

Türkiye

PARAZİTOLOJİ Dergisi

Cilt/Volume: 45

Sayı/Issue: 2

Haziran/June

2021

E-ISSN 2146-3077

TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY

Özgün Araştırmalar / Original Investigations

L. major'da Hezkokinaz

Hexokinase in *L. major*

Rezaei Tavirani, Mohammad Hossein Motazedian; Shiraz, Tehran, Iran

İki *Leishmania* Türünde Gen Ekspresyonunun Karşılaştırılması

Comparison of Gene Expressions in *Leishmania*

Özlem Ulusan Bağcı, Aygül Sadiqova, Ayşe Caner; İzmir, Türkiye, Teksas, USA

L. donovani/*L. infantum* Hibridi Modeli

L. donovani/*L. infantum* Hybrid Model

Özgür Kurt, Nesteren Mansur Özen, Elif Merve Aydın, Deniz Ece Kaya, Cavit Kerem

Kayhan, Sinem Öktem Okullu, Ümit Ince, Fadile Yıldız Zeyrek; İstanbul, Şanlıurfa,

Türkiye

"In Vitro" Anti-leishmanial Etkinlik

In Vitro Anti-leishmanial Activity

K. Hüsnü Can Başer, Tamer Şanlıdağ; Lefkoşa, Manisa, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk

Cumhuriyeti, Manisa, Türkiye

Sığırlarda *N. caninum* ve *B. besnoiti*

N. caninum and *B. besnoiti* in Cattle

Dilek Kula, Sami Gökpinar; Kırkkale, Türkiye

Parasitic Appendicitis

Parazitik Apendisit

Serdar Gümüş, Nilgün Söğütçü; Adana, Diyarbakır, Turkey

Muğla'da Kist Hidatiğin Ekonomik Önemi

Economic Importance of Hydatid Cyst in Muğla

Mehmet Acıöz, Faruk Bozkaya, Hazal Zoroban, Ali İhsan Yılmaz; Muğla, Şanlıurfa,

İstanbul, Türkiye

Prevalence of Intestinal Parasites in Immunocompromised Patients

İmmün Yetmezlikli Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Prevalansı

Ali Heydari, Gholamreza Hatam, Moradali Fouladvand, Seyed Mahmoud Sadjjadi,

Afshin Barazesh; Shiraz, Bushehr, Iran

İntestinal Parazitlerin Epidemiyolojisi

Epidemiology of Intestinal Parasites

Emrah Güler, Kaya Süer; Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Sarcoptes scabiei Yaygınlığı

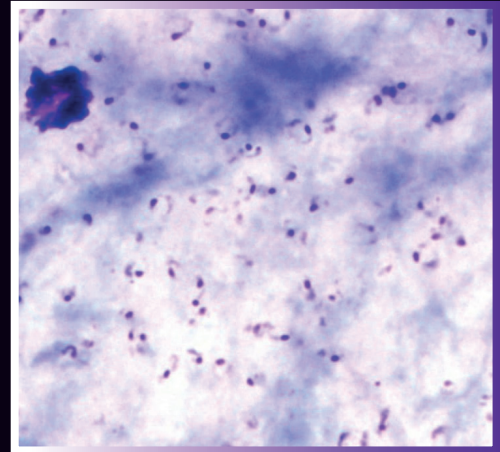
Prevalence of *Sarcoptes scabiei*

Emrah Güler, Kaya Süer; Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Tekirdağ, İstanbul, Sivas'ta Ev Tozu Akar Popülasyonu

House Dust Mite Population in Tekirdağ, İstanbul, Sivas

Ahmet Duran Ataş, Berna Baysal Bakay, Hakan Bakay, Derya Gül Gülpınar; Sivas, 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
Derya Mor
Erkan Mor
Genel Yayın Koordinatörü/Publication
Coordinator
Burak Sever
Web Koordinatörleri/Web Coordinators
Fuat Hocalar
Turgay Akpınar
Grafik Departmanı/Graphics Department
Ayda Alaca
Çiğdem Birinci
Gülşah Özgül
Finans Koordinatörü/Finance Coordinator
Sevinç Çakmak

Proje Koordinatörleri/Project Coordinators
Aysel Balta
Duygu Yıldırım
Gamze Aksoy
Gülşay Akın
Hatice Sever
Melike Eren
Meltem Acar
Özlem Çelik Çekil
Pınar Akpınar
Rabia Palazoğlu

Araştırma&Geliştirme/Research&Development
Nihan Karamanlı
Melisa Yiğitoğlu

Dijital Pazarlama Uzmanı/Digital Marketing
Specialist
Seher Altundemir

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
Online Publication Date: June 2021
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
hçetin@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 Gönenc

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 Kıvçak

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

Bilal Dik

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

Bilge Karatepe

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

Burk A. Dehority

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

Cem Ecmel Şaki

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

Esmâ Kozan

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

Fadile Yıldız Zeyrek

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

Department of Microbiology, 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 Ertabaklar

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 Arıkan

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

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

Kirami Ölgün

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, İsrail

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

Mehmet Ziya Alkan

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

Mehmet Harman

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar
Anabilim Dalı, Diyarbakır

Department of Dermatology, Faculty of Medicine
University of Dicle, Diyarbakır, 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

Murat Kara

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

Murat Sevgili

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

Mustafa Açıç

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

Mustafa 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 Elaldi

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

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

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

Annan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye
Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,
Annan 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 Sarımeahmetoğlu

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

Oktay Alver

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Bursa, Türkiye
Department of Microbiology, 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

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



Renate Radek

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

Bülent Altın

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 Yılgör 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 Vatanserver

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

Zeynep Sümer

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye
Department of Parasitology, 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, EBSCO, Index Copernicus, Gale, ProQuest, BIOSIS Previews Biological Abstracts, CABI, SCOPUS, Embase, J-Gate, ROOT INDEXING, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, EuroPub, DOAJ, ARDI, GOALI, Hinari, OARE, 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, dağıtılabılır, 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 (Turkiye Parazit Derg) 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, EBSCO, Index Copernicus, Gale, ProQuest, BIOSIS Previews Biological Abstracts, CABI, SCOPUS, Embase, J-Gate, ROOT INDEXING, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, EuroPub, DOAJ, ARDI, GOALI, Hinari, OARE, 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 süresinin 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 fikrinsel 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.turkiyeparazitolderg.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 amacını 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 vardığı 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.

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 açıkları 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 etiketlenmelidir (a, b, c vb.). Resimlerde altyazıları desteklemek için kalın ve ince oklar, ok başları, yıldızlar, asteriksler 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 sıraylanıma verilmek 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, Zielleskiewicz 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.

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;

YAZIM KURALLARI

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 (Turkiye Parazitoloj 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.

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 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.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

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: Bengisson S. Sothem 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/ncidod1EID/cid.htm](http://www.cdc.gov/ncidod1EID/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

- 83** Expression of Hexokinase in the Proteome Profile of *Leishmania major* and *Crithidia Leishmania'nın Proteom Profiline Hekzokinaz İfadesi*
Mohammadreza Karimazar, Qasem Asgari, Sajad Rashidi, Mostafa Rezaei Tavirani, Mohammad Hossein Motazedian; Shiraz, Tehran, Iran
- 88** *Leishmania major* ve *Leishmania infantum* Promastigot Formlarının Karşılaştırmalı Gen Ekspresyon Profilleri
Comparative Gene Expression Profiles of Leishmania major and Leishmania infantum Promastigotes
Özlem Ulusan Bağcı, Aygül Sadiqova, Ayşe Caner; İzmir, Türkiye, Teksas, USA
- 95** Yerli Bir Kala-Azar Hastasından İzole Edilen *Leishmania donovani*/*L. infantum* Hibridinin Karakterizasyonu: *In vivo* Modele Ait Ön Bulgular
Characterisation of the Leishmania donovani/L. infantum Hybrid Isolated from an Autochthonous Kala-Azar Patient: Preliminary Results of an In Vivo Model
Özgür Kurt, Nesteren Mansur Özen, Elif Merve Aydın, Deniz Ece Kaya, Cavit Kerem Kayhan, Sinem Öktem Okullu, Ümit Ince, Fadile Yıldız Zeyrek; İstanbul, Şanlıurfa, Türkiye
- 101** Kuzey Kıbrıs'ta Yetişen Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağlarda *Leishmania tropica*'ya Karşı *in vitro* Anti-leishmanial Etkinlik Araştırılması
In vitro Anti-Leishmanial Activity of Essential Oils Extracted from Plants Growing in Northern Cyprus Against Leishmania tropica
Emrah Güler, Ahmet Özbilgin, İbrahim Çavuş, Buket Baddal, İlker Etikan, K. Hüsnü Can Başer, Tamer Şanlıdağ; Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti
- 108** Oğuzlar Yöresindeki Sığırlarda *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti*'nin Seroprevelansı
Seroprevalence of Neospora caninum and Besnoitia besnoiti in Cattle in Oğuzlar Region
Dilek Kula, Sami Gökpinar; Kırıkkale, Türkiye
- 113** Parasitic Appendicitis in 14.797 Cases: A Retrospective Cohort Study
On Dört Bin Yedi Yüz Doksan Yedi Olguda Parazitik Apandisit: Retrospektif Bir Kohort Çalışması
Serdar Gümüüş, Nilgün Söğütçü; Adana, Diyarbakır, Turkey
- 117** Muğla İlinde Kesilen Sığırlarda Kist Hidatiğin Ekonomik Önemi
Economic Importance of Hydatid Cyst in Slaughtered Cattle of Muğla Province
Mehmet Acıöz, Faruk Bozkaya, Hazal Zorzoban, Ali İhsan Yılmaz; Muğla, Şanlıurfa, İstanbul, Türkiye
- 121** Investigating the Prevalence of Intestinal Parasites in Immunocompromised Patients in Bushehr Province, Southwest Iran: A Conventional and Molecular Study
İran'ın Güneybatısındaki Bushehr Eyaletindeki İmmün Yetmezliği Olan Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Prevalansının Araştırılması: Konvansiyonel ve Moleküler Bir Çalışma
Ali Heydari, Gholamreza Hatam, Moradali Fouladvand, Seyed Mahmoud Sadjjadi, Afshin Barazesh; Shiraz, Bushehr, Iran
- 128** Kuzey Kıbrıs'ta Bir Üniversite Hastanesinde İntestinal Parazitlerin Epidemiyolojisi: Dört Yıllık Retrospektif Deneyim
Epidemiology of Intestinal Parasites in a University Hospital in Northern Cyprus: A 4-year Retrospective Experience
Emrah Güler, Kaya Süer; Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti
- 133** Uyuz Ön Tanılı Hastalarda *Sarcoptes scabiei* Yaygınlığının Araştırılması
Prevalence of Sarcoptes scabiei in Patients with Suspected scabies
Ahmet Yücel, Mustafa Yılmaz; Elazığ, Türkiye

İÇİNDEKİLER/CONTENS

- 137** Tekirdağ ve İstanbul İllerinde Ev Tozu Akar Görülme Sıklığı ile Bunu Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi ve Aynı Dönemdeki Sivas İli Ev Tozu Akar Popülasyonu ile Karşılaştırılması
Factors Affecting the Prevalence of House Dust Mite in Tekirdağ and İstanbul Provinces in Comparison with House Dust Mite Population of Sivas Province During the Same Period
 Ahmet Duran Ataş, Berna Baysal Bakay, Hakan Bakay, Derya Gül Gülpınar; Sivas, Türkiye

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- 146** Concomitant Presence of Hydatid Cyst and Colorectal Liver Metastasis
Kist Hidatik ve Kolorektal Karaciğer Metastazının Eşzamanlı Varlığı
 Jurica Zedelj, Igor Petrovic, Goran Pavlek, Trpimir Moric, Marijan Romic, Hrvoje Silovski, Renata Romic, Ivan Romic; Zagreb, Croatia
- 149** Lichen Planus Due to Hirudotherapy
Hirudoterapiye Bağlı Liken Planus
 Munise Daye, Begüm Işık, Fahriye Kılınç; Konya, Türkiye
- 153** Şanlıurfa'da İki İmport *Plasmodium falciparum* Sıtma Olgusu
Two Imported Plasmodium falciparum Malaria Cases in Şanlıurfa
 Koray Öncel, Ahmet Şahin, Fatih Esmer; Şanlıurfa, Türkiye
- 157** Türkiye'de Bir Kızıl Tilhide (*Vulpes vulpes*) *Felicola (Suricatoecus) vulpis* (Phthiraptera: Trichodectidae) Enfestasyonunun İlk Bildirimi
First Recorded Felicola (Suricatoecus) vulpis (Phthiraptera: Trichodectidae) Infestation in a Red Fox (Vulpes vulpes) in Turkey
 Gökhan Eren, Ali Tümay Gürler, Elif Burcu Gençay Topçu, Tuğçe Tuynun, Mustafa Açıcı; Samsun, Türkiye
- 160** Gingival Myiasis on Oral Squamous Cell Carcinoma in Turkey: A Case Report
Oral Squamöz Hücreli Karsinom Zemininde Gelişen Miyaz Olgusu
 Banuçiçek Yücesan, Cahit Babür, Nafiye Koç, Selçuk Kılıç; Çankırı, Ankara, Turkey
- 164** ERRATUM



EDİTÖRDEN

2021 yılının 2. sayısını, 11 özgün araştırma makalesi ve 5 olgu sunumu olmak üzere 16 makale ile çıkarmaktayız.

Özgün araştırmalar arasında; Leishmania ve leishmaniasis ile ilgili ilginizi çekeceğini düşündüğümüz biri yurt dışı kaynaklı dört makale, sığırlarda kist Hidatik hastalığının ekonomik önemini irdeleyen bir makale, 15.000'e yakın olguda parazitik apandisit durumunu ortaya koyan bir makale, bağırsak parazitleri ile uyuz ve ev tozlarında bulunan akarlarla ilgili birer makale yer almaktadır.

Olgu sunumlarında ise yine oldukça ilginç bulacağınızı düşündüğümüz beş farklı konuda olguya detaylı olarak yer verilmiştir.

SCI/SCI-Expanded kapsamında olan dergilerde yapacağınız yayınlarda dergimizde yer alan makalelere atıf yapılmasının, dergimizin bu endekse başvuru/kabul 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

Expression of Hexokinase in the Proteome Profile of *Leishmania major* and *Crithidia*

Leishmania'nın Proteom Profiline Hekzokinaz İfadesi

© Mohammadreza Karimazar¹, © Qasem Asgari¹, © Sajad Rashidi¹, © Mostafa Rezaei Tavirani², © Mohammad Hossein Motazedian¹

¹Shiraz University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Parasitology and Mycology, Shiraz, Iran

²Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Proteomics Research Center, Tehran, Iran

Cite this article as: Karimazar M, Asgari Q, Rashidi S, Tavirani MR, Motazedian MH. Expression of Hexokinase in the Proteome Profile of *Leishmania major* and *Crithidia*. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):83-87.

ABSTRACT

Objective: The relationship between drug resistance and the expression of hexokinase (HK) has been indicated in leishmaniasis. According to the prolonged treatment period in cutaneous leishmaniasis (CL) patients co-infected with *Crithidia* in Iran, this study aims to investigate the expression of HK in the proteome of *Leishmania major* and *Crithidia* using a proteomic approach.

Methods: A total of 205 samples were removed from the lesions of patients in Fars province, Iran, for the characterization of *L. major* and *Crithidia* using polymerase chain reaction (PCR). After protein extraction, two-dimensional gel electrophoresis was employed for protein separation. Several spots were isolated for HK determination in the proteomes of *L. major* and *Crithidia* using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI TOF/TOF MS).

Results: The PCR results showed 5 positive cases for *Crithidia* and 96 positive cases for *L. major*. MALDI TOF/TOF MS indicated HK as a common protein in the proteome of *L. major* and *Crithidia*. HK was up-regulated in the *Crithidia* proteome in comparison with the *L. major* proteome.

Conclusion: Since a relationship between HK expression and drug resistance has been indicated in leishmaniasis, the overexpression of HK in *Crithidia* might be related to the increased duration of the treatment period in CL patients co-infected with *Crithidia*.

Keywords: *Leishmania major*, *Crithidia*, proteomics, hexokinase, drug resistance

ÖZ

Amaç: İlaç direnci ile hekzokinaz (HK) ekspresyonu arasındaki ilişki leishmaniasiste gösterilmiştir. Bu çalışmada, İran'da *Crithidia* ile enfekte olan kutanöz leishmaniasis (KL) ile takipli hastalarda uzun tedavi süresine göre, HK'nin *Leishmania major* proteomunda gösterilmesi ve *Crithidia*'nın proteomik bir yaklaşım kullanarak ekspresyonunun araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılarak *L. major* ve *Crithidia*'nın karakterizasyonu için İran'ın Fars ilindeki 205 hastadan lezyon örnekleri toplanmıştır. Protein ekstraksiyonundan sonra protein ayrılması için iki boyutlu jel elektroforezi kullanıldı. MALDI TOF/TOF MS kullanılarak *L. major* ve *Crithidia* proteomunda HK'yi bulmak için birkaç nokta izole edildi.

Bulgular: PCR sonuçlarına göre *Crithidia* pozitif 5 olgu ve *L. major* pozitif olan 96 olgu mevcuttu. MALDI TOF/TOF MS, HK'yi *L. major* ve *Crithidia* proteomunda ortak bir protein olarak ortaya koymaktadır. HK, *Crithidia* proteomunda *L. major* proteom ile karşılaştırıldığında yukarı doğru düzenlenmiştir.

Sonuç: Leishmaniasiste HK ekspresyonu ve ilaç direnci ilişkisi gösterildiğinden, *Crithidia*'da HK'nin aşırı ekspresyonu, *Crithidia* ile birlikte enfekte olan KL hastalarında tedavi süresinin artmasıyla ilişkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania major*, *Crithidia*, proteomik, hekzokinaz, ilaç direnci

INTRODUCTION

Leishmaniasis is one of the endemic diseases in the tropical and subtropical regions of the world which is caused by protozoan parasites of the genus *Leishmania*. According to the World Health Organization data, endemic leishmaniasis has been reported in 98 countries on five continents. *Leishmania major* is considered one of the main agents of cutaneous

leishmaniasis (CL) in the world. Iran is an endemic region for CL and it is estimated that the annual incidence of CL is 20,000-60,000 in this country (1-4). *Crithidia* species (flagellate protozoa) belongs to the order of lower *Trypanosomatida*. Different orders of insects including *Diptera*, *Hemiptera*, and *Hymenoptera* are considered as possible vectors for these flagellated protozoa (5). In comparison to the *Leishmania* genus



Received/Geliş Tarihi: 31.10.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 11.11.2020

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Mohammad Hossein Motazedian, Shiraz University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Parasitology and Mycology, Shiraz, Iran

Phone/Tel: +00987132305291 E-mail/E-Posta: motazedm@sums.ac.ir ORCID ID: orcid.org/0000-0003-0117-9666

(heterogeneous parasites), *Crithidia* spp. are considered single-host parasites (5).

Recently, the co-infection of *L. major* and *Crithidia* has been reported in CL patients in Iran (4). Clinical investigations have indicated the increased duration of the treatment period in CL patients co-infected with *Crithidia* (4). According to the obtained gene sequencing data, the sequence of the *internal transcribed spacer 1 (ITS1)* gene in *L. major* has shown a 10% similarity to *Crithidia fasciculata* (6-8). The presence of similar genes in *L. major* and *Crithidia* genomes suggests the expression of common functional proteins involved in the pathogenicity and treatment of these parasites (6).

In comparison with the genomic data, proteomic data reveal more details regarding the structure and the function of the expressed proteins in the pathogens and diseases. The different aspects of *Leishmania* parasites have been investigated using proteomic studies in recent years; however, there is no information regarding the proteome of the *Crithidia* spp. (9-11). The use of proteomics concerning the involved proteins in drug resistance in leishmaniasis provides further information in the treatment of leishmaniasis in the future.

The relationship between drug resistance and the expression of the hexokinase (HK) has been indicated in leishmaniasis. According to the prolonged treatment period in CL patients co-infected with *Crithidia* in Iran, this study was conducted to investigate the possible expression of the HK in the proteome of *Leishmania major* and *Crithidia* using a proteomic approach and two-dimensional gel electrophoresis (2-DE).

METHODS

Ethical Approval

All human specimens were obtained from the CL patients with the approval of the ethical committee of Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran (IR.SUMS.REC.1395.S1).

Samples Collecting

Totally, in this study, 205 patients were selected. In the first step, the important criterion for patient selection was the observation of cutaneous lesion in individuals. All patients had one or more lesions on their hand, leg, and face. Two hundred five samples were taken from the lesions of the patients from Marvdasht and Kharameh cities, Fas province, Iran. Other significant clinical manifestations were not seen. After sample collecting, all samples were checked for *L. major* and *Crithidia* using microscopic, cultivation, and polymerase chain reaction (PCR) methods. The ages of the patients ranged from 6 months to 70 years old.

Samples Cultivation

The obtained samples were transferred to the Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) media in sterile conditions. After the growth of the promastigote in NNN, the promastigotes were transferred to RPMI-1640 (Shelmax Company, China) supplemented with 10% (v/v) heat-inactivated fetal calf serum, 100 µg/mL streptomycin and 100 U/mL penicillin at 25 °C and mass-cultivated for obtaining the logarithmic growth phase of the parasites.

Characterization of the *L. major* and *Crithidia*

Genus identification

The cultivated promastigotes were characterized by PCR for finding and confirming the presence of *Leishmania* and *Crithidia* spp. The positive controls of *L. major* (MHOM/TM/1973/5ASKH) and *Crithidia* spp. were provided by the Department of Parasitology and Mycology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran (4).

DNA extraction

In the first step, the DNA of the cultivated promastigotes (*Leishmania* and *Crithidia*) was extracted using a commercial kit (QIAGEN 28106, USA).

PCR

Specific primers were designed using Kinetoplastid Genomics Resource (TriTrypDB) (<http://tritrypdb.org/tritrypdb>) and based on the genomic sequence of the Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in *L. major* and *Crithidia*. Used primers (Forward: 5'ATGGTCAAAGTGGGCATTAACGG3' and Reverse: 5'TCCATGTGCGAGGACAACGTGCT3') were able to characterize the *Leishmania* and *Crithidia* spp. (4,12). The amplification program was set to start denaturation at 94 °C for 3 min; followed by 10 cycles each at 95 °C for 30 sec, 62 °C for 30 sec, and 72 °C for 45 sec and a final extension stage at 72 °C for 5 min (4,12).

Agarose-gel electrophoresis

5 µL of loading buffer (3X) (Ampliqon Company, Cat. No. A608304) was added to 10 µL of the final PCR products. Then, PCR products were run to electrophoresis in 1.5% agarose gel. After running, the gels were visualized under ultraviolet light with ethidium bromide.

Protein extraction

The cultivated promastigotes of the *L. major* and *Crithidia* were centrifuged at 3.000×g at 4 °C for 20 min. The obtained pellets were washed 3 times with PBS (pH: 7.2-7.4), each time at 3.000×g in 4 °C for 10 min. For protein extraction, 10 cc of the extraction buffer (acetone solution containing 10% TCA) was added to the obtained pellets and were kept for 1 h at -20 °C for protein precipitation. In the next step, the tubes were centrifuged at 17.500×g in 4 °C for 15 min. Then, the obtained pellets were dissolved in an acetone solution containing dithiothreitol (DTT) for 1 h at -20 °C for more protein precipitation (13). After centrifugation at 12.000×g at 4 °C, the precipitated proteins were dissolved in a lysis buffer (9.5 M urea, 2 M thiourea, 2% CHAPS, 8% immobilized pH gradient (IPG) buffer (pH 3-10) (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) and stored at -70 °C. The protein concentration was measured by using the Bradford method.

2-DE

For each experiment, 250 µg of extracted protein was developed in the first dimension on the IPG strips (18 cm, pH=3-10, GE healthcare) and the rehydration was done overnight at 50 V. Rehydration solution contained 8 M urea, 2% CHAPS, 50 mM DTT, and 0.5% IPG buffer. After rehydration, isoelectric focusing (IEF) (first dimension) was performed at 50-55.000 Vh using the protean IEF cell (Bio-Rad). Then the strips were equilibrated for 15 min in equilibration buffer (50 mM Tris-HCl, pH 8.8, 6 M urea, 30% glycerol, and 2% SDS) containing 65 mM DTT which was followed by a 15 min incubation in equilibration buffer

containing 135 mM iodoacetamide. In the second dimension, the equilibrated strips were sealed to the top of the 12% SDS-PAGE using a twin gel apparatus (Sci Plus/15 mA/gel) until the tracking dye reached the bottom of the gel (14). All experiments were performed in triplicate for confirming the results.

Gel staining, imaging, and image analysis

After fixation of the 2-DE gels with fixation buffer (5% acetic acid, 30% ethanol), the gels were stained with silver staining method (silver stain solution: 12.5 mL of 1 N silver nitrate solution per liter, development solution: 30 g anhydrous potassium carbonate, 250 μ L of 37% formaldehyde and 125 μ L of 10% thiosulfate solution per liter) (15). After washing, the gels were scanned using GS-800 calibrated densitometer (Bio-Rad) and were analyzed using the Progenesis same spot software (version 4.1). Matching and analysis were performed with both automatic and manual methods.

In-gel digestion of protein samples, MS, and database search

In-gel digestion of protein spots and MALDI TOF/TOF MS analysis were done by the metabolomics and proteomics lab technology facility, Department of Biology, University of York. MALDI TOF/TOF MS was performed on a Bruker Autoflex Mass Spectrometer. The punched gels were placed into the wells of a ZipPlate (Montage In-Gel-DigestZP Kit, Millipore). The proteins in the punched gels were destained, digested with trypsin (Promega), extracted, purified on a C18 reverse phase matrix, and eluted in 8 μ L of 60% acetonitrile, 0.1% trifluoroacetic acid (TFA). MALDI TOF/TOF MS was done on a BrukerAutoflex Mass Spectrometer (BrukerDaltonics, Bremen). Measurements were done in the reflection mode, using Ion source 1 voltage: 19 kV; ion source 2 voltages: 16.5 kV; reflector voltage 20 kV; lens voltage 8 kV; 40 ns pulse time; 120 ns pulse extraction time; and matrix suppression <500 Da. Using the Xtof analysis software package, version 5.1.5 (BrukerDaltonics), all spectra were analyzed. Using a mix of peptides (Sigma-Aldrich), the mass spectra we calibrated (9,16). Obtained masses generated by MALDI TOF/TOF MS were searched in the MASCOT program. MASCOT scores more than 62 were significant ($p < 0.05$) for obtained proteins.

Statistical Analysis

Statistical analysis was not applicable in this study.

RESULTS

PCR

For identification of the parasites' genus, PCR was performed on the cultivated samples (promastigotes). PCR amplification and electrophoresis results for *L. major* and *Crithidia* have been shown in Figure 1, 2, respectively. In Figure 1, positive control and protein ladder have been indicated as Figure 1 a, b, respectively. Samples that produced a 760 bp band were positive for *L. major* (Figure 1 c, d) (e: negative control, f: positive sample with a weak band). In Figure 2, samples that illustrated a band in 858 bp were positive for *Crithidia* spp. Protein ladder (Figure 2 a), positive control (Figure 2 b), positive samples for *Crithidia* spp. (Figure 2 c-e), and negative control (Figure 2 f) have been represented in Figure 2. Generally, the PCR results showed 5 positive cases of *Crithidia* spp. and 96 positive cases of CL (*L. major*).

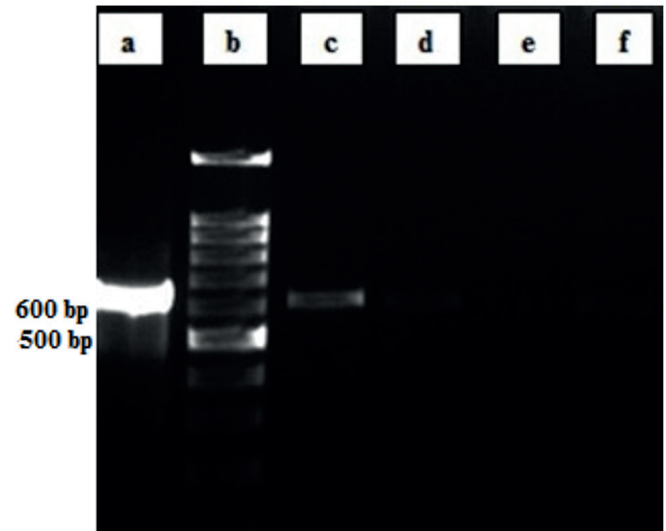


Figure 1. Characterization of *L. major* by PCR: positive control (a), ladder 1.000 bp (b), positive patients for *L. major* (c-f), negative control (e)
PCR: Polymerase chain reaction



Figure 2. Characterization of *Crithidia* spp. by PCR: ladder 1.000 bp (a), positive control (b), positive patients for *Crithidia* spp. (c-e), negative control (f)
PCR: Polymerase chain reaction

2-DE and MS

As shown in Figure 3, different spots were matched in this study. The sharp and repeatable spots in different 2-DE experiments were selected for MS analysis (Figure 3). In peptide mass fingerprinting, unknown proteins (peptide profile obtaining from MS data) are compared with theoretical peptide libraries provided from sequences in the different protein databases (17). Accordingly, the results of the MALDI TOF/TOF MS indicated the HK (spot 48) as a common and repeatable protein in the proteome of *L. major* and *Crithidia* (Table 1). The score of the obtained protein was significant (>62). The up-regulation of the HK in *Crithidia* proteome (Figure 4 a) in comparison with *L. major* proteome (Figure 4 b) has been shown in obtained graph from Progenesis same spot software (Figure 4 c). The putative role of the identified protein (HK) was investigated using *L. major* and *Crithidia* spp.

genome project database (www.genedb.org).

DISCUSSION

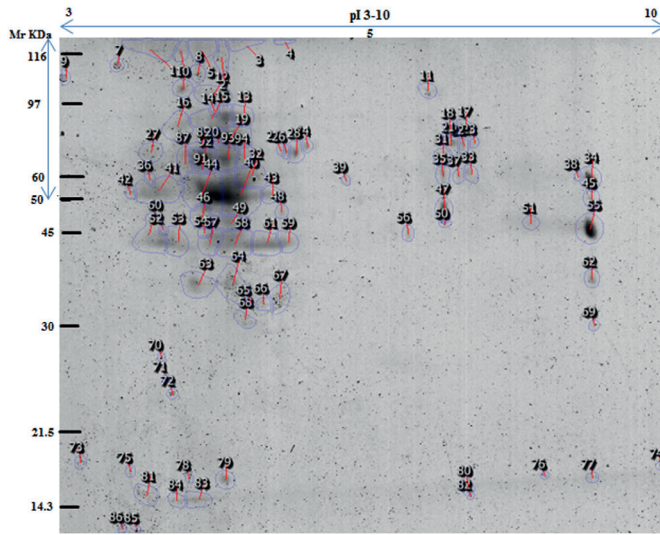


Figure 3. *L. major* 2-DE gel (silver nitrate staining): Common proteins matched in the proteome of the *Crithidia* spp. and *L. major*

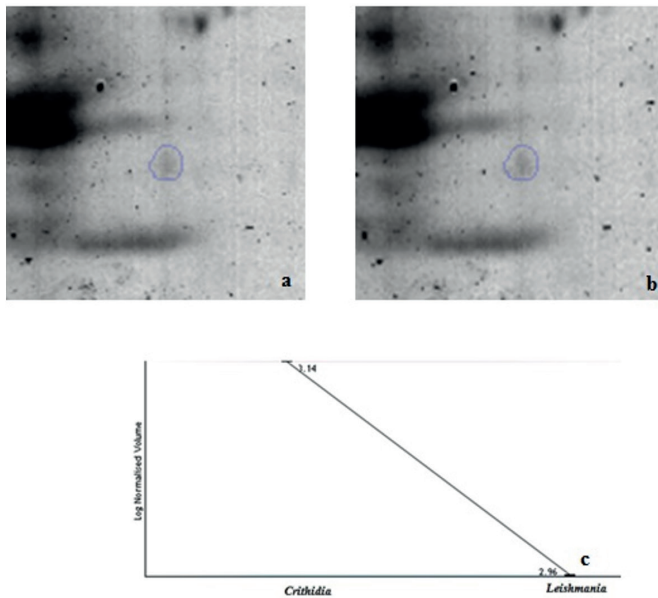


Figure 4. Progenesis same spot software graph: HK enzyme in *Crithidia* (a), HK enzyme in *L. major* (b), progenesis same spot software graph (c). According to the obtained graph (descending graph), the expression of HK enzyme has been up-regulated in *Crithidia* proteome in comparison with *L. major* proteome
HK: Hexokinase

Co-infection of the *Crithidia* spp. and *Leishmania* parasites in CL patients has received attention in recent years in Iran (4). It seems that molecular techniques should be used more frequently in the diagnosis of co-infection of *Leishmania* and *Crithidia* spp. in research and clinical fields in the future.

Protein profiling of the microorganisms can be changed due to the routine subculture *in vitro* conditions. Since sample preparation is an important stage in proteomic studies, for increasing the accuracy of the obtained data, *L. major* and *Crithidia* were taken from the CL patients and it was a remarkable issue in our study.

Although the information regarding HK is rare in *Crithidia* spp., genomic data have revealed the presence of two types of HK (HK1, HK2) on chromosome 21 in *Leishmania* parasites. The obtained results of our proteomic study confirmed the expression of HK in both proteomes of *L. major* and *Crithidia*. The report of the expression of the HK in the proteome of the *Crithidia* by Alcolea et al. (11) in 2014 confirms our results.

The proteomic studies have elucidated the critical functions of portions involving mitochondrion and metabolic pathways in the pathogenicity, diagnosis, treatment, and vaccination of protozoan parasites (18). HK, as an identified protein in the proteome profile of the *Crithidia* spp. and *L. major* belongs to the glycolysis pathway. Glycolysis is one of the important pathways in the metabolism of *Leishmania* parasites and the associated-glycolysis enzymes are located in glycosome organelle (19).

A study in 1999 indicated the relationship of drug resistance in *Leishmania* parasite and the expression of the HK gene. Their results showed that the up-regulation of the HK gene increases the drug resistance of the *Leishmania* parasites (20). The inhibitory effect of anti-leishmanial drugs against HK highlights the important role of HK as a therapeutic target and a possible protein in drug resistance in *Leishmania* parasites (21,22). According to our results, the up-regulation of the HK in *Crithidia* proteome in comparison to the *L. major* proteome might be related to the increased duration of the treatment period with an unknown mechanism in CL patients co-infected with *Crithidia*.

Evidence shows that the identification of diverse HK-zymodemes leads to distinguishing the different strains of *L. major* (23). Indication of the HK as a common protein in the proteome of *L. major* and *Crithidia* might be suggested for the detection of *Leishmania* and *Crithidia* spp. according to the HK-zymodemes profiles. Therefore, the results of the isoenzyme and zymography studies regarding HK might be used in the detection of the co-infection of *L. major* and *Crithidia* spp. in CL patients.

CONCLUSION

The report of *Crithidia* spp. in CL patients in Iran suggests more attention be given to the presence of this co-infection in other parts of the world. This study suggested the expression of the HK in *Crithidia* spp. as a possible factor in the increased duration of the

Table 1. The obtained MS data for HK in *L. major* and *Crithidia**

Protein name	Spot number on the 2-DE gel	Matched peptides	Mr	pI	Score	Protein sequence coverage	Accession no.
Putative hexokinase	48	2	52.2	8.84	172	6%	930561242

Mr: Molecular weight, pI: Isoelectric point

*Since score more than 62 (according to the company procedures) was significant, the obtained MS informant was adapted to the HK enzyme, HK: Hexokinase

treatment period in CL patients; however, further investigation such as using HK-inhibitors can reveal more information in this regard.

ACKNOWLEDGEMENTS

This article was extracted from Mohammadreza Karimazar's Ph.D. thesis which was supported by Shiraz University of Medical Sciences (grant no: 95-7660).

* Ethics

Ethics Committee Approval: All human specimens were obtained from the CL patients with the approval of the Ethical Committee of Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran (IR.SUMS.REC.1395.S1).

Informed Consent: Informed consent was taken from all present patients in this study.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

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

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

Financial Disclosure: This study was supported by Shiraz University of Medical Sciences (grant no: 95-7660).

REFERENCES

- Georgiadou SP, Makaritsis KP, Dalekos GN. Leishmaniasis revisited: Current aspects on epidemiology, diagnosis and treatment. *J Transl Int Med* 2015; 3: 43-50.
- Kermanjani A, Akhlaghi L, Oormazdi H, Hadighi R. Isolation and identification of cutaneous leishmaniasis species by PCR-RFLP in Ilam province, the west of Iran. *J Parasit Dis* 2017; 41: 175-9.
- Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 2012; 7: 35671.
- Ghobakhloo N, Motazedian MH, Naderi S, Ebrahimi S. Isolation of *Crithidia* spp. from lesions of immunocompetent patients with suspected cutaneous leishmaniasis in Iran. *Trop Med Int Health* 2019; 24: 116-6.
- Wallace FG. The trypanosomatid parasites of insects and arachnids. *Exp Parasitol* 1966; 18: 124-93.
- Doudi M, Karami M, Eslami G, Setorki M. A study of genetic polymorphism of *Crithidia* in Isfahan, Iran. *Zahedan J Res Med Sci* 2015; 17: 971.
- Doudi M, Setorki M, Bidabadi LS. Genotyping of isolated cutaneous leishmaniasis species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis in endemic foci of Isfahan, Iran. *AJMR* 2011; 5: 4607-14.
- Eslami G, Salehi R, Khosravi S, Doudi M. Genetic analysis of clinical isolates of *Leishmania major* from Isfahan, Iran. *J Vector Borne Dis* 2012; 49: 168-74.
- Rashidi S, Mojtahedi Z, Shahriari B, Kalantar K, Ghalamfarsa G, Mohebbali M, et al. An immunoproteomic approach to identifying immunoreactive proteins in *Leishmania infantum* amastigotes using sera of dogs infected with canine visceral leishmaniasis. *Pathog Glob Health* 2019; 113: 124-32.
- Singh S, Dubey VK. Quantitative Proteome Analysis of *Leishmania donovani* under Spermidine Starvation. *PLoS One* 2016; 11: 0154262.
- Alcolea PJ, Alonso A, García-Tabares F, Toraña A, Larraga V. An insight into the proteome of *Crithidia fasciculata* choanostigotes as a comparative approach to axenic growth, peanut lectin agglutination and differentiation of *Leishmania* spp. promastigotes. *PLoS One* 2014; 9: 113837.
- de Cássia-Pires R, de Melo MF, Barbosa RD, Roque AL. Multiplex PCR as a tool for the diagnosis of *Leishmania* spp. kDNA and the gapdh housekeeping gene of mammal hosts. *PLoS One* 2017; 12: 0173922.
- Bresson A, Jorge V, Dowkiw A, Guerin V, Bourgain I, Tuskan GA, et al. Qualitative and quantitative resistances to leaf rust finely mapped within two nucleotide-binding site leucine-rich repeat (NBS-LRR)-rich genomic regions of chromosome 19 in poplar. *New Phytol* 2011; 192: 151-63.
- Brotherton MC, Racine G, Foucher AL, Drummelsmith J, Papadopoulos B, Ouellette M. Analysis of stage-specific expression of basic proteins in *Leishmania infantum*. *J Proteome Res* 2010; 9: 3842-53.
- Rabilloud T. Silver staining of 2-D electrophoresis gels. *Methods Mol Biol* 1999; 112: 297-305.
- Mojtahedi Z, Clos J, Kamali-Sarvestani E. *Leishmania major*: identification of developmentally regulated proteins in procyclic and metacyclic promastigotes. *Exp Parasitol* 2008; 119: 422-9.
- Barrett J, Brophy PM, Hamilton JV. Analysing proteomic data. *Int J Parasitol* 2005; 35: 543-53.
- Rashidi S, Kalantar K, Hatam G. Using proteomics as a powerful tool to develop a vaccine against Mediterranean visceral leishmaniasis. *J Parasit Dis* 2018; 42: 162-70.
- Harris MT, Mitchell WG, Morris JC. Targeting protozoan parasite metabolism: glycolytic enzymes in the therapeutic crosshairs. *Curr Med Chem* 2014; 21: 1668-78.
- Foulquié MR, Louassini M, Castanys S, Gamarro F, Benítez R, Adroher FJ. Different catalytic activities of hexokinase and phosphofructokinase in wild type and glucantime-resistant *Leishmania* promastigotes appears not causatively related to resistance. *Eur J Protistol* 1999; 35: 338-41.
- Mottram JC, Coombs GH. *Leishmania mexicana*: enzyme activities of amastigotes and promastigotes and their inhibition by antimonials and arsenicals. *Exp Parasitol* 1985; 59: 151-60.
- Pabón MA, Cáceres AJ, Gualdrón M, Quiñones W, Avilán L, Concepción JL. Purification and characterization of hexokinase from *Leishmania mexicana*. *Parasitol Res* 2007; 100: 803-10.
- Azmi K, Schonian G, Schnur LF, Nasereddin A, Ereqat S, Abdeen Z. Development of assays using hexokinase and phosphoglucosylase gene sequences that distinguish strains of *Leishmania tropica* from different zymodemes and microsatellite clusters and their application to Palestinian foci of cutaneous leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: 2464.

Leishmania major ve Leishmania infantum Promastigot Formlarının Karşılaştırmalı Gen Ekspresyon Profilleri

Comparative Gene Expression Profiles of Leishmania major and Leishmania infantum Promastigotes

Özlem Ulusan Bağcı¹, Aygül Sadıqova², Ayşe Caner³

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

²Texas Medical Branch Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü, Teksas, USA

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Cite this article as: Ulusan Bağcı Ö, Sadıqova A, Caner A. Comparative Gene Expression Profiles of *Leishmania major* and *Leishmania infantum* Promastigotes. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2021;45(2):88-94.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, *Leishmania major* ve *Leishmania infantum* promastigotlarındaki gen ekspresyonlarının karşılaştırmalı analizi yapılarak, iki tür arasında gen ekspresyon profillerindeki farklılıkların tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: *L. major* (MHOM/IL/80) ve *L. infantum* (MHOM/MA/67/ITMAP/263) hücre hatları kullanılarak hücre kültürü oluşturulmuştur. Daha sonra, total RNA izolasyonu ve cDNA sentezi gerçekleştirilerek; revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile metabolik yollarda ve nükleik asit sentezinde rol oynayan ve her iki türde ortak olan 30 genin ekspresyon seviyelerindeki kat değişimi hesaplanmıştır. LeishDB ve KEGG veri tabanları kullanılarak genlerin fonksiyonel işlevleri belirlenmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada, *L. major* ile *L. infantum* promastigotlarında ortak olarak eksprese edilen ve protein kodlayan 30 farklı gen profili değerlendirilmiş ve iki tür arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0,001$). İki türde ortak olan bu genlerin %29'unun ekspresyon düzeylerinde anlamlı kat farkı tespit edilmiştir. Dokuz genin *L. major*'de ekspresyonu, *L. infantum*'a göre belirgin derece yüksek olarak tespit edilmiştir (kat değişimi > 1). Bu genler; phosphoglycan beta 1,3 galactosyltransferase-like, lathosterol oxidase-like, fatty acid elongase, 3-oxo-5 alpha-steroid 4-dehydrogenase, calpain-like cysteine peptidase, acetyl-coA synthetase, 3'-nucleotidase/nuclease, 3'-nucleotidase/nuclease precursor ve 3-ketoacyl-coA thiolase-like olarak belirlenmiştir. İki türde ortak olan genlerin karşılık geldiği proteinlerin fonksiyonları veri tabanlarında ayrıntılı olarak incelendiğinde ise, bu genlerin parazitin lipid, protein ve karbonhidrat mekanizmalarında, nükleik asit ve metabolizma fonksiyonlarında rol oynadığı saptanmıştır.

Sonuç: *L. major* ile *L. infantum* türlerinde ortak olarak bulunan genlerin ekspresyon profillerindeki değişiklikler, parazit türleri arasında virülans, patogenez, klinik ve tedavi farklılıklarına neden olabilir. Ayrıca parazite karşı aşı ve ilaç çalışmaları için türlere özgü spesifik veya ortak hedeflerin seçilmesinde gen profillerinin değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gen ekspresyonu, kat değişimi, *Leishmania infantum*, *Leishmania major*, promastigote

ABSTRACT

Objective: This study aimed to determine the differences between the gene expression profiles of *Leishmania major* and *Leishmania infantum* promastigotes through comparative analysis of gene expressions.

Methods: Cell culture of *L. major* (MHOM/IL/80) and *L. infantum* (MHOM/MA/67/ITMAP/263) cell lines was performed. Afterwards, total RNA isolation and cDNA synthesis were performed and fold changes in the expression levels of 30 genes that play a role in metabolic pathways and nucleic acid synthesis and co-expressed in two species were evaluated by reverse transcriptase polymerase chain reaction. Functions of genes were determined using LeishDB and KEGG databases.

Results: In this study, profiles of protein-coding 30 genes expressed in *L. major* and *L. infantum* promastigotes were evaluated and significant differences were found between the two species ($p < 0.001$). There was a significant fold change in the expression levels of 29% of genes common in the two species. The expression levels of nine genes in *L. major* were found to be markedly higher than those of *L. infantum* (fold change > 1). These genes include phosphoglycan beta 1.3 galactosyltransferase-like, lathosterol oxidase-like, fatty acid elongase, 3-oxo-5 alpha-steroid 4-dehydrogenase, calpain-like cysteine peptidase, acetyl-coA synthetase, 3'-nucleotidase/nuclease, 3'-nucleotidase/nuclease precursor and 3-ketoacyl-coA thiolase-like. When the functions of the proteins that correspond to the genes common in the two species were examined in detail using the databases, it was determined that these genes play role in lipid, protein, carbohydrate and nucleic acid metabolic functions of the parasite.



Received/Geliş Tarihi: 01.02.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 13.04.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Özlem Ulusan Bağcı, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

Phone/Tel: +90 539 860 03 31 E-mail/E-Posta: drozlemulusan@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-9695-5703

Conclusion: Alterations in the expression profiles of genes common to *L. major* and *L. infantum* species may cause differences in the virulence, pathogenesis, clinical features and treatment modality between these parasite species. In addition, evaluation of gene profiles is important in the selection of species-specific or common targets for vaccine and drug studies.

Keywords: Gene expression, fold change, *Leishmania infantum*, *Leishmania major*, promastigot

GİRİŞ

Leishmaniasis, protozoa grubunda yer alan *Leishmania* parazitinin farklı türlerinin neden olduğu kompleks bir hastalık grubudur. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yedi önemli tropikal hastalıktan biri olarak tanımlanan leishmaniasis, dünya genelinde 98 ülkede görülmekte olup, Asya, Afrika, Amerika ve Akdeniz çevresindeki ülkelerde endemik seyretmektedir. Dünya'da 12-15 milyon insan *Leishmania* türleri ile enfekte olup, 350 milyon kişi risk altındadır. Her yıl 1,5-2 milyon yeni olgu ortaya çıkmakta olup, bu olguların 1-1,5 milyonu kutanöz leishmaniasis iken, 500,000 tanesi visseral leishmaniasis'tir. Her yıl 50,000 kişi hayatını bu hastalık nedeniyle kaybetmektedir (1,2). Tedavi için beş değerli antimon bileşikleri, amfoterisin B, paramomisin ve miltefosin gibi seçenekler bulunmakta, ancak bu ajanların toksisiteleri, yan etkileri ve direnç geliştirmeleri nedeniyle hastalığın tedavisinde birtakım güçlükler yaşanmaktadır (3). Etkin bir aşının geliştirilememiş olması da araştırmacıları bu parazit ile ilgili direnç mekanizmalarını anlamaya, yeni ilaç ve aşı hedefleri bulmaya yönlendirmiştir (4).

Parazitin neden olduğu klinik tablo, kendiliğinden iyileşen deri lezyonlarından (kutanöz form), ölümcül iç organ tutulumuna (visseral form) kadar değişen spektrumda olabilmektedir. Deri enfeksiyonuna neden olan türler genellikle *Leishmania tropica* ve *L. major* iken, visseral forma neden olan türler *L. donovani* ve *L. infantum*'dur (5). Yapılan çalışmalarda *Leishmania* spp.'lerde gen ekspresyonlarının farklı bir şekilde düzenlenmesinin bu klinik varyasyonlardan sorumlu olabileceği belirtilmiştir. *Leishmania*'da prokaryotlardakine benzer olarak transkripsiyon polisistronik olarak gerçekleşmekte ve genomdan uzun pre-mRNA'lar sentezlenmektedir. Devamında pre-mRNA'lar birtakım post-transkripsiyonel modifikasyonlarla birbirinden oldukça farklı mRNA'lara ve proteinlere dönüşebilmektedir (6). Bu mekanizmalar klinik varyasyonların transkripsiyon farklılıklarından kaynaklanabileceğini göstermiştir (7).

Her iki *Leishmania* türü 36 kromozomdan oluşmaktadır (8). *Leishmania major* 32,8 Mb genom büyüklüğüne ve 8,038 gene sahip iken, *L. infantum* 32,1 Mb genom büyüklüğünde ve 8,045 gen içermektedir (9,10). *Leishmania major* ve *L. infantum*'un genomik yapısı %99'un üzerinde benzer olup, türe spesifik genler oransal olarak %1'in altındadır. Benzer genomik yapıya sahip olan bu iki *Leishmania* türünün kendiliğinden iyileşen bir tablodan ölümcül enfeksiyona değişen spektrumda seyredebilmesinden diferansiye ekspresyon genleri sorumlu tutulmaktadır. Diferansiye ekspresyon edilen genlerin metabolizma, hücre organizasyonu, biyogenez ve transportla ilgili olduğu gösterilmiştir. *Leishmania major* ve *L. infantum*'un promastigot formlarında 755 tane diferansiye ekspresyon gen bulunmakla birlikte, bunlardan sadece 91 (%12) tanesi ortak olarak ekspresyon edilmektedir. Her iki türde ekspresyon edilen bu genlerden %50'den fazlasının kodladığı proteinin fonksiyonu veri bankasında yer almamaktadır (11).

Bu çalışmada amacımız korunmuş genomik yapı ve organizasyonlarına rağmen farklı klinik tablolara sahip *L. major* ve *L. infantum* promastigotlarında ortak olan ve protein kodlayan genlerin ekspresyon düzeylerini karşılaştırmak ve etkenin hayatta

kalmasına, virülansına, patojenitesine katkıda bulunan genleri belirleyerek, aşı ve ilaç çalışmaları için yeni hedefler sunmaktır.

YÖNTEMLER

Leishmania Hücre Kültürü

Hücre kültürü için ticari olarak temin edilen *L. major* (MHOM/IL/80) ve *L. infantum* (MHOM/MA/67/ITMAP-263) hücre hatları kullanılmıştır. Bunun için inaktive edilmiş %10 FBS (Invitrogen), 100 µg/mL streptomycin-100 IU/mL penicillin (invitrogen) ve %1 L-glutamin içeren RPMI-1640 (ThermoFisher) besiyeri hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri 15 mL kültür flasklarına eklenmiştir. Dondurulmuş olarak (-80 °C) saklanan *Leishmania* promastigotları 37 °C'de hızlıca çözündürülerek besiyeri ortamına ekim yapılmış ve 26 °C'de inkübe edilmiştir. Promastigotların logaritmik gelişimi sonunda kültür ortamı steril tüplere aktarılmış ve 1,000 x rpm'de 15 dk santrifüj yapılmıştır. Üst sıvı atılarak, pellet kantitatif revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) için kullanılmıştır.

Total RNA İzolasyonu ve cDNA Sentezi

İzolasyondan önce iki suşa ait promastigotların sayısı hemositometri ile belirlenmiştir. Hücre sayısı mililitrede 5×10^6 olacak şekilde RNeasy mini kit (Qiagen) kullanılarak total RNA izolasyonu yapılmıştır. İzolasyonun bütün aşamaları firma protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen RNA konsantrasyonu nanodrop spektrofotometre cihazında (ThermoFisher) 260/280 ve 260/230 absorbanslarda ölçülerek değerlendirilmiştir. İzolasyon sonucunda 50 ng/µL RNA konsantrasyonu ile cDNA sentezi RevertAid H minus first strand cDNA Synthesis kit (Thermo Scientific) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. cDNA sentezi toplam 12 µL hacimde gerçekleştirilmiş ve PZR cihazında 65 °C'de 5 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra tüplere; 4 µL reaksiyon tamponu, 2 µL dNTP, 1 µL RevertAid TR-revertaid reverse transcriptase eklenmiştir. Reaksiyon, 42 °C'de 60 dk, 70 °C'de 5 dk ve 4 °C'de ∞ dk olarak termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Kullanılmadan önce cDNA 1:10 oranında DNaz/RNaz içermeyen distile su ile dilüe edilmiştir. Oluşan cDNA örnekleri test zamanına kadar -20 °C'de saklanmıştır.

qRT-PZR

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA örnekleri spesifik primerlerin varlığında amplifiye edilmiştir. Bu işlem için Applied Biosystem cihazı ve SYBR Green I Master Mix (Applied Biosystem) kiti kullanılmıştır. Metabolik yollarda ve nükleik asit sentezinde rol oynayan ve her iki türün promastigot formunda ortak olarak ekspresyon edilen 30 gen bölgesi hedef alınmıştır. Genlerin veri bankasındaki erişim numaraları (www.genedb.org) sitesinden elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan primerler ticari olarak temin edilmiştir (https://www.macrogen.com/en/business/oligo_index.php). Her iki *Leishmania* türünde ortak olan promastigot genlerinin ekspresyon seviyeleri qRT-PZR

yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Reaksiyon 1xSYBR green master miqs, 0,8 µM primer konsantrasyonu ve 1 µL cDNA ile total hacim 12,5 µL olacak şekilde hazırlanmış ve 96 kuyucuklu PZR plağına yüklenmiştir. Reaksiyon 95 °C'de 10 dk inkübasyon, 95 °C'de 15 sn, 56 °C'de 1 dk, 72 °C'de 10 sn koşulları altında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada referans gen olarak *ubiquitin hydrolase* geni çalışılmış ve normalizasyon için kullanılmıştır. PZR sonuçları rölatif kat değişimi (fold change, 2-ΔΔCt) yöntemi ile değerlendirilmiştir (12). Bütün analizler üç biyolojik ve üç teknik tekrar ile gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Bütün istatistiksel analizler GraphPad Prism 6.07 (GraphPad Software Inc.) software programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Karşılaştırmalar ANOVA testi ile yapılmıştır. Tüm testlerde p-değerinin 0,05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir. Genlerin fonksiyonel işlevleri (Functional Annotation) için LeishDB (www.leishdb.com) ve KEGG (https://www.genome.jp/kegg-bin/show_organism?org=lif ve https://www.genome.jp/kegg-bin/show_organism?org=lma) veri tabanları kullanılmıştır.

BULGULAR

Leishmania major ve *L. infantum* suşları hücre kültüründe çoğaltıldıktan sonra promastigotlardan total RNA izolasyonu yapılmıştır. Her iki türün promastigotlarında ortak olan 30 genin ekspresyon seviyeleri qRT-PZR ile tespit edilmiş ve kat oranları (Fold Change; FC) araştırılmıştır. Her bir genin üç biyolojik tekrarına ait sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. *Leishmania major* ve *L. infantum* promastigot formlarında ortak eksprese olan genlerin karşılık geldiği proteinlerin fonksiyonları veri tabanlarından ayrıntılı olarak incelendiğinde, bu proteinlerin çoğunun lipit, protein/aminoasit ve karbonhidratların mekanizmasında, hücre organizasyon/biyogenezinde ve metabolizma fonksiyonlarında yer aldığı gösterilmiştir. Üç gen fonksiyonu bilinmeyen grup içinde sınıflandırılmıştır. *Leishmania major* ve *L. infantum*'daki ortak olan bu genlerin ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılması sonucunda iki tür arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır (p<0,001). Her genin ekspresyon FC oranları değerlendirildiğinde, genlerin %29'unda ekspresyon düzeylerinde anlamlı fark bulunmuştur. Dokuz tane genin ekspresyon seviyesinin *L. major*'de belirgin derecede yüksek olduğu (FC>1) bulunmuştur. Bunlar; lipit metabolizması ile ilgili "phosphoglycan beta 1,3 galactosyltransferase-like (PPGT)", "lathosterol oxidase-like (LOL)", "fatty acid elongase (FAE)", "3-oxo-5 alpha-steroid 4-dehydrogenase (OSD)"; protein metabolizması ile ilgili "calpain-like cysteine peptidase (CLCP)"; karbonhidrat metabolizması ile ilgili "acetyl-coA synthetase (ACS)", DNA/nükleik asit fonksiyonları ile ilgili "3'-nucleotidase/nuclease (NUC)", "3' nucleotidase/nuclease precursor (NP)" ve metabolizma ile ilgili "3-ketoacyl-coA thiolase-like'dir (KCTL)". Dört genin ekspresyon seviyelerinin iki grupta yaklaşık aynı seviyede olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1A, B). Araştırılan tüm genlerin adı, veri bankasındaki erişim numarası, fonksiyonu ve FC değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

TARTIŞMA

Leishmania türlerinin promastigot ve amastigot olmak üzere iki farklı dönemi bulunmaktadır. Promastigot formları vektörde nötral pH'de ve ortalama 25 °C'de yaşamlarını sürdürürken,

makrofajlar içerisine alındığında 35-39 °C arasında ve asidik pH'de amastigot formlara dönüşmektedir (13). *Leishmania major* ve *L. infantum* promastigotları benzer ortamda yaşamlarını sürdürmekte ve benzer morfolojiye sahip olmalarına rağmen, amastigot formları sırasıyla deri lezyonları ve visseral enfeksiyon olmak üzere farklı iki klinik tabloya yol açmaktadır. Bu kadar farklı olan klinik tablodan sorumlu bu iki türün genomik benzerliğinin %99'un üzerinde ve kodlayan gen bölgelerinin %82-94 arasında korunmuş olduğu bildirilmiştir (9). Bu nedenle klinik farklılığın hem promastigot ve amastigot formları arasındaki farklılıklardan, hem de her türe ait promastigot/amastigottaki yüksek oranda diferansiye olan eksprese genlerden ve ortak genlerdeki ekspresyon farklılıklarından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (11).

Bu çalışmada *L. major* ve *L. infantum*'un promastigot formlarında ortak olarak eksprese edilen ve protein kodlayan 30 tane genin ekspresyon profilleri PZR yöntemiyle araştırılmıştır. Promastigotlarda ortak olan bu genlerin karbonhidrat, lipit, protein, DNA/nükleik asit metabolik fonksiyonları, hücre fonksiyonları ve metabolizma ile ilgili olduğu bulunmuştur. Kamçıları sayesinde hareketli olan promastigotlar yüksek oranda ihtiyaç duydukları enerjiyi karbonhidratlardan glikoliz ve trikarboksilik asit (TCA) siklusu aracılığıyla sağlamaktadır. Bu nedenle karbonhidrat mekanizmasında rol alan genler promastigotların canlılığını sürdürmesinde önemli olduğu için, çalışmamızda iki türde de ortak olan enolase (*ENO*), acetyl-coA synthetase (*ACS*) ve aldose-1-epimerase (*AE*) genlerinin ekspresyonları incelenmiştir. *ENO* ve *AE* genleri iki *Leishmania* türünde benzer seviyede eksprese olurken, *ACS* geninin *L. major*'de daha yüksek oranda eksprese olduğu tespit edilmiştir.

Promastigotlarda, *ENO* geni glikolizde 2-fosfogliserrattan fosfoenolpiruvat arasında reversibl dönüşümü; glikoliz ve glikoneogenezde rol alan *AE* geni α-D-glukan'ın β-D-glukana dönüşmesini; *ACS* geni TCA siklusunda ATP'ye dönüşecek olan asetil-KoA'nın sentezlenmesini sağlamaktadır. *ENO*'nun yüksek oranda korunmuş bir gen olduğu, glikoliz ve glikoneogenez gibi hücre için vital olan iki metabolik yolakta görevli olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *ENO* parazitin hücre membranı ile temas halinde olan sekretomu içindeki plazminojen reseptörü olup, parazitin virülansına katkıda bulunmaktadır (14). *ENO*'nun parazitin yaşamını sürdürmesi ve virülansı için oldukça önemli olması, ilaç ve aşı çalışmaları için önemli bir hedef olabileceğini düşündürmektedir. Gupta ve ark. (15) tarafından yapılan çalışmada *L. donovani* ile enfekte edilen ve visseral leishmaniasis tablosu gelişen farelere rekombinant *ENO* proteininin verilmesi ile Th1 hücrelerinin uyarıldığı, IL-12, IFN-γ, TNF-α ve iNOS düzeylerinin anlamlı seviyede yükseldiği saptanmış olup, *ENO* ile aşılamanın parazit yükünde %90 oranında azalma sağladığı gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak çalışmamızda *L. major* ve *L. infantum* türlerinde *ENO* gen ekspresyon seviyesinin eşit oranda tespit edilmesi, bu genin iki *Leishmania* türünün eradikasyonu için ortak bir hedef olabileceğini göstermektedir (11).

Karbonhidrat metabolizmasında rol oynayan genler ve kodladıkları proteinler ile ilgili çalışmalar tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi ve yeni hedef ilaçların keşfi için devam etmektedir. Beş değerli antimon bileşiklerine dirençli ve duyarlı *L. donovani* suşlarında yapılan bir transkriptomik çalışmada, dirençli suşlarda parazit için esansiyel olan ve virülansı artıran glikoliz enzimlerine daha yüksek oranda rastlanmıştır ve *AE* geni dirençli suşlarda 15 kat daha

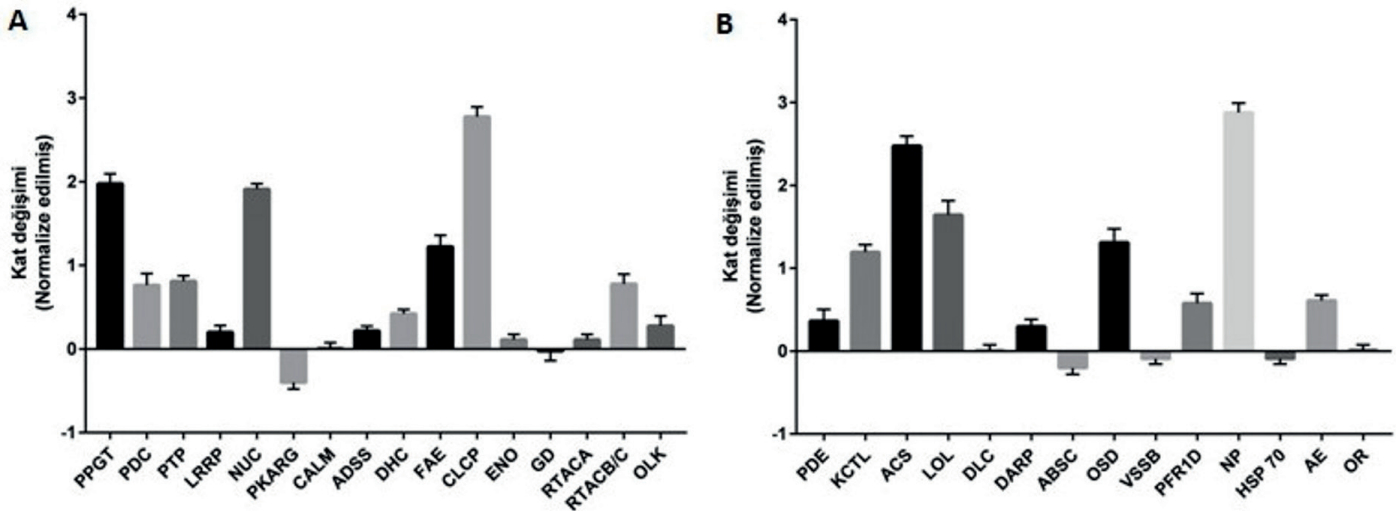
Tablo 1. *Leishmania major* ve *L. infantum* promastigotlarında ortak ifadelenen genlerin adı, fonksiyonu, veri bankasındaki erişim numarası ve FC değerleri

Gen adı	Kısaltma	Fonksiyonu	<i>L. major</i> gen DB AN	<i>L. infantum</i> gen DB AN	FC1	FC2	FC3
Phosphoglycan Beta 1,3 Galactosyltransferase-like	PPGT	Lipit	LmjF.02.0160	LinJ.02.0140	2	1,85	2,08
Fatty Acid Elongase	FAE		LmjF.14.0670	LinJ.14.0700	1,2	1,1	1,37
Lathosterol Oxidase-Like	LOL		LmjF.23.1300	LinJ.23.1560	1,7	1,45	1,78
3-oxo-5-alpha-Steroid 4-Dehydrogenase	OSD		LmjF.25.1770	LinJ.25.1850	1,3	1,15	1,48
Peptidyl Dipeptidase C	PDC	Protein/aminoasit	LmjF.27.2660	LinJ.01.0850	0,8	0,61	0,88
Calpain-Like Cysteine Peptidase	CLCP		LmjF.27.0500	LinJ.14.0910	2,8	2,65	2,88
Protein Kinase A Regulatory Subunit	PKARG		LmjF.13.0160	LinJ.13.0160	-0,4	-0,48	-0,32
Glutamate Dehydrogenase	GD		LmjF.15.1010	LinJ.15.1070	0	-0,15	0,08
HSP 70	HSP 70	Karbonhidrat	LmjF.32.1940	LinJ.32.2050	-0,1	-0,15	-0,02
Enolase	ENO		LmjF.14.1160	LinJ.14.1240	0,1	0,05	0,18
Acetyl-CoA Synthetase	ACS		LmjF.23.0710	LinJ.23.0880	2,5	2,35	2,58
Aldose 1-Epimerase	AE		LmjF.35.0980	LinJ.35.1000	0,6	0,55	0,68
3'-Nucleotidase/Nuclease	NUC	DNA/nükleik asit	LmjF.12.0400	LinJ.12.0350	1,9	1,85	1,98
3' Nucleotidase/Nuclease Precursor	NP		LmjF.31.2310	LinJ.31.2380	2,9	2,75	2,98
ATPase Beta Subunit C	ABSC		LmjF.25.1180	LinJ.25.2590	-0,2	-0,28	-0,12
Adenylosuccinate Synthetase	ADSS		LmjF.13.1190	LinJ.13.1090	0,2	0,17	0,28
Calmodulin	CALM	Hücre	LmjF.13.1160	LinJ.13.1060	0	-0,05	0,08
Dynein Heavy Chain	DHC		LmjF.13.1650	LinJ.13.1390	0,4	0,38	0,48
Dynein Light Chain	DLC		LmjF.24.1030	LinJ.24.1050	0	-0,05	0,08
Dynein-Associated Roadblock Protein	DARP		LmjF.35.1750	LinJ.35.1740	0,3	0,21	0,38
Receptor-Type Adenylate Cyclase A	RTACA		LmjF.17.0200	LinJ.17.0120	0,1	0,05	0,18
Receptor-Type Adenylate Cyclase B/C	RTACB/C		LmjF.17.0237	LinJ.17.0160	0,8	0,65	0,88
OSM3-Like Kinesin	OLK		LmjF.17.0800	LinJ.17.0890	0,3	0,15	0,38
Phosphodiesterase	PDE		LmjF.18.1090	LinJ.18.1100	0,4	0,21	0,48
PFR1D c	PFR1D		LmjF.29.1770	LinJ.29.1890	0,6	0,45	0,68
3-Ketoacyl-CoA Thiolase-Like	KCTL		Metabolizma	LmjF.23.0690	LinJ.23.0860	1,2	1,1
Vacuolar ATP Synthase Subunit B	VSSB	LmjF.28.2430		LinJ.28.2610	-0,1	-0,15	-0,02
Protein Tyrosine Phosphatase	PTP	Bilinmiyor	LmjF.05.0280	LinJ.05.0280	0,8	0,75	0,88
Leucine-Rich Repeat Protein	LRRP		LmjF.10.0180	LinJ.10.0160	0,2	0,12	0,28
Oxidoreductase	OR		LmjF.36.4170	LinJ.36.4380	0	-0,05	0,08

yüksek bulunmuştur (16). Benzer olarak, miltefosine dirençli *L. donovani* suşlarının mikrodizi analizinde ACS geninin ekspresyonu anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (17). Karbonhidrat metabolizmasında rol oynayan genlerin ve kodladıkları proteinlerin hem insanlarda hem de parazitlerde bulunmasının ilaç hedefi olarak kullanılmasını engelleyebileceği düşünülebilir. Ancak, *L. donovani*'ye ait ACS geninin insanlarda bulunan gen ile sadece %49,3 oranında benzerlik göstermesi, bu proteinin ilaç hedefi olarak aday olabileceğini göstermektedir (18). İlaç çalışmaları yanında ACS enziminin parazit virülansı veya enfektivitesi üzerindeki etkileri de araştırılmış, genin bir alelinde oluşturulan delesyonun parazitlerin virülansında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (18). Benzer olarak memelilerde akciğer enfeksiyonuna neden olan *Cryptococcus neoformans*'ta ACS gen delesyonunun enfektiviteyi belirgin ölçüde azalttığı gösterilmiştir (19).

Çalışmamızda, karbonhidrat metabolizmasında rol alan bu üç genden ACS'nin *L. major*'de anlamlı derece yüksek oranda eksprese olması, bu enzimin özellikle *L. major* için yeni bir ilaç hedefi olabileceğini desteklemektedir. Benzer olarak, Rochette ve ark.'nın (11) yaptığı bir çalışmada bu enzimin *L. major*'de *L. infantum*'a göre 2,3 kat daha fazla miktarda eksprese olduğu gösterilmiştir.

Son yıllarda hücre içi yaşama potansiyeli olan parazitlerde lipitlerin rolünü ve önemini araştıran çalışmaların sayısında artış olmuştur (20,21). Bu çalışmalarda fosfolipit ve sfingolipitlerin parazitlerin hayatta kalmasında ve virülansında oldukça önemli olduğu belirtilmektedir. Leishmaniasis tedavisinde lipit metabolizmasını hedefleyen miltefosinin başarılı olması bu düşüncüyü kuvvetle desteklemektedir. Ayrıca membran lipitleri ve kolesterolü konak parazit etkileşimlerinde oldukça önemlidir.



Şekil 1. A-B) Her iki *Leishmania* türünün promastigot formlarında ortak olan genlerin ekspresyon seviyelerindeki kat değişim oranları (*Leishmania major*'un *L. infantum*'a göre)

Ghosh ve ark. (22) tarafından 2014 yılında yürütülen bir çalışmada kültüre edilen makrofajlarda membran kolesterollerini "methyl β -cyclodextrin" aracılığıyla uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kültür ortamına *Leishmania* promastigotları eklenince promastigotların makrofajların yüzeyine bağlanma ve enfekte etme oranlarında belirgin azalma olduğu gösterilmiştir (22).

Çalışmamızda lipit metabolizmasında rol oynayan "phosphoglycan beta 1,3 galactosyltransferase-like (PPGT)", "fatty acid elongase (FAE)", "LOL" ve "3-oxo-5-alpha-steroid 4-dehydrogenase (OSD)" genlerinin *L. major*'de daha yüksek oranda eksprese edildiği tespit edilmiştir. Bunlardan PPGT, lipofosfoglikan sentezinde rol oynayan genlerden bir tanesidir. Lipofosfoglikan, *Leishmania* türlerinin membranında bulunan ve parazitin vektör phlebotomların bağırsaklarındaki lektin yapısına tutunmasını sağlayan, fagozomların lizozomlarla füzyonunu ve NADPH oksidaz aktivitesini önleyerek parazitin bağışıklık mekanizmalarından korunmasına katkıda bulunan bir virülans faktörüdür. Promastigotlarda yapısal olarak sentezlenmektedir. Yapılan çalışmalar bu molekülün sentezini sağlayan genlerin *Leishmania* ve *Trypanosoma* cinsi parazitler arasında oldukça korunmuş olduğunu ve bu genlerin bazılarının potansiyel aşı adayı olabileceğini belirtmiştir (23).

LOL, memelilerde, bitkilerde, mantarlarda ve protozoonlarda bulunan ve ergosterol sentezinden sorumlu olan bir enzimdir. Steroller ökaryotlarda bulunan esansiyel membran bileşenleri olup, ergosterol sentez inhibitörü olan amfoterisin B leishmaniasis enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. LOL geninde mutasyon oluşturulmuş *L. major* promastigotlarının amfoterisin B'ye direnç kazandığı gösterilmiştir. Ancak aynı çalışmada LOL mutant promastigotların erken durağan fazda morfolojisi ve replikasyon hızı normal iken, geç dönemde morfolojilerinin bozulduğu ve vahşi tip promastigotlara göre ölüm oranlarının daha yüksek olduğu da belirtilmiştir (24). Bunun yanında, çalışmamızda *L. major* promastigotlarında ekspresyonları daha yüksek bulunan diğer genlerden, FAE, *Leishmania* türlerinde bulunan ve dört karbonlu bütiril koA'ya karbon ekleyerek uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin sentezlenmesini sağlayan enzim iken, OSD geni ise isoprenoid ve sterol sentezinde kullanılmaktadır. Literatürde FAE inhibitörlerinin farklı alanlarda kullanımına dair çalışmalar (meme kanseri, vs.) bulunmaktadır (25). Bu ajanların

leishmaniasis tedavisinde de başarılı bir şekilde kullanılabileceği düşünülmekte olup, bu alanda yapılacak çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Literatür bazlı incelemeler göz önüne alındığında, çalışmamızda parazit için esansiyel olan, karbonhidrat veya lipit metabolizmasında rol oynayan genlerin *L. major*'de daha yüksek oranda eksprese olmalarının *L. major* promastigotlarının kültür ortamında daha kolay hayatta kalmasının ve çoğalmasının nedenlerinden biri olabileceği düşünülmektedir.

Protein metabolizmasında rol alan genlerden sadece "calpain like cystein peptidase'nin (CLCP)" *L. major*'de anlamlı derecede yüksek oranda eksprese olduğu görülmüş, diğer genler açısından bir farklılık saptanmamıştır. Calpainler parazitlerin hücre yüzeyinde bulunan ve kalsiyum tarafından regüle edilen sitozolik sistein peptidazlar olup, patojenitede oldukça önemli görevleri bulunmaktadır (26). Hücre iskelet proteinlerinin düzenlenmesi, reseptörlerin ve enzim öncüllerin aktifleşmesi gibi rollere sahiptir. Calpainler ayrıca memelilerde alzheimer, kas distrofi, travmatik beyin hasarı ve spinal kord hasarı gibi durumların gelişmesinden sorumlu tutulmakta olup, calpain inhibitörlerinin alzheimer tedavisinde kullanımının nöronal hasarı azaltacağı düşünülmektedir (27). Ayrıca calpain inhibitörlerinin parazitlerin morfolojisini değiştirerek leishmaniasis tedavisinde kullanılabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır (28).

"3'nükleotidase/nuclease (NUC)" ve prekürsörü (NP) pürin kurtarma yolunda rol oynayan enzimler olup, parazitin yaşam döngüsünde önemli rolleri bulunmaktadır. Özellikle promastigot formunda yüksek miktarda eksprese olan genler, parazitin phlebotomlarda yaşam döngüsünün tamamlanması için gereklidir. Ayrıca bu enzim parazitin bağışıklık mekanizmalarından kaçmasına yardımcı olmaktadır. NUC, önemli bir adenozin kaynağı olup, parazite karşı gelişen pro-enflamatuvar sinyalleri inhibe ederken, anti-enflamatuvar sinyalleri artırmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda visceral leishmaniasiste NUC ürünü olan adenozinin hastalığın ilk zamanlarında yüksek saptandığı, ilerleyen zamanlarda normale döndüğü belirtilmiştir. Bu enzim aynı zamanda parazitin nötrofilin apoptozundan kaçmasına yardımcı olmakta ve enfeksiyon bölgesine makrofajlar gelene kadar hayatta kalmasını sağlamaktadır (29,30).

Çalışmamızda, protein metabolizmasına ve nükleik asit sentezine katılan genlerin iki *Leishmania* türünde benzer oranlarda eksprese edilmesi (iki gen haricinde), bu genlerin *Leishmania* yaşam döngüsünün temel yapı taşlarına ait genler olabileceğini desteklemektedir. Aynı düzeyde eksprese edilen bu genlere yönelik inhibitörler veya aşı çalışmalarının iki türe de etki edebilme ihtimalini ortaya koymaktadır. İleri çalışmalar ile bu genlerin amastigot formunda konaktaki sekans ve ekspresyon düzeyleri de karşılaştırıldıktan sonra ilaç ve aşı çalışmaları için önemli adaylar olabilecekleri düşünülmektedir.

Son yıllarda leishmaniasisin önlenmesinde birinci jenerasyon olarak tanımlanan canlı veya ölü aşuların yerini artık ikinci jenerasyon olan rekombinant aşular almıştır. Rekombinant aşılarda parazite ait protein veya lipofosfoglikanlar kullanılmaktadır. *Leishmania* türlerinin genomik yapısını araştıran gen ekspresyon çalışmaları aşı hedefi olarak kullanılabilir moleküllerin tanımlanmasına yardımcı olmaktadır. Parazitin hayatta kalmasını sağlayan ve *Leishmania* türlerinde ortak olarak eksprese olan karbonhidrat, protein ve lipid metabolizması ile ilgili genlerle rekombinant aşuların hazırlanmasının başarılı olacağını düşünmekteyiz. Bu moleküllerin leishmaniasis tedavisinde yeni ilaç hedefleri olarak araştırılması ve konuda ileri çalışmaların yapılmasının leishmaniasis tedavisine destek sağlayabileceği kanaatindeyiz. *Leishmania major* ve *L. infantum* promastigotlarında farklı oranda eksprese edilen genlerin değerlendirilmesi iki türün bulaşma, tedavi ve hastalık mekanizmasındaki farklılıkların açıklanmasına ışık tutacaktır.

Bu çalışmada *L. major* ve *L. infantum* promastigotlarında ortak olarak eksprese edilen genlerin ekspresyonları değerlendirilmiş olup, dokuz tane genin ekspresyonu *L. major*'de anlamlı derece yüksek bulunmuştur. Genlerin ortak özellikleri incelendiğinde kodladıkları proteinlerin parazitin yaşamı için esansiyel olduğu, parazitin virülansı ve/veya patogeneze katkıda bulunduğu görülmüştür. Ayrıca standart tedavilere dirençli parazitler formlarda bu proteinlere daha fazla oranda rastlanmıştır. Parazitin standart tedavisinde kullanılan ajanların toksik ve yan etkilerinin fazla olması ve gelişen direnç sorunu nedeniyle acetyl-coA synthetase, calpain, fatty acid elongase, lathosterol oxidase gibi genlerin özellikle *L. major* için aşı veya ilaç hedefi olarak kullanılabilirliği düşünülmekte olup, bu konuda yapılacak ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

SONUÇ

Bu çalışmada *L. major* ile *L. infantum* promastigotlarında ortak olarak eksprese edilen gen profillerinin karşılaştırılması ve bu genlerin kodladıkları proteinlerin fonksiyonlarının belirlenmesi parazit türlerinin virülans, patogeneze ve ilaç dirençlerinin açıklanmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca gen profillerinin değerlendirilmesinin, parazite karşı aşı ve ilaç çalışmaları için türlere özgü spesifik veya ortak hedeflerin seçilmesinde temel veriler sunması açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Herhangi bir hayvan veya insan örneği kullanılmaması sebebiyle bu çalışma için etik kurul onayı gerekmemektedir.

Hasta Onayı: İnsanlar ve hayvanlar üzerinde deneysel veya bilimsel amaçlarla çalışma yürütülmemiş olup, insan veya hayvana ait örnekler de kullanılmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: A.S., Konsept: Ö.U.B., A.C., Dizayn: Ö.U.B., A.C., Veri Toplanma veya İşleme: Ö.U.B., A.S., Analiz veya Yorumlama: Ö.U.B., A.S., A.C., Literatür Arama: Ö.U.B., A.C., Yazan: Ö.U.B.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Torres-Guerrero E, Quintanilla-Cedillo MR, Ruiz-Esmenjaud J, Arenas R. Leishmaniasis: a review. F1000Res 2017; 6: 750.
- World Health Organization. WHO Expert Committee on the Control of the Leishmaniases & World Health Organization. Control of the leishmaniases: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases; 2010 22-26 March; Geneva.
- de Menezes JP, Guedes CE, Petersen AL, Fraga DB, Veras PS. Advances in Development of New Treatment for Leishmaniasis. Biomed Res Int 2015; 2015: 815023.
- Ponte-Sucre A, Gamarro F, Dujardin JC, Barrett MP, López-Vélez R, García-Hernández R, et al. Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge. PLoS Negl Trop Dis 2017; 11: 0006052.
- Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. Lancet 2005; 366: 1561-77.
- Ivens AC, Peacock CS, Worthey EA, Murphy L, Aggarwal G, Berriman M, et al. The genome of the kinetoplastid parasite, *Leishmania major*. Science 2005; 309: 436-42.
- Clayton C, Shapira M. Post-transcriptional regulation of gene expression in trypanosomes and leishmanias. Mol Biochem Parasitol 2007; 156: 93-101.
- Real F, Vidal RO, Carazzolle MF, Mondego JM, Costa GG, Herai RH, et al. The genome sequence of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*: functional annotation and extended analysis of gene models. DNA Res 2013; 20: 567-81.
- Peacock CS, Seeger K, Harris D, Murphy L, Ruiz JC, Quail MA, et al. Comparative genomic analysis of three Leishmania species that cause diverse human disease. Nat Genet 2007; 39: 839-47.
- Proteomes-*Leishmania major*, *Leishmania infantum*. Uniprot. <https://www.uniprot.org/proteomes/UP000000542> (cited 30 January 2021). Available from: URL: <https://www.uniprot.org/proteomes/UP0000008153>.
- Rochette A, Raymond F, Ubeda JM, Smith M, Messier N, Boisvert S, et al. Genome-wide gene expression profiling analysis of *Leishmania major* and *Leishmania infantum* developmental stages reveals substantial differences between the two species. BMC Genomics 2008; 9: 255.
- Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the 2⁻(-delta delta CT) method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. Biostat Bioinforma Biomath 2013; 3: 71-85.
- Bee A, Culley FJ, Alkhalife IS, Bodman-Smith KB, Raynes JG, Bates PA. Transformation of *Leishmania mexicana* metacyclic promastigotes to amastigote-like forms mediated by binding of human C-reactive protein. Parasitology 2001; 122: 521-9.
- Avilán L, Gualdrón-López M, Quiñones W, González-González L, Hannaert V, Michels PA, et al. Enolase: a key player in the metabolism and a probable virulence factor of trypanosomatid parasites-perspectives for its use as a therapeutic target. Enzyme Res 2011; 2011: 932549.
- Gupta R, Kumar V, Kushawaha PK, Tripathi CP, Joshi S, Sahasrabudhe AA, et al. Characterization of glycolytic enzymes-rAldolase and rEnolase of *Leishmania donovani*, identified as Th1 stimulatory proteins, for their immunogenicity and immunoprophylactic efficacies against experimental visceral leishmaniasis. PLoS One 2014; 9: 86073.

16. Biyani N, Singh AK, Mandal S, Chawla B, Madhubala R. Differential expression of proteins in antimony-susceptible and -resistant isolates of *Leishmania donovani*. *Mol Biochem Parasitol* 2011; 179: 91-9.
17. Kulshrestha A, Sharma V, Singh R, Salotra P. Comparative transcript expression analysis of miltefosine-sensitive and miltefosine-resistant *Leishmania donovani*. *Parasitol Res* 2014; 113: 1171-84.
18. Soumya N, Panara MN, Neerupudi KB, Singh S. Functional analysis of an AMP forming acetyl CoA synthetase from *Leishmania donovani* by gene overexpression and targeted gene disruption approaches. *Parasitol Int* 2017; 66: 992-1002.
19. Hu G, Cheng PY, Sham A, Perfect JR, Kronstad JW. Metabolic adaptation in *Cryptococcus neoformans* during early murine pulmonary infection. *Mol Microbiol* 2008; 69: 1456-75.
20. Pucadyil TJ, Chattopadhyay A. Role of cholesterol in the function and organization of G-protein coupled receptors. *Prog Lipid Res* 2006; 45: 295-333.
21. Zhang K, Beverley SM. Phospholipid and sphingolipid metabolism in *Leishmania*. *Mol Biochem Parasitol* 2010; 170: 55-64.
22. Ghosh M, Roy K, Das Mukherjee D, Chakrabarti G, Roy Choudhury K, Roy S. *Leishmania donovani* infection enhances lateral mobility of macrophage membrane protein which is reversed by liposomal cholesterol. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8: 3367.
23. Azevedo LG, de Queiroz ATL, Barral A, Santos LA, Ramos PIP. Proteins involved in the biosynthesis of lipophosphoglycan in *Leishmania*: a comparative genomic and evolutionary analysis. *Parasit Vectors* 2020; 13: 44.
24. Ning Y, Frankfater C, Hsu FF, Soares RP, Cardoso CA, Nogueira PM, et al. Lathosterol Oxidase (Sterol C-5 Desaturase) Deletion Confers Resistance to Amphotericin B and Sensitivity to Acidic Stress in *Leishmania major*. *mSphere* 2020; 5: e00380-20.
25. Zakharaova GS, Poloznikov AA, Astakhova LA, Raigorodskaya MP, Khesina ZB, Fomicheva KA, et al. The effect of ELOVL6 fatty acid elongase inhibition on the expression of genes associated with the metastasis of breast cancer. *Russ Chem Bull* 2018; 67: 2307-15.
26. Mehendale HM, Limaye PB. Calpain: a death protein that mediates progression of liver injury. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26: 232-6.
27. Battaglia F, Trinchese F, Liu S, Walter S, Nixon RA, Arancio O. Calpain inhibitors, a treatment for Alzheimer's disease: position paper. *J Mol Neurosci* 2003; 20: 357-62.
28. d'Avila-Levy CM, Marinho FA, Santos LO, Martins JL, Santos AL, Branquinho MH. Antileishmanial activity of MDL 28170, a potent calpain inhibitor. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28: 138-42.
29. Freitas-Mesquita AL, Meyer-Fernandes JR. Ecto-nucleotidases and Ecto-phosphatases from *Leishmania* and *Trypanosoma* parasites. *Subcell Biochem* 2014; 74: 217-52.
30. Freitas-Mesquita AL, Meyer-Fernandes JR. 3'nucleotidase/nuclease in protozoan parasites: Molecular and biochemical properties and physiological roles. *Exp Parasitol* 2017; 179: 1-6.

Yerli Bir Kala-Azar Hastasından İzole Edilen *Leishmania donovani*/*L. infantum* Hibridinin Karakterizasyonu: *In vivo* Modele Ait Ön Bulgular

Characterisation of the Leishmania donovani/L. infantum Hybrid Isolated from an Autochthonous Kala-Azar Patient: Preliminary Results of an In Vivo Model

Özgür Kurt¹, Nesteren Mansur Özen², Elif Merve Aydın², Deniz Ece Kaya³,
Cavit Kerem Kayhan⁴, Sinem Öktem Okullu¹, Ümit İnce^{4,5}, Fadile Yıldız Zeyrek⁶

¹Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Medikal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoistatistik ve Biyoinformatik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Acıbadem Sağlık Grubu, Maslak Hastanesi, Patoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁵Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁶Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

Cite this article as: Kurt Ö, Mansur Özen N, Aydın EM, Kaya DE, Kayhan CK, Öktem Okullu S, İnce Ü, Yıldız Zeyrek F. Characterisation of the *Leishmania donovani*/*L. infantum* Hybrid Isolated from an Autochthonous Kala-Azar Patient: Preliminary Results of an *In vivo* Model. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):95-100.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, Manisa'da tedavi gören bir visceral leishmaniasis hastasından izole edilen ve *Leishmania*'lara özgü *ITS-1*, *hsp70* ve *cpb* gen bölgelerine yönelik analizlerle *Leishmania donovani*/*L. infantum* hibridi olduğu gösterilen etkenin karakterizasyonuna yönelik *in vivo* deneyler sunulmakta olup, ilk sonuçlar *L. donovani* ve *L. infantum*'un referans suşlarıyla karşılaştırılmaktadır.

Yöntemler: Çalışma için, 25-30 gr ağırlığında dişi Balb/C fareler ile (her biri 16'şar fare içeren) üç farklı çalışma grubu (ÇG) ve 8 fareden oluşan bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Sıvı azottaki referans *L. donovani* (MHOM/IN/1980/DD8), *L. infantum* (MHOM/TN/1980/IP1) suşlarla *L. donovani*/*L. infantum* hibridi (MHOM/TR/2014/CBVL-LI/LD) çözdürülüp kültive edilmiş ve 25 °C'de inkübe edilmiştir. Üç suşa ait 1x10⁸/mL promastigot, 15 (mikrolitre; µL) dozda ÇG'deki farelerin kuyruk venlerine uygulanmıştır. Fareler sakrifiye edildikten sonra çıkarılan karaciğer ve dalak dokuları immünojenik, immünohistokimyasal ve patolojik testler için saklanmıştır.

Bulgular: Farelerin karaciğer ve dalak dokularında enfeksiyon varlığı, hem özgül ELISA testiyle hem de NNN besiyerinde karaciğer ve dalak dokularından *Leishmania* promastigotlarının üretilmesiyle gösterilmiştir. Bununla birlikte, karaciğer ve dalaklardan hazırlanan "touch biyopsi" yaymaları incelendiğinde, hiçbir grupta *Leishmania* amastigotlarına rastlanmamıştır. Ayrıca VL'ye bağlı doku hasarını saptamak için yapılan immünohistokimyasal boyamalarda (IL-9, CD-117, anti-MBP, CD163, CD4, CD8 ve CD31) hiçbir grupta doku hasarına yönelik bir bulgu elde edilmemiştir.

Sonuç: Edinilen sonuçlar, hibrid *Leishmania* ve referans *L. donovani* ve *L. infantum* suşlarının ÇG'deki Balb/C farelerinin karaciğer ve dalaklarına ulaştığını, ancak patolojik bir etki oluşmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, bu üç *Leishmania* izolatının, başka bir çalışma için aynı tür farelerin deri atlarına uygulandığında deride lezyon oluşturduğu belirlenmiştir. Projeye ait deneyler tamamlanıp sonuçların elde edilmesinin ardından bu çalışmada sunulan bulgular yeniden değerlendirilecektir.

Anahtar Kelimeler: *Leishmania* sp., hibrid, Kala-Azar, Türkiye, deney hayvanı modeli

ABSTRACT

Objective: In the present study, preliminary outcomes of the *in vivo* assessment of a *Leishmania donovani*/*L. infantum* hybrid isolated from a hospitalised patient with visceral leishmaniasis in Manisa and identified through analysis of the *Leishmania*-specific *ITS-1*, *hsp70* and *cpb* gene regions are presented in comparison with reference strains of *L. donovani* and *L. infantum*.

Geliş Tarihi/Received: 08.02.2021 **Kabul Tarihi/Accepted:** 20.04.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Özgür Kurt, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Tel/Phone: +90 532 686 10 88 **E-Posta/E-mail:** ozgur.kurt@acibadem.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-5575-588X



Methods: Three different study groups [(SG); n=16 mice each] and a control group (n=8 mice) were established with female Balb/C mice weighing 25-30 g. Reference *L. donovani* (MHOM/IN/1980/DD8), reference *L. infantum* (MHOM/TN/1980/IP1) and a *L. donovani/L. infantum* hybrid (MHOM/TR/2014/CBVL-LI/LD), stored in liquid nitrogen, were thawed, cultured and incubated at 25 °C. A 15-µL dose of 1x10⁸/mL promastigotes of three strains was applied to the tail veins of mice in the SG. After the mice were sacrificed, the liver and spleen tissues were removed and stored for immunological, immunohistochemical and pathological analyses.

Results: The presence of infection in the liver and spleen tissues of mice was detected both by a specific enzyme-linked immunosorbent assay test and from the recovery of *Leishmania* promastigotes from liver and spleen tissues in NNN medium. However, *Leishmania* amastigotes were not observed in the touch biopsy smears of livers or spleens in either of the SGs. In addition, no evidence of tissue damage was identified in the SGs after immunohistochemical staining (with antibodies against IL-9, CD-117, MBP, CD163, CD4, CD8 and CD31).

Conclusion: The obtained results show that hybrid *Leishmania* and reference *L. donovani* and *L. infantum* strains reached the liver and spleens of Balb/C mice in SGs but were of no pathological consequence. Yet, these three *Leishmania* isolates caused skin lesions when applied subcutaneously in Balb/C mice in another study. The findings presented in this study will be reassessed upon completion of the project, once the final results are obtained.

Keywords: *Leishmania* sp., hybrid, Kala-Azar, Turkey, animal model

GİRİŞ

İnsanlara Eski Dünya'da *Phlebotomus* sp., Yeni Dünya'da ise *Lutzomyia* sp. cinsi dişi yakarcaların ısırmasıyla bulaşan ve *Leishmania* cinsi kamçılı protozoonların neden olduğu leishmaniasis, klinikte kendini deri (kutanöz), iç organ (viseral) veya deri ve mukoza (mukokutanöz) tutulumuyla gösteren paraziter bir hastalıktır (1). Kala-Azar ya da diğer adıyla visceral leishmaniasis (VL) hastalarında karaciğer ve dalağın yoğun parazit tutulumu nedeniyle büyüdüğü, ayrıca çeşitli semptom ve bulgular ortaya çıktığı, tanı ve tedavinin geciktiği olgularda klinik tablonun ağırlaşmış ölümle sonuçlanabildiği gözlenebilmektedir (1,2). Nitekim Dünya Sağlık Örgütü leishmaniasis'i, iç organ tutulumunda ölümcül olabilmesi ve tüm dünyada yaygın enfeksiyona neden olup geniş kitleleri risk altında tutması nedeniyle öncelikli enfeksiyonlar arasında saymaktadır (3). Ülkemizin de içinde yer aldığı Eski Dünya olarak tanımlanan bölgelerde VL *L. donovani* ve *L. infantum* türleriyle ortaya çıkmaktadır (4,5). Son yıllarda dünyanın farklı bölgelerinde yürütülen çalışmalarda, *Leishmania* türlerinin vektörlerinin dağılımındaki coğrafi değişikliklere ve değişen doğa koşullarına uyum için kendi aralarında genetik madde alışverişi yapabildikleri gösterilmiştir (6-8). Örneğin, *L. infantum/L. major* hibridlerinin yaşam döngülerini doğada yaygın bulunan ve insan enfeksiyonlarına sık yol açan *Phlebotomus papatasi*'de tamamlayabildiği, oysa *L. infantum*'ün tek başına *P. papatasi*'ye yerleşemediği gözlenirken *L. braziliensis/L. peruviana* hibridlerinin doğaya daha iyi uyum sağladığı ve sağkalm oranlarının arttığı bildirilmiştir (9-11). Hibridleşen *Leishmania*'ların yeni vektörlere ulaşmasıyla daha yaygın coğrafyalarda insan enfeksiyonlarına yol açabileceği gibi, insanlarda tedaviye dirençli, deriden iç organlara yayılım gösterebilen ağır klinik tablolar oluşmasından da endişe edilmektedir (9). Nitekim son yıllarda, dünyada ve ülkemizde hibrid *Leishmania* izolatları vektörlerden olduğu kadar hastalardan da izole edilmeye başlanmıştır (7,11-13). Bu nedenle, özellikle klinik olgulardan izole edilen ve hibrid olduğu saptanan *Leishmania* türlerinin ayrıntılı moleküler, genomik ve proteomik araştırmalarla karakterize edilmesi, epidemiyolojik açıdan toplum sağlığı açısından taşıdıkları riskin ortaya konulabilmesi için önem taşımaktadır.

Leishmaniasis ile ilgili çalışmalarda farklı hayvan modelleri üzerinde enfeksiyonun klinik etkileri değerlendirilebilmekte, patogenez, immün cevap ve tedavi yanıtı konularında çalışmalar yürütülebilmektedir. *Leishmania* parazitlerinin canlı dokulardaki patojen etkilerinin Balb/C fareler gibi deney hayvanı modellerinde oluşturduğu histopatolojik değişikliklerle izlenmesinin,

klinik tablonun ciddiyetini tahmin etmede yararlı olduğu bildirilmektedir (14,15). Leishmaniasis sonrası parazitlerin konak dokusundaki yerleşimi ve neden oldukları histopatolojik değişimler farklı çalışmalarda immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak gösterilmiştir. Karaciğer ve dalak dokularındaki amastigotların boyanması ile doku yoğunlukları, karaciğerde parazite karşı gelişen granülomların oluşumu, genişlikleri, bazı yüzey proteinlerinin boyanması ile de hücre tiplerinin analizi mümkün olabilmektedir (15). Ayrıca, farklı *Leishmania* türleriyle oluşan enfeksiyona bağlı yapısal değişiklikler de (örneğin, dalak dokusundaki damarlaşma veya bozunmalar) bu yöntemle incelenebilmektedir (16). Nitekim, Balb/C farelerde enfeksiyonun başlangıcından 4. haftaya kadar olan sürede karaciğerde parazit artışı görülüp sonraki günlerde azalmaktayken dalak dokusunda ise parazit varlığının 4. haftadan sonra da uzun bir süre devam ettiği gözlenmiştir. Ayrıca, Balb/C farelerde parazite özgü dalak CD4+ T ve CD8+ T-hücrelerini içeren hücrel immün yanıt ve karaciğerdeki granülom oluşumu ile visceral enfeksiyonun kontrol altına alındığı belirlenmiştir (17-19).

Fare modelinde enfeksiyona bağlı organlardaki patolojik değişikliklerin tanımlanıp sınıflandırılmasında hematoksilen-eozin boyalı doku kesitlerinin puanlanmasının mümkün olduğu bildirilmektedir (15). Karaciğerdeki yapısal değişiklikler; lezyonda granülom oluşumu, bölgeye göç eden immün hücreler ve dokunun bozunması üzerinden; dalaktaki yapısal değişiklikler ise lenfoid atrofi olması veya lenfoid reaktivite düzeyi üzerinden 0-3 aralığında derecelendirilebilmektedir (20).

Ülkemizde bir VL hastasından izole edilen ve yapılan ileri testlerle *L. donovani/L. infantum* hibridi olduğu belirlenen parazitin geniş çaplı karakterizasyonunun amaçlandığı bir TÜBİTAK projesi kapsamındaki bu çalışmada; *L. donovani/L. infantum* hibridinin *L. donovani* ve *L. infantum* referans suşlarıyla karşılaştırıldığı *in vivo* testler ve bunlarla ilişkili patolojik ve immünohistokimyasal incelemelerin sonuçları sunulmaktadır.

YÖNTEMLER

Olgu

Çalışma, Manisa'da yaşayan, 28 yaşındaki bir erkek hastadan izole edilen ve yapılan gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu sonrası erime eğrisi analizlerinde oluşan çift eğri sonrası *Leishmania donovani/L. infantum* hibridi olduğu tespit edilen "MHOM/TR/2014/CBVL-LI/LD" kodlu suş ile yürütülmüştür. Aile sağlığı merkezine üşüme titreme, yüksek ateş, gece terlemesi, halsizlik ve kas ağrısı yakınmalarıyla başvuran ve üst solunum

yolu enfeksiyonuna yönelik tedavi verilen hastanın 1 hafta sonra yüksek ateşinin geçmemesi üzerine hastaneye yatırılması kararlaştırılmıştır. Burada yapılan incelemelerde hastada hepatosplenomegali (bilgisayarlı tomografide dalak 18,5 cm, karaciğer 18 cm) ve pansitopeni (lökosit 2,600/mm³; hemoglobin 9,7 g/dL; trombosit 62.000/mm³) geliştiği belirlenmiştir. Hastanın kemik iliği ve lenf bezi aspirasyon sıvılarından hazırlanan Giemsa ile boyalı preparatlarda *Leishmania* amastigotları saptanmış, NNN besiyerine ekilen aspirasyon sıvılarında da 6. günden itibaren *Leishmania* promastigotları görülmüştür. Bunun üzerine hastaya tedavi başlanmış ve kültürde çoğaltılan *Leishmania*'lar sıvı azotta -196 °C'ye kaldırılmıştır.

Kültür

Hibrid suş (MHOM/TR/2014/CBVL-LI/LD), karşılaştırma amacıyla kullanılacak referans *Leishmania donovani* (MHOM/IN/1980/DD8) ve *L. infantum*'un suşu (MHOM/TN/1980/IP-1) ile birlikte sıvı azottan çıkarılarak tarif edildiği şekilde çözdürülmüş (21) ve NNN besiyerine ekilmiştir. Üreme ilk olarak burada gerçekleştikten sonra kültürler çok sayıda promastigot eldesi için %10 fetal buzağı serumu içeren Rosswell Park Memorial Institute-1,640 besiyerine aktarılmıştır. Bu besiyerine ayrıca %1 penisilin-streptomisin (penisilin, 10,000 units/mL-streptomisin, 10 mg/mL) ve %0,2 gentamisin (gentamicin, 50 mg/mL) eklenmiştir. Ekim sonrası kültürler 25 °C'lik etüvde inkübe edilmiştir.

Çalışma Gruplarının Oluşturulması

In vivo VL modeli oluşturabilmek için, etik kurul onayı sonrası (ACU-HADYK 2018/09) Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde dişi, 5-7 haftalık ve 20-25 gr ağırlığında toplam 56 Balb/C fare ile çalışma yapılmıştır. Bu farelerin (*Leishmania infantum* grubu, *Leishmania donovani* grubu ve *L. infantum/L. donovani* hibrid grubunda 16'şar fare olmak üzere) toplam 48'i çalışma gruplarında, 8'i ise kontrol grubuna alınmış, deneylerin sonuna kadar *ad libitum* beslenmişlerdir.

Farelerin Enfekte Edilmesi

Kültürde çoğaltılmış üç farklı suşa ait *Leishmania* promastigotları, son konsantrasyon 1x10⁸ promastigot/mL olacak şekilde hazırlanmış ve çalışma gruplarındaki farelerin kuyruk venlerine 15 µL uygulanmıştır. Tüm fareler enjeksiyon sonrası VL'ye bağlı beklenen olası değişiklikler (örneğin; kilo kaybı, tüylerde dökülme, hareketlerde yavaşlama) yönünden izlenmiştir. Ayrıca, enfeksiyonun farelerde yerleştiğini gösterebilmek amacıyla çalışmanın 21. günü farelerden kan alınıp 4 °C ve 3,000 RPM'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve özgün *Leishmania* IgG ELISA kiti (Qualitative Mouse *Leishmania* antibody IgG ELISA Kit, MyBioSourceTM) ile araştırılmıştır.

Farelerin Sakrifiye Edilmesi

Enfeksiyonun 21. günü alınan kan örneklerinden yapılan ELISA testiyle farelerin enfekte olduğu tespit edildikten sonra tüm farelerin yarısı enfeksiyonun karaciğerde en yüksek seviyeye ulaştığı 30. günde ve daha sonra 60. günde karbonmonoksit koklatma yöntemiyle sakrifiye edilmiştir (14,15). Sakrifikasyondan hemen önce farelerin kalplerinden 0,1 mL kan alınıp saklanmış, sakrifikasyon sonrası ise tüm farelerin dalak ve karaciğerleri diseke edilerek proje kapsamındaki diğer testler için (immünohistokimya, DNA ve RNA izolasyonu ve akışlı sitometri çalışmaları) kullanılmak

üzere parçalanarak ayrılmıştır. Çalışma grubundaki farelerin karaciğer ve dalaklarında parazit varlığını göstermek için, bu organlardan ayrıca örnekler alınarak NNN besiyerine ekilmiş ve besiyerleri 25 °C'lik etüvde inkübe edilmiştir.

İmmünohistokimya Çalışmaları İçin Dokuların Alınması

İmmünohistokimya çalışmalarında kullanılmak için çalışmanın 30. ve 60. günlerinde sakrifiye edilen toplam 56 farenin her birinden 20 mg dalak doku parçası ve 35 mg karaciğer doku parçası, %10 formol içeren steril biyopsi kapları içerisine konulmuştur.

İmmünohistokimyasal Analizlerin Yapılması

Sakrifiye edilen farelerin karaciğer ve dalaklarından "touch biopsy" ile yaymalar hazırlanmış, enfeksiyona bağlı patolojik değişikliklerin gruplarda karşılaştırmalı tespiti için immünohistokimyasal boyalarla boyanması gerçekleştirilip histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Her bir farenin karaciğer ve dalak dokularından alınan örnekler rutin histopatolojik inceleme için hazırlanmış, rutin hematoksilen eozin boyası uygulanarak değerlendirilmiştir.

Karaciğer ve dalakta oluşan yapısal değişikliklerin değerlendirilmesinde, önceki bir makalede (15) kullanılan ve Tablo 1'de gösterilen puanlama dikkate alınmıştır.

Dokularda VL'ye bağlı oluşan hasarın derecesini ve niteliklerini ortaya koyabilmek ve fibrozis gelişimi yönünden değerlendirmek için histokimyasal olarak masson trikrom boyası; immünohistokimyasal olarak interlökin-9; enflamatuvar hücre tiplerinden mast hücrelerine yönelik CD117, eozinofiller için anti-MBP, monosit-makrofajlar için CD163, T lenfositler için CD4 ve CD8, endotel hücreleri için CD31 uygulanmıştır.

Tablo 1. Karaciğer ve dalakta oluşan yapısal değişikliklere ait puanlama

Organ	Yapısal değişiklik	Puan
Karaciğer	Karaciğerde lezyon olmaması	0
	İmmün hücrelerin bölgeye göç edip enflamasyona neden olması	1-3*
Dalak	Lenfoid atrofi olması	0
	Lenfoid reaktivite varlığı	1-3*

*İncelenen mikroskop sahasındaki immün hücrelerin karaciğer ve dalak hücreleri üzerindeki tutulum yoğunluğuna göre aşağıdaki puanlama planlanmıştır

1 puan: Hafif tutulum (%1-20)
2 puan: Orta tutulum (%20-50)
3 puan: İleri tutulum (>%50)

İstatistiksel Analiz

Çalışma kapsamında sonuçların yorumlanması için istatistiksel analiz gerekmediğinden herhangi bir yönteme başvurulmamıştır.

Etik Kurul Onayı

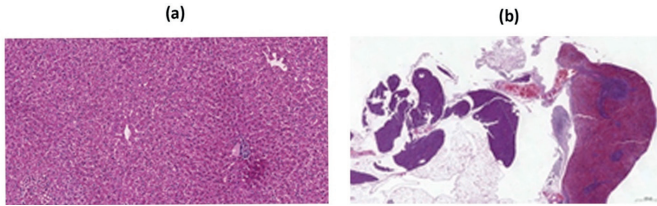
Bu çalışma, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 18.01.2018 tarihli ve HDK 2018/09 nolu kararı uyarınca etik açıdan uygun bulunmuştur. Çalışma için hasta önceden bilgilendirilmiş ve onayı alınmıştır.

BULGULAR

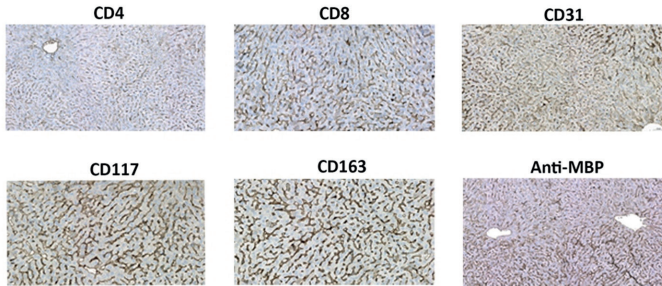
Yapılan patolojik incelemelerde; hibrid suş, *L. infantum* ya da *L. donovani* ile enfekte farelerin hiçbirinde dalak ya da

karaciğerinde makroskopik bir patolojiye (örneğin, boyutlarda genişleme) rastlanmadığı bildirilmiştir. "touch biopsy" sonrası yapılan mikroskopik incelemelerde de, karaciğerde ya da dalakta hematoksilen-eozin boyama sonrası *Leishmania* amastigotlarına yine hiçbir grupta rastlanılmamıştır (Şekil 1).

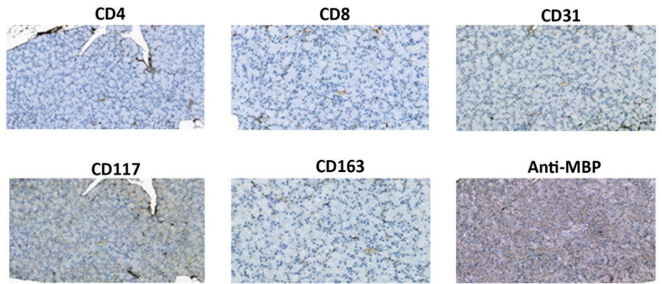
Masson trikrom boyası ile yapılan incelemelerde, hibrid suş, *L. infantum* ya da *L. donovani* ile enfekte farelerin hiçbirinin dalak ya da karaciğer dokularında fibrozis gelişimi yönünden herhangi bir bulgu gözlenmemiştir. İç organ tutulumunu göstermek amacıyla yapılan immünohistokimyasal testlerle de deney grubundaki farelerin hiçbirinde patoloji yönünden anlamlı bir boyanmaya rastlanılmamış, tüm değerlendirmelerde puanlama sıfır olarak belirtilmiştir (Şekil 2-4).



Şekil 1. *L. donovani/L. infantum* hibridiyle enfekte edilen deney hayvanlarının karaciğer (a) ve dalak (b) kesitleri (Hematoksilen eozin boyası)



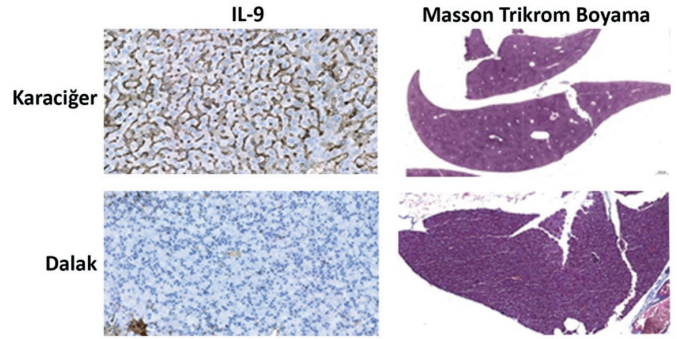
Şekil 2. *L. donovani/L. infantum* hibridiyle enfekte edilen deney hayvanlarının karaciğer dokularında yapılan immünohistokimyasal testlerin sonuçları



Şekil 3. *L. donovani/L. infantum* hibridiyle enfekte edilen farelerin dalak dokularında yapılan immünohistokimyasal testlerin sonuçları

TARTIŞMA

Leishmaniasis, ülkemizin de içinde olduğu tropikal ve subtropikal iklim kuşağındaki ülkelerde önemli halk sağlığı sorunlarından biri olmaya devam etmektedir. Değişen çevre koşullarına uyum sürecinde *Leishmania* türleri arasında genetik madde alışverişine bağlı hibrid türler oluştuğu dünyanın farklı bölgelerinden



Şekil 4. *L. donovani/L. infantum* hibridiyle enfekte edilen deney hayvanlarının karaciğer ve dalak dokularında IL-9 testi ve Masson trikrom boyama bulguları

bildirilmektedir (6,7). Hibrid türlerin tanı yöntemleriyle saptanamayan ve/veya tedaviye yanıt vermeyen ağır klinik tablolara yol açma riski nedeniyle saptanıp araştırılmalıdır (3,9). VL büyük oranda *L. donovani* ve *L. infantum*'un etken olduğu ve hastalara etkin tedavi uygulanmadığında ölümcül olabilen bir enfeksiyondur. Tüm dünyada görülen olguların %90'ının Bangladeş, Brezilya, Hindistan, Nepal ve Sudan'da görüldüğü bildirilmekte, ülkemizde de halk sağlığını tehdit edecek salgınlara yol açabileceği belirtilmektedir (1-3). Enfeksiyon sırasında *Leishmania* amastigotlarının dalak ve karaciğerden başlayarak iç organların mononükleer fagositer hücrelerine yayıldığı gözlenmektedir (22).

Hastalarda VL patogenezi ve oluşan immün yanıt ile ilgili çok sayıda bilinmeyen nokta bulunmaktadır. Bu yöndeki araştırmalar için deney hayvanı modelleri oluşturulmakta, bunun için kolayca sağlanabilen fareler sıklıkla tercih edilmektedir (8,23). Ayrıca, aynı türden olan fareler genetik olarak özdeş olduklarından farelerle çalışarak nesiller boyu genetik veri toplayıp belirli bir fenotipe yönelik karakterizasyon yapmak da mümkün olabilmektedir (8). Yine de VL çalışmaları için geliştirilmiş farklı hayvan modelleri olmakla birlikte, bunların hiçbirinin insandaki enfeksiyonu başarıyla taklit edebildiği söylenememektedir; deney hayvanları ile oluşturulan modellerden alınacak sonuçların insanlarda ortaya çıkan klinik tabloyla uyumlu olmayabileceği de unutulmamalıdır (4,24).

Deney hayvanlarında VL modeli oluşturmanın hayvanın cinsine, genetik alt yapısına, verilen parazit miktarın ve uygulama yoluna bağlı olabileceği belirtilmektedir (1,3). Balb/C farelerde VL modeli oluştururken organa özgü bir immün yanıt oluştuğu bildirilmektedir (8,17). Enfeksiyonun ilk haftalarında parazitler karaciğerde hızla çoğalmakta, 4. haftadan sonra geliştiği bildirilen yardımcı T-hücre (Th1) cevabına bağlı olarak karaciğerdeki parazitlerin ortadan kalktığı ve re-enfeksiyona direnç geliştiği gözlenebilmektedir (8,25). Karaciğerdeki enfeksiyon sınırlılık gösterirken dalakta çok daha uzun süre kaldığı ve splenomegalinin devam ettiği tespit edilmiştir (26). Balb/C farelerde VL enfeksiyonu sırasında parazit yükü kontrol altında tutulmakla birlikte paraziteminin 8. haftada zirveye çıktığı bildirilmektedir (4). Araştırmacılar, Balb/C farelerin VL'ye ait subklinik tabloların araştırılması, enfeksiyon sırasındaki immünoopatolojik değişikliklerin izlenmesi ve aşı çalışmaları için uygun olduğunu belirtmektedir (4,8). Biz de, gerek deney hayvanı laboratuvarımızda kullanabileceğimiz en uygun model olarak, gerekse immün cevabı kolayca izleyebilmek amacıyla bu çalışmada Balb/C fareler ile çalışmayı tercih ettik.

Çalışma öncesi hedefimiz, *L. donovani* ve/veya *L. infantum* ile enfekte edilmiş farelerde en azından 30. gün karaciğer ve dalaktan hazırlanan yayma preparatlarda ve/veya immünohistokimyasal analizlerde patolojik değişiklikler görmektir. Çalışmanın 60. günü karaciğerdeki patolojinin ortadan kalkmış olabileceğini, ancak dalakta süreceğini tahmin ediyorduk. Nitekim başta, çalışma gruplarındaki farelere kuyruk veninden enjekte edilen *Leishmania* promastigotlarının dalak ve karaciğere ulaştığı, gerek ELISA testiyle gerekse sakrifiye edilen hayvanlardan alınan karaciğer ve dalak dokularının kültüre eklenmesi sonrası 5. günden sonra mikroskopta görülen *Leishmania* promastigotlarıyla gösterilmişti. Bununla birlikte, deneyin 30. ve 60. günlerinde sakrifiye edilen çalışma grubundan hiçbir farede karaciğer ya da dalakta immünohistokimyasal bir patolojiye rastlanılmadı. Çalışma gruplarındaki farelere ait enjeksiyon sonrası gözlem notlarımızda da herhangi bir anormallik (örneğin; kilo kaybı, hareketlilikte azalma, tüy dökülmesi) kaydedilmemişti. Bu durum, farelerin *Leishmania*'lara karşı etkin bir Th-1 yanıtı geliştirmediğini, karaciğer ve dalakta enfeksiyonun ya hiç gelişmediğini ya da gelişip 30. günden önce iyileştiğini düşündürmektedir. Bu çalışmada kullanılan *Leishmania* suşlarıyla benzer özelliklerdeki Balb/C farelerin tümünde deri altına uygulanan aynı dozda promastigotlarla kutanöz leishmaniasis'e ait deri lezyonu oluşturduğu gözlenmiştir (Kurt Ö, yayınlanmamış veri). Ayrıca, önceki çalışmalarda benzer doz ve yolla Balb/C farelerde *L. donovani* ile VL modeli oluşturulduğu da bilinmektedir (4,5,8). Üstelik yüksek doz *Leishmania* promastigotlarının farelere damar yoluyla verilmesiyle dalak ve karaciğerde uzun süreli tutulum sağlandığı da belirtilmiştir (15). İmmün cevaba yönelik deneyler tamamlandığında, karaciğer ve dalaktaki sitokin ve antikor düzeyleri üzerinden, çalışmaya ait tüm veriler birlikte tekrar değerlendirilecektir.

SONUÇ

Ülkemizde ilk kez klinikte yatan bir VL hastasından izole edilen *L. donovani/L. infantum* hibridinin karakterizasyonuna yönelik kapsamlı bir projeye ait bu ilk çalışmada, deney modeli olan Balb/C farelerde *Leishmania* suşlarının karaciğer ve dalağa ulaşabildiği ancak oluşan enfeksiyonun patolojik değişikliklere yol açmadığı gözlenmiştir. Hibrid suşun farelerde oluşturduğu immün yanıtın ölçümüne yönelik ayrıntılı testlerin tamamlanması sonrası sonuçlar daha geniş bir açıdan değerlendirilecektir.

*Etik

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 18.01.2018 tarihli ve HDK 2018/09 no'lu kararı uyarınca etik açıdan uygun bulunmuştur.

Hasta Onayı: Çalışma için hasta önceden bilgilendirilmiş ve onayı alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Konsept: Ö.K., Ü.İ., F.Y.Z., Dizayn: Ö.K., S.Ö.O., F.Y.Z., Veri Toplanma veya İşleme: D.E.K., S.Ö.O., E.M.A., N.M.Ö., C.K.K., Analiz veya Yorumlama: S.Ö.O., Ü.İ., Ö.K., Literatür Arama: D.E.K., S.Ö.O., M.A., N.M.Ö., Yazan: Ö.K., S.Ö.O.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen, 118S352 numaralı "Türkiye'de yerli bir viseral leishmaniasis olgusunda ilk kez tanımlanan *Leishmania donovani/L. infantum* hibridinin ayrıntılı genomik ve proteomik karakterizasyonu ile *in vivo* koşullardaki patojen etkilerinin ve oluşturduğu immün yanıtın fare modelinde *L. donovani* ve *L. infantum*'un referans suşlarıyla karşılaştırmalı analizi" isimli 1001 projesinden üretilmiş bir çalışmadır.

KAYNAKLAR

1. Özbel Y, Özsenoy Töz S. Tıbbi Parazit Hastalıkları: Leishmaniasis, 2007. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri.
2. Ok UZ, Balcioglu IC, Taylan Ozkan A, Ozsenoy S, Ozbel Y. Leishmaniasis in Turkey. Acta Trop 2002; 84: 43-8.
3. Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. Lancet 2018; 392: 951-70.
4. Loeuillet C, Bañuls AL, Hide M. Study of *Leishmania* pathogenesis in mice: experimental considerations. Parasit Vectors 2016; 9: 144.
5. Özbilgin A, Harman M, Karakuş M, Bart A, Töz S, Kurt Ö, et al. Leishmaniasis in Turkey: Visceral and cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania donovani* in Turkey. Acta Trop 2017; 173: 90-6.
6. Miles MA, Yeo M, Mauricio IL. Genetics. *Leishmania* exploit sex. Science 2009; 324: 187-9.
7. Conceição-Silva F, Morgado FN. *Leishmania* Spp-Host Interaction: There Is Always an Onset, but Is There an End? Front Cell Infect Microbiol 2019; 9: 330.
8. Loria-Cervera EN, Andrade-Narváez FJ. Animal models for the study of leishmaniasis immunology. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2014; 56: 1-11.
9. Volf P, Sadlova J. Sex in *Leishmania*. Science 2009; 324: 1644.
10. Ravel C, Cortes S, Pratlong F, Morio F, Dedet JP, Campino L. First report of genetic hybrids between two very divergent *Leishmania* species: *Leishmania infantum* and *Leishmania major*. Int J Parasitol 2006; 36: 1383-8.
11. Nolder D, Roncal N, Davies CR, Llanos-Cuentas A, Miles MA. Multiple hybrid genotypes of *Leishmania (viannia)* in a focus of mucocutaneous leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 2007; 76: 573-8.
12. Garin YJ, Sulahian A, Pratlong F, Meneceur P, Gangneux JP, Prina E, et al. Virulence of *Leishmania infantum* is expressed as a clonal and dominant phenotype in experimental infections. Infect Immun 2001; 69: 7365-73.
13. Eroglu F, Koltas IS, Alabaz D, Uzun S, Karakas M. Clinical manifestations and genetic variation of *Leishmania infantum* and *Leishmania tropica* in Southern Turkey. Exp Parasitol 2015; 154: 67-74.
14. Nieto A, Domínguez-Bernal G, Orden JA, De La Fuente R, Madrid-Elena N, Carrión J. Mechanisms of resistance and susceptibility to experimental visceral leishmaniasis: BALB/c mouse versus Syrian hamster model. Vet Res 2011; 42: 39.
15. Carrión J, Nieto A, Iborra S, Iniesta V, Soto M, Folgueira C, et al. Immunohistological features of visceral leishmaniasis in BALB/c mice. Parasite Immunol 2006; 28: 173-83.
16. Yurdakul P, Dalton J, Beattie L, Brown N, Erguven S, Maroof A, et al. Compartment-specific remodeling of splenic micro-architecture during experimental visceral leishmaniasis. Am J Pathol 2011; 179: 23-9.
17. Wilson ME, Jeronimo SM, Pearson RD. Immunopathogenesis of infection with the visceralizing *Leishmania* species. Microb Pathog 2005; 38: 147-60.
18. Loria-Cervera EN, Sosa-Bibiano EI, Van Wynsberghe NR, Andrade-Narváez FJ. Finding a model for the study of *Leishmania (Leishmania) mexicana* infection: The Yucatan Deer mouse (*Peromyscus yucatanicus*) as a suitable option. Acta Trop 2018; 187: 158-64.

19. Rodrigues V, Cordeiro-da-Silva A, Laforge M, Silvestre R, Estaquier J. Regulation of immunity during visceral *Leishmania* infection. *Parasit Vectors* 2016; 9: 118.
20. Moreira JP, Malta Fde M, Diniz MA, Kikuchi L, Chagas AL, Lima Lde S, et al. Interferon lambda and hepatitis C virus core protein polymorphisms associated with liver cancer. *Virology* 2016; 493: 136-41.
21. Çavuş İ, Ocak F, Kaya T, Özbilgin A. Cryopreservation of *Leishmania* Species in Manisa Province. *Turkiye Parazitol Derg* 2017; 41: 152-5.
22. Kaye PM, Svensson M, Ato M, Maroof A, Polley R, Stager S, et al. The immunopathology of experimental visceral leishmaniasis. *Immunol Rev* 2004; 201: 239-53.
23. Gupta S; Nishi. Visceral leishmaniasis: experimental models for drug discovery. *Indian J Med Res* 2011, 133: 27-39.
24. Hide M, Marion E, Pomares C, Fisa R, Marty P, Bañuls AL. Parasitic genotypes appear to differ in leishmaniasis patients compared with asymptomatic related carriers. *Int J Parasitol* 2013; 43: 389-97.
25. Murray HW, Stern JJ, Welte K, Rubin BY, Carriero SM, Nathan CF. Experimental visceral leishmaniasis: production of interleukin 2 and interferon-gamma, tissue immune reaction, and response to treatment with interleukin 2 and interferon-gamma. *J Immunol* 1987; 138: 2290-7.
26. Engwerda CR, Ato M, Kaye PM. Macrophages, pathology and parasite persistence in experimental visceral leishmaniasis. *Trends Parasitol* 2004; 20: 524-30.

Kuzey Kıbrıs'ta Yetişen Bitkilerden Elde Edilen Uçucu Yağlarda *Leishmania tropica*'ya Karşı *in vitro* Anti-leishmanial Etkinlik Araştırılması

In vitro Anti-Leishmanial Activity of Essential Oils Extracted from Plants Growing in Northern Cyprus Against *Leishmania tropica*

Emrah Güler^{1,2}, Ahmet Özbilgin³, İbrahim Çavuş³, Buket Baddal^{1,2}, İlker Etikan^{2,4},
K. Hüsnu Can Başer⁵, Tamer Şanlıdağ^{2,6}

¹Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

²Yakın Doğu Üniversitesi, DESAM Enstitüsü, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

³Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

⁴Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

⁵Yakın Doğu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

⁶Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

Cite this article as: Güler E, Özbilgin A, Çavuş İ, Baddal B, Etikan İ, Başer KHC, Şanlıdağ T. *In vitro* Anti-Leishmanial Activity of Essential Oils Extracted from Plants Growing in Northern Cyprus Against *Leishmania tropica*. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):101-107.

ÖZ

Amaç: Bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin leishmaniasis tedavisi için yeni ve etkili bileşiklerin üretilmesine öncülük edeceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, Kuzey Kıbrıs'ta yetişen *Origanum dubium* (OD), *Origanum majorana* (OM), *Salvia fruticosa* (SF) ve *Laurus nobilis* (LN) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *Leishmania tropica*'ya karşı *in vitro* etkinlikleri araştırılmıştır.

Yöntemler: Çalışmamızda, *Leishmania tropica* suşu (MHOM/TR/2012/CBCL-LT) kullanıldı. Düz tabanlı 96'lık plaklarda, tüm kuyucuklara 100 µL RPMI-1640 ve ilk kuyucuklara 100 µg/mL uçucu yağlar eklenerek, seri dilüsyonları yapıldı. Ardından tüm kuyucuklara *Leishmania tropica* promastigot süspansiyonundan pipetlendi ve inkübe edildi. Hemositometre yöntemiyle promastigotların sayısı incelendi.

Bulgular: OD yağının minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK)=0,2 µg/mL'de tüm promastigotları öldürürken, en düşük konsantrasyonlarda bile etkili olduğu görülmüştür. SF ve LN uçucu yağlarının ikisinde de MİK=1,56 µg/mL, LD₅₀=0,78 µg/mL olarak saptanmıştır. SF'nin en düşük konsantrasyonlarının bile promastigot morfolojisini bozduğu görülürken, *Laurus nobilis*'in ise 0,2 µg/mL'den sonraki konsantrasyonlarda etkisini kaybettiği belirlenmiştir. OM uçucu yağının MİK=3,13 µg/mL, LD₅₀=1,56 µg/mL olduğu görülmüştür.

Sonuç: Kullanılan tüm uçucu yağların *Leishmania tropica* promastigotlarını inhibe ettiği görülürken, en yüksek anti-leishmanial etkinlik *Origanum dubium* uçucu yağında bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, anti-leishmanial etkinlik, *in vitro*, uçucu yağ, Kuzey Kıbrıs

ABSTRACT

Objective: Natural plant products are considered as a source of novel and effective compounds for the treatment of leishmaniasis. In this study, the *in vitro* activities of essential oils obtained from *Origanum dubium* (OD), *Origanum majorana* (OM), *Salvia fruticosa* (SF) and *Laurus nobilis* (LN) plants in Northern Cyprus were investigated against *Leishmania tropica*.

Methods: *Leishmania tropica* strain (MHOM/TR/2012/CBCL-LT) was obtained. RPMI-1640 was added to 96-well plates in 100 µL aliquots, 100 µg/mL essential oil was added to the first well of each row and serial 2-fold dilutions were performed. A promastigote suspension was pipetted into all wells, and the plates were incubated. The promastigotes were enumerated using a haemocytometer.

Results: OD essential oil was effective at killing all promastigotes at a minimum inhibitor height (MIC)=0.2 µg/mL and had high activity at the lowest concentrations. Both SF and LN oils had MIC=1.56 µg/mL and LD₅₀=0.78 µg/mL. SF was observed to impair promastigote morphology at the lowest concentrations, while LN did not exert any effect at concentrations <0.2 µg/mL. OM essential oil was found to have a MIC=3.13 µg/mL and a LD₅₀=1.56 µg/mL.



Geliş Tarihi/Received: 06.06.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 30.01.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Emrah Güler, Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı; Yakın Doğu Üniversitesi, DESAM Enstitüsü, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Tel/Phone: +90 392 675 10 00 **E-Posta/E-mail:** emrah.guler@neu.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-1635-0051

Conclusion: All tested essential oils inhibited promastigotes of *Leishmania tropica*. OD essential oil demonstrated the highest anti-leishmanial activity.

Keywords: Leishmaniasis, anti-leishmanial activity, *in vitro*, essential oil, Northern Cyprus

GİRİŞ

Leishmaniasis, insan ve hayvan sağlığı için önemli olan, *Leishmania* türü parazitlerin neden olduğu zoonotik karakterli bir enfeksiyon hastalığıdır (1). *Leishmania* türleri, *Leishmania* paraziti ile enfekte hayvan veya insandan kan emerek enfekte olmuş yaklaşık 2-3 mm uzunluğundaki dişi tatarcık (yakarca, kum sineği) (aile: *Phlebotominae*) sineğinin insanı ısırmasıyla bulaşmaktadır (2,3). Hastalık, genellikle malnütrisyon, kötü yaşam koşulları ve sosyo-ekonomik düzeyi düşük olan bölgelerde görülmektedir. Ayrıca göç, enfeksiyonun endemik olduğu bölgelerde iş alanlarının açılması, ormanların tahribi, barajların inşası, sulama düzenlemeleri ve kentleşme gibi çevresel faktörler leishmaniasisin görülme sıklığını etkilemektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre her yıl yaklaşık 700,000-1 milyon yeni olgu görülmekte ve bu hastaların 26,000-65,000'i hayatını kaybetmektedir (4,5). Hastalık, ülkemiz ve Türkiye'nin içinde bulunduğu Akdeniz havzası, Ortadoğu, Hindistan ve Güney Amerika ülkelerinde önemli bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir (6). DSÖ'ye göre leishmaniasis, en önemli yedi tropikal hastalıklardan biri sayılmakta ve dünya üzerinde yaklaşık 98 ülkede endemik olarak görülmektedir. *Leishmania* türüne ve konağın immün sistemine bağlı olarak enfeksiyon kutanöz leishmaniasis (KL), mukokutanöz leishmaniasis ve tedavi edilmediğinde ölümcül olabilen visseral leishmaniasis (VL) (kala azar) olmak üzere üç farklı tipte izlenmektedir (7,8). KL, başta Güneydoğu Anadolu Bölgesi olmak üzere, Akdeniz, Orta Anadolu ve Ege Bölgeleri'nde sporadik olgular şeklinde görülmektedir. Türkiye'de yapılan çalışmalarda 2005-2012 yılları arasında 14.587 KL olgusu bildirilmiş olup, bu olguların genelinden *Leishmania tropica*'nın sorumlu tutulduğu bildirilmektedir (5).

Kıbrıs Adası, leishmaniasisin endemik olarak görüldüğü Doğu Akdeniz havzasında yer almaktadır. Leishmaniasis vektörü *Phlebotomus* türü sineklerin adada var olduğu ve kanın leishmaniasise neden oldukları yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bunun yanında Kıbrıs'taki insan enfeksiyonları 1935 yılından beri bildirilmektedir (9). Güney Kıbrıs'ta 2006 yılında yapılan bir çalışmada 3 KL ve 2 VL olmak üzere toplam 5 insan leishmaniasis olgusu rapor edilmiş ve bu olguların hepsinin *Leishmania donovani* MON-37 ile enfekte olduğu tespit edilmiştir (10). Yine 2014 yılında, Güney Kıbrıs'ın Baf şehrinde yaşayan bir ailenin dört üyesine (1 çocuk, 3 yetişkin) KL tanısı konmuş ve bu hastalardan *Leishmania donovani* izole edilmiştir (11). Tüm bunların yanında, 2016 yılında yayınlanan bir çalışmada, Kuzey Kıbrıs'ın Lefkoşa şehrindeki devlet hastanesinde Ocak 2011-Aralık 2012 yılları arasında 3 VL (1 erkek, 2 kadın) olgusu bildirilmiştir. Olguların hepsinin de *Leishmania infantum* ile enfekte olduğu belirlenmiştir (12). Ruh ve ark.'nın (9), Kuzey Kıbrıs'ın Girne Bölgesi'nde 249 kişiyi inceledikleri çalışmalarında yalnızca 3 (%1,2) kişinin direkt ağıltünasyon testi (DAT) ve/veya rK39 açısından seropozitif olduğu bulunmuştur.

Anti-leishmanial ilaçlardan uzun yıllardır en sık kullanılan beş değerli antimon bileşikler, maalesef düşük koruyuculuk ve toksik özellik taşımaktadır. Bu bileşiklerden sodyum stiboglukonat

(SAG) ve meglumin antimonat, leishmaniasis tedavisinde ilk tercih edilen ilaçlardır. Son zamanlarda SAG'ye direnç artmış, hatta Hindistan'ın bazı bölgelerinde SAG direnci epidemik hale gelmiştir. Tedavide kullanılabilecek diğer ilaçlar pentamidin ve amfoterisin B'dir. Fakat bu ilaçların yüksek oranda toksik ve pahalı olmasından dolayı kullanımları sınırlıdır. Son yıllarda, insan VL tedavisinde miltefosin ve KL tedavisinde ise flukonazol oral yolla uygulamalara girmiş ve etkili bulunmuştur (13,14). Tüm bu ilaçların çoğunun nefrotoksik, hepatotoksik ve teratojenik etkiler başta olmak üzere ciddi yan etkileri bulunmaktadır (6).

Ticari satılan anti-leishmanial ilaçlara ulaşamayan birçok bölgede, tedavide tıbbi bitkilerden yararlanılmaktadır. Kimyasal özellikleri ve biyoaktivite çeşitliliklerinden dolayı bitkilerin farmasötik ürünlerin eldesinde kullanıldığı bilinmektedir (15). Günümüzde bitki ekstreleri ve uçucu yağlarının yeni tıbbi ajanlara kaynaklık edebileceği düşünülmektedir. Leishmaniasis tedavisinde de acil olarak doğal ürünlerin taranması ve kullanıma girmesi önemli sayılmaktadır. Ayrıca, yapılan araştırmalar göstermiştir ki, bitkilerden elde edilen doğal ürünler leishmaniasis tedavisi için yeni ve etkili bileşiklerin üretilmesine öncülük etmektedir (16). Bitkilerden damıtma yoluyla elde edilen uçucu yağlar kompleks yapıda hidrofobik sıvılardır ve bitkilerin uçucu aromatik bileşenlerini barındırırlar. Bu uçucu yağların doğal tedavi ürünleri olarak kullanıldığı asırlardır bilinmektedir. Birçok biyolojik aktif madde içeren bu yağlar, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoal ve antioksidan özellik taşımaktadır. Bu sebeplerden dolayı, bitkisel uçucu yağların kimyasal biyositlere alternatif olabileceği düşünülmektedir (14). Tüm dünyada konuyla ilgili araştırmalar yapılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir (17).

Çalışmamızda, ülkemizde yetişen ve anti-leishmanial etkinliği olabileceği düşünülen *Origanum dubium* (OD), *Origanum majorana* (OM), *Salvia fruticosa* (SF) ve *Laurus nobilis* (LN) bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar *in vitro* ortamda incelenmiştir. Amacımız, bitkisel uçucu yağların *Leishmania tropica* (*L. tropica*) promastigotlarına karşı etkinliğinin araştırılmasıdır.

YÖNTEMLER

Bitkilerin Toplanması ve Kurutulması

Kullanılan tüm bitkiler, üniversitemiz eczacılık fakültesi, farmasötik botanik-farmakognozi anabilim dalı tarafından Kuzey Kıbrıs'ın çeşitli bölgelerinden toplandı (Tablo 1), tür tanımlaması yapıldı ve Yakın Doğu Üniversitesi (YDÜ) Herbaryum Merkezi'nde (OM no: NEUN 6895, OD no: NEUN 6896, SF no: NEUN 6897, LN no: NEUN 6898) saklandı. Karanlık ortamda kurutulmuş bitkiler, yağ verimini artırmak amacıyla steril makas ile küçük parçalara bölündü. Kuru materyaller cleverger apareyi kullanılarak distilasyona tabii tutuldu ve üç saatlik distilasyon sonrasında bitkilere ait uçucu yağlar elde edildi. Daha sonra kuru baz üzerinden verim hesabı yapıp piknometre yardımıyla yağların özkütleri hesaplandı. Tüm uçucu yağlar +4 °C'de, kullanılacağı zamana kadar muhafaza edildi.

Tablo 1. Kullanılan bitkilere ait bilgiler

Adı	Türkçe adı	Toplanan kısım	Toplanan bölge
<i>Origanum majorana</i> L. var. <i>tenuifolium</i> Weston*	Mercan köşk	Toprak üstü kısımları	St. Hilarion Kalesi/Girne
<i>Origanum dubium</i> Boiss.	Kekik	Toprak üstü kısımları	Yeşilirmak/Lefke
<i>Salvia fruticosa</i> Mill.	Adaçayı	Toprak üstü kısımları	Zeytinlik/Girne
<i>Laurus nobilis</i> L.	Defne	Yaprak	Bostancı/Güzelyurt

*Endemik tür

Uçucu Yağların Analizleri

Gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi analizleri (GC-MS) Agilent 5975 GC-MSD sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Innovaks FSC kolonunda (60 m x 0,25 m film kalınlığı) taşıyıcı gaz olarak helyum gazı (0,8 mL/dak) kullanıldı. Gaz kromatografisinde fırın sıcaklığı, 10 dakika boyunca 60 °C'de tutuldu ve her dakikada 1 °C artacak şekilde 220 °C'ye programlandı. Bölünme oranı 40:1 ve enjektör sıcaklığı 250 °C olarak ayarlandı. Kütle aralığı m/z 35 ile 450 idi ve kütle spektrumları 70 eV'de kaydedildi.

Gaz kromatografi analizi, agilent 6890N GC sistemi kullanılarak yapıldı. Alev iyonizasyon dedektörünün (FID) sıcaklığı 300 °C olarak ayarlandı. Gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi ile aynı elüsyon sırasını elde etmek için, aynı kolonun bir kopyasına aynı koşullarda eş zamanlı olarak otomatik enjeksiyon yapıldı. Ayrılan bileşiklerin yüzdesi FID kromatogramlarından hesaplandı. Ayrılan maddelerin teşhisinde "Başer Uçucu Yağ Bileşikleri Kütüphanesi" kullanıldı.

Sitotoksite Analizleri

Elde edilen uçucu yağların sitotoksik aktivitelerini saptamak için L929 fare fibroblast hücre hattı (Amerikan Type Culture Collection, ABD) kullanıldı. L929 hücreleri DMEM (BI, 01-050-1A) besiyerinde %10 ısı ile inaktive edilmiş fetal sığır serumu (Fetal Bovine Serum, FBS) (Capricorn Scientific, FBS-11B), %1 penisilin-streptomisin (Biochrom, A2213) ve %1 glutamin (EMD Millipore, K0282) eklenerek 37 °C'de, %5 CO₂'li ortamda çoğaltılmıştır. Besiyerinde çoğaltılan hücreler ile uçucu yağlar muamele edildi ve MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromit] kiti (Glenham Code, GT3156) kullanılarak sitotoksik aktiviteleri belirlendi.

MTT, canlı hücreler tarafından indirgenen mor formazan bir ürün olan 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5 difeniltetrazolyum bromitin redüksiyonunun kolorimetrik ölçümüne dayanır. OD, OM, SF ve LN uçucu yağları, dimetilsülfoksit (DMSO, Sigma-Aldrich) kullanılarak 100 mg/mL olacak şekilde hazırlandı ve beş farklı (5 µg/mL, 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL and 100 µg/mL) konsantrasyondaki kültür ortamında seyreltildi. L929 fare fibroblast hücreleri, 96 kuyucuklu kültür kaplarına her bir kuyucukta 100 µL (5x10³/mL hücre yoğunluğu) gelecek şekilde ekildi. Kör, hücre ve ekstrakt içermemekte iken negatif kontrolde sadece ekilmiş hücreler bulunmaktaydı. OD, OM, SF ve LN dilüsyonları üç kez tekrarlandı ve hücre hattı içerisinde 24-48 saat inkübasyonda bırakıldı. Ardından MTT çözeltisi 37 °C'ye ısıtıldı ve daha sonra her bir kuyucuğa 10 µL gelecek şekilde eklendi. Dört saat 37 °C'de, %5 CO₂'li ortamda inkübe edildikten sonra,

formazan tuzlarını çözmek için 50 µL DMSO eklendi. Absorbans, spektrofotometre (Versa Max, Molecular Device, Sunnyvale, ABD) ile 540 nm'de ölçüldü. Tüm deneyler her ekstrakt için 3 kez tekrarlanarak gerçekleştirildi.

Leishmania tropica Suşu

Çalışmamızda, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazit Bankası'nda sıvı azotta muhafaza edilen MHOM/TR/2012/CBCL-LT kodlu *Leishmania tropica* suşu kullanıldı.

L. tropica Kültürü

Çalışmamızda kullanılmak üzere sıvı azot tankından çıkartılan *L. tropica* promastigotları 37 °C'lik sıcak su banyosunda 2 dakika çözüldükten sonra NNN besiyerine ekimi gerçekleştirildi. Fazla miktarda promastigot elde etmek amacıyla yine RPMI-1640 (%10 FBS + %1 penisilin/streptomisin + %1 gentamisin) hazırlandı ve 25 mL'lik flasklara 5 mL olacak şekilde dağıtıldı. Besiyerinde üreyen promastigot süspansiyonundan 50 µL çekilerek, 5 mL RPMI-1640 bulunan flasklar içerisine eklendi. Ekim yapılan flasklar 25 °C'de inkübe edildi ve her üç günde bir flasklar içerisine yeni besiyeri eklendi. Son aşamada üreyen promastigotlar Thoma lamında sayılarak 1x10⁶ promastigot/mL olacak şekilde promastigot süspansiyonu hazırlandı.

In vitro Anti-leishmanial Çalışma

Etken maddeler 250 µL'ye 750 µL %10'luk DMSO (250 µg/mL) ile seyreltildi. Çalışmamızda düz tabanlı 96'lık hücre kültürü plakları yatay olarak kullanıldı. İlk aşamada %10 FBS içeren RPMI-1,640 besiyerinden (Biological Industries, Israel) (%1 penisilin/streptomisin + %1 gentamisin) 100 µL tüm kuyucuklara aktarıldı. OD, OM, SF ve LN etken maddelerle hazırlanan süspansiyonlardan 100 µL (100 µg/mL) alınarak ilk kuyucuklara eklendi ve son kuyucuğa kadar seri dilüsyonları yapıldı. İlaç kontrol için 300 µg/mL SAG'den (Pentostam, İngiltere) 100 µL aktarıldı ve yine seri dilüsyon yapıldı. Daha sonra pozitif kontrol, ilaç kontrol ve etken maddelerin olduğu (negatif kontrol kuyucukları hariç) tüm kuyucuklara 1x10⁶ promastigot/mL *L. tropica* promastigot süspansiyonundan 100 µL eklendi. Son olarak, hücre kültürü plağının kapağı katılarak, parafilmle sarıldı ve 25 °C'de 48 saat boyunca etüvde inkübe edildi. Tüm etken maddeler, ilaç kontrol ve pozitif kontroller triplike olacak şekilde çalışıldı. *L. tropica* promastigotlarının tümünün hareketsiz olduğu en düşük konsantrasyon, minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), parazitin yarısının hareketsiz olarak görüldüğü konsantrasyon ise letal doz (LD₅₀) olarak belirlendi. Hareket görülmeyen kuyucuklardan NNN besiyerlerine ekim yapıldı ve besiyerleri 25 °C'de 48 saat boyunca etüvde inkübe edildi (5,14).

Hemositometre Yöntemi

Hemositometre yöntemiyle Thoma lamı kullanılarak 48 saat sonraki promastigotların sayısı değerlendirildi. Etüvden çıkartılan plakların her bir kuyucuğundan ayrı ayrı örnek alınarak Thoma lamında 40x objektifte incelendi. Toplam promastigot sayısı 10.000 ile çarpılıp sayılan kareye bölünerek mL'deki promastigot miktarı bulundu (5).

İstatistiksel Analiz

Verilerin tüm istatistiksel analizlerinde SPSS (Statistical Package of the Social Sciences) Demo Ver 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanıldı. İlk olarak her gruba dahil verilerin normal dağılıma uyup uymadıklarını belirlemek amacıyla "Shapiro-Wilk"

testi uygulandı. Bu teste göre eğer veriler normal dağılıma uyuyorsa $p > 0,05$, uymuyorsa $p < 0,05$ olmalıdır. Yüzde (%) *Leishmania tropica* promastigot canlılığının gruplara göre ortalamaları arası farkın önem kontrolüne “Kruskal-Wallis Varyans Analizi verilerimiz norma dağılıma uymadığından dolayı” ile bakıldı.

Etik kurul onayı: Yakın Doğu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından düzenlenen 23 Nisan 2020 tarihli toplantısında 2020/78-1032 proje numarası ile etik kurul onayı alındı. Araştırmamızda, *in vitro* ortamda parazit hücreleri ile çalışıldığından dolayı hasta onam formuna gerek duyulmadı.

BULGULAR

Uçucu Yağlar

Çalışmamızda kullanılan uçucu yağların içeriğinde bulunan majör bileşikler Tablo 2’de verilmektedir.

Sitotoksikite Test Sonuçları

L929 fare fibroblast hattı hücre kültüründe, farklı konsantrasyonlardaki OD, OM, SF ve LN uçucu yağları ile 24 ve 48 saatlik sürelerde inkübe edilmiştir. Bu konsantrasyonlar sırası ile 5, 10, 25, 50 ve 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ’dir. MTT sonuçlarına göre genel olarak, L929 fare fibroblast hücrelerinde yağ konsantrasyonlarının dozu yükseldikçe doza bağlı olarak hücre canlılığının azaldığı görülmüştür. OD yağı ile 24 ve 48 saat inkübe edilmiş L929 fare fibroblast hücrelerinde hücre canlılığının özellikle yüksek dozlarda (25-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) çok az olduğu belirlenmiştir. Bunlara ek olarak, OM uçucu yağı ile inkübe edilen L929 fare fibroblast hücrelerinde özellikle 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dozunda 48 saat inkübasyon sonunda fare fibroblast hücrelerinin yaklaşık yarısının (%50) canlılığını kaybettiği görülmüş, düşük dozlarda ise hücre canlılığı stabil kalmıştır. Hücre kültüründe, SF uçucu yağının fare fibroblast hücre canlılığına olumsuz etki göstermediği tespit edilmiştir. LN uçucu yağının ise tüm dozlardaki 24 saatlik inkübasyonlarında fare fibroblast hücre canlılıklarında anlamlı bir azalma izlenmezken, 48 saat inkübasyon sonunda hücre canlılığı yaklaşık %50 azalmıştır. Tüm bitki yağlarının sitotoksik aktivite sonuçları Grafik 1’de (A-D) görülmektedir.

In vitro Test Sonuçları

Kullanılan etken maddelerin *L. tropica* üzerine *in vitro* etkinliği Tablo 3’te gösterilmiştir.

Çalışmamızda, ilaç kontrol grubunda herhangi bir canlı promastigota rastlanmazken, pozitif kontrol grubunda ise promastigotların yaşamlarını devam ettirdiği görülmüştür. Tüm uçucu yağların *L. tropica* promastigotları üzerinde farklı konsantrasyonlarda etkili oldukları görülmüştür. OD yağı 0,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ’de tüm parazitleri öldürürken (MİK), daha düşük konsantrasyonlarda parazitlerin etkilendiği fakat canlılığını yüksek

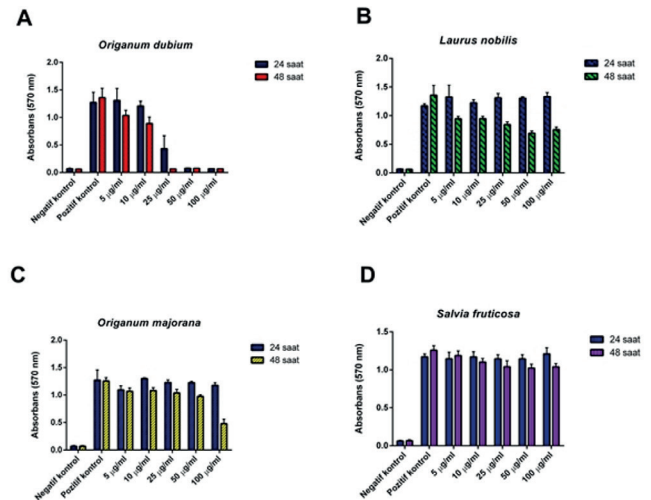
düzeyde koruduğu tespit edilmiştir. SF ve LN uçucu yağlarının her ikisinde de MİK=1,56 $\mu\text{g}/\text{mL}$, LD₅₀ konsantrasyonu ise 0,78 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak saptanmıştır. SF’nin en düşük konsantrasyonlarının bile promastigot morfolojisini bozduğu görülürken, LN’nin ise 0,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ’den sonraki konsantrasyonlarda etkisini kaybettiği belirlenmiştir. OM’den elde edilen uçucu yağın MİK konsantrasyonunun 3,13 $\mu\text{g}/\text{mL}$, LD₅₀ konsantrasyonunun ise 1,56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olduğu görülmüştür. Bunun yanında, OM’nin son olarak 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyonunda promastigotlar üzerine etkili olduğu fakat öldüremediği görülmüştür (Grafik 2). Hareket görülmeyen kuyulardan NNN besiyerine yapılan ekimlerin hiç birinde üreme görülmemiştir.

İstatistiksel Sonuçlar

Çalışmamızdaki veriler normal dağılıma uymadıklarından dolayı (Shapiro-Wilk testine göre) ($p < 0,05$) verilere ilişkin aritmetik ortalama, standart sapma ve standart hata gibi tanımlayıcı ölçüler verilemez. Bunların yerine; minimum değer, maksimum değer, medyan (ortanca) değeri ve çeyrekler arası yüzde=çeyrekler arası aralık [(Q3 (3. çeyrek)-Q1 (1. çeyrek)] değerleri verilmiştir. *Leishmania tropica* promastigotlarının canlılık % ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,0001$) (Tablo 4).

TARTIŞMA

Leishmaniasis, tüm dünya genelinde görülen en önemli parazitik enfeksiyonlardan biridir. Endemik bölgelerde görülen ilaç direncinin önüne geçmek adına, bitkisel ürünlerin kullanımı gibi farklı stratejiler geliştirilmelidir. Son yıllarda yapılan *in vitro*

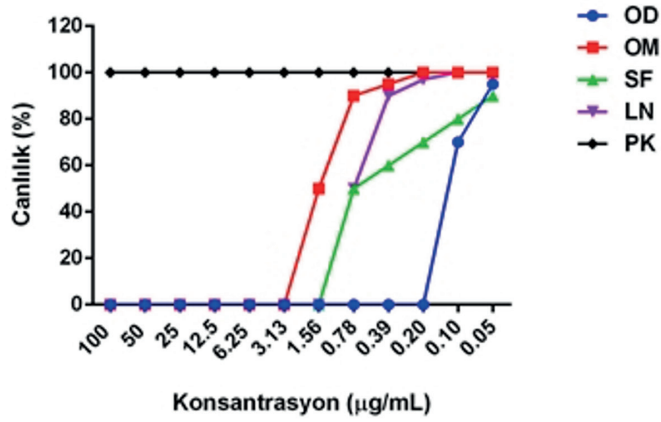


Grafik 1. Uçucu yağların MTT sonuçları
MTT: [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromit]

Tablo 2. Uçucu yağların içeriğinde bulunan majör bileşikler

OD	%	OM	%	SF	%	LN	%
Karvakrol	81,8	cis-Sabinen hidrat	29,1	1,8-sineol	43,9	1,8-sineol	57,2
p-Simen	5,0	Terpinen-4-ol	19,6	Kamfor (kafur)	14,0	α-Terpinil asetat	9,4
Myrcene	1,9	γ-Terpinen	9,5	Kamfen	8,8	Sabinen	6,7
Terpinen-4-ol	0,8	α-Terpineol	5,8	α-Pinen	6,6	Terpinen-4-ol	4,3
α-Terpineol	0,8	α-Terpinen	5,7	β-Pinen	5,8	α-Pinen	4,1

OD: *Origanum dubium*, OM: *Origanum majorana*, SF: *Salvia fruticosa*, LN: *Laurus nobilis*



Grafik 2. *L. tropica* promastigotlarının farklı konsantrasyonlardaki canlılık % dağılımı

ve *in vivo* çalışmalar gösteriyor ki, bitki ekstraktlarının *Leishmania* türleri üzerine yüksek düzeyde etkisi bulunmaktadır (16). Sağlık sorunlarının ve hastalıkların tedavisinde insanların birkaç bin yıldır tıbbi özellikteki bitkileri kullandığı bilinmektedir. Günümüzde halen parazitik enfeksiyonların tedavisinde bitkisel ürünler veya onlardan elde edilen ikincil metabolitler sıklıkla kullanılmaktadır. Uzun yıllardır uygulamada bulunan sentetik ilaçlara karşı bazı parazit türlerinin geliştirdikleri direnç günümüzün önemli bir problemidir (18). Kullanımda olan ticari anti-leishmanial ilaçların yeterince efektif olmamaları, toksik etkilerinin bulunmaları ve çok pahalı olmalarından dolayı endemik bölgelerde ilaçlara ulaşamamaktadır. Dolayısıyla, geleneksel tıbbi bitkilere yönelim artmaktadır (19,20). Bu bağlamda, Kuzey Kıbrıs Bölgesi'nde yetişen bazı bitkilerden elde edilen uçucu yağların anti-leishmanial etkinlikleri incelemeye alınmıştır.

Çalışmamızda, OD türü kekik yağının *Leishmania tropica* üzerine

en etkili uçucu yağ olduğu görülmüştür. Özellikle çok düşük konsantrasyonlarda bile (MİK=0,2 µg/mL) promastigotların tümünü öldürdüğü tespit edilmiştir. Buna rağmen, 10 µg/mL'nin üzerindeki konsantrasyonların toksik özellik gösterebileceği saptanmıştır. OD yağının majör bileşeninin %81,8 oranında karvakrol olduğu, anti-leishmanial etkinin de bu bileşikten kaynaklandığını düşünmekteyiz. Tasdemir ve ark.'nın (21) diğer bir kekik türü olan *Origanum onites*'in antiprotozoal etkinliğini inceledikleri çalışmalarında, uçucu yağın *Leishmania donovani* amastigotları üzerine kısmen etkili olduğu bildirilmektedir. Aynı çalışmada, ilgili yağın ana bileşeninin %70,6 oranında karvakrol olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızın aksine, Tasdemir ve ark. (21), *Origanum onites* uçucu yağının memeli hücrelerine toksik etki göstermediğini vurgulamıştır. On dokuz farklı uçucu yağın incelendiği bir çalışmada, *Origanum virens* (karvakrol oranı %68,2) yağının düşük de olsa *Leishmania infantum* promastigotları üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (22). Bunların yanında Brezilya'da, ana bileşeni %33,9 cis-p-Menth-2-en-1-ol olan *Origanum vulgare* uçucu yağının *Leishmania amazonensis* promastigotları üzerine etkisiz olduğu vurgulanmıştır (23). Silva ve ark.'nın (24) araştırmasında, karvakrol bileşiğinin, çalışmada kullanılan 10 farklı doğal madde arasında en yüksek anti-leishmanial etkiye sahip olduğu (IC₅₀=25,4 µg/mL⁻¹) görülmüş, L929 fibroblast hücrelerine orta düzeyde toksik olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan diğer bir *Origanum* türü olan OM var. tenuifolium'un MİK=3,13 µg/mL, LD50=1,56 µg/mL konsantrasyonlarında *L. tropica* promastigotlarına etkili olduğu görülmüştür. Sonuçlara göre OM'nin çalışmamızda kullanılan uçucu yağlar içinde en az anti-leishmanial etkisi bulunan yağ olduğu belirlenmiştir. Bu türün ana bileşeni cis-sabinen hidrat (%29,1) ve terpinen-4-ol (%19,6) olarak tespit edilmiş olup, tenuifolium varyetesi Kıbrıs adası için endemik takson olarak

Tablo 3. Etkin maddelerin *L. tropica* üzerine *in vitro* etkinlikleri

	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL	12,5 µg/mL	6,25 µg/mL	3,13 µg/mL	1,56 µg/mL	0,78 µg/mL	0,39 µg/mL	0,2 µg/mL	0,1 µg/mL	0,05 µg/mL
İK	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C
OD	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%70 C, V, MB	%95 C, V, MB
SF	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%50 C, MB, V	%60 C, MB, V	%70 C, MB, V	%80 C, MB, V	%90 C, MB, V
OM	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%50 C, MB, V	%90 C, MB, V	%95 C, MB, V	%100 C, MB	%100 C, MD	%100 C, MD
LN	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%0 C	%50 C, MB, V	%90 C, MB, V	%97 C, MB, V	%100 C, MB	%100 C, MD

İK: İlaç kontrol, OD: *Origanum dubium*, SF: *Salvia fruticosa*, OM: *Origanum majorana*, LN: *Laurus nobilis*, MB: Morfoloji bozuk, MD: Morfoloji düzgün, C: Canlı, V: Vakuol

Tablo 4. Kruskal-Wallis Varyans Analizi ile % promastigot canlılığının gruplara göre önemi

	Grup	n	Medyan	Minimum	Maksimum	ÇAY	X ²	p
<i>Leishmania tropica</i> promastigot canlılığı (%)	OD	12	0	0	95	0	29,00	<0,0001*
	SF	12	0	0	90	67		
	OM	12	25	0	100	98		
	LN	12	0	0	100	95		
	PK	12	100	100	100	-		

*İstatistiksel açıdan önemli, OD: *Origanum dubium*, SF: *Salvia fruticosa*, OM: *Origanum majorana*, LN: *Laurus nobilis*, ÇAY: Çeyrekler arası yüzde, PK: Pozitif kontrol

kabul edilmektedir. Bizim çalışmamızın aksine, *Leishmania amazonensis*'e karşı 52 farklı uçucu yağın incelendiği Monzote ve ark.'nın (25) çalışmasında, OM türünün anti-leishmanial etkinliğinin olmadığı görülmüştür. Hamarsheh ve ark.'nın (26) Filistin'de yetişen bitkiler üzerinde yaptıkları araştırmasında OM'nin *Leishmania major* promastigotları üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir.

Türkçede adaçayı olarak bilinen, genelde hoş kokulu bitkilerin yer aldığı *Salvia* türleri uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayide önemli sayılmaktadır (27). Yapılan çalışmalarda SF uçucu yağında predominant bileşenin 1,8-sineol (%52,8) olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında kamfor (kafur) (%5,8), alfa-pinen (%5,8), beta-pinen (%4,5), mirsen (%3,8) ve kamfen (%3,1) bileşenleri olmak üzere %1'in üzerinde toplam 15 bileşik belirlenmiştir. İçerisindeki 1,8-sineol, kamfor, alfa-pinen, beta-pinen ve kamfen bileşenlerinin tıbbi açıdan önemli olduğu kanıtlanmıştır (28,29). Protozoal parazitlerin neden olduğu enfeksiyon hastalıklarından *Plasmodium* spp. etkenli sıtma, *Leishmania* spp. etkenli leishmaniasis ve *Trypanosoma* spp. etkenli Chagas ve uyku hastalıklarına bazı *Salvia* türlerinin etkili olabileceği düşünülmektedir (30). İran'da geleneksel tıpta *Salvia* türlerinin çiçeklerinden elde edilen ekstrelerin leishmaniasis tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir (31). Essid ve ark.'nın (32) çalışmasında, *Salvia officinalis* türünün *Leishmania infantum* ($IC_{50}=2,67\pm 0,33$ µg/mL) ve *Leishmania major*'a ($IC_{50}=3,40\pm 0,16$ µg/mL) karşı iyi bir aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan türün majör maddeleri kamfor (%25,13±0,21), α-tuyon (%21,47±1,52) ve 1,8-sineol (%16,43±0,24) olarak belirlenmiştir (32). Nikmehr ve ark.'nın (33) çalışmasında ise *Salvia officinalis* yapraklarından elde edilen ekstrelerin *Leishmania major* amastigot ve promastigotlarını inhibe ettiği tespit edilmiştir (33). Khan ve Khan (34) *Salvia bucharica* yapraklarının metanollü ekstresinin anti-leishmanial aktivitesinin ($IC_{50}=7,231$ µg/mL) olduğunu saptamıştır. Bizim çalışmamızda SF bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın MİK=1,56 µg/mL, LD₅₀=0,78 µg/mL değerlerinde *Leishmania tropica* promastigotlarını inhibe ettiği görülmüştür.

LN'nin (defne) esas yayılış alanı Akdeniz havzası ve Anadolu'dur. Bu bölgeler dışında Avrupa ve Amerika kıtalarında defne bitkisi yetiştiriciliği yapılmaktadır. Başta Türkiye olmak üzere tüm Batı Akdeniz havzasında yetişen defne uçucu yağında majör bileşik olarak 1,8-sineol bulunmaktadır. Karık ve ark.'nın (35) çalışmasında, Türkiye'nin Akdeniz, Ege, Marmara ve Karadeniz Bölgeleri'nden toplanan 100 farklı defne bitkisinden elde edilen uçucu yağda %31,9-67,6 oranında 1,8-sineol tespit edilmiştir (36). Ayrıca Kuzey Kıbrıs defne ağacının uçucu yağında majör bileşik olarak %58,6 oranında 1,8 sineol bulunmuştur (37). LN'nin toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağın *Leishmania infantum* promastigotları üzerine orta düzeyde etkili olduğu ($IC_{50}=13,24\pm 0,70$ µg/mL) bildirilmektedir (38). Tunus'un kuzey kesiminde yetişen 12 bitkiden çıkartılan uçucu yağlarda *Leishmania infantum* ve *Leishmania major* promastigotlarına karşı farklı derecelerde etkinlik bulunmuştur. Aynı çalışmada, LN'nin düşük düzeyde antileishmanyal etkinliğe sahip olduğu ileri sürülmektedir (32). Çalışmamızda kullandığımız LN yapraklarından elde edilen uçucu yağın anti-leishmanial etkiye sahip olduğu (MİK=1,56 µg/mL, LD₅₀: 0,78 µg/mL) anlaşılmaktadır.

Çalışmamız, Kuzey Kıbrıs'ta yetişen dört farklı bitkiden elde edilen uçucu yağların KL etkeni *Leishmania tropica* promastigotları üzerindeki etkinliklerinin ilk kez araştırıldığı bir pilot çalışma özelliği taşımaktadır. Tüm yağların promastigot üremesini inhibe ettiği görülürken, OD'nin en etkin uçucu yağa sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna rağmen, OD yağının yüksek konsantrasyonlarda memeli fibroblast hücrelerine toksik etki yaratabileceği saptanmıştır. SF ve LN uçucu yağlarının aynı oranda anti-leishmanial aktivite gösterdiği görülürken, bu yağların toksik özellikte olmadığı belirlenmiştir. OM uçucu yağının ise en düşük etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan tüm yağların yeni, doğal ve güvenilir anti-leishmanial ilaç potansiyellerine sahip olduğunu ve özellikle hayvan deneyleri gibi ileri çalışmalarla sonuçların desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

TEŞEKKÜR

Çalışmamızda, *Leishmania tropica* suşunun teminindeki yardımlarından dolayı Manisa Celal Bayar Üniversitesi Parazit Bankası'na, biyokimyasal testlerin yapılmasında Doç. Dr. Eda Becer'e ve bitki uçucu yağlarının elde edilmesindeki yardımlarından dolayı Dr. Azmi Hanoğlu'na teşekkür ederiz.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Yakın Doğu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından düzenlenen 23 Nisan 2020 tarihli toplantısında 2020/78-1032 proje numarası ile etik kurul onayı alındı.

Hasta Onayı: Araştırmamızda, *in vitro* ortamda parazit hücreleri ile çalışıldığından dolayı hasta onam formuna gerek duyulmadı.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: E.G., A.Ö., İ.Ç., K.H.C.B., Konsept: A.Ö., T.Ş., Dizayn: A.Ö., T.Ş., Veri Toplanma veya İşleme: E.G., A.Ö., İ.Ç., İ.E., K.H.C.B., Analiz veya Yorumlama: E.G., A.Ö., İ.Ç., B.B., İ.E., K.H.C.B., T.Ş., Literatür Araması: E.G., B.B., Yazan: E.G., B.B.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

KAYNAKLAR

1. Çelik BA, Çelik ÖY, Şahin T. Retrospective Evaluation of Canine Leishmaniasis in Turkey. *F U Vet J Health Sci* 2019; 33: 123-30.
2. World Health Organization. Leishmaniasis. The diseases and its epidemiology. Erişim Tarihi: 08.03.2020. https://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/
3. Çetin H, Özbek Y. Sand Flies and Their Control Methods. *Türkiye Parazit Derg* 2017; 41: 102-13.
4. World Health Organization. Leishmaniasis. Erişim Tarihi: 08.03.2020. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
5. Özbilgin A, Çavuş İ, Yıldırım A, Kaya T, Ertabaklar H. Evaluation of In vitro and In vivo Drug Efficacy Over *Leishmania tropica*: A Pilot Study. *Türkiye Parazit Derg* 2018; 42: 11-9.
6. Direkel Ş, Karaman Ü, Tezcan Ülker S, Utku S, Aslan G, Uysal M, et al. Investigation of Anti-leishmanial Activity of the Ten Different Hydrazone Derivatives. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2016; 22: 519-24.

7. Sirekbasan S, Polat E, Kutlubay Z, Engin B. A Case of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*. Türkiye Parazit Derg 2019; 43: 41-3.
8. Harman M. Cutaneous Leishmaniasis. Turk J Dermatol 2015; 9: 168-76.
9. Ruh E, Bostanci A, Kunter V, Tosun O, Imir T, Schallig H, et al. Leishmaniasis in northern Cyprus: Human cases and their association with risk factors. J Vector Borne Dis 2017; 54: 358-65.
10. Antoniou M, Haralambous C, Mazeris A, Pralong F, Dedet JP, Soteriadou K. *Leishmania donovani* leishmaniasis in Cyprus. Lancet Infect Dis 2009; 9: 6-7.
11. Koliou MG, Antoniou Y, Antoniou M, Christodoulou V, Mazeris A, Soteriades ES. A cluster of four cases of cutaneous leishmaniasis by *Leishmania donovani* in Cyprus: a case series. J Med Case Rep 2014; 8: 354.
12. Sayili A, Ozkan AT, Schallig HD. Pediatric Visceral Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum* in Northern Cyprus. Am J Trop Med Hyg 2016; 95: 1386-8.
13. De Queiroz AC, Dias Tde L, Da Matta CB, Cavalcante Silva LH, de Araújo-Júnior JX, de Araújo GB, et al. Antileishmanial activity of medicinal plants used in endemic areas in northeastern Brazil. Evid Based Complement Alternat Med 2014; 2014: 478290.
14. Malatyah E, Özçelik S, Gürsoy N. In vitro Antileishmanial Activity of Essential Oils Obtained from Thyme (*Thymus vulgaris*), Cummin (*Cuminum cyminum*) and Mersin (*Myrtus communis*) Plants. Turk Hij Den Biyol Derg 2009; 66: 7-13.
15. Comandolli-Wyrepkowski CD, Jensen BB, Grafova I, Santos PA, Barros AMC, Soares FV et al. Antileishmanial activity of extracts from *Libidibia ferrea*: development of *in vitro* and *in vivo* tests. Acta Amaz 2017; 47: 331-40.
16. Soosaraei M, Fakhar M, Hosseini Teshnizi S, Ziaei Hezarjaribi H, Banimostafavi ES. Medicinal plants with promising antileishmanial activity in Iran: a systematic review and meta-analysis. Ann Med Surg (Lond) 2017; 21: 63-80.
17. Ozbilgin A, Durmuskahya C, Kayalar H, Ertabaklar H, Gunduz C, Ostan Ural İ, et al. Antileishmanial Activity of Selected Turkish Medicinal Plants. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 2014; 13: 2047-55.
18. Wink M. Medicinal plants: a source of anti-parasitic secondary metabolites. Molecules 2012; 17: 12771-91.
19. Sidana A, Farooq U. Evaluation of antileishmanial activity of plants used in Indian traditional medicine. Bangladesh J Pharmacol 2015; 10: 423-6.
20. Jihene A, Rym E, Ines KJ, Majdi H, Olfat T, Abderrabba M. Antileishmanial Potential of Propolis Essential Oil and Its Synergistic Combination With Amphotericin B. Natural Product Communications 2020; 15: 1-8.
21. Tasdemir D, Kaiser M, Demirci B, Demirci F, Baser KHC. Antiprotozoal Activity of Turkish *Origanum onites* Essential Oil and Its Components. Molecules 2019; 24: 4421.
22. Machado M, Santoro G, Sousa MC, Salgueiro L, Cavaliero C. Activity of essential oils on the growth of *Leishmania infantum* promastigotes. Flavour Fragr J 2010; 25: 156-60.
23. Teles AM, Rosa TDDS, Mouchrek AN, Abreu-Silva AL, Calabrese KDS, Almeida-Souza F. *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, and *Curcuma longa* Essential Oils: Chemical Composition, Antimicrobial and Antileishmanial Activity. Evid Based Complement Alternat Med 2019; 2019: 2421695.
24. Silva ARST, Scher R, Santos FV, Ferreira SR, Cavalcanti SCH, Correa CB, et al. Leishmanicidal Activity and Structure-Activity Relationships of Essential Oil Constituents. Molecules 2017; 22: 815.
25. Monzote L, Herrera I, Satyal P, Setzer WN. In-Vitro Evaluation of 52 Commercially-Available Essential Oils Against *Leishmania amazonensis*. Molecules 2019; 24: 1248.
26. Hamarsheh O, Azmi K, Amro A, Schultheis M, Abdeen Z, Firdessa R et al. Antileishmanial Potential of Crude Plant Extracts Derived from Medicinal Plants in Palestine. Ann Clin Cytol Pathol 2017; 3: 1065.
27. İpek A, Gürbüz B. Türkiye Florasında Bulunan *Salvia* Türleri ve Tehlike Durumları. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi 2010; 19: 30-5.
28. Aşkun T, Başer KHC, Tümen G, Kürkçüoğlu M. Characterization of essential oils of some *Salvia* species and their antimycobacterial activities. Turk J Biol 2010; 34: 89-95.
29. Fu Z, Wang H, Hu X, Sun Z, Han C. The Pharmacological Properties of *Salvia* Essential Oils. Journal of Applied Pharmaceutical Science 2013; 3: 122-7.
30. Llorba-Montesino N, Schmidt TJ. *Salvia* Species as Sources of Natural Products with Antiprotozoal Activity. Int J Mol Sci 2018; 19: 264.
31. Amin GZ. Popular Medical Plants of Iran: 1. Iranian Research Institute of Medical Plants 1991. s. 1-66.
32. Essid R, Rahali FZ, Msaada K, Sghair I, Hammami M, Bouratbine A, et al. Antileishmanial and cytotoxic potential of essential oils from medical plants in Northern Tunisia. Industrial Crops and Products 2015; 77: 795-802.
33. Nikmehr B, Ghaznavi H, Rahbar A, Sadr S, Mehrzadi S. In vitro antileishmanial activity of methanolic extracts of *Calendula officinalis* flowers, *Datura stramonium* seeds, and *Salvia officinalis* leaves. Chin J Nat Med 2014; 12: 423-7.
34. Khan AR, Khan MJ. *In vitro* Antileishmanial, Cytotoxic and Antioxidant activities of *Salvia bucharica* leaves extract and its fractions. IJBAS-IJENS 2013; 13: 74-8.
35. Kank Ü, Çiçek F, Oğur E, Tutar M, Ayas F. Essential Oil Compounds of Turkey Laurel (*Laurus nobilis* L.) Populations. ANADOLU J of AARI 2015; 25: 1-16.
36. Caputo L, Nazzaro F, Souza LF, Aliberti L, De Martino L, Fratianni F, et al. *Laurus nobilis*: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities. Molecules 2017; 22: 930.
37. Yalçın H, Anik M, Sanda MA, Cakir A. Gas chromatography/mass spectrometry analysis of *Laurus nobilis* essential oil composition of northern Cyprus. J Med Food 2007; 10: 715-9.
38. Binh Le T, Beaufay C, Bonneau N, Mingeot-Leclercq MP, Quetin-Leclercq J. Anti-protozoal activity of essential oils and their constituents against *Leishmania*, *Plasmodium* and *Trypanosoma*. ISTE OpenScience 2018; 18: 1-33.

Oğuzlar Yöresindeki Sığırlarda *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti*'nin Seroprevelansı

Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in Cattle in Oğuzlar Region

✉ Dilek Kula¹, ✉ Sami Gökpinar²

¹Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

²Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

Cite this article as: Kula D, Gökpinar S. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in Cattle in Oğuzlar Region. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):108-112.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı Çorum iline bağlı Oğuzlar ilçesindeki sığırlarda, *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti* seroprevalansının araştırılmasıdır.

Yöntemler: Oğuzlar yöresindeki 100 sığırın *vena jugularis*'inden antikoagülansız tüplere venöz kan örneği alınmıştır. Kan serumları *N. caninum* (IDEXX, İsviçre) ve *B. besnoiti* (ID.vet, Fransa) yönünden ticari c-ELISA kitleri ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışma kapsamında incelenen serum örneklerinden ikisi *N. caninum* (%2), beş tanesi ise *B. besnoiti* (%5) yönünden seropozitif olarak tespit edilmiştir. Örneklenen sığırların hiç birinde miks enfeksiyon tespit edilmemiştir.

Sonuç: Bu çalışma ile Oğuzlar yöresinde *N. caninum* ve *B. besnoiti* varlığı ithal edilmemiş hayvanlarda serolojik olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma, bölgede *B. besnoiti* yönünden seropozitif sığırların belirlendiği ilk çalışma olup, Türkiye'de ise üçüncü çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *Besnoitia besnoiti*, ELISA, *Neospora caninum*, sığır, Oğuzlar, Çorum

ABSTRACT

Objective: This study aimed to investigate the seroprevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in cattle in the Oğuzlar district of Çorum province.

Methods: Venous blood samples were collected from the *vena jugularis* of 100 cattle in the Oğuzlar region and stored into anticoagulant-free tubes. Serum samples were examined with commercial c-ELISA kits for *N. caninum* (IDEXX, Switzerland) and *B. besnoiti* (ID.vet, France).

Results: Two of serum samples were found to be *N. caninum* (2%) and five were *B. besnoiti* (5%) seropositive. No mixed infection was detected in any of serum samples.

Conclusion: In this study, the presence of *N. caninum* and *B. besnoiti* was serologically determined in animals that are not imported in the Oğuzlar region. This is the first study in the region to identify *B. besnoiti* in the seropositive cattle and is the third study in Turkey.

Keywords: *Besnoitia besnoiti*, ELISA, *Neospora caninum*, cattle, Oğuzlar, Çorum

GİRİŞ

Neospora caninum, genellikle sığır ve köpeklerde nadiren de koyun, keçi ve atlarda görülebilen protozoon parazittir. Etkenin son konaklarının evcil köpek, gri kurtlar (*Canis lupus*) (1) ve kır kurtlarının (*C. latrans*) olduğu, ara konak görevini ise ruminantlar, at ve kemirici hayvanların yaptığı bildirilmiştir (2). *N. caninum* dünyadaki sığır abortlarının önemli etkenlerinden biri olarak bildirilmektedir (3).

Sığırlarda besnoitiosis, boğalarda geçici veya kesin sterilite, deri lezyonları, zayıf vücut kondisyonu, ara sıra abortlar nedeniyle sığır verimliliğini tehlikeye atabilen, apicomplexan protozoon parazit *Besnoitia besnoiti*'nin neden olduğu paraziter bir hastalıktır (4). Bu parazitin yaşam döngüsünde tüm sığır ırkları ara konak görevi görmektedir. *B. besnoiti*'nin heteroksen (çoklu) hayat döngüsüne sahip olduğu düşünülmektedir. Diğer bazı *Besnoitia* türleri için



Geliş Tarihi/Received: 10.07.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 25.12.2020

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Sami Gökpinar, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye
Tel/Phone: +90 318 357 42 42 E-Posta/E-mail: samigokpinar@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-70171-869X

kedilerin kesin konak olduğu ileri sürülse de, *B. besnoiti*'nin kesin konağı belirlenmemiştir (5).

Bu çalışmada Çorum iline bağlı Oğuzlar ilçesindeki sığırlarda, *N. caninum* ve *B. besnoiti* seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Örneklenen sığırlardan kan alınması ve çalışmanın yapılmasına dair T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nden izin alınmıştır (19.09.2017 tarih ve 55016929-605.99-E.2299091 sayılı yazı). Kan örnekleri hayvan sahiplerinin bilgisi ve izni dahilinde alınmıştır.

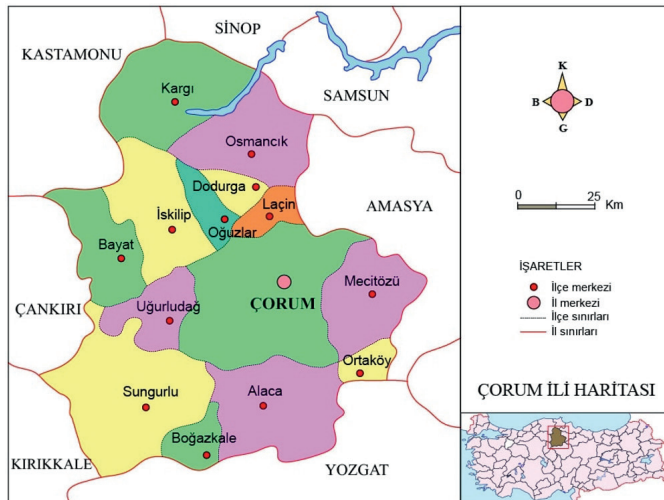
Bu çalışmanın örnekleri, Aralık 2017-Eylül 2018 tarihleri arasında Çorum ili Oğuzlar ilçesine bağlı 10 farklı çiftlikte halk tarafından serbest yetiştirilen dişi ve erkek sığırlardan alınmıştır (Şekil 1) (6). Sığır kan örnekleri Oğuzlar ilçesinde 6 farklı çalışma merkezinden toplam 100 hayvandan elde edilmiştir. Örnek alınan hayvanlar Simental, melez ve diğer ırklara (montofon + yerli kara) ait, 16 tanesi erkek, 84 tanesi dişi sığırdır. Bu sığırların 30 tanesi 1 yaş altı, 58 tanesi 1-5 yaş ve 6 tanesi 6 yaş üzerindedir.

Örneklenen sığırların *vena jugularis*'inden antikoagülsüz tüplere usulüne uygun olarak 8 mL kan örneği alınmıştır. Alınan kan örnekleri soğuk zincirde Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na ulaştırılmıştır. Kan örneği alınan sığırların yaş, cinsiyet, ırk, dişi hayvanların gebelik durumları ve geçmişlerinde abort öyküsü olup olmadığı, hayvanların köpeklerle bir temasının olup olmadığı hayvan sahibinden öğrenilmiş ve kaydedilmiştir.

Neospora caninum ve *Besnoitia besnoiti* Türlerine Karşı Antikorlar Varlığının Tespiti

Laboratuvara soğuk zincirde ulaştırılan kanlar 3,000 g'de 10 dakika santrifüj (Nüve NF200) edilerek serumlar elde edilmiştir. Elde edilen serumlar ELISA yönteminde kullanılmaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Serum örneklerinde *N. caninum* antikorlarının araştırılması amacıyla ticari kompetatif ELISA (cELISA) kiti (IDEXX, İsviçre), *B. besnoiti* antikorlarının araştırılması amacıyla ise yine ticari



Şekil 1. Çalışmanın gerçekleştirildiği bölgenin haritası (6)

ELISA (cELISA) kiti (ID.vet, Fransa) kullanılarak testler firmanın önerdiği şekilde gerçekleştirilmiş, elde edilen sonuçlar ilgili kitlerde belirtilen formüllere göre değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

İrk, cinsiyet ve yaşları dikkate alınarak oluşturulan grupların, *N. caninum* ve/veya *B. besnoiti* seroprevalansı bakımından farklılığının araştırılmasında ki-kare testinden yararlanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelenmiştir. İstatistiksel analizde SPSS 22 paket programından yararlanılmıştır.

BULGULAR

Neospora caninum ve *Besnoitia besnoiti* ELISA Sonuçları

Çalışma kapsamında örneklenen sığırların *N. caninum* ve *B. besnoiti* antikorlarının varlığının tespiti amacıyla yapılan ELISA sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Neospora caninum yönünden pozitif tespit edilen sığırlar Simental ırkıdır. *Neospora caninum* seropozitif olarak tespit edilen örneklerden biri 1 yaş altında, diğeri ise 5 yaşındadır. Altı yaş ve üzerindeki hayvanlarda seropozitiflik tespit edilmemiştir. Bu protozoon yönünden seropozitif olarak tespit edilen her iki örnek de dişi hayvanlara aittir. Dişi hayvanlarda seropozitiflik %2,4 olarak belirlenmiştir. Ancak *N. caninum* seropozitifliği açısından ırk, yaş grupları ve cinsiyet arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 1).

Çalışma sonucunda beş (%5) adet sığır *B. besnoiti* yönünden seropozitif olarak tespit edilmiştir. Seropozitiflik tespit edilen hayvanların dört tanesi Simental, bir tanesi ise Melez ırklara aittir. Serolojik olarak *B. besnoiti* yönünden pozitif olarak tespit edilen hayvanların dört tanesi 1-5 yaş, bir tanesi ise 6 yaştan büyük sığırlardır. Bir yaşından küçük hayvanlarda seropozitiflik saptanmamıştır. Erkek hayvanlarda pozitiflik saptanmamıştır.

Tablo 1. *Neospora caninum* epidemiyolojik veriler

Epidemiyolojik veri	İncelenen sığır sayısı (n)	Seropozitif sığır sayısı (n)	Seropozitif sığırların oranı (%)	p
İrk				
Simental	58	2	3,4	p>0,05
Melez	23	0	0	
Diğer (montofon + yerli kara)	19	0	0	
Toplam	100	2	2	
Yaş				
<1 yaş	30	1	3,3	p>0,05
1-5 yaş	58	1	1,7	
≥6 yaş	12	0	0	
Toplam	100	2	2	
Cinsiyet				
Dişi	84	2	2,4	p>0,05
Erkek	16	0	0	
Toplam	100	2	2	

İrk, yaş grupları ve cinsiyet arasında *B. besnoiti* seropozitifliği yönünden istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

B. besnoiti yönünden üç farklı çiftlikte seropozitiflik saptanmıştır. İki çiftlikte ikişer sığır ve bir çiftlikte bir sığırdaki seropozitiflik saptanmıştır. *Neospora caninum* yönünden seropozitif olarak tespit edilen iki sığır birbirinden farklı çiftliklerde bakılan sığırlardır. Hem *N. caninum* hem de *B. besnoiti* pozitifliği olan çiftlik tespit edilmemiştir. Örneklenen sığırların hiç birinde mikis enfeksiyona da rastlanmamıştır (Tablo 2).

TARTIŞMA

Neospora caninum'un Türkiye'deki sığırlarda yaygınlığının belirlenmesine yönelik çok sayıda serolojik çalışma yapılmış ve bu çalışmalar sonucunda sığırlarda seropozitiflik %2-37,7 oranında saptanmıştır (7-12). Çalışmamızda ise bu oran %2 olarak belirlenmiştir. Türkiye'de yapılan serolojik çalışmalarda genelde incelenen örnekler bir yaş üzeri, abort ya da ölü doğum yapmış ineklerde, *N. caninum*'un abort üzerine etkinliğini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmalardır. Bu çalışmada ise tamamen subklinik sığırlardan, yaş ve cinsiyet farkı gözlemlenmeyen örnekler alınmıştır. Bu nedenle oranın düşük olabileceği düşünülmektedir. Neosporosiste seropozitiflik ile yaş arasındaki ilişki konusunda farklı görüşler mevcuttur. Bazı çalışmalara göre yaş ile enfeksiyon derecesi arasında bir korelasyon söz konusu iken (13,14), diğer bazı çalışmalarda böyle bir korelasyonun olmadığı bildirilmiştir (15). Eşki ve Ütük (14) 5 yaş üzerindeki sığırlarda *N. caninum* seropozitifliğinin, 4 yaş ve altındaki sığırlara göre daha yüksek olduğunu ve aradaki farkın istatistiki olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. Mor ve Akca (16), sığırlarda yaşla birlikte seroprevalansın arttığını ve bu farklılığın istatistiki açıdan önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Farklı ülkelerde birbirinden bağımsız yapılan birçok çalışmada ise yaş ile *N. caninum* seroprevalansı arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir (17,18). Çalışmamızda 1 yaş altı ve 1-5 yaş arası sığırlarda *N. caninum* seropozitifliği saptanırken, 6 yaşından büyük tüm hayvanlar negatif olarak belirlenmiştir. Altı yaşından büyük hayvanlarda seropozitiflik saptanmamasının nedeni, bu yaş grubundaki hayvanlardan alınan örnek sayısının az olmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

Dünya üzerinde sığırlarda Neosporosis ile ilgili yapılan çalışmalar ekonomik öneminden dolayı genellikle dişi hayvanlar üzerinde yapılmaktadır. Erkeklerin de çalışmaya dahil edildiği ve cinsiyete göre *N. caninum* varlığının incelendiği araştırmalar sınırlı sayıdadır. Karatepe ve Karatepe (10), birçok çalışmanın aksine c-ELISA yöntemiyle erkeklerde (%30,43) dişilere (%12,28) oranla daha yüksek pozitiflik saptamışlar ve dişiler ile erkekler arasında *N. caninum* seropozitifliği açısından istatistiki açıdan anlamlı bir fark olduğunu bildirmişlerdir. Yıldız ve Gökpinar (19) çalışmalarında hem erkek hem de dişilerde seropozitiflik tespit edildiğini, ancak cinsiyetler arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada *N. caninum* seropozitifliği bakımından dişi ile erkekler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen, seropozitif hayvanların her ikisi de dişi hayvanlardır. Bunun nedeni erkeklere ait örnek sayısının dişilere oranla daha az olmasından ya da erkek hayvanların genellikle kapalı yetiştiricilik yöntemi ile beslenmesi ve son konak köpekler ile dişi hayvanlar kadar ilişkili olmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma *B. besnoiti*'nin Türkiye'de sığırlarda serolojik olarak ortaya konduğu üçüncü çalışmadır. Daha önce Kırıkkale'de yerli ve ithal sığır serumları c-ELISA yöntemi ile incelenmiş ve %34,1 oranında seropozitiflik saptanmıştır (20). Araştırmacılar bu çalışmada incelenen yerli sığırların %26,6'sının, ithal sığırların ise %71,6'sının *B. besnoiti* yönünden seropozitif olduklarını bildirmişlerdir (21). Özdemir ve ark. (22), Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki bazı illerde yaptıkları çalışmada sığırlarda *B. besnoiti* seropozitifliğini %0-3,7 arasında tespit etmişlerdir. Çalışmamızda %5 oranında *B. besnoiti* seropozitifliği belirlenmiştir.

Tablo 2. *Besnoitia besnoiti* epidemiyolojik veriler

Epidemiyolojik veri	İncelenen sığır sayısı (n)	Seropozitif sığır sayısı (n)	Seropozitif sığırların oranı (%)	p
İrk				
Simental	58	4	6,9	p>0,05
Melez	23	1	4,3	
Diğer (montofon + yerli kara)	19	0	0	
Toplam	100	5	5	
Yaş				
<1 yaş	30	0	0	p>0,05
1-5 yaş	58	4	6,9	
≥6 yaş	12	1	8,3	
Toplam	100	5	5	
Cinsiyet				
Dişi	84	5	6	p>0,05
Erkek	16	0	0	
Toplam	100	5	5	

Besnoitiosisten her yaştaki hayvanlar etkilenebilmekle birlikte, 6 aylıktan küçük hayvanlarda klinik enfeksiyonlar pek alışılmayan durumlardır (23). Garrido-Castañe ve ark. (24), *B. besnoiti* seropozitifliği açısından yaşlar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farkın bulunduğunu ve 3-4 yaş ve ≥5 yaşlı hayvanlarda seropozitiflik oranının ≤2 yaşlı hayvanlardan daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Lee ve ark. (25), ≥2 yaşlı hayvanlar ile ≤1 yaşlı hayvanlar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğunu ve ≥2 yaşlı hayvanlarda daha fazla seropozitiflik saptandığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda 1-5 yaş arası dört, ≥6 yaşlı hayvanlardan birinde *B. besnoiti* seropozitifliği saptanırken, 1 yaşından küçük tüm hayvanlar negatif olarak belirlenmiştir. Ancak yaş grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Besnoitiosisin daha yaşlı sığırlarda daha fazla tespit edilmesinin nedeni, hayvanların yaşı arttıkça parazite maruz kalma olasılığının artmasından kaynaklanıyor olabilir.

Bazı araştırmalar cinsiyetin hastalıkla bir ilişkisinin olmadığını bildirmesine rağmen (26), bazı araştırmacılar erkek sığırlardaki seropozitiflik oranının dişi sığırlara göre daha fazla olduğunu (4,24,25), bazı araştırmacılar ise dişi hayvanlarda daha yüksek seroprevalans tespit ettiklerini bildirmişlerdir (27). Çalışmamızda *B. besnoiti* seroprevalansı dişilerde %6 olarak tespit edilirken,

erkeklerde pozitiflik saptanmamıştır. Ancak dişi ve erkekler arasında *B. besnoiti* seroprevalansı yönünden istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sığırlarda besnoitiosisin cinsiyetle ilişkisini belirlemek amacıyla daha fazla sayıda çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Besnoitia besnoiti'nin serolojik olarak yaygınlığı araştırılırken, *Neospora* spp. pozitif bazı hayvanların yanlış seropozitiflikten sorumlu olabileceği ifade edilmiştir. Sarcocystidae ailesinin soyları arasında çapraz reaktif antijenlerin olduğu ve bunların çapraz reaksiyonlardan sorumlu olabilecekleri bildirilmektedir (28). Çalışmamızda sığır serumları hem *B. besnoiti* hem de *N. caninum* yönünden test edilmiştir. İncelenen örneklerin hiçbirinde mikroskopi ile tespit edilmemiştir. Bu durum *B. besnoiti* seropozitiflik olan hayvanlarda yanlış-seropozitiflik olabilmesi durumunu ortadan kaldırmaktadır.

SONUÇ

Bu çalışma Oğuzlar yöresindeki sığırlarda *N. caninum* ve *B. besnoiti* seropozitifliğinin belirlendiği ilk çalışmadır. *B. besnoiti* Avrupa'da ve dünyanın birçok bölgesinde hızla yayılan bir protozoon etkidir. Bu çalışma ile Türkiye'de İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nden sonra Karadeniz Bölgesi'nde de seropozitiflik saptanması hastalığın Türkiye'de de hızlı bir yayılım gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle hem yerli hayvanlarımızın hem de Besnoitiosis tespit edilen ülkelerden ithal edilen sığırların *B. besnoiti* yönünden de mutlaka kontrol edilmesi, hastalığın ülkemizde salgınlar halinde ortaya çıkmasının önlenmesi açısından önem arz etmektedir. Oldukça küçük, hayvan sayısının az olduğu, hem de dışarıya kapalı bir bölgede hem *N. caninum* hem de *B. besnoiti* seropozitifliğinin saptanması bölgenin sığır neosporosis ve besnoitiosis riski altında olduğunu düşündürmektedir.

BİLGİLENDİRME

Bu proje, İzmir 21. Parazitoloji Kongresi'nde (28 Eylül-3 Ekim 2019) sunulmuştur.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Örneklenen sığırlardan kan alınması ve çalışmanın yapılmasına dair T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nden izin alınmıştır (19.09.2017 tarih ve 55016929-605.99-E.2299091 sayılı yazı).

Hasta Onayı: Kan örnekleri hayvan sahiplerinin bilgisi ve izni dahilinde alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulundaki kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: D.K., S.G., Konsept: D.K., S.G., Dizayn: D.K., S.G., Veri Toplanma veya İşleme: D.K., S.G., Analiz veya Yorumlama: D.K., S.G., Literatür Arama: D.K., S.G., Yazan: D.K., S.G.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2018/017 numaralı proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Dubey JP, Jenkins MC, Rajendran C, Miska K, Ferreira LR, Martins J, et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 2011; 181: 382-7.
- McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 1998; 28: 1473-8.
- Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1988; 192: 1269-85.
- Alvarez-García G, Frey CF, Mora LM, Schares G. A century of bovine besnoitiosis: an unknown disease re-emerging in Europe. *Trends Parasitol* 2013; 29: 407-15.
- Olias P, Schade B, Mehlhorn H. Molecular pathology, taxonomy and epidemiology of *Besnoitia* species (Protozoa: Sarcocystidae). *Infect Genet Evol* 2011; 11: 1564-76.
- Türkiye Cumhuriyeti Kültür Ve Turizm Bakanlığı, Çorum İl Kültür Ve Turizm Müdürlüğü. <http://www.corumkulturturizm.gov.tr>, Erişim Tarihi: 19.03.2019.
- Sevgili M, Altaş MG, Keskin O. Şanlıurfa yöresi sığırlarında *Neospora caninum*'un seroprevalansı. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 127-30.
- Piskin FC, Utuk AE. Prevalence of *Neospora caninum* in cows with stillbirth and abortion. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 2009; 20: 23-6.
- Ocal N, Atmaca HT, Albay MK, Deniz A, Kalender H, Yildiz K, et al. A new approach to *Neospora caninum* infection epidemiology: neosporosis in integrated and rural dairy farms in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2014; 38: 161-8.
- Karatepe B, Karatepe M. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in Nigde province, Turkey. *Isr J Vet Med* 2016; 71: 39-42.
- Erol U, Danyer E, Tuncer S, Korkmaz Ç, Deniz A. Atık yapan sığırlarda anti-*Neospora caninum* antikorlarının yaygınlığının araştırılması. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 2019; 30: 78-81.
- Erol U, Ütük AE. İzmir ilinde atık problemi olan bir süt sığırcılık işletmesinde anti-*Neospora caninum* antikorlarının varlığının araştırılması. 4. Uluslararası Mersin Sempozyumu, 22-24 Ekim 2020, Mersin: Türkiye; 2020. s. 86-92.
- Sanderson MW, Gay JM, Baszler TV. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Vet Parasitol* 2000; 90: 15-24.
- Eşki F, Ütük AE. Detection of Anti-*Neospora caninum* Antibodies in Cattle in Adana Province of Turkey. *Van Vet J* 2018; 29: 93-9.
- İça A, Yıldırım A, Düzlü O, İnci A. Kayseri yöresinde sığırlarda *Neospora caninum*'un seroprevalansı. *Türkiye Parazitolojisi* 2006; 30: 92-4.
- Mor N, Akca A. Epidemiological studies upon *Neospora caninum* in cattle and dogs in the province of Kars, Turkey: A cross-sectional study. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18: A193-9.
- Hussien MO, Elfahal AM, Enan K, Mohammed MS, Ibrahim A, Taha KM, et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in Sudan. *Vet World* 2012; 5: 465-8.
- Yıldız K, Gökpınar S, Sürsal N, Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde yetiştirilen süt ineklerinde *Neospora caninum*'un seroprevalansı. *Türkiye Parazitolojisi* 2017; 41: 135-8.
- Yıldız K, Gökpınar S. Sığırlarda *Neospora caninum* doku kistlerinin araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2017; 64: 45-9.
- Ocal N, Yağcı BB, Gökpınar S. Sığırlarda Besnoitiosisin klinik ve laboratuvar yönden araştırılması. *Eurasian JHS* 2020; 3: 11-6.
- Ocal N, Yağcı BB, Gökpınar S. Investigation as clinical and laboratory of besnoitiosis in cattle. I. International Congress on Advances in Veterinary Sciences&Technics; 2016 August 25-29; Sarajevo, Bosnia-Herzegovia; p: 109.
- Özdemir N, Oğuz B, Orunç Kılıncı Ö, Karakuş A, Değer S. Prevalence of ELISA-detected specific antibodies against *Besnoitia besnoiti* in cattle of

- the Eastern and Southeastern Anatolian regions, Turkey. Iran J Vet Res 2019; 20: 143-6.
23. Bigalke RD. New concepts on the epidemiological features of bovine besnoitiosis as determined by laboratory and field investigations. Onderstepoort J Vet Res 1968; 35: 3-137.
 24. Garrido-Castañé I, Romero AO, Espuny JC, Hentrich B, Basso W. *Besnoitia besnoiti* seroprevalence in beef, dairy and bullfighting cattle in Catalonia (north-eastern Spain): A cross-sectional study. Parasitol Int 2019; 69: 71-4.
 25. Lee SH, Eo KY, Jung BY, Kwak D, Kwon OD. Seroprevalence and risk factors of *Besnoitia besnoiti* infection in Korean cattle - short communication. Acta Vet Hung 2017; 65: 510-6.
 26. Alvarez-García G, Fernández-García A, Gutiérrez-Expósito D, Ruíz-Santa Quiteria JA, Aguado-Martínez A, Ortega-Mora LM. Seroprevalence of *Besnoitia besnoiti* infection and associated risk factors in cattle from an endemic region in Europe. Vet J 2014; 200: 328-31.
 27. Ashmawy KI, Abu-Akkada SS. Evidence for bovine besnoitiosis in Egypt- first serosurvey of *Besnoitia besnoiti* in cattle and water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Egypt. Trop Anim Health Prod 2014; 46: 519-22.
 28. Cortes HC, Nunes S, Reis Y, Staubli D, Vidal R, Sager H, et al. Immunodiagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection by ELISA and Western blot. Vet Parasitol 2006; 141: 216-25.

Parasitic Appendicitis in 14.797 Cases: A Retrospective Cohort Study

On Dört Bin Yedi Yüz Doksan Yedi Olguda Parazitik Apandisit:
Retrospektif Bir Kohort Çalışması

© Serdar Gümüş¹, © Nilgün Söğütçü²

¹Çukurova University Faculty of Medicine, Department of General Surgery and Surgical Oncology, Adana, Turkey

²University of Health Sciences Turkey, Gazi Yaşargil Training and Research Hospital, Clinic of Pathology, Diyarbakır, Turkey

Cite this article as: Gümüş S, Söğütçü N. Parasitic Appendicitis in 14.797 Cases: A Retrospective Cohort Study. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):113-116.

ABSTRACT

Objective: This study aimed to determine the frequency of *Enterobius vermicularis* in appendectomy specimens and evaluate the histopathological characteristics of adult and pediatric cases with *E. vermicularis* infection.

Methods: Appendectomies examined from 1 January 2010, to 1 December 2020, were analysed retrospectively. Cases were divided into two groups: under 18 years (children) and 18 and over (adults). Demographic and histopathological characteristics of patients were also examined.

Results: Out of 14.797 patients that underwent appendectomy, 6.130 were children and 8.667 were adults. *E. vermicularis* was detected in 268 patients, wherein 64.2% were children and 35.8% were adults. In the detection of *E. vermicularis* in appendectomy specimens, the frequency was higher in children compared to that in adults (2.85%, 1.1%, respectively) ($p < 0.001$). Histopathologically, acute appendicitis was defined in 31.7% ($n=85$) of 268 cases, and *E. vermicularis* was found to cause a higher rate of acute appendicitis in adults ($p < 0.001$).

Conclusion: The frequency of *E. vermicularis* in appendectomy specimens is higher in children. However, *E. vermicularis* causes acute appendicitis more frequently in adults.

Keywords: Appendectomy, *Enterobius vermicularis*, parasites

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, *Enterobius vermicularis*'in apandektomi spesmenlerinde görülme sıklığını bulmayı ve *E. vermicularis* enfeksiyonu saptanan yetişkin ve çocuk olguların histopatolojik özelliklerini değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntemler: 1 Ocak 2010 ile 1 Aralık 2020 tarihleri arasında yapılan apandektomiler geriye dönük olarak değerlendirildi. Olgular 18 yaş altı (çocuk) ve 18 ve üstü (yetişkin) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Hastaların demografik ve histopatolojik özellikleri incelendi.

Bulgular: Apandektomi yapılan 14.797 hastanın 6.130'u çocuk, 8.667'si yetişkindi. Toplam 268 hastada *E. vermicularis* tespit edildi ve bunların %64,2'si çocuk; %35,8'i yetişkindi. Çocukların apandektomi spesmenlerinde *E. vermicularis* saptanma sıklığı yetişkinlere göre daha yüksekti (sırasıyla: %2,85, %1,1) ($p < 0,001$). Histopatolojik olarak akut apandisit, 268 olgunun %31,7'sinde ($n=85$) tanımlandı ve *E. vermicularis*'nin yetişkinlerde daha yüksek oranda akut apandisit neden olduğu saptandı ($p < 0,001$).

Sonuç: Apandektomi spesmenlerinde *E. vermicularis* sıklığı çocuklarda daha yüksektir. Buna karşın *E. vermicularis* erişkinlerde daha sık akut apandisit neden olur.

Anahtar Kelimeler: Apandektomi, *Enterobius vermicularis*, parazit

INTRODUCTION

Acute appendicitis is the most common disease that requires surgical intervention both in childhood and in adults. Luminal stasis and lymphoid hyperplasia often cause the pathophysiology of the disease. The

most common cause in etiology is fecaloid at all ages. Parasitic infections due to *Enterobius vermicularis* are rarely seen in the histopathological examination of appendectomy. It is a common parasite worldwide and affects about 200 million people around the world (1). It is known that it is more common, especially in



Received/Geliş Tarihi: 31.12.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 08.02.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Serdar Gümüş, Çukurova University Faculty of Medicine, Department of General Surgery and Surgical Oncology, Adana, Turkey

Phone/Tel: +90 530 611 70 03 E-mail/E-Posta: seredargumus@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-7629-9369

childhood. It is transmitted by the fecal-oral route and settles in the gastrointestinal tract of the host human.

How much of the *E. vermicularis* cases are responsible for acute appendicitis is controversial and varies between geographical regions. The reason for this is that parasitic diseases are more common in socioeconomically underdeveloped countries. It has been assumed that *E. vermicularis* infection in acute appendicitis ranges from 0.2% to 41.8% worldwide (2).

In this article, parasitic infections detected in the pies of appendectomy were retrospectively reviewed. The primary aim of this study is to describe the frequency of *E. vermicularis* in appendectomies. The second is to evaluate the histopathological features of parasitic appendicitis cases in children and adults.

METHODS

Diyarbakır Gazi Yaşargil Training and Research Hospital's pathology database was reviewed retrospectively between 1 January 2010 and 1 December 2020, and the 14.797 patients who underwent appendectomy were obtained. All pediatric and adult patients were included in the study.

The histopathological features of all patients were examined. Totally 268 cases were identified with *E. vermicularis* infection features like parasite egg, parasite larvae, or adult parasite form (Figure 1).

The age, gender, and operation dates of the patients were determined. The subjects were divided into two groups: under 18 years old (childhood) and 18 years and above (adult). The frequency and clinical findings of the disease were compared between the two groups.

Statistical Analysis

All patient data were recorded in the SPSS 25 Chicago BMI database. The categorical variables were examined as minimum, maximum, and percentage values. After the normalization test was applied to the data, the chi-square test was used for group comparison, the t-test for comparison of means, and the Pearson correlation test for correlation between data. A value of $p < 0.005$ was considered significant in all statistics.

RESULTS

The study population is summarized in Figure 2. *E. vermicularis* was identified in 268 of 14.797 patients, 6.130 of whom were

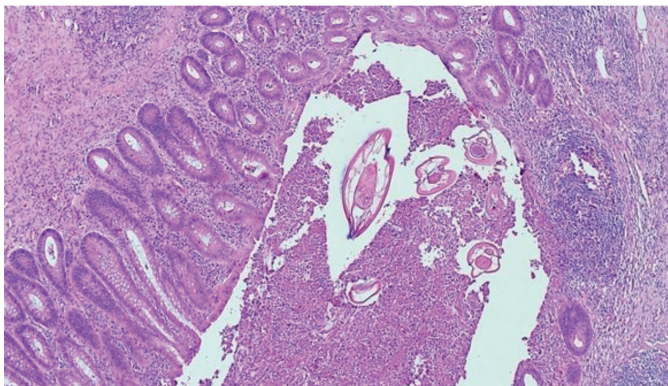


Figure 1. *Enterobius vermicularis*. The parasite is seen at the appendiceal lumen (HEX100)

children, and 8667 were adults. The frequency of *E. vermicularis* among all appendectomies scanned for the study was 1.81% (n=268). The rate of parasite detection in children's appendectomy specimens was higher than in adults. (2.85% vs 1.1%) ($p < 0.001$) (Table 1).

One hundred seventy-two of 268 cases were children (64.2%), and 96 were adults (35.8%). The mean age in childhood was 10.77 ± 3.82 years; it was 27.77 ± 8.82 in adults. Gender distribution was similar in both children and adults. In histopathological examination, only 85 (31.7%) of the cases were acute appendicitis, and this rate was higher in adults (53.1% vs 19.2%) ($p < 0.001$). Appendix diameter was similar in adults and children, but its length was statistically significantly higher in adults ($p = 0.008$). Lymphoid hyperplasia was more common in children ($p = 0.037$). Perforation and fechaloid rates were similar (Table 1). When the ten-year period was examined, the number of cases seen was gradually decreasing (Figure 3).

DISCUSSION

Enterobius vermicularis, also known as pinworm or oxyuris, is a nematode, and the only host is human (3). The most important route of transmission is eating foods infected with parasite eggs or drinking water. The parasite's eggs crack in the stomach and mature in the gastrointestinal system. Then frequently settle in the cecum or rectum and less regularly in the terminal ileum. This period takes about 2-4 weeks (4). This parasite can be seen in all age groups globally; however, it was reported more frequently during the school-age period (5). It has a high prevalence in developing and tropical countries and has been documented in 4-28% of children worldwide (6). Detection of *E. vermicularis* in appendectomy specimen is a rare finding, and there are data that it plays a role in the etiology of appendicitis for approximately 100 years (7).

In a comprehensive literature review conducted by Zakaria et al. (6), they examined 21 articles reported between 1957 and 2002. The authors found that the frequency of *E. vermicularis* detection in appendectomies was 4.5%. In a meta-analysis by Taghipou et al. (7), 103,195 appendix tissue samples belonging to the appendicitis cases were evaluated for *E. vermicularis* infection, and 2983 (2.89%) patients were positive for the parasite. According to their study, the highest and lowest global burdens of *E. vermicularis* infection were found in the continents Africa (8%) and America (2%). Nigeria (33%) was identified as a country with the highest percentage of positive histopathological results, while the lowest prevalence (<1%) was found in Venezuela. In our study, 14,797 cases were analyzed retrospectively, and the frequency of *E. vermicularis* was 1.81%. The frequency of *E. vermicularis* in our study group is lower than most of the countries surveyed in the literature.

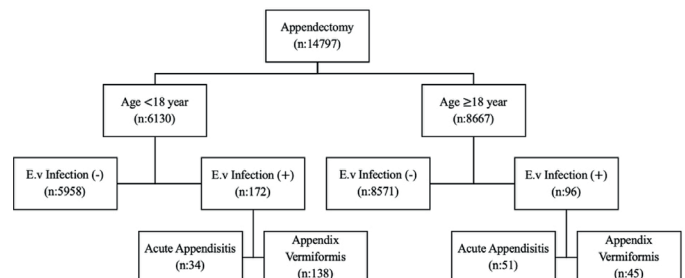


Figure 2. The study population

Table 1. Clinical features				
Variabels		<18 year (n=172)	≥18 year (n=96)	p
Frequency in all population		(1.81%)		-
Frequency according to age population		2.85%	1.1%	0.000
Age (year) (mean ± SD)		10.77±3.82	27.77±8.82	-
Sex	Female	85 (49.5%)	50 (52%)	0.676
	Male	87 (50.5%)	46 (48%)	
Size (mm) (mean ± SD)	Diameter	7.35±3.41	8.23±4.90	0.088
	Length	64.13±16.77	69.95±71.98	0.008
Acute appendicitis	No	138 (80.3%)	45 (46.9%)	0.000
	Yes	34 (19.7%)	51 (53.1%)	
Perforation	No	167 (97.1%)	92 (95.8)	0.583
	Yes	5 (2.9%)	4 (4.2%)	
Reactive lymphoid hyperplasia	No	137 (79.7%)	86 (89.5%)	0.037
	Yes	35 (20.3%)	10 (10.5%)	
Fechaloid	No	143 (83.1%)	89 (92.7%)	0.09
	Yes	29 (16.9%)	7 (7.3%)	

SD: Standard deviation

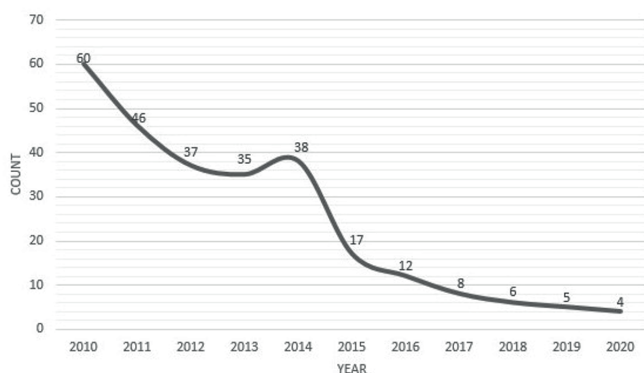


Figure 3. Distribution of cases from 2010 to 2020 (n=268)

According to Fleming et al. (8) the annual incidence of *E. vermicularis* in appendectomy specimen from their pediatric cohort was 7.1%. Our study found this rate was 2.85% in children and that there was a statistically significantly lower rate in adults. We think this is because of the high overall incidence of *E. vermicularis* in children.

The role of *E. vermicularis* in the etiopathogenesis of acute appendicitis is controversial. According to many authors, *E. vermicularis* was more often associated with un-inflamed appendices than inflamed appendices, and mucosal invasion was not seen (9). Hasan et al. (1) suggest that *E. vermicularis* infection is an incidental finding during histopathology examination of appendectomy specimens for patients with a clinical diagnosis of acute appendicitis. However, there is no relationship between *E. vermicularis* and acute appendicitis, which is the main indication for appendectomy (1). In the study published by Karatepe et al. (10), acute inflammation was found in 18 of the 24 patients' (75%) histopathological examination. In our series, 85 cases (31.7%) had histopathological features of acute appendicitis. We also found that *E. vermicularis* causes a higher rate of acute appendicitis when seen in adults.

In our study, fecaloid, which plays a role in acute appendicitis etiology, was detected in only 36 cases. Also, perforation, which is a complication of acute appendicitis, was detected in only nine patients. In the literature, perforation rates due to acute appendicitis are range from 15% to 20% for children (11) and 16% to 40% for adults (12). However, in our study, contrary to the literature, perforation rates were lower in *E. vermicularis*-associated acute appendicitis. We can interpret this situation as *E. vermicularis* infection does not increase the possibility of perforation.

Most of the cases reported in the literature are from countries with low socio-economic development. Taghipour et al. (7) observed a geographical variation for the prevalence of *E. vermicularis* infection in appendicitis cases. They suggested that this variation in different continents could result from lifestyle, sanitation status, culture, socio-economic conditions, and climate. In the subgroup analyses of their study, they found that low-income countries with lower human development indexes had a higher prevalence of *E. vermicularis* than high-income countries with a higher human development index. In our series, the number of cases detected between 2010 and 2020 was gradually decreasing. However, it was not possible in this study to reveal what the reason for this was. We know that there has been a positive socio-economic development in the city where the research was conducted in 10 years. However, we certainly need additional demographic characteristics to evaluate whether this affects the decrease in the number of cases in our study. Our study has a limitation in this respect.

CONCLUSION

E. vermicularis, which can play a role in the pathophysiology of acute appendicitis in all age groups, has a higher frequency in children. In this cohort, which has the most extensive case series in the literature, we found that *E. vermicularis* more frequently caused acute appendicitis in adults.

*** Ethics**

Ethics Committee Approval: Due to the retrospective nature of our study, ethical committee approval was not taken.

Informed Consent: Retrospective study.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

**** Authorship Contributions**

Concept: S.G., N.S., Design: S.G., Data Collection or Processing: S.G., N.S., Analysis or Interpretation: S.G., N.S., Literature Search: S.G., N.S., Writing: S.G., N.S.

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

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

REFERENCES

- Hasan A, Nafie K, El-Sayed S, Nasr M, Abdulmohaymen A, Baheeg M, et al. *Enterobius vermicularis* in appendectomy specimens; Clinicopathological assessment: Cross sectional study. *Ann Med Surg (Lond)* 2020; 60: 168-72.
- Arca MJ, Gates RL, Groner JI, Hammond S, Caniano DA. Clinical manifestations of appendiceal pinworms in children: an institutional experience and a review of the literature. *Pediatr Surg Int* 2004; 20: 372-5.
- Panidis S, Paramythiotis D, Panagiotou D, Batsis G, Salonikidis S, Kaloutsis V, et al. Acute appendicitis secondary to *Enterobius vermicularis* infection in a middle-aged man: a case report. *J Med Case Rep* 2011; 5: 559.
- Özcan S, Özcan H, Sönmez E, Yazar S. Kayseri'de Dört İlköğretim Okulundaki Öğrencilerde *Enterobius vermicularis* Yaygınlığının Araştırılması. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2004; 28: 24-6.
- Korkmaz M. Barsak Helmintleri. *ANKEM Derg* 2006; 20: 170-6.
- Zakaria OM, Zakaria HM, Daoud MY, Al Wadaani H, Al Buali W, Al-Mohammed H, et al. Parasitic infestation in pediatric and adolescent appendicitis: a local experience. *Oman Med J* 2013; 28: 92-6.
- Taghipour A, Olfatifar M, Javanmard E, Norouzi M, Mirjalali H, Zali MR. The neglected role of *Enterobius vermicularis* in appendicitis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2020; 15: 0232143.
- Fleming CA, Kearney DE, Moriarty P, Redmond HP, Andrews EJ. An evaluation of the relationship between *Enterobius vermicularis* infestation and acute appendicitis in a paediatric population--A retrospective cohort study. *Int J Surg* 2015; 18: 154-8.
- Dorfman S, Cardozo J, Dorfman D, Del Villar A. The role of parasites in acute appendicitis of pediatric patients. *Invest Clin* 2003; 44: 337-40.
- Karatepe O, Adas G, Tukenmez M, Battal M, Altıok M, Karahan S. Parasitic infestation as cause of acute appendicitis. *G Chir* 2009; 30: 426-8.
- Levin DE, Pegoli W Jr. Abscess After Appendectomy: Predisposing Factors. *Adv Surg* 2015; 49: 263-80.
- Di Saverio S, Podda M, De Simone B, Ceresoli M, Augustin G, Gori A, et al. Diagnosis and treatment of acute appendicitis: 2020 update of the WSES Jerusalem guidelines. *World J Emerg Surg* 2020; 15: 27.

Muğla İlinde Kesilen Sığırlarda Kist Hidatiğin Ekonomik Önemi

Economic Importance of Hydatid Cyst in Slaughtered Cattle of Muğla Province

✉ Mehmet Acıöz¹, ✉ Faruk Bozkaya², ✉ Hazal Zorzoban³, ✉ Ali İhsan Yılmaz¹

¹İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Parazitoloji Birimi, Muğla, Türkiye

²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

³Süleymaniye Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Histoloji ve Embriyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Acıöz M, Bozkaya F, Zorzoban H, Yılmaz Aİ. Economic Importance of Hydatid Cyst in Slaughtered Cattle of Muğla Province. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):117-120.

ÖZ

Amaç: Bu çalışma, Muğla yöresinde kesilen hayvanlarda kist hidatik enfeksiyonunun görülme sıklığını, mevsimsel dağılımını ve ekonomik etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yöntemler: 2019 yılı Muğla Büyükşehir Belediyesi mezbahane kayıtları retrospektif olarak incelenmiştir. Kist hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kaybı belirlemek için doğrudan ve dolaylı hesaplama yöntemleri kullanılmıştır.

Bulgular: Dokuz bin dokuz yüz seksen beş sığırın 21'inde (%0,21) kist hidatik olduğu rapor edilmiştir. Enfeksiyon en yüksek Şubat ayında (%1,17) belirlenirken, Mayıs, Haziran ve Ağustos aylarında belirlenememiştir. Muğla ili için karaciğer imhasına bağlı doğrudan ekonomik kayıp 11.760 TL (1,950 \$) olarak saptanmıştır. Dolaylı ekonomik kayıpların (karkas kaybı, süt verim ve döl verim kaybı gibi) ise 122.691 TL (20.346 \$) olduğu belirlenmiştir. Muğla genelinde doğrudan ve dolaylı ekonomik kayıp kist hidatik hastalığı için 134.451 TL (22.296 \$) olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Elde ettiğimiz sonuçlara göre; Muğla ilindeki sığırlarda kist hidatik görülme oranı %0,21 olarak belirlenmiş olup önemli ekonomik kayba rağmen bu oran Türkiye ortalamasından düşük bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Ekonomik, kist hidatik, Muğla

ABSTRACT

Objective: This study was carried out to investigate the prevalence, seasonal distribution and economic effects of hydatid cyst infection in slaughtered cattle of Muğla province.

Methods: Data from the 2019 records of the Muğla Metropolitan Municipal Abattoir were studied retrospectively. Both direct and indirect calculation methods were used to determine the economic losses incurred due to hydatid cyst.

Results: Twenty-one out of 9,985 (0.21%) cattle were found to have been infected with hydatid cyst in 2019. The highest prevalence of infection was reported in February (1.17%), while no cases were observed in May, June and August. The direct economic loss attributed to liver destruction in Muğla province was 11,760 TL (1,950 \$). The total indirect economic loss caused by hydatid cyst (carcass loss, milk production loss, decreased fecundity) was 122,691 TL (20,346 \$). Cumulatively, the direct and indirect economic losses for hydatid cyst disease in Muğla province were 134,451 TL (22,296 \$).

Conclusion: According to our results, the prevalence of hydatid cyst in cattle of Muğla province was 0.21%, which was still lower than the average loss in Turkey in spite of the corresponding significant economic loss.

Keywords: Economic, hydatid cyst, Muğla

GİRİŞ

Kist hidatik tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de yaygın olarak görülen, zoonoz karakterli paraziter bir hastalıktır. Türkiye'de parazitin erişkin formu başta köpekler olmak üzere karnivorların ince bağırsağında, larva formu ise başta koyun-keçi olmak üzere sığır, at, eşek, katır ve domuz gibi hayvanlarda bulunur (1). İnsanlar ise rastlantısal konaklırlar. Ara konakların enfekte yumurtaları almasıyla enfeksiyon oluşur.

Hastalık çoğunlukla; akciğer, karaciğer, dalak, böbrek, kalp, kemik iliği, göz, beyin gibi doku ve organlara yerleşerek, içi sıvı dolu kistleri oluşturur (2). Kist hidatik insanlarda ölümle sonuçlanabilecek kadar ciddi semptomlara neden olmaktadır. Bunun yanında iş gücü ve ekonomik kayıplara (tanı, ilaç ve ameliyat masrafları gibi) sebebiyet verebilmektedir. Türkiye'de insanlarda kist görülme oranını 1/2,000 olarak bildirilmiştir (3).



Geliş Tarihi/Received: 09.12.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 30.01.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Mehmet Acıöz, İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Parazitoloji Birimi, Muğla, Türkiye
Gholamreza Hatam, Shiraz University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Parasitology and Mycology, Shiraz, Iran
Tel/Phone: +90 252 712 82 00 E-Posta/E-mail: mehmetacioz@hotmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-8888-2794

Kist hidatiğin neden olduğu doğrudan ekonomik zararlar, yenilebilir iç organların imhasıdır. Döl verim kaybı, karkas kaybı, süt verim kaybı gibi dolaylı ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Kistli organ ve dokuların rastgele başıboş çevreye atılması sonucu bunların son konak karnivorlara ulaşması, parazitin biyolojisi açısından önemlidir (4). Kist hidatiğin hayvanlarda görülme oranının, sığırlarda %0,98-46, keçilerde %1,6-74,4 ve koyunlarda %3,5-71,56 arasında olduğu rapor edilmiştir (5).

Bu çalışma ile Muğla Büyükşehir Belediye Mezbahası'nda yıl boyunca kesilen hayvanlarda kist hidatiğin görülme oranı, mevsimsel dağılımı ve yol açtığı ekonomik kayıpların belirlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Bu çalışmaya, Ocak-2019 ile Aralık-2019 tarihleri arasında Muğla Büyükşehir Belediye Mezbahası'nda yıl boyunca kesilen 9,985 sığır dahil edilmiştir. Çalışmada, mezbahanenin kayıtları esas alınmıştır. Kesilen hayvanlar ile bildirilen oranlar ay ay karşılaştırılmış ve kist hidatik görülme oranı ile mevsimsel dağılım belirlenmiştir. Kist hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kayıp için ilgili literatürdeki hesaplama yöntemi kullanılmıştır (6). Bu amaçla, doğrudan verim kayıpları için karaciğer imhası dikkate alınmıştır. Dolaylı verim kayıplarının belirlenmesinde karaciğer kaybı, karkas kaybı, süt verim kaybı, döl verim kayıpları kullanılmıştır.

Karaciğer kaybı hesaplanmasında: kesilen hayvan sayısı x kist hidatik oranı (%) x ortalama karaciğer ağırlığı (kg) x güncel karaciğer fiyatı (TL/kg) formülü kullanılmıştır. Kesilen hayvan sayısına Muğla ilinde 2019 yılında kesilen tüm hayvanlar dahil edilmiştir (7). Ortalama karaciğer ağırlığı 8 kg, Güncel karaciğer fiyatı ise 70 TL/kg olarak kabul edilmiştir (8).

Karkas kaybı hesaplanmasında: Kesilen hayvan sayısı (7) x kist hidatik oranı (%) x ortalama yıllık karkas verimi x karkas ağırlığındaki % azalma x güncel karkas fiyatı (TL/kg) formülü ile hesaplanmıştır. Ortalama yıllık karkas verimi 275 kg, karkas ağırlığındaki azalma %1,1 (9) ve güncel karkas fiyatı 34,55 TL/kg (8) olarak alınmıştır.

Süt verim kaybı hesaplanmasında: sağmal inek sayısı x kist hidatik oranı (%) x ortalama yıllık süt verimi (L) x süt veriminde % azalma x güncel süt fiyatı (TL) yöntemi kullanılmıştır (8). Ortalama yıllık süt verimi 9,000 litre, süt veriminde azalma ise %2,5 olarak belirlenmiştir (10).

Döl verim kaybı hesaplanmasında: yıllık ortalama buzağılama sayısı (7) x kist hidatik oranı (%) x doğum oranında % azalma (x güncel buzağı fiyatı hesaplama formülü kullanılmıştır. Doğum oranında azalma oranı %5,5 (10), güncel buzağı fiyatı 3,000 TL olarak belirlenmiştir (11).

Karaciğer imhasından kaynaklanan direkt kayıp (TL)= kistli karaciğer sayısı x ortalama karaciğer ağırlığı x güncel karaciğer fiyatı formülü ile hesaplanmıştır. Ortalama karaciğer ağırlığı 8 kg (8), güncel karaciğer fiyatı ise 70 TL/kg olarak (8) kabul edilmiştir. Ekonomik kaybın hesaplanmasında 2019 yılı güncel cari piyasa fiyatları baz alınmıştır. Türk lirası olarak hesaplanan sonuçlar, 1\$ =6,034 TL kuru üzerinden Amerikan dolarına çevrilmiştir.

Çalışmamız retrospektif olmasından dolayı etik kurul onayı ve hasta onayı alınmamıştır.

İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi için, Statistical Package for the Social Sciences for Windows 16.0 (SPSS Inc.; Chicago, IL, ABD) paket programı kullanılmıştır. P<0,05 değeri önemli olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

2019 yılında Muğla Büyükşehir Belediye Mezbahası'nda kesilen 9,985 sığırın 21'inde (%0,21) kist hidatik tespit edilmiştir. Kist hidatik görülme sıklığının aylara göre dağılımı incelendiğinde, en yüksek görülme oranı %1,17 ile Şubat ayı olurken, Mayıs, Haziran, Ağustos ve Eylül aylarında kist hidatikli karaciğer belirlenmemiştir (Tablo 1).

Doğrudan kayıpların belirlenmesinde karaciğer imhası dikkate alınmış, buna bağlı ekonomik kayıp 11.760 TL (1,950 \$) olarak hesaplanmıştır (Tablo 2).

Kist hidatik hastalığına bağlı dolaylı oluşan ekonomik kayıp (karaciğer kaybı) 15.680 TL (2,600 \$) olarak hesaplanmıştır. Karkas kaybı için 5,077 TL (842 \$), süt kaybı için 75.600 TL (12.537 \$) ve dölverimi kaybı için 26.334 TL (4,367 \$) dolaylı verim kaybı tahmin edilmiştir. Bununla birlikte toplam dolaylı verim kaybı 122.691 TL (20.346 \$) olarak bulunmuştur (Tablo 2). Doğrudan ve dolaylı olmak üzere toplam ekonomik kayıp Muğla ili için 134.451 TL (22.296 \$) olarak saptanmıştır.

Tablo 1. Muğla Büyükşehir Belediye Mezbahasında kesilen sığırlarda kist görülme oranının aylara göre dağılımı

Aylar	İncelenen hayvan sayısı	Enfekte organ sayısı	%
Ocak	542	4	0,74
Şubat	597	7	1,17
Mart	728	2	0,27
Nisan	897	2	0,22
Mayıs	1,059	0	0
Haziran	776	0	0
Temmuz	1,176	2	0,17
Ağustos	936	0	0
Eylül	864	0	0
Ekim	818	2	0,24
Kasım	764	2	0,26
Aralık	828	0	0
Toplam	9,985	21	0,21

Tablo 2. 2019 yılında Muğla ilinde kist hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kayıplar

Verim kayıpları	Dolaylı verim kayıpları	Karaciğer kaybı	15.680 TL
		Karkas kaybı	5,077 TL
Süt verim kaybı	75.600 TL		
Döl verim kaybı	26.334 TL		
Toplam	122.691 TL		
Genel toplam	Doğrudan verim kayıpları	11.760 TL	
		134.451 TL (22.296 USD)	

TARTIŞMA

Kist hidatik dünyanın farklı bölgelerinde görülebilen helminto-zoonoz bir enfeksiyondur (12). *Echinococcus granulosus* başta köpekler olmak üzere kurt, çakal, tilki ve diğer kanidelerin ince bağırsaklarında yaşamakta olup, larvası olan kist hidatik ise sığır, koyun, keçi, katır, at, eşek gibi diğer memeli hayvanlarda bulunmaktadır. Kist hidatik insanlarda sağlık sorunlarına yol açtığı gibi hayvan yetiştiriciliğinde de önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (13). Dünya sağlık örgütü 2015 yılı verilerine göre insanlarda kist hidatik nedeniyle küresel olarak her yıl 19.300 ölüm olgusu olduğu tahmin edilmiştir (14).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda sığırlarda kist hidatik görülme oranının %2,7 ile %69,5 arasında olduğu bildirilmiştir (5). Bizim çalışmamızda bulunan %0,21 oranı Türkiye'den bildirilen oranlardan oldukça düşük bulunmuştur. Ancak mezbaha kayıtlarının kısa zamanda yapılan, parazitolojik bir araştırma ile karşılaştırıldığında çok daha yüzeysel olan makroskobik bakıya dayandığı düşünüldüğünde çok sayıda enfekte organın gözden kaçma ihtimali vardır. Ayrıca kesilen hayvanların yetiştirilme şekli, coğrafi ve iklim koşullarının farklı olması da göz önünde bulundurulmalıdır. Bu farklılığın bu gibi sebeplerden kaynaklanabileceği kanaatindeyiz. Sudan'da yapılan bir çalışmada kist hidatik görülme oranının en yüksek Nisan ayında olduğu belirlenmiştir (15). Irak'ta yapılan çalışmada ise Temmuz ve Ağustos aylarında en yüksek oran bulunurken Eylül ve Ekim aylarında en düşük kist hidatik görülme oranı belirlenmiştir (16). Bizim çalışmamızda kist hidatik görülme oranı en yüksek Şubat ayında olurken, Mayıs, Haziran, Ağustos ve Eylül aylarında enfekte karaciğer gözlenmemiştir. Hastalığın mevsimsel görülme oranlarında; yıldan yıla, bölgeden bölgeye, farklılıklar gözlenebilmektedir. Kesilen hayvanların dış ortamla olan ilişkileri, düzenli parazitler mücadelelerinin yapıp yapılmaması, bölgesel ve iklimsel değişkenler hastalığın görülme sıklığını etkilemektedir (6,9).

Dünya'da yapılan çalışmalarda kist hidatik nedeniyle oluşan yıllık ekonomik kaybın İran'da 232,3 milyon \$ (17), Hindistan'da 212,35 milyon \$ (18), ABD'de 141.605.195 \$ (19), Etiyopya'da 58.114,62 \$ (20) olduğu bildirilmiştir. Portekiz'de yapılan bir çalışmada kist hidatik nedeniyle %5 ile %20 arasında et kaybı, %7 ile %20 arasında süt kaybı olabileceği rapor edilmiştir (21). Yapılan bir çalışmada İspanya'da kist hidatik nedeniyle %5 oranında karkas kaybı, %10 oranında süt kaybının olduğu bildirilmiştir (22). Güney Batı Etiyopya'da bir mezbahada yapılan çalışmada yıllık ekonomik kayıp 12.758,21 \$ olarak hesaplanmıştır (23). Çalışmamızda 2019 yılında Muğla ilinde kist hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kayıp 134.451 TL (22.296 \$) olarak hesaplanmıştır. Bu farklılıkların, hayvanların meraya çıkıp çıkmaması, yaş, cinsiyet ve düzenli parazitler mücadelenin yapıp yapılmamasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Ülkemizdeki yıllık kayıplara bakıldığında, Burdur'da yapılan bir çalışmada, kist hidatite bağlı sığır başına verim kaybının 7,5 \$ olduğu bildirilmiştir (9). Erzurum'da yapılan çalışmada kist hidatikli karaciğer imhasına bağlı ekonomik kaybın 3,320 TL olduğu saptanmıştır (24). Kayseri'de üç mezbahayı kapsayan bir çalışmada kist hidatite bağlı ekonomik kaybın 31.372 \$ olduğu tespit edilmiştir (25). Kars ilinde sadece karaciğer imhasına bağlı yıllık ekonomik kaybın 12.180 TL olduğu rapor edilmiştir (6). Bursa'da kist hidatik nedeniyle toplam kayıp 12.321 \$ olarak hesaplanmıştır (26). Tüm Türkiye'yi kapsayan bir çalışmada kist

hidatik nedeniyle oluşan ekonomik kayıp 89,2 milyon \$ olarak rapor edilmiştir (27).

SONUÇ

Muğla ilinde kist hidatik görülme sıklığı %0,21 olarak belirlenmiş olup, Muğla ilinde kist hidatite bağlı ekonomik kayıp 134.451 TL olarak tahmin edilmiştir. Tespit edilen bu oran Türkiye ortalamasından oldukça düşüktür.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışmamız retrospektif olmasından dolayı etik kurul onayı alınmamıştır.

Hasta Onayı: Çalışmamız retrospektif olmasından dolayı hasta onayı alınmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulundaki kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

Konsept: M.A., F.B., H.Z., A.İ.Y., Dizayn: M.A., F.B., H.Z., A.İ.Y., Veri Toplanma veya İşleme: M.A., F.B., H.Z., A.İ.Y., Analiz veya Yorumlama: M.A., F.B., H.Z., A.İ.Y., Literatür Arama: M.A., F.B., H.Z., A.İ.Y., Yazan: M.A., F.B., H.Z., A.İ.Y.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Díaz Á. Immunology of cystic echinococcosis (hydatid disease). Br Med Bull 2017; 124: 121-33.
- Agudelo Higuaita NI, Brunetti E, McCloskey C. Cystic Echinococcosis. J Clin Microbiol 2016; 54: 518-23.
- Aytac A, Yurdakul Y, İkizler C, Olga R, Saylam A. Pulmonary hydatid disease: report of 100 patients. Ann Thorac Surg 1977; 23: 145-51.
- Naseri M, Akbarzadeh A, Spotin A, Akbari NA, Mahami-Oskouei M, Ahmadpour E. Scolicidal and apoptotic activities of albendazole sulfoxide and albendazole sulfoxide-loaded PLGA-PEG as a novel nanopolymeric particle against *Echinococcus granulosus* protoscoleces. Parasitol Res 2016; 115: 4595-603.
- Boğa B. Aydın yöresindeki köpeklerde *Echinococcus granulosus* yaygınlığının polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmesi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. 2012.
- Demir P, Mor N. Kars Belediye mezbahasında kesilen sığırlarda kistik echinococcosis'in yaygınlığı, mevsimsel dağılımı ve ekonomik önemi [Seasonal distribution and economic importance of cystic echinococcosis in cattle slaughtered at Kars Municipal Abattoir, Turkey]. Türkiye Parazitolojisi Dergisi 2011; 35: 185-8.
- Anonim a. HBS (Raporlar). <http://www.tarim.gov.tr>. Erişim tarihi: 01.05.2020.
- Anonim b. <http://www.muglaticaretborsasi.org.tr/tr/index.html>. Erişim tarihi: 01.05.2020.
- Umur S. Prevalence and economic importance of cystic echinococcosis in slaughtered ruminants in Burdur, Turkey. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2003; 50: 247-52.
- Benner C, Carabin H, Sánchez-Serrano LP, Budke CM, Carmena D. Analysis of the economic impact of cystic echinococcosis in Spain. Bull World Health Organ 2010; 88: 49-57.
- Anonim c. <https://www.tigem.gov.tr>. Erişim tarihi: 05.05.2020.
- Acıöz M, Çeliksöz A, Özçelik S, Değerli S, Öztop AY, Malatyalı E. Muş Yöresinde Köpeklerde Pcr Yöntemiyle *Echinococcus granulosus*, Kesim

- Hayvanlarında Kesim Takibiyle ve İnsanlarda Elisa Yöntemiyle Kist Hidatik Sıklığının Araştırılması. MAE Vet Fak Derg 2018; 3: 24-35.
13. Acıöz M, Celiksöz A, Özçelik S, Değerli S. Sivas'ta Nisan-Mayıs 2005 tarihleri arasında Kesilen Sığırlarda Kist Hidatik Yaygınlığı [Prevalence of cyst hydatid in slaughtered cattle between April and May 2005 in Sivas]. Türkiye Parazitol Derg 2008; 32: 205-7.
 14. Anonim d. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>. Erişim tarihi 05.05.2020.
 15. Mohamadin SH, Abdelgadir AE. Study on hydatid cyst infection in Slaughterhouses in Khartoum state, Sudan. Archives of Applied Science Research 2011; 3: 18-23.
 16. Murtaza M, Al-Azizz SA, Abdulhameed FM, Kadhim L. Active survey of hydatid cysts in slaughtered sheep at Basrah abattoirs, Basrah province, Iraq. Journal of Entomology and Zoology Studies 2017; 5: 951-4.
 17. Fasihi Harandi M, Budke CM, Rostami S. The monetary burden of cystic echinococcosis in Iran. PLoS Negl Trop Dis 2012; 6: 1915.
 18. Singh BB, Dhand NK, Ghatak S, Gill JP. Economic losses due to cystic echinococcosis in India: Need for urgent action to control the disease. Prev Vet Med 2014; 113: 1-12.
 19. Budke CM, Deplazes P, Torgerson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. Emerg Infect Dis 2006; 12: 296-303.
 20. Guduro GG, Desta AH. Cyst Viability and Economic Significance of Hydatidosis in Southern Ethiopia. J Parasitol Res 2019; 2019: 2038628.
 21. Houin R. Current situation of echinococcosis in Europe. Symposium on Environmental Adaptation of Echinococcosis. 18-20 August 1998. Hakkaido University, Sapparo, Japan.
 22. Jiménez S, Pérez A, Gil H, Schantz P, Ramalle E, Juste R. Progress in control of cystic echinococcosis in La Rioja, Spain: decline in infection prevalences in human and animal hosts and economic costs and benefits. Acta Trop 2002; 83: 213-21.
 23. Mesay M, Wodajnew B, Jaleta H. Hydatidosis: Prevalence and Assessment of Financial Loss on Bovine Slaughtered at Bedele Municipal Abattoir, Southwest Ethiopia. Rep Opinion 2017; 9: 60-8.
 24. Balkaya İ, Şimşek S. Erzurum'da Kesilen Sığırlarda Hidatidosis ve Fasciolosis'in Yaygınlığı ve Ekonomik Önemi. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010; 16: 793-7.
 25. Düzlü Ö, Yıldırım A, Sarıözkan S, İnci A. Kayseri yöresinde üç farklı mezbahada kesilen koyun ve sığırlarda kistik Echinococcosis'in ekonomik önemi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2010; 7: 7-11.
 26. Yibar A, Selcuk O, Senlik B. Major causes of organ/carcass condemnation and financial loss estimation in animals slaughtered at two abattoirs in Bursa Province, Turkey. Prev Vet Med 2015; 118: 28-3.
 27. Sarıözkan S, Yalçın C. Estimating the production losses due to cystic echinococcosis in ruminants in Turkey. Vet Parasitol 2009; 163: 330-4.

Investigating the Prevalence of Intestinal Parasites in Immunocompromised Patients in Bushehr Province, Southwest Iran: A Conventional and Molecular Study

İran'ın Güneybatısındaki Bushehr Eyaletindeki İmmün Yetmezliği Olan Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Prevalansının Araştırılması: Konvansiyonel ve Moleküler Bir Çalışma

Ali Heydari¹, Gholamreza Hatam¹, Moradali Fouladvand², Seyed Mahmoud Sadjjadi¹, Afshin Barazesh³

¹Shiraz University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Parasitology and Mycology, Shiraz, Iran

²Bushehr University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Parasitology, Bushehr, Iran

³Bushehr University of Medical Sciences, The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr, Iran

Cite this article as: Heydari A, Hatam G, Fouladvand M, Sadjjadi SM, Barazesh A. Investigating the Prevalence of Intestinal Parasites in Immunocompromised Patients in Bushehr Province, Southwest Iran: A Conventional and Molecular Study. *Turkiye Parazitol Derg* 2021;45(2):121-127.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to determine the status of intestinal parasitic infections in immunocompromised patients in Bushehr province, southwest Iran by conventional and molecular methods.

Methods: A total of 201 stool samples were collected from kidney transplant recipients, AIDS patients and patients under chemotherapy. Samples were collected from healthy people as the control group. The specimens were tested using various conventional methods. Polymerase chain reaction (PCR) testing was performed on samples identified as positive for *Coccidia* by direct microscopic examination.

Results: Approximately 32.45% were infected with at least one type of intestinal parasite. The highest (46.8%) and lowest rates of infection (24%) were observed in AIDS and chemotherapy patients, respectively, while the infection rate of the control group was 16%. *Isoospora* spp. and *Cryptosporidium* spp. were observed in all patient groups, and *Sarcocystis* spp. sporocysts were detected in one of the transplant recipients. All identified coccidia were confirmed by PCR. There was a significant relationship between the rate of intestinal parasite infection and certain variables.

Conclusion: Given the potential risk of certain intestinal parasites in people with immune deficiency, it is recommended that diagnosis of parasitic infections in such patients be based on specific parasitological methods. Thus, it is advisable that physicians refer them to a parasitology laboratory prior to drug administration.

Keywords: Intestinal parasites, immunodeficiency, chemotherapy, Bushehr province, Iran

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, İran'ın güneybatısındaki Bushehr eyaletindeki immün yetmezlikli hastalarda bağırsak parazit enfeksiyonlarının durumunu konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle belirlemektir.

Yöntemler: Böbrek nakli alıcılarından, AIDS hastalarından ve kemoterapi alan hastalardan olmak üzere toplam 201 dışkı örneği toplandı. Kontrol grubu numuneleri sağlıklı insanlardan toplandı. Numuneler çeşitli konvansiyonel yöntemler kullanılarak test edildi. Polimeraz zincir reaksiyon (PZR) testi, doğrudan mikroskopik incelemelerde tespit edilen pozitif *Coccidia* örnekleri üzerinde yapıldı.

Bulgular: Hastaların yaklaşık %32,45'i en az bir tür bağırsak paraziti ile enfekte olmuştu. En yüksek (%46,8) ve en düşük enfeksiyon oranı (%24) sırasıyla AIDS ve kemoterapi hastalarında görülürken, kontrol grubunun enfeksiyon oranı %16 idi.



Received/Geliş Tarihi: 03.10.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 01.03.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Moradali Fouladvand, Bushehr University of Medical Sciences Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Parasitology, Bushehr, Iran

Phone/Tel: +98 77 3332 0657 E-mail/E-Posta: mfooladvand39@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-3406-1624

Isospora spp. ve *Cryptosporidium* spp. tüm hasta gruplarında ve *Sarcocystis* spp. sporokistleri ise transplant alıcılarından birinde tespit edildi. Tanımlanan tüm Coccidialar, PZR ile doğrulandı. Bağırsak parazitlerinin oranı ile bazı değişkenler arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu.

Sonuç: İmmün yetmezliği olan kişilerde bazı bağırsak parazitlerinin potansiyel riski göz önüne alındığında, parazitler enfeksiyonların spesifik parazitolojik yöntemlere dayanarak teşhis edilmesi önerilir. Bu nedenle, doktorların ilaç vermeden önce bu hastaları parazitoloji laboratuvarına yönlendirmeleri tavsiye edilir.

Anahtar Kelimeler: Bağırsak parazitleri, immün yetmezlik, kemoterapi, Bushehr eyaleti, İran

INTRODUCTION

Despite quick advancements in the field of medical sciences and enhancement of health level in most of the world, parasitic diseases are still deemed as the foremost health and economic problems in the world, especially in developing countries. According to a report from World Health Organization, about two-thirds of the world population, namely 3.5 billion people are infected with some types of parasites and about 450 million among them suffer from such diseases with related side-effects every year (1). About 16 million cases of total mortalities that occur annually in developing countries are related to parasitic infections (2). In the meantime, infections caused by intestinal parasites have noticeable position and these infections have spread globally (3). In some cases, intestinal parasitic infections can be very severe and risky, and they may be followed with some complications such as intestinal blockage, appendicitis, cholecystitis, myocarditis, genital infections and extra-intestinal abscesses (4).

Although intestinal parasites are less prevalent in developed countries, patients with immune disorders, malignancies and having organ transplantation are on the rise, which give way to the emergence of opportunistic infections. Therefore, infections due to intestinal parasites are also increasing in developed countries (5,6). The intestinal parasitic infections, particularly opportunistic infections in immunodeficient and patients with cancer, under chemotherapy, radiotherapy, hemodialysis or using corticosteroid drugs, or Acquired Immune Deficiency syndrome (AIDS) patients may be expressed with more intensity and strength and compared to persons with competent immunity they can impose more serious complications to the patient (7-9). One can mainly refer to *Coccidia* among human parasitic protozoa and to *Strongyloides stercoralis* as opportunistic parasite among worms that may create mild and self-limiting infections in healthy persons while life-threatening in patients with immunodeficiency (10-13). Thus, it is highly important to diagnose parasitic infections precisely and timely in these individuals (14).

In a study that was carried out to determine sero-prevalence of *Strongyloides stercoralis* in patients as users of immun suppressant drugs in Bushehr city (Iran), among total 214 studied patients, 7 cases were reported positively in terms of IgG antibodies against this parasite (15). Similarly, another survey was done on hemodialysis patients in terms of prevalence of intestinal parasites in the same zone where 28.4% of studied cases were infected with at least one species of intestinal parasites and in this study, researchers have recommended to conduct periodic tests during dialysis and before renal transplant operation as some part of health requirements and related cares in these patients (16). Whereas rate of prevalence of intestinal parasitic infections is especially important in human immunodeficiency virus (HIV) patients, thus it is required for physician to refer the patient to lab in terms of intestinal parasitic infections before administration of

various drugs that can affect efficiency of immune system in these patients (17,18). Using various diagnostic methods, the current study analyzes intestinal parasitic infections in three groups of individuals including patients with malignancy and under chemotherapy, renal transplant recipients and AIDS patients.

METHODS

Ethical Approval and Informed Consent

This study was approved in research committee of Shiraz University with ethics code 94-7496. Informed consent was obtained from the patients and in the case of minors, from their parents and confidentiality of the information was guaranteed.

Study Location

Bushehr province is located at southwestern side of Iran. Provincial population is about one million and geographic situation of this city is placed among 27°, 19" through 30°, 16" of northern latitude and 50°, 1" through 52°, 59" of eastern longitude with annual average temperature 25.7 °C. The climate of this province includes 7 hot months, 2 temperate to cold months and 3 temperate to hot months over a year (Figure 1).

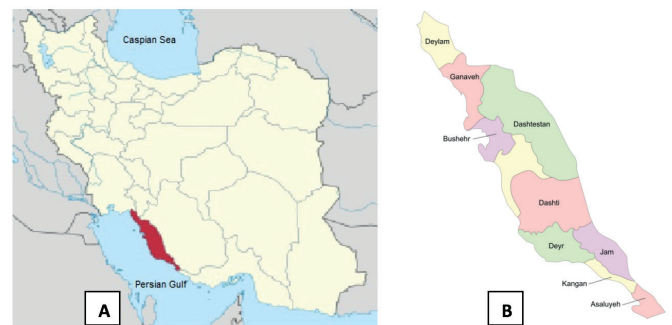


Figure 1. A) Geographical location of Bushehr province (red region). B) Bushehr province map by cities

Collection of Samples

Bushehr and Dashtestan cities are situated at the center of province, Ganaveh locating at north and Kangan at south of the province and they were selected for collection of samples. The study population comprised of 47 AIDS patients, 50 recipients of renal transplantation and 54 patients with cancer who were under chemotherapy. These individuals were sampled within time intervals (2013-2014). Likewise, to compare and interpret the results logically, 50 healthy persons, who were evaluated by direct smear and Formalin- ether concentration techniques to confirm their healthy status, were also elected as control group. To assess relationship between demographic indices and symptoms of intestinal parasitic diseases with parasitic infection in studied patients, a questionnaire was used for the interview with patients.

Microscopic Techniques

All 201 collected samples were initially studied using direct method and preparation of wet mount and then by means of Formalin- ether concentration technique. To enhance reliability for precise diagnosis of helminth eggs, Carmine-Alum stain technique was employed and Baermann technique was utilized to diagnose *Strongyloides stercoralis* larva. To diagnose the cysts and trophozoites of protozoans more accurately, trichrome staining technique was used after wet mount and the modified acid-fast stain technique, which was employed to detect intestinal Coccidia.

Polymerase Chain Reaction (PCR) Tests

With respect to importance of coccidian infections in HIV patients, all samples, who had been recognized as positive at the first screening phase by means of wet mount and concentration method in terms of intestinal Coccidia, these coccidian positive samples were confirmed by PCR technique, in order to ensure the correctness of the result of the microscopic examination.

DNA samples were extracted using a commercial kit (Yekta Tadjhiz Azma, Iran) according to its manufacturer’s protocol, and PCR test was done by means of specific primers Isof and Isor for replication of ribosomal genome of *Isospora* spp. and two pairs of primers cryf1, Cryf2 and Sarf and Sarr for replication of mitochondria genome (18S rRNA, SSU rRNA) of *Cryptosporidium* spp. and *Sarcocystis* spp. respectively.

The specifications of primers as well as used temperature patterns in PCR test are given in Tables 1, 2.

PCR products were treated with electrophoresis on agarose gel (1.5%) using TAE buffer and ethidium bromide stain and images of the resulting bands were observed and recorded using Gel document Bio-DocmM29 device.

Statistical Analysis

The results of laboratory tests were statistically analyzed along with questionnaire data by means of statistical SPSS software (IL version 16, SPSS Inc., Chicago) and chi-square test was employed for analysis on relationship between intestinal parasitic infections and clinical symptoms of these infections and some demographic parameters.

RESULTS

Among total given samples from patients, 49 (32.5%) were infected with at least one species of intestinal parasites. Infections were most and least common in AIDS patients (46.8%) and in patients under chemotherapy (24%), respectively. Of the total population studied, 11 were infected with at least one intestinal Coccidia. The prevalence of infection rate was 16% in control population (50 members) although there was no significant difference among

control group with groups of patients; the infection prevalence was noticeably lower in control group ($p>0.05$). Meanwhile, no positive cases of intestinal Coccidia were seen in control group (Table 3).

The frequency of infection with intestinal parasites in all three studied groups of patients included *Girardia intestinalis*, *Entamoeba coli* and *Blastocystis* spp. were 29.8%, 29.8% and 19.95%, respectively and opportunist Coccidia including *Cryptosporidium* spp., *Isospora* spp. and *Sarcocystis* spp. were placed at subsequent positions with frequencies of 16.3%, 5.9% and 2%, respectively (Figures 2, 3).

PCR test was used in order to confirm finally 11 diagnosed coccidian cases by conventional techniques and specific primers (Figure 4).

The results showed that there was significant relationship among symptoms abdominal flatulence, osteoarthritis and abdominal pains and infection, but no significant relationship was visible among variables age, gender and anorexia with infection (Table 4).

DISCUSSION

Most of intestinal parasitic infections are asymptomatic or appear in mild and self- limiting form in people with healthy and efficient immune system. However, patients with immunodeficiency e.g. patients with cancer who receive chemotherapy, transplanted

Table 2. The temperature and time patterns used in PCR assays to confirm positive coccidia samples

Genus	Program			
	Processes	Cycles	Temp	Time
<i>Sarcocystis</i>	Denaturation	1	94 °C	5 min
	Annealing	30	94 °c	60 sec
			58 °C	60 sec
			62 °C	60 sec
Extension	1	72 °C	5 min	
<i>Cryptosporidium</i>	Denaturation	1	94 °C	5 min
	Annealing	30	94 °C	90 sec
			58 °C	90 sec
			62 °C	120 sec
Extension	1	72 °C	5 min	
<i>Isospora</i>	Denaturation	1	94 °C	3 min
	Annealing	45	94 °C	90 sec
			60 °C	60 sec
			62 °C	60 sec
Extention	1	72 °C	5 min	

Table 1. The specific primers used to confirm Coccidia samples detected by conventional methods

Genus	Genome	Primers	Sequence
<i>Isospora</i>	Ribosomal	Isof	5'-CCGAACGTCATCCGAAATAG-3'
		Isor	5'-ACTAGGAGCTGACGATACAC-3'
<i>Cryptosporidium</i>	SSU rRNA	Cryf1	5'-TTCTAGAGCTAATACATGCG-3'
		Cryf2	5'-CCATTTCTCCGAAACAGGA-3'
<i>Sarcocystis</i>	18S rRNA	Sarf	5'-CGTGGTAATTCTATGGCTAATACA-3'
		Sarr	5'-TTTATGGTTAAGACTACGACGGTA-3'

Table 3. Detected intestinal parasites in patients undergoing chemotherapy, AIDS patients, transplant recipients and control group

Detected parasites	Healthy people		Patients undergoing chemotherapy		AIDS patients		Transplant recipients	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Blastocystis</i> spp.	1	2	3	5.55	3	6.4	3	6
<i>Cryptosporidium</i> spp.	-	-	2	3.7	5	10.6	1	2
<i>Entamoeba coli</i>	2	4	3	5.55	6	12.8	4	8
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	-	-	-	-	2	4.3	-	-
<i>Giardia lamblia</i>	4	8	4	7.4	3	6.4	4	8
<i>Hymenolepis nana</i>	-	-	-	-	1	2.1	-	-
<i>Isoospora</i> spp.	-	-	1	1.8	1	2.1	1	2
<i>Sarcocystis</i> spp.	-	-	-	-	-	-	1	2
<i>Strongyloides stercoralis</i>	-	-	-	-	1	2.1	-	-
<i>Taenia</i> spp.	1	2	-	-	-	-	-	-
Total	8	16	13	24	22	46.8	14	28

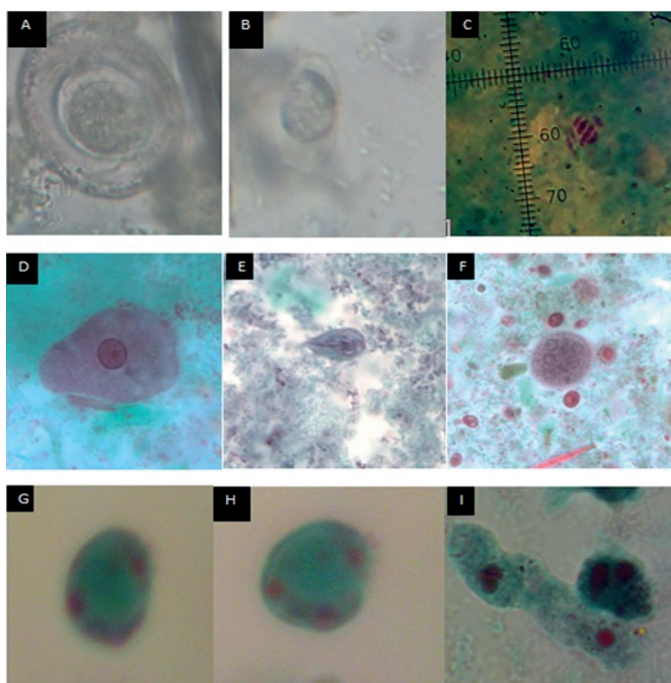


Figure 2. Some parasites identified in the groups studied by conventional methods in different magnifications; A: *H. nana* egg (40X), B: *Isoospora* oocyst (100X), C: *Sarcocystis* sporocyst (100X), D: *E. coli* trophozoite (100X), E: *G. intestinalis* trophozoite (100X), F: *E. coli* cyst (100X), G&H: *Blastocystis* (100X), I: *E. histolytica* (100X)

organ recipients who receive immunosuppressant drugs and also patients with AIDS are more impaired by them and more complications are imposed to these individuals (7-9). The prevalence of intestinal parasitic infections is usually high in this group of patients and common clinical symptoms are revealed often non-specific and this makes problematic to diagnose infection in these patients. Thus, it seems necessary to detect intestinal parasitic infections with reliance on specific parasitological techniques in this group of patients (17,18).

The prevalence of intestinal parasites was 32.5% in all three studied groups in this survey. This rate was highest among

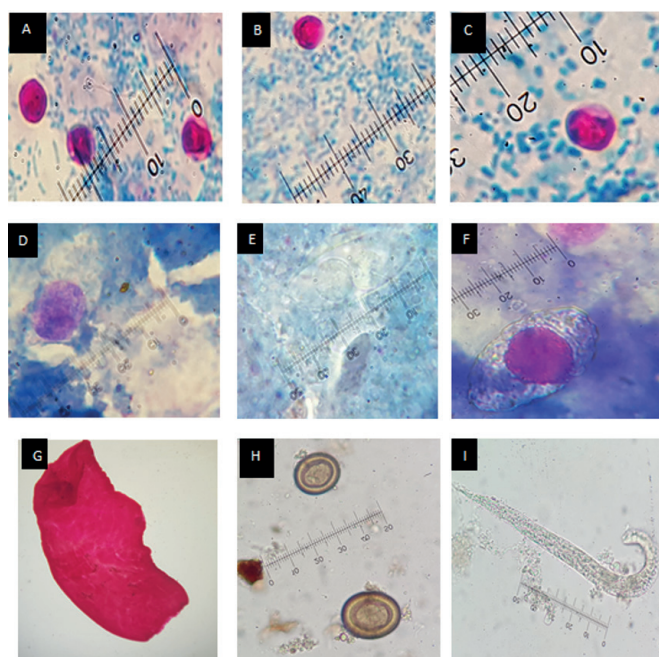


Figure 3. Some parasites identified in the groups studied by conventional methods in different magnifications; A-C: *Cryptosporidium* oocysts (100X), D-F: *Isoospora* oocysts (100X), G: *Taenia* spp. proglotid (10X), H: *Taenia* spp. egg (40X), I: *S. stercoralis* larvae (40X)

AIDS patients (46.8%), followed by organ transplantation patients (28%) and 24% in group of cancer patients under chemotherapy. Comparison of prevalence rates in three groups of immunodeficiency patients with control group in which the prevalence rate of parasitic infections was 16% showed that there was noticeable (but statistically not significant) difference among healthy persons and immunodeficiency patients in terms of intestinal parasitic infection and what seems noticeable about presence of intestinal parasitic infection in this group of patients is opportunist nature of some of these parasites and also higher intensity of disease and related complications in these patients. In their survey on dialysis patients, Barazesh et al. (15) have reported a 28.4% of individuals who were infected at least with

one species of intestinal parasitic infection and they suggested that dialysis patients testing routinely in terms of presence of intestinal parasitic infections (16). The results of these studies are consistent with the findings resulted from present research. Togh et al. (16), in their study were examine 261 cancerous patients and under chemotherapy in terms of infection with intestinal parasites and 34% of them were infected with at least an intestinal parasite and therefore these researchers have declared specific stool exam before starting chemotherapy and during treatment period as basic measures to reduce risk of such parasitic infections (17). In a study done by Athari et al. (18) in Tehran to review prevalence of intestinal parasites in patients as users of immunosuppressive drugs, prevalence of infection was estimated 34.5% (19).

In a sero-epidemiological study conducted by Fouladvand et al. (14) on cancer patients under chemotherapy and hemodialysis patients in Bushehr city, out of total 214 studied patients, 7 cases (3.3%) were diagnosed with positive results for presence of antibody against *Strongyloides stercoralis* (15). Among 151 sampled patients with immunodeficiency in our study, one case of

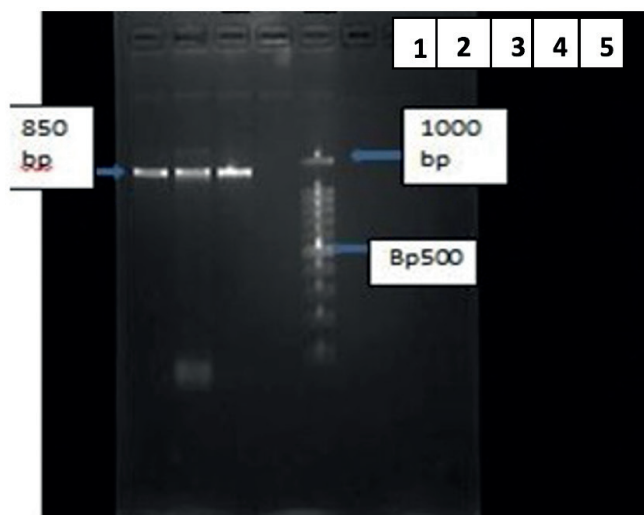


Figure 4. Electrophoresis of PCR products on agarose gel 1.5%. 1: *Cryptosporidium* positive control, 2, 3: *Cryptosporidium* positive samples, 4: Negative control, 5: DNA marker

Table 4. The relationship between parasitic infection and some clinical and demographic variables in studied groups

Variables	Study groups				P
	Healthy people n (%)	Patients undergoing chemotherapy n (%)	AIDS patients n (%)	Transplant recipients	
Parasitic infection					
Yes	8 (16)	13 (24)	22 (46.8)	11 (22)	-
No	42 (84)	37 (76)	25 (53.2)	39 (78)	
Sex					0.6
Male	27 (46)	29 (53)	37 (78.7)	31 (62)	
Female	23 (54)	25 (47)	10 (21.3)	19 (38)	
Age					0.6
<10 y	10 (20)	7 (14)	3 (6.4)	3 (6)	
10-20 y	8 (16)	14 (28)	6 (12.8)	13 (26)	
20-30 y	20 (40)	18 (36)	22 (46.8)	21 (42)	
>40 y	12 (24)	11 (22)	16 (34)	13 (26)	
Flatulence					0.03
Yes	2 (4)	2 (4)	8 (17)	5 (10)	
No	48 (96)	48 (96)	39 (83)	45 (90)	
Steatorrhea					0.03
Yes	2 (4)	4 (8)	8 (17)	4 (8)	
No	48 (96)	46 (92)	39 (83)	46 (92)	
Abdominal pain					0.02
Yes	7 (14)	8 (16)	14 (29.8)	17 (34)	
No	43 (86)	42 (84)	33 (70.2)	33 (66)	
Fever					0.2
Yes	10 (20)	9 (18)	13 (27.7)	10 (20)	
No	40 (80)	41 (82)	34 (72.3)	40 (80)	
Anal itch					0.003
Yes	5 (10)	3 (6)	7 (14.9)	5 (10)	
No	45 (90)	47 (94)	40 (85.1)	45 (90)	
Education					0.19
Yes	35 (70)	42 (84)	27 (57.4)	33 (66)	
No	15 (30)	8 (16)	20 (42.6)	17 (34)	
Anorexia					0.3
Yes	5 (10)	7 (14)	20 (42.6)	7 (14)	
No	45 (90)	43 (86)	27 (75.4)	43 (86)	

Strongyloides stercoralis larvae was observed in patient with HIV. This indicates 0.6% prevalence of *Strongyloides stercoralis* while serological study that conducted one year ago at this region has shown 3.3% prevalence.

As we know, presence of IgG antibody against *Strongyloides stercoralis* usually shows infection history and these individuals may not defecate larvae at time of stool exam, because it is unlikely that some patients infected with *Strongyloides stercoralis* may be at silent phase of diseases upon sampling and excreted larvae may be rare in their stool, therefore they may be reported as negative result in parasitological tests.

Taking corticosteroids in patients, who receive transplanted organ, may converts the chronic form of *Strongyloides stercoralis* infection into acute syndrome (hyperinfection) (20). Thus, presence of chronic *Strongyloides stercoralis* in these patients is deemed as a threatening risk factor, because after administration of corticosteroids the disease can appear as hyperinfection form and parasitic larvae disseminated in different tissues of body e.g. liver, lungs, kidneys, central nervous system and heart and it will be followed with mortality of patients (87%) if not treated timely (12,13). There are several reports about prevalence of intensified *Strongyloides stercoralis* syndrome in patients with malignancies after treatment with corticosteroid drugs. George Vasquez Rios, reported the asthmatic patient, that exhibited clinical symptoms of pneumonia and chest pain following the administration of corticosteroid and *Strongyloides stercoralis* larvae has been seen in stool and broncho-alveolar samples, this patient has been cured by administration of Ivermectin (21). Although prevalence of *Strongyloides stercoralis* hyperinfection and disseminated infection has been reported in various patients as recipients of transplanted organ but morbidity and prevalence of this forms of disease is apparently more visible in renal transplant recipients (2).

Cryptosporidium spp, *Isospora* spp. and *Sarcocystis* spp. were observed in all three groups of studied patients while no case of Coccidia was seen in control group. *Cryptosporidium* spp. is assumed as noticeable warning for the patients with prevalence rates of 7.3%, 10.6% and 2% in cancer patients, AIDS patients and recipients of transplanted organ, respectively and given that long-term diarrheas with dehydration plus pleural involvement of these patients have been reported; therefore, timely diagnosis and treatment should be addressed in these patients. In a study carried out on 350 immunocompromised patients (Iran, Tehran) prevalence rate of *Cryptosporidium* spp, and *Isospora* spp. were 0.3% and 0.8% respectively and these two protozoa were the most prevalent intestinal parasites, where these rates are lower than prevalence rate of infection reported in this study (22). Total prevalence of given Coccidia is 16.3% in our study. With respect to possibility of misdiagnosis of coccidian by microscopic examination, especially the *Cryptosporidium* spp., confirmation of *Cryptosporidium* positive samples by molecular methods is necessary as was the case in our study.

Another noticeable point in this study are climatic indicators, Bushehr province is a hot and tropical region and from October to March that are basically assumed as spring season, climatic and geographical factors are more provided for transmission of intestinal parasites. At this season when agricultural and animal-farming activities are done there is more possibility for transferring and dissemination of anthroponotic and zoonotic parasitic infections and among them coccidians, especially the

Cryptosporidium spp. in cows and goats of this region shows higher prevalence and morbidity. In a sero-epidemiological study, Fouladvand et al. (22) estimated the prevalence rate of antibodies against *Cryptosporidium* spp. 13% in children under age 5. This shows prevalence of this Coccidia is higher in normal population of this region, particularly children, and *Cryptosporidium* spp. is a causing factor in most of long-term diarrheas among children in this season.

Statistical analysis on relationship among infection with intestinal parasites with some variables such as educational level, age and gender and also anorexia did not show significant relationship while significant relationship was observed among infection with these parasites and some variables e.g. abdominal pain, flatulence and osteoarthritis ($p > 0.03$). Thus, it is necessary for HIV patients to be under medical care for the onset of some symptom e.g. abdominal pains, flatulence and osteoarthritis and we should consider them as warning symptoms for activation of intestinal parasitic infections in these patients.

CONCLUSION

With respect to potential risk of this group of infections, especially infection with *Strongyloides stercoralis* larva and types of opportunist intestinal Coccidia in people with immunodeficiency such as patients under chemotherapy, recipients of transplanted organ and patients with HIV, it is suggested to identify parasitic infections in this group of patients by focusing on specific parasitological methods and before taking any type of medication and intervention measure that can affect efficiency of immune system, physician should refer these patients to lab for diagnosis of intestinal parasites and the needed trainings should be presented to increase their knowledge and to warn about risk of these infections.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Vice-Chancellor for Research of Shiraz University of Medical Sciences for their financial support.

* Ethics

Ethics Committee Approval: This study was approved in research committee of Shiraz University of Medical Sciences with Ethics Code IR.SUMS.REC.1394.S128.

Informed Consent: Informed consent was obtained from the patients and in the case of minors, from their parents and confidentiality of the information was guaranteed.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

** Authorship Contributions

Concept: A.H., G.H., M.F., S.M.S., Design: G.H., M.F., Data Collection or Processing: A.H., Analysis or Interpretation: A.H., G.H., M.F., S.M.S., A.B., Literature Search: A.H., G.H., M.F., Writing: A.H., G.H., M.F., S.M.S., A.B.

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

Financial Disclosure: This study was financially supported by the Vice-chancellor of Research of Shiraz University of Medical Sciences with grant no. 94.7496.

REFERENCES

1. Heravi MM, Rasti S, Vakili Z, Moraveji A, Hosseini F. Prevalence of intestinal parasites infections among Afghan children of primary and junior high schools residing Kashan city, Iran, 2009-2010. *Iran J Med Microbiol* 2013; 7: 46-52.
2. Davami MH, Rouhi R, Sadeghi AR. The Prevalence of intestinal parasitic infections among 7-15 year old children in Jahrom, Iran during 2006-7. *J Jahrom Univ Med Sci* 2008; 6: 49-55.
3. Barazesh A, Fouladvand M, Tahmasebi R, Heydari A, Kushesh F. Prevalence of intestinal parasites infection in primary school children of Bushehr, Iran. *Avicenna J Clin Microb Infec* 2017; 4: e34335.
4. Athari A, Sadafi H, Tokeh Gh R. Intestinal parasites in immunocompromised patients in Tehran in 1998. *J Zanzan Univ Med Sci* 2000; 30: 61-8.
5. Emami Naiini A, Shokrian A, Shahrzad Sh, Aazami M, Hejazi SH, Tazhibi M. The prevalence of intestinal parasitic and fungal agents in hemodialysis patients in Isfahan. *J Isfahan Med Sch* 2011; 121: 1655-67.
6. Daryani A, Sarvi S, Aarabi M, Mizani A, Ahmadpour E, Shokri A, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Iranian general population: a systematic review and meta-analysis. *Acta Trop* 2014; 137: 185-94.
7. Sarkari B, Shafiei R, Zare M, Sohrabpour S, Kasraian L. Seroprevalence and molecular diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection among blood donors in southern Iran. *J Infect Dev Ctries* 2014; 8: 543-7.
8. Ahmadpour E, Daryani A, Sharif M, Sarvi S, Aarabi M, Mizani A, et al. Toxoplasmosis in immunocompromised patients in Iran: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dev Ctries* 2014; 8: 1503-10.
9. Schär F, Trostorf U, Giardina F, Khieu V, Muth S, Marti H, et al. *Strongyloides stercoralis*: Global Distribution and Risk Factors. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: 2288.
10. Siddiqui AA, Berk SL. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1040-7.
11. Rouhani S, Mahmoudi M, Kazemi B, Khazan H. Identification of filariform larva (L3) proteins of *Strongyloides stercoralis* by western blot. *Research in Medicine* 2007; 31: 311-5.
12. Agrawal V, Agarwal T, Ghoshal UC. Intestinal strongyloidiasis: a diagnosis frequently missed in the tropics. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2009; 103: 242-6.
13. Vaiyavatjamai P, Boitano JJ, Techasintana P, Tungtrongchitr A. Immunocompromised group differences in the presentation of intestinal strongyloidiasis. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61: 5-8.
14. Fouladvand M, Barazesh A, Tahmasebi R. Seroepidemiological study of strongyloidiasis in patients taking immunosuppressive drugs in Bushehr, Iran, 2012. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2017; 27: 187-91.
15. Barazesh A, Fouladvand M, Tahmasebi R, Heydari A, Fallahi J. The prevalence of intestinal parasites in hemodialysis patients in Bushehr, Iran. *Hemodial Int* 2015; 19: 447-51.
16. Togeh GR, Keyhani M, Atharei A, Sadafei H. Prevalence of intestinal parasites in cancer patients undergoing chemotherapy. *Tehran Uni Med J* 2000; 58: 52-8.
17. Brayman KL, Stephanian E, Matas AJ, Schmidt W, Payne WD, Sutherland DE, et al. Analysis of infectious complications occurring after solid-organ transplantation. *Arch Surg* 1992; 127: 38-47.
18. Athari A, Sadafi H, Tokeh Gh R. Intestinal parasites in immunocompromised patients in Tehran in 1998. *J Zanzan Uni Med Sci* 2000; 30: 61-8. (4 ile 18 AYNI)
19. Keiser PB, Nutman TB. *Strongyloides stercoralis* in the Immunocompromised Population. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17: 208-17.
20. Vasquez-Rios G, Pineda-Reyes R, Ruiz EF, Terashima A, Mejia F. *Strongyloides stercoralis* infection after the use of emergency corticosteroids: a case report on hyperinfection syndrome. *J Med Case Rep* 2019; 13: 121.
21. Salehi Sangani G, Mirjalali H, Farnia S, Rezaeian M. Prevalence of Intestinal Coccidial Infections among Different Groups of Immunocompromised Patients. *Iran J Parasitol* 2016; 11: 332-8.
22. Fouladvand M, Barazesh A, Naeimi B, Najafi A. Frequency of *Cryptosporidium* infection and related factors under five year's old children hospitalized with gastroenteritis. *African J Microbiol Res* 2012; 6: 4102-6.

Kuzey Kıbrıs'ta Bir Üniversite Hastanesinde İntestinal Parazitlerin Epidemiyolojisi: Dört Yıllık Retrospektif Deneyim

Epidemiology of Intestinal Parasites in a University Hospital in Northern Cyprus: A 4-year Retrospective Experience

Emrah Güler¹, Kaya Süer²

¹Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

²Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Cite this article as: Güler E, Süer K. Epidemiology of Intestinal Parasites in a University Hospital in Northern Cyprus: A 4-year Retrospective Experience. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):128-132.

ÖZ

Amaç: İntestinal parazitik enfeksiyonlar (İPE) morbidite ve mortaliteye neden olmaları nedeniyle önemli halk sağlığı sorunları olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple, İPE'nin önlenmesi adına prevalans tespiti yapılması kritiktir. Çalışmamızda, intestinal parazitlerin prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmamızda, Ocak 2016-Aralık 2019 tarihleri arasında hastanemize gastrointestinal şikayetlerle başvuran 4,957 kişinin gaita numuneleri retrospektif olarak değerlendirildi. Laboratuvarımıza gönderilen gaita örnekleri makroskopik ve mikroskopik açıdan incelendi. Mikroskopide, native-lugol ve formol etil asetat yoğunlaştırma yöntemleri kullanıldı. Antijen taraması için Crypto-Giardia-Entamoeba üçlü antijen testi uygulandı. Tüm olgular, yaş, cinsiyet, yıl ve mevsimler açısından değerlendirildi.

Bulgular: Çalışma grubumuzun, 239'u (%4,8) intestinal parazitler açısından pozitif bulundu. Bu hastaların 129'u (%54) erkek ve 110'u (%46) kadındı. İPE ile cinsiyetler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ($p=0,228$). En sık saptanan parazitlerin *Blastocystis hominis* (%76,2) ve *Giardia intestinalis* (%12,1) olduğu görüldü. Yaş gruplarına göre en çok 16-45, en az ise 0-15 yaş arasında intestinal parazitlere rastlandı ($p=0,0001$). Hastanemizde, özellikle 2018 yılından sonra intestinal parazitlerde anlamlı derecede artış olduğu gözlemlendi ($p=0,0001$). İntestinal parazitlerin en sık sonbahar mevsiminde görüldüğü tespit edildi ($p=0,033$).

Sonuç: Ülkemizdeki İPE prevalansının düşük oranlarda seyrettiği görülmektedir. Yine de 2018 yılı itibarıyla artan İPE'nin önüne geçmek adına gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir. Ayrıca ülkemizde yağışların başladığı sonbahar aylarında intestinal parazitlerin artış göstermesinin nedenlerinin araştırılması ve gerekli önlemlerin alınması gerektiği kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Kuzey Kıbrıs, intestinal, parazit, prevalans, epidemiyoloji

ABSTRACT

Objective: Intestinal parasitic infections (IPI) are considered as one of the most important public health problems that cause morbidity and mortality. For this reason, to determine their prevalence it is critical for prevention. This study aimed to determine the prevalence of intestinal parasites.

Methods: In our study, a total of 4,957 patients registered to our hospital with gastrointestinal symptoms between January 2016 and December 2019 were retrospectively analysed. Their stool samples were examined macroscopically and microscopically. In the microscopy, native-lugol and formol ethyl acetate concentration methods were used. Crypto-Giardia-Entamoeba antigen test was applied. All cases were evaluated in terms of age, gender, year and season.

Results: In our study group, 239 (4.8%) patients were detected as positive for intestinal parasites. Among these patients, 129 (54%) were male and 110 (46%) were female. No statistically significant difference was found between IPI and gender ($p=0.228$). *Blastocystis hominis* (76.2%) and *Giardia intestinalis* (12.1%) were the most common parasites. According to age groups, most intestinal parasites are found in 16-45 years old and least in 0-15-years-old ($p=0.0001$). A significant increase was found in positive intestinal parasite cases especially after 2018 ($p=0.0001$). Our study determined that intestinal parasites were observed most frequently in autumn ($p=0.033$).

Conclusion: The prevalence of IPI in our country is low. However, due to the increasing trend of IPI since 2018, necessary measures must be implemented to prevent further increase in the number of cases. In addition, reasons behind the rising cases of intestinal parasites during the autumn months in which rainfall begins require further investigation.

Keywords: Northern Cyprus, intestinal, parasite, prevalence, epidemiology



Geliş Tarihi/Received: 28.12.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 09.01.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Emrah Güler, Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Tel/Phone: +90 533 860 49 88 28 **E-Posta/E-mail:** emrah.guler@neu.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-1635-0051 30

GİRİŞ

İntestinal parazitlere sıklıkla sosyo-ekonomik olarak az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde rastlanmaktadır (1). Bazen semptomsuz veya atipik semptomlarla seyreden intestinal parazitik enfeksiyonlar (İPE), özellikle çocukların zihinsel ve bedensel gelişimlerini olumsuz yönde etkilemektedir. İntestinal parazitlerin yayılımında çevre koşulları, iklim ve hava sıcaklıkları, rezervuar ve ara konakların sıklığı, toprak ve suların kontaminasyonu, kişisel hijyen yetersizliği, ekonomik durum, eğitim seviyesi, temizlik ve beslenme alışkanlıkları gibi birçok faktör etkili olmaktadır (2,3). Dünya'da 3,5 milyar insanın İPE'ye yakalandığı ve bunların büyük bir kısmını da çocuk hastaların oluşturduğu bildirilmektedir. Günümüzde, tüm dünyada yaşanan gelişmelere rağmen İPE'de bir azalma görülmemekte, hatta bazı endemik bölgelerde bu oranın %90'lara kadar çıktığı rapor edilmektedir (4).

Enterik protozoonlar ve toprak yoluyla bulaşan helmintler İPE'ye öncülük etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, en sık (50 milyon) morbidite ve mortaliteye neden olan protozoa, amebiyaz etkeni *Entamoeba histolytica*'dır (*E. histolytica*). Ardından giardiyaz etkeni *Giardia intestinalis* (*G. intestinalis*) ve kriptosporidiyoz etkeni *Cryptosporidium* spp. gelmektedir. Helmintlerden ise yaklaşık 1 milyar enfeksiyon ile *Ascaris lumbricoides* (*A. lumbricoides*) ve *Hymenolepis nana* (*H. nana*) başı çekmektedir (3). Türkiye'deki intestinal parazitlerin dağılımı bölgelere göre değişkenlik göstermektedir. Özellikle sosyo-ekonomik düzeyi düşük olan Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde diğer bölgelere oranla İPE'nin görülme sıklığı daha yüksektir. Eğitim düzeyinin düşük olması, halkın parazitik enfeksiyonlar konusunda yeterli bilgiye sahip olmaması, hijyen kurallarına yeteri kadar uyulmaması, içme suyunun genellikle açık su kanallarından temin edilmesi, su ve kanalizasyon altyapısının yetersiz olması ve bazı su bitkilerinin çiğ olarak tüketilmesi bu yaygınlığın en önemli sebeplerindendir (1,5).

İntestinal parazitler genellikle fekal-oral yolla bulaşmakta ve karın ağrısı, ishal, kabızlık, bulantı, kusma, kilo kaybı, anüs etrafında kaşıntı ve anemi gibi rahatsızlıklara neden olmasının yanında iş gücü kaybına da yol açmaktadır (6). İPE, morbidite ve mortalite oranları sebebiyle göz ardı edilmeyecek halk sağlığı sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir (4). Bu sebeple, İPE'nin önlenmesi adına prevalanslarının tespit edilip, korunma ve tedavi yöntemlerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda, Kuzey Kıbrıs'ta bir üniversite hastanesine gastrointestinal şikayetlerle başvuran hastalar incelenmiş ve intestinal parazitlerin görülme sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Literatürde, Kuzey Kıbrıs'ta İPE ile ilgili yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır.

YÖNTEMLER

Çalışmamızda, Ocak 2016-Aralık 2019 yıllarını kapsayan 4 yıllık süre zarfında hastanemize herhangi bir gastrointestinal şikayet ile başvuran 4,957 kişinin gaita numuneleri retrospektif olarak değerlendirildi. Araştırmamız retrospektif özellikle olduğundan dolayı hasta onay bilgisi alınmadı.

Gaita örnekleri hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında parazitler açısından öncelikle makroskobik olarak incelenip, renk, kıvam, mukus, kan varlığı rapor edildi ve mikroskobik incelemeleri yapıldı. Mikroskobisi yapılan gaita örnekleri, nativ-

lugol ve ardından formol etil asetat yoğunlaştırma yöntemi sonrası 10x ve 40x objektifler ile ışık mikroskopunda incelendi. Antijen taraması yapılan örnekler, ticari olarak tedarik edilen Crypto-Giardia-Entamoeba (Monlab S.L., Barselona, İspanya) üçlü antijen kiti üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı.

İstatistiksel Analiz

Tüm olgular, yaş, cinsiyet, yıl ve mevsimler açısından değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS (Statistical Package of the Social Sciences) Demo Ver 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanıldı ve Pearson ki-kare testinden yararlanıldı. Analiz sonuçları $p < 0,05$ varlığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Etik kurul onayı: Yakın Doğu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından düzenlenen 23.01.2020 tarihli toplantısından YDU/2020/76-994 proje numarası ile etik kurul onayı alındı.

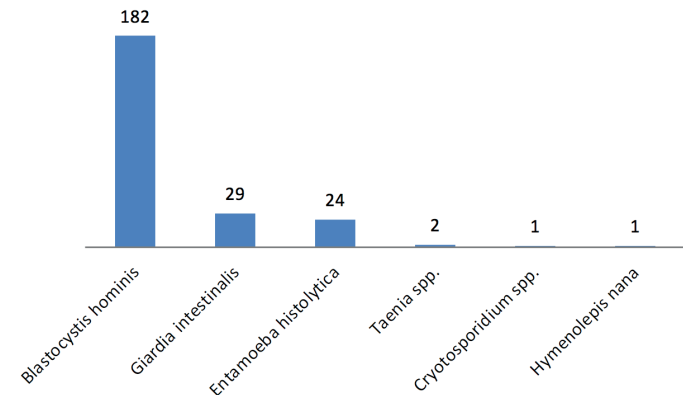
BULGULAR

İntestinal parazitler açısından değerlendirilen toplam 4,957 kişi (erkek: 2,487, %50,2; kadın: 2,470, %49,8) çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların yaş ortalamaları $26,36 \pm 22,79$ (0-96 yaş arasında) idi. Gaita örneklerinin 4,518'ine (%91,1) mikroskopi ve 439'una (%8,9) ise üçlü antijen testi yapılmıştır.

Tüm hastalarımıza ait gaita örneklerinin 4,718'inde (%95,2) herhangi bir parazit ve/veya parazit yumurtasına rastlanmazken, 239 (%4,8) hasta örneği intestinal parazitler açısından pozitif bulunmuştur. Parazit saptanan hastaların 129'u (%54) erkek ve 110'u (%46) kadındı. Yaş ortalamaları ise $33,86 \pm 18,34$ (2-85 yaş arasında) idi. İntestinal parazitik enfeksiyonlar ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0,228$). En sık tespit edilen parazit *Blastocystis hominis* (*B. hominis*) ($n=182$, %76,2) iken, ardından *G. intestinalis* ($n=29$, %12,1) ve *Entamoeba histolytica/dispar* ($n=24$, %10) gelmekteydi. Hiçbir hastada *A. lumbricoides* paraziti ve miks enfeksiyon saptanmamıştır (Grafik 1).

Yaş gruplarına göre, en sık 16-45 yaş arasında ($n=152$, %63,6) intestinal parazitik enfeksiyonlara rastlandığı görülmüştür. Ayrıca, 0-15 yaş arasındaki hastalarda intestinal parazitlerin görülme sıklığı diğer yaş gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0,0001$) (Tablo 1).

Yıllara göre intestinal parazitlerin dağılımına bakıldığında zaman,



Grafik 1. Hastalardan tespit edilen intestinal parazitlerin dağılımı (n)

Tablo 1. Yaş gruplarına göre intestinal parazitlerin görülme sıklığı

	0-15 yaş	16-45 yaş	>45 yaş	Toplam	p
Parazit var	25 (%10,5)	152 (%63,6)	62 (%25,9)	239 (%100)	0,0001
Parazit yok	1,716 (%36,4)	2,108 (%44,7)	894 (%18,9)	4,718 (%100)	

2017 yılından sonra parazit görülme sıklığının arttığı tespit edilmiştir (p=0,0001). Buna göre, 2016 yılında 45/1,214 (%3,7), 2017 yılında 40/1,235 (%3,2), 2018 yılında 78/1,199 (%6,5) ve 2019 yılında ise 76/1,309 (%5,8) hastanın gaita örneğinde parazit ve/veya parazit yumurtasına rastlanmıştır. Yıllara göre dağılım Grafik 2'de verilmektedir.

Çalışmamızda, intestinal parazitlerin en sık sonbahar mevsiminde görüldüğü tespit edilmiştir (p=0,033). Buna göre, Eylül ayında 15 (%6,3), Ekim'de 38 (%15,9) ve Kasım ayında ise 26 (%10,9) hastaya ait gaita örneğinde parazitik enfeksiyona rastlanmıştır (Tablo 2).

TARTIŞMA

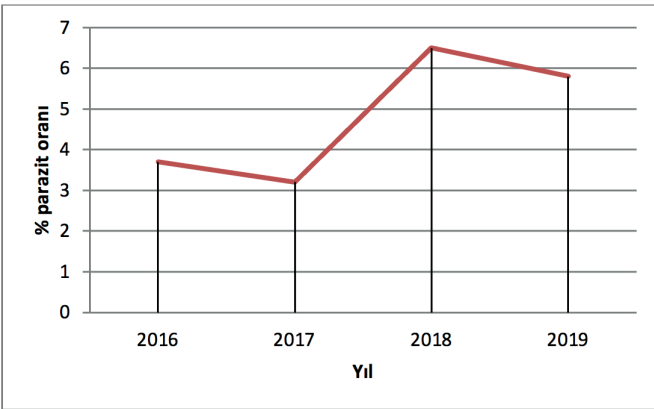
Tüm enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi, intestinal parazitik enfeksiyonlardan korunma ve tedavi stratejilerini belirlemek için bölgesel epidemiyolojik verilerin bilinmesi gerekmektedir (7). İntestinal parazitlerin görülme sıklığı toplumların sosyo-ekonomik ve kültürel düzeyi, beslenme alışkanlıkları, demografik özellikler ve coğrafik şartlara göre değişkenlik göstermektedir (8). İPE'ler gelişmekte olan ülkelerde özellikle çocukluk çağında izlenen en önemli sağlık sorunlarından birini oluşturmaktadır (3).

Çalışmamızda, tüm hastalardaki intestinal parazitlerin görülme sıklığı %4,8 iken, 0-15 yaş çocuklarda bu oran %1,4 olarak bulunmuştur. Parazit saptanan örnekler arasında 0-15 yaş grubunda %10,5 oranında pozitiflik tespit edilirken, en sık 16-45 yaş grubunda parazit gözlenmiştir. Bayındır Bilman ve Yetik'in (9) 24,651 gaita örneğini incelediği çalışmalarında %4,9 oranında intestinal parazit insidansı belirlenmiştir. Aynı çalışmada

parazit saptanan hastaların %51'ini 0-15 yaş arası çocuklar oluşturmaktaydı (9). Mardin'deki bir çalışmada %84,1 ile en sık 0-13 yaş arası çocuklarda intestinal parazitik enfeksiyonların görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada 1,620 hastaya ait gaita incelenmiş ve %27,6 hastada intestinal parazit tespit edilmiştir (10). Kiani ve ark.'nın (11) İran'da yaptıkları çalışmalarında parazit görülme sıklığı %32,2 bulunmuştur. Bu çalışmada pozitif hastalar arasında %28,6 ile en sık 0-15 yaş arasında intestinal parazite rastlanmıştır (11). İstanbul'da 111.889 olguya ait gaita örnekleri retrospektif olarak taranmış ve %5 oranında intestinal parazit prevalansı saptanmıştır (4). Sosyo-ekonomik düzeyi düşük olan Ruanda'da, 2 yaş altı 353 çocuğu kapsayan bir çalışmada intestinal parazit prevalansının %44,8 olduğu rapor edilmiştir (12). Slovakya'da intestinal parazitlerin görülme sıklığı %6,8 olarak belirlenmiştir (13). Ürdün'de %44 (14) ve Afganistan'da ise %38,8 (15) oranında intestinal parazitlerin görülme sıklığı bildirilmiştir. Literatürdeki benzer araştırmalara göre, bizim çalışmamızda, gastrointestinal şikayetleri bulunan hastalardaki İPE oranı nispeten düşük bulunmuştur. Bunun sebebinin de, ülkemizdeki sosyo-ekonomik ve eğitim seviyelerinin yüksekliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Son yıllarda Türkiye'nin Van ilinde yapılan bir çalışmada, tüm yaş gruplarında %26,5 oranında *B. hominis* en sık rastlanan parazit olarak bulunmuştur. Bunu takiben sırasıyla; %9,3 oranında *G. intestinalis*, %6 oranında *Entamoeba coli* (*E. coli*) ve %2,5 oranında ise *A. lumbricoides* tespit edilmiştir (1). Diğer bir çalışmada, yine en sık *B. hominis* (%15,8), bunu takiben ise *E. coli* (%2,1) ve *G. intestinalis* (%1,9) intestinal parazitleri saptanmıştır (16). Tüzemen ve ark.'larının (2) 2017 yılında Bursa'da yaptıkları çalışmalarında %25,7 ile en sık *G. intestinalis*, %19,6 *E. coli* ve %15 *B. hominis* rapor edilmiştir. Slovakya'da ise en sık intestinal parazitik enfeksiyona neden olan helmintlerden *A. lumbricoides* (%3,7) olarak bildirilmektedir (13). Ürdün'de yapılan bir çalışmada *G. intestinalis* (%41) ve *E. histolytica* (%31) abdominal şikayetleri olan hastalarda en sık izole edilen parazitlerdi (14). İzmir'de 2019 yılında yapılan bir çalışmada en sık intestinal parazitik enfeksiyona neden olan parazitlerin *E. histolytica* (%12,9) ve *G. intestinalis* (%11,4) olduğu saptanmıştır (9). Bizim çalışmamızda ise, hastanemize gastrointestinal şikayetler ile başvuran hastalarda, *B. hominis* (%76,2), *G. intestinalis* (%12,1) ve *E. histolytica* (%10) en sık izole edilen parazitlerdi.

Benzer çalışmaların bazılarında intestinal parazitlerin görülme sıklığı ile cinsiyetler arasında anlamlı bir ilişki olduğu vurgulanmıştır. Taş Cengiz ve ark.'nın (5) 5,985 gaita örneğini inceledikleri çalışmalarında cinsiyetler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Buna göre,

**Grafik 2.** Yıllar içinde intestinal parazit görülme sıklığının dağılımı**Tablo 2.** İntestinal parazitlerin ay ve mevsimlere göre dağılımı

Mevsim	İlkbahar			Yaz			Sonbahar			Kış			
	Ay	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat
Olgu		22	17	20	24	23	12	15	38	26	14	12	16
Toplam		59 (%24,7)			59 (%24,7)			79 (%33,1)			42 (%17,6)		
p		0,033											

erkeklerde kadınlara oranla intestinal parazitlerin daha sık görüldüğü tespit edilmiştir (5). Buna rağmen birçok çalışmada ise intestinal parazitlerin erkek ve kadın cinsiyetler arasında yakın oranlarda görüldüğü ve istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık gözlenmediği rapor edilmektedir (9). İran'da 655 hasta örneğinin incelendiği bir çalışmada kadınlardaki oran erkeklere göre daha yüksek bulunmuş, fakat bunun anlamlı olmadığı belirlenmiştir (17). İtalya'da yapılan diğer bir çalışmada 369 pozitif gaita örneğinin %53'ünün kadın, %47'sinin ise erkek hastalara ait olduğu ve aralarındaki farkın önemsiz olduğu söylenmiştir (18). Etiyopya'da ilkökul öğrencilerinin incelendiği bir araştırmada erkeklerin kadınlardan daha sık intestinal parazitik enfeksiyona yakalandığını, fakat yine bunun istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır (19). Ürdün'de yapılan çalışmada ise yine cinsiyet ile intestinal parazitlerin görülme sıklığı arasında ilişkinin olmadığı rapor edilmektedir (14). Türkiye'de yapılmış birçok araştırmada da cinsiyet ile parazit pozitifliğinin birbiriyle bağımsız ve ilişkisiz olduğu vurgulanmaktadır (1,2,8). Bizim çalışmamızda da, erkek ve kadın cinsiyetleri ile parazit görülme sıklığı arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir.

Türkiye'de gaitada parazit pozitifliği görülen olgular yaş gruplarına göre incelendiğinde en sık parazit varlığı tespit edilen yaş grubunun 0-14 olduğu bildirilmektedir. Bunun sebebinin ise, çocuklardaki el yıkama ve tuvalet kullanma bilincinin tam olarak gelişmemiş olması, kreş ve okul gibi toplu yaşam alanlarında sık bulunmaları olduğu düşünülmektedir (8). Afganistan'daki bir çalışmada çocuk ve adölesanlarda yetişkinlere göre anlamlı derecede yüksek oranda intestinal parazit görülme sıklığı belirlenmiştir (15). Buna rağmen, İran'da Kiani ve ark.'ların (11) çalışmasında >15 yaş hastalarda intestinal parazitlerin daha sık görüldüğü vurgulanmıştır. Dış ortam aktivitelerinin ve intestinal parazit kaynaklarına maruziyetin çocuklara göre daha fazla olmasından dolayı yetişkinlerde bu tip enfeksiyonların daha sık görülebileceği ön görülmektedir (11). Çalışmamızda, intestinal parazitler en az 0-15 yaş çocuklarda (%10,5), en fazla ise 16-45 yaş arası yetişkinlerde (%63,6) görülmüştür. Bunun ise, günümüzün teknoloji çağında yetişkinlerin çocuklara kıyasla daha sık dış ortamda bulunması ve dolayısıyla intestinal parazitik enfeksiyonlar açısından daha yüksek risk taşıması olduğu kanaatindeyiz.

Yaptığımız araştırmada, aylara ve mevsimlere göre intestinal parazitlerin dağılımı; Ekim ve Kasım aylarında daha yüksek oran saptanmış ve sonuç olarak intestinal parazitlerin en sık sonbahar aylarında görüldüğü tespit edilmiştir. Bunun aksine, Inceboz ve ark.'nın (20) çalışmasında, parazitlerin daha sıklıkla Şubat-Haziran ayları arasında ve Ağustos ayında saptandığı bildirilmiştir. Yine Tamer ve ark.'nın (21) araştırmasında ise parazitlerin yaz ve ilkbahar aylarında artış gösterdiği rapor edilmiştir. İran'da Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında intestinal parazitlerin Nisan, Mayıs ve Haziran aylarından anlamlı derecede yüksek oranda görüldüğü belirlenmiştir (11). İzmir'deki bir çalışmada ise parazitlerin en sık Mart ayında, en az ise Haziran ayında saptandığı görülmüştür (22). Tüzemen ve ark.'nın (2) araştırmasında ise tüm mevsimlerde yaklaşık olarak benzer oranlarda intestinal parazitlere rastlanmıştır. Topraktaki parazit kontaminasyonunun ve parazit türlerinin sayısının mevsimin yağışlı olup olmamasına göre önemli farklılıklar gösterdiği düşünülmektedir (23). Mevsimsel intestinal parazitlerin görülme sıklığı ile ülke ve bölgelerin özellikle yağış miktarları olmakla

birlikte iklim şartlarının etkili olduğu kanaatindeyiz. Ülkemizde yağışlar genellikle üç aylık sıcak ve kurak yaz mevsiminden sonra Ekim-Mart döneminde görülmektedir (24). Dolayısıyla, yağışların başlamasıyla birlikte içme ve kullanma sularının kontaminasyon riskinin atmasıyla intestinal parazitlerin görülme sıklığının da buna paralel olarak artabileceğini düşünmekteyiz.

SONUÇ

Ülkemizdeki inestinal parazitik enfeksiyonların düşük oranlarda görüldüğü, bunun sebebinin ise sosyo-ekonomik düzeyin ve hijyen koşullarıyla ilgili bilincin yüksek olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Özellikle sonbahar aylarında artan enfeksiyonların önüne geçebilmek adına, gerekli altyapı ve kanalizasyon düzenlemelerinin yapılması ve toplu yaşam alanlarında hijyen bilincinin artırılmasına yönelik eğitimlerin verilmesi gerekli görülmektedir.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Yakın Doğu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından düzenlenen 23.01.2020 tarihli toplantısından YDU/2020/76-994 proje numarası ile etik kurul onayı alındı.

Hasta Onayı: Araştırmamız retrospektif özellikte olduğundan dolayı hasta onay bilgisi alınmadı.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulundaki tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: K.S., Konsept: E.G., K.S., Dizayn: E.G., K.S., Veri Toplama veya İşleme: E.G., Analiz veya Yorumlama: E.G., K.S., Literatür Arama: E.G., Yazan: E.G.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

KAYNAKLAR

1. Taş Cengiz Z, Yılmaz H, Beyhan YE, Çiçek M. A Comprehensive Retrospective Study: Intestinal Parasites in Human in Van Province. Türkiye Parazit Derg 2019; 43: 70-3.
2. Tüzemen NÜ, Alver O, Ener B. Uludağ Üniversitesi Parazitoloji Laboratuvarında 2011-2015 Yılları Arasında İncelenen Dışkı Örneklerinde Paraziter İnfeksiyon Sıklığının Araştırılması. FLORA 2017; 22: 160-5.
3. Langbang D, Dhodapkar R, Parija SC, Premarajan KC, Rajkumari N. Prevalence of intestinal parasites among rural and urban population in Puducherry, South India - A community-based study. J Family Med Prim Care 2019; 8: 1607-12.
4. Kırkoyun Uysal H, Akgül O, Purisa S, Oner YA. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nde 25 Yıllık İntestinal Parazit Prevalansı: Retrospektif Bir Çalışma [Twenty-five years of intestinal parasite prevalence in İstanbul University, İstanbul Faculty of Medicine: a retrospective study]. Türkiye Parazit Derg 2014; 38: 97-101.
5. Taş Cengiz Z, Beyhan YE, Çiçek M, Yılmaz H. Bir üniversite hastanesi parazitoloji laboratuvarında belirlenen intestinal ve hepatik parazitler. Dicle Tıp Dergisi 2015; 42: 350-4.
6. Fırat P, Geçit İ, Depecik F, Karadan M, Karci E, Karaman Ü et al. Bir devlet hastanesi çalışanlarında bağırsak parazitlerinin görülme sıklığı. Dicle Tıp Dergisi 2010; 37: 267-71.

7. Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2003-2012 Yılları Sonuçları: 10 Yıllık Değerlendirme [The results of Hacettepe University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory in 2003-2012: evaluation of 10 years]. Türkiye Parazit Derg 2013; 37: 97-101.
8. Pektaş B, Aksoy Gökmen A, İnci A, Biten AA, Keşli R, Ülker T. Bir Eğitim Araştırma Hastanesi'nde üç yıllık bağırsak parazitlerinin dağılımı: Retrospektif bir Çalışma. J Clin Exp Invest 2015; 6: 269-73.
9. Bayındır Bilman F, Yetik M. Bağırsak Parazitlerinin Epidemiyolojisi: Beş Yıllık Değerlendirme. İKSSTD 2019; 11: 184-9.
10. Yula E, Deveci Ö, İnci M, Tekin A. Bir Devlet Hastanesinde intestinal parazit dağılımı ve etiyolojik analiz raporu. J Clin Exp Invest 2011; 2: 74-9.
11. Kiani H, Haghghi A, Rostami A, Azargashb E, Tabaei SJ, Solgi A, et al. Prevalence, risk factors and symptoms associated to intestinal parasite infections among patients with gastrointestinal disorders in nahavand, western iran. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2016; 58 :42.
12. Butera E, Mukabutera A, Nsereko E, Munyanshongore C, Rujeni N, Mwikarago IE, et al. Prevalence and risk factors of intestinal parasites among children under two years of age in a rural area of Rutsiro district, Rwanda - a cross-sectional study. Pan Afr Med J 2019; 32: 11.
13. Dudlova A, Juris P, Jurisova S, Jarcuska P, Krcmery V. Epidemiology and geographical distribution of gastrointestinal parasitic infection in humans in Slovakia. Helminthologia 2016; 53: 309-17.
14. Jaran AS. Prevalence and seasonal variation of human intestinal parasites in patients attending hospital with abdominal symptoms in northern Jordan. East Mediterr Health J 2017; 22: 756-60.
15. Korzeniewski K. Prevalence of intestinal parasitic infections in the population of Central Asia on the example of inhabitants of Eastern Afghanistan. Przegl Epidemiol 2016; 70: 563-73.
16. Çetinkaya Ü, Yazar S, Kuk S, Ateş S, Hamamcı B, Gedikbaş T et al. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 2009-2010 Yılları Arasında Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012; 18 (Suppl-A): 93-6.
17. Pestehchian N, Nazari M, Haghghi A, Salehi M, Yosefi HA, Khosravi N. Prevalence of Intestinal Parasitic Infection Among Inhabitants and Tribes of Chelgerd, Iran, 2008-2009. J Clin Diagn Res 2015; 9: LC01-4.
18. Masucci L, Graffeo R, Bani S, Bugli F, Boccia S, Nicolotti N, et al. Intestinal parasites isolated in a large teaching hospital, Italy, 1 May 2006 to 31 December 2008. Euro Surveill 2011; 16: 19891.
19. Sitotaw B, Mekuriaw H, Damtie D. Prevalence of intestinal parasitic infections and associated risk factors among Jawi primary school children, Jawi town, north-west Ethiopia. BMC Infect Dis 2019; 19: 341.
20. Inceboz T, Usluca S, Over L, Yalçın G, Tuncay S, Ozkoç S. Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'ne 2005-2009 Yılları Arasında Başvuran Olgularda *Blastocystis hominis* Epidemiyolojisinin Araştırılması [The epidemiology research of *Blastocystis hominis* in the Dokuz Eylül University Medical Faculty Hospital between 2005 and 2009]. Türkiye Parazit Derg 2011; 35: 72-6.
21. Tamer GS, Calişkan S, Willke A. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına Başvuran Hastalarda Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı [Distribution of intestinal parasites among patients who presented at the parasitology laboratory of the Kocaeli University School of Medicine Hospital]. Türkiye Parazit Derg 2008; 32: 126-9.
22. Turgay N, Unver-Yolasıgımaz A, Oyur T, Bardak-Özdemir S, Töz S. İzmir ve Çevresinde Bir Yılda (Mayıs 2009-Nisan 2010) Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Aylara Göre Dağılımı-Asid Fast ve Modifiye Trichrome Boyama Sonuçları [Monthly distribution of intestinal parasites detected in a part of western Turkey between May 2009-April 2010-results of acid fast and modified trichrome staining methods]. Türkiye Parazit Derg 2012; 36: 71-4.
23. Ekşi F, Doğan Y, Özdemir G, Zer Y, Bayram A, Karşlıgil T. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Bir Yıllık Sürede Gaita Örneklerinde Saptanan Bağırsak Parazitlerinin Dağılımı. Fırat Tıp Derg 2013; 18: 235-8.
24. K.K.T.C. Meteoroloji Dairesi. Kuzey Kıbrıs'ın Genel Hava Durumu. Erişim: 25 Şubat 2020. <http://kktcmeteor.org/meteorolojikbilgi/kibris-iklimi>

Uyuz Ön Tanılı Hastalarda *Sarcoptes scabiei* Yaygınlığının Araştırılması

Prevalence of *Sarcoptes scabiei* in Patients with Suspected scabies

Ahmet Yücel, Mustafa Yılmaz

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

Cite this article as: Yücel A, Yılmaz M. Prevalence of *Sarcoptes scabiei* in Patients with Suspected scabies. Türkiye Parazitol Derg 2021;45(2):133-136.

ÖZ

Amaç: Uyuz, bir ektoparazit olan *Sarcoptes scabiei*'nin (*S. scabiei*) vücudun kıvrımlı yerlerinden epidermise girerek Stratum corneum'da açtığı tüneller (sillion) içinde parazitlenmesi sonucu klinik olarak keratoz, alerji ve geceleri artan şiddetli kaşıntı ile seyreden bir hastalıktır. Bu çalışmada, Ocak 2012-Aralık 2019 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji-mikoloji Laboratuvarı'na uyuz ön tanısı olarak başvuran hastalarda *S. scabiei* yaygınlığının saptanması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmamıza 0-80 yaş arası 388'i (%52) kadın, 358'i (%48) erkek 746 hasta dahil edilmiştir. Hastaların el (bilek, parmak arası, parmak ucu, avuç içi), karın, penis ve bacak (uyluk, ayak tabanı) bölgelerindeki şüpheli lezyonlardan alınan kazıntı örneklerine %15 KOH (potasyum hidroksit) çözeltisi damlatılarak ışık mikroskopunda incelenmiştir.

Bulgular: İnceleme sonucunda, biri anne ile kızı ve biri karı-koca olmak üzere 68'i (%9,11) kadın, 71'i (%9,52) erkek toplam 139 hastada (%18,63) *S. scabiei* saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma Elazığ'da uyuz konusunda yapılan ilk kapsamlı çalışmadır. Ülkemizde son yıllarda sosyo-ekonomik ve kültürel düzeydeki gelişmelere rağmen uyuz dahil tüm parazitler enfestasyonlar hala önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu nedenle toplumun erken tanı, hijyen, korunma ve kontrol konularında daha çok bilgilendirilmesinin yararlı olacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Deri kazıntısı, %15 KOH, *Sarcoptes scabiei*, uyuz

ABSTRACT

Objective: Scabies is caused by an ectoparasite called *Sarcoptes scabiei* (*S. scabiei*), which penetrates the epidermis through skin folds and burrows in the stratum corneum, following the development of tunnels (sillion). The disease is specifically characterised by keratosis, allergy and itching that increases at night-time. This study aimed to investigate the frequency of *S. scabiei* in patients with a pro-diagnosis of scabies.

Methods: Between January 2012 and December 2019, a total of 746 [n=388 (52%), female; n=358 (48%) male] patients aged 0-80 years were admitted to Fırat University Hospital Parasitology-mycology Laboratory. Skin scrapings were taken from suspected lesions on anatomic regions such as the hands (wrist, interdigital skin, fingertip and palm), abdomen, penis and legs (thigh and bottom foot). They were examined under a light microscope after adding 15% potassium hydroxide solution.

Results: *S. scabiei* was positive in 139 (18.63%) of 746 patients including a mother and her daughter and a married couple, where 68 (9.11%) were female and 71 (9.52%) were male.

Conclusion: To our best knowledge, this is the first comprehensive study of scabies in Elazığ. Despite the recent socio-economic and cultural developments observed in our country, scabies and all other parasitic infestations still remain to be important problems. We believe that improvement of the public vigilance together with early diagnosis will improve sanitation and provide protection against scabies and parasitic infestations.

Keywords: Skin scraping, 15% KOH, *Sarcoptes scabiei*, scabies

GİRİŞ

Uyuz, bir ektoparazit olan *Sarcoptes scabiei*'nin *S. scabiei* neden olduğu ırk, yaş, cinsiyet ve sosyo-ekonomik düzey farkı gözetmeksizin dünyada ve ülkemizde herkesi enfeste edebilecek bulaşıcı bir hastalıktır.

S. scabiei; vücutları oval ve tek parçadan oluşmuş, kirli beyaz renktedir. İki ön, iki arka dört çift bacakları

vardır. Öndeki bacaklar kısa ve sonları çekmenlerle bitmekte iken arka bacak sonlarındaki çekmenler ise atrofiye uğrayarak bir kılla sonlanmıştır. Dorsal yüz diken ve sivri pullarla kaplıdır. İnsan *S. scabiei*'nin yegane konağıdır. Tüm evrimini insan derisinde epiderminin stratum corneum tabakasında oyduğu tüneller (sillion) içinde geçirir. Lenf ve dokularla beslenir, kan emmezler. Evriminde; yumurta, larva, nimf ve erişkin dönemleri vardır. Uyuzun en belirgin



Geliş Tarihi/Received: 24.04.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 30.01.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Ahmet Yücel, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye
Tel/Phone: +90 424 248 26 72 E-Posta/E-mail: hlyucel@firat.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-0148-5647

özellği geceleri çok şiddetli ve yaygın, gündüzleri hafif ve tolere edilebilir kaşıntıdır (1-3). Deride görülen lezyonlar, deriden biraz kabarık kahverengimsi, pembe-beyaz renkli sillion lezyon olup günde 0,5-2 mm uzamaktadır. Tünelin ucunda inci tanesine benzeyen içinde dişi *Sarcoptes*'lerin bulunduğu toplu iğne başı büyüklüğünde veziküller bulunur. Tünel ve veziküller akarların yoğun olduğu yerler olup klinik ve tanıda önemlidirler (2,4).

Eller enfestasyonun en sık olduğu yerlerdir. Sillion en çok el bileklerinde (%85) ve parmak aralarında, dirsek, aksilla, gluteal bölge ve peniste, yenidoğan ve çocuklarda ise avuç içi ve ayak tabanında görülebilmektedir. Erişkin kişilerde sırtın üst bölümü, boyun, yüz, saçlı deri, avuç içi, ayak tabanı gibi bölgelerde lezyon hemen hemen hiç görülmemektedir (1,5,6).

Uyuz tanısı; "Sillion mürekkep testi" ve aynı prensibi kullanan diğer bir alternatif test olan "Topikal tetrasiklin testi" ile tünellerin tanımlanması, "Epidermal traş biyopsisi" gibi biyopsi yöntemleri ve deri kazıntısı incelenmesi yöntemleriyle *Sarcoptes* erişkin larva, nimf ve/veya yumurtaların görülmesiyle konulmaktadır. Bu yöntemler, içerisinde en çok kullanılan ve en eski yöntem olan deri kazıntısı incelenmesidir (2,3,7). Son yıllarda tanıda dermoskop da kullanılmaktadır (8).

Bu çalışmada Fırat Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji-mikoloji Laboratuvarı'na uyuz ön tanısı olarak başvuran hastalarda *S. scabiei*'nin yaygınlığının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışma Ocak 2012-Aralık 2019 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Hastanesi Parazitoloji-mikoloji Laboratuvarı'na 735'i dermatoloji, 3'ü pediatri, 7'si enfeksiyon hastalıkları, 1'i nöroloji klinik veya polikliniklerinden, uyuz ön tanısı olarak başvuran, 0-80 yaşları arasında 388'i (%52) kadın, 358'i (%48) erkek toplam 746 hastanın el (bilek, parmak arası, parmak ucu, avuç içi), karın, penis ve bacak (uyuk, ayak tabanı) bölgelerindeki şüpheli lezyonlardan alınan kazıntı örneklerine (kazıntı örnekleri yüzeysel değil derin alınmalıdır) %15 KOH (potasyum hidroksit) çözeltisi damlatılarak ışık mikroskopunda X10, X20, X40 objektiflerle *S. scabiei* (erişkin larva, nimf ve/veya yumurtaları) retrospektif olarak incelenmiştir. Bu nedenle etik kurul onayı ve hasta onayı alınmamıştır. Hasta bilgileri hastane otomasyonundan ve laboratuvar kayıt defterlerinden alınmıştır.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede X^2 testi kullanıldı.

BULGULAR

İnceleme sonucunda; 137'si dermatoloji, biri pediatri ve birisi nöroloji kliniklerinden başvuran ve biri anne ile kızı (ev hanımı, orta öğretim öğ.), biri karı-koca (ev hanımı, orman mühendisi) olmak üzere 68'i (%9,11) kadın, 71'i (%9,52) erkek toplam 139 (%18,63) olgunun *S. scabiei* ile enfeste olduğu saptandı. Altı yüz yedi (%81,37) olguda ise *S. scabiei* görülmedi. (Şekil 1-3) *S. scabiei* erkeklerde kadınlardan daha yüksek bulunmasına rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($X^2=0,653$, $p>0,05$).

Pozitif olguların 15'i (7K, 8E) bebek (0-1 yaş), altısı (K) çocuk (2-5 yaş), dokuzu (4K, 5E) ilkökul öğrencisi (6-10 yaş), 27'si (9K, 18E) orta öğretim/lise öğrencisiydi (11-20 yaş). Yirmi bir-otuz yaş grubu 26 olgunun biri asker (E), 25'inin (11K, 14E) ise biri Irak, biri Suriye uyruklu üniversite öğrencisiydi. Otuz bir-elli yaş

olguların 15'i memur (8K, 7E), 51 yaş üzeri 41 olgunun ise 27'si emekli, 14'ü ev hanımıydı (23K, 18E).

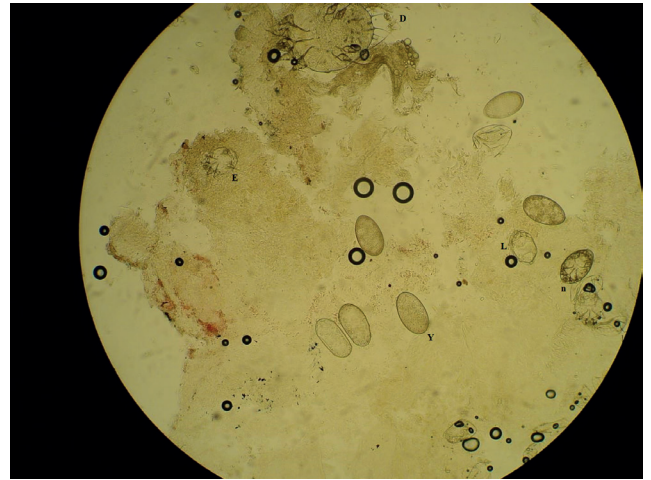
S. scabiei olgularımızın 74'ünün (%9,91) el (bilek, parmak arası, parmak ucu, avuç içi), 45'inin (%6,03) karın, 19'unun (%2,54) bacak (uyuk, ayak tabanı) ve birinin (%0,13) penis bölgelerindeki lezyonlardan saptanmıştır.

Yaşa göre olgu sayılarının dağılımına bakıldığında; en yüksek oranda 11-30 yaş grubunda 53 (%7,1) ve 51 yaş üzeri (%5,49) hastalarda görülmüştür. *S. scabiei*'nin yaş, cinsiyet ve vücutta saptandığı bölgelere göre dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

Çalışmada; yılın bütün aylarında *S. scabiei* görülmesine rağmen Ağustos (7/41) ve Eylül (8/60) aylarında en düşük, Kasım (18/75) ve Nisan (18/56) aylarında ise en yüksek, aynı şekilde 2017 (13/103) ve 2014 (11/76) yıllarında olgu sayısının en düşük, 2018 (26/33) ile 2012 (10/49) yıllarında ise en yüksek olduğu görülmüştür. *S. scabiei* olgularının yıllara ve aylara göre dağılımı Tablo 2'de görülmektedir.

TARTIŞMA

Tıp tarihinde önemli bir yeri olan ve 1687'de nedeni bilinen ilk insan hastalığı olarak tanımlanan uyuz (scabies), günümüzde



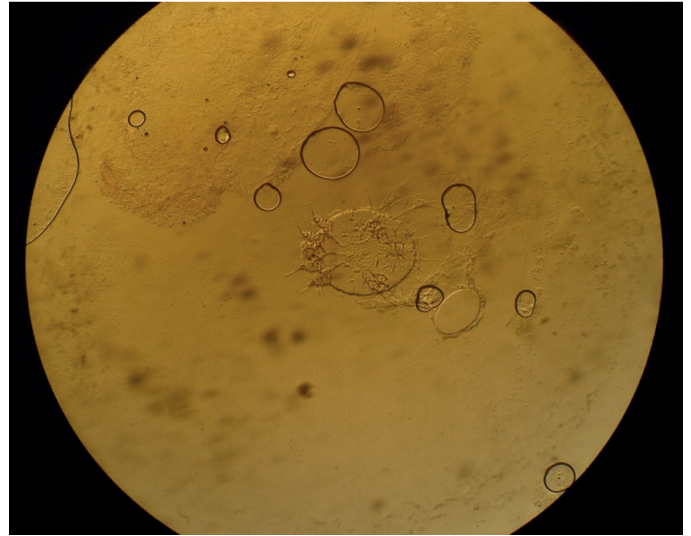
Şekil 1. *S. scabiei* dişi, erkek, yumurta, larva, nimf X10 D (dişi), E (erkek), Y (yumurta), L (larva), n (nimf)



Şekil 2. *S. scabiei* yumurta, larva, nimf X40 Y (yumurta), L (larva), n (nimf)

dünyanın her yerinde yaklaşık 300 milyon kişinin yakalandığı bulaşıcı bir hastalıktır (5-7). Enfestasyonun kaynağı parazitli insanlardır. Bulaşma bu insanlarla yakın temas, kıyafet ve çamaşırların ortak kullanımı ve cinsel yolla olmakta, ev ve aile hastalığı olarak bilinmektedir. Her evrim dönemi bulaştırıcı olup olumsuz yaşam koşullarında (açlık, deprem, savaş vb.) daha kolay yayıldığı, gecikmiş tanının okul, hastane, kışlalar, huzur evleri gibi toplu yaşanan yerlerde salgınlara neden olabileceği, mevsimsel olarak sonbahar ve kış aylarında birlikte yaşam olasılığı arttığı için daha sık görüldüğü bildirilmiştir (2,3,8,9).

Konuyla ilgili ülkemizde az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yılmaz ve ark. (10) Elazığ'da üç ilköğretim okulu öğrencilerinde ektoparazit ve bağırsak parazitlerinin sıklığını araştırmak amacı ile yaptıkları çalışmalarında muayene ettikleri öğrencilerin hiç birinde scabies tespit etmemişlerdir. Özcan ve ark. (11) Malatya merkez ilköğretim okullarında pediculosis ve scabies yaygınlığını araştırmak üzere yaptıkları bir çalışmada 9,808 öğrenciden beşi kız, üçü erkek toplam sekizinde (%0,08), Ciftci ve ark. (12) Afyon'da anaokulu öğrencilerinde yapmış oldukları çalışmada 1,134 öğrencinin beşinde (%0,4) *S. scabiei* saptamışlardır.



Şekil 3. *S. scabiei* erişkin dişi dorsal X10

Tablo 1. *Sarcoptes scabiei*'nin yaş, cins, ve vücutta saptandığı bölgelere göre dağılımı

Yaş	Örnek/cinsiyet	0-1		2-5		6-10		11-20		21-30		31-40		41-50		51 üzeri		Toplam	
		K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K (%)	E (%)
El	Bilek	-	-	1	-	-	-	3	6	3	4	4	1	-	-	-	1	11 (1,47)	12 (1,60)
	Parmak arası	-	-	1	-	3	3	5	7	8	9	-	-	2	3	4	4	23 (3,08)	26 (3,48)
	Parmak ucu	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (0,13)
	Avuç içi	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 (0,13)
	<i>S. scabiei</i> görülmeyen	1	6	10	8	9	10	28	30	38	43	30	26	19	15	14	12	149 (19,97)	150 (20,10)
Karın	<i>S. scabiei</i> pozitif	3	4	4	-	1	1	1	4	-	1	1	1	-	1	13	10	23 (3,08)	22 (2,94)
	<i>S. scabiei</i> görülmeyen	1	7	6	10	2	6	3	5	16	7	32	8	32	21	33	33	125 (16,75)	97 (13,0)
Penis	<i>S. scabiei</i> pozitif	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (0,13)
	<i>S. scabiei</i> görülmeyen	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	-	2	-	-	-	-	-	5 (0,67)
Bacak	Uyluk	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	6	3	7 (0,93)	5 (0,67)
	Ayak tabanı	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4 (0,53)	3 (0,40)
	<i>S. scabiei</i> görülmeyen	2	7	-	1	1	-	3	-	4	5	5	-	12	9	19	14	46 (6,16)	35 (4,69)
Toplam		11	28	22	19	16	21	43	54	69	72	72	38	66	50	89	76	388 (52,0)	358 (48)

Tablo 2. *Sarcoptes scabiei* olgularının yıllara ve aylara göre dağılımı

Yıl	Ay	Ocak		Şubat		Mart		Nisan		Mayıs		Haziran		Temmuz		Ağustos		Eylül		Ekim		Kasım		Aralık		Toplam	
		K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K	E
2012	<i>S. scabiei</i> pozitif	-	-	2	-	-	1	1	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	5	5
2013	<i>S. scabiei</i> pozitif	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	3	2	-	-	-	6	3	
2014	<i>S. scabiei</i> pozitif	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	2	2	1	1	1	5	6	
2015	<i>S. scabiei</i> pozitif	-	3	-	1	1	-	2	3	-	-	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	5	11	
2016	<i>S. scabiei</i> pozitif	1	-	-	-	1	-	-	1	-	1	1	-	2	-	2	1	2	1	1	2	-	1	3	1	13	8
2017	<i>S. scabiei</i> pozitif	1	-	2	1	2	-	1	2	1	3	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	1	-	1	8	10	
2018	<i>S. scabiei</i> pozitif	-	-	-	1	1	1	-	2	2	1	1	3	2	1	-	1	-	-	-	3	2	2	3	-	11	15
2019	<i>S. scabiei</i> pozitif	2	3	-	1	1	1	2	3	4	-	-	1	-	1	-	1	-	1	-	1	2	2	2	-	15	13
Toplam	<i>S. scabiei</i> pozitif	5	6	5	4	6	3	6	12	7	5	4	6	5	5	5	2	3	5	3	11	9	9	10	3	68	71
	<i>S. scabiei</i> görülmeyen	28	22	21	26	22	18	28	28	20	22	18	20	24	18	23	18	32	28	34	26	40	35	31	26	320	287

Karaman ve ark. (13) yaptıkları çalışmalarında Ordu il Sağlık Müdürlüğü verilerini retrospektif olarak değerlendirmişler, buna göre 1,556'sı kadın, 1,152'si erkek toplam 2,708 kişide *S. scabiei* bildirmişlerdir. Çetinkaya ve ark. (14) Ocak 2006 ile Nisan 2017 tarihleri arasında Kayseri Halk Sağlığı Müdürlüğü'ne bildirilen scabies olgularını retrospektif olarak değerlendirdikleri çalışmalarında 3,908 scabies olgusu saptadıklarını kadınlarda olgu sayısının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yazar ve ark. (8) Kayseri'de yaptıkları çalışmada, üniversite hastanesine başvuran uyuz ön tanılı hastaların yedi yıllık verilerini retrospektif olarak değerlendirmiş, uyuz ön tanılı 48 hastanın beşi (%10,41) erkek, üçü (%6,25) kadın toplam sekizinde (%16,7) *S. scabiei* pozitif bulmuşlardır. Önlen ve ark. (15) Hatay'da yaptıkları çalışmalarında 7-15 yaşları arasında toplam 3,935 öğrenciden 11'i erkek sekizi kız 19'unda scabies tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Metin ve ark. (16) Van'da yaptıkları retrospektif çalışmalarında dört yıllık sürede polikliniğe başvuran hastalardan %4,77'sinin *S. scabiei* ile enfeste olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmada, uyuz ön tanısı olarak laboratuvarımıza başvuran 746 hastadan 68'i (%9,11) kadın, 71'i (%9,52) erkek toplam 139 (%18,63) olguda *S. scabiei* saptanmıştır. *S. scabiei* en yüksek oranda 11-30 yaş grubu (n=53) ve 51 yaş üzeri (n=41) hastalarda görülmüştür. Eller (n=74) ve karın (n=45) lezyonları enfestasyonun en fazla saptandığı bölgeler olup erkeklerde (n=71) kadınlardan (n=68) daha yüksek bulunmuştur. Gençlerde sosyal aktivite ve yakın ilişkiler, erişkinlerde cinsel yol, yaşlı ve yalnız yaşayanlarda ise bakımsızlık ve kötü hijyen enfestasyon yaygınlığının nedeni olarak açıklanabilir. *S. scabiei* tanısı için eller tutulumun en çok olduğu bölgeler olup öncelikle incelenmelidir. Örnek yüzeysel değil derin kazınmalı ve deneyimli kişilerce bakılmalı, görülmediğinde 3-5 gün sonra tekrarlanmalıdır. Çalışmamızda yılın tüm aylarında *S. scabiei* saptanmıştır. Kasım ve Nisan aylarında en yüksek oranda görülmüştür (bu aylar arası ilimizde ısıtma sistemlerinin mevsimsel zorunluluk nedeniyle en çok kullanıldığı aylardır). Kasım-Nisan ayları arasındaki olgu sayısı Mayıs-Ekim ayları arasındaki olgulardan daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda, *S. scabiei* benzer çalışmalar yapan Yazar ve ark. (8), Önlen ve ark. (15) ile Metin ve ark.'ndan (16) yüksek bulunmuştur. Yazar ve ark. (8) ile Önlen ve ark.'nın (15) yaptıkları çalışmalarda erkeklerde kadınlardan daha yüksek oranda *S. scabiei* saptamaları çalışmamız ile uyum göstermektedir.

SONUÇ

Scabies dünyada ve ülkemizde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Erken tanı, hijyen, korunma ve kontrol önlemlerinin erken alınmasının etken ve salgınların önlenmesindeki önemi büyük olup, toplumun bu yönde daha çok bilgilendirilmesinin yararlı olacağı kanısındayız.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Retrospektif çalışma.

Hasta Onayı: Retrospektif çalışma.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Konsept: A.Y., M.Y., Dizayn: A.Y., M.Y., Veri Toplanma veya İşleme: A.Y., M.Y., Analiz veya Yorumlama: A.Y., M.Y., Literatür Araması: A.Y., M.Y., Yazan: A.Y., M.Y.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

KAYNAKLAR

1. Arlian LG, Bruner RH, Stuhlman RA, Ahmed M, Vyszanski-Moher DL. Histopathology in hosts parasitized by *Sarcoptes scabiei*. J Parasitol 1990; 76: 889-94.
2. Budak S, Yolasiğmaz A. Uyuz (Gal). İmmun Yetmezlikte Önemi Artan Parazit Hastalıkları. Ed.MA, Özcel. Türkiye Parazit Derg.Yay. No:131995. S. 283-316.
3. Unver AY, Turgay N. Uyuzlu hastaya yaklaşım [Approach to the patient with scabies]. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 77-82.
4. Burns DA. The treatment of human ectoparasite infection. Br J Dermatol 1991; 125: 89-93.
5. Baysal V, Güner MA. Scabies hakkında yeni görüşler. Lepra Mecmuası; 23:36-45.1992.
6. Johnston G, Sladden M. Scabies: diagnosis and treatment. BMJ 2005; 331: 619-22.
7. Davis DP, Moon RD. Survival of *Sarcoptes scabiei* (De Geer) stored in three media at three temperatures. J Parasitol 1987; 73: 661-2.
8. Yazar S, Kuk S, Çetinkaya Ü, Gözkenç N, Şahin İ. Uyuz ön tanılı hastalarda *Sarcoptes scabiei* araştırılması. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2012; 18(Suppl-A): 85-7.
9. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji 2005; 552-553. Asya Tıp Kitabevi. Meta-basım Matbaacılık 4.Baskı Bornova/İzmir.
10. Yılmaz M, Korkmaz E, Karakoç S, Yaztürk S, Kizirgil A, Yakupoğulları Y. Elazığ'daki üç ilköğretim okulu öğrencilerinde ektoparazit ve bağırsak paraziti yaygınlığının araştırılması [Investigation of intestinal parasites and ectoparasites in three primary school students in Elazığ]. Türkiye Parazit Derg 2007; 31: 139-41.
11. Özcan A, Doğan G, Şenol M, Yakıncı C, Şahin S, Yoloğlu S. Malatya'da ilkokul öğrencilerinde *Pediculus capitis* ve scabies araştırılması. Türkiye Parazit Derg 1996; 20: 61-5.
12. Ciftci IH, Karaca S, Dogru O, Cetinkaya Z, Kulac M. Prevalence of pediculosis and scabies in preschool nursery children of Afyon, Turkey. Korean J Parasitol 2006; 44: 95-8.
13. Karaman Ü, Enginyurt Ö, Dündar Y, Baykal MK, Gür S. *S.scabiei* ve *Pediculus capitis* enfestasyonunun sosyo-ekonomik açıdan değerlendirilmesi. Odu Tıp Derg 2014; 2: 23-9.
14. Çetinkaya Ü, Şahin S, Ulutabanca RÖ. The Epidemiology of Scabies and Pediculosis in Kayseri. Türkiye Parazit Derg 2018; 42: 134-7.
15. Önlen Y, Akçalı C, Yiğit H, Savaş L, Çulha G, Seraslan G, et al. Hatay il merkezinde ilköğretim okullarında scabies sıklığı. Klim Derg 2004; 17: 193-5.
16. Metin A, Yılmaz H, Arıca M. Van ve çevresinde 1994-1998 yılları arasında uyuzun durumu. Türkderm 1999; 33: 40-4.

Tekirdağ ve İstanbul İllerinde Ev Tozu Akar Görülme Sıklığı ile Bunu Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi ve Aynı Dönemdeki Sivas İli Ev Tozu Akar Popülasyonu ile Karşılaştırılması

Factors Affecting the Prevalence of House Dust Mite in Tekirdağ and İstanbul Provinces in Comparison with House Dust Mite Population of Sivas Province During the Same Period

Ahmet Duran Ataş¹, Berna Baysal Bakay², Hakan Bakay³, Derya Gül Gülpınar⁴

¹Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

²Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Gürün Meslek Yüksekokulu, Sivas, Türkiye

³Sivas Numune Hastanesi, Acil Servis Kliniği, Sivas, Türkiye

⁴Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

Cite this article as: Ataş AD, Baysal Bakay B, Bakay H, Gülpınar DG. Factors Affecting the Prevalence of House Dust Mite in Tekirdağ and İstanbul Provinces in Comparison with House Dust Mite Population of Sivas Province During the Same Period. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):137-145.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, Marmara Bölgesi'nin kıyı kesiminde ve birbirine yakın konumda yer alan İstanbul ve Tekirdağ illeri ile bu illerden farklı iklim ve coğrafik özellikleri bulunan Sivas ilinden aynı dönemde toplanan ev tozu örneklerinde, ev tozu akar sıklığının çeşitli değişkenlere göre incelenmesi, bu illerdeki ev tozu akar popülasyonunun belirlenmesi, birbiri ile kıyaslanması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Mayıs-Ağustos 2018 tarihleri arasında, İstanbul ve Tekirdağ illerinden 50 adet, Sivas ilinden de 50 adet olmak üzere toplam 100 adet toz örneği laktik asitte çöktürme yöntemiyle hazırlanarak mikroskopik olarak incelenmiştir. Bunun yanı sıra, Tekirdağ ve İstanbul illerinde bazı değişkenler katılımcılara anket soruları şeklinde yüz yüze görüşme yöntemiyle uygulanmıştır.

Bulgular: İstanbul'da %66,7; Tekirdağ'da %61,5 oranında ev tozu akarına rastlanırken, Sivas ili ev tozlarında ise hiçbir ev tozu akarına rastlanmamıştır. Yapılan anket sonuçlarına göre, ev tozu akarı bulunma sıklığının evin 1-4. kat arasında olmasına, 15 günde bir temizlik yapılmasına, evde sigara içilmemesine, güneş alma durumunun yetersizliğine göre arttığı; evde bitki ve/veya hayvan bulunmasına, ısınma şekline göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç: Ev tozunun alerjik içerikli en önemli komponenti olan ev tozu akarlarına karşı alınacak önlemlerin özellikle iklim, coğrafik özellikler ve genel hijyen koşulları göz önünde bulundurularak duyarlı kişilerin yakınmalarının azaltılmasında önemli olduğu görülmüştür. İstanbul'dan alınan toz örneklerinde tespit edilen akarlardan *Baloghella melis*'in Türkiye için yeni kayıt olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın bu yönüyle de Türkiye ev tozu akar faunasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ev tozu akarı, *Baloghella melis*, İstanbul, Tekirdağ, Sivas

ABSTRACT

Objective: This study aimed to examine the frequency of house dust mite according to various variables and determine the house dust mite population in these provinces in house dust samples collected in the same period from İstanbul and Tekirdağ provinces, which is located on the coastal part of the Marmara Region, and Sivas province, which has different climatic and geographic characteristics from these provinces. A comparison was done from each province.

Methods: Between May and August 2018, a total of 100 powder samples were prepared by a lactic acid precipitation method that was examined microscopically. Besides, some variables in Tekirdağ and İstanbul provinces were applied to participants by face-to-face interview method from a questionnaire.

Results: House dust mite was found with a rate of 66.7% in İstanbul and 61.5% in Tekirdağ; however, house dust mite was not found in Sivas province. According to survey results, the frequency of house dust mite detection is 1-4. It increased according to the fact that it is located between floors, cleaning was every 15 days, no smoking at home and insufficient sun exposure. No statistically significant difference was found according to the presence of plants and/or animals in the house and way of heating.



Geliş Tarihi/Received: 24.07.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 30.10.2020

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Berna Baysal Bakay, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Gürün Meslek Yüksek Okulu, Sivas, Türkiye
Tel/Phone: +90 532 315 30 92 E-Posta/E-mail: bernabaysalbakay@cumhuriyet.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0001-7711-344X

Conclusion: Measures to be taken against house dust mite, which is the most essential component of house dust with allergic content, are observed to be important in reducing complaints of sensitive people by especially considering the climate, geographic characteristics and general hygienic conditions. According to investigations, *Baloghella melis*, one of the mites detected in dust samples taken from İstanbul, has been determined to be a new record in Turkey. This study will contribute to Turkey with this aspect fauna of house dust mites.

Keywords: House dust mite, *Baloghella melis*, İstanbul, Tekirdağ, Sivas

GİRİŞ

Akarlar, Arthropoda şubesi Arachnida sınıfı Acari takımında bulunmaktadır (1). Bu canlılar karada, tatlı ve tuzlu sularda, depo ürünlerinde, bitkiler üzerinde, mağaralarda, karınca yuvalarında ve ev tozlarında olmak üzere çok geniş yaşam alanına sahiptirler (2,3).

Ev tozları; akarlar, polenler, böcekler, hayvansal ürünler, mantarlar gibi canlı ve cansız pek çok maddenin bulunduğu özel bir karışımdır ve alerjik hastalıkların altında yatan önemli bir faktördür (4,5). İnsanların pek çoğunda alerjik reaksiyonlara neden olan bu maddeler içerisinde, en önemli komponent olan akarların özellikle dışkı ve ölmüş akar vücut parçalarının yüksek alerjen özelliği olduğu bildirilmiştir (6,7).

Ev tozu akarları, insan ve evcil hayvanların kıl, tüy ve deri döküntüleri ile beslenen, vücutları tek parçadan oluşan, dişleri yaklaşık 320-420 µm, erkekleri 245-420 µm büyüklükte ve genellikle oval yapıda canlılardır (8,9). %60-80 nispi nem ve 20-30 °C sıcaklıkta optimal gelişme gösteren akarlar, evlerde özellikle yatak, battaniye, yastık, yorgan, halı, kumaş içerikli her türlü eşya ve tüylü oyuncaklarda bulunur (10). Akarların vücudunun %80'i su olduğundan nem oranının %50'nin altına düşmesiyle 6-11 günden fazla yaşayamadıkları, buna rağmen protonimf safhasında bulunan akarların aylarca canlı kalabildikleri belirtilmiştir (2-4). Ayrıca kültür ortamlarında sıcaklığın 21-22 °C'nin altına düşmesiyle yaşam sürelerinin kıaldığı bildirilmiştir (8).

Ev tozu akarlarının alerjik reaksiyonlar üzerindeki etkisi, besin kaynaklı alerjenlere kıyasla daha yüksek düzeydedir (10). Gözle görülemeyen bu akar komponentlerinin solunması ya da vücuda temasıyla alerjik rinit, astım, konjonktivit, egzama gibi alerjik reaksiyonların oluştuğu bildirilmektedir. Bu reaksiyonların tedavisinde temel nokta ise, ev tozu akarlarının azaltılmasına yönelik önlemler almak, ek olarak semptomatik yaklaşımlar ve aşılama (3,6,11).

Akar alerjenlerinden korunmak amacıyla, fiziksel-kimyasal müdahale olarak iç ortam nemini azaltmak için havalandırma, kumaş kaplı mobilya ve perdeleri değiştirmek, halı kullanımını sınırlandırmak, hava filtreleri ve iyonizer kullanmak, nevresim vb. eşyaları 55 °C ve üstü sıcaklıklarda yıkamak, akarisit ve akarlarla simbiyotik ilişkileri olduğundan antifungal ajanlar kullanmak gerekmektedir (6).

Karasal iklimin hüküm sürdüğü ve yüksek rakımlı yerlerde ev tozu akar sayısı daha düşük iken, deniz kıyısı olan nemli iklimlerde ev tozu akar sayısı artmaktadır (12). Ev tozu akar alerjenlerinin dağılımı ise iklim, coğrafik bölge, rakım, nem oranı ve yerleşim özellikleri gibi değişkenlerden etkilenmektedir. Her yaş grubuna görülebilen ve insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilen önemli bir halk sağlığı sorunu olması sebebiyle, ev tozu akar görülme sıklığı, etkileyen değişkenler ve popülasyon çalışmaları oldukça önem kazanmaktadır. Buradan yola çıkarak çalışmamızdaki amacımız Marmara Bölgesi'nin kıyı kesiminde ve birbirine yakın konumda yer alan İstanbul ve Tekirdağ illerinde ev tozu akar sıklığının çeşitli değişkenlere göre incelenerek bu bölgedeki ev

tozu akar popülasyonunun belirlenmesidir. Ayrıca ikincil amaç olarak ise bu illerden farklı iklim ve coğrafik özellikleri bulunan Sivas ilinden, Tekirdağ ve İstanbul illeriyle aynı dönemde toplanmış ev tozu örneklerini akar görülme sıklığı ve popülasyon yönünden karşılaştırmaktır.

YÖNTEMLER

Ev tozu örnekleri, Mayıs 2018-Ağustos 2018 tarihleri arasında İstanbul, Tekirdağ ve Sivas il merkezlerinde bulunan farklı evlerdeki bütün odalardan, özellikle de yatak odalarındaki yatak, halı ve mobilyalardan vakumlama yapılarak toplanmıştır. İstanbul ve Tekirdağ illerinde, birbirine yakın konumlarda bulunan farklı apartman daireleri ve müstakil konutlardan 50 adet, Sivas ilinde farklı konumlarda yer alan apartman daireleri ve müstakil konutlardan 50 adet olmak üzere toplamda 100 adet ev tozu örneği toplanmıştır. Bu örnekler, vakumlama gücü 1,200-2,200 W arasında değişen, toz torbası her kullanımda değiştirilen, elektrikli süpürgeler kullanılarak elde edilmiştir. Özellikle nem, iklim, coğrafya, nüfus dağılımı vb. özellikler açısından farklı iller seçilmiş ve karşılaştırılmıştır. Örnekler eş zamanlı olarak bizzat toplanmış olup, Tekirdağ ve İstanbul ilinde 7 adet anket sorusu (evin bulunduğu kat, evde bitki ve hayvan olma durumu, temizlik yapılma sıklığı, evde sigara içilme durumu, evin güneş alma durumu, evin ısınma şekli gibi bilgiler) hane halkına yöneltilmiş ve bu sorulara göre istatistiksel çalışma yapılmıştır. Sivas'ta bu sorular çeşitli nedenlerle (ev tozu toplanılan yerlerdeki kişilerin çoğunun cevap vermekten kaçınmasından dolayı) sorulamamıştır. Toz örnekleri çapları 2, 1,5 ve 1 cm olan, aralarında beşer cm bulunan üç ayrı elek yardımıyla kaba partiküllerden arındırıldıktan sonra falkon tüplerine aktarılmış ve inceleme zamanına kadar %70'lik alkol içerisinde 2 °C'de buzdolabında saklanmıştır. %70'lik alkol içerisindeki örnekler 1,000 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra supernatant sıvıları boş petri kaplarına aktarılmış ve bu sıvıda akar bulunup bulunmadığına dair kontrolleri yapılmıştır. Falkon tüplerinde kalan çökelti üzerine 5 mL %90'lık laktik asit eklenerek 15 dk., 30 dk. ve 45 dk.'lik sürelerde ayrı ayrı hem yüzey hem de dip çökeltiden birer damla alınıp, birkaç kez, lam-lamel arası direkt mikroskopik inceleme yapılmış; incelemelerde yüzeyden alınan örneklerin akar görülmesi açısından daha anlamlı olduğu görülmüştür. Kalıcı preparatlar hazırlanarak incelenip, fotoğrafları çekilmiştir.

Tür tayinleri, ilgili literatürler (13-15) ışığında yapılmış, ayrıca İsrail Hebrew Üniversitesi'nden Prof. Dr. Kosta Y. Mumcuoğlu'ndan yardım alınmıştır. Buna rağmen teşhis edilemeyen 2 farklı akarın (Şekil 1, 2) teşhis edilememe sebebinin, preparat kalitesi sorunları ya da yeni türler olabileceği şeklinde değerlendirilmektedir.

Çalışma ev tozu akarları üzerinde yapıldığından hasta ve hasta materyali kullanılmadığından dolayı etik kurul onayı gerektirmemektedir. Hasta ve hasta materyali kullanılmadığından hasta onayı gerektirmemektedir.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler nominal (sınıflama) ölçekli ve görüşmeyi kabul eden hane sayısı 50 olduğundan, parametrik olmayan yöntemlerden ki-kare analizi ile değerlendirilmiştir. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

İstanbul'da %66,7 oranında, Tekirdağ' da %38,5 oranında ev tozu akarına rastlanırken, Sivas'ta ev tozu akarına rastlanmamıştır ($p < 0,05$) (Tablo 1). Saptanan akar türleri yoğunluk sırasına göre; *Dermatophagoides pteronyssinus* (Şekil 3), *Euroglyphus maynei* (Şekil 4), *Tyrophagus putrescentiae* (Şekil 5), *D. farinae*, (Şekil 6), *Baloghella melis* (Şekil 7), *Paracheyletiella volgini* (Şekil 8), *Cheyletus* sp. (Şekil 9), *Histiosoma* sp. (Şekil 10), *Glycyphagus* sp. (Şekil 11), *Lepidoglyphus* sp. (Şekil 11) şeklindedir. Ayrıca akar yumurtalarına da rastlanmıştır (Şekil 12).

Bir ile dördüncü kat arasında %85,2 oranında ev tozu akarına rastlanırken, 5-8. kat arasında %13,0 oranında rastlanmıştır ($p < 0,05$) (Tablo 2).

Evde bitki bulunmasının ev tozu akarı bulunma durumuna etkisi istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 3a).

Evde hayvan bulunması, ev tozu akarına rastlanmasını etkilememiştir ($p > 0,05$) (Tablo 3b). Ancak papağan beslenen bir evden *Amblycera* takımına ait nimf ve erişkin evrede bitlere; başka bir evde ise *Demodex* cinsine ait akara rastlanmıştır (Şekil 13-15).

Haftada bir temizlik yapılan evlerde, ev tozu akar görülme sıklığının daha düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$) (Tablo 4). Evde sigara içilmesi durumunda, ev tozu akarına daha az oranda (%15,0) rastlanmıştır ($p < 0,05$) (Tablo 5a). Evin güneş alması durumunda, ev tozu akarı oranında düşüş gözlemlenmiştir ($p < 0,05$) (Tablo 5b). Evin ısıtılma şeklinin, ev tozu akarı bulunmasına etkisinin olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$) (Tablo 5c).

TARTIŞMA

Alerjik rahatsızlıkların öneminin saptanmasıyla, ev tozu akarları üzerine dünyanın pek çok yerinde prevalans, tiplendirme, etkili faktörler gibi konularda çalışmalar yapılmıştır. Hem ülkemiz hem de dünyanın farklı yerlerinde yaygın bir şekilde saptanan ev tozu akarları ile ilgili yapılmış olan araştırmalarda, özellikle sıcaklık ve nemin türlerin yayılışını etkilediği belirlenmiştir (1,16).

Marmara Bölgesi'nde yer alan İstanbul ve Tekirdağ illeri, ılıman iklimin görüldüğü illerdir. Toz örneklerinin alındığı Mayıs 2018-Ağustos 2018 tarihleri arasında ortalama 22,5 °C sıcaklık



Şekil 1. Tanımlanamayan tür (40X)



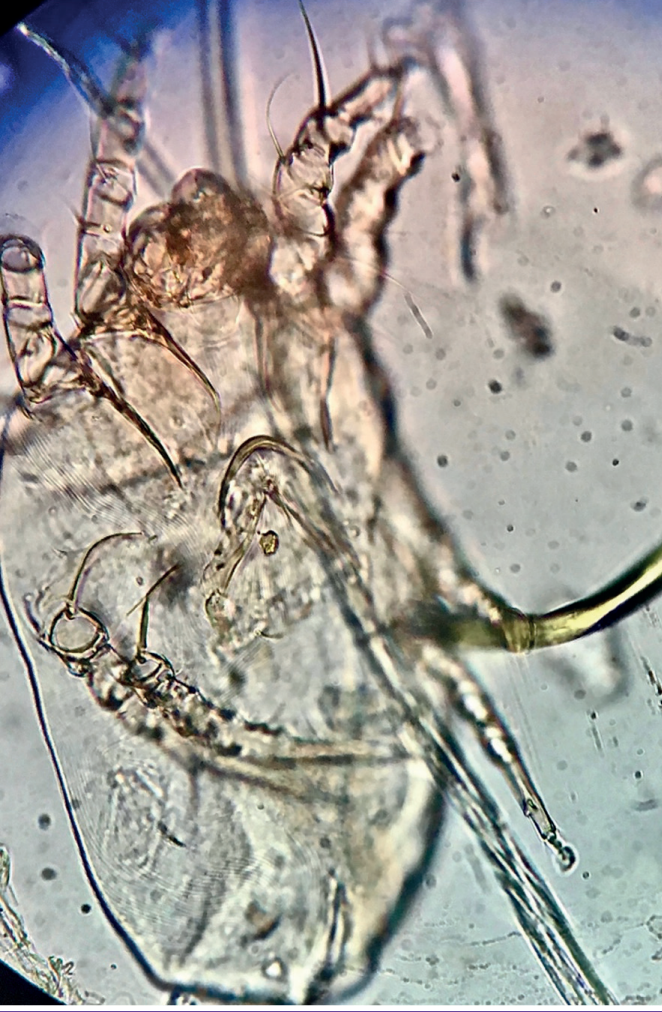
Şekil 2. Tanımlanamayan tür (40X)

ve %73,2 nispi nem oranına sahiptir. İç Anadolu Bölgesi'nde yer alan Sivas ili ise karasal iklim özelliklerinin hüküm sürdüğü ve toz örneklerinin alındığı aylar arasında 17,5 °C ortalama sıcaklığa ve %58 nispi nem oranına sahiptir (16). %60-80 nispi nem ve 20-30 °C sıcaklıkta optimal gelişme gösteren ev tozu akarlarının yaşaması ve çoğalması açısından İstanbul ve Tekirdağ illerinin Sivas'a kıyasla daha elverişli bir iklime sahip olduğu söylenebilir. Araştırmada karşılaştırma yapmak amacıyla aynı dönemde toplanan toz örneklerinde İstanbul'da %66,7 oranında, Tekirdağ'da

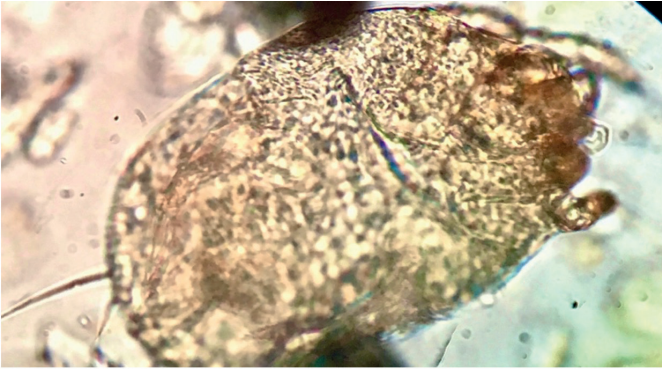
Tablo 1. Ev tozu akarı görülme durumu ile şehir arasındaki ilişki

Şehir	Negatif	Ev tozu akarı		X ²	SS	p	
		Pozitif					
İstanbul	n	8	16	40,295	2	0,000*	
	%	33,3	66,7				
	Tekirdağ	n	16				10
		%	61,5				38,5
	Sivas	n	50				0
		%	100,0				0

* $p < 0,05$, SS: Standart sapma



Şekil 3. *Dermatophagoides pteronyssinus* (dişi) (40X)

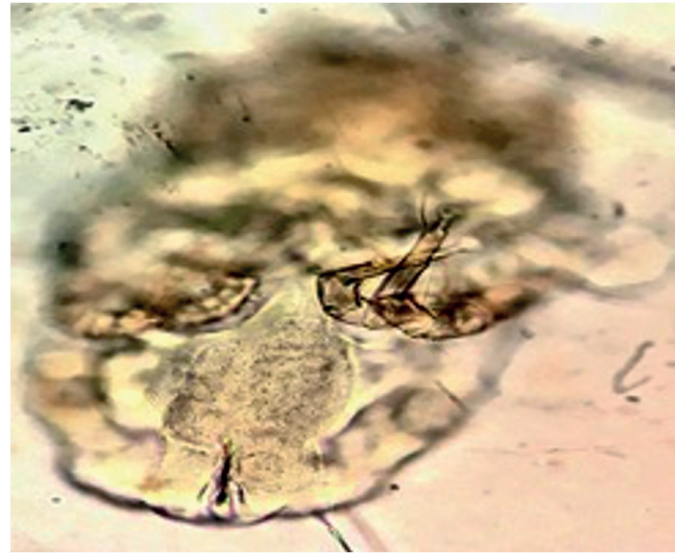


Şekil 4. *Euroglyphus maynei* (40X)

ise %38,5 oranında akar saptanmış, Sivas ilinden alınan örneklerde ev tozu akarına rastlanmamıştır. Aygan ve Özçelik (17), Sivas'ta yaptıkları çalışmada, evlerden, halı-kilim atölyelerinden Mayıs-Haziran aylarında aldıkları toz örneklerinde akara rastlayamamışlar, Ekim-Kasım aylarında topladıkları örneklerde ise %18 oranında ev tozu akarı saptamışlardır. Çalışmamızda Sivas'ta ev tozu akarına rastlanmaması bölgenin yaz mevsiminde nem oranının %50'nin altında seyretmesinden dolayı olduğu düşünülmektedir. İstanbul ve Tekirdağ illeri arasındaki oransal farkın ise İstanbul'daki nüfus yoğunluğu ve insan hareketliliğinin fazla olmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Eskişehir'de



Şekil 5. *Tyrophagus putrescentiae* (40X)



Şekil 6. *Dermatophagoides farinae* (dişi) (40X)

Şubat ayında yapılan çalışmada ev tozu akar pozitiflik oranını %16,67 olarak (11); Bursa'da yapılan çalışmada ise ev tozu akar pozitiflik oranı %34,38 olarak saptanmıştır (18). Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda evlerin akar bakımından pozitiflik oranlarına bakıldığında; Anadolu'nun 5 farklı bölgesinden alınan toz örneklerinde %24 oranında, Malatya'da %23,1, Kayseri'de %39,47 pozitiflik saptanmıştır (2).

Ev tozu akar duyarlılığı bölgenin coğrafik özelliklerinden etkilenmektedir. Ülkemizin 7 farklı coğrafik bölgesini içeren 45



Şekil 7. *Baloghella melis* (protonimf) (40X)



Şekil 8. *Parachyletiella volgini* (parçalanmış) (40X)

şehirden toplanan ev tozlarında Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde akara rastlanmazken; Karadeniz Bölgesi'nde %46, Akdeniz Bölgesi'nde %48 akar varlığı belirlenmiştir (12).

Konuyla ilgili yurt dışında yapılan çalışmalar incelendiğinde; Polonya'da ev tozu örneklerinin %56'sı; İspanya'da ise %99,4'ü akarlar enfeste olarak saptanmıştır. Tropikal iklime sahip Singapur'da ise pozitiflik oranı %97 olarak bildirilmektedir. Ev tozu akarlarının, Avrupa, Amerika, Asya, Güney Amerika, Yeni Zelanda ve Avustralya'da yaygın olarak bulunduğu bildirilmektedir (19-21). İsrail'de ülkenin kırsal kesiminde %97 oranında ev tozu



Şekil 9. *Cheyletus* sp. (40X)



Şekil 10. *Histiosoma* sp. (40X)

akar pozitifliği belirlenirken; İran'ın Bandar Abbas şehrinde %88 oranında ev tozu akar pozitifliği görülmektedir (2).

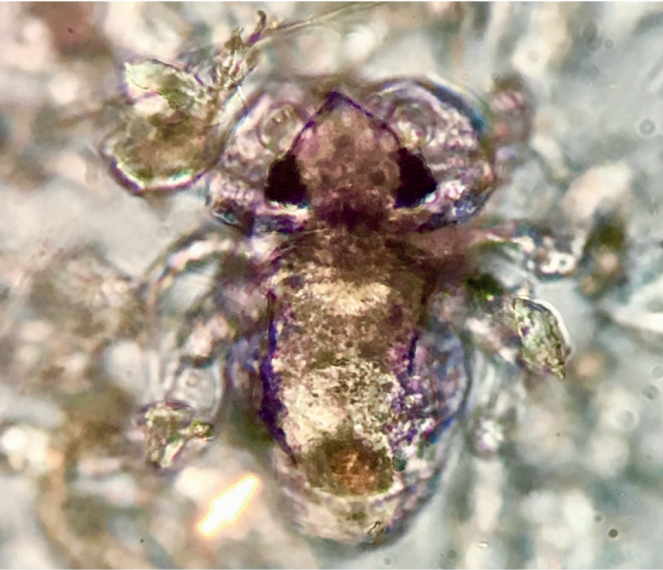
Marmara Bölgesi'ndeki pozitif örneklerde baskın türün *D. pteronyssinus* olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Aykut ve Yılmaz (1), Muş'un Hasköy ilçesinde ev tozu örnekleriyle yaptıkları çalışmada, Mayıs ve Haziran aylarında diğer akar



Şekil 11. *Glycyphagus* sp. (solda) *Lepidoglyphus* sp. (ortada) *Dermatophagoides* sp. (sağda) (10X)



Şekil 12. Akar yumurtası (40X)



Şekil 13. *Amblycera* nimf (40X)

türlerine göre daha yüksek oranda *D. pteronyssinus* türünü; Mutlu ve ark. (22) ise Giresun'da Kasım 2016 ve Ekim 2017 tarihleri arasında yaptıkları çalışmada baskın tür olarak *D. pteronyssinus* türünü saptamıştır. Ülkemiz genelinde baskın tür olarak *D. pteronyssinus* görülürken; araştırmaların bir kısmında *D. farinae* varlığından bahsedilmektedir (4). Bu türlerden *D. farinae* Amerikan ev tozu akarı, *D. pteronyssinus* Avrupa ev tozu



Şekil 14. *Amblycera* erişkin (parçalanmış) (10X)



Şekil 15. *Demodex* sp. (parçalanmış) (40X)

akarı olarak da bilinmektedir. Ancak her iki tür de dünya geneline yayılmıştır (23). Bu çalışmada sadece bir evde *D. farinae* varlığı saptanmıştır. Bununla beraber çalışmada *D. pteronyssinus*'un baskın tür olarak belirlenmesi gerek yurt içi gerekse yurt dışı araştırma sonuçlarıyla paralellik arz etmektedir. Ayrıca İsveç'in Gotland kentinde depo akarlarından *Lepidoglyphus* cinsinin saptandığı ve özellikle nemli yerlerde ev tozu akarı olarak

Tablo 2. Ev tozu akarı görülme durumu ile kat yüksekliği arasındaki ilişki

			Ev tozu akarı		X ²	SS	p
			Negatif	Pozitif			
Kat	1-4	n	4	23	25,897	1	0,000*
		%	14,8	85,2			
	5-8	n	20	3			
		%	87,0	13,0			

*p<0,05, SS: Standart sapma

Tablo 3a. Ev tozu akarı görülme durumu ile evde bitki olması arasındaki ilişki

			Ev tozu akarı		X ²	SS	p
			Negatif	Pozitif			
Evde bitki var mı?	Bitki yok	n	14	14	0,102	1	0,749
		%	50,0	50,0			
	Bitki var	n	10	12			
		%	45,5	54,5			

Tablo 3b. Ev tozu akarı görülme durumu ile evde hayvan olması arasındaki ilişki

			Ev tozu akarı		X ²	SS	P
			Negatif	Pozitif			
Evde hayvan var mı?	Hayvan yok	n	20	22	0,015	1	0,902
		%	47,6	52,4			
	Hayvan var	n	4	4			
		%	50,0	50,0			

SS: Standart sapma

Tablo 4. Ev tozu akarı görülme durumu ile evde temizlik yapma sıklığı arasındaki ilişki

			Ev tozu akarı		X ²	SS	p
			Negatif	Pozitif			
Temizlik yapma sıklığı	Haftada bir	n	23	5	29,721	1	0,000*
		%	82,1	17,9			
	15 günde bir	n	1	21			
		%	4,5	95,5			

*p<0,05, SS: Standart sapma

Tablo 5a. Ev tozu akarı görülme durumu ile evde sigara içme arasındaki ilişki

			Ev tozu akarı		X ²	SS	p
			Negatif	Pozitif			
Evde sigara içme	Yok	n	7	23	18,283	1	0,000*
		%	23,3	76,7			
	Var	n	17	3			
		%	85,0	15,0			

*p<0,05, SS: Standart sapma

bulduğunu, alerjik duyarlılığa neden olduğu belirtilmektedir. İspanya'da alerjik hastaların %50'sinin *G. domesticus* türlerine karşı deri reaksiyonuna gösterdikleri belirlenmiştir. Güney Kore'de *T. putrescentiae*'nin ev tozlarında düşük oranda bulunduğu bildirilmektedir (21). Çalışmamızda da bu tür akarlar düşük yoğunlukta rastlanmıştır.

Evin bulunduğu kat ile akar varlığı arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur. Bütün katların değerlendirildiği çalışmamızda; bir ila dördüncü kat arasındaki evlerde %85,2 oranında akar varlığına rastlanırken, 5-8. kat arasında bu oranın hayli düştüğü görülmüştür. Mutlu ve ark. (22) ise Giresun'da yaptıkları çalışmada, evin konumuna göre ara katlarda Mayıs ve Haziran

Tablo 5b. Ev Tozu Akarı Görülme Durumu ile Evin Güneş Alma Durumu Arasındaki İlişki

			Ev tozu akarı		X ²	SS	p
			Negatif	Pozitif			
Evin güneş alma durumu	Güneş yetersiz	n	3	20	20,852	1	0,000*
		%	13,0	87,0			
	Güneş yeterli	n	21	6			
		%	77,8	22,2			

Tablo 5c. Ev Tozu Akarı Görülme Durumu ile Evin Isıtılması Arasındaki İlişki

			Ev tozu akarı		X ²	SS	p
			Negatif	Pozitif			
Isınma	Doğalgaz/kalorifer	n	19	24	7,513	3	0,057
		%	44,2	55,8			
	Isıtıcı tek oda	n	0	2			
		%	0,0	100,0			
	Alttan ısıtma	n	2	0			
		%	100,0	0,0			
	Klima	n	3	0			
		%	100,0	0,0			

*p<0,05, SS: Standart sapma

aylarında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oranda akar varlığını bildirmişlerdir.

Ev tozu akar görülme durumu ile evde bitki ve/veya hayvan olması arasındaki ilişki incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir. Bizim çalışmamıza benzer bir şekilde Aycan ve ark. (24), Malatya ilinde yaptıkları çalışmada evde bitki ve/veya hayvan bulunmasının akar mevcudiyetine etkisi olmadığı sonucunu iletilmişlerdir. Bu durum özellikle hayvan beslenen evlerin tüy, koku vb. durumlardan ötürü sık temizlenmesi ile ilişkilendirilebilir.

Literatürden ayrıcalıklı olarak temizlik yapılma sıklığının evde akar bulunmasıyla ilişkisinin araştırıldığı çalışmada; haftada bir temizlik yapılan evlerde daha düşük oranda ev tozu akarına rastlanırken, 15 günde bir temizlik yapılan evlerde bu oran artmaktadır. Erzincan, Malatya ve Muş'ta yapılan çalışmalarda ise süpürme sayısı ile akar mevcudiyeti ilişkisi araştırılmış ve süpürme sayısı arttıkça akar sayısının azaldığı bildirilmiştir (1,2,4).

Evin havalandırılması ile ilişkili olduğu düşünülen evde sigara içilmesiyle, ev tozu akarı görülme durumu arasındaki ilişkide sigara içilen evlerde daha az oranda (%15), sigara içilmeyen evlerde daha yüksek oranda (%85) ev tozu akarına rastlanmıştır. Malatya'da yapılan bir çalışmada; evlerin havalandırılması, tozlarının alınması, zeminin silinmesi gibi durumları ayrı ayrı incelenmiş ve hiç havalandırılmayan evlerde %85,7 oranında akar pozitifliği saptanmıştır. Ayrıca iklim şartları uygun olmayan bölgelerde sık olmayan şekilde yapılan havalandırmanın dahi etkili olabileceğini göstermişlerdir (23).

Evin güneş alma durumu ile ev tozu akar görülmesi arasındaki ilişkide, yetersiz güneş ışını alanlarda %87 oranında akar varlığına rastlanırken, evin güneş alma durumu yeterli olanlarda ev tozu akar oranının düştüğü (%22) görülmüştür. Yapılan çalışmalarda ortam sıcaklığının ve ultraviyole ışınlar maruziyetinin ev tozu akarlarının tüm yaşam dönemleri üzerine öldürücü etkisi olduğu gösterilmiştir (24,25).

Evin ısıtılma şekli ile akar varlığı arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanan çalışmamız Aycan ve ark.'nın (24) Malatya'da yaptığı çalışma ile benzerlik gösterirken; budak sobalı evlerde, kaloriferli evlere göre daha yüksek oranda akar mevcudiyeti olduğunu bildirmiştir.

SONUÇ

Evlerdeki tozlarda akar görülme sıklığını;

- İklim ve coğrafya,
- Evin bulunduğu kat,
- Evin temizlenme sıklığı,
- Evde sigara içilme durumu (havalandırma),
- Evin güneş alma durumu gibi faktörlerin etkilediği belirlenmiştir.

Çalışmamızda, Mayıs 2018-Ağustos 2018 arası dönemde, ılıman iklim özelliği gösteren Tekirdağ ve İstanbul illerinde ev tozu akarına yüksek oranda rastlanırken aynı dönemde, karasal iklim özelliğine sahip Sivas ilinden toplanan örneklerde ev tozu akarına rastlanmamıştır. Alerjik hastalığı olan kişilerin, kalıcı ikamet için coğrafi konum, rakım, nispi nem oranı ve sıcaklık gibi değerlerin yanı sıra, evin güneş alma açısından cephe özelliğini ve kat yüksekliğini dikkate almaları önerilebilir. Ayrıca duyarlı kişilere, evlerinde akar kontrolü için özellikle yatak, yastık ve halı temizliğini sık yapmaları, genel ev temizliğini haftada bir olarak yapmaları/yaptırmaları ve mümkünse temizlik esnasında maske takmaları, evi sık sık havalandırmaları gibi hususlara dikkat etmeleri önerilmektedir. Evde hayvan ya da bitki bulunmasının ev tozu akar görülme sıklığı açısından bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Alınan önlemlere rağmen aşırı duyarlılık belirtileri gösteren bireylerin, evlerinde alerjen kaynağının belirlenmesi hususunda hekimleri ile temasa geçmeleri önerilir. Tüm bu sonuçlara ek olarak çalışmamızda İstanbul ilinde deniz kıyısındaki

müstakil bir evde tespit edilen *Baloghella melis*'in Türkiye için yeni kayıt olduğu saptanmıştır. Çalışmamız bu yönüyle de Türkiye ev tozu akar faunasına katkı sağlamaktadır.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışma ev tozu akarları üzerinde yapıldığından hasta ve hasta materyali kullanılmadığından dolayı etik kurul onayı gerektirmemektedir.

Hasta Onayı: Hasta ve hasta materyali kullanılmadığından hasta onayı gerektirmemektedir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

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

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

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

KAYNAKLAR

1. Aykut M, Yılmaz H. Muş'un Hasköy ilçesinde ev tozu akarlarının yayılışı [Distribution of house dust mites in Hasköy town, Muş]. Türkiye Parazit Derg 2010; 34: 160-3.
2. Zeytun E. Erzincan İli Ev Tozu Akarları, Alerjik Astım ve Alerjik Rinit İle Olan İlişkisi. Doktora Tezi, Erzincan Üniversitesi: 2015.
3. Kılınçarslan E. Kayseri'de Ev Tozu Akarlarının Yayılışı. Parazitoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi Ankara Üniversitesi: 2012.
4. Atambay M, Aycan OM, Daldal N. Malatya'da ev tozu akar faunası [House dust mite fauna in Malatya]. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 205-8.
5. Calderón MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J, De Blay F, Hernandez Fernandez de Rojas D, Virchow JC, et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? J Allergy Clin Immunol 2015; 136: 38-48.
6. Nankervis H, Pynn EV, Boyle RJ, Rushton L, Williams HC, Hewson DM, et al. House dust mite reduction and avoidance measures for treating eczema. Cochrane Database Syst Rev 2015;1:008426.
7. Ertabaklar H, Yaman S, Ertuğ S. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Parazitoloji Laboratuvarına Gönderilen Ev Tozlarında Akar Sıklığının Araştırılması. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 29-31.
8. Akdemir C, Gürdal H. Kütahya'da ev tozu akarları [House dust mite in Kutahya, Turkey]. Türkiye Parazit Derg 2005; 29: 110-5.
9. Atambay M, Aycan ÖM, Yoloğlu S, Karaman Ü, Daldal N. Alerjik Deri Testi İle Ev Tozu Akarı Arasındaki İlişki. Türkiye Parazit Derg 2006; 30: 327-9.
10. Cevizci S, Gökçe S, Bostan K, Kaypmaz A. Depo gıdalarını ve peynirleri enfeste eden akarlar halk sağlığı açısından bakış [A view of mites infestation on cheese and stored foods in terms of public health]. Türkiye Parazit Derg 2010; 34: 191-9.
11. Doğan N, Aycan OM, Miman O, Atambay M, Daldal N. Eskişehir'de Ev Tozu Akarı Görülme Durumu [Determination of house dust mites in Eskişehir]. Türkiye Parazit Derg 2008; 32: 139-41.
12. Demirtaş N. Astımlı Hastalarda Ev İçi Ortam Değerlendirmesi ve Atopik Özellikleri. Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Aydın: 2008
13. Colloff M. Dust Mites. 1st ed. Jointly published with CSIRO Publishing, Collingwood, Australia: 2009.
14. Wurst E, Pfister T. On the biology of *Baloghella melis* Mahunka, 1963 (Acari: Acaridida: Glycyphagidae). Bonn Zool Beitr 1990; 41: 157-62.
15. Lee WK, Choi WY. [Studies on the mites (Order Acarina) in Korea: I. Suborder Sarcopiformes]. Kisaengchunghak Chapchi 1980; 18: 119-44.
16. <https://www.mgm.gov.tr/Tekirdağ/İstanbul/Sivas>.
17. Aygan Ç, Özçelik S. Sivas Yöresinde Ev Tozu Akarlarının Yaygınlığı ve Atopik Alerjideki Rolü. Türkiye Parazit Derg 2002; 26: 186-91.
18. Güleğen E, Gırışgın O, Kütükoğlu F, Gırışgın AO, Coşkun SZ. Bursa evlerinde bulunan ev tozu akar türleri [Mite species found in house dust in houses in Bursa.]. Türkiye Parazit Derg 2005; 29: 185-7.
19. Solarz K. Indoor mites and forensic acarology. Exp Appl Acarol 2009; 49: 135-42.
20. Chew FT, Zhang L, Ho TM, Lee BW. House dust mite fauna of tropical Singapore. Clin Exp Allergy 1999; 29: 201-6.
21. Thomas WR. Geography of house dust mite allergens. Asian Pac J Allergy Immunol 2010; 28: 211-24.
22. Mutlu D, Akdemir C, Uzunoğlu E, Direkel Ş, Cebeci Güler N. Giresun İlinde Ev Tozu Akarlarının Yaygınlığı ve Epidemiyolojisi Üzerine Araştırmalar. Türkiye Parazit Derg 2019; 43: 78-82.
23. Skelton AC, Cameron MM, Pickett JA, Birkett MA. Identification of neryl formate as the airborne aggregation pheromone for the American house dust mite and the European house dust mite (Acari: Epidermoptidae). J Med Entomol 2010; 47: 798-804.
24. Aycan ÖM, Atambay M, Daldal ÜN. Ev Tozu Akarlarının Görülme Durumunun Sosyal Değişkenler Açısından İncelenmesi. Türkiye Parazit Derg 2007; 31: 219-24.
25. Lah EF, Musa RN, Ming HT. Effect of germicidal UV-C light (254 nm) on eggs and adult of house dustmites, Dermatophagoides pteronyssinus and Dermatophagoides farinae (Astigmata: Pyroglyphidae). Asian Pac J Trop Biomed 2012; 2: 679-83.

Concomitant Presence of Hydatid Cyst and Colorectal Liver Metastasis

Kist Hidatik ve Kolorektal Karaciğer Metastazının Eşzamanlı Varlığı

✉ Jurica Zedelj¹, ✉ Igor Petrovic¹, ✉ Goran Pavlek¹, ✉ Trpimir Moric², ✉ Marijan Romc³,
✉ Hrvoje Silovski¹, ✉ Renata Romc⁴, ✉ Ivan Romc¹

¹University Hospital Centre Zagreb Faculty of Medicine, Department of Surgery, Zagreb, Croatia

²University Hospital Centre, Department of Gastroenterology, Zagreb, Croatia

³University Hospital Sestre Milosrdnice, Department of Surgery, Zagreb, Croatia

⁴Dom Zdravlja Center, Zagreb, Croatia

Cite this article as: Zedelj J, Petrovic I, Pavlek G, Moric T, Romc M, Silovski H, Romc R, Romc I. Concomitant Presence of Hydatid Cyst and Colorectal Liver Metastasis. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2021;45(2):146-148.

ABSTRACT

A 65-year-old man, with signs of acute colon obstruction, was diagnosed with rectal tumour and liver hydatid cyst. Additionally, a focal liver lesion in segment 1 was detected. Moreover, physical examination revealed hepatomegaly and abdominal distension. Thus, rectal resection and small liver lesion biopsy was performed. Serological and pathohistological analyses showed concomitant presence of hydatid cyst and colorectal metastasis in the liver. Hence, the cyst was treated with anthelmintic therapy, and patient lived another year after the diagnosis. To the best of our knowledge, cases of concomitant hydatid cyst and colorectal liver metastasis has never been reported; thus, this article addresses a unique case of coexistence between these two serious liver diseases.

Keywords: Hydatid cyst, metastasis, liver

ÖZ

Akut kolon tıkanıklığı bulguları olan 65 yaşında erkek hastada rektal tümör ve karaciğer kist hidatiki ve segment 1'de fokal karaciğer lezyonu saptandı. Hastanın fizik muayenesinde hepatomegali ve abdominal distansiyon mevcuttu. Rektal rezeksiyonu ve daha küçük olan lezyonun karaciğer biyopsisi yapıldı. Serolojik ve histopatolojik analizde karaciğerde kist hidatik ve kolorektal metastaz varlığı eşlik etti. Kist antelmintik tedavi ile tedavi edildi ve hasta tanıdan 1 yıl sonra halen yaşamaktaydı. Bildiğimiz kadarıyla bugüne kadar eşzamanlı kist hidatik ve kolorektal karaciğer metastazı olgusu bildirilmemiştir. Bu nedenle mevcut makale bu iki ciddi karaciğer hastalığının bir arada var olduğu benzersiz bir olguyu ele almaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kist hidatik, metastaz, karaciğer

INTRODUCTION

Hydatid cyst is a parasitic endemic zoonosis caused by the tapeworm *E. granulosus* that is mostly found in the small intestine of dogs while sheep are intermediate hosts. After ingestion, usually through contaminated water or food, the eggs hatch in the intestine, penetrate the intestinal wall, and reach the liver via portal vein. Other target organs are most commonly lung, brain and heart. Serologic tests and computerized tomography (CT) are required to confirm the diagnosis (1). CT scan is highly specific and it can provide information on the location, size and structure of

the cyst. Surgical removal of cyst is the mainstay of treatment, but percutaneous treatment or medical therapy with albendazole are alternative method in selected patients (2). There are sporadic reports on hepatocellular carcinoma associated with synchronous hydatid cyst, but to the best of our knowledge, no case of concomitant colorectal liver metastasis and hydatid cyst has been reported thus far in the literature (3,4). The present case suggests that multiple cystic liver lesions should be evaluated meticulously in order to prevent misdiagnosis. Written informed consent was obtained from the patient.



Received/Geliş Tarihi: 01.06.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 27.08.2020

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Ivan Romc, University Hospital Centre Zagreb Faculty of Medicine, Department of Surgery, Zagreb, Croatia

Phone/Tel: +00385/01 2388 888 E-mail/E-Posta: i.romc@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0003-4545-2118

CASE REPORT

A 65-year-old male patient was admitted to our hospital complaining of obstipation, nausea, abdominal pain and distension. He reported weight loss (15 kg), blood in stool and intermittent fevers over a period of 3 months. Prior diseases included arterial hypertension and chronic obstructive pulmonary disease. He lived in a rural area, 20 kilometers far from the Adriatic coast (northernmost arm of the Mediterranean). He and worked on a sheep farm for the last 5 years and was in daily contact with domestic cats and dogs. The patient denied recent travel or known infectious diseases. Clinical examination revealed hepatomegaly and abdominal distension and laboratory findings were as follows: hemoglobin 76 g/dL, white blood count 16.7/mm³ with 82% of neutrophils, C-reactive protein 90.2 mg/L, total bilirubin 3.57 mg/dL, aspartate aminotransferase 122 U/L and alanine aminotransferase 87 U/L. Abdominal computerized tomography showed a large cystic lesion of the liver measuring 21x15x17 cm which included membranes (snake/serpent sign) located in the right lobe of the liver (Figure 1A, white arrow). There was a small area of hypodense fluid within the described cyst (Figure 1B, red arrow). Another hypodense oval liver lesion of open etiology measuring 2.8 cm was found in first liver segment (Figure 2 and Figure 3A-C, blue arrow). Differential diagnosis included daughter cyst or liver tumor, although, there were no

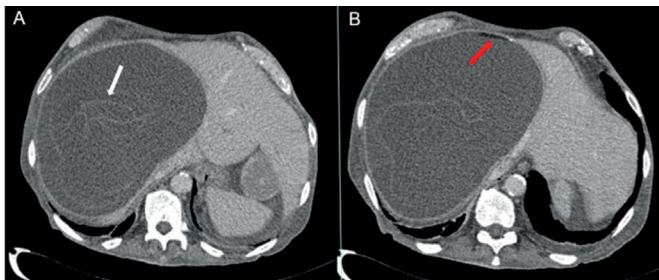


Figure 1. Axial CT projections showing: A) Large hydatid cyst occupying right liver lobe with multiple floating membranes inside the lesion (white arrow), B) Intracystic fluid level (red arrow)
CT: Computerized tomography

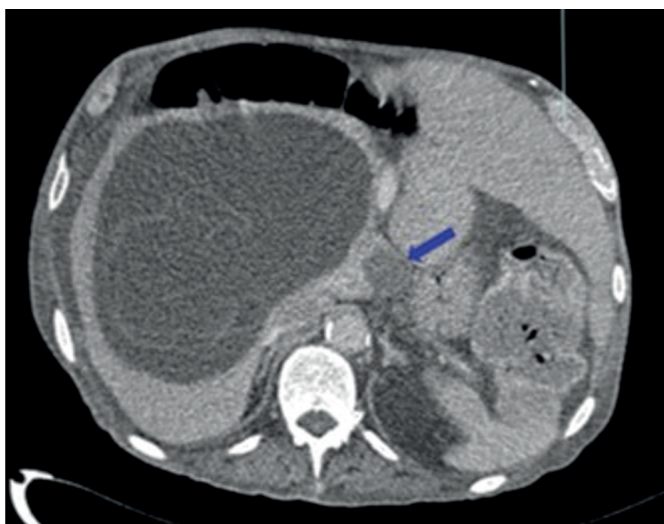


Figure 2. Axial CT projections showing hypodense liver lesion in the first segment
CT: Computerized tomography

signs of membranes as seen within the larger cyst, so the tumor was highly suspicious of being a metastasis of primary digestive tumor. Considering this, colonoscopy was performed that verified obstructive tumor at the upper rectum.

Urgent surgical procedure was performed and included rectosigmoid resection with colostomy, and biopsy of smaller liver lesion. Hydatid cyst was not managed due to high operative risk. The postoperative course proceeded without any complications. Pathohistological analysis confirmed primary adenocarcinoma (T4,N1,M1,G3) with liver metastasis and Echinococcus indirect hemagglutination test was positive at a titre of 1/1,280.

The patient was further treated with chemotherapy anti-echinococcal treatment with albendazole. One year after surgery, patient is still alive, and has no symptoms related to liver lesions.

DISCUSSION

Cystic echinococcosis is zoonotic parasitic disease that may have serious consequences in untreated cases. It still remains a significant health problem in endemic regions and sheep-raising agricultural areas such as Mediterranean, South-eastern Europe, Middle East, South America and Oceania (5). In modern health systems with advanced imaging techniques, the diagnosis of liver echinococcosis is usually straight-forward, but more complex aspects of hydatid cyst may also mimic solid hepatic masses (6). Study from Mor et al. (7) suggests that hydatid cyst is still an important health problem in specific areas with up to 40.0% sero-positivity rate and it found correlation between low socioeconomic level and hydatid cyst prevalence. Therefore, authors conclude that emphasizing public health trainings and improvement of hygiene awareness may be effective in fighting against this disease (7).

Differential imaging considerations in focal liver lesions include a variety of disorders: hemangioma, hepatic cysts, tumors, focal nodular hyperplasia, hepatic adenoma, multifocal fatty infiltration, biliary hamartomas, liver abscesses or non-Hodgkin lymphoma (8).

Furthermore, hydatid cysts with synchronous non-infectious liver lesions may pose even greater diagnostic and therapeutic challenge. Firstly, synchronous liver lesions may be misinterpreted as additional hydatid or daughter cyst and in case of malignant disease, it may delay appropriate treatment. Secondly, multiple

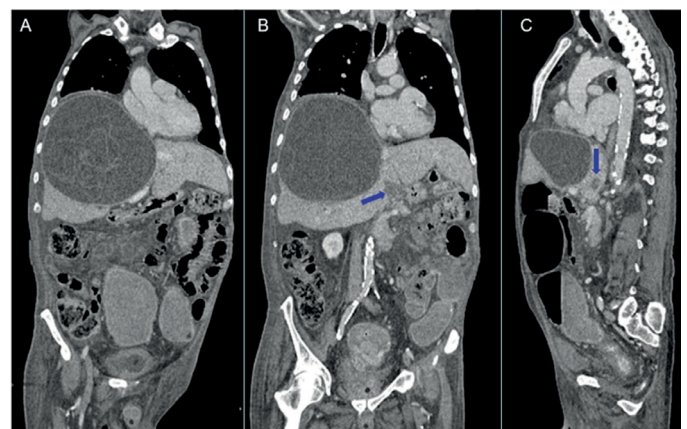


Figure 3. Axial (A and B) and sagittal (C) CT projections showing hydatid cyst and tumor (blue arrow)
CT: Computerized tomography

hydatid cysts may mimic other liver lesions which requires additional imaging methods to rule out liver tumors. Therefore, if more cystic lesions are discovered in a patient with highly suspected hydatid cyst, clinicians should be aware of the possibility that all cystic lesions are not of the same origin (7,8).

Consequently, it is important to look for daughter vesicles or membranes within all lesions that may help in differential diagnosis. CT usually shows internal septa, floating membranes or daughter vesicles and sometimes are cysts surrounded by calcified ringlike wall and cysts appear as a well-defined water-attenuation mass. Detachment of the laminated membranes from the pericyst are visualized as linear areas of increased attenuation [so called (snake/serpent sign)] and may be sign of hydatid cyst damage, degeneration or contained rupture. Intracystic air-fluid level is a possible sign of super-infection. At CT, a use of intravenous contrast is important in differentiation of hydatid from simple liver cysts and tumors. Liver metastases are typically hypoattenuating and hypodense on unenhanced CT, enhancing less than surrounding liver after contrast application (8).

Percutaneous aspiration-injection-reaspiration is a relatively novel method of hydatid cyst treatment and it shows high success rate and low rates of recurrence and complications so it should be considered an important alternative to surgery (9).

The impact of hydatid cyst on liver tumor occurrence or progression is out of scope of this paper and some articles described such relation, mostly for hepatocellular carcinomas, but we hypothesize that such large cysts may have protective role by suppressing development of multiple colorectal liver metastases. This may be explained by reduced liver parenchyma or anti-tumoral effect of the cyst. In addition, hydatid cyst symptoms may be a reason of earlier patient presentation. However, whether echinococcal infection is beneficial in patients with malignant liver tumors, still remains unclear and future studies on larger number of patients are required to draw reliable scientific conclusions (10-12).

CONCLUSION

Our article suggests that echinococcosis is still present in south-eastern Europe and should be considered in the differential diagnosis of abdominal pain with intermittent fevers. It must also be emphasized that synchronous liver masses should be investigated in order to rule out possible concomitant malignant disease, which will direct further treatment approach.

* Ethics

Informed Consent: Written informed consent was obtained from the patient.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

** Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: J.Z., Concept: J.Z., G.P., R.R., I.R., Design: H.S., T.M., Data Collection or Processing: J.Z., Analysis or Interpretation: H.S., I.R., Literature Search: M.R., T.M., Writing: J.Z., I.P., R.R., I.R.

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. Almulhim AM, John S. Echinococcus Granulosus. 2020 Aug 10. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publ.
2. Buttenschoen K, Carli Buttenschoen D. *Echinococcus granulosus* infection: the challenge of surgical treatment. *Langenbecks Arch Surg* 2003; 388: 218-30.
3. Karadas S, Dulger AC, Gonullu H, Bulut G, Beyazal M. Coexistence of hepatocellular carcinoma and cyst hydatid disease of the liver. *J Pak Med Assoc* 2014; 64: 1075-7.
4. Romic B, Romic I, Petrovic I, Romic M, Romic R, Romic M, et al. Synchronous Occurrence of Hepatocellular Carcinoma and Echinococcal Liver Cyst - Can Parasite Promote Carcinogenesis? Literature Review and Classification Proposal. *Chirurgia (Bucur)* 2016; 111: 297-303.
5. Junghans T, da Silva AM, Horton J, Chiodini PL, Brunetti E. Clinical management of cystic echinococcosis: state of the art, problems, and perspectives. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79: 301-11.
6. Bayrak M, Altintas Y. Current approaches in the surgical treatment of liver hydatid disease: single center experience. *BMC Surg* 2019; 19: 95.
7. Mor N, Diken Allahverdi T, Allahverdi E, Tekdoğan ÜY. Retrospective Evaluation of Patients Diagnosed with Cystic Echinococcosis at Kafkas University Faculty of Medicine's Surgical Outpatients Unit. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2018; 42: 196-201.
8. Amin MU, Mahmood R, Shafique M, Khan MS, Bilal A, Siddiqi HA. Pictorial review: Imaging features of unusual patterns and complications of hydatid disease. *J Radiol Case Rep* 2009; 3: 1-24.
9. Kasirga HE, Appak YC. Hepatik kistik ekinokokkozis: iki olgunun sunumu [Hepatic cystic echinococcosis: report of two cases]. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2013; 37: 285-7.
10. Bakoyiannis A, Delis S, Triantopoulou C, Dervenis C. Rare cystic liver lesions: a diagnostic and managing challenge. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 7603-19.
11. Gundogdu SB, Saylam B, Tez M. Cyst hydatid and cancer: the myth continues. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55: 150-1.
12. Oikonomopoulou K, Yu H, Wang Z, Vasiliou SK, Brinc D, Christofi G, et al. Association between *Echinococcus granulosus* infection and cancer risk - a pilot study in Cyprus. *Clin Chem Lab Med* 2016; 54: 1955-61.

Lichen Planus Due to Hirudotherapy

Hirudoterapiye Bağlı Liken Planus

✉ Munise Daye¹, ✉ Begüm Işık¹, ✉ Fahriye Kılınç²

¹Necmettin Erbakan University Meram Medical School, Department of Dermatology, Konya, Turkey

²Necmettin Erbakan University Meram Medical School, Department of Pathology, Konya, Turkey

Cite this article as: Daye M, Işık B, Kılınç F. Lichen Planus Due to Hirudotherapy. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):149-152.

ABSTRACT

Lichen planus is a traumatic (koebner positive), chronic, inflammatory and autoimmune disease affecting the oral and genital mucosa, scalp and nails. The Food and Drug Administration approved the use of medical leeches for therapeutic purposes (hirudotherapy) in 2004 to ensure flap nutrition in plastic surgery. A 34-year-old male patient was admitted to our dermatology outpatient clinic with a swollen, itchy and purple-coloured rash on legs and back for a month, and white and reticulated plaques in the mouth. It was learned that a week earlier, eight leeches was applied to both knees and ankles to alleviate knee and leg pain. The patient had no history of drug use. A punch biopsy was taken from the patient with a preliminary diagnosis of lichen planus and lichenoid drug reaction. The histopathological examination showed hyperkeratosis, irregular acanthosis and hypergranulosis. Systemic methylprednisolone, levocetirizine and topical methylprednisolone aceponate were planned for the therapy. To the best of our knowledge, the appearance of lichen planus after hirudotherapy was never reported in literature. Hence, physicians should keep in mind that lichen planus and similar dermatoses could be triggered due to hirudotherapy. The fact that lichen planus appeared a week after hirudotherapy does not necessarily mean that leeches were the cause of this phenomenon. Accordingly, it could be deduced that lichen planus was probably developed as a result of leech therapy.

Keywords: Hirudotherapy, leech therapy, lichen planus

ÖZ

Liken planus oral ve genital mukoza, saçlı deri ve tırnakları ekileyen travma ile tetiklenen (koebner pozitif) kronik, enflamatuvar, otoimmün bir hastalıktır. Tıbbi sülüklerin iyileşme amaçlı kullanımı (hirudoterapi) plastik cerrahide flep beslenmesini sağlamak için 2004 yılında Gıda ve İlaç İdaresi tarafından onaylanmıştır. Otuz dört yaşında erkek hasta, bir ay boyunca bacaklarda ve sırtında kabarıklık, kaşıntılı, mor renkli döküntü ve ağızda beyaz ağsı plaklarla dermatoloji polikliniğimize başvurdu. Başka ilaç kullanım öyküsü yoktu. Liken planus ve likenoid ilaç reaksiyonu ön tanısı alan hastadan punch biyopsisi alındı. Histopatolojik incelemede hiperkeratoz düzensiz akantoz ve hipergranüloz görüldü. Tedavi için sistemik metilprednizolon, levosetirizin ve topical metilprednizolon aseponat planlandı. Bildiğimiz kadarıyla hirudoterapi sonrası liken planus literatürde daha önce bildirilmemiştir. Hirudoterapiye bağlı olarak liken planus ve benzeri dermatozların tetiklenebileceği daima akılda tutulmalıdır. Liken planusun hirudoterapiden bir hafta sonra ortaya çıkması, sülüklerin bu fenomenin mutlak nedeni olduğu anlamına gelmez. Buna göre liken planusun muhtemelen sülük tedavisinin bir sonucu olarak geliştiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Hirudoterapi, sülük tedavisi, liken planus

INTRODUCTION

Lichen planus is a chronic, inflammatory, autoimmune disease that affects the skin, oral and genital mucosa, scalp, and nails (1,2). It usually starts acutely, and is often characterized by erythematous papules and plaques which appear in the forearms, and leg flexor surfaces, and usually is triggered by trauma (1). The use of leeches for therapeutic purposes (hirudotherapy) was approved by the Food and Drug Administration in 2004 to ensure flap nutrition and to salvage detached fingers, nose and ears in plastic surgery. In our country, in 2014, within the scope of the Traditional

and Complementary Medicine Practices (T&CM) regulation, leeches therapy was allowed in cases of degenerative joint diseases, lateral epicondylitis, and venous insufficiency after flap surgery (3).

In recent years, T&CM applications including hirudotherapy have been increasing (4). The aim of this report is to show that lichen planus could be developed after leech therapy.

CASE REPORT

A 34-year-old male patient was admitted to our dermatology outpatient clinic having had a swollen,



Received/Geliş Tarihi: 07.07.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 09.09.2020

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Munise Daye, Necmettin Erbakan University Meram Medical School, Department of Dermatology, Konya, Turkey

Phone/Tel: +90 532 606 26 30 E-mail/E-Posta: dr_munise@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-6614-1821

itchy, purple-colored rash on the legs as well as white, reticulated rashes in the mouth for the last 4 weeks.

The patient reported that a week earlier eight leeches were applied to both knees and ankles to alleviate his symptoms for knee and leg pain. During the following 4 weeks a rash appeared in his abdomen, arms, and genital area. He had no history of drug use. The examination of the patient revealed white plaques in the oral mucosa with reticular branching, as well as in the perimalleolar area and knees, which were the sites of leech application, but also in areas where leeches were not applied such as the lower extremities. Purple papules were observed around the penis, sacrum, forearm, and anterior abdominal wall (Figure 1-3).

A punch biopsy was taken from the patient with a preliminary diagnosis of lichen planus and lichenoid drug reaction. Histopathological examination revealed hyperkeratosis, irregular acanthosis, hypergranulosis, lymphocyte-dense band-like cell infiltration in the upper dermis, and infrequent dyskeratotic cells in the periphery of the epidermis (Figure 4, 5). The clinical and histopathologic diagnosis was this of lichen planus. We assume that that lichen planus developed as a result of hirudotherapy. The patient was treated with methylprednisolone 60 mg/day and levocetirizine once a week with a gradually reduced dose, as well as with topical methylprednisolone aceponate once a day. After two weeks, the patient's complaints subsided (Figure 6, 7). The patient is still being followed up at our clinic. Informed consent was obtained from the patient for the publication of this case report and images.



Figure 1. White plaques showing reticular branching were on the buccal mucosa

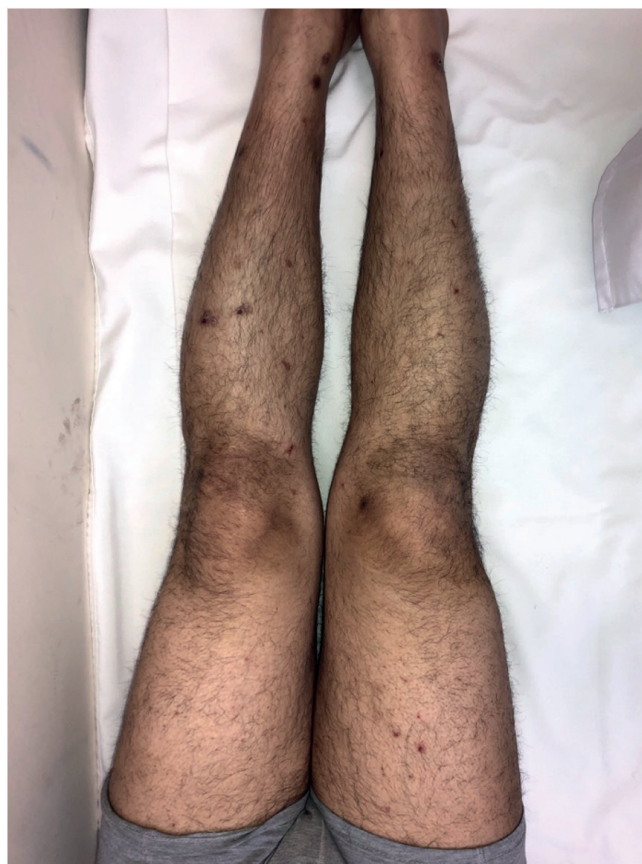


Figure 2. Purple, hypertrophic plaques in the lower limbs and diffuse lichen papules on the leg



Figure 3. Purple, hypertrophic plaque on the right perimalleolar region

DISCUSSION

Lichen planus is often found in women, but it also affects middle-aged adult males such as in our case. In the dermatological examination the flexor faces of the wrists and forearms, the dorsal side of the wrists, the front of the legs, the neck and sacral areas have polygonal shaped, purple, flat, itchy, and shiny papules. On the surface of the papules, fine white mesh lines, called Wickham lines, could be seen. Oral lichen planus has a white, lace, reticular appearance on the buccal mucosa (1,2).

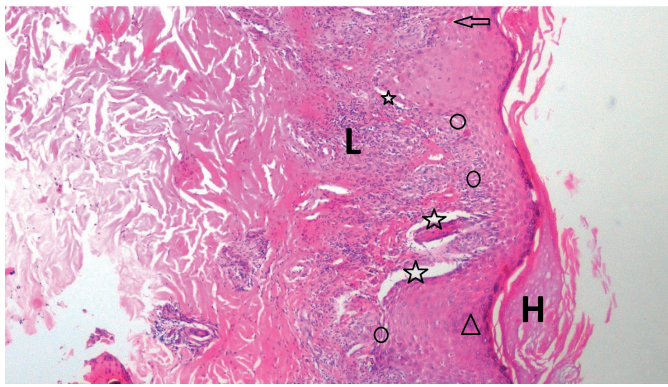


Figure 4. Hyperkeratosis (H), increased granular layer (triangle), lymphocytic infiltration (L), dyskeratotic cell (arrow) are seen in the histopathology (hematoxylin/eosin, image 4, 40x; image 5, 40x)

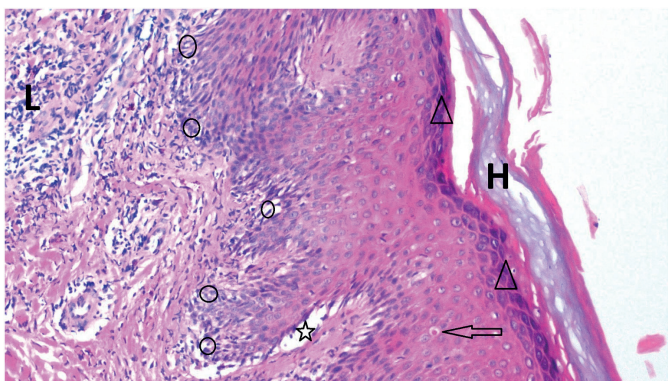


Figure 5. Hyperkeratosis (H), increased granular layer (triangle), lymphocytic infiltration (L), dyskeratotic cell (arrow) are seen in the histopathology (hematoxylin/eosin, image 4, 40x; image 5, 40x)

Leeches are ectoparasites and feed by sucking blood. *Hirudo medicinalis* and *Hirudo verbana* are used for treatment. There are more than 20 active ingredients in the saliva of leeches, having analgesic, anti-inflammatory, anticoagulant, and antimicrobial properties (5,6). Bioactive molecules such as eglins and bdellins in saliva can contribute to the treatment of psoriasis by decreasing erythema and vasodilation by displaying anti-inflammatory activity, and fibrinase and collagenase can reduce scar tissue, as such positive effects have been reported in the treatment of hypertrophic scar and keloid. Many substances in leech saliva have been observed to reduce itching by accelerating microcirculation, and reducing cells such as lymphocytes and inflammatory intermediates (4,7).

The etiopathogenesis of lichen planus is not yet fully understood. It has been found to be associated with triggers such as viral infections, autoimmune diseases, drugs, vaccines, and dental materials. It is thought that cell surface antigens change due to the damage in basal keratinocytes with triggers, causing the formation of lichen planus (1,2). The presence of CD8 + T lymphocytes in older lesions supports this autoimmune damage. This circulating T-cell migration plays an important role in the onset of the immune response (2). Lichen planus is a disease with an isomorphic response (koebner positive) that defines the emergence of a new lesion within two days to two years following traumatic stimulation of the skin (1). In our case, it was thought



Figure 6. Regression in white plaques on the buccal mucosa



Figure 7. Post-inflammatory macules on the lower limbs

that the lichen planus started with the reaction developed against one or more components of leech saliva. We assume that the Koebner phenomenon, which was formed due to the bite of the leech, also increased the severity of the disease.

It was reported that pyoderma gangrenosum has developed in the perimaleolar region after hirudotherapy in a case with ulcerative colitis, and this situation was explained by the phenomenon of pathergy (8). A case of cutaneous pseudolymphoma compatible with the applied place was detected after a leech was applied to the neck area. It has been suggested that pseudolymphoma occurs as a result of trauma secondary to the leech bite (9). Although lichen planus and lichenoid drug eruption are clinically similar, in lichenoid drug eruption, the lesions are polymorphic, devoid of Wickham striae and show marked desquamation. The symptoms occur weeks or months after taking the drug and the lesions regress when the drug is stopped. Although the age, gender, and hirudotherapy was compatible with lichenoid eruption in our case, the presence of Wickham striae, the lesions progressing with monomorphic papules, and the fact that the lesions did not regress despite the end of hirudotherapy, caused us to move away from lichenoid drug eruption. In our case, the histopathological findings were similar to idiopathic lichen planus.

In the treatment of lichen planus, emollients, glucocorticoids, calcipotriol, calcineurin inhibitors (pimecrolimus, tacrolimus) are used topically. Systemic steroids, acitretin, metronidazole, cyclosporin, mycophenolate mofetil, antimalarials, sulfasalazine, griseofulvin, hydroxychloroquine, and methotrexate, phototherapy can also be used (2). In our case, dermatological improvement was achieved within two weeks with a systemic and topical steroid treatment.

CONCLUSION

In our study, lichen planus possible due to hirudotherapy was the first case reported in the literature. Indications and contraindications of hirudotherapy, which is being used officially in hospitals, should be taken into consideration. Along with the increasing use of hirudotherapy, reports of side effects are likely to increase and physicians should be aware.

* Ethics

Informed Consent: Informed consent was obtained from the patient for the publication of this case report and images.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

** Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: M.D., B.I., F.K., Concept: M.D., B.I., F.K., Design: M.D., B.I., F.K., Data Collection or Processing: M.D., B.I., F.K., Analysis or Interpretation: M.D., B.I., F.K., Literature Search: M.D., B.I., F.K., Writing: M.D., B.I., F.K.

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. Sagi L, Trau H. The Koebner phenomenon. *Clin Dermatol* 2011; 29: 231-6.
2. Bologna J, Jorizzo J, Rapini R. Lichen Planus and Lichenoid Dermatoses. *Dermatology*, 2nd ed., Elsevier Inc 2008: p. 167-70.
3. Ayhan H, Mollahaliloğlu S. Tibbi sülük tedavisi: Hirudoterapi. *Ankara Medical Journal* 2018; 18: 141-8.
4. Gödekmerdan A, Arusan S, Bayar B, Sağlam N. Tibbi sülükler ve hirudoterapi [Medicinal leeches and hirudotherapy]. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2011; 35: 234-9.
5. Singh AP. Medicinal leech therapy (hirudotherapy): a brief overview. *Complement Ther Clin Pract* 2010; 16: 213-5.
6. Sig AK, Guney M, Uskudar Guclu A, Ozmen E. Medicinal leech therapy-an overall perspective. *Integr Med Res* 2017; 6: 337-43.
7. Iqbal A, Shah A, Quraishi HA, Rather SA, Raheem A. Effect of leech therapy in the management of psoriasis. *J Res Tradit Med* 2018; 4: 16-20.
8. Sadeghi A, Navabakhsh B, Izadi Vahedi N. Leech Induced Pyoderma Gangrenosum in an Ulcerative Colitis Patient: A Case Report. *Middle East J Dig Dis* 2016; 8: 63-6.
9. Temiz SA, Özer İ, Ataseven A, Dursun R, Fındık S. Cutaneous Pseudolymphoma Due to Hirudotherapy. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2019; 43: 50-2.

Şanlıurfa'da İki İmport *Plasmodium falciparum* Sıtma Olgusu

Two Imported *Plasmodium falciparum* Malaria Cases in Şanlıurfa

© Koray Öncel¹, © Ahmet Şahin², © Fatih Esmer²

¹Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Şanlıurfa, Türkiye

²Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Şanlıurfa, Türkiye

Cite this article as: Öncel K, Şahin A, Esmer F. Two Imported *Plasmodium falciparum* Malaria Cases in Şanlıurfa. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):153-156.

ÖZ

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2017 verilerine göre 219 milyon insanı tehdit eden ve 435 bin insanın ölümüne sebep olan sıtma halen önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Ülkemizde başarılı eradikasyon programları sonucunda son yıllarda yerli olgu görmememize rağmen, 2013-2017 yılları arasında bildirim yapılan import olguların sayısı ise yılda yaklaşık 200 civarındadır. Bu çalışmada, nadir görülen import sıtma olgularında giderek artan oranlarda görülmeye başlayan ve diğer *Plasmodium* türlerine nazaran daha ağır klinik tablo sergileyen *P. falciparum*'un etken olduğu sıtma olguları ile ilgili farkındalık yaratmayı amaçladık.

Anahtar Kelimeler: Sıtma, *Plasmodium falciparum*, import

ABSTRACT

In a 2017 data of World Health Organisation, malaria is still an important medical health care problem by threatening 217 million people and causing 435 thousand deaths. In our country, as a result of successful eradication programmes, any domestic cases were not encountered; however, approximately 200 import cases were seen each year from 2013 to 2017. This study aimed to create awareness for cases caused by *P. falciparum* that are increasingly seen in rare import cases, which displays more severe clinical course than other *Plasmodium* species.

Keywords: Malaria, *Plasmodium falciparum*, imported

GİRİŞ

Günümüzde halen önemli bir halk sağlığı sorunu olan sıtma, *Plasmodium* ailesine ait protozoonlar tarafından meydana getirilen bir enfeksiyon olup, enfekte dişi *Anopheles* cinsi sivrisineklerin ısırması ile insanlara bulaşmaktadır. İnsanı enfekte eden beş adet *Plasmodium* türü (*P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. falciparum*, *P. knowlesi*) mevcuttur (1-4).

Ateş sıtmanın ana belirtisi olup, periyodisite gösteren ya da göstermeyen aralıklarla ya da devamlıdır. Birçok olguda ateşe üşüme, titreme, terleme, baş ağrısı gibi diğer hastalıklarda görülen diğer semptomlar eşlik edebilmekte ve anemi, splenomegali gibi kronikleşme eğilimi gösteren belirtileri de içerebilmektedir. Sıtmanın belirtileri birçok ateşli hastalık ile benzerlikler göstermektedir (1,5,6).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2018 Dünya Sıtma Raporu'nda, 2017 yılında tahmini olarak 219 milyon

sıtma olgusu olduğu, çoğunluğu Afrika'da olmak üzere 435 binden fazla insanın ise hayatını kaybettiği bildirilmektedir (5). Sıtma halen dünyada enfeksiyon hastalıklarına bağlı ölüm nedenlerinde beşinci, Afrika kıtası özelinde ise ikinci sırada yer almaktadır (2,7).

Ülkemizde en yaygın tür *P. vivax* olup ülkemizde son yıllarda yurt dışı kaynaklı *P. falciparum* ve *P. malariae*'nin neden olduğu sıtma olgularına da rastlanmaktadır (1,8).

Bu çalışmada, nadir görülen import sıtma olgularında giderek artan oranlarda görülmeye başlayan ve diğer *Plasmodium* türlerine nazaran daha ağır klinik tablo sergileyen *P. falciparum*'un etken olduğu sıtma olguları ile ilgili farkındalık yaratmak amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU 1

Yirmi dokuz yaşında Afrika kökenli erkek hasta; ateş, terleme, titreme, halsizlik, baş ağrısı şikayetleri ile



Geliş Tarihi/Received: 15.11.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 30.01.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Koray Öncel, Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Şanlıurfa, Türkiye

Tel/Phone: +90 414 318 62 87 **E-Posta/E-mail:** korayoncel@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-9570-7636

Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'ne başvurmuştur. Hasta yaklaşık üç hafta önce Tanzanya ve Kenya'ya seyahat etmiş, on gün kaldıktan sonra Türkiye'ye dönmüş ve döndükten yaklaşık bir hafta sonra başlayan hastalık belirtilerinden bahsetmiştir. Hasta işi icabı vatandaşı da olduğu Afrika ülkelerine defalarca seyahat ettiğini ve hiçbir zaman kemoproflaksi almadığını belirtmiştir. Afrika'ya seyahat öyküsü dikkate alınarak sıtma ön tanısıyla ileri tetkik ve tedavi amacıyla kliniğimize kabul edilmiştir. Yapılan fizik muayenesinde ateşi 40 °C, bilinci açık ve koopere idi. Ultrasonografi (USG) ile de teyit edilen hepatosplenomegali dışında diğer fizik muayene bulguları normaldi. Kan tetkik sonuçlarına bakıldığında: Beyaz kan hücreleri (WBC): 3,516 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) (\downarrow), kırmızı kan hücreleri (RBC): 5,197 ($\times 10^6/\mu\text{L}$), hematokrit (HCT): %47,36, trombosit sayımı (PLT): 20,41 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) (\downarrow), kreatinin: 1,34 mg/dL (\uparrow), alanin aminotransferaz (ALT) serum glutamik pirüvik transaminaz (SGPT): 49,4 U/L (\uparrow), aspartat aminotransferaz (AST) serum glutamik oksaloasetik transaminaz (SGOT): 40,9 U/L (\uparrow), gama glutamil transferaz (GGT): 138 IU/L (\uparrow), laktat dehidrogenaz: 362 IU/L(\uparrow), C-reaktif protein (CRP): 147,94 mg/L (\uparrow). Sedimantasyon: 11 mm/h. Koagülasyon test (PT, uluslararası normalleştirilmiş değer, APTT, fibrinojen) değerleri normal sınır aralıklarındaydı. TIT: Eritrosit (+). Hepatit markırları ve TORCH grubu test sonuçları akut enfeksiyonu gösterir bir değer içermemekteydi. Brucella serolojisi: (-) negatif idi. Bu tetkiklere ek olarak kan kültür örnekleri de alındı ve üreme olmadı.

Kalın damla (Şekil 1) ve ince yayma (Şekil 2) kan preparatlarının Giemsa ile boyamasında sırasıyla; yoğun genç trofozoit formları görüldü ve %6,7 oranında parazit yoğunluğu saptandı. İnce yaymada ara formların görülmeyip sadece genç trofozoit formların görülmesi, tek bir eritrosit içinde birden fazla taşlı yüzük şekli (ring form) ve yüzük formlarında çiftli kromatin noktalanma (headphone) görülmesi sonucu *P. falciparum* tanısı konuldu. Gametosit görülmedi.

Hastaya artemether/lumefantrine (20 mg/120 mg) başlangıç dozu olarak 4 tablet, 8 saat sonra 4 tablet ve sonraki iki gün de 2x4 tablet olmak üzere üç günlük tedavi verildi. Trombositopeni nedeniyle bir ünite havuzlanmış trombosit süspansiyonu ve bir ünite taze donmuş plazma verildi. Tedavinin ikinci ve üçüncü gününde PLT sırası ile 80 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) (\downarrow)/120 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) (\downarrow) idi. Üç günlük tedavinin sonrasında yapılan periferik yaymasında parazit görülmedi. Yatışının dördüncü gününde genel durumu düzelen hasta, kontrollere gelme şartı ile taburcu edildi. Tedavi başlangıcından bir hafta ve bir ay sonra yapılan kontrol periferik yaymalarında parazit görülmedi.

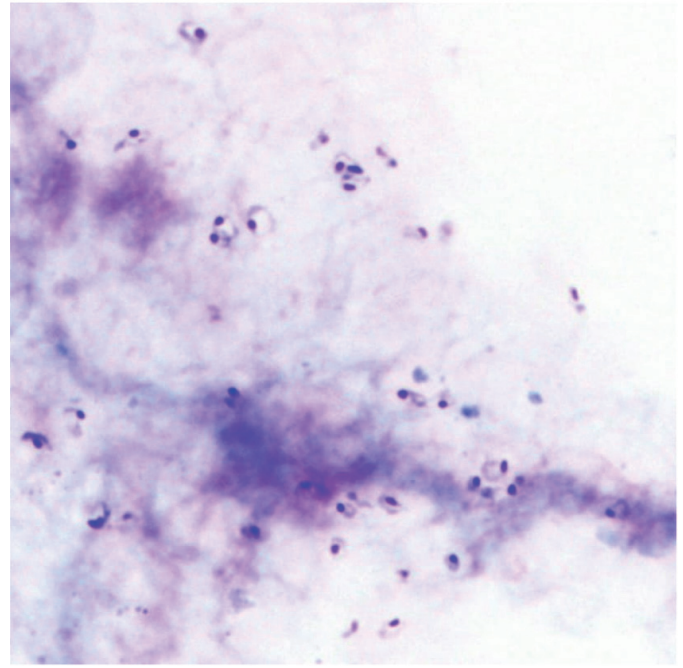
OLGU SUNUMU 2

Otuz dört yaşında erkek hasta; ateş, terleme, titreme, halsizlik, baş ağrısı, genel vücut ağrısı ve mide bulantısı şikayetleri ile Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'ne başvurmuştur. Hasta anamnezinde; on altı gün önce yapılan ve yedi gün süren, Etiyopya ve Gana'yı içeren bir Afrika seyahati ve Türkiye'ye döndükten yaklaşık bir hafta sonra başlayan hastalık belirtilerinden bahsetmiştir. Hasta seyahate gitmeden önce kronik hepatit B hastası olduğu için karaciğerine zararı olacağını düşünerek kemoproflaksi almadığını belirtmiştir. Afrika'ya seyahat öyküsü dikkate alınarak sıtma ön tanısıyla ileri tetkik ve tedavi amacıyla kliniğimize kabul edilmiştir. Yapılan fizik muayenesinde ateşi 39 °C, bilinci açık ve koopere idi. USG ile

de teyit edilen splenomegali dışında diğer fizik muayene bulguları normaldi. Kan tetkik sonuçlarına bakıldığında: WBC: 4,483 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) (\downarrow), RBC: 4,510 ($\times 10^6/\mu\text{L}$), HGB: 13,80 g/dL, HCT: %37,62(\downarrow), PLT: 59,34 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) (\downarrow), Kreatinin: 1,22 mg/dL (\uparrow), ALT (SGPT): 52,9 U/L(\uparrow), AST (SGOT): 45 U/L(\uparrow), GGT: 150 IU/L(\uparrow),CRP: 77.97 mg/L(\uparrow) olarak bulunmuştur. Hepatit markırları kronik hepatit B hastalığını teyit etmekte, TORCH grubu test sonuçları akut enfeksiyonu gösterir bir değer içermemekteydi. Brucella serolojisi: (-) negatif idi. Bu tetkiklere ek olarak kan kültür örnekleri de alındı ve üreme olmadı.

Kalın damla (Şekil 3) ve ince yayma (Şekil 4, 5) kan preparatlarının Giemsa ile boyamasında sırası ile; yoğun genç trofozoit formları görüldü ve %4 oranında parazit yoğunluğu saptandı. İnce yaymada ara formların görülmeyip sadece genç trofozoit formların görülmesi, tek bir eritrosit içinde birden fazla taşlı yüzük şekli (ring form) ve yüzük formlarında çiftli kromatin noktalanma (headphone) görülmesi sonucu *P. falciparum* tanısı konuldu. Gametosit görülmedi.

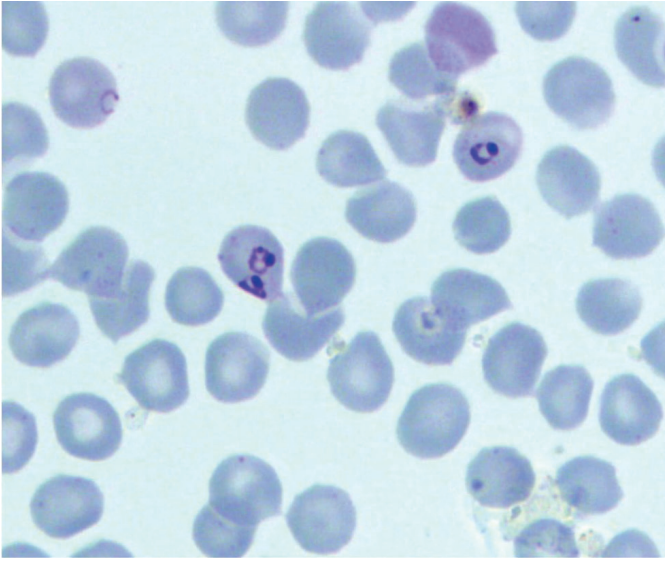
Hastaya artemether/lumefantrine (20 mg/120 mg) başlangıç dozu olarak 4 tablet, 8 saat sonra 4 tablet ve sonraki iki gün de 2x4 tablet olmak üzere üç günlük tedavi verildi. Üç günlük tedavinin sonrasında yapılan periferik yaymasında parazit görülmedi. Tedavinin beşinci gününde PLT 220 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) idi. Yatışının altıncı gününde genel durumu düzelen hasta, kontrollere gelme şartı ile taburcu edildi. Tedavi başlangıcından bir hafta ve bir ay sonra yapılan kontrol periferik yaymalarında parazit görülmedi.



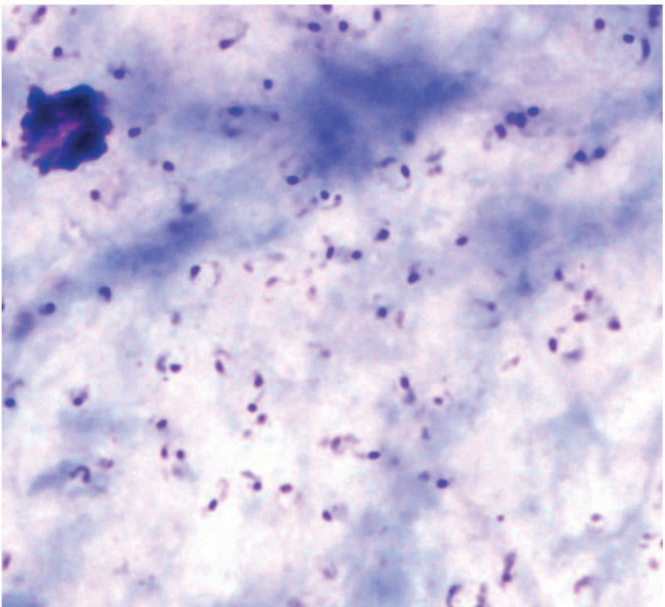
Şekil 1. Olgu 1, kalın damla

TARTIŞMA

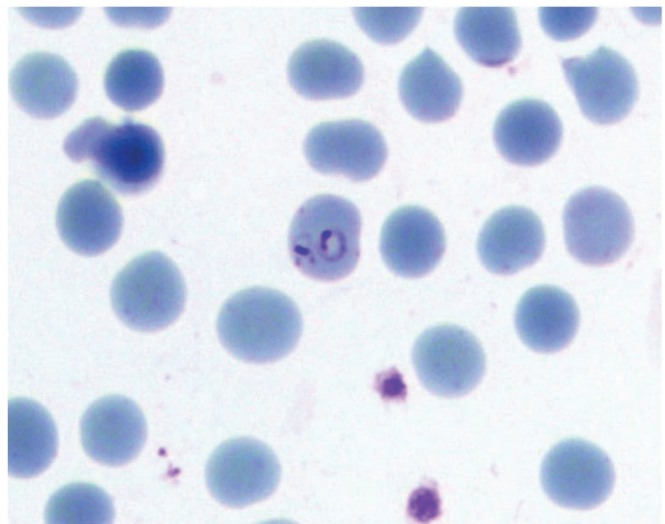
2010 yılından itibaren nüks olguların dışında yerli yeni olgu görülmeyen ülkemizde, 2013-2017 yılları arasında bildirim yapılan import olguların sayısı ise yılda yaklaşık iki yüz civarındadır (9,10). *P. vivax* geçmiş yıllarda ülkemizde hakim etken tür iken, 2013 ve sonrasında import olgularda *P. falciparum*'lu olgularda giderek artış gözlenmektedir (2,3,8,11,12).



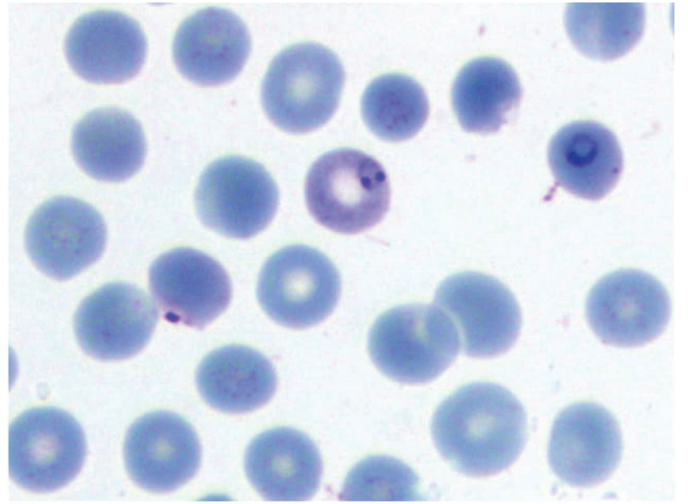
Şekil 2. Olgu 1, ince yayma



Şekil 3. Olgu 2, kalın damla



Şekil 4. Olgu 2, ince yayma



Şekil 5. Olgu 2, ince yayma

Tedavinin gecikmesi, aksaması ya da takibi yapılmadığı takdirde; trombositopeni, ağır anemi, akut böbrek yetmezliği, akut pulmoner ödem, serebral tutulum, hipoglisemi, laktik asidoz ve ölüm gibi çok ciddi klinik sonuçları olabilen *P. falciparum*'un etken olduğu sıtma olgularında klinik diğer *Plasmodium* türlerinin etken olduğu sıtma olgularından daha ağır seyretmektedir (2,3,4,8,13).

Her iki hasta da anamnezlerinde; olgu 1 defalarca aynı bölgeye seyahat etmesine rağmen, olgu 2 ise kronik hepatit hastası olmasından dolayı verilecek ilacın yan etkileri olabileceğini düşünerek profilaktik tedaviyi almadığını, ilaveten seyahat öyküsünün de sorgulanmadığını ifade etmiştir. Her iki hasta da hastanemize gelmeden önce en az iki sağlık kuruluşuna başvurduklarını ve semptomatik tedavi verilerek evlerine gönderildiklerini belirtmişlerdir.

Uygulanan standart enfeksiyon tedavi protokollerine direnç gösteren, ateşin ön planda olduğu fakat aynı zamanda birçok ateşli hastalığı taklit edebilen bulgular barındıran, özellikle endemik bölgelere seyahat öyküsü bulunan hastalarda tanıya yönelik olarak yapılan tetkiklere, halen sıtmanın teşhisinde altın standart kabul edilen periferik kan örneğinin Giemsa ile boyanmasının eklenmesi ihmal edilmektedir. Oysa hem tanıya gitme, hem de hastalıkla ilgili şüpheleri bertaraf etme ve tedavinin etkinliği konusunda kısa sürede sonuca ulaşmada, düşük maliyetli bir yöntem olarak kullanılmaktadır (4,6,8,12).

Artık mesafe kavramının çok anlam ifade etmediği günümüz dünyasında, insanlar yapmış oldukları seyahatler sonucunda belirli bölgelerde endemik olarak görülen sıtma, vb. hastalıklara maruz kalma gibi birtakım risklerle de karşı karşıyadır. Bu bölgelere seyahat ihtimali olan kişiler maruz kalabilecekleri hastalıklar, hastalıkların etmenleri ile ilgili bilgilendirilmeli, uygulanması gereken profilaktik tedavilerin ne kadar hayati olduğunun anlatılması gerekmektedir. Etkili eradikasyon programları sonucunda neredeyse tamamen kontrol altına alınan ve import olguların dışında hasta ile karşılaşmayan meslektaşlarımızda da farkındalık oluşturmak amacıyla hizmet içi eğitimler yapılması ve klinik olarak diğer sıtma etkenlerinden daha ağır klinik tablo oluşturan *P. falciparum*'a karşı tedavinin etkin ve hızlı bir şekilde yapılmasının sağlanması da büyük önem arz etmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın hazırlanma aşamasında, boyalı preparatların fotoğraflanmasında teknik alt yapı imkanlarını sunarak yardımlarını esirgemeyen Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Muhammed Emin Güldür'e teşekkürlerimizi sunarız.

* Etik

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

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Konsept: K.Ö., A.Ş., F.E., Dizayn: K.Ö., A.Ş., Veri Toplama veya İşleme: K.Ö., A.Ş., F.E., Analiz veya Yorumlama: K.Ö., A.Ş., F.E., Literatür Arama: K.Ö., F.E., Yazan: K.Ö., A.Ş., F.E.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek bildirilmemiştir.

KAYNAKLAR

- Altun HU, Gül YK, Vudalı E, Hatipoğlu ÇA, Bulut C, Yağcı S, et al. *Plasmodium falciparum* malaria case originating from Uganda. Türkiye Parazitoloj Derg 2013; 37: 229-32.
- 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 Parazitoloj Derg 2018; 42: 1-5.
- Aksoy Gökmen A, Pektaş B, Öncel K, Özdemir OA, Çavuş İ, Özbilgin A. Manisa İlinde 2008-2012 Yılları Arasında Saptanan Sıtma Olgularının Değerlendirilmesi [The investigation of malaria cases in Manisa between 2008-2012]. Türkiye Parazitoloj Derg 2014; 38: 151-4.
- Köse S, Kiraklı C, Ozensoy Töz S, Kuzucu L, Akkoçlu G, Cevikel N. Olgu sunumu: yurtdışı kaynaklı iki *Plasmodium falciparum* olgusu [Case report: two imported Plasmodium falciparum cases]. Türkiye Parazitoloj Derg 2009; 33: 280-2.
- WHO, World Malaria Report 2017 Geneva: World Health Organization; 2017.
- NIMR. Guidelines for Diagnosis and Treatment of Malaria in India 2014 New Delhi: National Institute of Malaria Research; 2014.
- Salman O, Erbaydar T. Drug Resistant Malaria.TAF Prev Med Bull 2016; 15: 368-75.
- Onlen Y, Culha G, Ocak S, Savaş L, Güllü M. Yurtdışı kökenli *Plasmodium falciparum* sıtması: dört olgu sunumu [Falciparum malaria originating in foreign country: four cases]. Türkiye Parazitoloj Derg 2007; 31: 256-9.
- Yentür Doni N, Yıldız Zeyrek F, Seyrek A, Şimşek Z, Gürses G, Topluoğlu S. Şanlıurfa'da 2001-2011 yıllarına ait sıtma epidemiyolojik verilerinin değerlendirilmesi [Evaluation of epidemiological data of malaria between 2001-2011 in Sanliurfa, Turkey]. Mikrobiyol Bul 2016; 50: 307-14.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2017 Ankara: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü; 2018.
- Erdil Z, Kurt C, Kalaycı HÖ, Gözlükaya Ö, Tayar C. Two Imported Malaria Cases Caused by *Plasmodium falciparum* in A Week. Türkiye Parazitoloj Derg 2016; 40: 110-3.
- Mumcu N, Demiraslan H, Dündar A, Kuk S, Yazar S, Doğanay M. A Case Series of Imported Malaria Caused by *Plasmodium falciparum* in Kayseri and Review of Literature. Türkiye Parazitoloj Derg 2017; 41: 119-22.
- Inan AS, Erdem I, Engin DO, Hitit G, Ceran N, Senbayrak S, et al. Sıtma: 40 olgunun değerlendirilmesi [Malaria: an evaluation of 40 cases]. Türkiye Parazitoloj Derg 2010; 34: 147-51.

Türkiye’de Bir Kızıl Tilkide (*Vulpes vulpes*) *Felicola* (*Suricatoecus*) *vulpis* (*Phthiraptera: Trichodectidae*) Enfestasyonunun İlk Bildirimi

First Recorded Felicola (Suricatoecus) vulpis (Phthiraptera: Trichodectidae) Infestation in a Red Fox (Vulpes vulpes) in Turkey

© Gökhan Eren, © Ali Tümay Gürlü, © Elif Burcu Gençay Topçu, © Tuğçe Tuygun, © Mustafa Açıcı
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

Cite this article as: Eren G, Güler AT, Gençay Topçu EB, Tuygun T, Açıcı M. First Recorded *Felicola (Suricatoecus) vulpis (Phthiraptera: Trichodectidae)* Infestation in a Red Fox (*Vulpes vulpes*) in Turkey. Türkiye Parazitol Derg 2021;45(2):157-159.

ÖZ

Trafik kazası sonucu ölmüş olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı’na, getirilen bir kızıl tilkinin (*Vulpes vulpes*) makroskopik muayenesinde ektoparazit enfestasyonu tespit edilmiştir. Toplanan kene, bit ve pire örnekleri %70’lik alkolde muhafaza edilmiştir. Mikroskopik incelemede kene örneklerinin *Haemaphysalis erinacei* (Acari: Ixodidae), pire örneklerinin *Chaetopsylla globiceps* (Siphonaptera; Vermipsyllidae), bit örneklerinin ise *Felicola (Suricatoecus) vulpis (Phthiraptera: Trichodectidae)* olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile Türkiye’de tilkilerde ilk defa *Felicola (Suricatoecus) vulpis* tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Felicola (Suricatoecus) vulpis*, *Vulpes vulpes*, Phthiraptera, Türkiye

ABSTRACT

Ectoparasite infestation was detected in a macroscopic examination of a red fox (*Vulpes vulpes*) that was brought dead to the Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine Ondokuz Mayıs University. Collected tick, lice and flea samples were preserved in 70% alcohol. It was determined in microscopic examination that tick samples were *Haemaphysalis erinacei* (Acari: Ixodidae), flea samples were *Chaetopsylla globiceps* (Siphonaptera; Vermipsyllidae) and chewing lice samples were *Felicola (Suricatoecus) vulpis (Phthiraptera: Trichodectidae)*. This study first reported the existence of *Felicola (Suricatoecus) vulpis* from foxes in Turkey.

Keywords: *Felicola (Suricatoecus) vulpis*, *Vulpes vulpes*, Phthiraptera, Turkey

GİRİŞ

Kızıl tilki (*Vulpes vulpes*), Paleartik bölge’de yabani Canidae üyeleri arasında en geniş popülasyon ve yayılış alanına sahip türlerden biridir (1). Bu hayvanlar yerleşim alanlarına rahatlıkla adapte olabilmeleri ve bu alanlarda yaşayabilmeleri nedeniyle, insan ve evcil hayvanlara, bazı parazitler etkenleri bulaştırabilme riskinden dolayı halk sağlığı açısından önem arz etmektedirler (2).

Bitler, memeli ve kuşlarda enfestasyona neden olan, hemimetabol gelişen, konak özgülüğü yüksek ve bu ilişkinin evrimsel süreçte de sıkı sıkıya bağlı olduğu (co-evolution), zorunlu kan emici veya çiğneyici ektoparazitlerdir (3). Ischnocera ve Amblycera

alt takımları memeli ve kuşlarda, Anoplura ve Rhynchophthirina alt takımları ise sadece memelilerde bulunur. *Felicola (Suricatoecus) vulpis*, Ischnocera alt takımına ait Trichodectidae ailesinde bulunan ve sadece tilkilerde enfestasyona neden olan bir türdür (4).

Dünya’da, tilkilerde daha önce yapılmış olan ektoparazit belirleme çalışmalarında, pire türlerinden *Pulex irritans*, *Ctenocephalides canis*, *C. felis*, *Chaetopsylla tricola*, *C. matina*, *Myoxopsylla laverani*, *Spilopsyllus cuniculi*, *Nosopsyllus fasciatus*, *Paraceras melis*, *Archaeopsylla erinacei*, *Ctenocephthalmus andorrensis*, *Odontopsyllus quirosi*, *Typhloceras poppei*, *Ceratophyllus gallinae*; bit türlerinden *Felicola (Suricatoecus) vulpis*, *Linognathus vulpis*; sinek türlerinden *Hippobosca*



Geliş Tarihi/Received: 30.06.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 17.02.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Gökhan Eren, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

E-Posta/E-mail: acicim@omu.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-8406-9739

equina, *H. capensis*, *Stomoxys calcitrans*; kene türlerinden *Ixodes canisuga*, *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *I. persulcatus*, *I. crenulatus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *R. pusillus*, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis punctata*, *H. concinna* ve akar türlerinden *Otodectes cynotis*, *Sarcoptes scabiei*, *S. canis*, *Neotrombicula autumnalis*, *Cheyletiella yasguri* bildirilmiştir (5-9).

Bu çalışma ile trafik kazası sonucunda ölü olarak birimize getirilen bir kızıl tilkide mevcut ektoparazit türlerinin tespiti amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU

Toplanan örnekler kene, bit ve pire olarak ayırdıktan sonra %70'lik alkolde muhafaza edilmiştir. İdentifikasyon amacıyla bitler ve pireler %10'luk potasyum hidroksit ile 5-7 gün şeffaflandırma işlemi yapıldıktan sonra mikroskop (Nikon Eclipse 80i) altında, kene örnekleri ise direkt olarak stereo mikroskop (Nikon SMZ1500) altında incelenerek, ilgili literatürlerde geçen anahtarlar göre teşhis edilmiştir (7,10,11). Örneklerin fotoğrafları mikroskoba entegre kamera ile (Mshot Mdx4-t) çekilmiş, ve genital organ çizimi ise vektörel çizim programı (Inkscape 0,92) ile yapılmıştır.

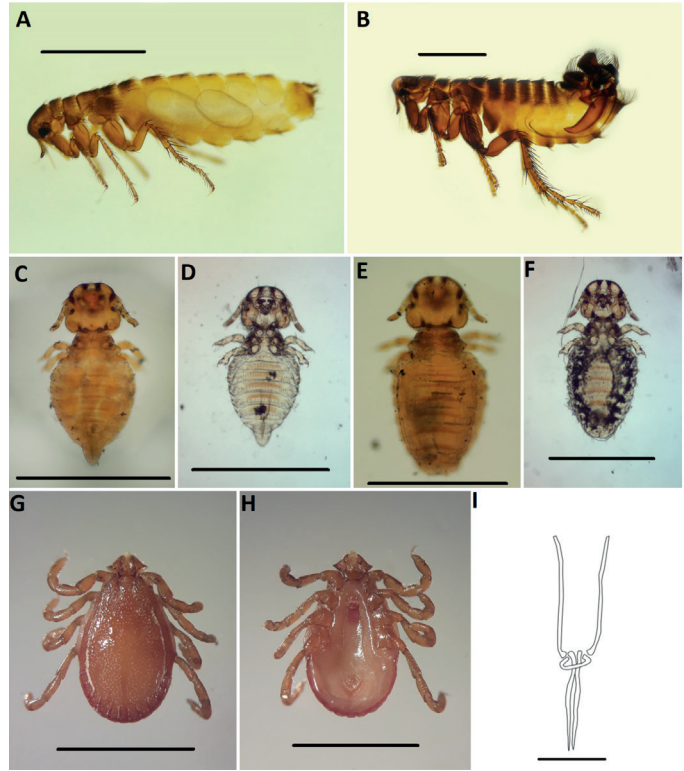
Mikroskopik inceleme sonucu bit örneklerinin *Felicola (Suricatoecus) vulpis* (Phthiraptera: Trichodectidae) kene örneklerinin *Haemaphysalis erinacei* (Acari: Ixodidae) ve pire örneklerinin ise *Chaetopsylla globiceps* (Siphonaptera; Vermipsyllidae) türlerine ait olduğu saptanmıştır (sırasıyla n_{bit} : 1 erkek 4 dişi; n_{kene} : 2 erkek; n_{pire} : 2 erkek 1 dişi). Türkiye'de tilkilerde ilk kez saptanması nedeniyle *Felicola (Suricatoecus) vulpis* örneklerinin ölçümleri alınmıştır.

Felicola (Suricatoecus) vulpis: Baş şekli her iki cinsiyette benzerdir. Frontal kenar düzdür. Anten her iki cinsiyette filiform yapıda ve 3 segmentlidir. Erkeklerde flagellum üzerinde diş bulunmaz. Erkeklerde abdomen terminal bir çıkıntıyla sonlanır. Oksipital bölgede şakakların üst kısmında küçük yanal çıkıntılar bulunur. Toraks, başdan daha dar ve kısadır. Uzunlamasına oval bir yapıya sahip olan abdomen, baş ve torakstan hem geniş hem de uzundur. Abdomen üzerinde üç çift stigma bulunur. Abdominal setalar kısadır (Şekil 1).

Felicola (Suricatoecus) vulpis'in erkek (n=1) ve dişisinin (n=4) morfolojik değerleri mm cinsinde ölçülmüştür. Erkek bireyin morfolojik değerleri, cephalic length (CL): 0,28; cephalic width (CW): 0,36; cephalic index (CI), CW/CL): 1,27; thoracic length (TL): 0,17; thoracic width (TW) 0,25; abdominal length (AL): 0,62; abdominal width (AW): 0,51; total length (ToL): 1,08; corporal index (CoI), ToL/ AW): 2,12 olarak ölçülmüştür. Dişi bireylerin morfolojik değerleri (sırasıyla CL, CW, CI, TL, TW, AL, AW, ToL, CoI) minimum 0,30-0,40-1,24-0,19-0,30-0,67-0,55-1,19-2,04; maksimum 0,37-0,43-1,33-0,22-0,33-0,83-0,66-1,36-2,36; ortalama 0,32-0,41-1,28-0,20-0,32-0,78-0,59-1,30-2,20 olarak ölçülmüştür.

TARTIŞMA

Türkiye'de Trichodectidae familyası içerisinde, memeli hayvanlarda enfestasyona neden olan, *Bovicola (B. bovis, B. caprae, B. crassipes, B. equi, B. limbatus, B. ovis, B. ocellatus) Felicola (F. subrostratus) ve Trichodectes (T. canis, T. melis, T. pinguis)* cinslerine ait 11 tür bulunmaktadır (12,13).



Şekil 1. A) *Chaetopsylla globiceps* dişi (bar: 1 mm); B) *Chaetopsylla globiceps* erkek (bar: 1 mm); C) *Felicola (Suricatoecus) vulpis* erkek dorsal (bar: 1 mm); D) *Felicola (Suricatoecus) vulpis* erkek ventral (bar: 1 mm); E) *Felicola (Suricatoecus) vulpis* dişi dorsal (bar: 1 mm); F) *Felicola (Suricatoecus) vulpis* dişi ventral (bar: 1 mm); G) *Haemaphysalis erinacei* erkek dorsal (bar: 1 mm); H) *Haemaphysalis erinacei* erkek ventral (bar: 1 mm); I) *Felicola (Suricatoecus) vulpis* erkek genital organ (bar: 0,1 mm)

Dünya'da kızıl tilki ektoparazitleri üzerine yapılan çalışmalarda, enfestasyona neden olan birçok sinek, bit, pire, kene, ve akar türü tespit edilmiştir (6,9,14,15). Türkiye'de şu ana kadar yapılan çalışmalarda 100'ün üzerinde pire (16), 40'ın üzerinde kene (17) ve 100'ün üzerinde bit türü (13) tespit edilmiş olup bu türlerin bir kısmı da tilkilerde bildirilmiştir. Türkiye'de kızıl tilki ektoparazitleri üzerine üç çalışma yapılmış olup, birinci çalışmada (18) *I. hexagonus* ve *Haemaphysalis numidiana* (sinonim: *Hae. erinacei*); ikinci çalışmada (19) *Pulex irritans*, *Ctenocephalides canis*, *C. f. felis*, *Archaeopsylla e. erinacei*, *Chaetopsylla globiceps*, *C. rothschildi*, *C. mirabilis*, *Ctenophthalmus acuminatus*, *Paraceras m. melis*; üçüncü çalışmada (20) *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *R. sanguineus* ve *H. sulcata* türleri bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada ise *H. erinacei*, *C. globiceps* ve *F. vulpis* türleri tespit edilmiştir. *Haemaphysalis erinacei* ve *C. globiceps* Türkiye'de tilkilerde daha önce yapılan çalışmalarda tespit edilmiş olup *Hae. erinacei* yapılan çalışmada sinonimi *Hae. numidiana* olarak kullanılmıştır (18).

Haemaphysalis erinacei, genellikle küçük ve orta boy memelilerde enfestasyona neden olmaktadır (11). Bu tür Türkiye'de kirpi (*Erinaceus concolor*), tilki (*Vulpes vulpes*), Arap tavşanı (*Allactaga williamsi*) ve insanda (*Homo sapiens*) bildirilmiştir (17). *Chaetopsylla globiceps* Türkiye'de daha önceki yapılan çalışmalarda çakal (*Canis aureus*), tilki (*Vulpes vulpes*), tavşan (*Lepus europaeus*) ve sincapta (*Sciurus anomalus*) bildirilmiştir (16).

Kızıl tilkide yapılan ektoparazit çalışmalarında *Linognathus vulpis* (Linognathidae, Anoplura) ve *Felicola (Suricatoecus) vulpis*

(Trichodectidae, Ischnocera) olmak üzere iki bit türü tespit edilmiştir (4,7). Türkiye’de daha önceki yapılan çalışmalarda bu türlere ait bir kayıt bulunmamaktadır.

Felicolosis, tilkilerde nadir bir enfestasyon olmakla birlikte, farklı ülkelerde yapılan çeşitli çalışmalarda prevalansı %0-1 arasında değişmektedir (9). Türkiye’de yapılan çalışmalarda ise şu ana kadar *F. vulpis* bildirimi yapılmamıştır. Morfolojik özellikler ve morfometrik ölçümler dikkate alındığında incelenen bit örnekleri, ilgili literatürde geçen (7) bulgular ile büyük ölçüde uyum göstermektedir.

Yapılan bu çalışma sonucunda Türkiye’de kızıl tilkide ilk defa *F. vulpis* enfestasyonu bildirilmektedir.

* Etik

Hasta Onayı: Ektoparazit örneklerinin toplandığı konak, karayolunda trafik kazası nedeniyle ölmüş olarak bulunduğu için, hasta onayı gerekli değildir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Konsept: G.E., M.A., Dizayn: G.E., M.A., Veri Toplama veya İşleme: A.T.G., E.B.G.T., T.T., Analiz veya Yorumlama: G.E., M.A., Literatür Arama: G.E., M.A., Yazan: G.E., A.T.G., M.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek bildirilmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Wilson DE, Reeder DM. (Eds.). Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference (Vol. 1). JHU Press 2005.
2. Letková V, Lazar P, Čurlík J, Goldová M, Kočíšová A, Košuthová L, et al. The red fox (*Vulpes vulpes* L.) as a source of zoonoses. Vet arhiv 2006; 76: 73-81.
3. İnci A, Düzlü Ö, Yıldırım A. Ixodida (Keneler). Arthropodoloji, Eder, Karaer Z, Dumanlı N. Medisan 2015; 137-58.
4. Price RD, Hellenthal RA, Palma RL, Johnson KP, Clayton DH. The Chewing Lice: World Checklist and Biological Overview. Illinois Natural History Survey Special Publication: 2003.
5. Dumitrache MO, D’Amico G, Matei IA, Ionică A, Gherman CM, Barabási SS, et al. Ixodid ticks in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Romania. Parasit Vectors 2014; 7: P1.
6. Lledó L, Giménez-Pardo C, Saz JV, Serrano JL. Wild Red Foxes (*Vulpes vulpes*) as Sentinels of Parasitic Diseases in the Province of Soria, Northern Spain. Vector Borne Zoonotic Dis 2015; 15: 743-9.
7. Pérez-Jiménez JM, Soler-Cruz MD, Benítez-Rodríguez R, Ruiz-Martínez I, Díaz-López M, Palomares-Fernández F, et al. Phthiraptera from some wild carnivores in Spain Syst. Parasitol 1990; 15: 107-17.
8. Prosl H, Heid K, Mramor C, Lassnig H. The ectoparasite fauna of the red fox, *Vulpes vulpes*, in Eastern Austria. Entomol Austriaca 2001; 2: 9-10.
9. Sréter T, Széll Z, Varga I. Ectoparasite infestations of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary. Vet Parasitol 2003; 115: 349-54.
10. Brinck-Lindroth G, Smit FGAM. The fleas (Siphonaptera) of Fennoscandia and Denmark (Vol. 41). Brill 2007.
11. Estrada-Peña A, Mihalca AD, Petney TN. (Eds.) Ticks of Europe and North Africa: a guide to species identification. Springer 2017.
12. Dik B. Türkiye’deki Evcil ve Yabani Memelilerde Görülen Bit (Phthiraptera) Türleri. Türkiye Parazitoloji Derneği İzmir: 2020; 26: 67.
13. İnci A, Yıldırım A, Dik B, Düzlü Ö. Current knowledge of Turkey’s louse fauna. Türkiye Parazit Derg 2010; 34: 212-20.
14. Aubert MF, Beaucournu JC. Contribution à l’étude du parasitisme du Renard (*Vulpes vulpes* L.) et de quelques autres carnivores sauvages par les Siphonaptères dans le Nord-Est de la France [Intermittent chemotherapy of pulmonary tuberculosis using rifampicin and isoniazid for primary treatment: the influence of various factors on the frequency of side-effects]. Ann Parasitol Hum Comp 1976; 51: 143-56.
15. Schöffel I, Schein E, Wittstadt U, Hentsche J. Zur Parasitenfauna des Rotfuchses in Berlin (West) [Parasite fauna of red foxes in Berlin (West)]. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 1991; 104: 153-7.
16. Keskin A, Hastriter MW, Beaucournu JC. Fleas (*Siphonaptera*) of Turkey: species composition, geographical distribution and host associations. Zootaxa 2018; 4420: 211-28.
17. Bursalı A, Keskin A, Tekin S. A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: species diversity, hosts and geographical distribution. Exp Appl Acarol 2012; 57: 91-104.
18. Aydın MF, Balkaya I, Aktaş M, Dumanlı N. Erzurum İlinde Üç Kırmızı Tilkiye (*Vulpes vulpes*) Kene (Ixodoidea) ve Pire (Siphonaptera) Türleri [Tick (Ixodoidea) and flea (Siphonaptera) species on three red foxes (*Vulpes vulpes*) in Erzurum province]. Türkiye Parazit Derg 2011; 35: 110-3.
19. Dinçer Ş. Ankara ve Çevresinde Kedi (*Felis domesticus*), Köpek (*Canis familiaris*) ve Tilki (*Vulpes vulpes*)’lerde Bulunan Pire (Siphonaptera)’ler Üzerinde Sistemik Araştırmalar. Doktora Tezi. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Protozooloji, Tıbbi Arthropodoloji ve Paraziter Hastalıklarla Savaş Kürsüsü, Ankara 1971.
20. Merdivenci A. Türkiye keneleri üzerine araştırmalar. Birinci Baskı. Kutulmuş matbaası: İstanbul 1969; 420.

Gingival Myiasis on Oral Squamous Cell Carcinoma in Turkey: A Case Report

Oral Squamöz Hücreli Karsinom Zemininde Gelişen Miyaz Olgusu

✉ Banuçiçek Yücesan¹, ✉ Cahit Babür², ✉ Nafiye Koç³, ✉ Selçuk Kılıç⁴

¹Çankırı Karatekin University Faculty of Health Sciences, Healthcare Management, Department of Control of Zoonotic Diseases, Çankırı, Turkey

²Public Health General Directorate of Turkey, National Parasitology Reference Laboratory, Ankara, Turkey

³Ankara University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Protozoology and Entomology, Ankara, Turkey

⁴University of Health Sciences Turkey Gülhane Faculty of Health Sciences, Department of Chemical Biological Radiological Nuclear, Ankara, Turkey

Cite this article as: Yücesan B, Babür C, Koç N, Kılıç S. Gingival Myiasis on Oral Squamous Cell Carcinoma in Turkey: A Case Report. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(2):160-163.

ABSTRACT

Myiasis is a disease caused by tissue invasion of diptera larvae and eggs. Oral myiasis is mostly related to old age, poor oral hygiene, suppurative lesions, anatomical disorders and cancer cases. Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is an important risk factor for myiasis. This report presents the case of an 82-year-old woman who presented with gingival myiasis developing on the background of OSSC. The patient was diagnosed with OSSC in the hospital. Myiasis larvae were identified and sent to the National Parasitology Reference Laboratory for identification. Thus, development of myiasis on OSCC background was shown in Turkey for the first time. Myiasis larvae have been identified as the 3rd phase of the larvae *Sarcophaga* sp. development (Diptera: Sarcophagidae). As a result, myiasis cases are sporadic in Turkey, and it can be avoided by controlling fly population and by paying attention to hygiene. Controlling myiasis is an important public health problem and should be considered in a single health concept, as it causes health problems in both humans and animals. The findings of this case will draw attention to the importance of dealing with myiasis factors, which is a public health problem.

Keywords: Larvae, myiasis, oral squamous cell carcinoma, *Sarcophaga* sp.

ÖZ

Miyaz, diptera larva ve yumurtalarının doku istilasından kaynaklanan bir hastalıktır. Oral miyaz nadir görülen, yaşlılık, zayıf ağız hijyeni, süpüratif lezyonlar ve kanser olguları ilgili bir durumdur. Oral skuamöz hücreli karsinom (OSCC) miyazda önemli bir risk faktörüdür. Bu raporda, 82 yaşında bir kadın hastada OSCC zemininde gelişen miyaz sunulmuştur. Hasta, ağız içinde ovoid bir lezyon ile diş hekimine müracaat etmiş, sonra hastanede OSSC tanısı konmuş ve bu zeminde miyaz larvaları tespit edilmiştir. Larvalar Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Laboratuvar çalışmaları ile tespit edilen larvaların üçüncü dönem *Sarcophaga* sp. (Diptera: Sarcophagidae) larvaları olduğu tanımlanmıştır. Böylece, Türkiye'de ilk defa OSCC zemininde gelişen miyaz olgusu gösterilmiştir. Sonuç olarak, Türkiye'de miyaz sporadiktir ve sinek popülasyonunu kontrol ederek ve hijyene dikkat edilerek önenebilir. Miyaz ile mücadele bir halk sağlığı sorunudur. İnsanlarda ve hayvanlarda karşılaşıldığından tek sağlık kavramı içinde değerlendirilmelidir. Bu olgu sunumu ile, bir halk sağlığı problemi olan miyaz etkenleri ile mücadeleye önem verilmesinin üzerinde durulması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Larva, miyaz, oral skuamöz hücreli karsinom, *Sarcophaga* sp.

INTRODUCTION

Myiasis is a parasitic infestation of human/animal tissues and cavities with dipterous larvae and eggs. The term myiasis is derived from the Greek words "myia," which means fly and "iasis," which means disease. This term was first proposed by Hope in 1840 (1) and oral

myiasis was first defined by Laurence in 1909 (2,3). The clinical manifestations of myiasis depend on the fly species, the invasion level and stage of the larvae and the infestation area. Flies that cause myiasis belong to the class of Insecta, order Diptera, and are classified into seven different families (Calliphoridae,



Received/Geliş Tarih: 11.10.2020 Accepted/Kabul Tarih: 17.02.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Banuçiçek Yücesan, Çankırı Karatekin University Faculty of Health Sciences, Healthcare Management, Department of Control of Zoonotic Diseases, Çankırı, Turkey

Phone/Tel: +90 376 213 17 02 E-mail/E-Posta: yucesanbanu@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-7051-3045

sarcophagidae, oestridae, hypodermatidae, gasterophylidae, glossinidae and muscidae), which can infest the skin and body cavities. Myiasis is divided into three groups; i- obligatory (the larvae can affect undamaged skin and require a living host for their development), ii- facultative (free living larvae capable to initiate myiasis to destroy necrotic tissue), iii- accidental (free living larvae which cause myiasis when the larvae are injected accidentally). Myiasis can be also classified according to the anatomical area of infestation; i- cutaneous myiasis, ii- myiasis of external orifices, iii- visceral myiasis. In addition, it can be divided clinically into; i- primary and ii- secondary myiasis. Myiasis most often occurs in the skin wounds, nose, eyes, sinuses, ears, and vagina. Occasionally, it can be observed seen in the mouth (2,4,5).

Sarcophaga sp. is a member of the Sarcophagidae family and a known group of flies which cause myiasis in Europe and Turkey. They are called flesh flies, and their adults are twice the size of house flies. These flies generally leave their eggs or larvae in the nasal cavity and cause myiasis on living tissues. In this study, we present a case of *Sarcophaga* sp. myiasis seen in the oral cavity.

CASE REPORT

An 82-year-old female patient visited a dentist with a complaint of a tongue wound. The patient was directed to the hospital by dentist due to the complicated appearance of the wound, and there was indications for a poor oral hygiene. A moderately sized lesion was observed in the patient's mouth. On physical examination, an ovoid lesion of approximately 4 cm was detected in the right half of the sublingual region that crosses the midline and not descends to the floor of the mouth. Induration around the lesion and fixed lymph nodes of 1 cm in the left upper jugular, 1 cm in the middle jugular, and approximately 3 cm in the right upper jugular were detected by palpation. A biopsy of the lesion showed that the patient was suffering from a well-differentiated squamous cell carcinoma. After debridement of the lesion, a large number of larvae were detected within the lesion. Two larvae removed alive from the lesion were sent to the parasitology laboratory for examination, where they were identified as the third instar larvae of *Sarcophaga* sp. using standart taxonomic keys (6,7).

For this identification, microscopic preparations were prepared by dissection of the cephalopharyngeal skeleton and anterior and posterior stigmas of the larvae. The shape, number and order of larval segments, peritemes and perithem buttons were evaluated morphologically. It was determined that the larvae were 10-12 mm in size and consisted of 12 segments, which were seen as transverse spiral bumps (Figure 1A). The back end of the *Sarcophaga* sp. larvae had a pit-like structure that enclosed the posterior stigmas. The posterior stigmas consisted of three long slits, while the middle one was straight and the others were curved (6,7) (Figure 1B, C).

It was observed that the anterior stigmas extending from the lateral surfaces of the second segment were small and had a fan-like structure consisting of 13 branches, while the cephalopharyngeal skeleton was typical to *Sarcophaga* sp. (6,7) (Figure 2A, B).

In the literature, local application of various substances such as ivermectin, turpentine oil, mineral oil, ether, chloroform, ethyl chloride, mercury chloride, creosote, saline, phenol, calomel, olive oil, iodoform are recommended for the control of larvae. In addition, it is necessary to apply treatments that prevent the development of secondary bacterial infection in the skin

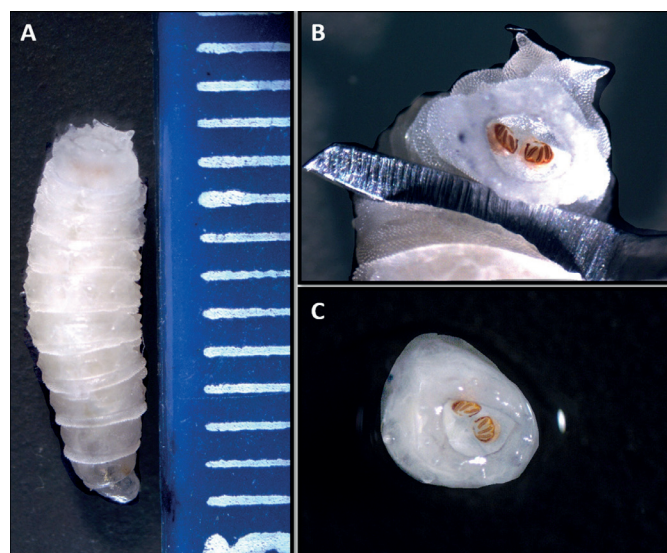


Figure 1. A) *Sarcophaga* sp. 3rd stage larvae, B, C) Posterior stigmas (posterior spiracle)

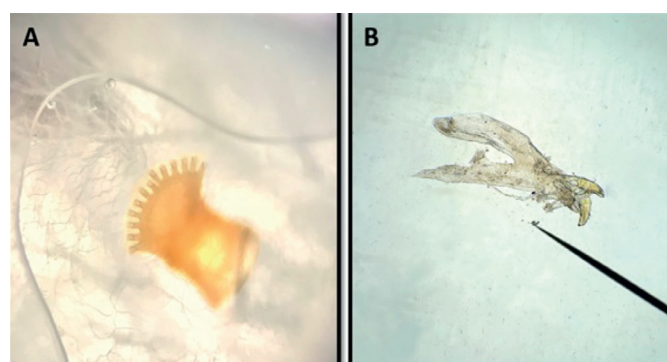


Figure 2. A) Anterior stigmas (anterior spiracles), B) Cephalopharyngeal skeleton

surrounding the lesion where myiasis agents are located. In the present case, the larvae were physically removed from the wound once a day until they were completely cleaned, and antibiotic treatment was initiated in terms of infection while the patient was being treated for cancer. However, the patient's condition deteriorated soon and she died thereafter.

DISCUSSION

Myiasis is a parasitic invasion of tissues by living larvae, usually seen in tropical and subtropical countries, and often caused by poor hygiene (8). Myiasis particularly affects the elderly humans and develops also secondary to poor alcoholism, and suppurative lesions (9). After the female flies lay their eggs on the damaged tissues, the larvae can settle in the deep tissues. Cases of myiasis in the mouth and nasal cavity can cause dangerous complications which can result even with death. Larval infestation causes progressive destruction and cavitation and ultimately adheres tightly, forming a fibrous capsule that causes difficulties in dissection during surgery (10). The severity of tissue destruction depends on the number of larvae that settle in the host tissue.

Although oral myiasis is mostly seen in tropical countries, it can also occur in temperate climates when oral hygiene is inadequate and in immuno-suppressed patients. It is known that patients with suppurative lesions, severe bad breath, facial trauma,

Table 1. Oral myiasis cases which were reported from Turkey

No	Author, publication year	Case year	City	Gender	Age	Localization	Species	Systemic diagnosis	Treatment
1	Ciftçioğlu et al.(12)	1996	Ankara	M	80	Orotacheal myiasis	<i>Wohlfahrtia magnifica</i> (Diptera: Sarcophagidae)	Intensive care patient, poor general condition	The patient was lost
2	Erol et al. (13)	2000	Diyarbakır	W	4	Myiasis in the upper lip lesion	<i>Calliphora</i> spp.	Healthy but poor oral hygiene	The patient could not be followed after mechanical debridement
3	Gursel et al. (14)	2002	Konya	M	26	Oral cavity (Gingival myiasis)	Diptera: <i>Calliphoridae</i>	Healthy but poor oral hygiene	Mechanical debridement, patient recovered in six months after periodontal flap surgery
4	Yazar et al. (15)	2002	Kayseri	M	15	Oral cavity	<i>Sarcophaga</i> sp.	<i>M. tuberculosis</i> was detected in the CSF taken after meningeal symptoms	Mechanical debridement, the patient died on the 30 th day
5	Büyükkurt et al. (16)	2008	Erzurum	M	4	Oral cavity (Gingival myiasis)	<i>Wohlfahrtia magnifica</i> (Diptera: Sarcophagidae)	Unavailable	After mechanical debridement, recovered in 3 months
6	Balcioglu et al. (17)	2008	Manisa	W	65	Subungual myiasis	<i>Calliphora</i> spp.	Chronic psychosis	Mechanical debridement and recover
7	Arslan et al. (19)	2013	Van	-	2	Oral cavity (Gingival myiasis)	-	Unavailable	Mechanical debridement and recover
8	Çetin Özdemir et al. (20)	2013	Gaziantep	M	43	Gingival groove region (gingival myiasis)	<i>Wohlfahrtia magnifica</i> (Diptera: Sarcophagidae)	Unavailable	Mechanical debridement and recover
9	Taş Cengiz et al. (21)	2019	Van	M	63	Oral cavity (Gingival myiasis)	Diptera: <i>Calliphoridae</i>	Intracerebral hemorrhage, respiratory failure and hypertension	Mechanical debridement, the patient died on the 6 th day

persistent mouth opening, thumb sucking habits and advanced periodontal diseases, lesions in tooth extraction areas, fungal infections of the buccal mucosa, oral carcinomas and epilepsy are susceptible to oral myiasis (11).

In Turkey, nine oral myiasis cases were reported (12-22) (Table 1), showing that kind of myiasis was mainly observed in the elderly and younger ages.

Cases of myiasis developing in different types of carcinoma have been reported worldwide (22-32). The most common malignant lesion in the head and neck region is squamous cell carcinoma (SCC) (33). Oral SCC (OSCC) is a possible risk factor for myiasis for humans or other mammals. In oral myiasis cases, larvae can cause itching and irritation, as well as cause serious and sometimes life-threatening bleeding by destroying vital tissues. With this article a myiasis case is reported in developing OSCC ground for the first

time in Turkey. Myiasis occurring on OSCC background were reported five times from India and four from Brazil (24,25).

Prevention is based on the fight against adult flies. Limiting myiasis is an important issue for public health. Poor health conditions and insufficient sanitation are important risk factors for myiasis, especially in underdeveloped countries with low socioeconomic status. It is very important for people living in endemic areas to not leave their wounds open and avoid sleeping outdoors. Physicians should consider clinical examinations in terms of myiasis during the months of May-October, when the fly population is intense throughout our country. In addition, it is known that myiasis can be significantly reduced by informing the people in the regions dealing with animal husbandry, training the personnel who are interested in wound care in health units or hospitals, and combating the factors.

INFORMATION

This study was presented as a poster at 38th International Turkish Microbiology Congress (04-08 November 2018 Antalya, Turkey).

* Ethics

Informed Consent: Since the patient was lost when myiasis was identified, the patient's approval could not be obtained.

Peer-review: Externally and internally peer-reviewed.

** Authorship Contributions

Concept: B.Y., Design: B.Y., C.B., Data Collection or Processing: B.Y., C.B., N.K., Analysis or Interpretation: B.Y., C.B., N.K., S.K., Literature Search: B.Y., Writing: B.Y.

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

- Hope FW. On insects and their larvae occasionally found in human body. Royal Entomol Soc Trans 1840; 2: 236-71.
- Reddy MH, Das N, Vivekananda MR. Oral myiasis in children. Contemp Clin Dent 2012; 3(Suppl 1): 19-22.
- Shikha S, Prasad Guru R, Ashutoshdutt P, Meenakshi S. Oral Myiasis: A Rare Case Report and Literature Review. J Dent (Tehran) 2015; 12: 456-9.
- Daldal N, Atambay M. Myiasis (Miyaz). In: Özcel MA editör. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları, 1. Baskı Türkiye Parazitoloji Derneği yayınları, İzmir. 2007. p. 867-81.
- Yenice MG, Demir T, Babür C, Nalbantoğlu S, Kılıç S. *Psychoda albipennis*'in (Diptera: Nematocera) neden olduğu ürogenital miyazis olgusu [A case of urogenital myiasis caused by *Psychoda albipennis* (Diptera: Nematocera)]. Mikrobiyol Bul 2011; 45: 558-64.
- Amnedt J, Goff ML, Campobasso CP, Grassberger M. Current Concepts in Forensic Entomology, Springer, Newyork: 2009.
- Zumft F. Myiasis In Man And Animals In The Old World: A Textbook for Physicians, Veterinarians and Zoologist. 1st ed. Butterworths, London: 1965.
- Lazaro SA, Yépez FDG, De Carli JP, Trentin MS, Dogenski LC, De Conto F. Treatment of facial myiasis in an elderly patient with oral squamous cell carcinoma: Case report. Int J Surg Case Rep 2020; 71: 260-5.
- Corrêa AP, Beneti IM, Ribeiro ED, Pereira CC, Souza FÁ, Garcia-Júnior IR. Myiasis in elderly involving oral and nasal cavities-diagnosis and treatment. J Craniofac Surg 2015; 26: 989-90.
- Kumar SL, Manuel S, John TV, Sivan MP. Extensive gingival myiasis - Diagnosis, treatment, and prevention. J Oral Maxillofac Pathol 2011; 15: 340-3.
- Ansari TR, Ørner RJ. Bagh regrows - earthquake survivors as catalysts of community and personal reconstruction. Int Psychiatry 2008; 5: 97-100.
- Ciftçioglu N, Altintaş K, Haberal M. A case of human orotracheal myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*. Parasitol Res 1997; 83: 34-6.
- 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.
- 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.
- Yazar S, Dik B, Yalçın S, Demirtaş F, Yaman O, Oztürk M, et al. Nosocomial Oral Myiasis by *Sarcophaga* sp. in Turkey. Yonsei Med J 2005; 46: 431-4.
- Büyükkurt MC, Miloğlu Ö, Nalbantoğlu S, Uslu H, Yolcu Ü, Aktaş O. Oral myiasis in a child due to *Wohlfahrtia magnifica*: Original Image. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2008; 28: 782-5.
- Balcioğlu IC, Ecemiş T, Ayer A, Ozbel Y. Subungual myiasis in a woman with psychiatric disturbance. Parasitol Int 2008; 57: 509-11.
- Kara M, Arslan MÖ. Kuzeydoğu Anadolu'da hayvanlarda ve insanlarda myiasis. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg 2011; 6: 245-50.
- Arslan S, Islamoğlu A, Çobanoğlu B. A rare case of gingival myiasis in a 2-year-old child. Int J Paediatr Dent 2013; 23: 387-8.
- Çetin Özdemir E, Ekşi F, Şenyurt SZ, Üstün K, Karaoğlan İ, Erciyas K. *Wohlfahrtia magnifica*'dan kaynaklanan gingival miyaz olgusu [A case of gingival myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica*]. Mikrobiyol Bul 2014; 48: 512-7.
- Taş Cengiz Z, Yılmaz H, Beyhan YE, Yakan Ü, Ekici A. An Oral Myiasis Case Caused by Diptera (*Calliphoridae*) Larvae in Turkey. Turkiye Parazit Derg 2019; 43: 213-5.
- Berger S. Infectious Diseases of Turkey. 2019. Available from: <https://books.google.com.tr/books?id=xbWHDwAAQBAJ&pg=PA275&lpq=PA275&dq=oral+myiasis+turkey&source=bl&ots=me7AVjzU2O&sig=ACfU3U32-CevsMLDP7h8XgQ1kyXvoN72pw&hl=tr&sa=X&ved=2ahUKEwihx-H9wZ3qAhVNe8AKHZuYAp0Q6AEwB3oECAoQAQ#v=onepage&q=oral%20myiasis%20turkey&f=false>. 2019 edition. Gideon Informatics, Inc, Dr. Stephen Berger (access date 25.06.2020).
- Biradar S, Wankhede P, Munde A, Shaikh S. Extensive Myiasis infestation associated with Oral Squamous Cell Carcinoma: Report of two cases. Dent Res J (Isfahan) 2015; 12: 100-5.
- Al-Maweri SA, Al-Sufyani GA, Tarakji B, Abdulrab S. Myiasis Associated with Oral Squamous Cell Carcinoma--A Literature Review. Asian Pac J Cancer Prev 2015; 16: 4997-9.
- Jain A. Myiasis in patients with oral squamous cell carcinoma-a systematic review and protocol for management. Oral Maxillofac Surg 2019; 23: 265-9.
- Patel BC, Ostwal S, Sanghavi PR, Joshi G, Singh R. Management of Malignant Wound Myiasis with Ivermectin, Albendazole, and Clindamycin (Triple Therapy) in Advanced Head-and-Neck Cancer Patients: A Prospective Observational Study. Indian J Palliat Care 2018; 24: 459-64.
- Carvalho RW, Santos TS, Antunes AA, Laureano Filho JR, Anjos ED, Catunda RB. Oral and maxillofacial myiasis associated with epidermoid carcinoma: a case report. J Oral Sci 2008; 50: 103-5.
- Pessoa L, Galvão V. Myiasis infestation in advanced oral squamous cell carcinoma. BMJ Case Rep 2011; 2011: 0420114124.
- Dharshiyani SC, Wanjari SP, Wanjari PV, Parwani RN. Oral squamous cell carcinoma associated with myiasis. BMJ Case Rep 2012; 2012: 2012007178.
- Girardi FM, Scrofernecker ML. Myiasis in patients with head and neck cancer: Seldom described but commonly seen. Ear Nose Throat J 2017; 96: 19-22.
- de Arruda JAA, de Oliveira Silva LV, Silva PUJ, de Figueiredo EL, Callou G, Mesquita RA, et al. Head and neck myiasis: a case series and review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2017; 124: 249-56.
- Biswas S, Mc Nerney P. Myiasis on a Giant Squamous Cell Carcinoma of the Scalp: A Case Report and Review of Relevant Literature. World J Oncol 2016; 7: 34-9.
- Chegin S, Mitsimponas K, Shakib K. A review of recent advances in histopathological assessment of head and neck squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 2020; 49: 9-13.



DOI: 10.4274/tpd.galenos.2020.6937 Nihal Çeken. Balıkesir Devlet Hastanesi, Medikal Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kliniği, Balıkesir, Türkiye” expression in the first page, author institutions section has been corrected as “Nihan Çeken. Balıkesir Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Balıkesir, Türkiye”.