanmayan hastalarda daha sık görüldüğü ve akarın varlığı ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (21). Benzer şekilde bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre, yüzlerinde *Demodex* spp. saptanan bireylerin ankete verdikleri cevaplar değerlendirildiğinde makyaj yapmayanlarda pozitiflik daha fazla görülmüş fakat istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır ($p < 0,05$).

Akarın hastalıkla ilişkisinin incelendiği çalışmalara bakıldığında; kronik böbrek yetmezliği olan hastaların %38,29'unda, kontrol grubundaki katılımcıların %26,31'inde (22), başka bir çalışmada ürolojik kanser tanısı konulan 49 hastanın %22,4'ünde, kontrol grubundan 31 kişinin %3,2'sinde *Demodex* spp. enfestasyonuna rastlanılmıştır (23). Tanrıverdi ve ark. (24), kronik blefaritli 153 hastanın 69'unda (%45,1) kirpik foliküllerinde *Demodex* varlığını saptamışlardır. Sędzikowska ve ark. (25), blefarit, rozasea ve romatoid artritli hastalarda yaptıkları çalışmada *Demodex* spp. yaygınlığının blefaritli hastalarda 2,5 kat, enfeksiyon ve rozasea hastalarında 3 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda öğrencilere yöneltilen anket sorularında *Demodex* spp.'nin deride görülen klinik şikayetler, sahip oldukları deri hastalıkları ve diğer hastalıklar ile ilişkisinin olup olmadığına dair prevalans oranları karşılaştırıldığında birbirine yakın oranlar tespit edilmiştir. Evet diyenler ile hayır diyenler arasında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Demodex folliculorum varlığının araştırıldığı bir çalışmada deri tipi ile akarın ilişkisi incelendiğinde yağlı derilerde anlamlı oranda daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir (4,26). Deri tipi ile akar ilişkisine bakılan farklı bir çalışmada toplam 756 katılımcıdan 374 yağlı/karma deriye sahip olanların %68,3'ünde pozitiflik görülmüştür (14). Akarın insan derisinde sebaceöz bezlerine yerleşmesi sebebiyle yağlı deri tipi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Yapılan bu çalışmada ise yağlı deri tipine sahip olanlarda daha yüksek pozitiflik (%45,1) tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Literatüre bakıldığında kişisel hijyen konusunda farklı sonuçlar ve yorumlar mevcuttur. Özellikle sık yüz yıkamanın veya benzer özbakım alışkanlıklarının deride kuruluk meydana getirebileceği ve bunun sonucunda temiz deride akara rastlanma oranını daha az olacağı düşünülmüştür (7). Fakat Yazısız ve ark. (21) ile Kaplan ve ark. (6)'nın yaptığı çalışmaya göre banyo yapma sayısı arttıkça *Demodex* enfestasyonunun arttığı bildirilmiş, bu durum Kaplan ve ark. (6) tarafından banyo sırasında deri porlarının açılarak akarın yerleşmesini kolaylaştırması şeklinde yorumlanmıştır. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada ise yüz yıkama sıklığı, banyo yapma sıklığı arttıkça *Demodex* enfestasyonunun arttığı ancak kişisel temizlik, özbakım ile *Demodex* spp. varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p > 0,05$).

SONUÇ

Bu çalışmada ülkenin birçok yerinden gelen üniversite öğrencilerinden alınan örneklerin incelenmesi neticesinde; bu yaş grubu bireylerde herhangi bir hastalık bulunması, kişisel bakım rutinleri veya kozmetik ürün kullanımı gibi sebeplerle ilişkilendirilmeden akarın varlığına rastlanabileceği saptanmıştır. Bunun sonucunda dermatologların ergen yaş grubundaki bireylerde özellikle yüz bölgesinde şekillenmiş olan dermatozların

etiyoloji ve patogenezinde *Demodex* spp. varlığını da göz önünde bulundurmaları gerektiği kanaatine varılmıştır. Ayrıca ileride sağlık personeli olarak çalışacak olan sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerine *Demodex* spp. hakkında detaylı bir eğitim verilmiş olup akarla ilgili farkındalık oluşturulmuş ve bilgi düzeyinin artırılmasının korunmaya yönelik tedbirlerin uygulanmasında daha etkili olabileceği düşünülmüştür.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurul Başkanlığı'ndan yazılı izin (tarih: 01.02.2017 ve sayı: 80576354-050-99/19) alınmıştır.

Hasta Onayı: Araştırmanın yapılabilmesi için üniversiteye bağlı Sağlık Bilimleri Fakültesi Dekanlığı'ndan (Tarih: 03.03.2017 ve Sayı: 81829502/900/67) araştırmanın konusunu içeren izin yazısı ve araştırmaya katılmayı kabul eden öğrencilerden onaylı "Bilgilendirme Formu" alınmıştır. Ayrıca risk faktörlerinin sorgulandığı anket uygulanmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Konsept: N.M., S.N.S., Dizayn: N.M., Veri Toplama veya İşleme: S.N.S., N.M., Analiz veya Yorumlama: N.M., S.N.S., Yazan: N.M., S.N.S.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Bu bir tez çalışması olup, 2017-TS-59 nolu proje ile Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Yolaşmaz A, Budak S. Demodicosis. In: Özcel MA editors. Tıbbi Parazit Hastalıkları kitabında. İzmir: Meta Basım; 2007.p.891-4.
2. Hsu CK, Hsu MML, Lee JYY. Demodicosis: a clinicopathological study. J Am Acad Dermatol 2009;60:453-62.
3. Aytekin S, Yaşar Ş, Göktay F. *Demodex* infestation. Türkiye Klinikleri J Dermatol 2017;10:169-74.
4. Aycan ÖM. *Demodex folliculorum* ve *D. brevis* Enfestasyonlarını Etkileyen Faktörler (Doktora Tezi). M. Atambay (Danışman): T.C. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2008.
5. Aycan ÖM, Otlı GH, Karaman Ü, Daldal N, Artambay M. Çeşitli Hasta ve Yaş Gruplarında *Demodex* spp. Görülme Sıklığı. Türkiye Parazit Derg 2007;31:115-8.
6. Kaplan M, Keleştemur N, Başpınar S. *Demodex* spp. Prevalence among University Students. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012;18(Suppl-A):A43-6.
7. Karaman Ü, Kolören Z, Enginyurt Ö, Özer A. The epidemiology of demodex mites at the college students living in dormitories in the city of Ordu. Türkiye Parazit Derg 2014;38:166-71.
8. Taş Cengiz Z, Yılmaz H, Uce Özöl H, Ekici A, Ödemiş N. The prevalence of *Demodex* spp. in patients admitted to the parasitology laboratory of the Dursun Odabaş Medical Center in Yüzüncü Yıl University, Van. Türkiye Parazit Derg 2014;38:9-11.
9. Tilki E, Zeytun E, Doğan S. Prevalence and Density of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in Erzincan Province. Türkiye Parazit Derg 2017;41:80-6.
10. Zeytun E, Olmez H. *Demodex* (Acari: Demodicidae) infestation in patients with KOAH, and the association with immunosuppression. Erzincan Univ J Sci Tech 2017;10:220-31.

11. Zeytun E, Karakurt Y. Prevalence and Load of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in Patients with Chronic Blepharitis in the Province of Erzincan, Turkey. J Med Entomol 2019;56:2-9.
12. Zhao Y, Hu L, Wu L, Ma J. A meta-analysis of association between acne vulgaris and demodex infestation. J Zhejiang Univ Sci B 2012;13:192-202.
13. Saygı G, Marufi M, Köylüoğlu Z. Biri selofanlı bant preparatı ile saptanan üç Demodex folliculorum olgusu. Türkiye Parazitoloj Derg 1984;7:137-44.
14. Zhao Y, Guo N, Xun M, Xu J, Wang M, Wang D. Sociodemographic characteristics and risk factor analysis of *Demodex* infestation (Acari: Demodicidae). J Zhejiang Univ Sci B 2011;12:998-1007.
15. Isa NHM, Loong LW, Fang GH, Mohamad AM, Razali N, Rani NR, et al. Demodicosis among university medical students in Malaysia and the effects of facial cleanser and moisturizer usage. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2011;42:1375-80.
16. Özdemir H, Özer E, Özdemir S, Alkanat M. Sağlık bilimleri fakültesi öğrencilerinde demodex türlerinin görülme sıklığı. Turkderm 2015;49:139-41.
17. Orak F, Yıldırım D, Set A, Hasbek M. Yüzeyel Cilt Biyopsisi Yapılan Hastalarda *Demodex spp.* Sıklığının Araştırılması. ANKEM Derg 2015;29:90-4.
18. Ruffi T, Mumcuoğlu Y. The hair follicle mites *D. folliculorum* and *D. brevis*: biology and medical importance. Dermatologica 1981;162:1-11.
19. Zeytun E, Tilki E, Doğan S, Mumcuoğlu KY. The effect of skin moisture, pH, and temperature on the density of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae) in students and staff of the Erzincan University, Turkey. Int J Dermatol 2017;56:762-6.
20. Horváth A, Neubrandt DM, Ghidán Á, Nagy K. Risk factors and prevalence of Demodex mites in young adults. Acta Microbiol Immunol Hung 2011;58:145-55.
21. Yazısız H, Çekin Y, Koçlar FG. Yüzünde Dermatolojik Semptomları olan Hastalarda *Demodex* Akarlarının Varlığı. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43:143-8.
22. Özçelik S, Sümer Z, Değerli S, Ozyazıcı G, Hayta Berksoy S, Akyol M, et al. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda *Demodex folliculorum* görülme sıklığı. Türkiye Parazitoloj Derg 2007;31:66-8.
23. İnci M, Kaya OA, İnci M, Yula E, Gökçe H, Rifaioğlu MM, et al. Ürolojik Kanserli Hastalarda *Demodex folliculorum* Araştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg 2012;36:208-10.
24. Tanrıverdi C, Demirci G, Balcı Ö, Odabaşı M, Özşütçü M. Tedaviye Dirençli Kronik Blefaritli Olgularda *Demodex* Paraziti Varlığının Araştırılması. Türkiye Parazitoloj Derg 2018;42:130.
25. Sędzikowska A, Osęka M, Skopiński P. The impact of age, sex, blepharitis, rosacea and rheumatoid arthritis on *Demodex* mite infection. Arch Med Sci 2018;14:353-6.
26. Nutting WB, Green AC. Pathogenesis associated with hair follicle mites (*Demodex spp.*) in Australian aborigines. Br J Dermatol 1976;94:307-12.

Tıbbi Sülük Türleri *Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*'nın İç ve Dış Morfolojik Özellikleri

Internal and External Morphological Characteristics of the Medicinal Leech Species *Hirudo sulukii* and *Hirudo verbana*

© Naim Sağlam

Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Balık Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Cite this article as: Sağlam N. Tıbbi Sülük Türleri *Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*'nın İç ve Dış Morfolojik Özellikleri. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43(4):204-9.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı iki farklı tıbbi sülük (*Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*) türünün iç ve dış morfolojik yapılarının incelenmesiydi.

Yöntemler: Bu çalışma, 1995-2016 yılları arasında Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan tıbbi sülük örnekleri üzerinde yapıldı. Sülük örnekleri önce canlı olarak dıştan incelendi ve sonra %10 etil alkol ile bayıltıldı ve %70 etil alkol veya %4 formaldehit içinde tespit edildi. Tespit işleminden sonra sülüklerin iç morfolojisi stereo mikroskop altında diseke edilerek incelendi.

Bulgular: Her iki sülük türü dorso-ventral olarak yassılaşmıştır. *H. verbana*, *H. sulukii*'den daha büyük ve daha geniştir. *H. sulukii*, siyah, segmental olarak düzenlenmiş birleşik elipsoid ve uzun lekeler ve vücudunun dorso-lateralinde bir çift zikzaklı siyah uzunlamasına çizgiye sahiptir. *H. sulukii*'nin ventral yüzeyi yeşilimsi kahverengi renktedir ve az sayıda düzensiz siyah noktaya sahiptir. *H. verbana*'nın dorsal yüzeyi geniş ve dağınık paramedian turuncu çizgilidir. *H. verbana*'nın ventrali bir çift siyah ventro-lateral çizgiyle sınırlanmış yeşilimsi sarı renktedir.

Sonuç: Dünyada bulunan *Hirudo* cinsine ait toplam altı sülük türünden ikisi (*Hirudo sulukii* and *Hirudo verbana*) Türkiye'de bulunmaktadır. Bu iki sülük türü morfolojik olarak birbirinden önemli farklar göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Tıbbi sülükler, *Hirudo sulukii*, *Hirudo verbana*, morfolojik yapı

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to investigate the internal and external morphological structures of two species of medicinal leeches (*Hirudo sulukii* and *Hirudo verbana*).

Methods: Leech specimens were collected from various regions of Turkey between the years of 1995-2016. The leeches were first examined alive and later were stunned with 10% ethyl alcohol and fixed in 70% ethyl alcohol or 4% formaldehyde. After fixation, the internal morphology of leeches was examined by dissecting them under a stereo microscope.

Results: Both species of leeches are dorso-ventrally flattened. *H. verbana* is larger and broader than *H. sulukii*. *H. sulukii* has black, segmentally-arranged united ellipsoid and elongated spots, and a pair of zigzagged black longitudinal stripes in the dorso-lateral area of its body. The ventral surface of *H. sulukii* is greenish to brown in colour and has a small number of irregular black spots. *H. verbana* has broad and diffuse, paramedian, orange stripes on the dorsal surface. Ventrally, *H. verbana* has a greenish to yellow colour, and it is characterized by a pair of black ventro-lateral stripes.

Conclusion: Two of the six leech species (*Hirudo sulukii* and *Hirudo verbana*) belonging to the genus *Hirudo* found in the world are found in Turkey. These two leech species show significant differences from each other, morphologically.

Keywords: Medicinal leeches, *Hirudo sulukii*, *Hirudo verbana*, morphological structure

GİRİŞ

Sülükler, Annelida'nın Hirudinea sınıfında yer alan, kanla ve predatör olarak beslenen ve yaklaşık 650'den fazla türü bulunan canlı grubudur. Moleküler

tekniklerin gelişmesiyle her geçen gün yeni sülük türleri bulunduğu gibi bilinenlerin de isimlerinde değişiklikler olmaktadır. Predatör sülük türleri bazı omurgasızlar, Annelida'nın diğer türleri, böcek ve salyangozlar üzerinden beslenirler. Kan emen türler



Geliş Tarihi/Received: 21.05.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 08.08.2019

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Dr. Naim Sağlam, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Balık Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Tel/Phone: +90 539 619 32 35 **E-Posta/E-mail:** nsaglam@firat.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-3163-8432

başta omurgalılar ve memeliler olmak üzere, balık, kurbağa, kaplumbağa, yılan, salyangoz ve kabuklularda geçici ektoparazit olarak yaşarlar (1-3).

Sülükler çok eski çağlardan beri kan basıncını düşürmek için yaygın olarak kullanılmıştır. Tarihi eserlerde de sülüklerle tedavi konusunda bilgilere rastlanmaktadır (3-5). Sağlık Bakanlığı tarafından 2014 yılında çıkarılan Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Yönetmeliği çerçevesinde tıbbi sülüklerin kullanımı resmi olarak kabul görmüştür (6). Sülükler insanları tedavi edici canlılar olduğu gibi aynı zamanda omurgalı ve omurgasız canlılarda da parazit olarak beslenebilmektedirler. Tıbbi sülükler Osmanlılar zamanında yaygın olarak kullanıldığı gibi Fransız hastanelerinde de tıbbi amaçlarla 1830 yılında beş milyon civarında kullanılmıştır (7).

Geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarında *Hirudo* cinsine ait tıbbi sülük türleri kullanılmaktadır (3,8). ABD Gıda ve İlaç Dairesi 2004 yılında *H. medicinalis*'in ülkede satışına, genel amaçlarla, plastik cerrahi ve mikrocerrahide kullanımına onay vermiştir (9). Sağlık Bakanlığı tarafından 2014 yılında çıkarılmış olan Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği'nde (6) üretim yerinden ve steril sülük elde edilen işletmelerden temin edilmek şartıyla tıbbi sülüklerin (*H. medicinalis* ve *H. verbana*) Türkiye'deki kliniklerde yasal olarak tedavide kullanımına izin verilmiştir. Bu durum tıbbi sülüklerin iç piyasada kullanımını oldukça artırmış ve tıbbi sülük üretim ve yetiştiricilik tesislerinin açılmasını teşvik etmiştir.

Avrupa'da yoğun kullanım, doğadan aşırı toplama, çevre kirliliği, tarımda pestisit kullanımı ve sanayileşme nedenlerle tıbbi sülükler büyük ölçüde yok olmuşlardır (10). Bu nedenle, tıbbi sülük türlerinin toplanması ve ihracatı için Nesli Tehlikede Olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme kapsamında kota getirilmiştir (11).

Tıbbi sülüklerin vücudu dorso-ventral hafif yassılaşmış olup 10-15 cm kadar uzunluğa ulaşabilirler. Vücutları segmentlerden oluşmuş olup orta kısımdaki segmentler beş halkaya ayrılmıştır. Vücutlarının ön ve arka kısmında çekmenler yer almaktadır. Ön çekmen arka çekmene göre daha küçüktür. Canlı tıbbi sülüklerin renkleri zeytin yeşilinden kahverengiye kadar değişebilir (1-3,12,13).

Bu konunun hazırlanmasıyla, nesli tehlikede olan, geleneksel ve tamamlayıcı tıp uygulamalarında yaygın olarak kullanılan, hem ekonomik öneme sahip, hem de bir parazit olarak ülkemizde bulunan iki tıbbi sülük (*Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*) türünün birbirinden ayrımının morfolojik olarak rahat sağlanabilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu iki tıbbi sülük türüne ait hem iç hem de dış morfolojik yapının ortaya çıkarılması ve görüntülenmesi hedeflenmiştir.

YÖNTEMLER

Tıbbi Sülüklerin Toplanması

Bu çalışmada kullanılan tıbbi sülük örnekleri, Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yürütülen çalışmalar, projeler ve arazi gezileri sonucunda 1995-2016 yılları arasında toplanmıştır. Ayrıca tarafımıza teşhis amacıyla gönderilmiş olan tıbbi sülükler de bu çalışmada incelenmiştir. Çeşitli çalışmalarla toplanmış ve Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'nde stoklanmış olan bu tıbbi sülük türleri mikroskopta yeniden incelenerek tek

tek değerlendirilmiştir. Ayrıca arazi çalışmalarımız sırasında toplanan canlı tıbbi sülük türleri üzerinde de morfolojik ve görüntüleme çalışmaları yürütülmüştür. Bu araştırma sonucunda iki farklı tıbbi sülük türü (*Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*) grubu oluşturulmuştur.

Tıbbi Sülüklerin Bayıltılması ve Tespiti

Genital deliklerin ve gözlerin daha iyi görüntülenmesi için ilk olarak zayıf etanol (%10) kullanılmıştır (14). Sülüklerde hareket tamamen durana kadar veya numuneler taramaya tepki vermeyene kadar etanolün konsantrasyonu artırılarak yavaş yavaş eklenmiş ve sülükler 15-30 dakikalık bir süre zarfında tamamen bayıltılmıştır. Tıbbi sülüklerin gevşetilmesi için, canlı sülüklerin bulunduğu suyun içine %70'lik alkol yavaş yavaş eklendi ve sülüklerde hareket sona erene kadar yaklaşık 30 dakika boyunca konsantrasyon tedricen artırıldı. Bayıltma işlemi tamamlandıktan sonra sülük örneklerinin tespit işlemine geçildi. Sülük örneklerinin gelecekte genetiksel çalışmalarda kullanılabilmesi amacıyla %70 etanol ve diğer bir seri ise histolojik çalışmalarda kullanılmak üzere %4 oranında formalin ile tespit edildi. Bayıltmış olan sülük örneklerimiz parmaklarımız arasından hızlıca geçirilerek fazla mukustan temizlendi ve sülükler düzleştirildi. Sonra sülük örnekleri sabitlenerek düz tutuldu ve üzerine fiksatif olarak %70 alkol veya %4 formalin döküldü. Çok büyük sülük örneklerinin iç organlarının bozulmaması için enjektörle iç kısımlarına da %70'lik alkol veya %4'lük formalin enjeksiyonları yapıldı.

Tıbbi Sülüklerin Morfolojik İncelenmesi ve Teşhisi

Sülüklerin teşhis kriterlerine göre *Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana* olarak iki kategoriye ayrılmış olan sülük örneklerinin dorsal-ventral yüzeyleri total olarak resimlendi ve morfolojik özellikleriyle ayrımları yapıldı. Sonra her bir tıbbi sülük türünün göz yapısı, genital organlarının yerleşimi ve özellikleri, renklenme ve desen değişiklikleri, anterior ve posterior çekmenlerin özellikleri, çene yapısı ve benzerlikleri, iç organların yerleşimi Nikon SMZ745T marka mikroskop ve Kameram-5 marka mikroskop kamerasıyla görüntüleme ve resim birleştirme işlemleri yapıldı. Erkek ve dişi organların iç yapısının belirlenmesi için sülükler diseke edilerek yapısı görüntülendi. Tıbbi sülüklerin teşhisinde çeşitli kaynaklardan (1,15-17) yararlanıldı.

BULGULAR

Hirudo sulukii ve *Hirudo verbana*'nın Dış Yapısı

Her iki tıbbi sülük türünün vücudu dorsoventral olarak hafif yassılaşmıştır. Vücut segmentlerden oluşmuş olup orta segmentler beş halkalıdır.

Hirudo sulukii'nin uzunluğu, 27-117 mm, genişliği 3,7-12,0 mm olarak ölçülmüştür. Sülüğün dorsal yüzeyi değişken zeytin yeşilinden kahverengiye kadar değişmektedir. Kesikli siyah benek içeren bir çift turuncu paramedian ve kapsayıcı oval siyah benek içeren iki turuncu paramarjinal çizgiye sahiptir. Lateral kısımlarda zikzak tarzında siyah boyuna çizgileri vardır. Bu açıklama çerçevesinde *H. sulukii* dorsal yüzeyde sağda üç ve solda üç adet olmak üzere boyuna toplam altı çizgiye sahiptir (Şekil 1A). Vücut yüzeyinde çok sayıda küçük papilla bulunur. Ventral yüzey yeşilimsi kahverengi olup az sayıda düzensiz siyah benekler içermektedir (Şekil 1B).

Hirudo verbana'nın uzunluğu 55,4-123,0 mm arasında değişmekte olup, vücut genişliği 8,5-13,1 mm olarak ölçüldü. *H. verbana*'nın pigmentasyonu sarı, kırmızı, yeşil ve siyah renklerden oluşur. Dorsal kısımda kırmızımsı-turuncu tespih dizisi gibi veya dar siyah benekli şeritler vardır. Dorsa kısmın ortasında koyu yeşil veya bazen kahverengimsi bir bant yer alır. Her iki lateral kısımda daha turuncumsu renkte iki adet şerit bulunur ve bunlar bir çift oval benek tarafından kesilir. Vücut yüzeyi, çok sayıda küçük duyu papillası taşımaktadır (Şekil 2A). Ventral kısım sarımsı-yeşil pigmentasyona sahip olup lateralde siyah veya koyu kahverengi şeritler yer alır (Şekil 2B). Zaman zaman iki lateral şerit arasında da zemine dağılmış az sayıda siyah beneklere rastlanmaktadır.

***Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*'nın Göz Yapısı**

Her iki sülükte aynı halkada birer çift bulunmak üzere 5 çift göze sahiptir. Gözler, parabolik yay şeklinde anterior dorsalde siyah noktalar şeklinde yerleşmiştir. Bazen dorsal yüzeydeki siyah pigmentler nedeniyle dikkatle bakılmadığı zaman gözlerin bazı çiftlerinin görülmesi oldukça zor olabilmektedir. Gözlerin ilk üç çifti arka arkaya sıralanmıştır. Dördüncü göz çifti üçüncü göz çiftinden bir, beşinci göz çiftinden ise iki halkayla ayrılmıştır. Göz çiftleri II, III, IVa1, Va1 ve VIa2 halkalarda yerleşmiştir (Şekil 3A, B).

***Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*'nın Çekmen Yapısı**

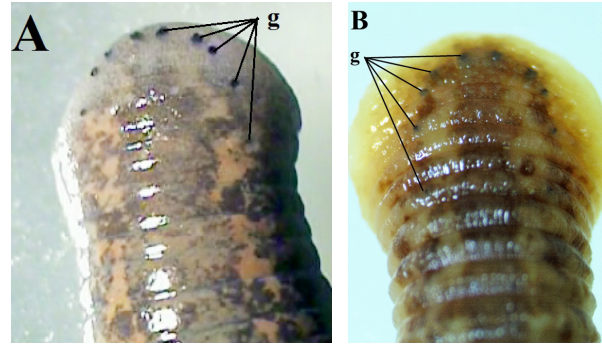
Her iki sülük türü anterior ve posteriorda ovalimsi veya yuvarlak tarzda çekmenler içermektedir. Anterior çekmen 6 segmentin birleşmesiyle oluşmuştur. Anterior çekmen genellikle posterior çekmenden daha küçüktür. Kaudal çekmen büyük, ancak

maksimum gövde genişliğini aşmaz. Her iki tıbbi sülük türünde de anterior çekmen çapı posterir çekmene göre daha küçüktür.

Hirudo sulukii'nin anterior çekmeni posterior çekmenden daha küçük olup 2,0-6,9 mm (Şekil 4A) posterior çekmeni ise 2,0-7,5 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 4B). *Hirudo verbana*'nın anterior çekmeni de posterior çekmenden daha küçük olup 4,2-7,6 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 5A). *Hirudo verbana*'nın posterior çekmeni ise 7,0-9,1 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 5B).

***Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*'nın Çene Yapısı**

Tıbbi sülükler üç adet çeneye sahiptirler çene anterior çekmenin içinde yaklaşık 2-3 mm içeride yer almaktadır. Çenelerin üzerinde çok ince ve ancak elektron mikroskop ile tespit edilebilecek büyüklükte dişler bulunmaktadır. Bu çalışmada



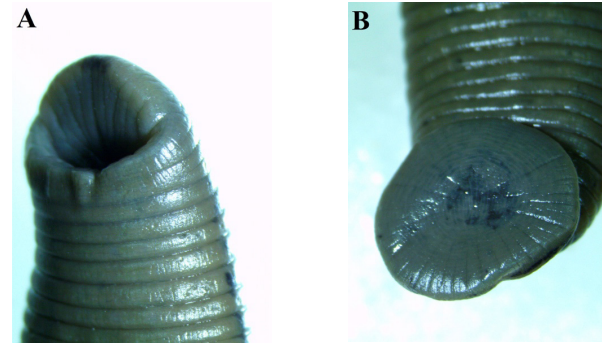
Şekil 3. Tıbbi sülük türlerinin gözlerinin sıralanışı ve görünüşü. A) *Hirudo verbana*'nın gözleri, B) *Hirudo sulukii*'nin gözleri (g: gözler)



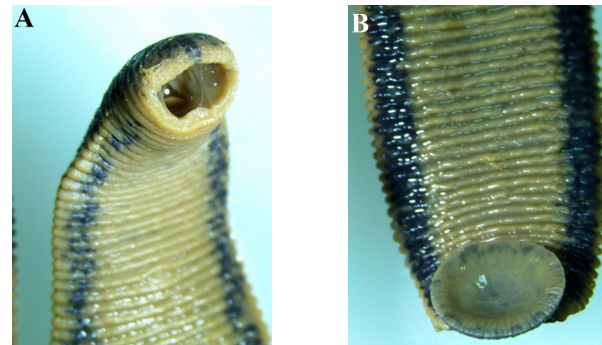
Şekil 1. *Hirudo sulukii*'nin dorsal, A) Ve ventral, B) Görünüş



Şekil 2. *Hirudo verbana*'nın dorsal, A) Ve ventral, B) Görünüş



Şekil 4. *Hirudo sulukii*'nin çekmenlerinin görünüşü. A) Anterior çekmen, B) Posterior çekmen



Şekil 5. *Hirudo verbana*'nın çekmenlerinin görünüşü. A) Anterior çekmen, B) Posterior çekmen

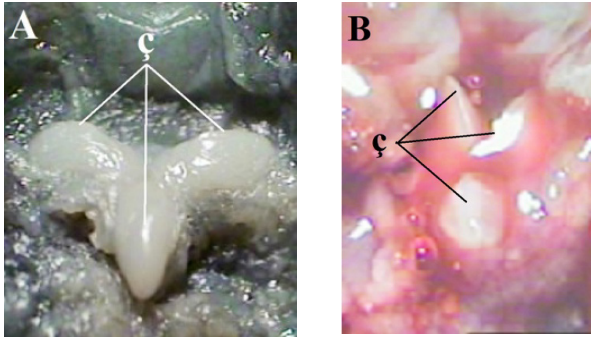
her iki tıbbi sülük türünün çeneleri görüntülenmesine rağmen dişleri görüntülenememiştir. *Hirudo sulukii*'nin (Şekil 6A) ve *Hirudo verbana*'nın (Şekil 6B) çeneleri birbirine oldukça benzer yapı göstermektedir. Her iki sülük türünün çeneleri de bir merkez etrafında birleşmiş olup çevreye doğru eşit mesafelerle yerleşmiştir. Kan emerken kesi attıkları zaman deride çene izini üç köşeli yıldız şeklinde görmek mümkündür. Ağız geniştir ve bütün anterior çekmeni kaplamıştır.

***Hirudo sulukii* ve *Hirudo verbana*'nın Üreme Sistemi**

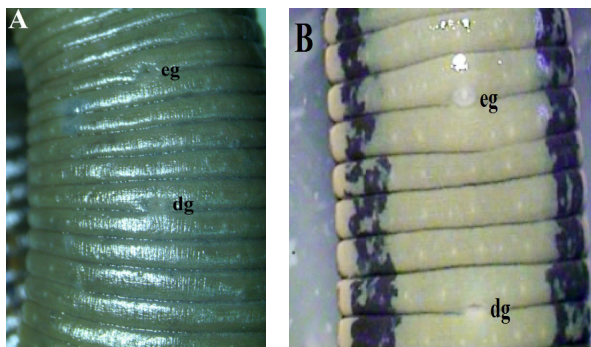
Her iki tıbbi sülük türünün de erkek ve dişi genital delikleri arasında beş halka bulunmaktadır. Erkek genital açıklığı (erkek gonopor) dişi genital açıklığa (dişi gonopor) göre biraz büyüktür. Erkek genital açıklık XI segmenin b5/b6 halkaları arasında, dişi genital açıklık ise XII segmentin b5/b6 halkaları arasında yerleşmiştir. *H. sulukii*'nin genital açıklığı Şekil 7A'da ve *H. verbana*'nın genital açıklığı ise Şekil 7B'de verilmiştir.

H. sulukii'nin epididimisi orta büyüklüktedir. *H. sulukii*'de ejakülasyon kanalı kısa ve küçüktür. Penis kılıfı belirgin olmakla beraber daha kısa yapılıdır. Vajina nispeten boru şeklinde ve katlanmış biçimdedir. Atriumu şişkindir ve uç kısmı sivrilmiş küt bir koniyi andırmaktadır. *H. sulukii* laterale yerleşmiş 10 adet testis kesesine sahiptir. Testis keseleri ovalimsi fasulye şeklinde olup orta büyüklüktedir, bazı testis keseleri diğerlerine göre büyük olabilmektedir. *H. sulukii*'nin ovidüktü kısa yapılıdır (Şekil 8A).

H. verbana'nın epididimisi biraz küçüktür. *H. verbana*'da ejakülasyon bulb daha uzun yapılıdır. Penis kılıfı uzun ve belirgindir. *H. verbana*'nın vajinası borumsu yapılıdır, fakat tipik şekilde şişme ve keskin bir katlanma göstermez. Atrium ovalimsi-



Şekil 6. *Hirudo sulukii*, A) Ve *Hirudo verbana*'nın B) Çenelerinin görünüşü (ç: Çeneler)



Şekil 7. Tıbbi sülüklerin genital açıklığının görünüşü. A) *Hirudo sulukii*'nin genital açıklıkları, B) *Hirudo verbana*'nın genital açıklıkları (eg: Erkek genital açıklığı, dg: Dişi genital açıklığı)

yuvarlak şekilde ve şişkindir. *H. verbana* 10 çift testis kesesine sahiptir. Testis keseleri ovalimsi uzun yapıdadır ve hemen hemen benzer büyüklüklerdedir. *H. verbana*'nın ovidüktü uzun yapılıdır (Şekil 8B).

TARTIŞMA

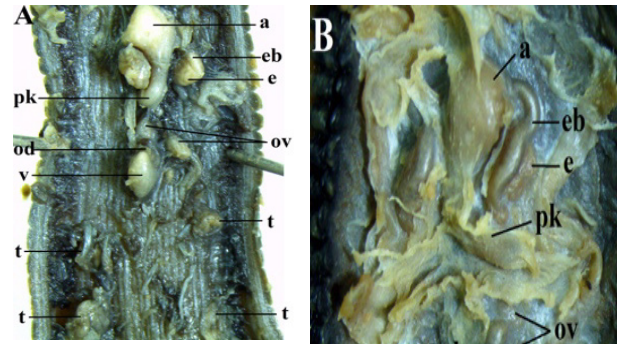
Türkiye'de bulunan tıbbi sülük türleri *Hirudo* genusu içinde yer almakta olup, bu genusa ait tıbbi sülükler Avrupa ülkeleri, Türkiye, Kuzey Afrika kıyıları, bazı Ortadoğu ülkeleri, Azerbaycan, Ukrayna ve Rusya'nın bazı kısımlarında dağılım gösterdiği bildirilmiştir (18-23). Ülkemiz'de ise *H. verbana*'nın varlığı belirtilirken son araştırmayla yeni bir tür olan *H. sulukii*'nin de yaşadığı saptanmıştır (16).

Şu anda *H. sulukii* ve *H. verbana* da dahil dünyada toplam altı *Hirudo* türünün yaşadığı bilinmektedir (16,24).

Yeni tespit edilmesi nedeniyle *Hirudo sulukii* üzerinde şuanda sadece bir makale bulunmaktadır. *H. sulukii* sadece Türkiye'nin Güney Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki üç farklı sulak alanda belirlenmiştir (16). Uzun bir zamandır toplanarak fakültemiz bünyesinde muhafaza edilen sülük örnekleri incelendiğinde bu sülük türünün sadece Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunduğu bir kez daha görülmüştür. *H. sulukii* tıbbi sülük türü şu anda ülkemizde bulunan endemik bir tür olarak değerlendirilebilir. Türkiye'nin diğer bölgelerinden toplanmış olan tıbbi sülükler incelendiğinde, özellikle dorsal desen bakımından *H. verbana*'dan bazı farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Ancak detaylı morfolojik ve iç yapı incelemelerinde bu farklı desen yapısı gösteren tıbbi sülük türlerinin de *H. verbana* türü olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada *H. sulukii* türü sülükler üzerinde yapılan ölçümler çerçevesinde uzunluğu, 27-117 mm, genişliği 3,7-12,0 mm olarak ölçülmüştür. Bu ölçümler Sağlam ve ark.'nın (16) çalışmalarında verilen vücut ölçüleri ile benzerlik göstermektedir. Hechtel ve Sawyer (25) tıbbi sülüklerin sahip olduğu dış pigmentasyonun yalnızca görünüm için değil, aynı zamanda tartışmasız *Hirudo* türlerini birbirinden ayıran en iyi karakter olduğunu belirtmişlerdir. Vücudun sahip olduğu desen ve renk yapısı hem dorsalde hem de ventralde Sağlam ve ark. (16) ile birebir örtüşmektedir.

Bu çalışmada, *H. verbana*'nın vücudu dorso-ventral yassılaştırmıştır. Uzunluğu 55,4-123,0 mm arasında değişmekte olup, vücut genişliği 8,5-13,1 mm olarak ölçüldü. *H. verbana*'nın parlak yeşil, sarı, siyah ve kırmızı renkler taşıması, dorsalde turuncu kırmızımsı, lateralde



Şekil 8. Tıbbi sülük türlerinin üreme sisteminin görünüşü. A) *Hirudo sulukii*'nin üreme sistemi, B) *Hirudo verbana*'nın üreme sistemi (a: Atrium, e: Epididimis, eb: Ejakülasyon bulb, od: Ovidükt, ov: Ovaryum kesesi, v: vajen, t: Testis kesesi)

ise sarımsı şerit içermesi, ventralde sarımsı yeşil zemin üzerinde laterale yakın iki koyu bant taşıması (17,20,23,26), bu çalışmada elde edilen dış morfolojik özelliklerle benzer bulunmuştur. *H. verbana* dorsal kısımda turuncu kırmızımsı tespih dizisi gibi veya dar siyah benekli şeritlere sahipken, *H. sulukii* sağ ve sol tarafta toplam altı belirgin çizgi taşımaktadır.

Bu çalışmada her iki tıbbi sülük türünün de 5 çift göz tespit edilmesi, gözlerin parabolik olarak anterior-dorsalde ilk üç çiftin arka arkaya sıralanmış olması ve dördüncü göz çiftiyle üçüncü göz çifti arasında bir, beşinci göz çiftiyle dördüncü göz çifti arasında ise iki halka bulunması ve göz çiftlerinin II, III, IV a1, V a1 ve VI a2 halkalarda lokalize olması, kaynaklarda (16,17,26-28) belirtilen *Hirudo* türlerine özel göz yapısını taşıdığını göstermektedir.

Her iki tıbbi sülük türü anterior ve posteriorda ovalimsi veya yuvarlak tarzda çekmenler içermekte olup *Hirudo*'nun diğer türlerinin taşıdığı özellikleri taşımaktadır. Anterior çekmen posteriore göre daha küçük olup ağız tüm anterior çekmeni kaplamış olması ve üç adet çene bulunması ve sülüğün vücut genişliğini aşmamış olması, diğer araştırmacıların (16,17,26-28) verdiği özelliklerle paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada belirlenmiş olan tıbbi sülüklerin genital açıklıkların segmental yerleşimi ve net bir şekilde gözlenebilmesi ve her iki tıbbi sülük türünde de erkek ve dişi genital açıklık arasında sabit beş halka bulunması diğer araştırmacıların (16,17,26-28) bulgularını destekler nitelikte bulunmuştur. Ancak *H. verbana*'nın yaklaşık 12-13 halka uzunluğunda olan penisinin *H. medicinalis*'e (28) göre daha uzun olduğu görülmüştür. *H. sulukii* ve *H. verbana*'nın üreme sistemi birbirine benzer olmakla beraber *H. sulukii*'nin epididimisi orta büyüklüktedir. *H. verbana*'nın ise buna karşılık biraz daha küçüktür. *H. sulukii*'de ejakülasyon bulb *H. verbana*'ya göre daha küçüktür. Hemen hemen neredeyse yarıya kadardır. *H. verbana*'nın penis kılıfı *H. sulukii*'ye göre biraz büyüktür. *H. sulukii*'nin vajeni nispeten boru şeklinde ve katlanmış biçimdedir. Fakat *H. verbana*'nın vajeni tipik şekilde borumsu ve şişkin yapıda olup keskin bir katlanma göstermez. Her iki sülük türünün de atriumu benzer büyüklükte olup, şişkindir ve uç kısmı sivrilmiş küt bir koniyi andırmaktadır. Ancak, *H. verbana*'nın atriumu *H. sulukii*'ye göre daha yuvarlak bir yapı göstermektedir. Her iki tıbbi sülük türü de 10 adet laterale yerleşmiş testis kesesine sahiptir. *H. sulukii*'nin testis keseleri ovalimsi fasulye şeklinde olup, *H. verbana* ovalimsi uzun yapıdadır. *H. sulukii*'nin ovidüktü *H. verbana*'ya göre daha kısa yapılıdır.

Ülkemizde sülüklerin tıbbi olarak kullanımlarına onay (6) verilmesiyle beraber tıbbi sülüklerin hastane ve kliniklerdeki kullanımı da her geçen gün artmaya ve sülükle tedavi merkezleri kurulmaya başlamıştır.

Tıbbi sülüklerin biyoaktif maddeleri üreterek tedavi amacıyla insanlarda kullanıldığı ve bu biyoaktif maddelerin sülüklerin tükürük bezlerinde üretildiği çeşitli araştırmalarla ortaya koyulmuştur (29-31).

SONUÇ

Bu araştırmada da *H. sulukii* ve *H. verbana*'nın çok iyi gelişmiş tükürük bezlerine sahip olduğu belirlenmiştir. *H. verbana*'nın tükürük bezlerinin 15 halka uzunluğunda olduğu belirlenirken *H. sulukii*'nin tükürük bezlerinin ise daha kısa olduğu ve 10 halka uzunluğunda olduğu saptanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu projenin finansal olarak desteklenmesinde katkısı bulunan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birim'ine (FÜBAP) çok teşekkür ederiz.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelikte belirtildiği üzere Etik Kurul Onay Belgesi omurgalı hayvanlar için gereklidir. Tıbbi sülükler omurgasız canlılar olduğu için "deney hayvanı" tanımına dahil edilmemektedir. Bu nedenle bu çalışma için Etik Kurul Onay Belgesi alınmamıştır.

Hasta Onayı: Mevzuat gereği hasta onayı alınmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Finansal Destek: Bu projenin finansal olarak desteklenmesinde Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin (FÜBAP) katkısı bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Govedich FR, Bain BA, Moser WE, Gelder SR, Davies RW, Brinkhurst RO. Annelida (Clitellata) Oligochaeta, Branchiobdellida, Hirudinida, and Acanthobdellida. In: Thorp JH, Covich AP, editors. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrate. Third Edition ed. San Diego, CA: Academic Press / Elsevier; 2010. p. 385-436.
- Sawyer RT. Leech Biology and Behavior. United Kingdom: Clarendon Press, Oxford; 1986. 1065 p.
- Godekmerdan A, Arusan S, Bayar B, Sağlam N. Tıbbi Sülükler ve Hirudoterapi. Türkiye Parazitoloji Dernegi 2011;35:234-9.
- Mory RN1, Mindell D, Bloom DA. The leech and the physician: biology, etymology, and medical practice with Hirudinea medicinalis. World J Surg 2000;24:878-83.
- Papavramidou N, Christopoulou-Aletra H. Medicinal use of leeches in the texts of ancient Greek, Roman and early Byzantine writers. Intern Med J 2009;39:624-7.
- Anonim. Geleneksel Ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği. Ankara: 27 Ekim 2014 tarih ve 29158 sayılı Resmi Gazete. Sağlık Bakanlığı; 2014.
- Sağlam N. Tıbbi Sülükler ve Ticareti. SUMDER 2012;43-49:52-8.
- Singh AP. Medicinal leech therapy (hirudotherapy): a brief overview. Complement Ther Clin Pract 2010;16:213-5.
- FDA. Indications for Use of Medicinal Leeches (*Hirudo medicinalis*). In: Services USFaDADoHaH, editor: U.S. Food and Drug Administration; 2004.p.5.
- Sağlam N. The effects of environmental factors on leeches. Adv Agr Environ Sci 2018;1:1-3.
- Anonim. Nesli Tehlikede olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme. Ankara: 20 Haziran 1996 tarih ve 22672 Sayılı Resmi Gazete; 1996. 16-115 p.
- Moser WE, Govedich FR, Klemm DJ. Annelida, Euhirudinea (leeches). In: Likens GE, editor. Encyclopedia of Inland Waters. UK: Elsevier Ltd, Oxford; 2009.p.116-23.
- Mann KH. Leeches (Hirudinea). Their Structure, Physiology, Ecology and Embryology. Kerkut GA, editor. Oxford, London, New York, Paris: Pergamon Press; 1962. 201 p.
- Klemm DJ, Lewis PA, Fulk F, Lazorchak JM. Macroinvertebrate Field and Laboratory Methods for Evaluating the Biological Integrity of Surface Waters. EPA 1990;45268:256p.
- Klemm DJ. Identification guide to the freshwater leeches (Annelida: Hirudinea) of Florida and other southern states.

16. Sağlam N, Saunders R, Lang SA, Shain DH. A new species of Hirudo (Annelida: Hirudinidae): historical biogeography of Eurasian medicinal leeches. BMC Zoology 2016;1:1-12.
17. Nesemann H, Neubert E. Annelida: Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellae, Hirudinea. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, 1999. 178p.
18. Darabi-Darestani K, Sari A, Utevska O, Utevsky SY. Coloration pattern in populations of the eastern medicinal leech, Hirudo orientalis Utevsky & Trontelj, 2005 (Clitellata, Hirudinida): geographical distribution and life history. Zoomorphology 2016;135:291-303.
19. Kovalenko MV, Utevsky SY. Size structures and comparative phenology of syntopic populations of Hirudo verbana and Hirudo medicinalis in eastern Ukraine. Biologia 2012;67:934-8.
20. Trontelj P, Utevsky SY. Celebrity with a neglected taxonomy: molecular systematics of the medicinal leech (genus Hirudo). Mol Phylogenet Evol 2005;34:616-24.
21. Trontelj P, Utevsky SY. Phylogeny and phylogeography of medicinal leeches (genus Hirudo): Fast dispersal and shallow genetic structure. Mol Phylogenet Evol 2012;63:475-85.
22. Utevsky S, Zgamaister M, Atemasov A, Zinenko O, Utevska O, Utevsky A, et al. Distribution and status of medicinal leeches (genus Hirudo) in the Western Palaearctic: anthropogenic, ecological, or historical effects? Aquat Conserv 2010;20:198-210.
23. Utevsky SY, Trontelj P. A new species of the medicinal leech (Oligochaeta, Hirudinida, Hirudo) from Transcaucasia and an identification key for the genus Hirudo. Parasitol Res 2005;98:61-6.
24. Moquin-Tandon A. Monographie de la Famille des Hirudinees: Montpellier: Maison de Commerce; 1827.
25. Hechtel FOP, Sawyer RT. Toward a taxonomic revision of the medicinal leech *Hirudo medicinalis* Linnaeus, 1758 (Hirudinea : Hirudinidae): re-description of *Hirudo troctina* Johnson, 1816 from North Africa. J Nat Hist. 2002;36:1269-89.
26. Sağlam N. Tıbbi Sülük Biolojisi. In: Tanyüksel M, Mumcuoğlu KY, editors. Multidisipliner Yaklaşımlı Biyolojik Temelli Doğal Tedaviler – Biyoterapi (Apiterapi, Hirudoterapi, Maggot Tedavi ve İhtiyoterapi. İzmir: Parazitoloji Derneği Yayın No: 25. Meta Basım; 2015. p. 277-82.
27. Kutschera U. The *Hirudo medicinalis* species complex. Naturwissenschaften 2012;99:433-4.
28. Kutschera U, Elliott J. The European medicinal leech *Hirudo medicinalis* L.: Morphology and occurrence of an endangered species. Zoosyst Evol 2014;90:271-80.
29. Muller C, Mescke K, Liebig S, Mahfoud H, Lemke S, Hildebrandt JP. More than just one: multiplicity of Hirudins and Hirudin-like Factors in the Medicinal Leech, *Hirudo medicinalis*. Mol Genet Genomics 2016;291:227-40.
30. Kvist S, Min GS, Siddall ME. Diversity and selective pressures of anticoagulants in three medicinal leeches (Hirudinida: Hirudinidae, Macrobdellidae). Ecol Evol 2013;3:918-33.
31. Baskova IP, Kostjukova ES, Vlasova MA, Kharitonova OV, Levitskiy SA, Zavalova LL, et al. Proteins and peptides of the salivary gland secretion of medicinal leeches *Hirudo verbana*, *H. medicinalis*, and *H. orientalis*. Biochemistry (Mosc) 2008;73:315-20.

Visceral Leishmaniasis in A Patient Presenting with Fever of Unknown Origin: A Case Report From a Low-endemic Region of Turkey

Türkiye'nin Düşük Endemik Bölgesinden Nedeni Bilinmeyen Ateşle Başvuran Bir Visseral Leyişmaniyaz Olgusu

● Muhammed B. Jaiteh¹, ● Nursel Çalık Başaran¹, ● Lale Özışık¹, ● Orkun Akman⁴, ● Nasib Hasanlı²,
● Sema Tortop³, ● Büşra Betül Özmen Çapın³, ● Sabine Hüseyinova¹, ● Ayşegül Üner⁴,
● Ahmet Çağkan İnkaya²

¹Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Ankara, Turkey

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ankara, Turkey

³Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Microbiology, Ankara, Turkey

⁴Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara, Turkey

Cite this article as: Jaiteh MB, Başaran Çalık N, Özışık L, Akman O, Hasanlı N, Tortop S, Çapın Özmen BB, Hüseyinova S, Üner A, İnkaya AÇ. Visceral Leishmaniasis in A Patient Presenting with Fever of Unknown Origin: A Case Report From a Low-endemic Region of Turkey. . Türkiye Parazitol Derg 2019;43(4):210-2.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a neglected disease that is prevalent in tropical and subtropical regions of the world. Even though cutaneous leishmaniasis is the most common form, visceral leishmaniasis is associated with high mortality. The case presented herein is a 39 year-old bed-ridden female who presented with fever of unknown origin, tachypnea and pancytopenia. She was initially misdiagnosed as having autoimmune pancytopenia elsewhere and treated with corticosteroids and intravenous immunoglobulin. She had also received wide-spectrum antibiotics for febrile neutropenia. We performed a leishmania rK39 dipstick test which turned out to be positive along with visualisation of amastigote forms of leishmania on bone marrow biopsy. Thus, we made a diagnosis of visceral leishmaniasis and treated her with liposomal amphotericin B. Her clinical course was complicated by respiratory failure necessitating invasive mechanical ventilation. She responded well to treatment and was later extubated, shortly before being discharged. At 6 months of follow-up, no sign of recurrence was observed.

Keywords: Visceral leishmaniasis, fever of unknown origin, pancytopenia

ÖZ

Leyişmaniyaz, tropik ve subtropik bölgelerde sık görülen ihmal edilmiş bir hastalıktır. Kutanöz leyişmaniyaz en sık görülen formu olsa da visseral leyişmaniyaz yüksek mortalite ile ilişkili olanıdır. Bu olgu sunumunda nedeni bilinmeyen ateş, takipne ve pansitopeni ile prezente olan 39 yaşında yatağa bağımlı bir kadın hasta rapor edilmektedir. Başka bir merkezde otoimmün pansitopeni tanısı ile kortikosteroid ve intravenöz immünoglobulin tedavileri, febril nötropeni için geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi almıştır. Hastanın merkezimizde yapılan leyişmaniyaz rK39 dipstik testi pozitif sonuçlandı ve kemik iliği biyopsisinde amastigot formları görüldü. Hastaya visseral leyişmaniyaz tanısı konularak lipozomal amfoterisin B tedavisi başlandı. Klinik seyri invaziv mekanik ventilasyonu gerektirecek solunum yetmezliği ile komplike oldu. Tedaviye iyi yanıt veren hasta ekstübe edildi ve daha sonra taburcu edildi. Taburculuktan 6 ay sonraki kontrolünde relaps bulgusu saptanmadı.

Anahtar Kelimeler: Visseral leyişmaniyaz, nedeni bilinmeyen ateş, pansitopeni

INTRODUCTION

Leishmaniasis is prevalent mainly in tropical and subtropical regions and in South Europe, and is listed among the neglected tropical diseases by the World

Health Organisation (1). Four major clinical forms of human leishmaniasis exist: cutaneous leishmaniasis (CL), visceral leishmaniasis (VL, also known as Kala-Azar) including its complication of post-kala-azar



Received/Geliş Tarihi: 05.05.2019 Accepted/Kabul Tarihi: 21.10.2019

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Muhammed B. Jaiteh MD, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Ankara, Turkey

Phone/Tel: +90 553 304 29 63 E-mail/E-Posta: muhammed.jaiteh@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-9904-6663

dermal leishmaniasis and mucocutaneous leishmaniasis (1). Estimates for CL range from 0.7 to 1.2 million cases, and for VL, this number is less than 100,000 annually (2). According to World Health Organization, more than 90% of cases between 2008 and 2010 occurred in six countries: Bangladesh, Brazil, Ethiopia, India, South Sudan and Sudan. Turkey is considered as a high-burden country for CL but not for VL (3,4). Within the past 15 years, most cases have been reported from the Eastern and Southeastern Anatolian regions. Two hundred and seven VL cases were reported from Turkey between 2005 and 2014 predominantly in the Mediterranean and Aegean regions of the country (5). The main etiologic agent is *Leishmania infantum* (6). Here, we present a case of VL in a cerebral palsy (CP) patient presenting with fever of unknown origin (FUO).

CASE REPORT

A 39-year-old female with CP and epilepsy who hails from a rural settlement of Zonguldak (Western Black Sea Region of Turkey), initially presented at a local hospital 2 months earlier because of fever. She was diagnosed with autoimmune pancytopenia because of a positive direct Coombs, RF and a low haptoglobin levels and marked hepatomegaly. She received pulse methylprednisolone, intravenous immunoglobulin, granulocyte colony-stimulating factor and broad-spectrum antibiotics. As she did not defervesce, she was referred to our center for further investigation. On admission, she was febrile (39.5 °C), tachypneic (30/minute), hypotensive (90/60 mmHg), and tachycardic (100/minute). She was bed-ridden living with her parents and four siblings all of whom denied recent illness. Physical examination revealed an acutely ill, mentally retarded patient. A marked hepatomegaly, diminished breath sounds and mild pretibial edema were noted. Laboratory tests revealed pancytopenia with an absolute neutrophil count of 400/mm³, hypoalbuminemia (1.98 g/dL) without accompanying proteinuria, and a markedly elevated inflammatory markers (procalcitonin: 2.73 ng/mL, C-reactive protein: 21.4 mg/dL and erythrocyte sedimentation rate: 27 mm/hour). She developed respiratory failure necessitating invasive mechanical ventilation. Abdominal imaging showed marked hepatomegaly (20 cm). rK39 dipstick test for *Leishmania* spp. was positive (Figure 1), later confirmed by microscopic examination of the bone marrow biopsy (Figure 2a, 2b). A 5-day course of liposomal amphotericin B (LAmB) at a dose of 3 mg/kg/day was administered with additional doses on days 14 and 21. During follow-up she developed staphylococcal bacteremia and pneumonia which were successfully treated with adequate antibiotics. The patient was later discharged uneventfully.

DISCUSSION

This case, herein presented, highlights a case of FUO who had been erroneously diagnosed with autoimmune pancytopenia but later found to have VL. Her clinical course was complicated by respiratory failure requiring invasive mechanical ventilation.

Fever and pancytopenia are common presentations of VL. However, etiology of fever in such patients may not be apparent at the onset. This case demonstrates that VL should be suspected in cases of FUO especially when accompanied by bone marrow failure. Several case reports and series highlighted the frequent misdiagnosis associated with VL: most commonly in the form of

hematological malignancies and aplastic anemia (7-9). Indeed, in certain geographical locations, VL is the most common infectious cause of FUO (10).

Two factors related to the case presented would have made the diagnosis of VL highly unlikely. The first is the fact that Western Black Sea Region of Turkey is a low-incidence area for

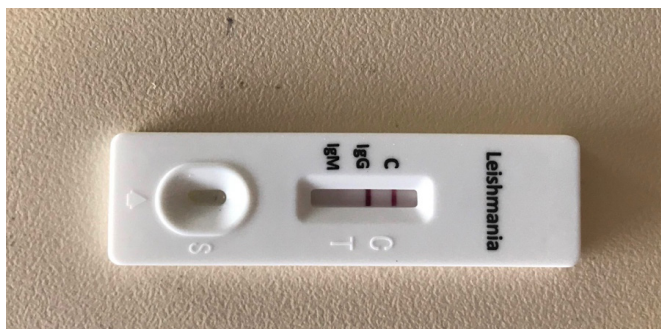


Figure 1. Rapid rK39 immunochromatographic test (dipstick test) showing positivity for *Leishmania* spp.

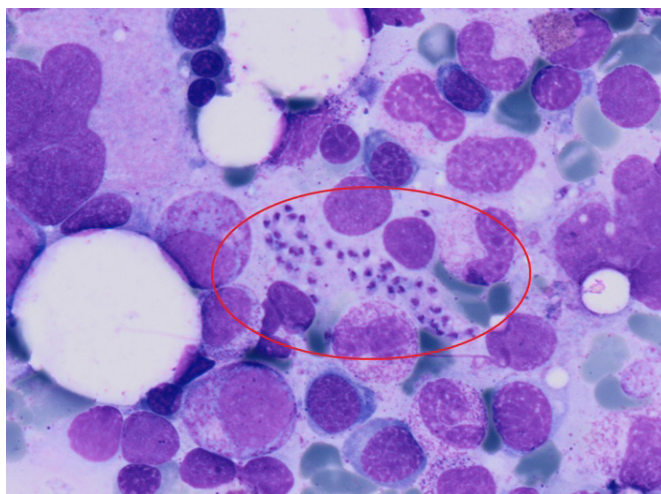


Figure 2a. Amastigote forms visualised on MGG-stained slides (shown by red oval) of bone marrow aspirate and biopsy material

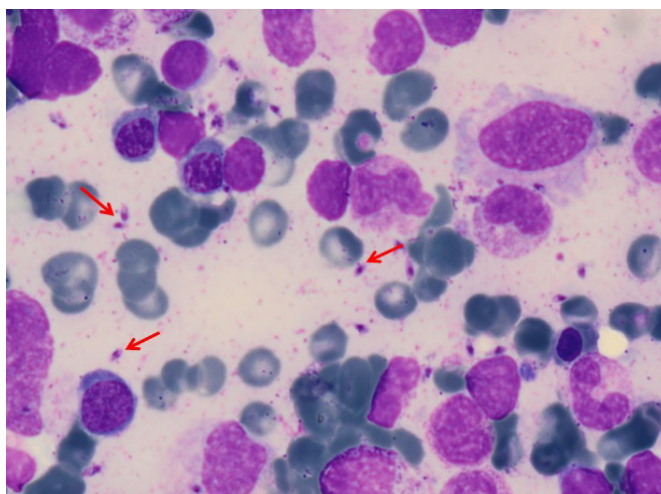


Figure 2b. Amastigote forms visualised on Giemsa-stained slides (red arrows) of bone marrow aspirate and biopsy material

VL as opposed to the Aegean and Mediterranean Regions of the country (6). According to a WHO report, in 2013 no case of VL was reported from Zonguldak province (where the patient lived) compared to 22 cases nationwide (11). The other is the lack of a particularly high index of suspicion for VL at the beginning; which prevented specific diagnostic tests to be undertaken.

Diagnosis of VL, as discussed above, is not always straightforward. Foremost, there must be clinical suspicion followed by confirmatory laboratory tests. The presence of an otherwise unexplained fever and hepatosplenomegaly associated with cytopenia should arouse suspicion for VL. Under certain settings, especially in low-resource countries, a diagnostic algorithm based on clinical findings may be helpful. For example, a guideline prepared by the Ethiopian Government in collaboration with WHO used a case definition for VL as the presence of fever for more than 2 weeks alongside splenomegaly and/or lymphadenopathy or either wasting, anemia or leukopenia (12).

Parasitological diagnosis using bone marrow, spleen and lymph node aspirates is the gold standard to confirm VL. However, they are invasive and require qualified and trained personnel. Despite their varying sensitivity and specificity, point-of-care tests including rK39 dipstick and the direct agglutination test have the advantage of ease of use in field conditions. Other serological tests including ELISA and IFAT (which both cannot adequately diagnose relapse) and the molecular method using PCR are highly sensitive and specific, albeit costly and cannot be performed in the field (13). We used rK39 rapid test alongside bone marrow biopsy in our patient for diagnosis.

LAmB is the preferred choice of treatment for VL especially in resource-rich settings, because of its efficacy and better toxicity profiles compared to amphotericin B deoxycholate. (14). In one study, 17 patients were successfully treated with LAmB and 2 others with meglumine antimoniate (7). Other treatment options include amphotericin B deoxycholate, antimony-based compounds (sodium stibogluconate and meglumine antimoniate), paromomycin and the oral drug miltefosine (14). The patient in this case report was successfully treated with a course of LAmB.

CONCLUSION

VL is a potentially fatal parasitic disease that warrants prompt diagnosis and treatment. VL should be considered in the differential diagnosis of FUO associated with organomegaly and bone marrow failure even in non-endemic regions. Simple diagnostic algorithms could be helpful.

* Ethics

Informed Consent: A consent form was completed by all participants.

Peer-review: Externally and internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Concept: M.B.J., A.Ç.İ., N.Ç.B., S.H., Design: M.B.J., A.Ç.İ., N.Ç.B., L.Ö., Analysis or Interpretation: M.B.J., A.Ç.İ., N.Ç.B., L.Ö., S.H., O.A., B.B.Ö.Ç., S.T., A.Ü., Literature Search: M.B.J., S.H., A.Ç.İ., N.Ç.B., N.H., Writing: M.B.J., S.H., A.Ç.İ., N.H., N.Ç.B., L.Ö., S.T., B.B.Ö.Ç.

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

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

REFERENCES

1. World Health Organization. Leishmaniasis. Available from: http://www.who.int/leishmaniasis/disease/clinical_forms_leishmaniasis/en/index2.html
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Epidemiology and Risk factors of Leishmaniasis. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/epi.html>
3. World Health Organization. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the control of leishmaniasis. WHO Technical Report Series: 2010 Mar. Report no.: 949.
4. World Health Organization. Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. Weekly Epidemiological Record 2016;91:285-96.
5. Gürel MS, Yeşilova Y, Ölgün MK, Özbel Y. Cutaneous leishmaniasis in Turkey. Türkiye Parazitol Derg 2012;36:121-9.
6. Koltas IS, Eroglu F, Alabaz D, Uzun D. The emergence of *Leishmania major* and *Leishmania donovani* in southern Turkey. Trans R Soc Trop Med Hyg 2014;108:154-8.
7. Pullukçu H, Turgay N, Işıkgöz Taşbakan M, Akyol D, Sipahi OR, Yamazhan T, et al. Fever of Unknown Origin and Visceral Leishmaniasis: a series of 20 Adult Patients. FLORA 2018;23:92-4.
8. Kawakami A, Fukunaga T, Usui M, Asaoka H, Noda M, Nakajima T, et al. Visceral Leishmaniasis misdiagnosed as malignant lymphoma. Intern Med 1996;35:502-6.
9. Ozensoy Toz S, Sakru N, Ertabaklar H, Demir S, Sensgul M, Ozbel Y. Serological and Entomological Survey of Zoonotic Visceral Leishmaniasis in Denizli Province, Aegean Region, Turkey. New Microbiologica, 2009;32:93-100.
10. Bosilkovski M, Dimozva M, Stevanovic M, Cvetkovska VS, Duganovska M. Fever of unknown origin—diagnostic methods in a European developing country. Voinosanit Pregl 2016;73:553-8.
11. World Health Organization. Available from: https://www.who.int/leishmaniasis/resources/Turkey_CP_2014.pdf
12. Bekele T. Guideline for diagnosis, treatment and prevention of visceral leishmaniasis in Ethiopia. 2nd ed. 2013
13. Srivastava P, Dayama A, Mehrotra S, & Sundar S.. Diagnosis of visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 2011;105:1-6.
14. Moore EM, Lockwood DN. Treatment of Visceral Leishmaniasis. J Glob Infect Dis 2010;2:151-8.

An Oral Myiasis Case Caused by Diptera (Calliphoridae) Larvae in Turkey

Türkiye’de Diptera (Calliphoridae) Larvalarının Neden Olduğu Bir Oral Miyazis Olgusu

© Zeynep Taş Cengiz¹, © Hasan Yılmaz¹, © Yunus Emre Beyhan¹, © Ümit Yakan², © Abdurrahman Ekici¹

¹Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Van, Turkey

²Finike State Hospital, Clinic of Infection Diseases and Clinical Microbiology, Antalya, Turkey

Cite this article as: Taş Cengiz Z, Yılmaz H, Beyhan YE, Yakan Ü. An Oral Myiasis Case Caused by Diptera (Calliphoridae) Larvae in Turkey. Türkiye Parazitoloj Derg 2019;43(4):213-5.

ABSTRACT

The objective of the present study is to present a patient with oral myiasis caused by Calliphoridae larvae. The patient was a 63-year-old male who was transferred from Van Closed Prison to Yüzüncü Yıl University, Faculty of Medicine Research and Application Hospital. Five alive larvae localized in different points of gingival region were observed during routine oral cleaning. These larvae belonged to Calliphoridae family. As a result, medical staff should be informed about this infestation and this parasite should be kept in mind especially in risky group of patients and necessary controls should be conducted.

Keywords: Oral myiasis, diptera, Calliphoridae

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, Calliphoridae larvalarının neden olduğu oral bir miyaz olgusunu sunmaktır. Olgu, Van Kapalı Cezaevi’nden Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi’ne transfer edilen 63 yaşında bir erkek hastaydı. Rutin ağız temizliği sırasında farklı gingival bölgelerde lokalize olmuş beş adet canlı larva gözlemlendi. Bu larvaların Calliphoridae familyasına ait olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, sağlık çalışanları bu enfestasyon hakkında bilgilendirilmeli ve özellikle riskli hasta gruplarında bu parazit düşünülerek gerekli kontroller yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Oral miyaz, diptera, Calliphoridae

INTRODUCTION

Myiasis is defined as an infestation of live humans and vertebrate animals by larvae of Diptera, which for a certain period feed on the host’s dead or living tissues, body liquids, substances or ingested food (1). Based on the anatomic sites, affected myiasis is subdivided into cutaneous myiasis, myiasis of external orifices (aural, ocular, nasal, oral, vaginal and anal), and myiasis of internal organs (intestinal and urinary). Flies that cause myiasis are classified into seven different families (Calliphoridae, Sarcophagidae, Oestridae, Hypodermatidae, Gasterophilidae, Glossinidae and Muscidae) (2,3).

Oral myiasis is a condition in which soft tissues of the oral cavity are invaded by the larvae of flies (1).

Cochliomyia hominivorax, *Wohlfahrtia magnifica*, *Musca domestica*, *Musca nebulosa*, *Chrysomya bezziana*, *Oestrus ovis*, *Hypoderma bovis*, *Hypoderma tarandi*, *Gasterophilus intestinalis*, and *Calliphora vicina* are reported in oral myiasis cases in the world (4). Oral myiasis cases are caused by *W. magnifica*, *H. bovis*, *Sarcophaga* spp. and *Calliphora* spp. have been reported in Turkey (2,3,5-7).

Oral myiasis has been related to bad oral hygiene, anterior open bite, which is an orthodontic disorder, neurological deficit or psychiatric disorders and alcoholism (8,9). Pain and swelling of the mouth, the teeth, the lips, or the palates and a sensation of movement are some of the reported symptoms related to oral myiasis (4).



Received/Geliş Tarihi: 07.01.2019 Accepted/Kabul Tarihi: 01.11.2019

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Zeynep Taş Cengiz MD, Van Yüzüncü Yıl University Faculty, Department of Parasitology, Van, Turkey

E-mail/E-Posta: yebeyhan@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-5247-5644

The objective of this study is to present an oral myiasis case induced by Calliphoridae larvae.

CASE REPORT

The case was a 63 years old male patient transferred from Van Closed Prison to Yüzüncü Yıl University, Faculty of Medicine Research and Application Hospital. Intracerebral hemorrhage, respiratory failure and hypertension were determined in the patient at the emergency room. Following the diagnosis, the patient was transferred to anesthesiology and reanimation intensive care unit. General assessment of the patient was poor and he was unconscious. The patient who was connected to the mechanical ventilator suffered multiple organ failure. It was observed that general condition of the patient deteriorated every day. During intensive care follow-up of the patient, five alive larvae localized in different points of gingival region were observed during routine oral cleaning. These larvae were collected from the patient's mouth and oral cleaning was completed. A mild erythema was detected in gingival region of the patient. It was also observed that the patient's oral and dental hygiene was poor and these locations provided an ideal media for the larvae to settle (Figure 1). The patient died 6 days after his acceptance in the hospital.

Larvae collected from the patient's mouth were measured and found that they had a mean length of 9-10 mm. The larvae were examined under stereo microscope and posterior end lateral cross-sections were obtained to determine the larva period and taxonomic definition. These cross sections were stored in 30% potassium hydroxide until they became transparent. The diagnosis of the larvae was made by evaluating both posterior spiracle structures and other morphological features (10). It was understood that the agents were the 3rd period larva of flies that belong to Calliphoridae family (Figure 2, 3).

DISCUSSION

Oral myiasis is observed rarely and only under certain conditions in humans. In cases reported in different countries, it was observed that fly larvae of different species caused myiasis (2,3,9,11,12).

O. ovis was identified in a 5 years old child who had poor living

conditions and with poor oral hygiene and whose family members were ranchers in Italy (1), *M. domestica* was identified in a 45 years old male patient with a history of trauma in India (11), *C. bezziana* was identified in a paralyzed 89 years old female in Hong Kong (12), *Lucilia sericata* was identified in a 32 years old male patient who was an inpatient at an intensive care unit after surgical complications in Spain (9). Furthermore, oral myiasis was diagnosed in a 12 years old male adolescent with neurological deficit in India, however the agent species was not determined in that case (8).

In Turkey, *W. magnifica* was identified in a 43 years old male patient with poor oral hygiene (3); *Sarcophaga* spp. was identified in a 15 years old male adolescent with tuberculosis meningitis (2); *H. bovis* was identified in a 4 years old girl (5) and *Calliphora* spp. was determined in a 26 years old male farmer (6). In these cases, erythematous gingival lesion (2), edema, bleeding (6), lip swelling, mouth dryness (5), erythema and edema (3) have been detected.

In the present study, it was observed that the case had poor oral hygiene and a mild erythema (Figure 1). Furthermore, it was clear that the psychological status of the case was far from perfect under penitentiary conditions. Due to these preliminary conditions, it was understood that the presence and development of the larvae in the mouth were not recognized by the patient.

As a result, it was determined that medical staff should be informed about this infestation and consider this parasite especially in risk group patients and conduct necessary controls.



Figure 2. Calliphoridae family 3rd period larva (Original)



Figure 1. Larvae in the gingival region of the patient (Original)



Figure 3. Posterior stigma of Calliphoridae family 3rd period larva (Original)

*** Ethics**

Informed Consent: Patient consent was not obtained.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

*** Authorship Contributions**

Surgical and Medical Practices: Y.E.B., Ü.Y., Concept: Z.T.C., Y.E.B., Design: H.Y., Data Collection or Processing: Z.T.C., H.Y., A.E., Analysis or Interpretation: Z.T.C., A.E., Ü.Y., Literature Search: Z.T.C., Writing: Z.T.C., H.Y., Y.E.B.

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

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

REFERENCES

1. Raffaldi I, Scolfaro C, Pinon M, Longo S, Savoia D, Tovo PA. A strange gingival swelling in an Italian child: a case of oral myiasis. *Infez Med* 2013;21:56-9.
2. Yazar S, Dik B, Yalçın Ş, Demirtaş F, Yaman O, Öztürk M, et al. Nosocomial oral myiasis by *Sarcophaga* sp. in Turkey. *Yonsei Med J* 2005;46:431-4.
3. Çetin Özdemir E, Ekşi F, Şenyurt SZ, Üstün K, Karaoğlu İ, Erciyas K. A case of gingival myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*. *Mikrobiyol Bul* 2014;48:512-7.
4. Francesconi F, Lupi O. Myiasis. *Clin Microbiol Rev* 2012;25:79-105.
5. Erol B, Unlü G, Balci K, Tanrikulu R. Oral myiasis caused by *Hypoderma bovis* larvae in a child: a case report. *J Oral Sci* 2000;42:247-9.
6. Gursel M, Aldemir OS, Ozgur Z, Ataoglu T. A rare case of gingival myiasis caused by Diptera (Calliphoridae). *J Clin Periodontol* 2002;29:777-80.
7. Özcel MA, Özbek Y, Ak M. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. İzmir: Meta Basım; 2007.
8. Bhola N, Jadhav A, Borle R, Adwani N, Khemka G, Jadhav P. Primary oral myiasis: a case report. *Case Rep Dent* 2012;2012:1-4.
9. Perez-Giraldo C, Marquez-Laffon I, Blanco MT, Munoz Del Rey JR, Chavero MJ, Habela MA, et al. A case of human oral myiasis by *Lucilia sericata* in a hospitalized patient in Extremadura, Spain. *Case Rep Med* 2012;2012:1-3.
10. Zumpt F. Myiasis in Man and Animals in the Old World. Glasgow: Butterworth & Co (Publishers) Ltd; 1965.
11. Lata J, Kapila BK, Aggarwal P. Oral myiasis. A case report. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1996;25:455-6.
12. Ng KH, Yip KT, Choi CH, Yeung KH, Auyeung TW, Tsang AC, et al. A case of oral myiasis due to *Chrysomya bezziana*. *Hong Kong Med J* 2003;9:454-6.

Türkiye’de Bir Kobay (*Cavia porcellus*)’da *Chirodiscoides caviae* Enfestasyonu ve Fipronil ile Tedavisi

Infestation of Chirodiscoides caviae in a Guinea pig (Cavia porcellus) at Turkey and Fipronil Treatment

© Meral Aydenizöz, © Sami Gökpinar

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

Cite this article as: Aydenizöz M, Gökpinar S. Türkiye’de Bir Kobay (*Cavia porcellus*)’da *Chirodiscoides caviae* Enfestasyonu ve Fipronil ile Tedavisi. Türkiye Parazitol Derg 2019;43(4):216-8.

ÖZ

Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’na aynı fakültenin bir öğrencisi tarafından tüyleri üzerinde çok sayıda siyah renkli akarların bulunduğu şikâyeti ile 3-4 aylık erkek bir kobay getirilmiştir. Mikroskopik muayene sonucu bu akarın *Chirodiscoides caviae* olduğu belirlenmiştir. Bu olgu Türkiye’de ilk kez bildirilmiştir. Hayvan fipronil ile tedavi edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cavia porcellus*, *Chirodiscoides caviae*, fipronil, kobay, tüy akarı, Kırıkkale, Türkiye

ABSTRACT

Kırıkkale University Faculty of Veterinary Medicine Parasitology Department Laboratory has brought a male kobay for 3-4 months with the complaint having a large number of black mites on his hair by a student of the same school. Microscopic examination revealed that this mite was *Chirodiscoides caviae*. These cases were reported for the first time in Turkey. The animal has been treated with fipronil.

Keywords: *Cavia porcellus*, *Chirodiscoides caviae*, feather mite, fipronil, guinea pig, Kırıkkale, Turkey

GİRİŞ

Chirodiscoides caviae kobayların en yaygın akarlarından olup, küçük genellikle zararsız tüy akarlarıdır. Önceleri *Listrophoridae* ailesinde (1) incelenen bu tür artık *Atopomelidae* ailesinde yer almaktadır (2-4). Gnathosoma’nın üstündeki tegmen uzantısının olmaması ve çizgili ön koksalarının konağın kılına kadar uzamamasından dolayı *Listrophoridae* ailesindeki akarlardan ayrılırlar (2). Vücut dorso-ventral basıktır. Dişileri 500 µm, erkekleri 400 µm uzunluğunda olup, gnathostoma belirgin olarak üçgen şeklindedir. Propodosomal şilt belirgin olarak çizgili, 1. ve 2. çift bacakların yassı ve çengel benzeri bükülmüş yapıları sahip oluşu kılıra tutunmalarını kolaylaştırmaktadır (2,5-7).

Sabit parazit olup bütün yaşantısını konağın tüyleri üzerinde geçirmektedir. Genellikle gluteal bölge,

yan ve gövde bölgesinde tüy shaftına tutunmuş olarak bulunurlar. Kılların tabanında beslenmekte ve yumurtalarını da yapışkan bir madde ile kılıra yapıştırmaktadır. Yumurta, 3 çift bacaklı larva, 4 çift bacaklı protonimf, tritonimf ve ergin dönem olmak üzere biyolojisini yaklaşık 14 günde tamamlamaktadır (1,2,4-6,8,9)

Bu parazit kobaylarda çoğu zaman zararsızdır, ancak yoğun enfestasyonlarda yangı, pullanma, kabuklaşma ve alopesi ile seyreden kaşıntılı dermatitise sebep olur (4-6)

OLGU SUNUMU

Bu olguda arka sırt bölgesindeki tüylerde (Resim 1) siyah akar benzeri yapıların görülmesi üzerine Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’na getirilen 3-4 aylık erkek

Geliş Tarihi/Received: 14.02.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 19.11.2019

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Meral Aydenizöz, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

Tel/Phone: +90 318 357 33 01 **E-Posta/E-mail:** meralaydenizoz@hotmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-1270-772X

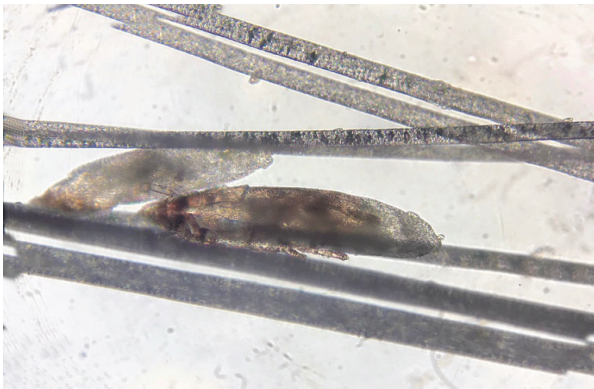
bir kobayda (*Cavia porcellus*) makroskopik muayenede herhangi bir alopesi ve kaşınma görülmemiştir. Vücudun farklı bölgelerinden akar örnekleri alınarak steromikroskop altında incelenmiş ve ilgili literatürler eşliğinde teşhis edilmiştir (2,5-7). Buna göre incelenen örnekler *Chirodiscoides caviae* olarak (Resim 2) tespit edilmiş olup, fipronil damla ile tedavi önerilmiştir. Hayvana 75 mg/mL fipronil etken maddesinde 1 damla cidago bölgesine uygulanmıştır. Bir hafta sonra yapılan kontrollerinde hayvanda herhangi bir etkene rastlanmamıştır. Daha sonra hayvan takip edilmiş ve herhangi bir etkenle enfeste olmadığı tespit edilmiştir. Anamnezinde hayvanın Zonguldak'da üretim yapan bir kişiden birkaç gün önce sahiplenildiği ve geldiği yerdeki diğer hayvanlarda da benzer bir durumun varlığı bildirilmiştir.

TARTIŞMA

Dünyada kobaylardaki bu akar üzerine yapılmış sınırlı sayıda bildirim mevcuttur (9-12). Tedavilerinde ivermectin'in farklı uygulanış şekli (13,14) ile selamectin (15) uygulamaları yapılmış ve başarı elde edildiği bildirilmiştir. Bu olguda ise etkene karşı ilk defa fipronil denenmiş ve tek doz damlatma ile başarılı sonuç alınmıştır. Damlatma şeklinde kullanılan ilaçlar kullanım kolaylığı bakımından pet hayvanlarında sahada oldukça geniş kullanım alanına sahiptir. Gerek petshoplarda, gerekse deney hayvanı yetiştirme, bakım ve beslenme odaklarında kobaylardaki *Chirodiscoides caviae* enfestasyonlarında fipronil damlanın etkili ve güvenli bir şekilde kullanılabileceği tarafımızdan düşünülmektedir.



Resim 1. Kobay akar enfestasyonu



Resim 2. Ergin *Chirodiscoides caviae*

SONUÇ

Petshoplar, kişisel pet hayvan üretim çiftlikleri, deney hayvanı bakım ve besleme alanları gibi kobayların yoğun olarak barındırıldığı yerler bu akarın hızlı bir şekilde yayılmasında etkili alanlardır. Bu nedenle bu gibi yerlerde çalışan bireylerin konu hakkında bilgilendirilmesi, enfestasyonun ortaya çıkmasını takiben tedavi uygulamaları gerektiği ve bu şekilde ortamdaki diğer hayvanlara sıçrayacak olası bir enfestasyonun önüne geçilebileceği konusunda bilgi sahibi olmaları sağlanmalıdır. Bu konuda petshop işleten bireylerin bilgilendirilmesi, enfestasyon görüldüğü vakit tedavi etmeleri gerektiği, en önemlisi bu tip enfestasyonların temas suretiyle başka bireylere geçtiği konusunda aydınlatılmalıdır. Çok az oranda da zoonotik olduğu bilinmelidir (4).

Türkiye'de bu hayvanların evlerde yaygın olarak beslenmeye başlanmasından dolayı bu parazit önem arz etmektedir. Bu olgu Türkiye'deki ilk kayıttır.

* Etik

Hasta Onayı: Hayvanlar üzerinde yapıldığı için hasta onayı alınması gerekmemektedir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Konsept: M.A., S.G., Dizayn: M.A., S.G., Veri Toplama veya İşleme: M.A., S.G., Analiz veya Yorumlama: M.A., S.G., Literatür Arama: M.A., S.G., Yazan: M.A., S.G.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Soulsby E.J.L. Theileridae. In: Helminths, Arthropods, and Protozoa of Domesticated Animals. 7th Ed. Philadelphia: Bailliere Tindall Reprinted 1986; 1982.
2. Mullen GR, O'Connor BM. Mites (Acari). In: Mullen GR, Durden, LA, editors. Medical and Veterinary Entomology 2nd Ed: USA; 2009. p: 433-92.
3. Harkness JE, Turner PV, VandeWoude S, Wheler CL, editors. Harkness and Wagner's Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. 5th Ed; UK: Wiley-Blackwell; 2010.
4. Anonim. Acariasis. Mange and Other Mite Infestations The center for food security and public health. Iowa State University 2012;1-17.
5. Wall RL, Shearer D, editors. Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control. 2nd Ed, USA: Blackwell Science Ltd; 2001.
6. Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Veteriner Parazitoloji. 3. Baskı, Türkçe çeviri, Yıldız K, ed. Malatya/Turkey: Medipress Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti; 2016a.
7. Taylor MA, Coop RL, Wall RL, editors. Veterinary Parasitology 4th Ed. UK: Wiley Blackwell; 2016b.
8. Al-Rabiai S, Wagner JE, Enns WR, Farrar PL. A redescription of *Chirodiscoides caviae* Hirst (Acari: Atopomelidae), with differentiating characteristics of male and female adult and nymphal stages. JKES 1983;56:483-95.
9. Schönfelder J, Hennevelde K, Schönfelder A, Hein J, Müller R. Concurrent infestation of *Demodex caviae* and *Chirodiscoides caviae* in a guinea pig A case report. Tierärztl Prax 2010;38:28-30.

10. Dluhnewsky MVJ. Clinical case report of infestation with *Chirodiscoides caviae* on a Guinea pig (*Cavia porcellus*) at Venezuela. REVISTACMVL 2013;5:45-7.
11. d'Ovidio D, Domenico Santoro D. Prevalence of fur mites (*Chirodiscoides caviae*) in pet guinea pigs (*Cavia porcellus*) in southern Italy. Vet Dermatol 2014;25:135-8.
12. White SD, Guzman D SM, Paul-Murphy J, Hawkins MG. Skin diseases in companion guinea pigs (*Cavia porcellus*): a retrospective study of 293 cases seen at the Veterinary Medical Teaching Hospital, University of California at Davis (1990-2015). Vet Dermatol 2016;27:395-e100.
13. Hirsjarvi P, Phyla L. Ivermectin treatment of a colony of guinea pigs infested with fur mite (*Chirodiscoides caviae*). Laboratory Animals 1995;29:200-3.
14. Harikrishnan VS, Ranaraj VR, Fernandez AC. Incidence of *Chirodiscoides caviae* in laboratory rats-screening, identification and treatment. Scand J Lab Anim Sci 2009;36:147-53.
15. Fisher M, Beck W, Hutchinson MJ. Efficacy and safety of selamectin (Stronghold®/Revolution™) used off-label in exotic pets. Intern J Appl Res Vet Med 2007;5:87-96.

2019 Hakem Dizini - 2019 Referee Index

A. Tümay Gürler
A. İhsan Diker
Abdullah İnci
Ahmet Özbilgin
Ahmet Üner
Ali Ahmet Kilimcioğlu
Alparslan Yildirim
Armağan Erdem Ütük
Ayşe Caner
Ayşegül Taylan Özkan
Ayşegül Ünver
Aysen Gargili
Canan Eryıldız
Cem Ecmel Şaki
Cenk S. Bölükbaş
Cenk Selçuki
Çiler Akis
Derya Dirim Erdoğan
Ebru Yalçın
Emrah Şimşek
Engin Araz

Ergün Köroğlu
Esin Güven
Fatih Mehmet Şimşek
Filiz Günay
Gökmen Zafer Pekmezci
Gözde Gürelli
Hande Dağcı
Hatice Ertabaklar
Hüseyin Bilgin Bilgiç
Kader Yıldız
Kosta Mumcuoglu
M. Emin Limoncu
M. Özkan Arslan
Mehmet Karakuş
Mehmet Salih Gürel
Mehmet Yaman
Meral Aydenizöz
Mert Kuşkucu
Münir Aktaş
Mustafa İnan
Mustafa Necati Muz

Nogay Girginkardeşler
Nuran Aysul
Oktay Alver
Omer Orkun
Önder Düzlü
Orçun Zorbozan
Özgür Kurt
Özlem Miman
Özlem Tünger
Sema Ertuğ
Semra Özçelik
Seray Töz
Sibel Ergüven
Şinasi Umur
Sırrı Kar
Songül Delibaş
Soykan Özkoç
Tonay İnceboz
Ülfet Çetinkaya
Zeynep Taş

2019 Yazar Dizini - 2019 Author Index

Abdulalim Aydın.....	123	Evren Tileklioglu.....	1, 118
Abdurrahman Ekici	123	Fakher Rahim.....	158
Abdussamet Batur	149	Farnoush Shadnoush.....	158
Adil Kartal	10	Fatemeh Ghasemi	130
Afshin Barazesh	123	Fatma Avcioglu.....	102
Ahmad Amro	152	Fatma Gülsüm Koçlar	143
Ahmed Galip Halidi.....	149	Fattaneh Mikaeili	123
Ahmet Çağkan İnkaya.....	204	Feza Bacakoğlu	44
Ahmet Özkeklikçi.....	102	Figen Sezen.....	5
Ahmet Uysal	44	Foroozandeh Zaravar	130
Aida Davari.....	182	Fuat Barış Bengür	65
Aisha Gashout	152	Galip Sarısu	123
Ali Tümay Gürler.....	155	Gamze Türkoğlu.....	194
Arzu Ataseven	50	Gholam Reza Hatam	130
Atila Yanıkoğlu	36	Gökhan Köylüoğlu	89
Ayhan Akbulut	26	Gülnaz Çulha.....	60
Ayşe Sağmak Tartar	26	Gülşen Yörük.....	170
Aysegül Taylan Özkan	53	Güneş Açıkgöz.....	175
Aysegül Üner	204	Hadis Jafarian	130
Bahador Sarkari	123	Haluk Erdoğan	96
Banuçiçek Yücesan	5	Hamid Reza Khorrami	130
Bekir Sarıcık	10	Hamida Al-Dwibe.....	152
Berna Hamamcı.....	175	Hasan Eren	30
Bilge Aydın Türk.....	21	Hasan Esen.....	10
Burçin Pehlivanoglu.....	21	Hasan Yılmaz.....	70, 149, 207
Burhan Engin	41	Hatice Ertabaklar	1, 118
Büşra Betül Özmen Çapın	204	Hatice Gülbeyen.....	187
Cahit Babur	165	Hatice Yazısız	143
Cahit Babür	5	Hüseyin Bilgin Bilgiç	30
Cenk Soner Bölükbaş	155	Hüseyin Çetin.....	36
Cihangir Akdemir	78	Hüseyin Durukan.....	106
Çetin Kotan	149	Işın Akyar	65
Doroodgar Abbas	55	İbrahim Cüneyt Balcıoğlu.....	74
Doroodgar Masoud	55	İbrahim Yetim	175
Doroodgar Moein.....	55	İbrahim Yıldız	1, 118
Döndü Mutlu	78	İlkay Özer	50
Durmuş Ali Çetin	47	İrfan Bayram	149
Dursun Türkmen	194	Jalal Mardaneh.....	130
Ehsan Faghiri	182	Jasem Saki.....	158
Elham Hajialilo.....	16	Kerem Karaaslan.....	175
Emel Uzunoğlu.....	78	Kutbeddin Demirdağ.....	26
Emrah Şimşek	135	Lale Özışık	204
Emre Öz	36	Levent Cankorkmaz.....	89
Erdal Polat	41	Mahboobeh Sadeghi	16
Erdoğan Malatyalı.....	1, 118	Mahmood Alipour.....	16
Erol Kılıç	175	Mehdi Hami	123
Esat Korğalı	89	Mehmet Çabalak	60
Esin Güven	187	Mehmet Emin Demircili	10

2019 Yazar Dizini - 2019 Author Index

Mehmet Emin Limoncu	74	Samiye Demir	83
Mehmet Haydar Atalar	89	Seher Topluoğlu	165
Mehmet Patmano	47	Selami Aykut Temiz	50
Mehrzađ Saraei	16	Selçuk Kılıç	5, 165
Mojtaba Shahnazi	16	Selin Hacılarlıoğlu	30
Muhammed B. Jaiteh.....	204	Selma İlkay Şahin.....	60
Musa Abeş	21	Selma Usluca	165
Mustafa Açıcı.....	155	Sema Ertuğ.....	1, 118
Mutalıp Çiçek	70	Sema Tortop	204
Muzaffer Akyüz.....	187	Sepideh Ebrahimi.....	123
Mükerrem Duygu Aksoy.....	53	Serap İşler.....	21
Mürşide Çevikoğlu Kılı	106	Seray Töz.....	44
Nafiye Koç	5	Serçin Özlem Çalışkan	118
Nagehan Didem Sarı.....	170	Serhat Sirekbasan	41
Naim Sağlam	198	Serkan Bakırcı	30
Nasib Hasanlı	204	Sıddıka Fındık	50
Nejla Cebeci Güler	78	Sinem Naz Sevgen.....	198
Nematian Mahmood	55	Suha Kenan Arserim	74
Neriman Mor.....	198	Şafak Özer Balın.....	26
Nermin Şakru.....	53	Şahin Direkel	78
Nevin Turgay	44	Şinasi Umur	54, 155
Nuran Aysul	30	Tayibe Bal	60
Nursel Çalık Başaran.....	204	Tufan Gümüş	47
Omar Hamarsheh	152	Tuğçe Tural Kara	99
Orçun Zorbozan.....	44	Turan Gündüz	74
Orkun Akman.....	204	Tülin Durgun Yetim	175
Ömer Benian	53	Tülin Karagenç	30
Özgür Günal	155	Ülfet Çetinkaya	175
Özgür Kurt	65	Ülkü Karaman	111
Özlem Kurtcebe	165	Ümit Yakan.....	207
Parisa Badiie	130	Vahid Noaman.....	92
Pejman Abbasi.....	130	Yeşim Beşli.....	65
Recep Dursun	50	Yeşim Çekin	143
Recep Yıldızhan.....	149	Yunus Emre Beyhan.....	70, 149, 207
Remzi Erten.....	149	Yusuf Önlen	60
Reza Arjmand.....	158	Yusuf Yavuz	47
Reza Nabavi	182	Yüksel Gürüz	5
Rıdvan Kirman	187	Zekayi Kutlubay	41
Sabahattin Ocak	60	Zeynep Kolören.....	111
Sabine Hüseyinova.....	204	Zeynep Taş Cengiz	70, 149, 207
Sabri Özdaş.....	21		
Sali Yaya	187		

2019 Konu Dizini - 2019 Subject Index

18S rRNA/18S rRNA gene.....	135	İnsan/Human.....	70, 155
Akıllı telefon videosu/Smart-phone video.....	44	İntestinal parazitler/Intestinal parasites	70
Alt tür/Subspecies.....	111	İran/Iran.....	16,55, 123
Amerikan hamam böceği (Periplaneta americana)/		İstanbul/İstanbul.....	65
American cockroach (Periplaneta americana).....	36	Kalın duvarlı kist/Thick-walled cyst	182
Apendisit/Appendicitis.....	21	Kalp/Heart.....	92
Appendiks/Appendix	21	Kamçılı protozoon/Flagellated protozoon	44
<i>Ascaridia galli/Ascaridia galli</i>	155	Karaciğer hidatik kisti/Hepatic hydatid cysts	10
Aydın/Aydın	1, 118	Karaciğer/Liver.....	10
Baermann-Wetzel/Baermann-Wetzel.....	187	Kars/Kars.....	198
Bağırsak parazitleri/Intestinal parasites	16, 74	Kediler/Cats.....	5
Beyin/Brain	99	Kene kaynaklı hastalık/Tick borne disease	26
Biyokimyasal analiz/Biochemical analysis.....	175	Kırım Kongo Kanamalı Ateşi/	
Biyolojik mücadele/Biological control	36	Crimean-Congo Haemorrhagic Fever.....	26
<i>Blastocystis/Blastocystis</i>	111	Kist hidatik/Hydatid cyst.....	47, 89, 99, 123
Böbrek kist hidatigi/Renal hydatid cyst.....	89	Kistik ekinokokkozis/Cystic echinococcosis	118, 149
Calliphoridae/Calliphoridae	207	Klor/Chlorine	130
Coenurus kisti/Coenurus cyst.....	92	Kolon/Colon	149
<i>Cryptosporidium/Cryptosporidium</i>	130	Koyun/Ewe	92
Çocuk/Child.....	99	Koyun/Sheep	187
<i>D. pteronyssinus/D. pteronyssinus</i>	78	Kum sineği/Sand fly.....	83
<i>Demodex spp./Demodex spp.</i>	143, 194, 198	Kutanöz Leishmaniasis/Cutaneous leishmaniasis.....	41, 55
Deri kanser/Skin cancer	155	Leishmania infantum/Leishmania infantum	41
Dermatoz/Dermatosis	194	Leishmania/Leishmania	83
Dışkı örneği/Stool samples.....	16	Lenfoid hiperplazi/Lymphoid hyperplasia	21
Diptera/Diptera.....	207	Libya/Libya.....	152
<i>Echinococcus granulosus/Echinococcus granulosus</i>	118, 175	Lipofosfoglikan/Lipophosphoglycan	83, 158
Ekinokokkoz/Echinococcosis	99	Malaria/Malaria.....	170
Enfestasyon/Infestation.....	194	Meme kist hidatigi/Hydatid cyst of the breast	47
<i>Enterobius vermicularis/Enterobius vermicularis</i>	21	Memede kitle/Mass in the breast	47
Eozinofil infiltrasyonu/Eosinophilic infiltration.....	21	Mikroskopi/Microscopy.....	165
Epidemiyoloji/Epidemiology	26, 55, 102, 198	Miyazis/Myiasis.....	
Erzurum/Erzurum.....		Moleküler yerleştirme/Molecular docking	158
Ev tozu akarı/House dust mite	78	Morfolojik yapı/Morphological structure.....	198
Fetal anomali/Fetal anomaly.....	106	MR/MR.....	149
Flotasyon/Flotation	187	<i>Mugil cephalus/Mugil cephalus</i>	135
Gaziantep/Gaziantep	102	<i>Myxobolus episquamalis/Myxobolus episquamalis</i>	135
Gebelik/Pregnancy.....	106	Nedeni bilinmeyen ateş/Fever of unknown origin.....	204
Genotip/Genotypes.....	123	Nefrektomi/Nephrectomia.....	89
Gezgin/Travelers	96	Non-serebral/Non-cerebral	92
Gıda akarı/Storage mite.....	78	Oral miyaz/Oral myiasis.....	207
Giresun/Giresun.....	78	Ordu/Ordu	111
Halk sağlığı/Public health.....	165	Pansitopeni/Pancytopenia	204
Hatay/Hatay.....		Parazit/Parasite.....	149
Hayvan/Livestock	123	Parazitoit/Parasitoid.....	36
<i>Hirudo sulukii/Hirudo sulukii</i>	198	<i>Plasmodium falciparum/Plasmodium falciparum</i>	60, 65, 96
<i>Hirudo verbana/Hirudo verbana</i>	198	<i>Plasmodium spp./Plasmodium spp.</i>	65, 102, 165
Hirudoterapi/Hirudotherapy	50	Polimeraz zincir reaksiyonu/	
Huzurevi ortamı/Nursing home	74	Polymerase chain reaction.....	106
In-siliko/In-silico.....	158	Prevalans/Prevalence	143
İmmünoterapi/Immunotherapy	44	Pseudo helmint/Pseudo helminth	155
İmporte sıtma/Imported malaria.....	60	Pseudomonas/Pseudomona	130
İnce duvarlı kist/Thin-walled cyst	182	Psödolenfoma/Pseudolymphoma	50

2019 Konu Dizini - 2019 Subject Index

Psychoda albipennis/Psychoda albipennis	152	Sülük/Leech	50
PZR/PCR	111	Tıbbi sülükler/Medicinal leeches	198
Radyofrekans termal ablasyon/ Radiofrequency thermal ablation.....	10	<i>Toxoplasma gondii</i> / <i>Toxoplasma gondii</i>	1, 5, 106
Raman spektroskopisi/Raman spectroscopy	175	Trichrome boyama/Trichrome staining	16
Rosacea/Rosacea	143	Trombositopeni/Thrombocytopenia	60
Rozase/Rosacea	194	Türkiye/Turkey	65, 111, 123, 135
Sabin-feldman dye testi/Sabin-feldman dye test.....	5	Uterus/Uterus	149
Sağkalım stratejileri/Survival strategies.....	83	Üniversite öğrencileri/College students	198
Sarkosistosis/Sarcocystosis	182	Ürogenital miyazis/Urogenital myiasis	152
Sedimentasyon/Sedimentation.....	187	Van/Van.....	70
Seropozitiflik/Seropositivity	1	Visseral leishmaniasis/Visceral leishmaniasis.....	204
Seyahat ilişkili enfeksiyonlar/Travel-related infection.....	170	Yan etkiler/Side effects.....	50
Sığır/Cattle	182	Yaşlı/Elderly	74
Sıtma/Malaria	65, 96, 102, 165	Yemekhane personeli/Food handler	16
Sitotoksik ve anti-kanser aktivitesi/ Cytotoxic and anti-cancer activity.....	158	Yumurta paketi (ooteke)/Ootheca.....	36
Standart yüzeysel deri biyopsisi/ Standard superficial skin biopsy.....	143	Yüksek çözünürlüklü erime analizi/ High resolution melting analysis.....	41
Su örnekleri/Water samples	111	Yüzme havuzları/Swimming pools	130
Surveyans/Surveillance.....	165	γ -glutamilsistein sentetaz/ γ -glutamylcysteine synthetase.....	158