

Türkiye

PARAZİTOLOJİ Dergisi

E-ISSN 2146-3077

Cilt/Volume: 45
Sayı/Issue: 3
Eylül/September 2021

— TURKISH JOURNAL OF PARASITOLOGY —

Özgün Araştırmalar / Original Investigations

Blastocystis in Laboratory Rats

Laboratuvar Ratlarında Blastocystis

Erdoğan Malatyalı, Gizem Başaran, Alpaslan Gökçimen, Hatice Ertaçlar, Sema Ertuğ; Aydın, Turkey

Zoonotic Diseases in European Hares

Avrupa Tavşanlarında Zoonoz Hastalıklar

Özcan Özkan, Banuçiçek Yücesan, Cahit Babür, Ömer Orkun; Çankırı, Ankara, Turkey

Gebelerde T. gondii Seroprevalansı

Seroprevalence of T. gondii in Pregnant Women

Serpil Gonca, Mehmet Sami Serin, Sultan Halepliler, Sema Erden Ertürk; Mersin, Türkiye

Referans Laboratuvarın 10 Yıllık Toksoplazmoz Verileri

Ten Years Data of Toxoplasmosis Inreferanslab

Cahit Babür, Banuçiçek Yücesan, Figen Sezen, Selçuk Kılıç; Ankara, Çankırı, Türkiye

Impact of COVID-19 on the Frequency of Scabies

COVID-19'un Skabiye Frekansı Üzerine Etkisi

Çağrı Turan, Nurcan Metin; Erzurum, Turkey

D. fragilis-E. vermicularis Birlikteliği

D. fragilis-E. vermicularis Association

İbrahim Yıldız, Sema Ertuğ, Evren Tileklioğlu, Erdoğan Malatyalı, Özgür Güçlü, Hatice Ertaçlar; Aydın, Türkiye

Kistik Ekinokokkozis-hasta Takibi

Cystic Echinococcosis-follow-up

Eylem Akdur Öztürk, Mesut Akil, Ayşe Caner, Halil Bozkaya, Nazmiye Altıntaş, Ayşegül Ünver; İzmir, Türkiye

Bursa'da Kistik Ekinokokkozis

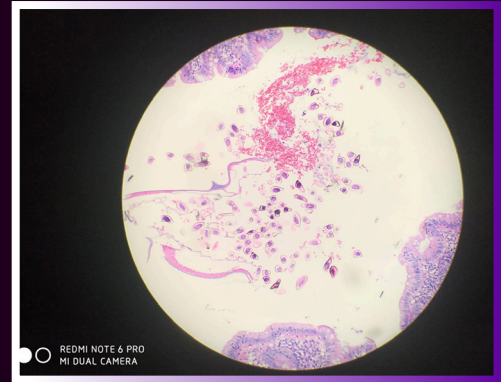
Cystic Echinococcosis in Bursa

Oktay Alver, Ayşe Melda Payaslıoğlu, Cüneyt Özakin, Sema Esen; Bursa, Türkiye

Wolbachia and Spiroplasma in Musca

Musca Sineklerinde Wolbachia ve Spiroplasma

Mustafa Karatepe, Serap Aksoy, Bilge Karatepe; Niğde, New Haven, Turkey, United States of America



■ **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
Gülray 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: September 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
hccetin@akdeniz.edu.tr
ORCID No: 0000-0002-9758-6356

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

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

Ayşen Gargılı

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

Veli Yılğör Çırak

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

Tülin Karagenc

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

Bayram Şenlik

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

Sami Şimşek

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

Ahmet Doğanay

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



■ Uluslararası Danışma Kurulu /International Advisory Board

Tümay Güler

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

Abdullah İnci

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

Adil Allahverdiyev

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

Ahmet Gökçen

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

Ahmet Özbilgin

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

Ahmet Üner

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

Ali Ahmet Kilimcioğlu

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

Ali Aydoğdu

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

A. İhsan Diker

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

Alparslan Yıldırım

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

André-Denis G. Wright

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

Anıl İça

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

A. Onur Girişgin

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

Aykut Özkul

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

Aynur Gülanber

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

Aysu Değirmenci Döşkaya

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

Ayşe Caner

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

Ayşe Çakmak

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

Ayşegül Taylan Özkan

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

Ayşegül Ünver

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

Aytül Önal

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

Bahadır Gönenç

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



Bariş Sarı

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

Bayram Ali Yukarı

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

Bayram Şenlik

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

Bekir Keskin

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

Bijen Kuvçak

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

Bilal Dik

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

Bilge Karatepe

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

Burk A. Dehority

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

Cem Ecmel Şaki

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

Cem Vuruşaner

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

Çağrı Büke

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

Chizu Sanjoba

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

Çiğdem Banu Çetin

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

Çiler Akisü

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

Daniela Pilarska Kirilova

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

Davut Alptekin

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

M. Emin Limoncu

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

Derya Dirim Erdoğan

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

Emrah Şimşek

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

Engin Araz

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

Ergün Köroğlu

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

Erol Ayaz

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

Erol Tokşen

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

Esin Güven

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

Esma Kozan

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

Fadile Yıldız Zeyrek

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



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

Ferda Sevinç

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

Feride Kırçalı

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

Feyzullah Güçlü

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

Funda Doğruman Al

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

Gönül Dinç

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

Gökman Zafer Pekmezci

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

Gülay Vural

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

Gülnaz Çulha

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

Gürol Cantürk

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

Hamdi Öğüt

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

Hamza Avcioğlu

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

Handan Çetinkaya

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

Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, İstanbul University, İstanbul, Turkey

Hande Dağcı

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

Hasan Eren

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

Hasan Yılmaz

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

Hatice Çiçek

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

Hatice Ertağlar

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

Hatice Öge

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

Hayrettin Akkaya

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

Hüseyin 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, Israel

Kwang-Poo Chang

Rosalind Franklin Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümü, Şikago,
ABD
Department of Microbiology, Rosalind Franklin University,
Chicago, USA

Levent Aydın

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

Cemal Oğuz

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

Fatih Şimşek

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

Özkan Arslan

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

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 Açıçı

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

Mustafa Demirci

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

Mustafa Kaplan

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

Mustafa Karatepe

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



Mustafa Köse

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

Mustafa Necati Muz

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

Mustafa Yaman

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi, Trabzon, Türkiye
Faculty of Science Karadeniz Technical University, Trabzon,
Turkey

Mustafa Yılmaz

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

Münir Aktaş

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

Naciye Güllüz Şenler

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

Nalan Özdal

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

Nazif 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 Şakrı

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

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

Nurşen Alpagut-Keskin

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

Oğuz Sarımeçmetoğlu

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

Oktay Alver

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

A. Onur Girişgin

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

Osman Selçuk Aldemir

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

Önder Düzlü

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

Özgür Kurt

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, İstanbul, Türkiye
Department of Microbiology, School of Medicine, Acıbadem
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 Yılğör Çırak

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

Volkan Akyol

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

Yaşar Ali Öner

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

Yunus Kılıç

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

Yüksel Gürüz

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

Zafer Karaer

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

Gökmen Zafer Pekmezci

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

Zati Vatansever

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

Zeynep Sümer

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

Zeynep Taş

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



AMAÇ KAPSAM

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

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

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

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

Türkiye Parazitoloji Dergisi, PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, 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, dağıtılabilir, basılabilir, taranabilir, tam metinlere bağlantı verilebilir, dizinlenebilir, yazılıma veri olarak aktarılabilir ve her türlü yasal amaç için kullanılabilir olması"dır. Çoğaltma ve dağıtım üzerindeki tek kısıtlama yetkisi ve bu alandaki tek telif hakkı rolü; kendi çalışmalarının bütünlüğü üzerinde kontrol sahibi olabilmeleri, gerektiği gibi tanınmalarının ve alıntılanmalarının sağlanması için, yazarlara verilmelidir.

Baskı İzinleri

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

AIMS AND SCOPE

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

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

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

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

Turkish Journal of Parasitology is currently indexed in PubMed/MEDLINE, BIOSIS-Zoological Record, 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 fıkırsel içeriğin eleştirel incelemelerini yapmış olmak; VE
3. Yazının yayından önceki son halini gözden geçirmiş ve onaylamış olmak; VE
4. Çalışmanın herhangi bir bölümünün geçerliliği ve doğruluğuna ilişkin soruların uygun şekilde soruşturulduğunun ve çözümlendiğinin garantisini vermek amacıyla çalışmanın her yönünden sorumlu olmayı kabul etmek.

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

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

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

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



YAZIM KURALLARI

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

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

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

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

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

MAKALE HAZIRLAMA

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

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

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

talepleri ile birlikte yazarlarına geri gönderilecektir.

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

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

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

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

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

Makale Türleri

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

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

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

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



YAZIM KURALLARI

Derleme: Yazının konusunda birikimi olan ve bu birikimleri uluslararası literatüre yayın ve atıf sayısı olarak yansıtmış uzmanlar tarafından hazırlanmış yazılar değerlendirmeye alınır. Yazarları dergi tarafından da davet edilebilir. Bir bilgi ya da konunun klinikte kullanılması için 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 etiketlenmemelidir (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 sıraylanumara verilerek atıf yapılmalıdır.

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

Kaynaklar

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

Dergi makalesi: Blasco V, Colavolpe JC, Antonini F, Ziesleskiewicz 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 yayın onaylarının 2 gün içerisinde dergiye iletilmesi istenir.

Baş Editör

Prof. Dr. Yusuf Özbel

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

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

Faks: +90 232 388 13 47

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



INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

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

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

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

Manuscripts Accepted for Publication, Not Published Yet: Slots J. The microflora of black stain on human primary teeth. Scand J Dent Res. 1974.

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

Manuscripts Published in Electronic Format: Morse SS.

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

REVISIONS

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

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

Editor in Chief

Yusuf Özbek, MD, Prof

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

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

Fax: +90 232 388 13 47

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



İÇİNDEKİLER/CONTENS

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / ORIGINAL INVESTIGATIONS

- 165** First Molecular Characterisation of *Blastocystis* from Experimental Rats in Turkey and Comparison of the Frequencies Between Obese and Non-obese Groups
Türkiye'de İlk Kez Kemirgenlerde (Laboratuvar Ratlarında) Blastocystis'in Moleküler Karakterizasyonu ve Obez/Non-obez Ratlarda Yaygınlığının Karşılaştırılması
Erdoğan Malatyalı, Gizem Başaran, Alpaslan Gökçimen, Hatice Ertabaklar, Sema Ertuğ; Aydın, Turkey
- 171** Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis* and *Toxoplasma gondii* in Zoonotic Diseases in European Hares (*Lepus europaeus*)
Avrupa Tavşanlarında (Lepus europaeus) Encephalitozoon cuniculi, Francisella tularensis ve Toxoplasma gondii Zoonoz Hastalıklarının Seroprevalansı
Özcan Özkan, Banuçiçek Yücesan, Cahit Babür, Ömer Orkun; Çankırı, Ankara, Turkey
- 176** Mersin'de Bir Devlet Hastanesine Başvuran Gebelerde *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı, 2019
Seroprevalence of Toxoplasma gondii in Pregnant Women Admitted to a State Hospital in Mersin, 2019
Serpil Gonca, Mehmet Sami Serin, Sultan Halepliler, Sema Erden Ertürk; Mersin, Türkiye
- 181** Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvar'ına 2009-2019 Yılları Arasında Toksoplazmoz Şüphesi ile Başvuran Olguların Seropozitifliklerinin Değerlendirilmesi
Evaluation of Seropositivity of Toxoplasmosis Suspected Patients Admitted to the National Parasitology Reference Laboratory Between 2009 and 2019
Cahit Babür, Banuçiçek Yücesan, Figen Sezen, Selçuk Kılıç; Ankara, Çankırı, Turkey
- 190** Impact of Pandemic in the Frequency of Scabies: Possible Scabies Outbreak Scenario Aftermath COVID-19
Pandeminin Skabiyez Sıklığı Üzerindeki Etkisi: COVID-19 Sonrasında Olası Skabiyez Salgını Senaryosu
Çağrı Turan, Nurcan Metin; Erzurum, Turkey
- 195** *Enterobius vermicularis* Saptanan Olguların Dışkılarında PZR Yöntemi ile *Dientamoeba fragilis* Varlığının Araştırılması
Investigation of Dientamoeba fragilis Frequency in Faecal Samples of Patients with Enterobius vermicularis Infection by Polymerase Chain Reaction
İbrahim Yıldız, Sema Ertuğ, Evren Tileklioğlu, Erdoğan Malatyalı, Özgür Güçlü, Hatice Ertabaklar; Aydın, Türkiye
- 201** Kistik Ekinokokkozisli Hastaların Takibinde Yeni Multiepitop Rekombinant Peptit Antijeninin Kist Sıvısı Antijeni ile Karşılaştırılması
Comparison of the New Multiepitope Recombinant Peptide Antigen with Cyst Fluid Antigen in the Follow-up of Patients with Cystic Echinococcosis
Eylem Akdur Öztürk, Mesut Akıl, Ayşe Caner, Halil Bozkaya, Nazmiye Altıntaş, Ayşegül Ünver; İzmir, Türkiye
- 207** Kistik Ekinokokkozis ile İlgili 2017 ve 2018 Yılları Laboratuvar Sonuçları
Laboratory Results of Cystic Echinococcosis in 2017 and 2018
Oktay Alver, Ayşe Melda Payaslıoğlu, Cüneyt Özakin, Sema Esen; Bursa, Türkiye
- 211** *Wolbachia* spp. and *Spiroplasma* spp. in *Musca* spp.: Detection Using Molecular Approaches
Musca Türlerinde Wolbachia spp. ve Spiroplasma spp.'nin Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi
Mustafa Karatepe, Serap Aksoy, Bilge Karatepe; Niğde, New Haven, Turkey, United States of America

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- 216** İmport Sıtma: Nadir Görülen Kan Evreleri ile Türkiye'de Bir *Plasmodium falciparum* Sıtma Olgusu
Imported Malaria: A Plasmodium falciparum Malaria Case in Turkey with Rarely Seen Blood Stages of Infection
Koray Öncel, Leman Karaağaç, Ahmet Özbilgin; Şanlıurfa, Manisa, Türkiye



İÇİNDEKİLER/CONTENS

- 220** A Rare Cause of Acute Appendicitis: *Enterobius vermicularis*
Nadir Bir Akut Apandisit Sebebi: Enterobius vermicularis
 Mehmet Patmano, Tufan Gümü, Filiz İlhan Türkel; Kayseri, İzmir, İstanbul, Turkey

- 223** Acute Toxoplasmosis During Pregnancy: A Hard Call
Gebelikte Akut Toksoplazmoz: Zor Karar
 Tonay İnceboz, Metin Korkmaz, Derya Dirim Erdoğan, Ümit İnceboz; İzmir, Turkey

- 227** Mukozal Tutulumlu Kutanöz Leishmaniasis
Cutaneous Leishmaniasis with Mucosal Involvement
 Mehmet Çabalak, Gülnaz Çulha, Tayibe Bal, Tuğba Kaya, Ebru Çelik; Hatay, Türkiye

EDİTÖRE MEKTUP/LETTER TO THE EDITOR

- 230** Relationship Between Prevalence of Opisthorchiasis and Incidence of COVID-19: An Observation
Opisthorchiasis Prevalansı ile COVID-19 İnsidansı Arasındaki İlişki: Bir Gözlem
 Rujittika Mungmunpuntipantip, Viroj Wiwanitkit; Bangkok, Pune, Thailand, India



EDİTÖRDEN

2021 yılının üçüncü sayısını, 9 özgün araştırma makalesi, 4 olgu sunumu ve 1 editöre mektup olmak üzere 14 makale ile çıkarmaktayız.

Özgün araştırmalar arasında; kemirgenlerde *Blastocystis* durumunu, Avrupa tavşanlarındaki zoonoz hastalıkları, *Toxoplasmosis* yaygınlığını, pandeminin uyuz enfestasyonuna etkisini, *D. fragilis* ile *E. vermicularis* birlikteliğini, kistik *Ekinokokkozisi* ve ev sineği *Musca*'daki simbiyontları inceleyen çalışmalar bulunmaktadır.

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

Gönderilen makalelere özveri ile hakemlik yapan hocalarımıza da tekrar teşekkür etmek ve üç konuda dikkatlerini çekmek isterim. (a) Yeni kullanmaya başladığımız makale gönderme sisteminde bazı üniversite adreslerine e-posta mesajları ulaşmadığı için eğer varsa ikincil e-posta adreslerini tarafıma göndermenizi; (b) gecikme yaşanmaması için gelen makale inceleme davetlerine "Kabul ediyorum/Kabul etmiyorum" kısmına mümkün olduğunca kısa zamanda yanıt vermenizi ve (c) makalelerin word dosyaları üzerinde "değişiklikleri izle/track changes" ile yaptığınız düzeltmelerde adınızın çıkmadığından emin olmanızı rica ediyorum. Dergimizin öncelikle ESCI sonrasında SCI-E kapsamına alınması için gösterilen çabalarda hakemlik sisteminin son derece önemli olduğunu ve sorunsuz işlemesi gerektiğini bir kez daha hatırlatmak isterim.

Ayrıca sizlerin 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

First Molecular Characterisation of *Blastocystis* from Experimental Rats in Turkey and Comparison of the Frequencies Between Obese and Non-obese Groups

Türkiye’de İlk Kez Kemirgenlerde (Laboratuvar Ratlarında) Blastocystis’in Moleküler Karakterizasyonu ve Obez/Non-obez Ratlarda Yaygınlığının Karşılaştırılması

Erdoğan Malatyalı¹, Gizem Başaran², Alpaslan Gökçimen², Hatice Ertabaklar¹, Sema Ertuğ¹

¹Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Aydın, Turkey

²Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Aydın, Turkey

Cite this article as: Malatyalı E, Başaran G, Gökçimen A, Ertabaklar H, Ertuğ S. First Molecular Characterisation of *Blastocystis* From Experimental Rats in Turkey and Comparison of the Frequencies Between Obese and Non-obese Groups. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):165-170.

ABSTRACT

Objective: *Blastocystis* is a zoonotic protozoan that infects a wide range of animals, including humans and rodents. This study aimed to determine the frequency and subtype distribution of *Blastocystis* in laboratory rats at a laboratory animal facility in Turkey.

Methods: This study included 54 male Sprague-Dawley rats from Aydın Adnan Menderes University Laboratory Animal Center. Among these rats, 30 were fed with high-fat diet (obese group) and the remaining 24 received standard chow (non-obese group). *Blastocystis* positivity was determined with amplification of small subunit 18S rRNA gene following their nucleic acid extraction from faecal samples. Subtypes were detected by submitting the partial 18S rRNA gene sequences to the database (pubmlst.org/blastocystis). The phylogenetic tree from evolutionary distance data was constructed using the neighbour-joining method.

Results: *Blastocystis* infection was detected in 33 (61.1%) of 54 laboratory rats. The frequency of *Blastocystis* was significantly different between obese and non-obese rats ($p < 0.05$), with 43.3% and 83.3%, respectively. When referred to the database, exact matches were identified with *Blastocystis* subtype 4 (ST4) for all isolates. In the phylogenetic analysis of the partial 18S rDNA sequence, the sequence was closely clustered with reference ST4 subtypes from other countries, including China, Japan, United Kingdom and Czech Republic.

Conclusion: This study revealed the high rate of *Blastocystis* colonisation in laboratory rats, posing a risk for human transmission. The comparison of obese and non-obese groups supported the idea that *Blastocystis* might be an indicator of healthy gut flora. The detection of ST4 in all rats agreed with previous reports of the predominance of this subtype in rodents.

Keywords: *Blastocystis*, laboratory rats, obesity, Turkey

ÖZ

Amaç: *Blastocystis*, insanlar ve kemirgenler dahil birçok canlıda görülen zoonotik karakterli bir protozoondur. Bu çalışmada, Türkiye’de ilk kez kemirgenlerde (laboratuvar ratlarında) *Blastocystis* görülme sıklığının ve alt tiplerinin belirlenmesi, ayrıca obezite ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmaya Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi’nde yer alan 54 erkek Sprague-Dawley rat dahil edilmiştir. Bunların 30’unu yüksek yağlı diyetle (obez) beslenmiş ratlar, kalan 24’ünü standart (normal) yem ile beslenen ratlar oluşturmuştur. *Blastocystis* pozitifliği, dışkı örneklerinden nükleik asit ekstraksiyonu sonrası küçük alt birim 18S rRNA geninin amplifikasyonu ile belirlenmiştir. *Blastocystis* alt tipleri, kısmi 18S rRNA gen sekanslarının veri tabanında (pubmlst.org/blastocystis) karşılaştırılması ile tespit edilmiştir. Ayrıca, neighbor-joining metodu kullanılarak izolatların evrimsel uzaklıklarını gösteren filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

Bulgular: Çalışmamızda 54 laboratuvar ratının 33’ünde (%61,1) *Blastocystis* tespit edilmiştir. Ek olarak, *Blastocystis* görülme sıklığı obez ve normal ratlar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık göstermiştir ($p < 0,05$, sırasıyla; %43,3 ve %83,3). Veri tabanı ile karşılaştırıldığında tüm izolatların alt tipi 4 (ST4) olarak tanımlanmıştır. *Blastocystis* 18S rDNA dizisinin filogenetik analizi, bu çalışmadaki sekansların Çin, Japonya, Birleşik Krallık ve Çek Cumhuriyeti dahil diğer ülkelerden alınan referans ST4 alt tipleriyle yakın olduğunu göstermiştir.

Received/Geliş Tarihi: 25.01.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 16.06.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Erdoğan Malatyalı, Aydın Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Department of Parasitology, Aydın, Turkey

Phone/Tel: +90 256 219 20 00 **E-mail/E-Posta:** erdogan.malatyalı@adu.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-3943-467X

Sonuç: Çalışmamız, laboratuvar ratlarında *Blastocystis* kolonizasyonunun yüksek olduğunu ortaya koymakta olup, bu sonuç *in vivo* deney yapan araştırmacılar için bulaş riskinin yüksek olabileceğine dikkat çekmektedir. Obez rat grubunda normal ratlara göre *Blastocystis* görülme sıklığının daha düşük olması, *Blastocystis*'in sağlıklı bağırsak florasının bir göstergesi olabileceği fikrini desteklemektedir. Tüm sıçanlarda ST4'ün saptanması, bu alt tipin kemirgenlerde baskın olduğunu gösteren diğer araştırmalar ile uyum göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Blastocystis*, deneysel rat, obezite, Türkiye

INTRODUCTION

Blastocystis is one of the most frequent intestinal protozoan in the world, with an estimated one billion infected people. It also inhabits a variety of animal species and can be transmitted between humans and other animals (1). Phylogenetic analysis of the small subunit rRNA (SSU rRNA) gene from *Blastocystis* isolates showed the existence of 23 subtypes (STs), nine (ST1-9) of them were isolated from human fecal samples and host range was highly correlated with *Blastocystis* subtype (2,3). For example, ST3 was the most common subtype in humans and rodents were the main animal reservoir of ST4 (4).

Laboratory rats, the domesticated form of *Rattus norvegicus*, are most widely used animal model for biomedical and veterinary researches since 1850s. A variety of viral, bacterial, parasitic, and fungal agents was detected in laboratory rats. The frequency of these microorganisms declined considerably in recent years; however, they can be persistent and have potential effects to the progress of biomedical experimentation (5). In addition, some of these agents including *Blastocystis* have zoonotic potential and they were reported as a risk for researchers.

Despite its high prevalence, far too little attention has been paid to the potential role of *Blastocystis* in systemic diseases such as obesity. The high body mass index (BMI) is an important risk factor for non-communicable diseases such as: diabetes, cardiovascular diseases, and some cancers. Poor nutrition and hygiene in developing countries increase the risk of infectious diseases; however, in industrialized countries being overweight is a potential risk for infectious diseases (6). Intestinal microbiota or dysbiosis has important function in the development of obesity. The key factors for the development of obesity such as food absorption and low-grade inflammation are also directly related to the intestinal microbiota (7). Different rat models of *Blastocystis* have been developed with varying degree of success for a better understanding host and microbiota interactions (8). The aim of the present study was to investigate *Blastocystis* colonization in rats from a laboratory animal research center in Turkey and its relation with diet-induced obesity.

METHODS

Animals and Ethical Considerations

The present study investigated the frequency of *Blastocystis* among 54 male, 10-week old Sprague-Dawley (SD) albino rats in the Laboratory Animal Facility at Aydın Adnan Menderes University, Turkey.

The rats were housed in the following conditions: 12:12 h dark-light cycle, 21±1 °C, and humidity of 45-65% in polycarbonate transparent cages. There were two groups of randomly selected rats: 30 were fed with high-fat (obese) and 24 rats were fed with ad libitum supply of standard chow (normal). This type of diet included a fat content of 45% and supplied from a commercial

facility. The animals fed with this diet for 24 weeks. The rats were weighted separately before taking fecal samples and Lee index (cube root of body weight/nose-anal length) was calculated (9). The rats that have Lee's index value above three were included in obese group.

All experiments were performed according to the Animal Care and Use Protocol of Aydın Adnan Menderes University. The study was reviewed and approved by the Local Ethical Committee for Laboratory Animals at Aydın Adnan Menderes University (no: 2018-109).

Fecal Samples and DNA Isolation

The faecal samples were collected after high fat diet (HFD) diet and normal diet. Therefore, they were already obese when we took the samples. An individual rat was placed in an empty clean cage and allowed to defecate normally. The fecal samples were placed directly into a 1.5 mL tube and subjected to DNA isolation at the same day. A commercially available DNA extraction kit (Qiagen Stool Minikit, Germany) was used according to the manufacturer's instructions.

Polymerase Chain Reaction (PCR) and Determination of Subtypes

Blastocystis "barcode region" was amplified in a single PCR reaction with RD5 (Forward) (5'-ATC TGG TTG ATC CTG CCA GT-3') and BhRDr (Reverse) (5'-GAG CTT TTT AAC TGC AAC AAC G-3') primers as previously reported (10). We used the isolate ADUBI201 (GenBank: KU361300) as positive control in the experiments. The amplicons were sequenced by a commercial facility with 377 applied biosystems DNA sequencer.

Subtypes were determined according to exact/closest matches at *Blastocystis* 18S rRNA database (<http://pubmlst.org/blastocystis>) (11). The present sequences and references were aligned by using ClustalW algorithm in molecular evolutionary genetics analysis (MEGA version 6.0). Neighbour-Joining method in the bootstrap test (1.000 replicates) was used to make a phylogenetic tree, the evolutionary distances were computed using the maximum composite likelihood (12,13). In the phylogenetic analysis, *Proteromonas lacertae* 18S ribosomal RNA gene partial sequence (AY224080) was included as the out-group.

Statistical Analysis

The statistical analysis was performed with Statistical Package for the Social Sciences (SPSS version 13.0) program, (PASW Inc, Chicago. IL. USA). The frequency of *Blastocystis* in obese and normal groups were compared with chi-square test and weights were compared with Student t-test. The significance level was set at two-sided p-value <0.05.

RESULTS

Blastocystis was observed in 33 (61.1%) of 54 laboratory rats, the expected size of PCR product was detected in agarose gel

electrophoresis with barcode region specific primers (Figure 1). In addition, *Blastocystis* had significantly high rate of frequency in normal rats than in the obese rats, the rates were 83.3% and 43.3% and respectively (Table 1). The mean body weight of obese rats was 427.8 ± 42.5 and it was 271.9 ± 21.1 in normal rats.

The barcode sequences of 33 *Blastocystis* isolates were identical and no polymorphism was detected. The sequence was deposited to GenBank® nucleotide database (accession number: MH285979). When referred to the “pubMLST database” it was detected as ST4. The evolutionary distance between the detected sequence and the common reference sequences was presented in Figure 2. This phylogenetic analysis also showed that the sequence was closed to the reference ST4 sequence.

The comparison of nucleotide sequence from the present study with available sequences from Genbank® with the basic local alignment search tool revealed 21 sequences that were identical to our sequence. These sequences had different country origins and

isolated from different hosts (Table 2). In addition, 18 of them (85.7%) were reported as ST4 and the remaining three were ST5 according to the records in Genbank® database.

DISCUSSION

Blastocystis is a frequent intestinal protozoon of humans with zoonotic transmission risk (14). Our study found a high frequency of *Blastocystis* (61.1%) in laboratory rats, indicating that these animals should be carefully monitored for the presence of *Blastocystis* and elimination strategies might be necessary before designing an experimental study, especially related with gastroenterology. A study from China reported that 8.2% of laboratory rat samples were positive for *Blastocystis*, in addition, SD rats had higher infection rates compared to Wistar rats and spontaneously hypertensive rats (15). The use of same areas for animal weighting, control and feeding might result in spread of *Blastocystis* among rats. Fecal-oral transmission way of *Blastocystis* cyst forms in rats was previously reported (16). Therefore, because of the zoonotic potential and possible effects to the findings of *in vivo* experiments researchers who study with laboratory animals should pay attention to avoid fecal contamination and transmission of *Blastocystis*.

In the current study, we defined the frequency and subtype distribution of *Blastocystis* isolates from rodents for the first time in Turkey. The analysis of thirty *Blastocystis* 18S rRNA genes revealed that all were identical and belonged to ST4 cluster. Several studies have investigated *Blastocystis* frequency or subtypes in rodents, they reported ST4 as the predominant subtype in those studies. Two *Blastocystis* subtypes (ST4 and ST7) were identified in a total of 355 fecal samples of experimental rats in China, the frequency of ST4 was 89.7% (15). In Peninsular Malaysia, wild rodents were examined for *Blastocystis* positivity, the frequency was 45.9% by *in vitro* culture (17). Additionally, the subtype distribution of 47 isolates was as follows: the most abundant (91.5%) subtype was ST4 that was followed by ST1 (4.3%), ST5 (2.1%) and ST7 (2.1%). It also highlighted the zoonotic potential of *Blastocystis* and considered as a source of infection for humans as in our study. Because, it was reported that ST4 is also found in human fecal samples especially in European countries including Turkey (4,18). In addition, *Blastocystis* ST4 was the only subtype that was detected in laboratory rats and Guinea pigs from Indonesia and Japan according to sequence data of the SSU rDNA (19). The authors examined totally 23 *Blastocystis* isolates from *R. exulans* and *R. norvegicus*, all were belonged to *Blastocystis* ST4. A study from southern Iran reported that 15.8% of rats were infected with *Blastocystis* and three subtypes were detected, including ST4, ST3, and ST1 (20). The distribution of *Blastocystis* subtypes was studied among symptomatic patients in Manisa and İzmir: ST3 (44.7%), ST1 (13.8%), ST2 (11.7%), ST6 (1%), ST7 (1.1%) and ST2+ST3 (2.1%) (21). It was reported that ST3 was the most common subtype followed by ST1, ST2 and ST7 subtypes in Aydın (22). A study determined the subtypes of *Blastocystis* isolates from faecal cultures of 350 patients with gastrointestinal complaints in Ankara. The researchers determined *Blastocystis* subtype distribution as: ST3 (28%), ST1 (13.9%), ST4 (11.6%), ST7 (11.6%), ST2 (7%), and ST6 (2.3%) (23). In addition, a recent study revealed an equal distribution of three *Blastocystis* STs including ST1, ST2 and ST3 in the same city (24). In Istanbul, it was reported that the most frequently detected *Blastocystis*

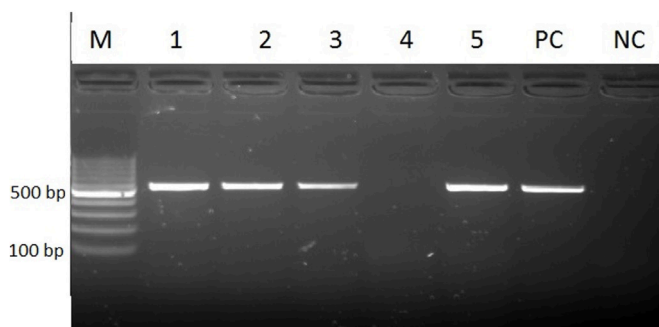


Figure 1. Agarose gel electrophoresis of some PCR products amplified with RD5 and BhRDp primers
M: Marker (100 bp, invitrogen™), Positive samples: Line 1-3, and 5, negative sample: Line 4, PC: Positive control, NC: Negative control, PCR: Polymerase chain reaction

Table 1. The positivity of *Blastocystis* in obese and normal rats

	<i>Blastocystis</i>		Total	Statistical analysis
	Positive n (%)	Negative n (%)		
Obese*	13 (43.3)	17 (56.7)	30	
Normal*	20 (83.3)	4 (16.7)	24	$\chi^2=8.97$, $p<0.05$
Total	33 (61.1)	21 (38.9)	54	

*According to the Lee index

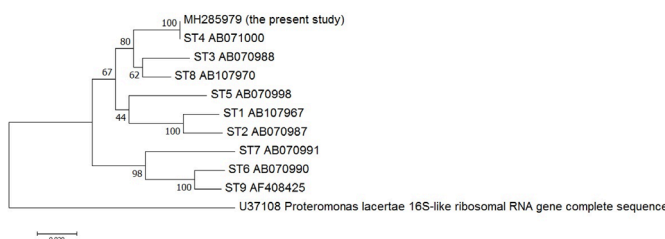


Figure 2. The evolutionary distance between barcode sequence from the present study (MH285979) and the reference sequences. The evolutionary history was inferred by using the maximum likelihood method based on the Tamura-Nei model

Table 2. The list of partial *Blastocystis* 18S rRNA sequences that were identical to the sequence from our study

Genbank® accession	Number of sequences	Country	Host	Subtype
MH285979*	1	Turkey	Sprague-Dawley rats	ST4
MK940492-3	2	China	Patagonian mara	ST4
MT039550	1	Czech Republic	Human	ST4
MN124100	1	China	Chipmunk	ST5
MN123809	1	China	Guinea pig	ST4
MN123799	1	China	Guinea pig	ST5
MN123530, 557	2	China	Eurasian red squirrel	ST4
MN123233	1	China	Eurasian red squirrel	ST5
MH127489,90,92-97,99,500	10	Japan	Norway rat	ST4
MF186667	1	The UK	Eurasian red squirrel	ST4
AB071000	1	Japan	Norway rat	ST4
*The sequence from the present study				

subtype was ST3, followed by ST1, ST5, ST2 and ST4, respectively (25). *Blastocystis* genetic diversity was investigated in 3-13 years aged children in Eskişehir, subtype distribution was as follows: ST3 (43.4%), ST1 (26.1%), ST4 (10.9%) and ST2 (8.7%) (26). *Blastocystis* subtype distribution in 28 samples from Çukurova region revealed that ST1 (35.7%), ST3 (25%), ST2 (17.8%), and ST4 (10.7%), ST5 (3.6%), ST6 (3.6%), and ST7 (3.6%) (27). In cancer patients, three *Blastocystis* subtypes were identified: ST3 (40%), ST2 (33%), and ST1 (20%), and one infected with ST1/ST2 (28). A study evaluated *Blastocystis* in animal hosts in Turkey in a large-scale. They reported that *Blastocystis* frequency was 19.4% in farm animals including sheep, water buffaloes, cattle, and chickens. No positivity was found in dogs, cats, and horses. The animal specific (ST10 and ST14) and zoonotic subtypes (ST7) were identified (29).

The role of *Blastocystis* in human health has long been a question of great interest in the recent literature. In the current study, the first time in the literature, comparing the obese rats with normal rats showed a lower colonization of *Blastocystis* in obese rats. The animals in our study shared a common environment during weight control and feeding, which facilitated the fecal-oral transmission of *Blastocystis*. Therefore, it may be assumed that all the animals have almost equally exposed to *Blastocystis* infection. These findings supported the evidence from a previous observation in humans that investigated the link between *Blastocystis* infection and BMI. They reported that *Blastocystis* was more common in lean individuals with a significant difference (30). A significant decrease in two dominant phyla (bacteroidetes and firmicutes) and some metabolic changes were reported after HFD induced obesity in rats. This type of diet also caused a lower colonization of *Lactobacillus*, a health-promoting bacteria genera (31). In our study, obese rats were fed with HFD, therefore, a similar dysbiosis of intestinal microbiota might be formed. The enrichment of certain bacteria was also observed in obese rats (32). Moreover, increased Firmicutes to Bacteroidetes ratio was associated with obesity in adult humans and in animal models (33). It was reported that individuals with *Bacteroides* dominant gut microbiota were less susceptible to *Blastocystis* infection than individuals with *Prevotella* and *Ruminococcus* dominant (34). In addition, *Blastocystis* colonization was significantly associated

with high bacterial richness and *Bacteroides* enterotype and it was suggested that *Blastocystis* might be an indicator of a healthy intestinal flora rather than a dysbiosis (34,35). On the other hand, decreased *Blastocystis* colonization was reported in gastrointestinal disorders including inflammatory bowel diseases, ulcerative colitis, and irritable bowel syndrome (36-38).

Study Limitations

A limitation of our study was that we did not have information about the initial positivity (prior to HFD diet feeding) of *Blastocystis* in experimental rats. This cross-sectional study was designed to compare *Blastocystis* positivity in obese and non-obese experimental rats. Therefore, we could not have data about the changes in *Blastocystis* positivity during 24 weeks of HFD and normal diet. We could study *Blastocystis* frequency only at the end of the both types of diets.

CONCLUSION

The current study reported the frequency and subtypes of *Blastocystis* in rodents (laboratory rats) for the first time in Turkey. The study emphasized the importance of *Blastocystis* during *in vivo* studies and offered a possible negative association between *Blastocystis* and obesity. It was thought that unbalanced gut microbiota due to obesity might decrease *Blastocystis* colonization. However, there is a great need of experimental studies dealing with intestinal flora and *Blastocystis* colonization in obese rats. Further studies in obese individuals will also greatly contribute to the understanding of the relationship between *Blastocystis* and intestinal flora.

* Ethics

Ethics Committee Approval: The study was reviewed and approved by the Local Ethical Committee for Laboratory Animals at Aydın Adnan Menderes University (no: 2018-109).

Informed Consent: All experiments were performed according to the Animal Care and Use Protocol of Aydın Adnan Menderes University. The study was reviewed and approved by the Local Ethical Committee for Laboratory Animals at the same university (no: 2018-109).

Peer-review: Externally and internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: E.M., G.B., Concept: E.M., A.G., S.E., Design: E.M., A.G., H.E., Data Collection or Processing: E.M., G.B., Analysis or Interpretation: E.M., G.B., A.G., H.E., S.E., Literature Search: E.M., G.B., Writing: E.M., G.B.

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

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

REFERENCES

- Yoshikawa H, Wu Z, Pandey K, Pandey BD, Sherchand JB, Yanagi T, et al. Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from children and rhesus monkeys in Kathmandu, Nepal. *Vet Parasitol* 2009; 160: 295-300.
- Maloney JG, Lombard JE, Urie NJ, Shivley CB, Santin M. Zoonotic and genetically diverse subtypes of *Blastocystis* in US pre-weaned dairy heifer calves. *Parasitol Res* 2019; 118: 575-82.
- Popruk S, Pintong R, Radomyos P. Diversity of *Blastocystis* subtypes in humans. *Journal of Tropical Medicine and Parasitology* 2013; 36: 88-97.
- Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, Dionigia M, Texier C, Delbac F, et al. *Blastocystis*, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. *Ther Adv Infect Dis* 2013; 1: 167-78.
- Baker DG. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 231-66.
- Dobner J, Kaser S. Body mass index and the risk of infection - from underweight to obesity. *Clin Microbiol Infect* 2018; 24: 24-8.
- Baohman OA, Zamzami MA, Taher I, Abubaker J, Abu-Farha M. The role of Gut Microbiota in the development of obesity and Diabetes. *Lipids Health Dis* 2016; 15: 108.
- Defaye M, Nourrisson C, Baudu E, Warwzynyak I, Bonnin V, Bonnet M, et al. Efficient and reproducible experimental infections of rats with *Blastocystis* spp. *PLoS One* 2018; 13: e0207669.
- Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *American Journal of Phys-Leg Cont* 1929; 89: 24-33.
- Sciduna SM, Tawari B, Clark CG. DNA barcoding of *blastocystis*. *Protist* 2006; 157: 77-85.
- Jolley KA, Maiden MC. BIGSdb: Scalable analysis of bacterial genome variation at the population level. *BMC Bioinformatics* 2010; 11: 595.
- Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987; 4: 406-25.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 2013; 30: 2725-9.
- Osman M, Bories J, El Safadi D, Poirel MT, Gantois N, Benamrouz-Vanneste S, et al. Prevalence and genetic diversity of the intestinal parasites *Blastocystis* sp. and *Cryptosporidium* spp. in household dogs in France and evaluation of zoonotic transmission risk. *Vet Parasitol* 2015; 214: 167-70.
- Li J, Yuan Y, Jiang Y, Wang W, Chao L, Sun R, et al. Molecular identification and subtyping of *Blastocystis* sp. in laboratory rats in China. *Parasite* 2020; 27: 35.
- Yoshikawa H, Yoshida K, Nakajima A, Yamanari K, Iwatani S, Kimata I. Fecal-oral transmission of the cyst form of *Blastocystis hominis* in rats. *Parasitol Res* 2004; 94: 391-6.
- Farah Haziqah MT, Mohd Zain SN, Chandrawathani P, Premaalatha B, Mohd Khairul Nizam MK, et al. Genetic diversity of rodent *Blastocystis* sp. from Peninsular Malaysia. *Trop Biomed* 2018; 35: 586-92.
- Ozyurt M, Kurt O, Mølbak K, Nielsen HV, Haznedaroglu T, Stensvold CR. Molecular epidemiology of *Blastocystis* infections in Turkey. *Parasitol Int* 2008; 57: 300-6.
- Katsumata M, Yoshikawa H, Tokoro M, Mizuno T, Nagamoto T, Hendarto J, Asih, et al. Molecular phylogeny of *Blastocystis* isolates from wild rodents captured in Indonesia and Japan. *Parasitol Res* 2018; 117: 2841-6.
- Mohammadpour I, Bozorg-Ghalati F, Gazzonis AL, Manfredi MT, Motazedian MH, Mohammadpour N. First molecular subtyping and phylogeny of *Blastocystis* sp. isolated from domestic and synanthropic animals (dogs, cats and brown rats) in southern Iran. *Parasit Vectors* 2020; 13: 365.
- Dağıcı H, Kurt Ö, Demirel M, Mandiracioglu A, Aydemir S, Saz U, et al. Epidemiological and diagnostic features of *blastocystis* infection in symptomatic patients in izmir province, Turkey. *Iran J Parasitol* 2014; 9: 519-29.
- Malatyalı E, Ertabaklar H, Ertuğ S. DNA Barkotlama Yöntemiyle *Blastocystis* Alt Tiplerinin Belirlenmesi ve Tanı Yöntemlerinin Değerlendirilmesi [Subtype Distribution of *Blastocystis* spp. with DNA Barcoding and Evaluation of Diagnostic Methods]. *Mikrobiyol Bul* 2019; 53: 308-18.
- Adıyaman Korkmaz G, Doğruman Al F, Mumcuoğlu İ. Dışkı örneklerinde *Blastocystis* spp. Varlığının mikroskopik, kültür ve moleküler yöntemlerle araştırılması [Investigation of the presence of *Blastocystis* spp. in stool samples with microscopic, culture and molecular methods]. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49: 85-97.
- Sarzhanoğlu F, Köster PC, Doğruman-Al F, Bailo B, Dashti A, Demirel-Kaya F, Carmena D. Detection of enteric parasites and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Blastocystis* sp. in patients admitted to hospital in Ankara, Turkey. *Parasitology* 2021; 148: 550-61.
- Büyükbaba Boral Ö, Çelik Paycu DG, Akgül A, İşsever H. *Blastocystis* spp. saptanan 50 semptomatik hastada subtip dağılımının saptanması. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2017; 3: 6-10.
- Dogan N, Aydın M, Tuzemen NU, Dinleyici EC, Oguz I, Doğruman-Al F. Subtype distribution of *Blastocystis* spp. isolated from children in Eskişehir, Turkey. *Parasitol Int* 2017; 66: 948-51.
- Koltas IS, Eroglu F. Subtype analysis of *Blastocystis* isolates using SSU rRNA-DNA sequencing in rural and urban population in southern Turkey. *Exp Parasitol* 2016; 170: 247-51.
- Mülayim S, Aykur M, Dağıcı H, Dalkılıç S, Aksoy A, Kaplan M. Investigation of Isolated *Blastocystis* Subtypes from Cancer Patients in Turkey. *Acta Parasitol* 2021; 66: 584-92.
- Onder Z, Yildirim A, Pekmezci D, Duzlu O, Pekmezci GZ, Ciloglu A, et al. Molecular identification and subtype distribution of *Blastocystis* sp. in farm and pet animals in Turkey. *Acta Trop* 2021; 220: 105939.
- Andersen LO, Stensvold CR. *Blastocystis* in Health and Disease: Are We Moving from a Clinical to a Public Health Perspective? *J Clin Microbiol* 2016; 54: 524-8.
- Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Freitas J, Pestana D, et al. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte* 2015; 5: 11-21.
- Petriz BA, Castro AP, Almeida JA, Gomes CP, Fernandes GR, Kruger RH, et al. Exercise induction of gut microbiota modifications in obese, non-obese and hypertensive rats. *BMC Genomics* 2014; 15: 511.
- Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L, Puchkov K, Perederiy V, et al. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiol* 2017; 17: 120.
- Andersen LO, Bonde I, Nielsen HB, Stensvold CR. A retrospective metagenomics approach to studying *Blastocystis*. *FEMS Microbiol Ecol* 2015; 91: fiv072.
- Tito RY, Chaffron S, Caenepeel C, Lima-Mendez G, Wang J, Vieira-Silva S, et al. Population-level analysis of *Blastocystis* subtype prevalence and variation in the human gut microbiota. *Gut* 2019; 68: 1180-9.
- Krogsgaard LR, Engsbø AL, Stensvold CR, Nielsen HV, Bytzer P. The prevalence of intestinal parasites is not greater among individuals with

- irritable bowel syndrome: a population-based case-control study. Clin Gastroenterol Hepatol 2015; 13: 507-513.e2.
37. Coskun A, Malatyali E, Ertabaklar H, Yasar MB, Karaoglu AO, Ertug S. Blastocystis in ulcerative colitis patients: Genetic diversity and analysis of laboratory findings. Asian Pac J Trop Med 2016; 9: 916-9.
38. Petersen AM, Stensvold CR, Mirsepasi H, Engberg J, Friis-Møller A, Porsbo LJ, et al. Active ulcerative colitis associated with low prevalence of Blastocystis and Dientamoeba fragilis infection. Scand J Gastroenterol 2013; 48: 638-9.

Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis* and *Toxoplasma gondii* in Zoonotic Diseases in European Hares (*Lepus europaeus*)

Avrupa Tavşanlarında (Lepus europaeus) Encephalitozoon cuniculi, Francisella tularensis ve Toxoplasma gondii Zoonoz Hastalıklarının Seroprevalansı

Özcan Özkan¹, Banuçiçek Yücesan², Cahit Babür³, Ömer Orkun⁴

¹Çankırı Karatekin University Faculty of Sciences, Department of Biology, Çankırı, Turkey

²Çankırı Karatekin University Faculty of Health Sciences, Department of Department of Control of Zoonotic Diseases, Çankırı, Turkey

³Public Health General Directorate, National Parasitology Reference Laboratory, Ankara, Turkey

⁴Ankara University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Protozoology and Entomology, Ankara, Turkey

Cite this article as: Özkan Ö, Yücesan B, Babür C, Orkun Ö. Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis* and *Toxoplasma gondii* in Zoonotic Diseases in European Hares (*Lepus europaeus*). Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):171-175.

ABSTRACT

Objective: European hares (*Lepus europaeus*) are among the most important animals that are connected with humans in many countries and natural life. Hares are important for public health, since they carry many zoonotic diseases, such as *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis* and *Toxoplasma gondii*. The study aimed to determine the seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis* and *T. gondii* and the potential zoonotic risk posed by hares that live in provinces of Turkey.

Methods: Blood samples were collected from hares during the official hunting season. Serum samples were examined serologically by enzyme-linked immunosorbent assay for *E. cuniculi*, Sabin-Feldman dye test was used to examine *T. gondii*, while micro-agglutination test was used to examine *F. tularensis*.

Results: Of the total of 42 hares examined, one (2.4%) was found positive for *E. cuniculi*, two (4.8%) were found positive for *T. gondii* and one (2.4%) was found positive for *F. tularensis*.

Conclusion: Anti-*T. gondii* and anti-*E. cuniculi* antibodies were serologically detected in hares for the first time in Turkey. Furthermore, this is the first study reporting the seropositivity of *F. tularensis* infection in hares.

Keywords: Hare, zoonotic, *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis*, *Toxoplasma gondii*, serology

ÖZ

Amaç: Avrupa tavşanları (*Lepus europaeus*) pek çok ülkede bulunan ve doğal yaşamda insanlarla bağlantısı olan en önemli hayvan türlerinden biridir. Tavşanlar; *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis*, *Toxoplasma gondii* gibi birçok zoonotik hastalığı taşıdığı için halk sağlığı açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmanın amacı, bu tip enfeksiyonların yaygınlığını ve Türkiye’de tavşanların oluşturduğu potansiyel zoonotik riski göstermektir.

Yöntemler: Kan örnekleri, tavşanlardan resmi av sezonunda toplanmıştır. Serum örnekleri; *E. cuniculi* için enzim bağlantılı immüno sorbent testi, *T. gondii* için Sabin-Feldman boya testi ve *F. tularensis* için ise mikroagglütinasyon testi kullanılarak, serolojik olarak incelenmiştir.

Bulgular: Yapılan analiz sonucunda 42 tavşandan 1’inde (%2,4) *E. cuniculi* testi pozitif, 2’sinde (%4,8) *T. gondii* testi pozitif ve 1’inde (%2,4) *F. tularensis* testi pozitif olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada, Türkiye’de ilk kez yabani tavşanlarda anti-*T. gondii* ve anti-*E. cuniculi* antikörleri serolojik olarak tespit edilmiştir. Bu ayrıca, tavşanlarda *F. tularensis* enfeksiyonunun seropozitifliği ile ilgili olarak bildirilen ilk çalışmadır. Çalışmada yer alan üç farklı zoonotik hastalığın sıklığı, diğer Avrupa ülkelerinde bildirilen bulgular ve diğer referanslı çalışmalarla da tutarlıdır.

Anahtar Kelimeler: Tavşan, zoonoz, *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis*, *Toxoplasma gondii*, seroloji

Received/Geliş Tarihi: 17.11.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 17.02.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Özcan Özkan, Çankırı Karatekin University Faculty of Sciences, Department of Biology, Çankırı, Turkey
Phone/Tel: +90 376 218 95 37 **E-mail/E-Posta:** ozcanozkan@karatekin.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-5216-8361

INTRODUCTION

Wild animals as hosts and reservoirs have been known to play an important role in spreading of some zoonotic diseases. Indeed, throughout history, it is known that zoonotic diseases caused by various bacteria, viruses, and parasites in wild animals constitute a major public health problem, affecting the world population (1). Hare has been involved in the epidemiology of important pathogens, posing threat especially for public health (1-3). Therefore, the importance and the attention given to zoonosis is increasing in the fields of veterinary medicine and public health.

Toxoplasma gondii was discovered in 1908. Since then, it is still a significant zoonotic parasite that has a worldwide distribution which affects humans as well as warm-blooded animals (4). Hares are stated to be exceptionally susceptible to the primary infection (3,5,6). Therefore, the animals are potential reservoirs for *T. gondii* transmission, and the detection of *T. gondii* hosted by rabbits is a public health concern, since human consumption of rabbit meat continues to increase. For this reason, the importance of *T. gondii* infections in hares is on the rise (3,7,8). On the other hand, as far as we know, there are very few studies on the prevalence of toxoplasmosis regarding some wild animals, but concerning the aforementioned infection, there is no data on hare in Turkey.

Tularemia was first reported as an outbreak in a military garrison and rural community in 1936 in the Lüleburgaz district of Turkey. Since then, the disease has been recorded from different regions of Turkey, but the majority of epidemics were reported in the western Black Sea and the Marmara Regions (9,10). Recently, in different regions of Turkey, there has been an increase in reports of tularemia epidemics. Therefore, in 2005, tularemia was included in the list of Communicable Diseases Notification System (Group C) by the Ministry of Health of the Republic of Turkey (11,12). Hare is a common host of *Francisella tularensis*, therefore, infection in humans can occur especially by contacting infected animals during hunting activities, as well as through the consumption of contaminated food and water (1,2,13).

Encephalitozoon cuniculi is a microsporidian parasite commonly found in rabbits that can infect humans, causing encephalitozoonosis. It is an opportunistic pathogen for humans and often causes an asymptomatic disease in wild and domestic rabbits as well. Encephalitozoonosis causes renal and central nervous system diseases in rabbits (14-16).

To date, in Turkey, encephalitozoonosis has been reported in domestic rabbits, but the situation has not yet been investigated in hares, which were identified as European hares (*Lepus europaeus*) according to molecular and morphometric analysis (17). As described above, hares are a potential source of these zoonotic diseases that seriously threaten public health. Therefore, the aim of the present study was to investigate the seroprevalence of *F. tularensis*, *T. gondii* and *E. cuniculi* in hunted hare in the Central Anatolia region of Turkey.

METHODS

Study Area and Samples

This study was conducted in Ankara and Çankırı provinces at the Central Anatolia region of Turkey (Figure 1). Especially within the districts in the north of the Northern provinces which are located in the transition zone between Central Anatolia and the Western

Black Sea regions because the climate characteristics of the Black Sea region and the Inner Anatolian region differ from each other. Blood samples were collected directly from the heart shortly after hares (*Lepus europaeus*) were shot by hunters in the hunting areas. Each blood sample was taken into tubes containing EDTA, and labeled, placed on ice, and were transferred to the Protozoology and Entomology Laboratory of Ankara University and the Zoology Laboratory of Çankırı Karatekin University. Then, the blood samples were centrifuged at 2.000 rpm for 10 minutes in order to separate the sera. Serum samples were stored at -20 °C until serological analysis was performed. Previously collected serum samples from hares in Ankara province by Orkun and Karaer (2017) between 2013 and 2016 were used for serological analysis. The study did not require an Animal Ethics Statement in accordance with the regulations due to samples being obtained from hunted hares during the official hunting season in wildlife (HADMEK: 2021/61).

Serological Assays for Diagnosis of the Diseases

Encephalitozoon cuniculi

The sera of hare were screened for *E. cuniculi*-specific IgG antibodies with a commercial ELISA kit (Express Biotech International-USA) following the manufacturer's instructions while containing positive and negative controls (18). When the difference between sample optical density (OD) and negative-control OD (Δ) was greater than, or equal to 0.300, the sample was evaluated as positive.

Toxoplasma gondii

Anti-*T. gondii* IgG antibodies levels in sera samples were assessed by SFDI (4), and the assessment was carried out in the toxoplasmosis laboratory at the Public Health General Directorate. Briefly, sera samples were inactivated at 56 °C for 30 min. and later, were diluted at 1/4, 1/16, 1/64, 1/256 and 1/1024 titers. Titers 1/16 and above were considered as positive.

Francisella tularensis

The microagglutination test (MAT) was used for the serological diagnosis of *F. tularensis* (19). The application took place in the zoonosis laboratory at the Public Health General Directorate. Briefly, it was based on the observation of antigen antibody reaction in micro plates with the help of dyed antigens. Positive and negative controls and sera were diluted with saline with serial dilutions (1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, and 1/320). *F. tularensis* MAT stock dyed antigen containing 0.005% safranin-O was used as the test antigen. When agglutination in the form of lace was seen, antibody titer was considered positive.

Statistical Analysis

The data obtained in our study is presented in the form of numbers and percentages in the Table 1.

RESULTS

In the official hunting season in wildlife, blood samples were obtained from hares in 11 districts of Ankara and Çankırı provinces (Figure 1) in the Central Anatolian Region of Turkey (Table 1). In this study, 42 sera were taken from hares and were used in the serological screening of the three zoonotic diseases. In these samples, seropositivity rates were 1 (2.38%) for *E. cuniculi*,

2 (4.76%) for *T. gondii*, and 1 (2.38%) for *F. tularensis*. Totally, 4 (9.52%) of these 42 hares were found to be positive (Table 1).

DISCUSSION

With regards to various domestic and wild animals, there are many studies conducted to determine the seroprevalence of *Toxoplasma*, *Francisella* and *Encephalitozoon* infections using serological techniques. In Turkey, infections caused by the protozoan parasite *T. gondii* are widely prevalent in humans, domestic-animals and some wild animals. In hares, there are few studies on the prevalence of *F. tularensis*, however, as far as we know, there is no study on *E. cuniculi* and *T. gondii* infections. Besides, this study is also the first to detect serologically anti-*E.*



Figure 1. The distribution of rabbits whose blood was taken during hunting season

cuniculi and anti-*T. gondii* antibodies in hares. It would contribute to the literature by providing up to date information about these diseases which are found in wildlife.

Although there are many reports about the importance of encephalitozoonosis in rabbits since 1922, the number of these reports are very limited and the related studies are done with minimal numbers of hares (20,21). Compared to the results of the previous reports, the disease has a high prevalence in domestic rabbits, while with regards to the hare, it had a relatively low prevalence. Namely, the prevalence of *Encephalitozoon* spp. infection in domestic rabbits was detected as 15.0% in Egypt (22), 16.5% in Nigeria (23), 52.0% in The United Kingdom (24), 53% (18) in Turkey and 75.4% in Italy (25). On the other hand, in a recent study, Bártořá et al. (21) notified that 1.2%, 3.2%, and 4.2% of hares in the Czech Republic, in the Slovak Republic and in Austria respectively, were detected positive for *E. cuniculi* through serology testing and the total prevalence was found to be 1.42%. However, in Western Australia, Thomas et al. (26) reported that 25% of *E. cuniculi* in hares were found seropositive. The results of our study are similar with the previous studies which had low seroprevalence.

Francisella tularensis was first reported to be found in a rodent in California in 1911, and since then, the tularemia infection caused by *F. tularensis* and *F. tularensis* subspecies *holarctica* has been reported in many parts of the world. The transmission of *F. tularensis* to humans can be directly through contaminated water and soil, as well as the meat and fur of an infected hare. In addition, from 1932 until today, tularemia cases have been reported in several studies, thus, the disease is still a public health problem in Turkey (9,10).

In the Central Anatolia region of Turkey, the first epidemic was occurred in the Yağmurdere village of the Ayaş district of Ankara. A total of 16 cases of tularemia were reported in 1997. It was stated that the epidemic was transmitted by water (27). In the following years, the second epidemic was reported from the

Table 1. Distribution of the zoonose diseases found in hares from 11 districts of two provinces in the Central Anatolian Region of Turkey. Titers of the positive samples of *Toxoplasma gondii* were considered as 1/16 and 1/64. *Francisella tularensis* antibody titer was found as 1/40

Location			Encephalitozoon cuniculi		Francisella tularensis		Toxoplasma gondii	
Province	District	N	+	-	+	-	+	-
Ankara	Akyurt	2	0	2	0	2	0	2
	Bala	2	0	2	1	1	0	2
	Gölbaşı	1	0	1	0	1	0	1
	Kazan	1	0	1	0	1	0	1
	Kızılcahamam	6	0	6	0	6	1	5
	Nallıhan	4	0	4	0	4	0	4
	Polatlı	7	1	6	0	7	0	7
	Sincan (Temelli)	7	0	7	0	7	0	7
Çankırı	Bayramören	1	0	1	0	1	0	1
	Kurşunlu	7	0	7	0	7	0	7
	Yapraklı	4	0	4	0	4	1	3
Total		42	1	41	1	41	2	40
%			2.38		2.38		4.76	
N: Sample number (+): Seropositive, (-): Seronegative								

Çankırı province in the Central Anatolia region. Ulu Kılıç et al. (28) reported that a waterborne tularemia outbreak had occurred in Kadiözü, a village of Çerkeş, which was located in the North-west part of Central Anatolia of Turkey. In addition, experts stressed that the spread of tularemia towards non-endemic regions posed a significant threat to public health. Until now, tularemia was reported to be water-borne in published outbreak reports in Turkey, in addition to the findings which indicate that widespread and large outbreaks were caused by contaminated water sources (29). Therefore, infected rodents and hares have been found responsible for the contamination of water (1,30).

Ozsan et al. (31) reported that *F. tularensis* could not be isolated in rodents (n=1.191), hare (n=89) and turtles (n=56) in Ankara, Konya, Urfa and Nevşehir provinces, but antibodies were detected at 1/40 titers from a living rodent (*Citellus*). However, during the investigation of the tularemia outbreak in Edirne Demirköy, Gürçan et al. (32) reported that one of the rabbits (n=25) which belonged to a patient had antibody at low titers. On the other hand, studies in European brown hare conducted in various European countries showed that the prevalence of *F. tularensis* ranged from 0% to 7%. That is, 6.5% in the Czech Republic (2), 6% in Austria (33), 5.1% in Hungary (34), 4.5% Austria (35) while no seropositivity was detected in Germany (36). In our study, the rate of seropositive (2.38%) hares were found to be lower than these previous serological studies.

Hare gets infected by ingestion of food or water contaminated with *T. gondii* oocysts. In this way, infected rabbits can be a potential source of *T. gondii* for carnivores and humans (3). The previous studies have shown that *T. gondii* infection has a high seroprevalence rate in many species of warm-blooded animals including humans in many parts of the world (37,38). In Turkey, toxoplasmosis is widely prevalent in animals and the rate of seropositivity in humans is one third (39). In a recent study, Karakavuk et al. (40) notified that the prevalence of *T. gondii* was determined to be molecularly 89.6% in wild birds.

Although it is recommended to use serological methods together in serological screening (41-43), SFDT is considered as gold standard for the detection of anti-*T. gondii* antibodies (44). In several European countries, the prevalence of *T. gondii* was tested with different serological methods such as MAT, IFAT, ELISA, DAT and SFDT (45-48). The results in the Brown hare (*Lepus europaeus*) were reported in different rates such as, 5.7% in Greece (45), 6% in Slovakia (46), 9% in France (47), 13% in Austria, 21% in the Czech Republic (46) and 46% in Germany (36), while no seropositivity was detected in Sweden (48). In the present study, when compared with the results of other countries, the low seropositivity rate of *T. gondii* (4.8%) was found similar to the prevalence rates which were found in Greece and Slovakia. This present study detected anti-*E. cuniculi* and anti-*T. gondii* antibodies serologically in hares for the first time in Turkey. In addition, it is the first study which reports the seropositivity of *F. tularensis* infection in hare since 1976.

CONCLUSION

As a result, the frequency of these three different zoonotic diseases were found to be consistent with other results reported from various European countries. However, as relationships between humans and the wildlife become more frequent, the occurrence of these infections can increase among humans. Therefore, in

order to prevent the spread of these diseases, it is important to raise awareness about them. Moreover, the prevalence of zoonotic diseases in hares or other wild animals may differ according to the existing climate structure, geographical characteristics and the degree of climate change. In addition, the potential zoonotic risk effects of these diseases may vary from country to country depending on the socio-economic and cultural structures of the relevant countries and societies. For this reason, it should be known that these infections carried by wild animals, especially hare, even at low rates, are considered to be important for public health and therefore, precautions should be taken.

* Ethics

Ethics Committee Approval: Your petition on “Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis* and *Toxoplasma gondii* in Zoonotic Diseases in European Hares (*Lepus europaeus*)” was discussed at the Animal Experiments Center Ethics Committee (HADMEK) meeting dated 20.01. According to the organisation, it has been decided by HADMEK’s decision no. 61 that interventions that are not subject to HADYEK permission (procedures with extinct animals or tissue, slaughterhouse materials, waste fetuses) are within the scope of interventions.

Informed Consent: Your petition on “Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi*, *Francisella tularensis* and *Toxoplasma gondii* in Zoonotic Diseases in European Hares (*Lepus europaeus*)” was discussed at the Animal Experiments Center Ethics Committee (HADMEK) meeting dated 20.01. According to the organisation, it has been decided by HADMEK’s decision no. 61 that interventions that are not subject to HADYEK permission (procedures with extinct animals or tissue, slaughterhouse materials, waste fetuses) are within the scope of interventions.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: Ö.Ö., B.Y., Concept: Ö.Ö., B.Y., Design: Ö.Ö., B.Y., Data Collection or Processing: Ö.Ö., Ö.O., Analysis or Interpretation: Ö.Ö., B.Y., C.B., Literature Search: Ö.Ö., B.Y., Writing: Ö.Ö., 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

1. Kruse H, Kirkemo AM, Handeland K. Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 2067-72.
2. Trembl F, Pikula J, Bandouchova H, Horakova J. European brown hare as a potential source of zoonotic agents. *Vet Med-Czech* 2007; 52: 451-6.
3. Tsokana CN, Sokos C, Giannakopoulos A, Birtsas P, Valiakos G, Spyrou V, et al. European Brown hare (*Lepus europaeus*) as a source of emerging and re-emerging pathogens of Public Health importance: A review. *Vet Med Sci* 2020; 6: 550-64.
4. Yücesan B, Babür C, Koç N, Sezen F, Kılıç S, Gürüz Y. Investigation of Anti-*Toxoplasma gondii* Antibodies in Cats Using Sabin-Feldman Dye Test in Ankara in 2016. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2019; 43: 5-9.
5. Jokelainen P, Isomursu M, Näreaho A, Oksanen A. Natural *toxoplasma gondii* infections in European brown hares and mountain hares in Finland: proportional mortality rate, antibody prevalence, and genetic characterization. *J Wildl Dis* 2011; 47: 154-63.
6. Simon L, Fillaux J, Guigon A, Lavergne RA, Villard O, Villena I, Marty P, Pomares C; Toxoplasma p35 Study Group. Serological diagnosis of

- Toxoplasma gondii*: analysis of false-positive IgG results and implications. Parasite 2020; 27: 7.
7. Shin HG, Lee SE, Hong SH, Kim SM, Choi YK, Park HJ, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in rabbits of Korea by serological tests and nested polymerase chain reaction. J Vet Med Sci 2013; 75: 1609-13.
 8. Wang XL, Dong L, Zhang L, Lv Y, Li Q, Li HL. Seroprevalence and Genetic Characterization of *Toxoplasma gondii* In Naturally Infected Synanthropic Rodents In Yunnan Province, Southwestern China. J Parasitol 2018; 104: 383-7.
 9. Leblebicioglu H, Esen S, Turan D, Tanyeri Y, Karadenizli A, Ziyagil F, et al. Outbreak of tularemia: a case-control study and environmental investigation in Turkey. Int J Infect Dis 2008; 12: 265-9.
 10. Kılıç S. A General Overview of *Francisella tularensis* and the epidemiology of Tularemia in Turkey. FLORA 2010; 15: 37-58.
 11. Gürçan S. Epidemiology of tularemia. Balkan Med J 2014; 31: 3-10.
 12. Sağlık Bakanlığı. Tularemi hastalığının kontrolü için saha rehberi. Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı. Ankara, Şubat 2011. Available from: <https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/Tularemi%20Saha%20Rehberi.pdf>
 13. Otto P, Kohlmann R, Müller W, Julich S, Geis G, Gatermann SG, et al. Hare-to-human transmission of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, Germany. Emerg Infect Dis 2015; 21: 153-5.
 14. Hovevar SN, Paddock CD, Spak CW, Rosenblatt R, Diaz-Luna H, Castillo I, et al. Microsporidiosis acquired through solid organ transplantation: a public health investigation. Ann Intern Med 2014; 160: 213-20.
 15. Cox JC, Hamilton RC, Attwood HD. An investigation of the route and progression of *Encephalitozoon cuniculi* infection in adult rabbits. J Protozool 1979; 26: 260-5.
 16. Jordan C, Zajac AM, Lindsay DS. *Encephalitozoon cuniculi* Infection in Rabbits. Comp Cont Educ Pract 2006; 28: 108-16.
 17. Demirtaş Y, Albayrak İ, Yılmaz A. Studies of ecomorphological variations of the European hare (*Lepus europaeus*) in Turkey. Arch Biol Sci 2013; 65: 559-66.
 18. Özkan Ö, Yücesan B, Pekaya S, Alçıgır ME, Gürçan İS. Relationship between seropositivity of *Encephalitozoon cuniculi* and renal biochemical markers in clinically healthy rabbits. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2019; 66: 197-04.
 19. Büyük F, Şahin M, Çelebi Ö, Mor N, Çelebi B. Investigation of *Francisella tularensis* antibodies in dogs in Kars and Ankara Region. Turk Hij Den Biyol Derg 2012; 69: 83-8.
 20. Künzel F, Joachim A. Encephalitozoonosis in rabbits. Parasitol Res 2010; 106: 299-309.
 21. Bártová E, Marková J, Sedlák K. Prevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in European hares (*Lepus europaeus*). Ann Agric Environ Med 2015; 22: 674-6.
 22. Ashmawy KI, Abuakkada SS, Awad AM. Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* and *Toxoplasma gondii* in farmed domestic rabbits in Egypt. Zoonoses Public Health 2011; 58: 357-64.
 23. Okewole EA. Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits in Nigeria. Onderstepoort J Vet Res 2008; 75: 33-8.
 24. Keeble EJ, Shaw DJ. Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits in the United Kingdom. Vet Rec 2006; 158: 539-44.
 25. Lonardi C, Grilli G, Ferrazzi V, Dal Cin M, Rigolin D, Piccirillo A. Serological survey of *Encephalitozoon cuniculi* infection in commercially reared rabbit does in Northern Italy. Res Vet Sci 2013; 94: 295-8.
 26. Thomas C, Finn M, Twigg L, Deplazes P, Thompson RC. Microsporidia (*Encephalitozoon cuniculi*) in wild rabbits in Australia. Aust Vet J 1997; 75: 808-10.
 27. Erbay A, Dokuzoğuz B, Baykam N, Güvener E, Diker S, Yıldırım T. Ankara yöresinde tularemi. Turkish J Infect 2000; 14: 453-8.
 28. Ulu Kılıç A, Kılıç S, Sencan I, Çiçek Şentürk G, Gürbüz Y, Tütüncü EE, et al. İç Anadolu Bölgesinde *Francisella tularensis* alt tür *holarctica*'ya Bağlı Su Kaynaklı Bir Tularemi Salgını [A water-borne tularemia outbreak caused by *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Central Anatolia region]. Mikrobiyol Bul 2011; 45: 234-7.
 29. Maurin M, Gyuranecz M. Tularemia: clinical aspects in Europe. Lancet Infect Dis 2016; 16: 113-124.
 30. Akalin H, Helvacı S, Gedikoglu S. Re-emergence of tularemia in Turkey. Int J Infect Dis 2009; 13: 547-51.
 31. Özsan K, Fazlı A, Aktan M, Beyoğlu K. Ankara, Konya, Urfa ve Nevşehir'de yakalanan yabani hayvanlarda tularemi, brucellosis ve borreliosis yönünden araştırma [Brucellosis, tularemia and borreliosis isolated from wild animals captured in Ankara, Konya, Urfa and Nevşehir provinces in Turkey]. Mikrobiyol Bul 1976; 10: 413-21.
 32. Gürçan S, Eskioçak M, Varol G, Uzun C, Tatman-Otkun M, Sakru N, et al. Tularemia re-emerging in European part of Turkey after 60 years. Jpn J Infect Dis 2006; 59: 391-3.
 33. Winkelmayer R, Vodnansky M, Paulsen P, Gansterer A, Tremel F. Explorative study on the seroprevalence of *Brucella*, *Francisella* and *Leptospira* antibodies in the European hare (*Lepus Europaeus* Pallas) of the Austrian-Czech border region. Wien Tierärztl Monat 2005; 92: 131-5.
 34. Gyuranecz M, Erdélyi K, Makrai L, Fodor L, Szépe B, Mészáros AR, et al. Brucellosis of the European brown hare (*Lepus europaeus*). J Comp Pathol 2011; 145: 1-5.
 35. Höflechner-Pörtl A, Hofer E, Awad-Masalmeh M, Müller M, Steineck T. Tularemie und Brucellose bei Feldhasen und Füchsen in Österreich. Tierärztl Umschau 2000; 55: 264-68.
 36. Frölich K, Wissner J, Schmöser H, Fehlberg U, Neubauer H, Grunow R, et al. Epizootologic and ecologic investigations of European brown hares (*Lepus europaeus*) in selected populations from Schleswig-Holstein, Germany. J Wildl Dis 2003; 39: 751-61.
 37. Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis* of animals and man. Boca Raton, USA. CRC Press. 1988. p. 1-232.
 38. Montazeri M, Mikaeili Galeh T, Moosazadeh M, Sarvi S, Dodangeh S, Javidnia J, et al. The global serological prevalence of *Toxoplasma gondii* in felids during the last five decades (1967-2017): a systematic review and meta-analysis. Parasit Vectors 2020; 13: 82.
 39. Kolören Z, Dubey JP. A review of toxoplasmosis in humans and animals in Turkey. Parasitology 2020; 147: 12-28.
 40. Karakavuk M, Aldemir D, Mercier A, Atalay Şahar E, Can H, Murat JB, et al. Prevalence of toxoplasmosis and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* strains isolated in wild birds of prey and their relation with previously isolated strains from Turkey. PLoS One 2018; 13: e0196159.
 41. Walton BC, De Arjona I, Benchoff BM. Relationship of *Toxoplasma* antibodies to altitude. Am J Trop Med Hyg 1966; 15: 492-5.
 42. Walls KW, Bullock SL, English DK. Use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its microadaptation for the serodiagnosis of toxoplasmosis. J Clin Microbiol 1977; 5: 273-7.
 43. Balsari A, Poli G, Molina V, Dovic M, Petruzzelli E, Boniolo A, et al. ELISA for toxoplasma antibody detection: a comparison with other serodiagnostic tests. J Clin Pathol 1980; 33: 640-3.
 44. Liu Q, Wang ZD, Huang SY, Zhu XQ. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. Parasit Vectors 2015; 8: 292.
 45. Tsokana CN, Sokos C, Giannakopoulos A, Birtsas P, Athanasiou LV, Valiakos G, et al. Serological and molecular investigation of selected parasitic pathogens in European brown hare (*Lepus europaeus*) in Greece: inferring the ecological niche of *Toxoplasma gondii* and *Leishmania infantum* in hares. Parasitol Res 2019; 118: 2715-21.
 46. Bártová E, Sedlák K, Tremel F, Holko I, Literák I. *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in European brown hares in the Czech Republic, Slovakia and Austria. Vet Parasitol 2010; 171: 155-8.
 47. Aubert D, Ajzenberg D, Richomme C, Gilot-Fromont E, Terrier ME, de Gevigney C, et al. Molecular and biological characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from wildlife in France. Vet Parasitol 2010; 171: 346-9.
 48. Gustafsson K, Uggla A. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* infection in the brown hare (*Lepus europaeus* P.) in Sweden. J Wildl Dis 1994; 30: 201-4.

Mersin’de Bir Devlet Hastanesine Başvuran Gebelerde *Toxoplasma gondii* Seroprevalansı, 2019

Seroprevalence of Toxoplasma gondii in Pregnant Women Admitted to a State Hospital in Mersin, 2019

✉ Serpil Gonca¹, ✉ Mehmet Sami Serin¹, ✉ Sultan Halepliler², ✉ Sema Erden Ertürk³

¹Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

²Mersin Erdemli Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Mersin, Türkiye

³Mersin Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Mersin, Türkiye

Cite this article as: Gonca S, Serin MS, Halepliler S, Erden Ertürk S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Pregnant Women Admitted to a State Hospital in Mersin, 2019. Türkiye Parazitol Derg 2021;45(3):176-180.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, rutin gebelik takibi için hastaneye başvuran gebelerdeki *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) seroprevalansının retrospektif olarak ortaya konması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Ocak 2019-Aralık 2019 tarihleri arasında rutin gebelik takibi ile başvuran 16-49 yaş arası gebelerin anti-*T. gondii* IgM-IgG antikor değerleri retrospektif olarak incelenmiştir.

Bulgular: Anti-*T. gondii* IgG testi yapılan 1,832 serum örneğinin %28,7’si pozitif, %70,4’ü negatif ve %0,9’u sınır değer olarak sonuç vermiştir. Anti-*T. gondii* IgM içinse 1,844 serum örneğinin %0,7’si pozitif, %99,5’i negatif ve %0,1’i ise sınır değer olarak değerlendirilmiştir. Anti-*Toxoplasma* IgM’de yaş azaldıkça pozitiflik oranlarında artış olduğu ($r=0,144$, $p=0,001$), anti-*Toxoplasma* IgG’de ise yaş artışı ile birlikte pozitiflik oranlarının arttığı gözlenmiştir ($r=0,061$, $p=0,001$). Uyruk olarak değerlendirildiğinde ise Suriyeli gebe kadınlarda tespit edilen anti-*Toxoplasma* IgM ($p=0,008$) ve IgG ($p=0,001$) pozitiflik oranlarının Türk gebe kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür.

Sonuç: Çalışmamızda, gebe kadınların önemli bir bölümünün etkene karşı bağışıklığının olmadığı gözlenmiş ve dolayısı ile bu kişilerin parazitten korunma yöntemleri konusunda bilgilendirilmelerinin olası bir enfeksiyonu engellemek açısından önem arz ettiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Toxoplasma gondii*, seroprevalans, Mersin

ABSTRACT

Objective: This study aimed to retrospectively reveal the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) in pregnant women with routine pregnancy follow-up.

Methods: Anti-*T. gondii* IgM-IgG antibody values of pregnant women aged 16-49 years, who had routine pregnancy follow-up in January-December 2019 were analysed retrospectively.

Results: Of the 1,832 serum samples, in which the anti-*T. gondii* IgG test was studied, 28.7% were found to be positive, 70.4% were negative and 0.9% was found to be suspicious. For anti-*T. gondii* IgM, 0.7% of the 1,844 serum samples were evaluated as positive, 99.5% as negative and 0.1% as suspicious. The positivity rates was observed to increase as age decreases in anti-*Toxoplasma* IgM ($r=0.144$, $p=0.001$), and the positivity rates increase as the age increases in the anti-*Toxoplasma* IgG ($r=0.061$, $p=0.001$). In the nationality evaluation, the anti-*T. gondii* IgM and IgG positivity rates were observed to be higher in Syrian pregnant women compared to Turkish pregnant women.

Conclusion: In our study, a significant portion of pregnant women were observed to be non-immune to the agent, and therefore informing these people about the protection methods from the parasite in order to prevent infection occurrence is important.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, seroprevalance, Mersin

Received/Geliş Tarihi: 25.12.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 20.02.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Serpil Gonca, Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

Phone/Tel: +90 324 341 28 15 **E-mail/E-Posta:** serpilgonca@mersin.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-8544-1184

GİRİŞ

Sporozoonlar grubundan olan *T. gondii* toksoplazmoz/toxoplasmosis hastalığının etkenidir. *T. gondii* zoonotik kökenli bir parazit olup intraselüler yerleşim gösterir.

Enfeksiyonun prevalansı ülkeler, bölgeler ve etnik gruplar arasında değişiklik göstermektedir (1). Dünya’da her üç kişiden birinin bu etkenle enfekte olduğu tahmin edilmektedir (2). Ülkemizde ise toxoplasmosis seroprevalansı %17,5 ile %69,5 oranındadır (3). En yüksek oranın ise Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz Bölgeleri’nde olduğu belirtilmiştir (4).

Çeşitli hayvan ve kuşları enfekte edebilen bu parazitin son konağı kediler ve *Felidae* ailesinin üyeleridir (3). Kedi dışkı ile atılan ookistlerin insanlar ve diğer memeliler tarafından kontamine toprak, su veya gıdalar ile alınması sonucu ya da enfekte anneden fetüse transplental olarak geçebilmektedir (4). Enfekte gebe kadınlarda, akut enfeksiyon nadiren klinik semptom vermektedir ancak semptom olsa da olmasa da transplental geçiş olabilmektedir. Tüm gebelik boyunca maternal-fetal geçiş oranı %30 civarındadır (5).

İmmün sistemi normal bireylerde asemptomatik geçirilen enfeksiyon, gebelik veya immün yetmezliği olan bireylerde ciddi nörolojik bulgularla hayatı tehdit edebilmektedir (6). Konjenital enfeksiyonun ağırlığı, annenin enfeksiyonu geçirdiği trimester ile ters orantılıdır (7). İlk trimesterde bulaş riski düşük (%10-15) ancak fetüste ciddi semptom ortaya çıkma olasılığı yüksektir. Gebeliğin geç dönemlerinde ise fetüse bulaş riski daha yüksek (3. trimester de %70-80) olup fetusteki bulgular daha hafif/ asemptomatik seyirli olmaktadır (7,8). Enfekte doğan bebekte körlüğe, zeka geriliğine, fetal anomalilere ve hatta ölüme neden olabildiği gibi enfekte gebe kadınlarda da düşük ve infertilite riskini artırabilmektedir (9). Toxoplasmosis, özgül olmayan klinik belirtilerle seyredebildiğinden ve gebelik sürecinde fetal enfeksiyona neden olabildiğinden korunma ve kontrol açısından serolojik testlerle izlem önem taşımaktadır (1). Anne adayları veya doğacak bebeklerde oluşacak enfeksiyonlar hem maddi hem de manevi açıdan büyük hasarlar oluşturmaktadır (10). Gebelerin *T. gondii* antikorları açısından rutin olarak araştırılması bu sayede de bağışıklığı olmayanların parazitten korunma yöntemleri hakkında bilgilendirilmesi, akut enfeksiyon durumunda da gerekli tedavinin yapılabilmesi için tarama testleri ile etkenin tespit edilmesi anne-çocuk sağlığı açısından önem taşımaktadır. - Bu çalışmada, Mersin Devlet Hastanesi’ne Ocak ve Aralık ayları arasında normal gebelik takibi için başvuran 16-45 yaş arasındaki gebelerde *T. gondii* seroprevalansının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışma öncesinde Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 08/01/2020 tarih ve 2020/14 sayılı onayı alınmıştır. Ayrıca İl Sağlık Müdürlüğünden 14/08/2020 tarih ve 75 karar numarası ile çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için gerekli izinler alınmıştır. Bu çalışmada 2019 Ocak ve Aralık ayları arasında

Mersin Erdemli Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına *Toxoplasma* serolojisinin incelenmesi için gönderilen 16-49 yaş arası gebe kadınlara ait 1,832 serumda *Toxoplazma* IgG ve 1,844 serumda çalışılan *Toxoplasma* IgM sonuçları retrospektif olarak incelendi. Birden fazla istemi olan olguların sadece ilk serolojik testlerinin sonuçları değerlendirilmeye alınmış ve böylelikle sonuçlardaki tekrarlar engellenmiştir. Gebe kadınlardan alınan kan örneklerinden santrifüj sonrası ayrılan serumlar *Toxoplazma*’ya özgü antikorlar Enzyme Linked Fluorescent Assay yöntemi ile (ELFA-VIDAS, bioMérieux, Fransa) üretici firma talimatları doğrultusunda araştırıldı. Sonuçlar değerlendirilirken kitin değerlendirme kriterlerine uygun olarak *Toxoplazma* IgM için; >0,65 s/co olan değerler pozitif, 0,55 ile 0,65 s/co arası değerler sınır değer ve <0,55 s/co olanlar negatif kabul edildi. *Toxoplasma* IgG için; >8,0 IU/ mL olan değerler pozitif, 4,0 ile 8,0 IU/mL arası değerler sınır değer ve <4,0 IU/mL olanlar negatif kabul edildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 26 paket programının deneme sürümü ve e-picos online istatistik paket programları kullanıldı. Veriler istatistiksel olarak Independent Samples t-test, ANOVA, Bonferroni post-hoc test, ki-kare ve Pearson korelasyon test istatistikleriyle değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p<0,05 olarak alındı.

BULGULAR

Çalışmamızda anti-*T. gondii* IgG testi yapılan 1,832 serum örneğinin %28,7’si pozitif ve %0,9’u sınır değer olarak bulundu. Anti-*T. gondii* IgM için ise çalışmaya dahil edilen toplam 1,844 serum örneğinin %0,7’si pozitif ve %0,1’i ise sınır değer olarak bulundu (Tablo 1).

Anti-*Toxoplasma* IgM testinde yaş grupları arasında test sonuçları bakımından istatistiksel farklılık bulundu (p=0,012). Farklılığın 16-25 yaş grubuyla 26-35 yaş grubu arasında olduğu tespit edilmiştir (p=0,023). *Toxoplasma* IgG testinde ise yaş grupları arasında test sonuçları bakımından istatistiksel farklılık bulunmadı (p=0,826) (Tablo 2).

Anti-*Toxoplasma* IgG ve IgM test sonuçlarının yaşla olan korelasyonuna bakıldığında anti-*Toxoplasma* IgM’de yaş düştükçe pozitiflik oranlarında artış meydana gelmiştir (r=-0,144, p=0,001) anti-*Toxoplasma* IgG’de ise tam tersi olarak yaş düştükçe pozitiflik oranlarında düşüş meydana gelmiştir (r=0,061, p=0,001) (Tablo 3, 4).

Türk ve Suriye uyruklu gebe kadınlar yaş bakımından karşılaştırıldıklarında Suriyeli gebe kadınların (24,8±5,8), Türk gebe kadınlardan (28,1±6,1) yaş olarak daha küçük olduğu görüldü (p=0,001).

Gebe kadınların uyruklarıyla anti-*T. gondii* IgM pozitiflik, negatiflik ve sınır değer değerleri arasında bir ilişki tespit edildi (p=0,015, $\chi^2=8,388$). Anti-*T. gondii* IgM pozitiflik değerinin Suriye

Tablo 1. Anti-*T. gondii* IgG ve IgM pozitiflik, negatiflik ve sınır değer sonuçlarının dağılımı

	Pozitif		Negatif		Sınır değer		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Anti-<i>T. gondii</i> IgG	526	28,7	1,289	70,4	17	0,9	1,832	100,0
Anti-<i>T. gondii</i> IgM	12	0,7	1,830	99,2	2	0,1	1,844	100,0

uyruklu gebe kadınlarda Türk gebe kadınlara oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Anti-*T. gondii* IgM negatiflik değerinde ise Türk gebe kadınların sayısı Suriye uyruklu gebe kadınlara göre daha azdı. Sınır değer bakımından değerlendirmede ise yine Suriye uyruklu gebe kadınların oranının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5).

Gebe kadınların uyruklarıyla anti-*T. gondii* IgG pozitiflik, negatiflik ve sınır değer değerleri arasında bir ilişki vardı ($p=0,0001$, $\chi^2=133,628$). Suriye uyruklu gebe kadınlarda anti-*T. gondii* IgG pozitiflik oranı Türk gebe kadınlara göre daha yüksekti. Anti-*T. gondii* IgG pozitiflik ve sınır değer oranları Suriyeli gebe kadınlarda daha fazla iken anti-*T. gondii* IgG negatiflik durumları ise Türk gebe kadınlarında daha fazla bulundu (Tablo 6).

TARTIŞMA

Bazı çevresel, davranışsal, sosyo-demografik ve obstetrik faktörler, *T. gondii* enfeksiyonunun önemli prediktörleri olarak öne sürülmüştür. Coğrafi konum, *T. gondii* ookistlerini içeren kedi dışkısı ile kontamine olmuş yiyeceklerin tüketilmesi veya suların içilmesi, az pişmiş et tüketimi, evde kedilerin varlığı, kirli toprağa maruz kalma (çıplak elle çiftçilik veya bahçecilik yoluyla), kendiliğinden düşük öyküsü ve daha geç yaşta gebe kalma gibi faktörler örnek olarak verilebilir (11). Dünyadaki Toxoplasmosis seroprevalansı %12-90 arasında değişkenlik göstermektedir (12). Yemen’de gebe kadınlarda anti-*T. gondii* IgG seroprevalansı %12,9, anti-*T. gondii* IgM seroprevalansı ise %1,2 olarak rapor edilmiştir (11). Kuzeydoğu Çin’de Mançu etnik kökenli gebe kadınlarda, anti-*T. gondii* IgG %15,02, anti-*T. gondii* IgM %2,56 olarak tespit

edilmiştir (9). Amerika Birleşik Devletleri’nde 3 yıllık periyotta sosyo-demografik ve klinik durum olarak farklılık gösteren popülasyonda yapılan bir çalışma da gebe kadınlarda anti-*T. gondii* IgG seropozitifliği %4,78 olarak saptanmıştır (13). Arjantin’de gebe kadınlarda anti-*T. gondii* IgG seropozitifliği %34,8 olarak saptanmıştır (14).

Çalışmamızda Mersin Erdemli Bölgesi’ndeki gebe kadınlarda anti-*T. gondii* seroprevalansının araştırılması amaçlanmış ve sonuçta anti-*T. gondii* IgG pozitifliği %28,7 ve anti-*T. gondii* IgM pozitifliği %0,7 olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde farklı illerde (Muğla, Sakarya, Ankara, Çanakkale) gebelerde yapılan çalışmalarda %18,8-28,7 oranında anti-*T. gondii* IgG seropozitifliğin rapor edilmiştir (8,15-17) bu anlamda çalışmamızda saptanan %28,7 anti-*T. gondii* IgG seropozitifliği bu bölgeler ile uyum göstermektedir. Ancak daha yüksek oranların saptandığı çalışmalarda bulunmaktadır, Adıyaman (18) ve Şanlıurfa’dan (19) bildirilen çalışmalarda anti-*T. gondii* IgG pozitifliği sırası ile %48,4 ve %60,4 olarak tespit edilmiştir. İlimizde başka bir merkezde Ekim 2014-Ekim 2015 tarihleri arasında yapılan çalışmada ise anti-*T. gondii* IgG pozitifliği %39,3 olarak tespit edilmiştir (20). Ülkemizde gebelerdeki anti-*T. gondii* IgM sonuçları da birbirleri ile farklılık göstermektedir, Ankara, Adıyaman, Çanakkale, Şanlıurfa ve Muğla’dan bildirilen çalışmalarda anti-*T. gondii* IgM sırası ile; %0,2, %0,65, %2,7, %3,0 ve %3,7 olarak tespit edilmiştir (8,15,17-19). İlimizde 2012-17 yılları arasında yapılan çalışmada anti-*T. gondii* IgM pozitifliği %7,66 olarak tespit edilmiştir (21). Anti-*T. gondii* IgM sonuçlarımız ile benzer sonuçlara sahip illerimiz bulunduğu gibi daha yüksek pozitiflik oranlarına sahip illerimiz de bulunmaktadır. Ayrıca ilimizde yapılan çalışma sonucu da bizim sonucumuza kıyasla oldukça yüksektir. Bilindiği üzere coğrafi olarak yakın bölgelerde sosyo-ekonomik durum ve beslenme alışkanlığı gibi faktörlere bağlı olarak oldukça farklı *T. gondii* seropozitifliklerinin gözlemlenebileceği rapor edilmiştir (22). Dolayısı ile bu farklılıkların açığa çıkarılması için sosyo-demografik özelliklerin araştırılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir. Anti-Toxoplasma IgG ve IgM test sonuçlarının yaşla olan korelasyonuna bakıldığında anti-Toxoplasma IgM’de yaş azaldıkça

Tablo 2. Yaş gruplarına göre IgG ve IgM test ortalama ve standart sapmaları (SS)

	Toxoplasma IgG		Toxoplasma IgM	
	N	Ortalama ± SS	N	Ortalama ± SS
16-25 yaş	751	21,79±49,54	759	0,097±0,18
26-35 yaş	865	22,7±48,76	867	0,079±0,08
36-49 yaş	216	24±42,97	218	0,075±0,059

Tablo 3. Anti-*T. gondii* IgG pozitiflik, negatiflik ve sınır değerlerinin yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grubu	Pozitif		Negatif		Sınır değer		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%*
16-25	185	24,6	559	74,4	7	0,9	751	40,99
26-35	256	29,6	603	69,7	6	0,7	865	47,21
36-49	85	39,4	127	58,8	4	1,9	216	11,79
Toplam	526	28,7	1,289	70,4	17	0,9	1,832	100,0

* Kolon yüzdesi

Tablo 4. Anti-*T. gondii* IgM pozitiflik, negatiflik ve sınır değerlerinin yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grubu	Pozitif		Negatif		Sınır değer		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%*
16-25	9	1,2	749	98,7	1	0,1	759	41,16
26-35	3	0,3	863	99,5	1	0,1	867	47,01
36-49	-	-	218	100	-	-	218	11,82
Toplam	12	0,66	1,830	99,24	2	0,10	1,844	100,0

* Kolon yüzdesi

Tablo 5. Anti-*T. gondii* IgM pozitiflik, negatiflik ve sınır değeri değerlerinin uyruğa göre dağılımı

Uyruk	Pozitif		Negatif		Sınır değeri		Toplam*	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
TC	6	0,4	1,478	99,5	1	0,1	1,485	80,5
Suriye	6	1,7	352	98,1	1	0,2	359	19,5
Toplam	12	0,7	1,830	99,2	2	0,1	1,844	100,0

(p=0,015, $\chi^2=8,388$) *Kolon yüzdesi**Tablo 6.** Anti-*T. gondii* IgG pozitiflik, negatiflik ve sınır değeri değerlerinin uyruğa göre dağılımı

Uyruk	Pozitif		Negatif		Sınır değeri		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
TC	346	23,3	1,130	76,2	7	0,5	1,483	80,9
Suriye	180	51,6	159	45,6	10	2,9	349	19,1
Toplam	526	28,7	1,289	70,4	17	0,9	1,832	100,0

(p=0,0001, $\chi^2=133,628$), *Kolon yüzdesi

pozitiflik oranlarında artış meydana gelmiştir ($r=-0,144$, $p=0,001$) anti-*Toxoplasma* IgG'de ise tam tersi olarak yaş azaldıkça pozitiflik oranlarında düşüş meydana gelmiştir ($r=0,061$, $p=0,001$). Bunun sebebinin yaş artışı ile birlikte toplumda bağışık bireylerin sayısının artması olarak düşünülebilir. Elimizdeki veriler literatür ile uyum göstermektedir (18,22).

Çalışmamızda Türk uyruklu ve Suriye uyruklu gebe kadınlarda anti-*T. gondii* IgG pozitifliği sırası ile %23,3 ve %51,6 ($p=0,0001$, $\chi^2=133,628$) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca anti-*T. gondii* IgM pozitifliği ise sırası ile %0,4 ve %1,7 ($p=0,015$, $\chi^2=8,388$) olarak tespit edilmiştir. Kahramanmaraş'ta, Türk ve Suriyeli gebelerde anti-*T. gondii* IgG pozitiflik oranları sırası ile %47,7 ve %64,6 anti-*T. gondii* IgM pozitiflik oranları ise sırası ile %2,17 ve %4,84 olarak tespit edilmiştir (23). İstanbul'da yapılan bir başka çalışmada ise Türk ve Suriyeli gebe kadınlarda, anti-*T. gondii* IgG pozitiflik oranları sırası ile %26,3 ve %58,3, anti-*T. gondii* IgM pozitifliği ise sırası ile %0,2 ve %0,1 olarak tespit edilmiştir ($p<0,05$) (24). Çalışmamızın sonuçları genel olarak literatürlerle uyum göstermektedir, bunun Suriye uyruklu gebe kadınların beslenme, kişisel hijyen ve yaşam koşulları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak yapmış olduğumuz bu retrospektif çalışma bize *T. gondii* ile bağışık olmayan %70,4 gibi bir oran olduğunu ve dahası düşük bir orana sahip olsa da gebeliği sırasında (%0,7) bu etken maruz kalan bir popülasyon olduğunu göstermektedir. Toxoplasmosis ile akut enfeksiyon, konjenital anomalilere ve ölü doğuma neden olabilmektedir. Dolayısı ile anne adayları ve dünyaya gelecek bebeklerinde oluşacak enfeksiyonlar maddi ve manevi hasarlar oluşturabilmektedir. Yapılacak tarama testleri ile erken tanı ve tedavi sayesinde bu hasarların önüne geçilebilecektir. Yine etkenin sıcak ve nemli yerlerde, kuru yerlere oranla daha sık görüldüğü ve Mersin ilinin de özellikle yaz aylarının sıcak ve aşırı nemli geçmesi nedeni ile etkenin seropozitifliğinin ortaya konması önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

Gözden geçirme ve katkıları için Sayın Prof. Dr. Tacettin İnandı'ya çok teşekkür ederiz.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışma öncesinde Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 08/01/2020 tarih ve 2020/14 sayılı onayı alınmıştır. Ayrıca İl Sağlık Müdürlüğü'nden 14/08/2020 tarih ve 75 karar numarası ile çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için gerekli izinler alınmıştır.

Hasta Onayı: Çalışma retrospektif bir arşiv taraması olması sebebi ile hasta onamı bulunmaktadır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Konsept: S.G., Dizayn: S.G., Veri Toplanma veya İşleme: S.G., S.H., S.E.E., Analiz veya Yorumlama: S.G., M.S.S., S.H., S.E.E., Literatür Arama: S.G., M.S.S., Yazan: S.G., M.S.S.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Doğan K, Kafkaslı A, Karaman U, Atambay M, Karaoglu L, Colak C. Gebelerde Toksoplazma Enfeksiyonunun Seropozitiflik ve Serokonversiyon Oranları [The rates of seropositivity and seroconversion of toxoplasma infection in pregnant women]. Mikrobiyol Bul 2012; 46: 290-4.
- Wei HX, Wei SS, Lindsay DS, Peng HJ. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy of Anti-*Toxoplasma gondii* Medicines in Humans. PLoS One 2015; 10: e0138204.
- Beder D, Esenkaya Taşbent F. General Features and Laboratory Diagnosis of *Toxoplasma gondii* Infection. Türkiye Parazitoloj Derg 2020; 44: 94-101.
- Aydın Türkoğlu Ş, Karabörk Ş, Çakmak M, Oralları H, Yaman K, Ayaz E. Investigation of a 6-year seropositivity of *Toxoplasma gondii* in Abant İzzet Baysal University Educational Research Hospital. Türkiye Parazitoloj Derg 2018; 42: 106-12.
- Pekintürk N, Cekin Y, Gür N. Antalya İlinde Bir Mikrobiyoloji Laboratuvarına *Toxoplasma gondii* Antikorları Araştırılması Amacıyla Başvuran Doğurganlık Yaş Grubu Kadın Olgulara Ait Sonuçların Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi [Retrospective evaluation of the results of women patients of childbearing age investigated at a microbiology laboratory for screening *Toxoplasma gondii*, in Antalya]. Türkiye Parazitoloj Derg 2012; 36: 96-9.
- Aşçı Z, Akgün S. Afyon İlinde Bir Seroloji Laboratuvarına *Toxoplasma gondii* (T. gondii) Antikorları Araştırılması Amacıyla Başvuran Olgulara Ait Sonuçların Değerlendirilmesi [The Evaluation of *Toxoplasma gondii* (T.gondii) Serology Results Among Cases Who Admitted to the Serology Laboratory of a Hospital in Afyon City]. Türkiye Parazitoloj Derg 2015; 39: 9-12.
- Ekşi F, Karşıl T, Bayram A, Zer Y, Katrancı B, Balci İ. Anti-Toxoplasma gondii IgG Avidite Testi Çalışılan Gebelerin Serolojik Profillerinin İrdelenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2010; 40: 16-21.
- Mumcuoglu I, Toyran A, Cetin F, Coskun FA, Baran I, Aksu N, et al. Gebelerde toksoplazmoz seroprevalansının değerlendirilmesi ve bir tanı algoritmasının oluşturulması [Evaluation of the toxoplasmosis seroprevalence in pregnant women and creating a diagnostic algorithm]. Mikrobiyol Bul 2014; 48: 283-91.

9. Jiang RL, Ma LH, Ma ZR, Hou G, Zhao Q, Wu X. Seroprevalence and associated risk factors of *Toxoplasma gondii* among Manchu pregnant women in northeastern China. *Microb Pathog* 2018; 123: 398-401.
10. Ulutürk R, Ncanci M. Doğurganlık Çağındaki Kadınlarda *Toxoplasma Gondii*, Rubella ve Cytomegalovirus Seroprevalansı. *İstanbul Med J* 2010; 11: 5-8.
11. Al-Adhroey AH, Mehrass AAO, Al-Shammakh AA, Ali AD, Akabat MYM, Al-Mekhlafi HM. Prevalence and predictors of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women from Dhamar, Yemen. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 1089.
12. Kuk S, Ozden M. Hastanemizdeki dört yıllık *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin araştırılması [A four-year investigation of the seropositivity of *Toxoplasma gondii* in our hospital]. *Türkiye Parazitol Derg* 2007; 31: 1-3.
13. Owusu-Dommey A, Pogreba-Brown K, Villa-Zapata L. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the U.S.: Evidence from a representative cross-sectional survey. *Parasitol Int* 2020; 79: 102175.
14. Rivera EM, Lavayén SN, Sánchez P, Martins CMA, Gómez E, Rodríguez JP, et al. *Toxoplasma gondii* seropositivity associated to peri-urban living places in pregnant women in a rural area of Buenos Aires province, Argentina. *Parasite Epidemiol Control* 2019; 7: e00121.
15. Kasap B, Öner G, Küçük M, Öztürk Turhan N, Akın MN, Arkan S, et al. Muğla'daki Gebelerin Toksoplazma, Rubella, Sitomegalovirus ve Hepatit Prevalansının Değerlendirilmesi. *Tepecik Eğit ve Araşt Hast Derg* 2017; 27: 31-6.
16. Aydemir Ö, Karakeçe E, Köroğlu M, Altındış M. Kadın Doğum Polikliniklerine Başvuran Kadınlarda *Toxoplasma gondii* Seroprevalansının Değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg* 2018; 48: 125-9.
17. Gencer M, Cevizci S, Saçar S, Vural A, Cakır Güngör AN, Uysal A, et al. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Obstetri Polikliniğine Müracaat Eden Gebelerde Anti-*Toxoplasma gondii* Antikorlarının Dağılımı ve Risk Faktörlerinin İrdelenmesi [Evaluation of anti-*Toxoplasma gondii* antibody distribution and risk factors among pregnant women admitted to obstetrics polyclinic of Çanakkale Onsekiz Mart University Hospital]. *Türkiye Parazitol Derg* 2014; 38: 76-80.
18. Kögelier S, Demiraslan H, Ktaş B, Güler D. Gebelerde *Toksoplasma gondii* Seroprevalansı. *Dicle Tıp Derg* 2009; 36: 170-2.
19. Harma M, Harma M, Gungen N, Demir N. Toxoplasmosis in pregnant women in Sanliurfa, Southeastern Anatolia City, Turkey. *J Egypt Soc Parasitol* 2004; 34: 519-25.
20. Kurnaz N, Oktay E, Tezcan Ülger S, Öztürk C. Bir Üniversite Hastanesinin Bir Yıllık *Toxoplasma gondii* IgG Avidite Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg* 2016; 45: 165-9.
21. Durukan H, Çevikoğlu Kılı M. Retrospective Evaluation of the Seropositivity Rate of Toxoplasmosis and Clinical Results in Pregnant Women That were Admitted to a Tertiary Health Institution Between 2012 and 2017 in Turkey. *Türkiye Parazitol Derg* 2019; 43: 106-10.
22. İnci M, Yağmur G, Aksebzeci T, Kaya E, Yazar S. Kayseri'de kadınlarda *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin araştırılması [The investigation of *Toxoplasma gondii* seropositivity in women in the Kayseri province]. *Türkiye Parazitol Derg* 2009; 33: 191-4.
23. Bakacak M, Serin S, Aral M, Ercan Ö, Köstü B, Kireççi A, et al. Kahramanmaraş Yöresindeki Yerleşik Türk Gebelerle Suriyeli Mülteci Gebeler Arasında *Toxoplasma* Seroprevalans Farklılıkları [Seroprevalance Differences of *Toxoplasma* Between Syrian Refugees Pregnants and Indigenous Turkish Pregnants in Kahramanmaraş]. *Türkiye Parazitol Derg* 2015; 39: 94-7.
24. Altunal LN, Esen AB, Karagöz G, Kart Yaşar K. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, *Rubella* and *Cytomegalovirus* Among Pregnant Refugees and Turkish Women: A Retrospective Comparative Study. *South Clin Istanbul Euras* 2018; 29: 235-9.

Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvar'ına 2009-2019 Yılları Arasında Toksoplazmoz Şüphesi ile Başvuran Olguların Seropozitifliklerinin Değerlendirilmesi

*Evaluation of Seropositivity of Toxoplasmosis Suspected Patients
Admitted to the National Parasitology Reference Laboratory Between
2009 and 2019*

© Cahit Babür¹, © Banuçiçek Yücesan², © Figen Sezen¹, © Selçuk Kılıç¹

¹Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı Ulusal Parazitoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

²Çankırı Karatekin Üniversitesi, Zoonotik Hastalıkların Kontrolü Anabilim Dalı, Çankırı, Türkiye

Cite this article as: Babür C, Yücesan B, Sezen F, Kılıç S. Evaluation of Seropositivity of Toxoplasmosis Suspected Patients Admitted to the National Parasitology Reference Laboratory Between 2009 and 2019. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):181-189.

ÖZ

Amaç: Zorunlu hücre içi parazit olan *Toxoplasma gondii*'nin (*T. gondii*) neden olduğu toksoplazmoz, tüm dünyada yaygın olarak görülen zoonotik paraziter bir hastalıktır. Bu çalışmada, Ocak 2009-Mayıs 2019 yılları arasında yapılan *T. gondii* test sonuçları paylaşılmıştır. Burada, 2009-2019 yılları arasında Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'na gelen *T. gondii* sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu çalışmada *T. gondii* için tanımlanan serolojik yöntemlerden anti-*T. gondii* IgG, IgM, IgG avidite ve Sabin-Feldman dye test (SFDT) sonuçları incelenmiştir. Anti-*T. gondii* IgG, IgM ve IgG avidite testleri için ELISA yöntemi kullanılmıştır. *T. gondii* tanısında referans test olan SFDT halen altın standart olarak geçerliliğini korumaktadır. Yapılan laboratuvar analizlerine ek olarak tüm olguların cinsiyet, yaş, numunenin geldiği il, yıl dağılımları, gönderilen numune tipi bilgileri de verilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada değerlendirilen 2,778 olgunun 706'sı (%25,4) erkek, 2,072'si (%74,6) kadındır. Anti-*T. gondii* IgG değerleri incelendiğinde; tüm örneklerin %47,1'i, anti-*T. gondii* IgM'in %10,2'si pozitif bulunmuştur. SFDT'sinde ise 2,361 hastanın 1,228'i (%52) pozitif tespit edilmiştir. Başvuran 537 erkeğin 319'u (%59,4), 1,824 kadının 909'u (%49,8) pozitif bulunmuştur. On yıllık çalışmada SFDT'nin en sık seropozitiflik titresinin 1/64 düzeyinde olduğu görülmüştür. Çalışmamızda anti-*T. gondii* IgG, IgM ve IgG avidite testlerinin her üçünün de bir hastada birlikte çalışıldığı tüm olgular değerlendirildiğinde IgG avidite çalışılan olguların tamamında IgG düzeyleri pozitif bulunmuştur. Ek olarak anti-*T. gondii* IgG değerleri pozitif bulunan 293 olgunun %62,8'inde yüksek avidite, %24,2'sinde sınır değer ve %13'ünde düşük avidite bulunmuştur. Çalışmamızda anne-bebek birlikte gelen olgular değerlendirildiğinde; her ikisinde anti-*T. gondii* IgG seropozitifliği %80, her ikisinde anti-*T. gondii* IgM seropozitifliği %5 saptanmıştır. Bu yüksek oranlar, anne bebek arasında antikor transferini desteklemektedir. Numunelerin geldiği il dağılımı incelendiğinde en fazla olgunun %80,7 ile Ankara'dan geldiği görülmüştür. En fazla gönderilen örnek tipi kan örneği, ikinci sıklıkta ise beyin omurilik sıvısı olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: *T. gondii* yüksek pozitiflik oranları nedeniyle günümüzde halk sağlığı açısından önemini korumaktadır. On yıllık verilerin toplandığı bu çalışma göstermiştir ki; farkındalık artışına rağmen halen yüksek seropozitiflikler devan etmektedir. Bu nedenle toksoplazmoz tanısına yönelik yapılan laboratuvar analiz sonuçlarının sistematik olarak toplanması ve değerlendirilmesi, kontrol önlemlerinin alınmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, *Toxoplasma gondii* ELISA, Sabin-Feldman dye test

ABSTRACT

Objective: Toxoplasmosis caused by *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), which is an obligatory intracellular parasite, is a worldwide zoonotic parasitic disease. In this study, results of *T. gondii* test conducted between January 2009 and May 2019 were analysed. This study aimed to evaluate the results of *T. gondii* test of patients who were admitted to the General Directorate of Public Health, National Parasitology Reference Laboratory between 2009 and 2019.

Geliş Tarihi/Received: 23.03.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 16.06.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Banuçiçek Yücesan, Çankırı Karatekin Üniversitesi, Zoonotik Hastalıkların Kontrolü Anabilim Dalı, Çankırı, Türkiye

Tel/Phone: +90 376 213 17 02 **E-Posta/E-mail:** yucesanbanu@yahoo.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-7051-3045

Methods: The results of anti-*T. gondii* IgG, IgM, IgG avidity and Sabin-Feldman dye tests (SFDT), which are used to detect the presence of *T. gondii*, were examined. ELISA was used for anti-*T. gondii* IgG, IgM and IgG avidity tests. SFDT, which is the reference test in the diagnosis of *T. gondii*, is still the gold standard. In addition to laboratory analyses, information on gender, age, city of origin, year distribution of all cases and type of sample sent was also collected.

Results: Of the 2.778 patients evaluated, 25.4% were males and 74.6% were females. Moreover, 47.1% and 10.2% of the patients were positive for anti-*T. gondii* IgG and anti-*T. gondii* IgM antibodies, respectively. In SFDT, 1.228 (52%) patients were found to be positive, including 319 (59.4%) of 537 men and 909 (49.8%) of 1.824 women. In this 10-year study, the most common seropositivity titre of SFDT was at the level of 1/64. In our study, IgG levels were found to be positive in all cases in which IgG avidity was studied when all the cases in which all three of the anti-*T. gondii* IgG, IgM and IgG avidity tests were studied together in one patient were evaluated. In addition, of the 293 patients with positive anti-*T. gondii* IgG, 62.8% had high avidity, 24.2% had a limit value and 13% had a low avidity. In cases involving both mother and baby, anti-*T. gondii* IgG and IgM seropositivity rates were 80% and 5% for both, respectively. These high rates support the transfer of antibodies from the mother to the baby. Regarding the distribution of provinces from which the samples originated, the highest number of cases came from Ankara (80.7%). Blood is the most predominant sample, followed by cerebrospinal fluid.

Conclusion: *T. gondii* maintains its importance in public health, owing to its high positivity rates. This study, in which 10-year data were collected, showed that despite an increase in awareness, high seropositivity still continues. Therefore, systematic collection and evaluation of laboratory analysis results for toxoplasmosis diagnosis will contribute in taking control measures.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, *Toxoplasma gondii* ELISA, Sabin-Feldman dye test

GİRİŞ

Toxoplasma gondii (*T. gondii*) tüm dünyada görülen, zoonotik paraziter bir hastalıktır (1). Günümüzde yaklaşık bir milyar insanın bu parazit ile enfekte olduğu bilinmektedir. Toksoplazmoz ilk tanımlandığı 1908 yılından itibaren, hem yaygınlığı, hem de gebe ve immünsüprese kişilerde yol açtığı ciddi enfeksiyonlar nedeniyle, önemini korumaktadır. *T. gondii*, canlı doku kistlerini içeren çiğ veya zayıf pişirilmiş et tüketimi, kedi dışkısı ile çıkarılan oositler tarafından kontamine olmuş su veya yiyeceklerin ağız yoluyla alımı, gebelik döneminde transplasental olarak veya doku, organ ve kan nakilleri yoluyla insanlara bulaşabilmektedir. Hastalığın tanısı; serolojik olarak *Toxoplasma* antikorlarının veya antijenlerinin saptanması ile yapılmaktadır. Ayrıca, fare/hücre kültürü inokülasyon deneyleri, doku kesitlerinden histolojik değerlendirmesi ve vücut sıvılarından hazırlanan yaymalarda takizoitlerin araştırılması ile de tanı konulabilmektedir (2). Moleküler yöntemlerin gelişimi ile özellikle konjenital toksoplazmoz ve immün sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyonun reaktivasyonunu belirlemede *T. gondii* DNA'sının tespit edilebilmesi pek çok tanı sorunu sona erdirmiştir.

Bağışıklık sistemi normal kişilerde toksoplazmoz %80-90 asemptomatik seyretmektedir. Sadece %10-20 kişide hafif, ağrısız servikal lenfadenopati, soğuk algınlığı benzeri kendini sınırlayan belirti ve bulgular görülmektedir. Parazit beyin ve kas dokusunda bradizoit formu içeren kistler oluşturarak latent kalabilmektedir. Ancak, immün yetmezliğe neden olan organ transplantasyonu, AIDS, lenfoma ve lösemi gibi hastalıklarda, bradizoitler reaktivasyon göstererek ölümcül olabilmektedir. Bu hastalar en sık yaygın ensefalopati, meningoensefalit gibi santral sinir sistemi tutulumu ile ilgili semptomlar verebilmektedir (3).

Gebelik döneminde annenin *T. gondii* enfeksiyonu geçirmesi sonucu gelişen parazitemi; abortus, ölü/erken doğum veya konjenital toksoplazmoz ile sonuçlanabilmektedir (4). Transplasental bulaşta, maternal enfeksiyonun geçirildiği andaki gebelik yaşı da önemlidir. Doğum öncesi tedavi ve korunma yöntemleri ile bu risk azaltılabilmektedir. Tedavi edilmeyen gebe kadınlarda, enfeksiyonun geçiş oranı ilk trimesterde yaklaşık %10-15'tir. Bununla birlikte klinik olarak en ağır tablolar da bu dönemde geçirilen *T. gondii* enfeksiyonlarında ortaya çıkmaktadır (5,6). Konjenital toksoplazmoz enfeksiyonu ile doğan bebeklerde intrakraniyal kalsifikasyonlar, hidrosefali,

asit, hepatosplenomegali, perikardiyal veya plevral efüzyonlar, hidrops fetalis, motor ve işitme bozuklukları, korioretinit gibi, ciddi ve ölümcül olabilen sekeller gelişebilmektedir (7,8). Gebelik döneminde erken tanı konması, tedavinin erken başlatılmasını ve olumsuz klinik sonuçların önlenmesini sağlamaktadır. Tedaviye başlama kararı verilmeden önce enfekte olduğu düşünülen anne ve bebeğin serolojik testlerinin değerlendirilmesi zorunludur.

Bu çalışmanın amacı, 2009-2019 yılları arasında *T. gondii* testi yapılmak üzere gönderilen tüm olgu örneklerinin laboratuvar sonuçlarını değerlendirmektir.

YÖNTEMLER

Bu çalışma ile Ocak 2009-Mayıs 2019 yılları arasında Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'na gelen *T. gondii* test sonuçları paylaşılmıştır.

Laboratuvarımızda *T. gondii* tanısı için serolojik yöntemlerden, anti- *T. gondii* IgG, IgM, IgG avidite ve Sabin-Feldman dye test (SFDT) yapılmaktadır. SFDT *T. gondii* tanısında halen altın standarttır (9). Anti-*Toxoplasma gondii* IgG, IgM ve IgG avidite testleri ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. Bu yıllar içerisinde ELISA testleri için farklı firmalara ait kitler kullanılmış ve testler laboratuvara ulaşan örneklerde üretici firmaların direktifleri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. SFDT mikroskop altında antikor ile kaplı takizoitlerin metilen mavisine karşı olan reaksiyonunun incelenmesi esasına dayalı bir testtir. Serumlar 1/4, 1/16, 1/64, 1/256, 1/1,024 dilüsyonlara seyreltildikten sonra, 25 µL dilüe serumlar 25 µL aktivatör serum ve 40 büyütme bir mikroskop sahasında 25 adet takizoit olan antijen ile karşılaştırılmaktadır. Takizoitlerin %50'sinden fazlasının boya almadığı dilüsyonlar pozitif olarak kabul edilmektedir.

Laboratuvar test sonuçları ile birlikte tüm olguların yaş, cinsiyet, geldikleri il, yıl ve numune tipi bilgileri de incelenmiştir.

İstatistiksel Analiz Veri analizi, SPSS versiyon 23 yazılımı ile yapılmıştır. Tanımlayıcı özellikler sıklık ve yüzdelere kullanılarak verilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada 2009-2019 yılları arasında *T. gondii* tanısı için 2,778 olgunun serolojik test sonuçları toplu olarak değerlendirilmiştir. Olguların %25,42'si (706) erkek, %74,6'sı (2,072) kadındır.

Çalışmamızda anti-*T. gondii* IgG değerleri Tablo 1’de kadın, erkek, toplam ve yaş gruplarına göre sunulmuştur. Tablo 1 incelendiğinde; tüm örneklerin %47,1’i pozitif olarak saptanmıştır. Pozitiflik en sık %12,8 ile 30-39 yaş grubundadır. Erkeklerin %47’inde anti-*T. gondii* IgG test sonucu pozitifdir. Erkeklerde seropozitiflik en sık 0-1 yaş grubunda (%21,6) bulunmaktadır. Kadınların ise %47,2’si pozitif olarak tespit edilmiştir. Kadınlarda seropozitifliğin en sık olduğu yaş gurubu 30-39’dur (%15,3) (Tablo 1).

Bu çalışmada anti-*T. gondii* IgM değerleri Tablo 2’de kadın, erkek, toplam ve yaş gruplarına göre değerlendirilmiştir. Tüm örneklerin %10,2’sinde anti-*T. gondii* IgM pozitif, %86,9’unda negatif ve %2,9’unda ise sınır değerde tespit edilmiştir. Erkeklerin %8,8’inde pozitif, %89,6’sında negatif, %1,6’sında ise sınır değerde bulunmuştur. Erkeklerde pozitiflik %4,5, negatiflik %32,1 ve sınır değer %1’dir. Kadınlarda pozitiflik %10,7, negatiflik %86, sınır değer ise %3,4 tespit edilmiştir. Kadınlarda IgM pozitifliği %4,1 ve negatifliği ise %26,9 ile en sık 20-29 yaş grubundadır. Sınır değer ise %1,6 ile en sık 30-39 yaş gurubunda saptanmıştır (Tablo 2).

Bu çalışmada; 2009-2019 yılları arasında laboratuvara başvuran olgulardaki SFDT sonuçları Tablo 3’te kadın, erkek, toplam ve yıllara göre dağılım açısından değerlendirilmiştir. İki bin üç yüz altmış bir olgunun 1,228’i (%52) pozitif tespit edilmiştir. Başvuran 537 erkeğin 319’u (%59,4), 1,824 kadının 909’u (%49,8) pozitif bulunmuştur (Tablo 3). Yaş grubuna göre SFDT sonuçları incelendiğinde, pozitiflik %64 ile en sık 50-59 yaş grubundadır. Seropozitif saptanan olguların antikor titrelerinin ve seronegatif olan hastaların toplamda yıllara göre dağılımı Tablo 4’te gösterilmiştir. Buna göre en fazla olgu 2010 yılında gelmiştir. Seropozitiflik en fazla 2019 yılında, seronegatiflik ise 2009 yılında, tespit edilmiştir. Yıllar içinde en sık seropozitiflik titresi 461 (%19,5) hasta ile 1/64 düzeyidir (Tablo 4).

2009-2019 yılları arasında anti-*T. gondii* IgG, IgM ve IgG avidite testlerinin her üçünün de bir hastada birlikte çalışıldığı tüm olgular ayrıca değerlendirilmiştir. Bu olguların tamamında IgG değerleri pozitifdir ve bu nedenle Tablo 5’te anti-*T. gondii* IgM pozitifliğine göre düşük, sınır ve yüksek düzeydeki anti-*T. gondii* IgG avidite sonuçları değerlendirilmiştir. Toplamda 293 olguya anti-*T. gondii* IgG, IgM ve IgG avidite testi birlikte çalışılmıştır. Anti-*T. gondii*

Tablo 1. Anti-*Toxoplasma gondii* IgG değerlerinin yaş grubu ve cinsiyete göre dağılımı (n=1,199)

Cinsiyet			T. gondii IgG				Toplam	
			Pozitif		Negatif			
			Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yaş grubu	0-1	Erkek	64	21,6	42	14,2	106	35,8
		Kadın	76	8,4	50	5,5	126	14,0
		Toplam	140	11,7	92	7,7	232	19,3
	2-9	Erkek	5	1,7	16	5,4	21	7,1
		Kadın	12	1,3	17	1,9	29	3,2
		Toplam	17	1,4	33	2,8	50	4,2
	10-19	Erkek	14	4,7	15	5,1	29	9,8
		Kadın	20	2,2	35	3,9	55	6,1
		Toplam	34	2,8	50	4,2	84	7,0
	20-29	Erkek	10	3,4	23	7,8	33	11,1
		Kadın	126	14,0	174	19,3	300	33,2
		Toplam	136	11,3	197	16,4	333	27,8
	30-39	Erkek	16	5,4	28	9,5	44	14,9
		Kadın	138	15,3	141	15,6	279	30,9
		Toplam	154	12,8	169	14,1	323	26,9
	40-49	Erkek	13	4,4	20	6,8	33	11,1
		Kadın	29	3,2	41	4,5	70	7,8
		Toplam	42	3,5	61	5,1	103	8,6
	50-59	Erkek	11	3,7	10	3,4	21	7,1
		Kadın	16	1,8	10	1,1	26	2,9
		Toplam	27	2,3	20	1,7	47	3,9
	60 ve üstü	Erkek	6	2,0	3	1,0	9	3,0
		Kadın	9	1,0	9	1,0	18	2,0
		Toplam	15	1,3	12	1,0	27	2,3
Toplam		Erkek	139	47,0	157	53,0	296	100
		Kadın	426	47,2	477	52,8	903	100
		Toplam	565	47,1	634	52,9	1,199	100

Tablo 2. Anti-*Toxoplasma gondii* IgM değerlerinin yaş grubu ve cinsiyete göre dağılımı (n=1,255)

Cinsiyet			T. gondii IgM						Toplam		
			Pozitif		Negatif		Sınır değeri				
			Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Yaş grubu	0-1	Erkek	14	4,5	99	32,1	3	1,0	116	37,7	
		Kadın	13	1,4	118	12,5	1	0,1	132	13,9	
		Toplam	27	2,2	217	17,3	4	0,3	248	19,8	
	2-9	Erkek	2	0,6	19	6,2	1	0,3	22	7,1	
		Kadın	2	0,2	28	3,0	0	0,0	30	3,2	
		Toplam	4	0,3	47	3,7	1	0,1	52	4,1	
	10-19	Erkek	2	0,6	24	7,8	0	0,0	26	8,4	
		Kadın	6	0,6	51	5,4	1	0,1	58	6,1	
		Toplam	8	0,6	75	6,0	1	0,1	84	6,7	
	20-29	Erkek	0	0,0	29	9,4	0	0,0	29	9,4	
		Kadın	39	4,1	255	26,9	12	1,3	306	32,3	
		Toplam	39	3,1	284	22,6	12	1,0	335	26,7	
	30-39	Erkek	3	1,0	38	12,3	0	0,0	41	13,3	
		Kadın	34	3,6	237	25,0	15	1,6	286	30,2	
		Toplam	37	2,9	275	21,9	15	1,2	327	26,1	
	40-49	Erkek	2	0,6	36	11,7	0	0,0	38	12,3	
		Kadın	4	0,4	74	7,8	1	0,1	79	8,3	
		Toplam	6	0,5	110	8,8	1	0,1	117	9,3	
	50-59	Erkek	4	1,3	17	5,5	1	0,3	22	7,1	
		Kadın	2	0,2	29	3,1	2	0,2	33	3,5	
		Toplam	6	0,5	46	3,7	3	0,2	55	4,4	
	60 ve üstü	Erkek	0	0,0	14	4,5	0	0,0	14	4,5	
		Kadın	1	0,1	22	2,3	0	0,0	23	2,4	
		Toplam	1	0,1	36	2,9	0	0,0	37	2,9	
Toplam			Erkek	27	8,8	276	89,6	5	1,6	308	100
			Kadın	101	10,7	814	86,0	32	3,4	947	100
			Toplam	128	10,2	1,090	86,9	37	2,9	1,255	100

IgM değerleri bu olguların %47'sinde pozitif, %39,6'sında negatif, %3,4'ünde ise sınır değerde tespit edilmiştir. Anti-*T. gondii* IgG avidite değerleri tüm hastaların %62,8'inde yüksek, %24,2'sinde sınır değer, %13'ünde düşük olarak tespit edilmiştir. Anti-*T. gondii* IgM pozitif hastaların %23,2'sinde düşük, %26,8'inde sınır değer, %50'sinde yüksek avidite değerleri bulunmuştur. Anti-*T. gondii* IgM negatif hastalarda düşük avidite değeri bulunmamış, %19'unda sınır değer, %81'inde yüksek avidite tespit edilmiştir. Anti-*T. gondii* IgM sınır değer tespit edilen hastaların %15,4'ünde düşük avidite, %30,8'inde sınır değer, %53,8'inde yüksek avidite bulunmuştur (Tablo 5).

Çalışmamızda ayrıca anne ve bebek örnekleri birlikte gelen olgular için yapılmış test sonuçları birlikte irdelenmiştir. Tablo 6 ile anne ve bebek arasındaki anti-*T. gondii* IgG ve Ig M pozitif ve negatif olgular, SFDT'deki pozitif (titre bazında da), negatif olgular, yüzde ve sayı olarak değerlendirilmiştir. Anti-*T. gondii* IgG ve IgM testleri 20 anne bebek olgu grubunda (40 test) birlikte çalışılmıştır. Anne bebek grubunun 16 grubunda (%80) hem anne hem bebekte anti-*T. gondii* IgG pozitif, 3 grubunda (%15) her ikisinde de negatif, 1 grupta (%5) ise anne pozitif bebek negatif

bulunmuştur. Anti-*T. gondii* IgM testi ise 1 grupta (%5) anne bebekte her ikisinde de pozitif, 15 grupta (%75) her ikisinde de negatif, 3 grupta (%15) anne pozitif bebek negatif, 1 grupta (%5) ise anne sınır değer bebek negatif olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte hem bebek hem anne örneğinde yapılan SFDT sonuçları da değerlendirilmiştir. Anne-bebek SFDT yapılan 79 anne-bebek grubu (158 test) incelenmiştir. Her ikisinin de pozitif ve aynı titrede olduğu 53 anne-bebek grubu (%67,1) tespit edilmiştir. Her ikisi de pozitif ve aynı titrede olanlardan; 10 grupta 1/16 titrede, 23 grupta 1/64 titrede, 18 grupta 1/256 titrede ve 2 grupta 1/1,024 titrede pozitiflik saptanmıştır. Her ikisinin de aynı ve negatif olduğu 10 anne-bebek grubu (%12,6) bulunmuştur. Test sonuçları 16 (%20,2) anne-bebek grubunda birbirinden farklı tespit edilmiştir. Bu olgu grubunda anne titrelere bebek titrelerinden daima yüksek, ayrıca anne titresi pozitif olan (1/16, 1/64, 1/256, 1/1,024) 9 olgu grubunda bebek titresi negatif saptanmıştır (Tablo 6).

Numunelerin geldiği il dağılımları incelendiğinde; en fazla olgu %80,7 ile Ankara'dan gelmiştir. İkinci %5,8 ile İstanbul, üçüncü ise %4,7 ile Antalya'dır.

Tablo 3. Sabin Feldman dye test değerlerinin yıllara ve cinsiyete göre dağılımı (n=2,361)

Cinsiyet			Sabin-Feldman dye test				Toplam		
			Pozitif		Negatif				
			Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
Yıl	2009	Erkek	15	45,5	18	54,5	33	100	
		Kadın	114	32,9	232	67,1	346	100	
		Toplam	129	34,0	250	66,0	379	100	
	2010	Erkek	24	40,0	36	60,0	60	100	
		Kadın	199	36,6	345	63,4	100	100	
		Toplam	223	36,9	381	63,1	100	100	
	2011	Erkek	23	52,3	21	47,7	100	100	
		Kadın	102	65,0	55	35,0	100	100	
		Toplam	125	62,2	76	37,8	100	100	
	2012	Erkek	70	75,3	23	24,7	100	100	
		Kadın	112	57,7	82	42,3	100	100	
		Toplam	182	63,4	105	36,6	100	100	
	2013	Erkek	16	80,0	4	20,0	100	100	
		Kadın	40	65,6	21	34,4	100	100	
		Toplam	56	69,1	25	30,9	100	100	
	2014	Erkek	11	45,8	13	54,2	100	100	
		Kadın	36	55,4	29	44,6	100	100	
		Toplam	47	52,8	42	47,2	100	100	
	2016	Erkek	72	69,2	32	30,8	100	100	
		Kadın	127	67,2	62	32,8	100	100	
		Toplam	199	67,9	94	32,1	100	100	
	2017	Erkek	30	63,8	17	36,2	100	100	
		Kadın	82	77,4	24	22,6	100	100	
		Toplam	112	73,2	41	26,8	100	100	
	2018	Erkek	39	44,8	48	55,2	100	100	
		Kadın	72	55,8	57	44,2	100	100	
		Toplam	111	51,4	105	48,6	100	100	
	2019	Erkek	19	76,0	6	24,0	100	100	
		Kadın	25	75,8	8	24,2	100	100	
		Toplam	44	75,9	14	24,1	100	100	
Toplam			Erkek	319	59,4	218	40,6	537	100
			Kadın	909	49,8	915	50,2	1,824	100
			Toplam	1228	52,0	1,133	48,0	2,361	100

Numune tipine göre gelen örneklerin dağılımı incelendiğinde; tek tip örnek gönderilen 2,690 (%96,8), iki tip örnek gönderilen 88 (%3,2) olgu belirlenmiştir. Kan 2,640 (%95) ile en sık gönderilen numune grubunu oluşturmaktadır. Kan ve beyin omurilik sıvısı (BOS) numunesinin birlikte gönderildiği olgu sayısı 87 (%3,1) ile ikinci sıklıktadır. Ayrıca 49 (%1,8) olgudan sadece BOS numunesi gönderilmiştir. En az gönderilen numune tipi ise amniyon sıvısıdır.

TARTIŞMA

Günümüzde yapılan bilimsel çalışmalar toksoplazmozun küresel olarak yaygın dağılıma sahip olduğunu göstermiştir. Genel

olarak dünya nüfusunun %25 ile %30'u *T. gondii* ile enfekte kabul edilmektedir (10). Hastalığın genellikle asemptomatik olarak seyretmesi, gebelik döneminde ve immünosüpresif hastalarda ağır sonuçlar doğurması nedeniyle, tanı yöntemleri önem arz etmektedir. Moleküler yöntemler spesifik olmalarına rağmen, maliyet açısından yüksek olması ve amniosentez gibi invaziv yöntemler ile desteklenmesi nedeniyle, daha az tercih edilmektedir. Serolojik yöntemler ise uygulama kolaylığı açısından günümüzde halen geçerliliğini korumaktadır. Serolojik yöntemler ile belirlenen antikor tipleri enfeksiyonun geçirilme zamanı ile ilgili fikir verebilmesi açısından da değerlidir. Ancak serolojik testler de yorumlanma zorluğu nedeniyle süreci zorlaştırmaktadır (11). ELISA yöntemi ile *T. gondii* antikorları, antijenleri içeren

Tablo 4. Sabin Feldman dye test titre değerlerinin yıllara göre dağılımı (n=2,361)

		Sabin-Feldman dye testi antikor titre düzeyi										Toplam	
		1/16		1/64		1/256		1/1,024		Negatif			
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yıl	2009	49	12,9	66	17,4	13	3,4	1	0,3	250	66,0	379	100
	2010	53	8,8	100	16,6	35	5,8	35	5,8	381	63,1	604	100
	2011	20	10,0	44	21,9	39	19,4	22	10,9	76	37,8	201	100
	2012	46	16,0	77	26,8	28	9,8	31	10,8	105	36,6	287	100
	2013	7	8,6	20	24,7	17	21,0	12	14,8	25	30,9	81	100
	2014	19	21,3	18	20,2	5	5,6	5	5,6	42	47,2	89	100
	2016	60	20,5	64	21,8	35	11,9	40	13,7	94	32,1	293	100
	2017	26	17,0	28	18,3	40	26,1	18	11,8	41	26,8	153	100
	2018	29	13,4	28	13,0	28	13,0	26	12,0	105	48,6	216	100
	2019	15	25,9	16	27,6	6	10,3	7	12,1	14	24,1	58	100
Toplam		324	13,7	461	19,5	246	10,4	197	8,3	1,133	48,0	2361	100

Tablo 5. Anti-*Toxoplasma gondii* IgG pozitif olgularda anti-*T. gondii* IgM pozitifliğine göre anti-*T. gondii* IgG avidite sonuçları (n=293)

		T. gondii IgG avidite							
		Düşük		Sınır değ er		Yüksek		Toplam	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
T. gondii IgM	Negatif	0	0	22	19,0	94	81,0	116	39,6
	Pozitif	32	23,2	37	26,8	69	50,0	138	47,0
	Sınır değ er	6	15,4	12	30,8	21	53,8	39	3,4
	Toplam	38	13,0	71	24,2	184	62,8	293	100

dolaşan immün kompleks yapıları ve serbest antijenler tespit edebilmektedir. Ayrıca otomatize bir sistem olduğundan, ELISA ile çok sayıda örneğin eşzamanlı olarak çalışılabilmesi de bir avantajdır. *T. gondii* antijen veya antikorlarını tespit etmek için farklı ELISA yöntemleri kullanılmaktadır. En sık kullanılanı ise sandwich ELISA yöntemleridir (12).

Toxoplasma gondii enfeksiyonu tanısında ve takibinde ilk adım, bireyin enfeksiyonu geçirip geçirmediğini belirlemektir. Anti-*T. gondii* IgG'leri belirlemek için yapılan testlerden herhangi biri, enfeksiyonun geçirilip geçirilmediğini güvenilir bir şekilde tespit etmektedir. İkinci adım, hastanın yakın zamanda edinilmiş bir enfeksiyona mı, yoksa daha uzak geçmişte edinilmiş bir enfeksiyona mı sahip olduğunu belirlemektir. Genel olarak, gerçek negatif bir anti-*T. gondii* IgM testi temel olarak enfeksiyonun son aylarda edinilmiş olduğunu ekarte eder. Üçüncü adım ise, hastanın durumunun veya hastalığının toksoplazmoz mu (yakın zamanda edinilmiş bir enfeksiyon veya latent enfeksiyonun tekrarı), yoksa bu enfeksiyonla ilgisi olmayan bir durumdan mı kaynaklandığının belirlenmesidir. Hastalık çoğu zaman asemptomatik veya atipik geçirildiğinden, diğer hastalıklar ile ayrıntı tanısının yapılma zorunluluğu da vardır (13).

Toxoplasma gondii seropozitifliği Türkiye'de olduğu gibi, dünyada da bölgesel, iklimsel ve toplumsal alışkanlıklara göre farklılıklar göstermektedir. Türkiye'de yapılan *T. gondii* araştırmaları, genel olarak gebeler ve doğurgan kadınlar üzerinde yapılan seroprevalans çalışmalarıdır. Türkiye'de farklı illerde daha önce yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde pozitiflik oranlarının; anti-*T. gondii* IgG için %19,9 ile %43,4 ve anti-*T. gondii* IgM için ise %0,1 ile %13,4 arasında değiştiği görülmüştür (14-23). Çalışmamızda tespit

edilen anti-*T. gondii* IgG 565 (%47,1) olguda pozitif ve anti-*T. gondii* IgM 128 (%10,2) olguda pozitif saptanmıştır. Hem anti-*T. gondii* IgG, hem de IgM değerleri ülkemizde daha önce yapılmış olan seropozitiflik çalışmalarından yüksek bulunması, referans laboratuvar olarak şüpheli olgular/durumlara ait numunelerin gönderilmesi nedeniyle. Dünya'da anti-*T. gondii* seropozitifliği farklı ülkelerde bölgelere göre %10 ile %80 arasında farklılık göstermektedir. Düşük prevalans Kuzey Amerika, Güneydoğu Asya, Kuzey Avrupa'da tanımlanmaktadır. Ortalama prevalans %30-50 kabul edilmektedir ve Orta ve Güney Avrupa ülkelerinde tespit edilmiştir. Latin Amerika ve tropikal Afrika ülkelerinde ise yüksek prevalanslar tespit edilmiştir (11).

Türkiye'de anti-*T. gondii* IgG seropozitifliği erkeklerde %8,2 ile %23,4, kadınlarda ise %27 ile %34,1, anti-*T. gondii* IgM seropozitifliği erkeklerde %0,1 ile %4,9, kadınlarda ise %0,5 ile %2,3 arasında saptanmıştır (23). Çalışmamızda anti-*T. gondii* IgG erkeklerin %47'sinde, kadınların ise %47,2'sinde pozitif bulunmuştur. Anti-*T. gondii* IgM erkeklerin %8,2'sinde, kadınların ise %10,7'sinde pozitif bulunmuştur. Çalışmamızda her iki antikorun da kadınlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ulusal düzeyde yapılan bazı çalışmalar anti-*T. gondii* 'nin kadınlardaki bu yüksekliği ile ilgili verileri desteklemektedir (17,22). Kadınlarda konjenital toksoplazmoz riski nedeni ile anti-*T. gondii* IgM değerlerinin erkekler göre daha yüksek seyretmesi ve %2,9'unda sınır değerde tespit edilmesi önemsenmelidir. Ayrıca anti-*T. gondii* IgM sınır değerlerde tespit edildiğinde, hasta takibinde hassasiyet gösterilmesi, avidite testleri ile takip edilmesi ve moleküler testlerle desteklenmesi gerekmektedir. Kadınlarda anti-*T. gondii* IgM'nin en fazla doğurganlık çağı olan 20-29 yaş grubunda,

Tablo 6. Anne-bebek birlikte gelen olguların anti-*T. gondii* IgG, anti-*T. gondii* IgM ve Sabin Feldman dye test sonuçları

Test	Toplam* sayı	Test sonucu								Toplam	
		Anne			Bebek			*Sayı	%	*Sayı	%
		Pozitif			Negatif						
IgG	20	Pozitif			Pozitif			16	80,0	20	100
		Negatif			Negatif			3	15,0		
		Pozitif			Negatif			1	5,0		
IgM	20	Pozitif			Pozitif			1	5,0	20	100
		Negatif			Negatif			15	75,0		
		Pozitif			Negatif			3	15,0		
		Sınır değeri			Negatif			1	5,0		
SFDT	79	Pozitif	Titre	Negatif	Pozitif	Titre	Negatif	*Sayı	%	*Sayı	%
		Pozitif	1/16	-	Pozitif	1/16	-	10	18,9	53	67,1
		Pozitif	1/64	-	Pozitif	1/64	-	23	43,4		
		Pozitif	1/256	-	Pozitif	1/256	-	18	34,0		
		Pozitif	1/1,024	-	Pozitif	1/1,024	-	2	3,8		
		-	-	Negatif	-	-	Negatif	10	12,7	10	12,6
		Pozitif	1/64	-	Pozitif	1/16	-	4	25,0	16	20,2
		Pozitif	1/256	-	Pozitif	1/16	-	1	6,3		
		Pozitif	1/1,024	-	Pozitif	1/256	-	1	6,3		
		Pozitif	1/16	-	-	-	Negatif	5	31,3		
		Pozitif	1/64	-	-	-	Negatif	2	12,5		
		Pozitif	1/256	-	-	-	Negatif	3	18,7		

*Her sayı anne ve bebeğini temsil etmektedir, SFDT: Sabin Feldman dye test

erkeklerde ise bebek kategorisinde olan 0-1 yaş grubunda görülmesi, günümüzde *T. gondii*'nin halen gebelik sırasında risk oluşturduğunu göstermektedir. Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'nın tanı algoritması bu laboratuvarlar tarafından hazırlanan ulusal mikrobiyoloji standartlarında yer almaktadır (24). Laboratuvarımızda hamile kadınlarda öncelikli olarak anti-*T. gondii* IgM ve IgG değerleri bakılmaktadır. Buradan çıkan sonuca göre anti-*T. gondii* IgG avidite testi yapılmaktadır. Bu sonuçlar ve gebeliğin gestasyonel yaşına bakılarak değerlendirmeler yapılmaktadır. En son aşamada ise polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testleri ile *T. gondii* tanısı yapılabilmektedir.

SFDT'leri incelendiğinde; 2009-2019 yılları arasında seropozitifliğin %52 olduğu saptanmıştır. Ayrıca SFDT seropozitifliğinin erkeklerde (%59,4) kadınlardan (%49,8) daha yüksek olduğu görülmüştür. Erkeklerdeki bu yüksek risk toprakla olan ilişkilerinin daha fazla olmasından ve hijyen koşullarının düşük olmasından kaynaklanabilir. Seropozitifliğin yıllara göre dağılımı incelendiğinde; en fazla 2019 yılında olduğu belirlenmiştir. Bu durum yıllar içinde hastalığın artış gösterdiğini, enfeksiyonun geçirilme oranının toplumda yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca yıllar içinde bu hastalığa yakalanma potansiyelinin artmış olduğunun görülmesi, bu hastalıkla ilgili yeterli koruma ve korunma önleminin alınmadığını da gösterebilir. Babür ve ark.'nın (25) yaptığı çalışmada 1995-2000 yılları arasında yapılan SFDT değerlendirilmiş ve pozitiflik %37 bulunmuştur. Bu çalışma ile karşılaştırıldığında; seropozitifliğin arttığı görülmüştür. Titreleler açısından değerlendirildiğinde, Babür ve ark.'nın (25) yaptığı çalışmada ve bu çalışmada en sık görülen titrenin 1/64 olduğu tespit edilmiştir.

Aynı hastada anti-*T. gondii* IgG, IgM ve IgG avidite çalışmaları da grup olarak incelenmiştir. Yazar ve ark. (26) yaptıkları çalışmada %70,8'inin yüksek avidite, %4,7'sinin düşük avidite, %24,5'inin ise sınır değeri tespit edilmiştir. Ayrıca Ekşi ve ark. (27) hastaların 75'inde (%57,7) yüksek avidite, 46'sında (%35,4) düşük avidite, 9'unda (%6,9) ise sınır değeri saptamıştır. Bu çalışmada anti-*T. gondii* IgG değerleri pozitif bulunan 293 olgunun; 184'ünde (%62,8) yüksek avidite, 71'inde (%24,2) sınır değeri ve 38'inde (%13) düşük avidite bulunmuştur. Bu araştırmalar bizim değerlendirmelerimiz ile paralellik göstermektedir. Düşük aviditeye sahip 38 olgunun toksoplazmoz riskinin yüksek olduğu, yüksek avidite değerine sahip 184 olgunun geçirilmiş bir toksoplazmoza sahip olduğu ve sınır değerlerde olan 71 olgunun ise şüpheli olduğu, hastaların gebelik açısından veya immünoşüpresyon açısından sıkı takibinin yapılması gerekliliği düşünülmüştür. Hem IgM değerleri pozitif, hem de düşük avidite değerleri olan 32 (%3,2) hastanın yakın zamanda geçirilmiş Toksoplazmoz açısından değerlendirilmesi önerilmiştir. Bu hastaların immün yetmezlik veya gebelik durumu, gebelik varsa gestasyonel yaşları da dikkate alınarak, klinisyenin ve mikrobiyoloğun bilgi alışverişinde bulunması, PZR testi ile toxoplasma DNA'sının aranması gerekmektedir. Bu çalışmada, on yıllık verinin derlenmesi nedeni ile hasta grubunda gebe ve takipleri ile ilgili bilgiye ulaşılamaması önemli bir kısıtlılıktır.

Enfeksiyonun gerçek geçirilme zamanının değerlendirilmesinde, özellikle gebelerde, anti-*T. gondii* IgG, IgM ve avidite değerlerinin birlikte yorumlanma zorunluluğu vardır. Anti-*T. gondii* IgG ve IgM değerlerinin ikisi de pozitif olan hastalarda enfeksiyonun gününü belirlemek gerekmektedir. Bunun için avidite testleri yapılmaktadır. Yüksek avidite değeri enfeksiyonun üç ay veya daha

önce geçirildiğini göstermektedir ve bu durumda hastanın 2-3 hafta aralıklarla takip edilmesi gerekmektedir. Düşük veya sınırda aviditede ise enfeksiyonun örnek alınmasından 3 aydan daha kısa süre önce kazanılmış olduğunu gösterir. Bu durumda hasta eğer gebe ise gestasyonel yaşa göre, enfeksiyon olasıdır ve fetal risk açısından değerlendirilmelidir diye düşünülmelidir. Amniosentez veya tedavi seçenekleri göz önüne alınır. Anti-*T. gondii* IgG pozitif, IgM negatif olgularda da avidite değerleri araştırılabilir. Bu durumlarda yüksek avidite pasif transferi gösterirken, düşük avidite olası serokonversiyonu gösterebildiğinden gebelik ve fetal bulguların takibi ve moleküler tanı önerilebilir (24). Çalışmamızda anne-bebek birlikte gelen olgular değerlendirildiğinde; her ikisinde anti-*T. gondii* IgG seropozitifliği %80, her ikisinde anti-*T. gondii* IgM seronegatifliği %75 saptanmıştır. Bu yüksek oranlar anne bebek arasında antikor transferini desteklemektedir. Anne bebek 59 olguda SFDT'nin pozitif saptanması hastalığı geçirmiş olma durumunu desteklemektedir.

Verileri değerlendirilen on yıllık dönemde *T. gondii* testlerinin yapılması ile ilgili en fazla Ankara ilinden talep gelmiştir. Referans laboratuvar olması nedeni ile laboratuvarımıza farklı illerden örnek kabul edilmektedir. İkinci sırada İstanbul üçüncü sırada Antalya bulunmaktadır. Bu durum büyük illerde konu ile ilgili daha fazla hassasiyet olduğunu düşündürdüğü gibi, nüfus yoğunluğunun fazlalığından da kaynaklanmış olabileceği bilinmektedir.

Örnek tipi olarak test edilmesi amacıyla hastalardan en fazla kan örneği gönderilmiştir. İkinci sıklıkta BOS gönderilmiştir. Ayrıca kan ve BOS'nin birlikte gönderildiği durumlar da mevcuttur. Beyin omurilik sıvısında SFDT ve moleküler analizler yapılmaktadır. Riskli gruplarda da amniyotik sıvıda PZR analizleri gerçekleştirilmektedir. Ayrıca laboratuvarımıza bu yıllar içinde riskli olduğu düşünülerek iki adet amniyon sıvısı gelmiştir ve analizi kesin tanının konmasına yardımcı olmuştur. PZR analizi yapılması için amniyotik sıvı alınması işlemi, anne ve bebek açısından riskli bir işlem olduğundan 18. gebelik haftasında veya daha sonra gerçekleştirilmektedir. Amniosentez, akut enfeksiyon kararının en kısa zamanda verilmesi, tedaviye bir an önce başlanması ve malformasyonların oluşumunun engellenmesi açısından önemlidir (28).

SONUÇ

On yıllık referans laboratuvar verilerinin değerlendirildiği bu çalışmada, Ulusal Parazitoloji Referans Laboratuvarı'nın toksoplazmoz tanısına yönelik sonuçları değerlendirilmiştir. Yapılan analizler *T. gondii*'nin Türkiye'de halen önemli bir sorun oluşturmaya devam ettiğini göstermiştir. Günümüzde hastalığın tanımlanması sadece konjenital toksoplazmoz nedeni ile değil, immünoşüpre hastalarda sık rastlanan bir parazit enfeksiyonu olması nedeniyle de önemlidir. Bu nedenle tedavi edilebilen bir hastalık olan toksoplazmoz tanısına yönelik yapılan laboratuvar analiz sonuçlarının, sistematik olarak toplanması ve değerlendirilmesi kontrol önlemlerinin alınmasına katkı sağlayacaktır.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma gerekli kurum izinleri alınarak yapılmış retrospektif laboratuvar analiz verilerini kapsamaktadır.

Hasta Onayı: Retrospektif çalışma.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* * Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: C.B., B.Y., Konsept: C.B., B.Y., Dizayn: B.Y., Veri Toplanma veya İşleme: C.B., B.Y., Analiz veya Yorumlama: C.B., B.Y., F.S., Literatür Arama: B.Y., S.K., Yazan: B.Y., F.S., S.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Gürüz Y, Özcel MA. Toxoplasmosis. In: Özcel MA. Tıbbi Parazitoloji. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını; 2007. p. 141-89.
- Montoya JG. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. J Infect Dis 2002; 185: S73-82.
- Jones JL, Parise ME, Fiore AE. Neglected parasitic infections in the United States: toxoplasmosis. Am J Trop Med Hyg 2014; 90: 794-9.
- Jones J, Lopez A, Wilson M. Congenital toxoplasmosis. Am Fam Physician 2003; 67: 2131-8.
- Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 267-99.
- Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. Clin Microbiol Infect 2002; 8: 634-40.
- Akçali M, Özlü F, Esen E, Çay Ü, Batun İ, Yıldızdas HY, et al. Two Newborn Cases with Congenital Toxoplasmosis. Turkish Journal of Pediatric Disease 2017; 11: 129-33.
- Saso A, Bamford A, Grewal K, Noori M, Hatcher J, D'Arco F, et al. Fifteen-minute consultation: Management of the infant born to a mother with toxoplasmosis in pregnancy. Arch Dis Child Educ Pract Ed 2020; 105: 262-9.
- Yücesan B, Babür C, Koç N, Sezen F, Kılıç S, Gürüz Y. Investigation of Anti-*Toxoplasma gondii* Antibodies in Cats Using Sabin-Feldman Dye Test in Ankara in 2016. Türkiye Parazit Derg 2019; 43: 5-9.
- Pappas G, Roussos N, Falagas ME. Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. Int J Parasitol 2009; 39: 1385-94.
- Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. Clin Microbiol Rev 2012; 25: 264-96.
- Liu Q, Wang ZD, Huang SY, Zhu XQ. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. Parasit Vectors 2015; 8: 292.
- Liesenfeld O, Montoya JG, Tathineni NJ, et al. Confirmatory serologic testing for acute toxoplasmosis and rate of induced abortions among women reported to have positive *Toxoplasma* immunoglobulin M antibody titers. Am J Obstet Gynecol 2001; 184: 140-5.
- Selek MB, Bektöre B, Baylan O, Özyurt M. Üçüncü Basamak Bir Eğitim Hastanesinde 2012-2014 Yılları Arasında Gebelerde ve Toksoplazmozis Şüpheli Hastalarda *Toxoplasma gondii*'nin Serolojik Olarak Araştırılması [Serological Investigation of *Toxoplasma gondii* on Pregnant Women and Toxoplasmosis Suspected Patients Between 2012-2014 Years on a Tertiary Training Hospital]. Türkiye Parazit Derg 2015; 39: 200-4.
- Bölük S, Ozyurt BC, Girginkardeşler N, Kilimcioglu AA. Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Parazitoloji Laboratuvarına 2006-2010 Yıllarında Toxoplasmosis Şüphesi ile Başvuran Hastaların Serolojik Sonuçlarının Değerlendirilmesi [Evaluation of serological results of patients with suspected Toxoplasmosis admitted to the medical parasitology laboratory of Celal Bayar University Hospital between 2006-2010]. Türkiye Parazit Derg 2012; 36: 137-41.
- Kaleli B, Kaleli İ, Aktan E, Akalın H, Akşit F. Gebelerde *Toxoplasma* IgG ve IgM seropozitifliği. Türkiye Parazit Derg 1997; 21: 241-3.

17. Malatyalı E, Yıldız İ, Tileklioğlu E, Ertabaklar H, Ertuğ S. Retrospective Analysis of *Toxoplasma gondii* Serology Results from Adnan Menderes University Faculty of Medicine Parasitology Laboratory from 2007 to 2017. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2019; 43: 1-4.
18. Gül K, Dağ MN, Suay A, Mete M, Mete ODU Tıp Fakültesinin değişik bölümlerine başvuran ve *Toxoplasma* ön tanısı konmuş hastalarda *Toxoplasma* antikorlarının dağılımı. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1994; 18: 394-7.
19. Yiğit N, Aktaş AE, Uslu H, Aydın F, Babacan M. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen toxoplasmosis şüpheli hasta serumlarında *Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2000; 24: 22-4.
20. Tuncer İ, Baykan M, Akyol G. Konya ve yöresinde *Toxoplasma gondii*'ye karşı oluşan antikorların araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 1993; 17: 11-5.
21. Kaplan M, Bayar Z, Aslan R, Arı N, Özavcı H, Toraman ZA. Fırat Üniversitesi hastanesi laboratuvarına Toksoplazmoz şüphesi ile başvuran hastalarda Toksoplazma seropozitifliği. F.Ü. Sağ. Bil. Tıp. Derg 2014; 28: 21-4.
22. Kuk S, Ozden M. Hastanemizdeki dört yıllık *Toxoplasma gondii* seropozitifliğinin araştırılması [A four-year investigation of the seropositivity of *Toxoplasma gondii* in our hospital]. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2007; 31: 1-3.
23. Alver O, Payashoğlu M, Ener B. Investigation of *Toxoplasma gondii* Seropositivity in Uludağ University Hospital between 2009-2016. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2019; 43(Suppl 1): 8-12.
24. UMS (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Bulaşıcı Hastalıklar Laboratuvar Tanı Rehberi) - Cilt 3 Parazitoloji/ Mikrobiyolojik Tanımlama/P-MT-08/ Sürüm:1-1/01.01.2015 EDİTÖR: Efsun Akbaş, Yardımcı editörler: Hakan Abacıoğlu, Selin Nar Ötgün, ANKARA-2015, ISBN: 978-975-590-489-4, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın no: 934. 3-19.
25. Babür C, Kılıç S, Özkan TA, Esen B. Refik saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığında 1995-2000 yılları arasında Çalışılmış Sabin-Feldman Dye test sonuçlarının Değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2002; 26: 124-8.
26. Yazar S, Yaman O, Şahin İ. *Toxoplasma gondii* seropozitif gebelerde IgG-avidite sonuçlarının değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2005; 29: 221-3.
27. Ekşi F, Karşılil T, Bayram A, Zer Y, Katrancı B, Balcı İ. *Toxoplasma gondii* IgG Avidite Testi Çalışılan Gebelerin Serolojik Profillerinin İrdelenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Dergisi 2010; 40: 16-21.
28. Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. Clin Infect Dis 2008; 47: 554-66.

Impact of Pandemic in the Frequency of Scabies: Possible Scabies Outbreak Scenario Aftermath COVID-19

Pandeminin Skabiyez Sıklığı Üzerindeki Etkisi: COVID-19 Sonrasında Olası Skabiyez Salgını Senaryosu

Çağrı Turan, Nurcan Metin

University of Health Sciences Turkey, Erzurum Regional Training and Research Hospital, Clinic of Dermatology and Venereology, Erzurum, Turkey

Cite this article as: Turan Ç, Metin N. Impact of Pandemic in the Frequency of Scabies: Possible Scabies Outbreak Scenario Aftermath COVID-19. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):190-194.

ABSTRACT

Objective: This study aimed to evaluate the post-pandemic changes in the frequency of scabies and determined the clues that may indicate a possible outbreak of scabies in the future.

Methods: All patients diagnosed with scabies in the University of Health Sciences Turkey, Erzurum Regional Training and Research Hospital and Palandöken State Hospital between January 2019 and September 2020 were evaluated.

Results: The frequency of scabies of 1.87% was remarkable in the first quarter of 2020, which corresponds to the pre-pandemic, and >50% (n=442) of all patients with scabies in 2019 (n=769) were encountered only in the first 3 months. The frequency of scabies seen in the first 3 quarters of 2020 was significantly higher than in 2019 ($p<0.001$). Significant decreases were found in the 0-14 years age groups (infant, preschool and school period) compared to 2019 ($p<0.001$, $p<0.001$ and $p=0.015$, respectively). No significant increase or decrease was determined in the frequency of scabies in 2020 ($p=0.205$). In addition, an increase in the number and rates of scabies patients are observed after the first month of normalisation period followed by the increase in the number of Coronavirus disease-2019 (COVID-19) daily cases.

Conclusion: Applications for scabies to polyclinics after the pandemic were determined to be too low compared to previous periods, especially in school-age children, and showed an increasing trend over time. Patients with scabies that reach treatment late or not due to the pandemic may cause outbreak aftermath COVID-19.

Keywords: Epidemiology, scabies, COVID-19, pandemic, outbreak

ÖZ

Amaç: Skabiyez sıklığındaki değişimle ilgili olarak pandemi salgını sonrası tablonun değerlendirilmesi ve gelecekte olası bir skabiyez salgınına işaret edebilecek ipuçlarının araştırılması amaçlanmaktadır.

Yöntemler: Çalışmada, Ocak 2019-Eylül 2020 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi ile Palandöken Devlet Hastanesi'nde skabiyez tanısı alan tüm hastalar değerlendirilmiştir.

Bulgular: Pandemi öncesi, 2020 yılının ilk çeyreğinde skabiyez görülme sıklığının %1,87 olması ve 2019 yılındaki skabiyez hasta sayısının yarısından fazlasının (n=442) (n=769) 2020 yılının sadece ilk 3 ayı içerisinde görülmesi dikkat çekicidir. 2020 yılının ilk 3 çeyreğindeki skabiyez görülme sıklığı, 2019 yılına göre anlamlı derecede yüksektir ($p<0,001$). Sıfır-on dört yaş grubunda (bebek, okul öncesi ve okul dönemi) 2019 yılına göre anlamlı düşüşler saptanmıştır (sırasıyla; $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,015$). 2020 yılı boyunca skabiyez sıklığında önemli bir artış veya azalma olmadığı tespit edilmiştir ($p=0,205$). Normalleşme döneminin ilk ayından sonra skabiyez hastalarının sayı ve oranında artış olduğu, ardından günlük Koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) olgu sayısında da artış olduğu kaydedilmiştir.

Sonuç: Pandemi sonrasında polikliniklere yapılan uyuz başvurularının özellikle okul çağındaki çocuklarda önceki dönemlere göre çok düşük olduğu ve zamanla artış eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Pandemi nedeniyle tedaviye geç ulaşan veya ulaşmayan skabiyez hastalarının COVID-19 pandemisi sonrasında bir skabiyez salgınına neden olabileceği değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Epidemiyoloji, skabiyez, COVID-19, pandemi, salgın

Received/Geliş Tarihi: 16.11.2020 Accepted/Kabul Tarihi: 11.01.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Nurcan Metin, University of Health Sciences Turkey, Erzurum Regional Training and Research Hospital, Clinic of Dermatology and Venereology, Erzurum, Turkey

Phone/Tel: +90 507 580 62 55 **E-mail/E-Posta:** drnurcanmetin@hotmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-1251-6333

INTRODUCTION

The emergence of the severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and its rapid spread to the whole world has opened the door to new standards and regulations in many areas of life, especially health (1). After the first confirmed case on March 11, 2020, the crisis period started in our country, and the normalization process started with the control of the number of cases on June 1, 2020. However, a second crisis period has started as of August 15 with the number of Coronavirus disease-2019 (COVID-19) daily cases that started to increase at the beginning of August. During these crisis periods, we, as dermatologists, had to take an active mission and primary responsibility in all fields from outpatient clinics to intensive care units related to COVID-19. In several studies, it has been pointed out that there are significant changes in the number and profile of outpatient clinic applications due to the measures, regulations, and the COVID-19 risk perception of the patients (2,3). It was reported that the number of patients who applied to dermatology outpatient clinics during the crisis period decreased by 5 times (2).

Scabies is not a notifiable disease in Turkey, caused by *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*. The infectivity of scabies does not disappear and result in severe infestations if left untreated (4). We have reported that the incidence of scabies, which started to increase in our country since the second half of 2019, became more pronounced in the last quarter of the year (5). In a recent study, we reported that approximately 2% of the patients who applied to the dermatology outpatient clinics in the pre-pandemic period in 2020 had scabies, which rephrases a worse picture than the last year. Though the number of applications had decreased in the post-pandemic, interestingly the rate of scabies represented no change significantly (2,5). This situation leads to an essential suspicion that many patients do not reach the suitable treatment or delay their treatment in a disease such as scabies that impairs quality of life. Because scabies, which we have already encountered very often in our country, may lead to an epidemic owing to patients who do not take effective treatment. Measures such as post-pandemic social distance rules and some other similar restrictions may delay experiencing this anticipated increase of scabies frequency. However, it is reasonable to expect more scabies patients upon increasing human interaction after vaccination and normalization. In the study, we aim to evaluate the post-pandemic picture on the change in the frequency of scabies and if our hypothesis is accurate, to look for clues that may indicate a possible outbreak of scabies in the future.

METHODS

All patients who applied to the Department of Dermatology and Venereology in the Regional Training and Research Hospital and Palandöken State Hospital affiliated with the training hospital, between 01 January 2019 and 15 September 2020, were enrolled in the study, regardless of their diagnosis. Data such as age, gender, application dates, ICD-10 (International Classification of Diseases-10th Revision) codes were received from the hospital database by anonymizing. All patients have been diagnosed with clinical or suspected scabies based on the clinical evaluation by a dermatology specialist. All repeated applications within ten days after the previous application were considered trivial and were excluded from the records before statistical analysis.

No patient consent was needed, providing names and citizenship numbers were anonymized by the IT team and with the approval of the ethics committee. This single-center cross-sectional study was approved by the Ethics Committee of Regional Training and Research Hospital, Erzurum, Turkey (decision no: 2020/120-190), and the Ministry of Health Scientific Research Platform (application form number: 2020-10-01T13_14_47). It was performed according to the tenets of the latest version of the "Helsinki Declaration" and "Guidelines for Good Clinical Practice".

Statistical Analysis

All statistical procedures were conducted using IBM SPSS Statistics 21.0 and MS-Excel 2010. Firstly, we checked the normality distribution of scale variables by Kolmogorov-Smirnov. Pearson chi-square and Mann-Whitney U tests were used for categorical and scale variables, respectively. Results were presented as the median (interquartile range) or the number of patients (percentage). In chi-square tests with a degree of freedom greater than 1, pairwise comparisons (post-hoc) were performed using the z-test with correction for alpha inflation (Bonferroni style). Two-sided p-values of <0.05 were considered statistically significant.

The daily number of newly diagnosed COVID-19 cases and the number of scabies patients for 2-week periods applied to our dermatology outpatient clinics were presented with the same "scatter with straight lines" graphic. The change in the proportion of patients with scabies throughout the year is also presented as a graph. The graph of "novel coronavirus daily cases in Turkey" was adapted from the Worldometer, a reference website that provides real-time world statistics (6). Graphics were presented as monthly changes after dividing a year into 24 parts.

RESULTS

After the control patients were excluded, a total of 122,627 patients, 1,551 of which were diagnosed with scabies and were evaluated in our outpatient clinics since the beginning of 2019. The frequencies of scabies according to the quarters in 2019 and 2020 were presented in Table 1. The increase in the frequency of scabies, which emerged in the second half of 2019, became apparent in the last quarter and there was no decrease in their frequency throughout 2020 (Table 1, Figure 1). It was remarkable that the frequency of scabies was 1.87% in the first quarter of 2020, which corresponds to the pre-pandemic, and that more than half (n=442) of all patients with scabies in 2019 (n=769) were encountered only in the first 3 months. The frequency of scabies seen in the first 3 quarters of 2020 was significantly higher than in 2019 ($p<0.001$). When the change in the age distribution of the scabies patients in Table 2 was examined, significant decreases were found in the 0-14 age groups (infant, preschool, and school period) compared to 2019 ($p<0.001$, $p<0.001$, and $p=0.015$, respectively) (Table 2).

Quarters 2 and 3 of 2020 correspond to the pandemic period, and significant fluctuations were observed in the number and rates of patients with scabies during these periods (Figure 1). It was determined that there was no significant increase or decrease in the frequency of scabies during 2020 ($p=0.205$). However, as seen in Figure 1, it was exceptional that there was an unusual

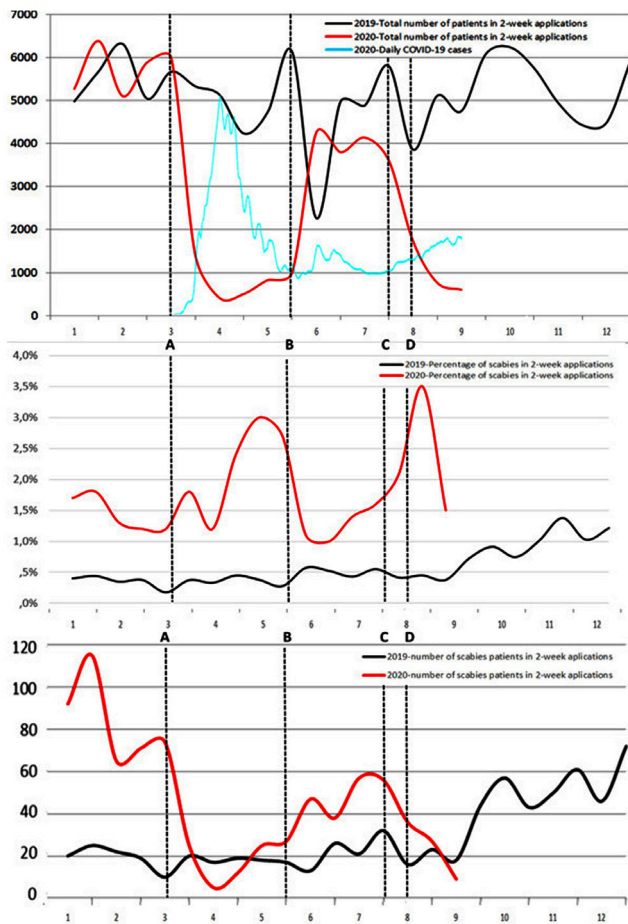


Figure 1. Change in the number of applications to dermatology and the rate of scabies and daily COVID-19 patients
A-B: 1st crisis period, B-C: Normalization period, after C: 2nd crisis period

All graphics were presented as monthly changes after dividing a year into 24 parts, with reference to the 2-week patient application numbers. In the top graphic, the number of patients applied to the dermatology outpatient clinic in 2019 and 2020, and the number of daily COVID-19 cases were presented from our hospital and across the country, respectively. In the last 2 graphics below, respectively, the proportion and number of scabies among all patients applied to our hospital in 2019 and 2020 were shown.

Note: While preparing this graphic, repeated applications of follow-up and control patients were not excluded.

A. March 11: The first COVID-19 case was confirmed in Turkey and the World Health Organization has declared a pandemic. The government imposed many restrictions, including curfews, over time.

B. June 1: Restrictions on inter-city travel, public places (gardens, association centers, museums, etc.), tourism areas, schools, kindergartens, and similar places were partially removed. The flexible working practice was terminated for all public employees, including hospital personnel.

C. At the beginning of August: it was observed that the number of cases in Turkey increased and the number of dermatology department applications to our hospital started to decrease.

D. August 15: Similar to our colleagues in other departments of our hospital, 7 (~80%) of dermatologists were shifted to COVID-19 services

COVID-19: Coronavirus disease-2019

Table 1. Frequency distribution of scabies according to years and quarters

	Number of outpatients	Quartiles of a year					P
		Total	Q1	Q2	Q3	Q4	
2019	Scabies/all outpatients	769/81787	130/20215	120/18863	192/21480	327/21229	<0.001*, **
	Scabies percentage	0.94%	0.64%	0.64%	0.89%	1.54%	
2020	Scabies/all outpatients	782/40840	442/23676	154/8504	186/8660†	-	0.205
	Scabies percentage	1.91%	1.87%	1.81%	2.15%†	-	
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	-	

Q1: January-March, Q2: April-June, Q3: July-September, Q4: October-December, †The data are for the period between June 1 and September 15. Note that data are missing for the period of 15 days, which must be obtained by September 30 to complete the Q3. Pearson chi-square test was used. Pairwise comparisons (post-hoc) were performed using the z-test and Bonferroni correction was applied. Significant values were shown in bold. *: Adjusted p-value<0.05 for the difference between Q3 and Q1, 2, 4, **: adjusted p-value<0.05 for the difference between Q4 and Q1-3

decrease in the number of scabies patients together with all of the dermatologic patients in the early stages of the 1st and 2nd crisis periods and on the contrary an unusual increase in the rate of scabies. It was noticed that there was a gradual increase in the number of patients with scabies from the middle of the 1st crisis period to the end of the normalization period, but this was not always reflected in parallel with the rate of scabies. For this reason, it was thought that evaluating whether the rate of scabies showed an increasing tendency during the periods when the total number of dermatological patients stabilized, provided that each period was evaluated with its own internal dynamics, would allow us to make a more accurate inference. A closer look at Figure 1 showed that with the onset of the normalization process on June 1, a quite high and stable number of total patients was reached, albeit still lower than before the pandemic. It was noted that there was an increase in the number and rates of scabies patients after the first month of the normalization period. As seen in Figure 1, the upward trend in the frequency of scabies that emerged at the beginning of July, followed by the increase in the number of COVID-19 daily cases was interpreted as a remarkable detail. With the increase in the number of new COVID-19 cases in the country, it was observed that there was a sudden decrease in the number of patients applied to the outpatient clinic.

Table 2. Change in age, gender and age distribution of scabies patients in the last 2 years

	2019 (n=769)	2020† (n=782)	P
Age (median (interquartile range))	21 (23)	25 (25)	<0.001
Sex (male/female)	429/340	432/350	0.432
Change in the age distribution of scabies patients			
Infants (0-1)	51 (6.6%)	22 (2.8%)	<0.001
Preschool children (2-6)	93 (12.1%)	42 (5.4%)	<0.001
School children (7-14)	118 (15.3%)	86 (11.0%)	0.015
Young adults (15-44)	375 (48.8%)	465 (59.4%)	<0.001
Middle-aged persons (45-65)	91 (11.8%)	128 (16.4%)	0.019
Aged persons (65+)	41 (5.3%)	39 (5.0%)	0.784
Data were expressed as median (interquartile range) or the number of patients (percentage). Mann-Whitney U and Pearson chi-square tests were used. Significant values were shown in bold. †Data is from January 1 to August 15. Note that 3.5 months of data is missing by 31 December. Note: Since the repeated applications of follow-up and control patients are excluded while preparing this table, percentages of scabies may differ slightly from the graphs			

DISCUSSION

Scabies is an important global health problem due to the susceptibility of all age, race, gender, and socioeconomic groups to the disease, and severe itching that impairs the quality of life (7). Contamination results from direct skin contact. However, mites can survive on the inanimate objects for 24-36 hours under ordinary room conditions, and it is accepted that mites during this period can be transmitted indirectly from clothes, beds, etc. (8).

In studies reported from our country in recent years, it has been reported that the incidence of scabies has got an increasing trend (9,10). Besides, we found that the increase in the frequency of scabies encountered in outpatient clinics in the 4th quarter of the last year gained momentum and increased from 0.42% to 1.54% from 2017 to 2019 (5). Sunderkötter et al. (11) similarly reported that the frequency of scabies has increased surprisingly in Germany in recent years and they are concerned about possible permethrin resistance. In the present study, both the number and rate of patients with scabies in the first quarter of 2020 were 2 times more than in the same period of the last year. It was understood that the pre and post-pandemic periods in 2020 were statistically similar, but with a higher frequency of scabies compared to 2019, indicating that the frequency of scabies, which increased in 2019, have not tended to decrease in 2020.

We have no data on the number or rate of scabies patients applying to primary health care centers or family medicine, though it is a fact that during the pandemic, applications to all healthcare departments have decreased. In the 2nd and 3rd quarters corresponding to the post-pandemic period, a total of approximately 40,000 and 17,000 patients were examined in 2019 and 2020, respectively (Table 1). This extreme difference in the number of patients applied to the hospital due to the effect of the pandemic caused unusual fluctuations in the number and rate of patients with scabies shown in Figure 1. The extraordinary decreases in the number of patients during the 1st and 2nd crisis

periods, when the number of COVID-19 daily cases increased fast, have caused the reverse effect on the rates of scabies patients. Following the unusual decrease in the number of cases with the announcement of the pandemic, the number of scabies cases gradually increased for about 3.5 months. This suggests that many scabies patients did not apply to the outpatient clinics due to the shock created by the pandemic. In a publication from Spain (12), it was reported that the frequency of scabies in the same period of the last five years (March-May) increased significantly in 2020. Policies such as social distance and “stay at home” and restricted social activities to prevent the spread of COVID-19, most probably were responsible for reduced transmission of scabies. However, it was claimed that minor outbreaks have arisen within each family group during home confinement, therefore, it is essential for patients with scabies to reach proper treatment (12).

This study was compatible with the finding from Spain (12). However, we think that interpreting the effect of the pandemic on the frequency of scabies only by comparing it to the previous years may be incomplete and/or inaccurate. Indeed, we found that there was no statistically significant difference in scabies rates between the three quarters of 2020. In such extraordinary situations, the change in the frequency of a disease in hospital-based studies does not always indicate the incidence. Various reasons such as the effect of the relevant disease on the quality of life, the desire not to interrupt treatment, and the perception of risk can also change the diagnostic distribution in the outpatients (2). Since the sum of changes in the distribution of other diseases will reflect on the frequency of scabies, it could be misleading to explain the comparison results of crisis periods and normal periods only with incidence. So, it might be also misleading to reveal the changes in the frequency of scabies during the pandemic period with hospital-based research. Even so, reasons such as the lack of any evidence and expectation that the frequency of scabies decreased during the pandemic, increased transmission within the family, and fewer presentations than expected shall suggest that we may encounter a sudden increase in the frequency of scabies, especially after overcoming the pandemic. We think that the two-month normalization process we have experienced is a small rehearsal of our claim. As seen in Figure 1, although the number of patients applying to outpatient clinics after the first month of the normalization process was stable, there was a notable increase in the frequency of scabies. It is noteworthy that in such a period when social distance rules are more relaxed, the number of COVID-19 daily cases began to re-increase shortly after the increase in the frequency of scabies. Besides, the significant decrease in the frequency of patients in the 0-14 age group compared to the previous year suggested that the treatment of pediatric patients was delayed. We are concerned that scabies, already quite common, could cause an outbreak after the re-opening of schools closed due to the pandemic. In the literature, there are reports of scabies outbreaks in preschool and school-age childhood (13,14).

Study Limitations

The most important limitations of this study are its retrospective structure and the absence of data on applications to primary health care centers. The results of our study are not generalizable although they are guiding.

CONCLUSION

It was determined that the applications for scabies to polyclinics after the pandemic were too low compared to previous periods, especially in school-age children, and showed an increasing trend over time. Cases with scabies that reach treatment late or not due to the pandemic may cause an outbreak, especially with the opening of schools aftermath the COVID-19. Family physicians and dermatologists should be awake in this regard. However, studies with higher levels of evidence are needed on this subject.

* Ethics

Ethics Committee Approval: This single-center cross-sectional study was approved by the Ethics Committee of Regional Training and Research Hospital, Erzurum, Turkey (decision no: 2020/120-190), and the Ministry of Health Scientific Research Platform (application form number: 2020-10-01T13_14_47). It was performed according to the tenets of the latest version of the "Helsinki Declaration" and "Guidelines for Good Clinical Practice".

Informed Consent: No patient consent was needed, providing names and citizenship numbers were anonymized by the IT team and with the approval of the ethics committee.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: Ç.T., N.M., Concept: Ç.T., Design: Ç.T., Data Collection or Processing: Ç.T., N.M., Analysis or Interpretation: Ç.T., Literature Search: Ç.T., N.M., Writing: Ç.T., N.M.

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. Rudnicka L, Gupta M, Kassir M, Jafferany M, Lotti T, Sadoughifar R, et al. Priorities for global health community in COVID-19 pandemic. *Dermatol Ther* 2020; 33: e13361.
2. Turan Ç, Metin N, Utlu Z, Öner Ü, Kotan ÖS. Change of the diagnostic distribution in applicants to dermatology after COVID-19 pandemic: What it whispers to us? *Dermatol Ther* 2020; 33: e13804.
3. Gao C, Liu B, Xie Y, Wu Z. Change of dermatological practice after the COVID-19 outbreak resolves. *J Dermatolog Treat* 2020: 1-3.
4. Nair PA, Vora RV, Jivani NB, Gandhi SS. A Study of Clinical Profile and Quality of Life in Patients with Scabies at a Rural Tertiary Care Centre. *J Clin Diagn Res* 2016; 10: WC01-WC5.
5. Turan Ç, Metin N, Utlu Z. Epidemiological Evaluation of Scabies Cases Encountered in the Last Three Years as a Tertiary Health Center. *Türkiye Parazitol Derg* 2020; 44: 77-82.
6. COVID-19 Coronavirus Pandemic. Worlometers website. Updated Oct 25, 2020. (cited 2020 Oct 30). Available from: URL: <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
7. Tarbox M, Walker K, Tan M. Scabies. *JAMA* 2018; 320: 612.
8. Falay T, Gürel MS. Uyuz. *Türkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics* 2017; 10: 143-53.
9. Çetinkaya Ü, Sahin S, Ulutabanca RÖ. Kayseri İlinde Scabies ve Pediculosis Epidemiyolojisi [The Epidemiology of Scabies and Pediculosis in Kayseri]. *Türkiye Parazitol Derg* 2018; 42: 134-7.
10. Aktaş H, Cebecik A. Changes in incidence and age distribution of scabies: A retrospective cohort study in a tertiary hospital. *Arch Clin Exp Med* 2019; 4: 21-4.
11. Sunderkötter C, Aebischer A, Neufeld M, Löser C, Kreuter A, Bialek R, et al. Increase of scabies in Germany and development of resistant mites? Evidence and consequences. *J Dtsch Dermatol Ges* 2019; 17: 15-23.
12. Martínez-Pallás I, Aldea-Manrique B, Ramírez-Lluch M, Manuel Vinuesa-Hernando J, Ara-Martín M. Scabies outbreak during home confinement due to the SARS-CoV-2 pandemic. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2020; 34: e781-e3.
13. Weigl JAI. Fallhäufungen von Skabies an Schulen und Einsatz von Ivermectin [Outbreaks of Scabies in Schools and Use of Ivermectin]. *Gesundheitswesen* 2018; 80: 360-4.
14. Kaburi BB, Ameme DK, Adu-Asumah G, Dadzie D, Tender EK, Addeh SV, et al. Outbreak of scabies among preschool children, Accra, Ghana, 2017. *BMC Public Health* 2019; 19: 746.

Enterobius vermicularis Saptanan Olguların Dışkılarında PZR Yöntemi ile Dientamoeba fragilis Varlığının Araştırılması

Investigation of Dientamoeba fragilis Frequency in Faecal Samples of Patients with Enterobius vermicularis Infection by Polymerase Chain Reaction

İbrahim Yıldız¹, Sema Ertuğ¹, Evren Tileklioğlu¹, Erdoğan Malatyalı¹, Özgür Güçlü², Hatice Ertabaklar¹

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

²Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Üniversitesi, Sultanhisar Meslek Yüksek Okulu, Aydın, Türkiye

Cite this article as: Yıldız İ, Ertuğ S, Tileklioğlu E, Malatyalı E, Güçlü Ö, Ertabaklar H. Investigation of Dientamoeba fragilis Frequency in Faecal Samples of Patients with Enterobius vermicularis Infection by Polymerase Chain Reaction. Türkiye Parazitol Derg 2021;45(3):195-200.

ÖZ

Amaç: Dientamoeba fragilis (D. fragilis), amip benzeri morfolojiye sahip, gastrointestinal yerleşimli, kamçılı bir protozondur. Parazitin Enterobius vermicularis (E. vermicularis) yumurtalarıyla taşındığı hipotezi kabul görmektedir. Çalışmamızda D. fragilis ve E. vermicularis birlikteliğini incelemek, bulunan D. fragilis'lerin genotiplerini belirlemek ve D. fragilis tanısında yaygın olarak kullanılan trikrom boyama ile polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemlerini karşılaştırmak amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmamızda Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Laboratuvarı'na 1 Ekim 2017-1 Ekim 2018 tarihleri arasında dışkı ve selofan lam örneği birlikte gönderilmiş toplam 391 olgu örneği incelenmiştir. Selofanlı lam örneklerinde E. vermicularis saptanan tüm gönüllü olguların (74 olgu) dışkı örneği ile E. vermicularis negatif 74 olgunun dışkı örneği çalışılmıştır. Tüm dışkıları trikrom boyama ve PZR yöntemleri ile D. fragilis varlığı açısından incelenmiştir. Saptanan D. fragilis izolatlarının 18S ribozomal RNA bölgesi sekanslanmıştır. Olguların demografik özellikleri ve kliniği değerlendirilmiştir.

Bulgular: Toplam 148 olgunun 42'sinde (%28,37) D. fragilis saptanmıştır. D. fragilis pozitif olan 42 olgunun %66,6'sını E. vermicularis pozitif olgular oluşturmuş ve iki parazitin birlikteliği anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Sekanslanan tüm izolatlar genotip 1 olarak saptanmıştır. Klinik bulgular, yaşanan bölge ve cinsiyet ile parazit varlığı arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (p>0,05).

Sonuç: Araştırmamızda D. fragilis'in sıklıkla E. vermicularis ile birliktelik gösterdiği ve bu olgularda D. fragilis varlığına ayrıca dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Yanlış sonuçları engellemede, yüksek duyarlılığa sahip PZR gibi yöntemlerin önemi bir kez daha görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Dientamoeba fragilis, PZR, Enterobius vermicularis, trikrom

ABSTRACT

Objective: Dientamoeba fragilis (D. fragilis) is a flagellated protozoan with an amoeba-like morphology, located in the gastrointestinal tract. The hypothesis was that the parasite was transported by Enterobius vermicularis (E. vermicularis) eggs. This study aimed to determine the association of D. fragilis and E. vermicularis with the genotypes of the identified strain of D. fragilis. Results of trichrome staining were compared with those of polymerase chain reaction (PCR), which is widely used in the diagnosis of D. fragilis.

Methods: A total of 391 samples were obtained. The stool and cellophane slide samples were sent together to the Parasitology Department Laboratory, Faculty of Medicine, Aydın Adnan Menderes University, between 1 October 2017 and 1 October 2018. Stool samples of all patients with E. vermicularis (n=74) and without E. vermicularis (n=74) infection were used. All samples were examined for the presence of D. fragilis by trichrome staining and PCR. The 18S ribosomal RNA region of D. fragilis isolates was sequenced. Demographic characteristics and clinical findings of the patients were evaluated.

Results: D. fragilis was detected in 42 (28.37%) of 148 samples; 28 (66.6%) of them were detected in patients with E. vermicularis infection. The coexistence of two parasites was significant (p<0.05). All isolates sequenced were genotype 1. No significant relationship was found between the presence of parasites and clinical findings, living area and gender (p>0.05).

Conclusion: D. fragilis is frequently associated with E. vermicularis, so the presence of D. fragilis should be also considered in affected patients. The use of high-sensitivity molecular methods such as PCR is important in preventing false results.

Keywords: Dientamoeba fragilis, PCR, Enterobius vermicularis, trichrome

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

Yazar Adresi/Address for Correspondence: İbrahim Yıldız, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Tel/Phone: +90 256 213 7839 25 **E-Posta/E-mail:** dr.ibrahimyildiz@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-8525-6280

GİRİŞ

İntestinal yerleşimli protozoonlar arasında yer alan *Dientamoeba fragilis* (*D. fragilis*), 5-15 µm boyutlarında olup dışkı örneklerinde sıklıkla trofozoit formunda saptanmaktadır. Dünya çapında kozmopolit bir dağılım göstermektedir (1). Parazit 1918 yılında apatojen bir amip türü olarak tanımlanmıştır. Ancak, yıllar içerisinde yapılan detaylı morfolojik ve genetik çalışmalar sonucu parazitin evrimsel olarak kamçıli trikomonadlar grubunda yer aldığı ortaya konulmuştur. Enfeksiyon olguların çoğunda asemptomatik olarak geçirilmekte, semptomatiklerde ise iştah kaybı, ishal, konstipasyon ve bulantı-kusma gibi non-spesifik gastrointestinal bulgular görülebilmektedir (2).

Tanımlanmasının üzerinden yüzyıldan fazla zaman geçmiş olmasına karşın *D. fragilis*'in kist formunun varlığı kesin olarak saptanamamıştır. Yapılan güncel çalışmalarda parazitin kist formunun da bulunduğu ancak dışkı örneklerinde sıklıkla trofozoit formunun görüldüğü belirtilmektedir. Trofozoit formunun ise dış ortam koşullarına son derece dayanıksız olduğu göz önüne alındığında fekal-oral bulaşta rolünün olmadığı öngörülmektedir. *Dientamoeba fragilis*'in bulaşının *Enterobius vermicularis* (*E. vermicularis*) yumurtaları ile taşınan trofozoitler aracılığıyla olduğu hipotezi, halen araştırmacılar tarafından kabul gören en yaygın görüştür (3).

D. fragilis'in kesin tanısı, karakteristik nükleer yapının boyanmamış dışkı örneklerinde görülebilmesi nedeniyle kalıcı boyama yöntemlerini gerektirmektedir. Parazitin dış ortama oldukça dayanıksız yapısı, değişken bir morfolojiye sahip oluşu, deneyimli laboratuvar çalışanına gereksinim duyulması parazitin kalıcı boyalı preparatlarla da sıklıkla tanısının atlanmasına neden olmaktadır ve son yıllarda moleküler yöntemlerin bu parazitin tanısındaki popülaritesi artmıştır (2). *D. fragilis* varlığının saptandığı olgular tüm kıtalarda birçok ülkeden bildirilmiş olmakla beraber gelişmiş ülkelerden bildirilen çalışmalar gelişmekte olanlara oranla daha fazla olduğu dikkati çekmektedir (4,5). Parazitin görülme sıklığının bildirildiği çok sayıda çalışma literatürde yer almaktadır. Ancak, bu çalışmalarda kullanılan yöntemlerin farklı olması nedeniyle oranlar büyük farklılık gösterebilmektedir (%0,2-82). Ayrıca, diğer bağırsak parazitlerinin aksine gelişmiş ülkelerde daha yüksek görülme sıklıkları rapor edilmiş olsa da bu farklılıkların güvenilirliği sınırlıdır, çünkü tanı yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllükleri büyük oranda değişiklik göstermektedir. Ayrıca çalışmaların tasarlanış şekilleri arasındaki farklılıklar da bildirilen oranlardaki büyük farklılıkların nedeni olabilir. Bunun yanı sıra, moleküler yöntemlerin kullanıldığı prevelans çalışmaları göz önüne alındığında; Avrupa, Amerika ve Orta Doğu ülkelerinde parazitin görülme sıklığının oldukça yüksek (>%20) olduğu rapor edilmiştir (5-7). Bu çalışmada öncelikle *D. fragilis* ile *E. vermicularis* birlikteliğinin araştırılması ve saptanan izolatların genotiplendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, *D. fragilis* olgularının demografik özelliklerinin ve klinik bulgularının değerlendirilmesi çalışmanın bir diğer amacını oluşturmaktadır.

YÖNTEMLER

Örnekler

Ekim 2017-Ekim 2018 arasında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Parazitoloji Laboratuvarı'na gönderilen 391 olguya ait rutin selofanlı lam ve dışkı örnekleri çalışmamız kapsamında değerlendirilmiştir. Selofanlı lam örneklerinde *E.*

vermicularis yumurtaları saptanan ardışık 74 olgunun dışkı örneği ile aynı tarih aralığında *E. vermicularis* saptanmayan 74 olguya ait dışkı örneği basit rastgele örnekleme metodu ile araştırmaya alınmıştır. Olgulara ulaşılarak bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatılmış ve gönüllüler çalışmaya alınmıştır. Gönüllü olan olgulara cinsiyet, yaş, semptomlar ve yaşanan yer bilgilerini kapsayan anket uygulanmıştır.

Direkt Mikroskopi, Boyama ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Çalışma kapsamına alınan 148 dışkı örneğinin tamamı trikrom boyama yöntemi ile boyanmış ve hazırlanan boyalı preparatlar 100X büyütme ile mikroskop altında *D. fragilis* açısından incelenmiştir. Ayrıca tüm dışkı örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış ve PZR yöntemi ile *D. fragilis* DNA'sının varlığı açısından incelenmiştir. QIAamp Fast DNA stool mini kit kullanılarak yapılan genomik DNA izolasyonu aşamasında kit prosedürü üretici firmanın bildirildiği şekilde uygulanmıştır. PZR yöntemi için DF400 (ileri 5'-TATCGGAGGTGGTAATGACC-3') ve DF1250 (geri 5'-CATCTTCCTCTGCTTAGACG-3') primerleri kullanılmıştır. Reaksiyon koşulları: ön denatürasyon 94 °C üç dk, 30 döngü (denatürasyon: bir dk 94 °C, annealing: 57 °C'de 1,5 dk ve elongasyon 72 °C'de iki dk), final uzama ise 72 °C'de 10 dk olarak uygulanmıştır.

Sekans Analizi ve Genotiplerin Belirlenmesi

Saptanan *D. fragilis*'ler alt tiplerinin belirlenmesi amacıyla ticari bir firmaya sekanslanması amacıyla gönderilmiştir. Basic local alignment search tool (BLAST) kullanılarak *D. fragilis* 18S rRNA sekansları Genbank'da yer alan mevcut sekanslar ile karşılaştırılmıştır. Analiz sonucunda sekansların tam veya en yüksek benzerliğe sahip oldukları alt tipler belirlenmiş ve evrim ağacı oluşturulmuştur. İzolatlar arasındaki genetik uzaklık ilişkisi 18S rRNA gen sekansları temel alınarak belirlenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Anket verileri SPSS for Windows 15.0 kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Parazitlerin birlikteliğini ve tanı yöntemlerini karşılaştırmak ayrıca demografik özellikler ve klinik bulgular ile parazit varlığı arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla ki-kare testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya 67'si kadın (%45,28), 81'i erkek (%54,72) toplam 148 gönüllü dahil edilmiş olup olguların yaş aralığı 1 ile 85 arasında (ortalama: 23,87±11,89) değişmektedir. Trikrom boyama yöntemi ile *E. vermicularis* pozitif 74 olgunun üçünde (%4), PZR ile ise 28 olguda (%37,8) *D. fragilis* pozitifliği belirlenmiştir. Trikrom boyama yöntemi ile kontrol grubundaki 74 olgunun birinde (%1,3), PZR ile 14'ünde (%18,9) *D. fragilis* pozitifliği görülmüştür (Tablo 1). İstatistiksel olarak *D. fragilis* ile *E. vermicularis*'in birlikteliğinin (Tablo 2) anlamlı olduğu saptanmıştır (p<0,05).

Genotiplendirme için basit rastgele örneklem metoduyla 26 izolat seçilerek bunların sekans analizi yapılmıştır. Sekanslanan tüm *D. fragilis* izolatları genotip 1 olarak saptanmıştır. Dizileme için gönderilen 26 örnek analiz edildiğinde 24 izolatın sekanslarının tamamen aynı olduğu belirlenmiştir ve bu dizi Genbank'a (referans no: AduDf14, erişim kodu: MN560149) kaydedilmiştir. Bunların dışındaki iki sekansın da birbiriyle aynı olduğu

saptanmış olup Genbank'a ayrı bir dizi olarak kaydedilmiştir (referans no: AduDf138, erişim kodu: MN560150). Çalışmamızda elde ettiğimiz AduDf14 ile genotip 1 arasında bir baz farklılık bulunmakta olup BLAST analizine göre iki sekans arasında %99,75 benzerlik saptanmıştır. AduDf138 olarak adlandırıldığımız diğer izolat genotip 1 ile karşılaştırıldığında ise %99,63 benzerlik ve iki baz farklılığı bulunmuştur. Çalışmamızdaki diziler genotip 2 ile karşılaştırıldığında benzerlik oranları AduDf14 için %95,01 ve AduDf138 için %94,89 olarak saptanmıştır. Sekanslanan tüm *D. fragilis* izolatları ve referans diziler filogenetik analiz için birlikte değerlendirilerek evrim ağacı oluşturulmuştur (Şekil 1). Elde edilen veriler ışığında sekanslanan 26 izolatın da genotip 1'e ait olduğu saptanmıştır.

Olguların yaşadıkları yer ve cinsiyetleri ile parazit varlığı arasında anlamlılık saptanamamıştır (Tablo 3). *D. fragilis* pozitifliği ile olguların semptomları arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Tablo 4).

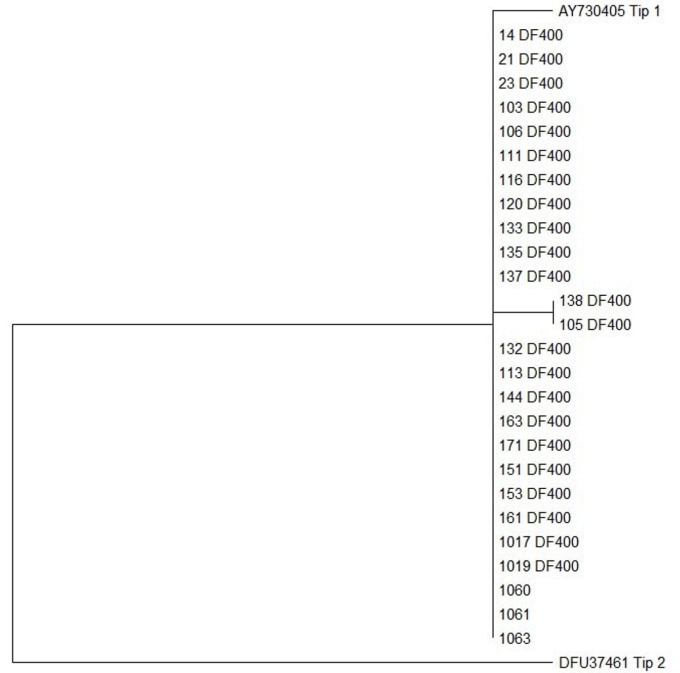
TARTIŞMA

İlk defa Jepps ve Dobell tarafından 20. yy başlarında klinik önemi olmayan bir amip olarak tanımlanan *D. fragilis*'in günümüzde insan kolonunda yerleşen kamçılı bir protozoon olduğu bilinmektedir. Morfolojik olarak amip benzeri bir yapıda ve 5-15 µm boyutlarında olan parazit, dışkı incelemelerinde çoğunlukla çift çekirdekli trofozoit formu ile görülmektedir. Parazitin tanımlanmasından itibaren geçen bir asırlık süre boyunca yapılan ileri genetik, immünolojik ve morfolojik incelemeler sonucunda *D. fragilis*'in filogenetik olarak trikomonad kamçılılar ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır (1,8). Son yıllarda yapılan kısıtlı sayıdaki çalışmada parazitin kist formunun saptandığı rapor edilmiş olsa da bu formun varlığı halen kesinlik kazanmamıştır. Kist formunun olabileceği görüşü bulaş yolu hakkında yeni fikirlerin ortaya çıkmasına neden olsa da parazitin *E. vermicularis* yumurtalarıyla fekal-oral olarak kişiden kişiye bulaştığı hipotezi araştırmacılar tarafından kabul edilen en yaygın görüş olarak varlığını sürdürmektedir. Dış ortam şartlarında canlılığını kısa sürede kaybeden *D. fragilis* trofozoitlerinin bir nematod olan *E.*

vermicularis yumurtaları içerisinde korunarak mide asidinden geçtiği ve bağırsaklara ulaştığı yaygın olarak kabul edilmektedir (8). Cerva ve ark. (9) iki parazitin birlikteliğini araştırdıkları çalışmalarında 414 apendiks örneğini incelemiştir. İncelenen apendiks kesitlerinde *D. fragilis* %4,8, *E. vermicularis* ise %8,7 oranında pozitif bulunmuştur. Ayrıca iki parazitin birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Nematod yumurtalarının *D. fragilis* bulaşındaki rolünü araştıran Ockert, saflaştırdığı *E. vermicularis* yumurtalarını oral yoldan alarak *D. fragilis* ile kendisini enfekte etmiştir (10). Tanı yöntemi olarak PZR'nin seçildiği 2012-2017 tarihleri arasında Avusturya'da gerçekleştirilen araştırmada *D. fragilis* pozitif 163 olgunun retrospektif incelemesinde olguların %23,3'ünün eş zamanlı olarak *E. vermicularis* ile de enfekte olduğu görülmüştür (11). Ülkemizde iki parazitin birlikteliğinin incelemek amacıyla üç gün ard arda dışkı ve selofan bant örneği alınan olgularda, *D. fragilis* ve *E. vermicularis* birlikteliğinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0,05$) bildirilmiştir (12). Yaptığımız çalışmada *E. vermicularis* negatif olgulardan oluşan kontrol grubundaki 74 olgunun 14'ü (%18,91) ve çalışma grubundaki *E. vermicularis* ile enfekte 74 olgunun 28'i (%37,83) *D. fragilis* varlığı açısından pozitif bulunmuştur. Kontrol grubundaki (*E. vermicularis* negatif) olgularda *D. fragilis* saptanma oranı *E. vermicularis* pozitif olguların yarısı kadar olup saptanan değer istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) çıkmıştır. Aynı parazitlerin birlikteliğinin incelendiği diğer çalışmalar ile bulgularımız benzerlik göstermektedir.

Tablo 1. Tanı yöntemlerinin karşılaştırılması		
<i>Enterobius vermicularis</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i>	
Selofan bant	PZR	Trikrom
Pozitif (n=74)	Pozitif n=28 (%37,84)	Pozitif n=3 (%4,05)
	Negatif n=46 (%62,16)	Negatif n=71 (%95,95)
Negatif (n=74)	Pozitif n=14 (%18,91)	Pozitif n=1 (%1,35)
	Negatif n=60 (%81,09)	Negatif n=73 (%98,65)

PZR: Polimeraz zincir reaksiyon



Şekil 1. Genotip 1 (AY30405) ve genotip 2 (DFU37461) ile elde edilen AduDf14 ve AduDf138 dizilerinin evrimsel uzaklıkları

Tablo 2. <i>Enterobius vermicularis</i> ile <i>Dientamoeba fragilis</i> birlikteliğinin değerlendirilmesi								
<i>E. vermicularis</i>								
Pozitif (n=74), negatif (n=74)								
		Sayı	%	Sayı	%	Toplam	χ^2	p
<i>D. fragilis</i>	Pozitif	28	66,66	14	33,34	42	6,515	0,010
	Negatif	46	43,40	60	56,60	106	-	-

Tablo 3. Yerleşim yeri ve cinsiyet ile *Dientamoeba fragilis* varlığı arasındaki ilişki

		<i>Dientamoeba fragilis</i> Pozitif (n=42), negatif (n=106)						
		Sayı	%	Sayı	%	Toplam	χ^2	P
Cinsiyet	Kadın	17	40,48	50	47,17	67	0,544	0,460
	Erkek	25	59,52	56	52,83	81	-	-
Yerleşim	İl	12	28,57	34	32,09	46	-	-
	İlçe	12	28,57	46	43,39	58	5,205	0,074
	Köy	18	42,86	26	24,52	44	-	-

Tablo 4. Semptomlar ile *Dientamoeba fragilis* varlığı arasındaki ilişkinin karşılaştırılması

		<i>Dientamoeba fragilis</i> Pozitif (n=42), negatif (n=106)						
Semptom		Sayı	%	Sayı	%	Toplam	χ^2	p
Kaşıntı		12	21,05	45	78,05	57	1,139	0,237
Karın ağrısı		12	40	18	60	30	2,500	0,113
İştah kaybı		10	21,27	37	78,73	47	1,709	0,191
Gaz		8	33,33	16	66,66	24	0,346	0,556
Bulantı-kusma		6	33,33	12	66,66	18	0,247	0,618
Kabızlık		3	50	3	50	6	1,438	0,230
İshal		2	16,66	10	83,33	12	0,881	0,347
Kilo kaybı		2	15,38	11	84,62	13	1,183	0,276

Farklı ülkelerde yapılan genotiplendirme çalışmalarında saptanan *D. fragilis* izolatlarının sıklıkla genotip 1'e ait olduğu göze çarpmaktadır. Geniş kapsamlı bir genotiplendirme çalışmasında *D. fragilis* ile enfekte olguların dışkı örneğinden parazit DNA'sı elde edilmiş ve SSU rRNA analiziyle *D. fragilis* genotipleri belirlenmiştir. Çalışmaya 30'u Avustralya, 19'u Brezilya, 37'si İtalya ve 25'i Danimarka'da ikamet eden toplam 111 olgunun dışkı örneği dahil edilmiş ve bunların 110'ununda saptanan *D. fragilis*'lerin genotip 1'e ait olduğu belirlenmiştir (13). Asemptomatik 126 olgunun incelendiği 2015 tarihli Brezilya merkezli araştırmada 19 örnekte *D. fragilis* DNA'sı saptanmış ve yapılan sekans analizinde tüm izolatların genotip 1'e ait olduğu belirlenmiştir (14). Genotiplendirme konusunda yapılan birçok çalışmaya benzer şekilde bizim araştırmamızda da sekans analizi yaptığımız tüm *D. fragilis* izolatları genotip 1 olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda genotip 2'nin daha nadir saptanması sebebiyle bu alt tipi yakalayabilmek amacıyla örneklem büyüklüğünün yapılacak ileri tarihli çalışmalarda genişletilmesi gerektiği düşünülmüştür. *D. fragilis*'in patojenitesi hakkında da farklı görüşler mevcuttur. Bulunduğu konakta sıklıkla asemptomatik olarak varlığını sürdürmesi parazitin apatojen olabileceği veya apatojen alt tiplerinin bulunabileceği fikrini ortaya çıkartmıştır. Vietnam'da klinik bulguları olan 180 olgu ile sağlıklı 88 olgunun dışkısı *D. fragilis* DNA'sının varlığı açısından real-time PZR ile incelenmiş, asemptomatik olguların %2,3'ünde, semptomatiklerin ise %2,1'inde *D. fragilis* DNA'sının saptandığı rapor edilmiştir. *D. fragilis* pozitifliği ile klinik bulgular arasında anlamlı bir ilişki istatistiksel olarak saptanamamıştır (15).

Hollanda'da gastrointestinal sistem yakınmaları olan 132 olgu ile sağlıklı 77 olgu dışkısında real-time PZR ile *D. fragilis* varlığı araştırılmış, sağlıklı olgularda semptomatiklere kıyasla parazitin daha yüksek oranda saptandığı bildirilmiştir (sırasıyla:

%50,6 ve %43,2). Çalışmada ayrıca klinik bulgular ile parazit varlığı arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı vurgulanmıştır (16). Benzer şekilde çalışmamızda da *D. fragilis* pozitifliği ile semptomlar arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p>0,05$). Bulgularımız bu konuda yapılan diğer çalışmalarla benzerlik gösterse de çalışmamızdaki olguların tıp fakültesi hastanesine değişik yakınmalarından dolayı başvuran hastalardan oluşması ve *D. fragilis* varlığından bağımsız olarak olguların tümünün en az bir klinik bulgu göstermesi, *D. fragilis* pozitifliği ile klinik bulgular arasında anlamlı bir ilişki saptanamamasının sebebi olabileceği düşünülmüştür.

Ülkemizde boyama yöntemleri ile *D. fragilis* varlığının araştırıldığı çalışmalarda parazitin prevalansı %0,2 ile %9 oranlarında değişen oranlarda rapor edilmiştir (17,18). Örneklem seçiminde araştırmamıza benzerlik gösteren bir çalışmada Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Laboratuvarı'na gönderilen 400 dışkı örneğinin %8,8'inde *D. fragilis* saptandığı bildirilmiştir (19). Yaptığımız bu çalışmada trikrom boyama metoduyla *D. fragilis* varlığını araştırdığımız 148 dışkının %2,7'sinde parazit trofozoitleri görülmüş olup bu konuda ülkemizde yayınlanan diğer veriler ile bulduğumuz oran benzerlik göstermektedir. Ancak *D. fragilis* varlığının araştırıldığı yöntem olarak PZR baz alındığında bildirilen oranlar yükselmektedir. Kurt ve ark. (20) 156 sağlıklı olgudan aldıkları dışkı örneğini PZR ile *D. fragilis* DNA'sının varlığı açısından incelemiş ve gönüllülerin %26,9'unda parazit DNA'sının saptandığını bildirmişlerdir. Olguların sağlıklı gönüllülerden oluşmasına rağmen saptanan yüksek pozitiflik oranı dikkati çekmiştir (20). İzmir'de moleküler yöntemlerin kullanıldığı bir diğer araştırmada 292 olgu dışkısında PZR metodu ile *D. fragilis* DNA'sı araştırılmış ve örneklerinin %18,2'sinde beklenen boyutta bant saptanmıştır (21). Çalışmamıza dahil edilen örneklerde *D. fragilis* varlığı PZR ile araştırıldığında örneklerin %28,37'sinde

D. fragilis DNA'sının olduğu görülmüştür. Bulduğumuz oranın yapılan diğer çalışmalara oranla görece fazla çıkmasının nedeni olarak, çalışılan örneklerinin yarısının *E. vermicularis* pozitif olgulardan elde edilmesinden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Sadece *E. vermicularis* negatif olgular baz alındığında 74 olgunun %18,9'unda PZR ile *D. fragilis* varlığı saptanmış olup bu oran İzmir'de 2010 yılında gerçekleştirilen çalışma ile yakın benzerlik göstermektedir. Tanıda farklı metotların birlikte uygulandığı çalışmalarda, kullanılan tanı yöntemine göre saptanan *D. fragilis* oranlarının bariz olarak değiştiği dikkat çekmektedir. Real-time PZR, geleneksel PZR ve trikrom boyama yöntemlerinin karşılaştırıldığı araştırmada Sivcan ve ark. (22) 121 olgunun dışkı örneğini *D. fragilis* varlığı açısından incelemiştir. Parazitin varlığını saptamada, real-time PZR ile 13 (%10,7), PZR ile 7 (%5,7) ve trikrom boyama ile iki (%1,7) olgunun dışkısında *D. fragilis* saptandığı bildirilmiştir (22).

SONUÇ

Laboratuvar tanısında sıklıkla boyama ve kültür yöntemleri kullanılan *D. fragilis*'in nativ-lugol gibi direkt mikroskopik yöntemler altında tespit edilmesi oldukça güçtür. Moleküler tekniklerin gelişmesi, kolay ulaşılabilir ve uygulanabilir olmasıyla birlikte *D. fragilis* tanısında bu tekniklerin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Çalışmamızda *D. fragilis*'in sıklıkla *E. vermicularis* pozitif olgulara eşlik edebileceği görülmüş ve bu olgularda *D. fragilis* varlığının araştırılması gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca rutin uygulamada tanısı sıklıkla atlanabilen bir protozoon olan *D. fragilis*'in tanısında yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip PZR, real-time PZR gibi moleküler yöntemlerin yanlış sonuçları önlemek amacıyla kullanılmasının yararlı olabileceği düşünülmüştür. Asemptomatik ve farklı bulgulara sahip semptomatik olguların tümünde saptanan *D. fragilis* suşlarının aynı genotipe sahip olması, *D. fragilis*'in patojen ve apatojen farklı genotiplerinin olabileceğini düşündürmekte ve bu konuyla ilgili yapılacak yeni çalışmaların gerekliliğini göstermektedir.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dekanlığı Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (2017/1218).

Hasta Onayı: Çalışmamız kapsamında dışkı ve selofan bant örneği kullanılan tüm olgulara çalışma kapsamında bilgi verilmiş ve "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" doldurtturularak onayları alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

* * Yazarlık Katkıları

Konsept: İ.Y., E.M., H.E., Dizayn: S.E., E.M., Ö.G., H.E., Veri Toplama veya İşleme: İ.Y., E.T., E.M., Analiz veya Yorumlama: İ.Y., Ö.G., H.E., Literatür Arama: İ.Y., S.E., Yazan: İ.Y., H.E.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: ÖYP tez bütçesi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Windsor JJ, Johnson EH. *Dientamoeba fragilis*: the unflagellated human flagellate. Br J Biomed Sci 1999; 56: 293-306.

2. Stark D, Barratt J, Chan D, Ellis JT. *Dientamoeba fragilis*, the Neglected Trichomonad of the Human Bowel. Clin Microbiol Rev 2016; 29: 553-80.
3. Garcia LS. *Dientamoeba fragilis*, One of the Neglected Intestinal Protozoa. J Clin Microbiol 2016; 54: 2243-50.
4. Barratt JL, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. A review of *Dientamoeba fragilis* carriage in humans: several reasons why this organism should be considered in the diagnosis of gastrointestinal illness. Gut Microbes 2011; 2: 3-12.
5. Incani RN, Ferrer E, Hoek D, Ramak R, Roelfsema J, Mughini-Gras L, et al. Diagnosis of intestinal parasites in a rural community of Venezuela: Advantages and disadvantages of using microscopy or RT-PCR. Acta Trop 2017; 167: 64-70.
6. Yakoob J, Jafri W, Beg MA, Abbas Z, Naz S, Islam M, et al. *Blastocystis hominis* and *Dientamoeba fragilis* in patients fulfilling irritable bowel syndrome criteria. Parasitol Res 2010; 107: 679-84.
7. Holtman GA, Kranenberg JJ, Blanker MH, Ott A, Lisman-van Leeuwen Y, Berger MY. *Dientamoeba fragilis* colonization is not associated with gastrointestinal symptoms in children at primary care level. Fam Pract 2017; 34: 25-9.
8. Girginkardeşler N, Kurt Ö. Dientamoebiosis. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. 1. baskı. İzmir: Meta Basım 2007. p. 415-6.
9. Cerva L, Schrottenbaum M, Kliment V. Intestinal parasites: a study of human appendices. Folia Parasitol (Praha) 1991; 38: 5-9.
10. Ockert G. Zur Epidemiologie von *Dientamoeba fragilis* Jepps et Dobell, 1918. 2. Versuch der Übertragung der Art mit Enterobius-Eiern [Epidemiology of *Dientamoeba fragilis* Jepps and Dobell, 1918. 2. Attempt at species transfer with Enterobius eggs]. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol 1972; 16: 213-21.
11. Menéndez C, Fernández-Suarez J, Boga Ribeiro JA, Rodríguez-Pérez M, Vázquez F, Gonzalez-Sotorrios N, Rodríguez-Guardado A. Epidemiological and clinical characteristics of *Dientamoeba fragilis* infection. Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed) 2019; 37: 290-5.
12. Girginkardeşler N, Kurt O, Kilimcioğlu AA, Ok UZ. Transmission of *Dientamoeba fragilis*: evaluation of the role of *Enterobius vermicularis*. Parasitol Int 2008; 57: 72-5.
13. Cacciò SM, Sannella AR, Bruno A, Stensvold CR, David EB, Guimarães S, et al. Multilocus sequence typing of *Dientamoeba fragilis* identified a major clone with widespread geographical distribution. Int J Parasitol 2016; 46: 793-8.
14. David ÉB, Guimarães S, de Oliveira AP, Goulart de Oliveira-Sequeira TC, Nogueira Bittencourt G, Moraes Nardi AR, et al. Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. Parasit Vectors 2015; 8: 103.
15. Ögren J, Van Nguyen S, Nguyen MK, Dimberg J, Matussek A. Prevalence of *Dientamoeba fragilis*, *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica/dispar*, and *Cryptosporidium* spp. in Da Nang, Vietnam, detected by a multiplex real-time PCR. APMIS 2016; 124: 529-33.
16. de Jong MJ, Korterink JJ, Benninga MA, Hilbink M, Widdershoven J, Deckers-Kocken JM. *Dientamoeba fragilis* and chronic abdominal pain in children: a case-control study. Arch Dis Child 2014; 99: 1109-13.
17. Mumcuoğlu I, Coşkun FA, Aksu N, Purnak T, Güngör C. İrrite Bağırsak Sendromunda *Dientamoeba fragilis* ve *Blastocystis* spp.'nin Rolü [Role of *Dientamoeba fragilis* and *Blastocystis* spp. in Irritable Bowel Syndrome]. Türkiye Parazit Derg 2013; 37: 73-7.
18. 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.
19. Girginkardeşler N, Coşkun S, Cüneyt Balcıoğlu I, Ertan P, Ok UZ. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. Clin Microbiol Infect 2003; 9: 110-3.

20. Kurt Ö, Okullu SÖ, Özen NM, Ünübol N, Cat S, Nurdağı ŞS, et al. *Dientamoeba fragilis* Dost mu, Düşman mı? İstanbul'dan farklı Kohortlara Ait Hasta ve Sağlıklı Bireylerle Yürütülen Bir Çalışma. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2020; 50: 244-9.
21. Yalçın ZG. İmmun yetmezliği olan ve olmayan ishalli hastalarda *Dientamoeba fragilis*'in görülme sıklığının araştırılması ve genotip profilinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2010, 127.
22. Sivcan E, Charyyeva A, Ceylan ŞS, Yürük M, Erdoğan E, Şahin İ. Gastrointestinal şikayeti olan hastalarda *dientamoeba fragilis* enfeksiyonu [*Dientamoeba fragilis* infection in patients with gastrointestinal system complaints]. Mikrobiyol Bul 2018; 52: 166-79.

Kistik Ekinokokkozisli Hastaların Takibinde Yeni Multiepitop Rekombinant Peptit Antijeninin Kist Sıvısı Antijeni ile Karşılaştırılması

Comparison of the New Multiepitope Recombinant Peptide Antigen with Cyst Fluid Antigen in the Follow-up of Patients with Cystic Echinococcosis

İD Eylem Akdur Öztürk¹, İD Mesut Akıl¹, İD Ayşe Caner¹, İD Halil Bozkaya², İD Nazmiye Altıntaş¹, İD Ayşegül Ünver¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

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

Cite this article as: Akdur Öztürk E, Akıl M, Caner A, Bozkaya H, Altıntaş N, Ünver A. Comparison of the New Multiepitope Recombinant Peptide Antigen with Cyst Fluid Antigen in the Follow-up of Patients with Cystic Echinococcosis. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):201-206.

ÖZ

Amaç: Çalışmada, kistik ekinokokkozisli (KE) hastaların takibi, enfeksiyonun prognozu ve tekrarlayan kistlerin mümkün olan en kısa sürede tespiti konularında değerlendirme imkanı sunulmaktadır. Ayrıca, yeni multiepitop rekombinant peptit (recDipol) antijeninin cerrahi veya perkütan aspirasyon enjeksiyon reaspirasyon işlemi uygulanan KE'li hastaların takibindeki performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmamızda, 28 KE hastasına ait toplam 137 kan örneği IgG-ELISA yöntemi ile, recDipol ve kist sıvısı (KS) antijenleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Hastalar eş zamanlı olarak girişimsel radyoloji bölümünde ultrasonografi ile nüks açısından kontrol edilmiştir.

Bulgular: Takip süreleri boyunca 28 takip hastasının seropozitivite oranları aylara göre değişkenlik göstermiştir. Bu hastaların operasyon sırasında alınan kan örnekleri incelendiğinde, 4'ünün (%14,28) KS-ELISA ile, 9'unun (%32,14) recDipol-ELISA ile seronegatif olduğu tespit edilmiştir. Tüm takip süresi boyunca seronegatif hasta sayısı ise KS-ELISA ile 1 (%3,5), recDipol ELISA ile 6 (%21,4) olarak kaydedilmiştir.

Sonuç: RecDipol ELISA ile hastalardan ilk tanıda ve tüm takip boyunca alınan kan örneklerinde belirlenen seronegatif hasta sayısının, KS-ELISA ile belirlenenden fazla olması, recDipol antijeninin hasta takibinde beklenen performansı göstermediği şeklinde değerlendirilmiştir. Çalışmada elde edilen bu sonuçlar, KE hastalarının tanısında ve takibinde altın standardın görüntüleme yöntemleri olduğu ve paralelinde tanı performansı geliştirilmiş rekombinant antijenlerle daha uzun süreli hasta takibinin yapılması gerektiği şeklinde yorumlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkozis, serolojik tanı, hasta takibi, kist sıvısı, multiepitop rekombinant peptit antijeni

ABSTRACT

Objective: The follow-up of patients with cystic echinococcosis (CE) offers the opportunity of evaluating the prognosis of the infection as well as detecting relapse. This study aimed to evaluate the performance of the new multiepitope recombinant peptide (recDipol) antigen in the follow-up of CE patients treated by surgery or percutaneous aspiration injection respiration.

Methods: A total of 137 blood samples from 28 patients were evaluated by IgG-ELISA method using recDipol and hydatid fluid (HF) antigens. The patients were simultaneously checked for recurrence by ultrasonography.

Results: The seropositivity rate of the 28 patients varied considerably during the follow-up. When the first blood of the patients was evaluated, 4 (14.28%) were seronegative by HF-ELISA and 9 (32.14%) were recDipol-ELISA. During the entire follow-up, only 1 (3.5%) and 6 (21.4%) patients were seronegative by HF-ELISA and recDipol ELISA, respectively.

Conclusion: We found that recDipol did not perform as expected in the follow-up due to the higher number of seronegative patients compared to HF-ELISA in the first blood and during the entire follow-up. Our results suggest that imaging methods are gold standards in the diagnosis and that, in parallel, longer-term patient follow-up is required with recombinant antigens that have an improved diagnostic performance.

Keywords: Cystic echinococcosis, serodiagnosis, follow-up, cyst fluid, multiepitope recombinant peptide antigen

Geliş Tarihi/Received: 06.01.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 02.02.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Eylem Akdur Öztürk, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
E-Posta/E-mail: akdureylem@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-4886-6175

GİRİŞ

Kistik ekinokokkozis (KE), *Echinococcus* cinsine ait sestodlardan *E. granulosus*'un larval formunun neden olduğu önemli bir halk sağlığı sorunu olarak bildirilmiştir (1-3). Kozmopolit bir dağılım gösteren KE, Antarktika kıtası hariç tüm kıta ülkelerinde görülmektedir (4). Enfeksiyon enfekte köpek, kurt gibi karnivorların dışkıyla atılan parazit yumurtalarının ara konak olan insan ve koyun, keçi, sığır, domuz gibi çiftlik hayvanları tarafından ağız yoluyla alınmasıyla meydana gelmektedir (3). Yumurtadan çıkan onkosferin bağırsak duvarını geçerek kan ya da lenf yoluyla farklı iç organlara yerleşmesi sonucunda hidatik kistler şekillenmektedir (5). Her tür organda tutulum gösterebilen hidatik kistler en çok karaciğer (%52-77), takiben akciğer (%10-40) ve nadiren diğer organ (%10) tutulumu göstermektedir (6). KE enfeksiyonunun öncelikli tanısının klinik bulgulara ve ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans görüntüleme gibi görüntüleme yöntemlerine dayandığı bildirilmiştir (7). Enfeksiyonun erken döneminde klinik bulgulara dayalı tanının zor olması nedeniyle KE tanısında standart bir yaklaşım olarak görüntüleme yöntemleri ile serolojinin birlikte kullanılması önerilmektedir (8).

KE enfeksiyonu ile ilgili yaşanan sorunlardan birinin de nüks ihtimali olduğu bildirilmiştir. KE hastalarında enfeksiyonun, cerrahi müdahale sonrası %2 ile %24, perkütan aspirasyon enjeksiyon reaspirasyon (PAIR) işlemi sonrası <%15 ve albendazol (ABZ) ile tedavi sonrası %25 oranında enfeksiyonun tekrarlama ihtimalinin bulunduğu belirtilmiştir (9-11).

Hasta takibi, tekrarlayan kistlerin en kısa sürede tespiti ve enfeksiyonun prognozunu değerlendirilmesine imkan sunduğu için giderek önem kazanmaktadır (12,13). Hasta takibinde ağırlıklı olarak görüntüleme yöntemleri kullanıldığı ancak bu yöntemlerle kistlerin canlılığının ve yeni gelişen kistlerin belirlenmesinde sorunlar yaşandığı bildirilmiştir. Bu nedenle hasta takibinde görüntüleme yöntemleri ile birlikte serolojik yöntemlerin kullanılmasının nüksün belirlenmesinde önemli olduğu belirtilmiştir (14).

Serolojik yöntemlerde temel antijenik kaynak olarak çoğunlukla kist sıvısı (KS) antijeni kullanılmaktadır. KS'nin laboratuvar ortamında üretilmemesinden dolayı, standardizasyonunun oldukça zor olduğu ve farklı laboratuvarlarda farklı sensitivite ve spesifite değeri verdiği bildirilmiştir (15,16). Ayrıca KS antijenine karşı oluşan antikorların uzun süre dolaşımda kalması bu antijenin hasta takibinde kullanımında dezavantaj oluşturmaktadır (17).

Hasta takibinde yaşanan bu sorunu gidermek amacıyla yapılan çalışmalarda, rekombinant antijenlere karşı üretilen spesifik antikor konsantrasyonlarının KS antijenine karşı üretilenlere oranla daha hızlı düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir (17-19).

Bu çalışmada, KE'li hastaların takibinde yeni multiepitop rekombinant peptit (recDipol) antijeninin KS antijeni ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

1. Çalışmada Kullanılan Serum Örneklerinin Toplanması

Çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde cerrahi veya PAIR işlemi uygulanan ve kist evresi bilinen hastalar dahil edilmiştir. Her bir hastanın bilgilendirilmiş onamları alınmıştır. Her

hastadan operasyon anında, operasyondan sonra 3. ay, 6. ay ve çalışma süresince 6'şar aylık periyodlarla 5 mL kan örneği alınmıştır. Bütün kan örneklerinin serumları ayrıldıktan sonra kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Hastaların takip süresince eş zamanlı olarak girişimsel radyoloji bölümünde nüks açısından USG ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. Antijenler

2.1. KS

KS antijeni için enfekte koyunların karaciğerinde bulunan hidatik kistler kullanılmıştır. Hidatik kist içeriği aseptik koşullarda aspire edildikten sonra protoskoleks varlığı açısından ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir. Kist içeriği, içerisindeki partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla 3,000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiş ve üst sıvı (KS) -20 °C'de saklanmıştır.

2.2. RecDipol

RecDipol antijeninin eldesinde immünohistokimyasal değeri olduğu bildirilen ve rekombinant olarak üretilmesi önerilen Ag5, AgB2 ve Ag5 antijenleri kullanılmıştır (20,21). Çalışmamızda AgB1, AgB2 ve Ag5 antijenlerinin en immünodominant epitoplarını içeren gen bölgelerinin pGEX-4T3 ekspresyon vektöründe sıralı klonlaması ile tek bir antijen (recdDipol) eldesi amaçlanmıştır.

RecDipol elde edilmesinde uygulanan tüm teknikler, Prof. Dr. Mar SilesLucas yönetiminde, IRNASA Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. RecDipol'un elde etme prosedürü, Sánchez-Ovejero ve ark. (22) tarafından yayınlanan makalede ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Yayınlanan çalışmadan farklı olarak çözünebilir proteinin saflaştırma aşamasında elektroelüzyon yerine Glutathione-Sepharose® 4B (GE healthcare, 17-0756-01) kullanılmıştır. Saflaştırılmış proteinin (recDipol) konsantrasyonu Bradford yöntemi ile değerlendirilmiştir.

3. ELISA Yöntemi

ELISA protokolünde, checkerboard titrasyon yöntemi ile farklı antikor, serum ve antijen konsantrasyonları kullanılarak optimal koşullar belirlenmiştir. ELISA plakaları (NUNC, A649246), phosphate buffered saline (PBS) ile seyreltilmiş antijenler (KS: 10 µL/mL, recDipol: 0,4 µg/mL) ile kaplanmış ve 4 °C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. Bloklama aşaması 15 dakika süreyle %5 kazein-PBS kullanılarak yapılmıştır. Bloklama çözümü ile 1:100 oranda serum seyreltme işlemi yapıldıktan sonra her bir serum çift çukur olacak şekilde plaklara aktarılmıştır. Plakalar, oda sıcaklığında plaka çalkalayıcı üzerinde 30 dakika süreyle inkübe edilmiş ve ardından 3 kez PBS ile yıkanmıştır. Konjuge aşamasında bloklama çözümü ile 2:11.000 oranında sulandırılan keçiden üretilen alkalin fosfat (AP112A, Merck) her bir çukura 100 µL olacak şekilde aktarılmıştır. Plaklar 30 dakika boyunca oda ısısında plaka çalkalayıcı üzerinde bekletildikten sonra 3 kez PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra 11 mL substrat çözümü [11 mL 4-diethylamino-2-butanol (DEAB-Merck 8.03116.1000)] + 0,011 gr p-nitrophenyl phosphate-(p-NPP-N4645 SIGMA) her çukura 100'er µL aktarılmıştır. ELISA plakaları renk değişimi gözlenene kadar oda ısısında ve karanlık ortamda bekletilmiştir. Kromojenik değişiklikler, ELISA plaka okuyucusunda (Bio-Tec/µQUANT, MQX200) 405 nm'de değerlendirilmiştir.

ELISA testinin sonuçları yorumlanırken her bir hastaya ait optik dansite (OD) değerinin kullanıldığı "serolojik indeks (SI)" formülünden faydalanılmıştır. (NK-S)/(NK-PK) x100 formülü kullanılarak SI hesaplanmıştır (NK: Negatif kontrol, PK: Pozitif

kontrol, S: Serum). NK olarak on sağlıklı bireye ait serumların (OD değeri 0,1-0,2 arasında olan) eşit oranda birleştirilmesiyle, PK olarak da on tane KE hastasına ait serumların (OD değeri 0,4-0,5 arasında olan) eşit oranda birleştirilmesiyle elde edilen havuz kullanılmıştır. Böylece OD değeriindeki test şartlarına bağlı değişimlerden etkilenmeden her plak kendi özelinde değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

ELISA testi değerlendirilirken eşik değer olarak SI olarak 50 değeri kabul edilmiştir. Bu SI eşik değeri Hernández-González ve ark. (19) tarafından ROC analizi kullanılarak hesapladıkları değer ile uyumludur. OD değerleri SI (50) ve üstü olan serumlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. SI değeri 50 ve üstü olan KE hastaları “gerçek pozitif”, SI değeri 50’nin altında değerlendirilen KE hastaları “yalancı negatif” olarak değerlendirilmiştir. RecDipol-ELISA ve KS-ELISA yöntemleri ile her bir hasta grubu arasındaki seropozitifliği karşılaştırmak için ki-kare testi ve performansını hesaplamak için t-testi kullanılmıştır. $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Etik Kurul Onayı

Çalışmamızda kullanılan materyallerin toplanması ve kullanılması Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 16-9.1/13 karar numarasıyla uygun bulunmuştur.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 28 takip hastasının 12’si (%48,85) erkek, 16’sı (%57,14) kadın hastadan oluşmaktadır. Hastalardan 15’inde (%53,57) tek kist yerleşimi görülürken 13’ünde (%46,42) çoklu kist bulunduğu görülmüştür. Birden fazla kist yerleşimi bulunan hastalarda karaciğer ve akciğer tutulumu birlikte görülmüştür. Ayrıca çoklu kisti bulunan hastalar aktif kistlerinin özelliklerine göre değerlendirilmiştir. Buna göre 28 takip hastasından 18’inin (%64,2) CE1, 8’inin (%28,57) CE2, 1’inin (%3,57) CE3A, 1’inin (%3,57) de CE3B evresine sahip olduğu kaydedilmiştir. Hidatik kistlerin organ yerleşimine göre dağılımları incelendiğinde 22 (%78,57) hastada KC yerleşimi görülürken 6 (%21,42) hastada AC veya diğer organ tutulumları gözlenmiştir.

Tablo 1. Takip süresi ve hasta sayısı

Takip süresi	6-11 ay	12-23 ay	24-36 ay	Toplam
Hasta sayısı (%)	1 (4)	7 (25)	20 (71)	28

28 takip hastasından 2’sinin cerrahi ya da PAIR işlemi öncesinde ve sonrasında ABZ tedavisi uygulanıp uygulanmadığı bilgisine ulaşamamıştır. Operasyondan önce 10 hastaya (%38,46) ABZ tedavisi uygulanmadığı, 16’sının (%61,53) ise değişen sürelerde ABZ kullandığı kaydedilmiştir. Operasyondan sonra ise 4 hastaya (%15,38) ABZ tedavisi uygulanmadığı, kalan 22 hastanın (%84,6) ise değişen sürelerde ABZ tedavi aldığı kaydedilmiştir.

RecDipol Antijenin Hasta Takibindeki Performansı

Çalışmamızda 28 takip hastasına ait toplam 137 serum örneği IgG-ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bu hastalar nüks açısından eş zamanlı olarak USG ile kontrol edilmiştir. Çalışmanın tez süresince yapılmasından dolayı önerilen sürede hasta takibi yapılamamış ve hastalar iyileşen iyileşmeyen diye gruplandırılmamıştır. Hasta sayısı ile takip süreleri Tablo 1’de özetlenmiştir.

28 takip hastasının tüm takip sürecince seropozitivite durumları oldukça değişkenlik göstermiş ve aylara göre seropozitivite oranı Tablo 2’de özetlenmiştir.

28 takip hastasının 4’ünün (%14,28) operasyon sırasında alınan ilk kan örnekleri HF-ELISA ile seronegatif olarak değerlendirilirken, bu hastalardan 3’ünün 3. ayda seropozitifite döndüğü görülmüştür. Bu açıdan recDipol-ELISA sonuçları değerlendirildiğinde 9 hastanın ilk kan örnekleri seronegatifken, bu hastalardan 3’ü takip eden aylarda seropozitif olarak değerlendirilmiştir.

Tüm takip boyunca seronegatif olarak değerlendirilen hasta sayısı recDipol-ELISA ile 6, KS-ELISA ile 1 olarak kaydedilmiş ve bu hastaların klinik özellikleri Tablo 3’te detaylı olarak verilmiştir. Çoklu kist yerleşimi görülen hastalar aktif kistlerinin özelliklerine göre değerlendirilmiştir.

Tüm takip süresince seronegatif olarak değerlendirilen hastalar dışında 5 (%17,85) hasta KS-ELISA ile 6 (%21,42) hasta ise recDipol-ELISA ile takip sonunda seronegatif olarak kaydedilmiştir. Bu hastalardan ikisi her iki antijenle de takip sonunda seronegatif olarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda hastaların seropozitivite durumu Tablo 4’te özetlenmiştir.

Takip sonunda seropozitif olarak değerlendirilen hasta sayısı KS-ELISA ile 22 (%78,57) iken recDipol-ELISA ile 16 (%57,17) olarak değerlendirilmiştir. 15 hasta takip sonunda her iki antijenle de seropozitif olarak değerlendirilirken bu hastaların hepsinin aktif kistleri KC yerleşimli olup 10’unda ise çoklu kist yerleşimi görülmüştür.

Takip boyunca seropozitif olarak değerlendirilen hastaların (biri hariç) SI değerleri takip süresince ya yakın değerlerde seyretmiş

Tablo 2. Yirmi sekiz takip hastasının aylara göre seropozitivite oranı

	Hasta sayısı (%)									
Test	KS-ELISA					RecDipol ELISA				
SI aralığı	200<	100-200	50-100	<50 (n)	Toplam (p)	200<	100-200	50-100	<50 (n)	Toplam (p)
0. gün (n=28) (%)	5 (17,8)	12 (42,8)	7 (25)	4 (14)	24 (85,7)	8 (28,5)	3 (10,7)	8 (28,5)	9 (32)	19 (67,8)
3.-5. ay (n=20) (%)	6 (30)	8 (40)	6 (30)	0 (0)	20 (100)	4 (20)	3 (15)	7 (35)	6 (30)	14 (70)
6.-11. ay (n=24) (%)	4 (16,6)	13 (54)	4 (16,6)	3 (12,5)	21 (87,5)	5 (20,8)	5 (20,8)	5 (20,8)	9 (37,5)	15 (62,5)
12.-17. ay (n=20) (%)	1 (5)	11 (55)	4 (20)	4 (20)	16 (80)	5 (25)	7 (35)	2 (10)	6 (30)	14 (70)
18.-23. ay (n=14)	0 (0)	5 (35,7)	5 (35,7)	4 (28,5)	10 (71)	2 (14)	3 (21)	1 (7)	8 (57)	6 (42,8)
24.-29. ay (n=17)	0 (0)	9 (52,9)	3 (17,6)	5 (29)	12 (70,5)	4 (23,5)	1 (5,8)	2 (11,7)	10 (58,8)	7 (41)
30.-36. ay (n=14)	2 (14)	6 (42,8)	4 (28,5)	2 (14)	12 (85,7)	2 (14)	2 (14)	5 (35,7)	5 (35,7)	10 (71,4)

SI: Serolojik indeks, N: Seronegatif, P: Seropozitif, RecDipol: Multiepitop rekombinant peptit

Tablo 3. Tüm takip boyunca KS ve recDipol-ELISA ile seronegatif olarak değerlendirilen hastaların klinik özellikleri

Seronegatif hasta sayısı	Kist sayısı	Kist yerleşimi	Kist büyüklüğü	Kist evresi	O.Ö. ilaç kullanımı	O.S. ilaç kullanımı
KS (1)	2	AC	O	CE1	Yok	2 ay
recDipol (6)	1	AC	O	CE1	Yok	1 ay
	1	AC	B	CE2	10 gün	1 yıl
	2	AC	O	CE1	1 hafta	Devam
	1	KC	B	CE1	Yok	1 ay
	1	KC	-	CE2	6 ay	Yok
	2	KC	B	CE2	Yok	6 ay

50 mm ≥/küçük (K), 50 mm < . <100 mm/orta (O), 100 mm ≤/büyük (B), O.Ö: Operasyondan önce, O.S: Operasyondan sonra, AC: Akciğer, KC: Karaciğer, RecDipol: Multiepitop rekombinant peptit

Tablo 4. Takip süresi sonunda hastaların seropozitivite durumu

Seropozitivite durumu	KS (%)	recDipol (%)
Tüm takip boyunca seronegatif hasta sayısı	1 (3,57)	6 (21,42)
Takip sonunda seronegatif olan hasta sayısı	5 (17,85)	6 (21,42)
Takip sonunda seropozitif olan hasta sayısı	22 (78,57)	16 (57,14)
Toplam	28	28

KS: Kist sıvısı, RecDipol: Multiepitop rekombinant peptit

veya kademeli azaldığı görülmüştür. Takip sırasında seropozitivite oranında KS-ELISA ile 5. ve 6. kontrollerde 2. grup kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı seviyede bir düşüş saptanırken ($p<0,05$), recDipol-ELISA ile de benzer bir durum saptanmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Grafik 1).

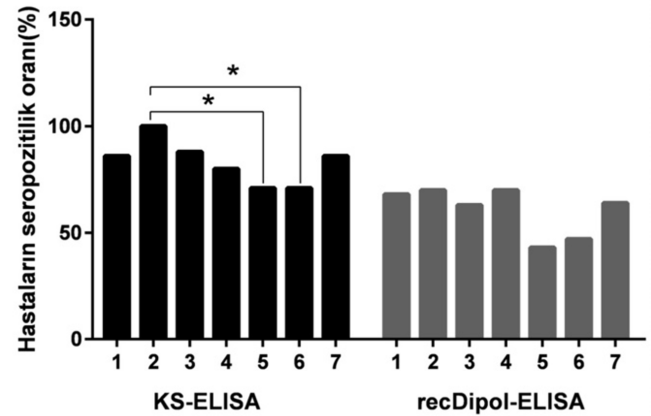
Üç yıl boyunca takibi yapılan ve PAIR işlemi sonrası 6 ay süresince ABZ tedavisi uygulanan bir hastanın son kontrol kanının SI değerinde her iki antijen kullanılarak yapılan ELISA'da artış görülmüştür. Hastanın son USG kontrolünde ise operasyon yerinde ya da başka bölgede yeni bir kist oluşumu görülmezken mevcut kistin kistin solifiye olduğu bildirilmiştir. Bu hastanın 3 yıl ELISA yöntemi ile takibi yapılan hastanın her iki antijen ile SI değerindeki değişime Grafik 2'de verilmiştir.

28 takip hastasının 16'sında (%57,17) KS-ELISA ile 15'inde (%53,57) recDipol-ELISA ile 3 ve/veya 6. aylarında SI değerlerinde artış gözlenmiştir.

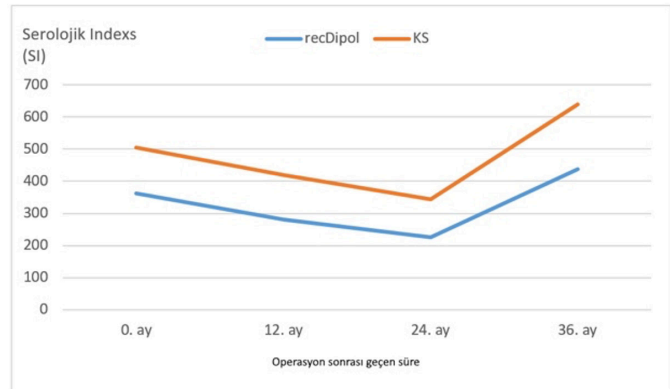
Hastaların operasyondan önce ve sonra ABZ kullanımının SI değerleri üzerine etkisi incelenmiştir. Operasyondan önce ABZ kullanmayan 10 hastadan 3'ünün operasyon sırasında alınan kan örneği KS-ELISA ile seronegatifken (2'si sonraki aylarda seropozitif), 4 hastanın da recDipol-ELISA ile seronegatif (1'inin sonraki aylarda seropozitif) olduğu görülmüştür.

Operasyondan sonrası ABZ tedavisi almayan 4 hastadan 3'ü takip sonunda her iki antijenle seropozitif olarak değerlendirilirken, kalan 1 hasta ise HF-ELISA ile seropozitif, recDipol-ELISA ile tüm takip boyunca seronegatif olarak kaydedilmiştir.

Operasyondan sonra değişen sürelerde ABZ tedavisi uygulanan 22 hastanın seropozitiflik durumu oldukça değişkenlik göstermiştir. Bu hastalardan 1'i tüm takip boyunca KS-ELISA ile seronegatifken, 4 hasta takip sonunda seronegatif ve 17 hasta da takip sonunda seropozitif olarak değerlendirilmiştir. Aynı

**Grafik 1.** KS-ELISA ve recDipol-ELISA ile hasta takiplerindeki seropozitiflik oranları

KS: Kist sıvısı, RecDipol: Multiepitop rekombinant peptit

**Grafik 2.** Takip sonunda serolojik indeks (SI) değeri yükselen hastanın aylara göre SI değerinin dağılımı

KS: Kist sıvısı, RecDipol: Multiepitop rekombinant peptit

hasta grubundan 5 hasta recDipol-ELISA ile tüm takip boyunca seronegatif değerlendirilirken, 5 hasta takip sonunda seronegatif, 12 hasta ise seropozitif olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca 25 takip hastasının girişimsel radyoloji bölümünde USG ile kontrolleri yapılmıştır (2 takip hasta USG kontrollerini dış merkezde gerçekleştirdiğini beyan etmiş, bir hasta ise takibini bıraktığı için bilgi alınamamıştır). Yirmi beş hastanın radyoloji bölümünde USG kontrollerinde operasyon yerinde ya da başka bölgede yeni bir kist oluşumu görülmezken işlem uygulanan kistlerin solifiye ya da kalsifiye olduğu bildirilmiştir.

TARTIŞMA

Çalışmamızda, cerrahi veya PAIR işlemi uygulanan 28 KE hastasının ELISA yöntemi ile yeni recDipol ve KS antijenleri kullanılarak çalışma süresince takibi yapılmıştır.

Tedavi edilen KE hastaların takibinde serolojik yöntemlerin yeri üzerine çalışmalar ve tartışmalar devam etmektedir. Ben Nouir ve ark.'nın (17) tedavi edilen 40 KE hastası ile yaptığı takip çalışmasında hastaların %38'i ELISA-recP29 ile %27'si immunoblotting- recP29 yöntemiyle tüm takip boyunca seronegatif olarak değerlendirilmiştir. Seronegatiflik gösteren hastaların tanısında ve takibinde serolojik yöntemlerin kullanılmasının uygun olmadığı ve bu hastaların görüntüleme teknikleri ile takibinin yapılması gerektiği bildirilmiştir (17). Stojkovic ve ark.'nın (23) yaptığı hasta takibinde ise rekombinant antijen ile seronegatif olarak değerlendirilen iki hastanın görüntüleme tekniği ile kontrolünde nüks hastası olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda ise 1 hasta (AC yerleşimi) KS-ELISA ile 6 hasta (3 KC ve 3 AC yerleşimli) ise recDipol-ELISA ile tüm takip boyunca seronegatif olarak değerlendirilmiştir. RecDipol-ELISA ile ilk kan örneğinde ve tüm takip boyunca seronegatif hasta sayısının KS-ELISA sonuçlarına oranla fazla olması bu antijenin sınırlılığı olarak değerlendirilmiştir.

Cerrahi operasyon sonrası görüntüleme teknikleri ile takibi yapılan ve operasyon bölgesinde veya başka yerleşim yerinde yeni bir kist oluşumu göstermeyen hastaların çoğunluğunun 5 yıl ve daha uzun sürede seronegatif olduğu bildirilmiştir (23).

Nüksü bulunmayan hastalarda takip süresi sonunda seronegatif olarak değerlendirilen hasta sayısı rekombinant antijenler ile daha fazla iken ilk tanı sırasında seronegatif hasta sayısının da KS antijenlerine oranla rekombinant antijenlerde daha fazla olduğu bildirilmiştir (23). Ben Nouir ve ark.'nın (17) tedavi uygulanan 40 KE hastası ile yaptığı takip çalışmasında 25 hastanın ilk tanı kan örneğinin recP29-ELISA ile pozitif değerlendirildiği ve 5 yıllık takip sonunda değişen sürelerde tamamının seronegatif olduğu bildirilmiştir. KS -ELISA ile bu hasta grubunun sadece %10'unun takip sonunda seronegatif olarak değerlendirildiği bildirilmiştir (17).

Çalışmamızda ise tüm takip süresince seronegatif olarak değerlendirilen hastalar dışında 5 (%17,85) hasta KS-ELISA ile 6 (%21,42) hasta ise recDipol-ELISA ile takip sonunda seronegatif kaydedilmiştir (SI>50). Hasta takibinde AC kisti bulunan hastaların KC kisti bulunanlara oranla antikor konsantrasyonun da daha hızlı azalma olduğu bildirilmiştir (24). Çalışmamızda takip süresinin kısıtlı olması ve takip sonunda seronegatif olan hasta sayısının az olması nedeniyle organ yerleşimi ve antikor titresinde azalma arasındaki ilişki değerlendirilememiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, KS-ELISA ile 22 (%78,57), recDipol-ELISA ile 16 (%57,17) hasta takip sonunda seropozitif olarak değerlendirilmiştir. Bu hastalardan 15'inin her iki antijenle takip süresi sonunda seropozitif olduğu görülmüştür. Takip süresinin kısıtlı olmasından dolayı pozitif hasta sayısının her iki antijenle fazla olduğunu düşünmekteyiz. Bu hasta grubunun aktif kistleri KC yerleşimli olup 10'unda birden fazla kist bulunmaktadır. Sonuçlarımız daha önce yapılan benzer çalışmalarda (19,25,26) belirtildiği gibi KC yerleşimli ve/veya birden fazla kisti bulunan hastalarda antikor seviyesinin yüksek olduğu bilgisini desteklemektedir. Ayrıca çoklu KC kisti bulunan bir hastanın takip sonunda her iki antijenle de SI değerinde artış

görülmüş ve nüks açısından şüpheli değerlendirilmiştir. Hastanın son USG kontrolünde ise operasyon yerinde ya da başka bölgede yeni bir kist oluşumu görülmezken işlem uygulanan kistlerin solifiye olduğu bildirilmiştir. Hasta kan sonuçları hakkında ve USG kontrollerine devam etmesi gerektiği konusunda bilgilendirilmiştir.

Hasta takibi üzerine yapılan bir çalışmada, recP29-ELISA ile başlangıçta seropozitif olarak değerlendirilen 25 hastadan %80'ninin işlem sonrası ilk 6 ayda IgG seviyelerinde artış görüldüğü bildirilmiştir (17). Bizim çalışmamızda ise 28 takip hastasının 16'sında (%57,17) KS- ELISA ile 15'inde de (%53,57) recDipol-ELISA ile 3. ve/veya 6. aylarda SI değerlerinde artış gözlenmiştir. Bu durumun KS antijeninin operasyon sırasında dolaşıma katılması ve immün sistemi tetiklemesinden kaynaklı olduğu bildirilmiştir (27). Çalışmamızda hastaların takip periyotları arasındaki seropozitivite oranları karşılaştırılmıştır. KS-ELISA ile 5. ve 6. kontrollerde görülen seropozitivite oranında 2. kontrole oranla azalma görülmüş olup bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu durum operasyon sırasında dolaşıma katılan KS antijenlerine karşı oluşan spesifik yanıtın operasyonu takip eden ilk aylarda arttığı, sonraki aylarda azalmaya başladığı açıklaması ile paralellik göstermektedir (27). Benzer durum recDipol-ELISA ile saptanmasına rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda ABZ kullanımı ve immün yanıt üzerine etkisi de değerlendirilmiştir. Ben Nouir ve ark. (17) cerrahi tedavi uygulanan 34 takip hastasından 12'sinin takip sonunda seronegatif olarak kaydedilmiştir. Aynı çalışmada cerrahi ve ABZ tedavisi birlikte uygulanan 6 hastanın tamamının takip sonunda seropozitif olduğu, bu farklılığın istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bulunmadığı bildirilmiştir (17).

Bizim sonuçlarımızda ise operasyon sonrası ABZ kullanmayan 4 takip hastasının (bir hasta recDipol-ELISA ile tüm takip boyunca seronegatif değerlendirilimesi dışında) hepsi takip sonunda her iki antijen ile de seropozitif olarak değerlendirilmiştir. Operasyondan sonra ABZ kullanan hastaların seropozitiflik durumu oldukça değişkenlik göstermiş olup sonuçlar bölümünde detaylandırılmıştır. Sonuçlarımıza göre ilaç kullanımı ile hasta takibi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

KE hastalarının serolojik takibinde uygun tanı aracı arayışı devam etmektedir. Çalışmamızda ELISA yöntemi ile *E. granulosus* spesifik IgG tespiti yapılmış olup IgE, IgM, IgG2 ve IgG4'ün kullanımın hasta takibinde faydalı olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca spesifik sitokinlerin ve sitokin seviyelerindeki değişimlerin belirlenmesinin hasta takibinde önemli bir potansiyele sahip olabileceği belirtilmiştir (16).

SONUÇ

Özetle, takip süresinin ve hasta sayısının kısıtlı olmasından dolayı recDipol'ün hasta takibindeki performansı hakkında tam bir değerlendirme yapılamamıştır. Ancak ilk KE tanısı konulduğunda hastalardan alınan kan örneğinde ve tüm takip boyunca seronegatif hasta sayısının KS-ELISA'dan fazla olması nedeniyle beklenen performansı göstermediği şeklinde yorumlanmıştır. Bu nedenle, daha fazla hasta ile uzun süreli serolojik ve radyolojik takibin KE hastalarının tanısında ve takibinde yararlı olacağı düşünülmektedir.

BİLGİLENDİRME

Bu çalışma “Kistik Ekinokokkozis”li Hastaların Tanı ve Takibinde Yeni Multiepitop Rekombinant Peptit Antijeninin Kist Sıvısı Antijeni ile Karşılaştırılması, İmmün Yanıtın Kistin Evreleri ve Parazitin Genotipiyle İlişkilendirilmesi” başlıklı tezi hasta takibi bölümünün yeniden yazımıdır.

TEŞEKKÜR

Çalışmamızın rekombinant antijen elde edilmesi bölümünde laboratuvar imkanlarını kullandığımız Sayın Prof. Dr. Mar Siles Lucas ve ekibine, hasta takibi bölümünde ilk tanı materyallerinin sağlanmasında desteklerini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Ömer Vedat Ünalp, Doç. Dr. Zafer Dökümcü ve Doç. Dr. Emre Divarçı'ya sonsuz teşekkürlerimizi iletiyoruz.

* Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışmamızda kullanılan materyallerin toplanması ve kullanılması Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 16-9.1/13 karar numarasıyla uygun bulunmuştur.

Hasta Onayı: Her bir hastanın bilgilendirilmiş onamları alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: H.B., Konsept: E.A.Ö., N.A., A.Ü., Dizayn: E.A.Ö., A.C., N.A., A.Ü., Veri Toplanma veya İşleme: E.A.Ö., M.A., H.B., Analiz veya Yorumlama: E.A.Ö., A.C., H.B., N.A., A.Ü., Literatür Arama: E.A.Ö., Yazan: E.A.Ö.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışmada, öğretim üyesi yerleştirme programı (ÖYP) kapsamında doktora tez araştırması için verilen 10.000 liralık burs kullanıldı.

KAYNAKLAR

- Altintas N. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Trop* 2003; 85: 105-12.
- Atkinson JA, Gray DJ, Clements AC, Barnes TS, McManus DP, Yang YR. Environmental changes impacting *Echinococcus* transmission: research to support predictive surveillance and control. *Glob Chang Biol* 2013; 19: 677-88.
- da Silva AM. Human echinococcosis: a neglected disease. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: 583297.
- Manciulli T, Mariconti M, Vola A, Lissandrin R, Brunetti E. Cystic Echinococcosis in the Mediterranean. *Curr Trop Med Reports* 2017; 4: 235-44.
- Engström ELS, Salih GN, Wiese L. Seronegative, complicated hydatid cyst of the lung: A case report. *Respir Med Case Rep* 2017; 21: 96-98.
- Akcam AT, Ulku A, Koltas IS, Izol V, Bicer OS, Kilicbagir E, et al. Clinical characterization of unusual cystic echinococcosis in southern part of Turkey. *Ann Saudi Med* 2014; 34: 508-16.
- Brunetti E, Kern P, Vuitton DA; Writing Panel for the WHO-IWGE. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop* 2010; 114: 1-16.
- Siracusano A, Teggi A, Ortona E. Human cystic echinococcosis: old problems and new perspectives. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2009; 2009: 474368.
- Kabaalioglu A, Ceken K, Alimoglu E, Apaydin A. Percutaneous imaging-guided treatment of hydatid liver cysts: do long-term results make it a first choice? *Eur J Radiol* 2006; 59: 65-73.
- Smego Jr RA, Bhatti S, Khaliq AA, Beg MA. Percutaneous aspiration-injection-reaspiration drainage plus albendazole or mebendazole for hepatic cystic echinococcosis: a meta-analysis *Clin Infect Dis* 2006; 59: 65-73.
- Stojkovic M, Zwahlen M, Teggi A, Vutova K, Cretu CM, Virdone R, et al. Treatment response of cystic echinococcosis to benzimidazoles: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; 3: e524.
- Boubaker G, Gottstein B, Hemphill A, Babba H, Spiliotis M. Echinococcus P29 antigen: molecular characterization and implication on post-surgery follow-up of CE patients infected with different species of the *Echinococcus granulosus* complex. *PLoS One* 2014; 9: e98357.
- Brunetti E, Junghanss T. Update on cystic hydatid disease. *Curr Opin Infect Dis* 2009; 22: 497-502.
- Ben Nour N, Nuñez S, Gianinazzi C, Gocci M, Müller N, Nouri A, et al. Assessment of *Echinococcus granulosus* somatic protoscolex antigens for serological follow-up of young patients surgically treated for cystic echinococcosis. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1631-40.
- Nouri NB, Nuñez S, Frei E, Gocci M, Müller N, Gianinazzi C, et al. Post-surgical follow-up (by ELISA and immunoblotting) of cured versus non-cured cystic echinococcosis in young patients. *Parasitology* 2008; 135(Pt 1): 105-14.
- Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ, Müller N. Laboratory Diagnosis of *Echinococcus* spp. in Human Patients and Infected Animals. *Adv Parasitol* 2017; 96: 159-257.
- Ben Nour N, Gianinazzi C, Gocci M, Müller N, Nouri A, Babba H, et al. Isolation and molecular characterization of recombinant *Echinococcus granulosus* P29 protein (recP29) and its assessment for the post-surgical serological follow-up of human cystic echinococcosis in young patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2009; 103: 355-64.
- Li J, Zhang WB, McManus DP. Recombinant antigens for immunodiagnosis of cystic echinococcosis. *Biol Proced Online* 2004; 6: 67-77.
- Hernández-González A, Muro A, Barrera I, Ramos G, Orduña A, Siles-Lucas M. Usefulness of four different *Echinococcus granulosus* recombinant antigens for serodiagnosis of unilocular hydatid disease (UHD) and postsurgical follow-up of patients treated for UHD. *Clin Vaccine Immunol* 2008; 15: 147-53.
- Carmena D, Benito A, Eraso E. Antigens for the immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection: An update. *Acta Trop* 2006; 98: 74-86.
- Virginio VG, Hernández A, Rott MB, Monteiro KM, Zandonai AF, Nieto A, et al. A set of recombinant antigens from *Echinococcus granulosus* with potential for use in the immunodiagnosis of human cystic hydatid disease. *Clin Exp Immunol* 2003; 132: 309-15.
- Sánchez-Ovejero C, Akdur E, Manzano-Román R, Hernández-González A, González-Sánchez M, Becerro-Recio D, et al. Evaluation of the sensitivity and specificity of GST-tagged recombinant antigens 2B2t, Ag5t and DIPOL in ELISA for the diagnosis and follow up of patients with cystic echinococcosis. *PLoS Negl Trop Dis* 2020; 14: e0008892.
- Stojkovic M, Adt HM, Rosenberger K, Boubaker G, Hernandez-Gonzalez A, Junghanss T, et al. Follow-up of surgically treated patients with cystic echinococcosis: can novel recombinant antigens compete with imaging? Analysis of a patient cohort. *Trop Med Int Health* 2017; 22: 614-21.
- Gönlügür U, Gönlügür TE, Akkurt İ. Kist Hidatik Tanısında Serolojik Testlerin Değeri. *Akciğer Arşivi* 2004; 158-61.
- Pagnozzi D, Addis MF, Biosa G, Roggio AM, Tedde V, Mariconti M, et al. Diagnostic Accuracy of Antigen 5-Based ELISAs for Human Cystic Echinococcosis. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0004585.
- Santivañez SJ, Arias P, Portocarrero M, Rodriguez S, Gonzalez AE, Gilman RH, et al. Serological diagnosis of lung cystic hydatid disease using the synthetic p176 peptide. *Clin Vaccine Immunol* 2012; 19: 944-7.
- Zarzosa MP, Orduña Domingo A, Gutiérrez P, Alonso P, Cuervo M, Prado A, et al. Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 35: 255-62.

Kistik Ekinokokkozis ile İlgili 2017 ve 2018 Yılları Laboratuvar Sonuçları

Laboratory Results of Cystic Echinococcosis in 2017 and 2018

✉ Oktay Alver, ✉ Ayşe Melda Payaşlıoğlu, ✉ Cüneyt Özakin, ✉ Sema Esen

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Cite this article as: Alver O, Payaşlıoğlu AM, Özakin C, Esen S. Laboratory Results of Cystic Echinococcosis in 2017 and 2018. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):207-210.

ÖZ

Amaç: Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkez Hastanesi'ne kistik ekinokokkoz (KE) şüphesiyle başvuran hastalarda indirekt hemaglutinasyon (IHA) test sonuçlarının geriye yönelik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Merkezimizin seroloji laboratuvarında serum örnekleri ticari Cellognost® echinococcosis IHA (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) testi ile üretici firmanın önerdiği prosedüre göre çalışılmıştır. IHA testinde $\geq 1:64$ serum titreleri pozitif olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: Çalışmada KE şüpheli 1,072 hastanın 213'ünde (%19,9) IHA yöntemi ile seropozitiflik saptanmıştır. Seropozitiflik saptanan hastaların 120'si (%56,3) kadın, 93'ü (%43,7) erkek olarak belirlenmiştir. Her iki cinstede en fazla pozitiflik oranı 20-29 yaş grubunda (kadınlarda %22,5, erkeklerde %14,1) grubunda elde edilmiştir.

Sonuç: KE'nin ülkemizde olduğu gibi ilimizde de halk sağlığı sorunu olarak önemini koruduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkoz, IHA, Bursa, Türkiye

ABSTRACT

Objective: This study aimed to retrospectively examine the indirect haemagglutination (IHA) test results of patients suspected of cystic echinococcosis (CE) and admitted to Bursa Uludağ University Health Practice and Research Center Hospital.

Methods: Serum samples in the serology laboratory of our hospital were evaluated using the commercial Cellognost® echinococcosis IHA (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) test based on the manufacturer's recommendations. In the IHA test, $\geq 1:64$ serum titres were accepted as positive.

Results: Seropositivity was determined in 213 (19.9%) of 1,072 patients suspected of having CE by the IHA method. Of the patients with seropositivity, 120 (56.3%) were female and 93 (43.7%) were male. The highest positivity rate in both sexes was found in patients aged 20-29 years (22.5% in women; 14.1% in men).

Conclusion: The results indicate that CE maintains its importance as a public health problem in Bursa as in Turkey.

Keywords: Cystic echinococcosis, IHA, Bursa, Turkey

GİRİŞ

Kistik ekinokokkoz (KE) *Echinococcus granulosus*'un (*E. granulosus*) larval formlarınca (metasestod) oluşturulan sestod enfeksiyonudur. KE dünyanın her yerinde özellikle tarım ve hayvancılığın yaygın olduğu toplumlarda daha sık görülen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Köpek ve köpekgillerin kesin konak olduğu bu parazit için, insanlar tesadüfi ara konak durumundadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre *E. granulosus* prevalans oranlarının Güney Amerika, Doğu Avrupa, Rusya, Orta Doğu ve Çin'de yıllık 50/100,000 kişi/yıl olacak kadar yaygın görülmektedir. Güney Amerika'daki hayvan kesim yerlerinden (mezbağa)

%20-95 arasında olacak şekilde yüksek prevalans oranları bildirilmektedir (1). Ülkemizde hastalığın insidansının 2/100,000, prevalansının ise 50/100,000 olduğu bildirilmektedir (2). Tarıma dayalı ekonomi, düşük sosyo-ekonomik durum, bölgenin iklimi ve kontrolsüz ve sağlıksız hayvan kesimi gibi faktörler insidansı artırmaktadır. KE enfeksiyonları gelişmekte olan ülkelerde sadece morbidite ve mortaliteye neden olmakla kalmayıp aynı zamanda sosyo-ekonomik kayıplara da neden olmaktadır (3). İnsanlarda hastalık sıklıkla karaciğer ve akciğerlerde yavaş büyüyen kistlerle karakterizedir. Başlıca klinik özellikleri sağ üst kadranda ağrısı, ağrılı hepatomegalidir. KE kistleri

Geliş Tarihi/Received: 08.03.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 15.04.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Oktay Alver, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye
Tel/Phone: +90 224 295 03 22 **E-Posta/E-mail:** oktayalver@uludag.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-5559-3590

enfekte veya rüptüre olabilir ve anafilaktik reaksiyona neden olabilir. Tanı klinik şüpheye bağlıdır. Klinik tanı genel (sistemik) semptomlar ve larvanın yerleşim yeri veya organına bağlı olarak lokal semptomlara dayanarak iki şekilde konulmaktadır. Kistler spontan olarak iyileşebilirken, bağışıklığı baskılananlarda klinik olarak çok daha ciddi seyredebilmektedir (4). Çalışmada Güney Marmara'da üçüncü basamak hastane olarak hizmet veren Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkez Hastanesi'ne 2017 ve 2018 yıllarında KE şüphesiyle başvuran hastalarda KE yaygınlığını tespit etmeye yönelik hastaların serumlarında çalışılan indirekt hemaglutinasyon (IHA) test sonuçlarının geriye yönelik olarak irdelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Bu çalışmaya, 2017 ve 2018 yıllarında Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkez Hastanesi'ne başvuran KE şüpheli 594'ü (%55,4) kadın, 478'i (%44,6) erkek olmak üzere toplam 1,072 hastaya ait serum örnekleri dahil edilmiştir. Serum örnekleri seroloji laboratuvarında ticari Cellognost® echinococcosis IHA (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany) testi ile üretici firmanın önerdiği prosedüre göre çalışılmıştır. IHA testinde $\geq 1:64$ serum titreleri pozitif olarak kabul edilmiştir. Hastalara ait veriler hastane kayıt sisteminden geriye dönük olarak taranarak alındığı ve muayene materyalleri sadece klinisyenlerden gelen istekler doğrultusunda incelendiğinden yerel etik kurul onayı alınmamıştır.

İstatistiksel Analiz

Bağımlı değişken olarak IHA serum titresinin $\geq 1:64$ olma durumu, bağımsız değişken olarak; cinsiyet durumu, kadın ve erkek olarak ele alınmıştır. Bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenlere göre farklı olup olmaması ki-kare trend ve Mantel Haenszel testi ile analiz edilmiştir. Tüm istatistiksel analizlerde $p < 0,05$ varlığı anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmada KE şüpheli 1,072 hastanın 213'ünde (%19,9) IHA yöntemi ile seropozitiflik saptanmıştır. Seropozitiflik saptanan hastaların 120'si (%56,3) kadın, 93'ü (%43,7) erkek olarak belirlenmiştir. Yaş aralıkları pozitiflikleri bakımından kadın ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0,523$). Her iki cinsten de en fazla pozitiflik oranı 20-29 yaş grubunda (kadınlarda %22,5, erkeklerde %14,1) grubunda elde edilmiştir (Tablo 1).

Genel cerrahi kliniği en fazla IHA testi istemi yapılan ($n=226$, %21,1) ve en fazla test pozitifliği saptanan ($n=96$, %42,5) klinik olarak belirlenmiştir. Hastane kayıt sisteminde IHA testi pozitifliği saptanıp da organ yerleşiminin belirtildiği 183 olgunun 156'sında (%85,2) ve 9'unda (%4,9) sırasıyla tek başına karaciğer ve akciğer, 10'unda (%5,5) ise karaciğer ve akciğer birlikte yerleşimi saptanmıştır (Tablo 2).

TARTIŞMA

KE özellikle hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı ve koyun etinin yoğun tüketildiği gelişmekte olan ülkelerde ciddi morbidite ve mortaliteye neden olan insan sağlığı için önemli bir sağlık problemidir. KE olgularının çoğunluğu yıllarca asemptomatik

olarak kalmakta ve patognomonik bulguların bulunmaması nedeniyle tanısı günümüzde sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle sıklıkla tanısı konulamamakta ve sadece komplikasyonlar ortaya çıktığında veya şans eseri konulmaktadır. İnsanlarda KE karaciğer ve akciğerler başta olmak üzere iç organlardaki KE kistlerinin uzun süreli büyümesi ile karakterize kronik bir hastalıktır. KE her 100,000 kişide %2-4 mortalite oranlarıyla ciddi ve yaşamı tehdit eden komplikasyonlarla seyretmektedir

Tablo 1. Pozitiflik saptanan hastaların yaş dağılım aralığının cinsiyete göre dağılımı

Yaş aralığı (N*,%**)	Kadın n (%)	Erkek n (%)
0-9 yaş (168, 15,7)	6 (3,6)	7 (4,2)
10-19 yaş (187, 17,5)	24 (12,8)	25 (13,3)
20-29 yaş (71, 6,6)	16 (22,5)	10 (14,1)
30-39 yaş (120,11,2)	24 (20,0)	14 (11,7)
40-49 yaş (139,12,9)	23 (16,5)	10 (7,2)
50-59 yaş (159, 14,8)	12 (8,1)	17 (11,4)
60 yaş ve üzeri yaş (228, 21,3)	15 (6,6)	10 (4,4)
Toplam (1,072)	120 (11,2)	93 (8,7)
Ki-kare (Breslow-Day)	5,163	-
p	0,523	-

*Test istemi yapılan hasta sayısı, **Test istemi yapılan hasta sayısının genel toplamdaki oranı

(5,6). KE enfeksiyonlarının tanısında ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans gibi radyolojik görüntüleme yöntemleri önemli yer tutmaktadır. Ancak serolojik testler birçok hastalıkla çapraz reaksiyonları sonucu düşük duyarlık ve özgüllüğü nedeniyle tanının onaylanmasında kullanılmaktadır (7,8). Bununla beraber seroloji görüntüleme testlerinin yetersiz olduğu durumlarda önemli katkı sağlayabilmektedir. Serolojik

Tablo 2. IHA pozitifliği saptanan olgularda organ yerleşiminin dağılımı*

Yerleşim yeri	N (%)
Karaciğer	156 (85,2)
Karaciğer + akciğer	10 (5,5)
Akciğer	9 (4,9)
Karaciğer + dalak	2 (1,1)
Torakal vertebra	2 (1,1)
Karaciğer + femur	1 (0,55)
Akciğer + vertebra	1 (0,55)
Dalak	1 (0,55)
Torakolomber vertebra	1 (0,55)
Toplam	183 (100)

*IHA pozitifliği saptanan toplam 213 hastadan organ yerleşimi belirtilen 183'ü değerlendirmeye alınmıştır. IHA: indirekt hemaglutinasyon

tanıda kullanılan testlerin duyarlılık ve özgüllüğünün kistin yapısı, bulunduğu yer, büyüklüğü, canlılığı, kişinin bağışıklığı, kullanılan antijenin özelliklerine ve hazırlanma şekli ve kullanılan yöntemle göre değiştiği bildirilmiştir (9). Serolojik testlerin duyarlılığının

karaciğer kistlerinde %88-96, akciğer kistlerinde %50-56, diğer organlarda %25-26 arasında değiştiği bildirilmektedir (10). En sıklıkla kullanılan serolojik testler spesifik IgG antikorlarını saptayan IHA, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), indirekt flüoresan antikor (IFA) ve immüno-blotlama testleridir (11-14). IHA testi, hasta serumunda anti-ekinokok antikorlarının aranmasını hedefleyen test olup KE tanısında uygulama kolaylığı, kısa sürede sonuç vermesi, pahalı laboratuvar gereçleri gerektirmemesi ve güvenilir bir yöntem olması nedeniyle tercih edilmektedir (12,15,16). IHA testinin gerek tanı gerekse tedavinin izlenmesinde önemli bir yerinin olduğu postoperatif dönemde cerrahi tedavinin etkinliğini izlemek için kullanıldığı bilinmektedir. Kalsifiye veya akciğer lezyonlarında %60, periton sıvısı veya karaciğer hastalığında IHA testi ile %88 duyarlılık özgüllüğün %90-95 arasında değiştiği bildirilmektedir (17,18). Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde IHA testinin duyarlılığının %65-90, özgüllüğünün ise %97,5-100 arasında değiştiği bulunmuştur (19,20). Çiftçi ve ark. (21) Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 2010-2014 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen ve IHA testi çalıştıkları 879 hasta serum örneğinin 221'inde (%25,1) seropozitiflik bildirmişlerdir. Tüzemen ve ark. (22) Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne 20/08/2008-31/12/2016 yılları arasında başvuran KE şüpheli toplam 3,676 hastanın 660'ında (%17,95) IHA yöntemi ile seropozitiflik saptadıklarını rapor etmişlerdir. Öztürk ve ark. (23) koyun ve insan KE'den elde edilen antijenleri kullanarak hazırladıkları ELISA ile duyarlılığı %85,7-89,2, özgüllüğü %95-100; IFAT ile %75 ve %96,2 olarak saptamışlar ve ticari olarak alınan IHA kiti ile paralel sonuçlar elde ettiklerini belirtmişlerdir (24). Kayseri'de 2,242 kişi üzerinde yapılan seroepidemiolojik bir çalışmada; ELISA ve IFAT ile %2,72, Western blot yöntemiyle %0,94 seropozitiflik saptanmıştır (24). Çetinkaya ve ark. (25) Kayseri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı'na Haziran 1999-Temmuz 2010 tarihleri arasında KE ön tanısı ile başvuran 1,556 hastanın üç yöntemden en az biri (IHA, IFAT, Western Blot) ile anti-*E. granulosus* antikorları saptanan 353 (%22,7) hastayı pozitif olarak değerlendirilmiştir. Aynı araştırmacılar antikor pozitifliği açısından kadın (%61,5) ve erkekler (%38,5) arasındaki farkın anlamlı olduğunu ifade etmişlerdir (X^2 : 7,851, $p=0,003$). Türkiye'de yapılan birçok çalışmada da benzer şekilde kadınlarda hastalığın daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (21,26-28). Ancak Tüzemen ve ark. (22) Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne 20/08/2008-31/12/2016 yılları arasında erkeklerde (%43,48), kadınlardan (%56,52) daha fazla seropozitiflik bildirilmiştir (22). Bizim çalışmamızda da literatürle benzer şekilde (21,26-28) kadınlarda (%56,3) daha yüksek oran bildirilmiştir ($p=0,523$). Bu durum hastalığın bulaşında rol oynayan risk faktörleri ile kadın ve erkeklerin daha fazla karşılaşp karşılaşmamaları ile ilişkilendirilebilir. Ülkemizde literatür incelendiğinde hastalığın en sık 40-60 yaş grubunda görüldüğü bildirilmiştir (21). Bu çalışmada ise heriki cinsten de en fazla seropozitiflik 20-29 yaş grubunda saptanmıştır ($p=0,523$). Bu durumda cinsiyette olduğu gibi bu yaş grubunun hastalığın bulaşında rol oynayan risk faktörleri ile karşılaşp karşılaşmamaları ile ilişkilendirilebilir Karaman ve ark. (28) Kars'ta yaptıkları bir çalışmada hasta örneklerini manuel olarak hazırladıkları IHA ve ticari IFA testi kullanarak değerlendirmişler ve her iki yöntemle %34,6 seropozitiflik belirlediklerini bildirmişlerdir (28). Delibaş ve ark.

(29) İzmir'de yaptıkları bir çalışmada inceledikleri 465 hastanın %17'sini ELISA ile %14'ünü ise IHA ile pozitif bulduklarını, her iki test ile hastaların sadece %12'sini pozitif bulduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda, 1,072 hastanın 213'ünde (%19,9) IHA yöntemi ile seropozitiflik saptanmış olup birçok çalışmayla benzer bulunmuştur. Bu çalışmada farklı kliniklerden gönderilen hastalar serolojik olarak değerlendirilmiş olup bu hastaların takiplerinin ilgili anabilim dalları tarafından yapıldığından bu bilgilere ulaşamamış olunması ve iki serolojik test yerine testin çalışılması çalışmamızın kısıtlılıkları olarak ifade edilebilir. KE yüksek oranda karaciğer ve akciğerde saptanmasına rağmen bazen diğer doku ve organlarda saptanabilmektedir. Hakverdi ve ark. (27) Çukurova Bölgesi'nde 10 yıllık periyotta 962 KE olgusunun 134'ünde (%13,9) karaciğer ve akciğer dışı lokalizasyon saptadıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada olguların %92,3'ünde (169/183) literatürle uyumlu olacak şekilde karaciğer kist lokalizasyonu saptanmıştır (Tablo 2).

SONUÇ

KE şüpheli 1,072 olguya ait IHA test sonuçlarını geriye dönük olarak değerlendirdiğimiz bu çalışmada %19,9 hastalık prevalans oranı saptanmıştır. Bu durum her ne kadar Bursa ilinin genelini yansıtmaya da günümüzde KE'nin önemli bir halk sağlığı sorunu olduğunu ve yol açtığı ekonomik kayıp nedeniyle güncelliğini koruduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle hastalığın eradikasyonuna yönelik yapılan çalışmaların (korunma ve kontrol programlarının uygulanması, kaçak hayvan kesimlerinin önlenmesi vb.) ilimizde de planlı bir şekilde yapılması ve toplumun bilinçlendirilmesi gerektiği kanısındayız.

*Etik

Etik Kurul Onayı: Hastalara ait veriler hastane kayıt sisteminden geriye dönük olarak taranarak alındığı ve muayene materyalleri sadece klinisyenlerden gelen istekler doğrultusunda incelendiğinden yerel etik kurul onayı alınmamıştır.

Hasta Onayı: Hastalara ait veriler hastane kayıt sisteminden geriye dönük olarak taranarak alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunda olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: O.A., Konsept: A.M.P., Dizayn: A.M.P., Veri Toplama veya İşleme: S.E., Analiz veya Yorumlama: C.Ö., Literatür Arama: O.A., Yazan: O.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA; Writing Panel for the WHO-IWGE. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Acta Trop 2010; 114: 1-16.
2. Işıtmangil T, Görür R, Yiğit N, Erdik O, Yıldızhan A, Fatih C. Evaluation of 308 cases patient surgically treated for thoracic hydatidosis. Turkish J Thorac and Cardiovasc Surg 2010; 18: 27-33.
3. Budke CM, White AC Jr, Garcia HH. Zoonotic larval cestode infections: neglected, neglected tropical diseases? PLoS Negl Trop Dis 2009; 3: e319.

4. Bhutani N, Kajal P. Hepatic echinococcosis: A review. *Ann Med Surg (Lond)* 2018; 36: 99-105.
5. Junghanss 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. Belhassen-García M, Romero-Alegria A, Velasco-Tirado V, Alonso-Sardón M, Lopez-Bernus A, Alvela-Suarez L, et al. Study of hydatidosis-attributed mortality in endemic area. *PLoS One* 2014; 9: e91342.
7. Cherradi Y, Afifi R, Khannoussi W, Firwana M, Rahaoui A, Benazzouz M et al. Long-term results of percutaneous management of liver hydatid cysts: Experience of university hospital in endemic region. *J Med Sur Res* 2016; 3: 275-81.
8. Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ, Müller N. Laboratory Diagnosis of *Echinococcus spp.* in Human Patients and Infected Animals. *Adv Parasitol* 2017; 96: 159-257.
9. Altıntaş N, Yazar S. Cystic Echinococcosisde İmmün Tanı. *Echinococcosis*. Editörler: Altıntaş N, Tınar R, Çoker A. Hidatidoloji Derneği Yayınları, İzmir 2004: 159-180.
10. Biava MF, Dao A, Fortier B. Laboratory diagnosis of cystic hydatid disease. *World J Surg* 2001; 25: 10-4.
11. Agudelo Higuaita NI, Brunetti E, McCloskey C. Cystic Echinococcosis. *J Clin Microbiol* 2016; 54: 518-23.
12. Yılmaz GR, Babür C. Diagnosis of Echinococcosis. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2007; 64: 35-44.
13. Jin Y, Anvarov K, Khajibaev A, Hong S, Hong ST. Serodiagnosis of echinococcosis by ELISA using cystic fluid from Uzbekistan sheep. *Korean J Parasitol* 2013; 51: 313-7.
14. Chirag S, Fomda BA, Khan A, Malik AA, Lone GN, Khan BA, et al. Detection of hydatid-specific antibodies in the serum and urine for the diagnosis of cystic echinococcosis in patients from the Kashmir Valley, India. *J Helminthol* 2015; 89: 232-7.
15. Aksoy U, İnci A. Kistik ekinokokkozisin serolojik tanısında in-house enzim immün yöntemi ve indirek hemaglutinasyon yönteminin, kullanılması [Application of in-house enzyme immunoassay and indirect hemagglutination methods for the serologic diagnosis of cystic echinococcosis]. *Mikrobiyol Bul* 2004; 38: 245-51.
16. Kiliç S, Babür C, Taylan Ozkan A. Kist hidatik ön tanılı olgularda indirek hemaglutinasyon ve ELISA yöntemleri ile alınan sonuçların karşılaştırılması [Comparison of the results of indirect hemagglutination and ELISA methods for the cases prediagnosed as hydatid cyst disease]. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41: 571-7.
17. Ammann RW, Eckert J. Cestodes. *Echinococcus*. *Gastroenterol Clin North Am* 1996; 25: 655-89.
18. Gam AA, Neva FA, Krotoski WA. Comparative sensitivity and specificity of ELISA and IHA for serodiagnosis of strongyloidiasis with larval antigens. *Am J Trop Med Hyg* 1987; 37: 157-61.
19. Kuru C, Baysal B. Uniloküler kistik ekinokokkozis tanısında indirekt hemaglutinasyon yönteminin değeri. *T Parazitol Derg* 1999; 23: 251-4.
20. Aslan M, Polat E, Aygün G, Sağlam GM, Kocazeybek B, Atlas K. Kistik ekinokokkozis şüpheli serum örneklerinde IHA, ELISA IgG ve kendi hazırladığımız ELISA IgG test sonuçlarının karşılaştırılması. *T Parazitol Derg* 2003; 27: 122-4.
21. Çiftçi N, Ateş F, Dağı HT, Fındık D. Kistik ekinokokkoz ön tanısı alan hastaların seropozitifliklerinin değerlendirilmesi. *Genel Tıp Derg* 2017; 27: 91-4.
22. Tüzemen NÜ, Alver O, Özakin C, Ener B. Kistik ekinokokkozis şüpheli olguların serumlarından 2008-2016 yılları arasında çalışılan İndirekt Hemaglutinasyon sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi. 20. Ulusal Parazitoloji Kongresi Uluslararası Katılımlı, 25-29 Eylül 2017, Eskişehir, s. 605-606, P115.
23. Öztürk R, Midilli K, Aygün G, Eroğlu C, Dirican A, Aslan M, et al. Yabancı ülkelerden ithal edilen pahalı ELISA ve immüno Floresan antijenlerinin yerli olanaklarla ucuz olarak elde edilmesi. *Flora* 1999; 4: 229-310.
24. Yazar S, Yaman O, Cetinkaya F, Sahin I. Cystic echinococcosis in Central Anatolia, Turkey. *Saudi Med J* 2006; 27: 205-9.
25. Çetinkaya Ü, Hamamcı B, Kaya M, Gücüyemez S, Kuk S, ve ark. Kistik ekinokokkozis ön tanılı hastalarda anti-*echinoccus granulosus* antikorlarının araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg* 2012; 36: 57-70.
26. Yazar S. Cystic echinococcosis in Kayseri during the last six years. *Türkiye Parazitol Derg* 2005; 29: 241-3.
27. Hakverdi S, Sayar H, Yaldız M, Erdoğan S, Akansu B, Canda MS. Cukurova Yöresinde Seyrek Yerleşimli Ekinokokkozis (134 olgu) [Unusual localization of echinococcosis in Cukurova (134 cases)]. *Türkiye Parazitol Derg* 2009; 33: 77-81.
28. Karaman U, Mıman O, Kara M, Gicik Y, Aycan OM, Atambay M. Kars bölgesinde hidatik kist prevalansı [Hydatid cyst prevalence in the region of Kars.]. *Türkiye Parazitol Derg* 2005; 29: 238-40.
29. Delibaş SB, Ozkoç S, Sahin S, Aksoy U, Akisü C. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na Kistik Ekinokokkozis şüphesiyle başvuran hastaların değerlendirilmesi [Evaluation of patients presenting with a suspicion of cystic echinococcosis to the serology laboratory of the Parasitology Department of Dokuz Eylül University Medical Faculty]. *Türkiye Parazitol Derg* 2006; 30: 279-81.

Wolbachia spp. and Spiroplasma spp. in Musca spp.: Detection Using Molecular Approaches

Musca Türlerinde Wolbachia spp. ve Spiroplasma spp.'nin Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi

Mustafa Karatepe¹, Serap Aksoy², Bilge Karatepe³

¹Niğde Ömer Halisdemir University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biotechnology, Niğde, Turkey

²Yale University, School of Public Health, Department of Epidemiology of Microbial Diseases, New Haven, Connecticut, United States of America

³Niğde Ömer Halisdemir University, Bor Vocational School, Bor-Niğde, Turkey

Cite this article as: Karatepe M, Aksoy S, Karatepe B. *Wolbachia* spp. and *Spiroplasma* spp. in *Musca* spp.: Detection Using Molecular Approaches. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):211-215.

ABSTRACT

Objective: This study aimed to detect the presence of *Wolbachia* and *Spiroplasma* endosymbionts in *Musca* flies through molecular approaches.

Methods: In total, 40 *Musca* spp. (20 female and 20 male) were used. Before DNA extraction, the flies were dissected and their heads, wings and legs were detached from their bodies under a stereomicroscope. Genomic DNA was analysed by standard polymerase chain reaction (PCR) using primers against *Musca* beta-tubulin. Afterward, the samples were examined for the presence of *Wolbachia* spp. using primers against *Wolbachia* *wsp* and *GroEL*. Furthermore, the DNA samples were analysed by PCR to detect the presence of *Spiroplasma* using primers against the 16S rRNA.

Results: No *Wolbachia* positivity was detected in *Musca* flies, as shown by the negative PCR results for *wsp* and *GroEL*. *Spiroplasma* positivity was detected in 5% (1/20) of the female *Musca* flies but not in the male flies (0/20).

Conclusion: *Wolbachia* spp. were not detected in *Musca* flies. Of the total *Musca* flies, only one was positive for *Spiroplasma* spp. To our knowledge, this is the first study to detect the presence of *Spiroplasma* in *Musca* flies.

Keywords: *Musca*, *Wolbachia*, *Spiroplasma*, PCR

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, *Musca* sineklerinde *Wolbachia* ve *Spiroplasma* endosymbiontlarının moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemler: Çalışmada materyal olarak toplam 40 adet *Musca* türü sinek (20 dişi ve 20 erkek) kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonundan önce, sineklerin stereo mikroskop altında diseksiyonu yapılmış ve baş, kanat ve bacakları uzaklaştırılmıştır. *Musca* beta-tubulin'e karşı primerler kullanılarak genomik DNA'lar PCR ile analiz edilmiş, daha sonra *Wolbachia* türlerinin varlığını belirlemek için *Wolbachia* *wsp* ve *GroEL* genlerini çoğaltan spesifik primerlerle test edilmiştir. Ayrıca DNA örnekleri, 16S rRNA'ya karşı primerler kullanılarak *Spiroplasma* varlığı açısından incelenmiştir.

Bulgular: Çalışma neticesinde *Wolbachia* spp.'nin *wsp* ve *GroEL*'e özgü primerler yönünden *Musca* sineklerinde pozitifliği belirlenmemiştir. Bunun yanında, 16S rRNA'ya özgü primerler kullanılarak dişi *Musca* sineklerinin %5'inde (1/20) *Spiroplasma* pozitifliği belirlenirken, erkek sineklerin hiçbirinde (0/20) pozitiflik tespit edilememiştir.

Sonuç: Çalışmada, *Musca* sineklerinde *Wolbachia* spp. tespit edilememiş, buna karşılık sadece 1 örnekte *Spiroplasma* spp. pozitifliği saptanmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma ile Türkiye'de *Musca* sineklerinde *Spiroplasma*'nın varlığı ilk kez belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Musca*, *Wolbachia*, *Spiroplasma*, PCR

Received/Geliş Tarihi: 01.02.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 18.05.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Mustafa Karatepe, Niğde Ömer Halisdemir University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biotechnology, Niğde, Turkey

Phone/Tel: +90 542 532 11 90 **E-mail/E-Posta:** mkaratepe@ohu.edu.tr **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-2944-6837

INTRODUCTION

Many insects harbour heritable endosymbiotic bacteria. The majority of heritable endosymbionts are facultative. Several recent studies have shown that facultative endosymbionts can offer their hosts with resistance to parasites (1-3).

Wolbachia species are maternally inherited intracellular symbiont belong to the alfa-proteobacteria that infect many arthropods and nematodes. Recent surveys indicated that around 76% of all insect species may be infected with *Wolbachia* (4-6). *Wolbachia* is responsible for inducing a number of reproductive modifications that enable its spread and maintenance in natural arthropod populations. For these reasons, there is a growing interest in the potential application of *Wolbachia* in biocontrol programs. Findings of the study indicated that *Wolbachia* infections limit parasite proliferation in the insect host and this situation provides the control of disease transmission (7,8).

One of the most spread and widely studied endosymbionts is *Spiroplasma* and is likely to be present in over 5% of all insect species (9,10). The genus *Spiroplasma* contains a group of motile, helical, without cell walls procaryotes that are associated primarily with insects (11). *Spiroplasma* endosymbionts are mainly found in haemolymph extracellularly and maternally transmitted (10,12,13). Some strains of *Spiroplasma* can cause female-biased sex rations through selective death of male off spring in their insect host (10-12).

The main purpose of present study is to investigate the presence of *Wolbachia* and *Spiroplasma* endosymbionts in *Musca* flies in Niğde province in Turkey by using molecular tools.

METHODS

This research was performed in *Musca* species of Niğde province, in Central Anatolia of Turkey (with an altitude of 1.240 m, 37° 58' N longitude-34° 41' E latitude). The climate in Niğde province is subtropical continental with the annual average temperature about 11 °C. A total of 40 *Musca* species (20 female and 20 male) were used in this study. Before DNA extraction, flies were dissected and removed their head, wings and legs under a stereo-microscope. Genomic DNA was isolated using DNeasy® Blood and Tissue Kit (Qiagen, Valencia CA) according to the manufacturer's instructions. Concentration of extracted DNA was detected using a Nanodrop 2.000 spectrophotometer (Thermo Scientific, MA, USA) and keep at -20 °C until analysed.

Genomic DNAs were tested by standard polymerase chain reaction (PCR) amplification using primers against *Musca* beta-tubulin (forward primer 5' TCT GCC GTC GTA ACT TGG AC 3' and reverse primer 5' CAC CTT CAC CAT CAC CGG AA 3', product size 700 bp). PCRs were performed in a total volume of 25 µl using 1 µl of DNA template and GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI, USA) following the manufacturer's instructions. Thermocycling conditions were as follows: 94 °C for 3 minutes; 40 cycles of 94 °C for 30 seconds, 55 °C for for 30 seconds, and 72 °C for 30 seconds; and a final step at 72 °C for 10 minutes.

Samples were then tested for the presence of *Wolbachia* using primers against the *Wolbachia* *wsp* (forward primer 5' AGT TGA TGG TAT TAC CTA TAA G 3' and reverse primer 5' TGA CTT CCG GAG TTA CAT CAT AAC 3', product size 410 bp) and *GroEL* (forward primer 5' TTT GAT CGC GGT TAT C 3' and reverse primer 5' AGA TCT TCC ATC TTG ATT CC 3', product size 410

bp) genes to determine the presence or absence of *Wolbachia* spp. Nuclease free water was used as negative control and female tsetse fly DNA (*Glossina morsitans morsitans*) from the lab line maintained at Yale University insectarium was used as a positive control. PCR was performed with initial denaturation at 94 °C for 3 minutes, followed by 38 cycles consisting of at 94 °C for 30 seconds, at 50 °C for 30 seconds, and at 72 °C for 30 seconds; and a final extension for 10 minutes at 72 °C.

DNA samples were also analyzed for the presence of *Spiroplasma* utilizing primers against the long subunit of 16S rRNA (forward primer 5' GGG TGA GTA ACA CGT ATC T 3' and reverse primer 5' CCT TCC TCT AGC TTA CAC TA 3', product size 1.000 bp). Nuclease free water was used as negative control and female tsetse fly DNA (*Glossina fuscipes fuscipes*) obtained from the field in Uganda was used as a positive control. PCR amplifications were performed with initial denaturation at 94 °C for 3 minutes, followed 38 cycles consisting of at 94 °C for 30 seconds, at 55 °C for 30 seconds, and at 72 °C for 1.30 seconds; and a final extension for 10 minutes at 72 °C.

PCR products were analyzed by agarose gel-electrophoresis on a 1% gel, stained with ethidium bromide and recorded using the Gel Doc EQ quantification analysis software (Bio-Rad, Image Lab™ Software Version 4.1).

The positive DNA fragments were excised from the agarose gel and extracted using the Monarch® DNA Gel Extraction Kit (New England Biolabs, Inc.). The amplified PCR products were ligated into pGEM-T Vector (Promega, Madison, WI) and recombinant plasmids were used transform competent *Escherichia coli* strain DH5α. Transformed cells were cultured and recombinant plasmid was extracted using the QIAprep® Spin Miniprep Kit (Qiagen, Valencia CA). The purified DNA was sequenced in at the Yale Keck DNA Sequencing Facility.

Ethics committee approval has not been obtained due to working on *Musca* flies. There are no human patients in the study.

Statistical Analysis

No statistical analysis was carried out in this study.

RESULTS

Musca beta-tubulin was found with standard PCR amplification in samples (Figure 1).

A total of 40 *Musca* species which consisted of 20 female and 20 male were screened for *Wolbachia* spp. According to the results, no positive *Musca* flies were found for *wsp* and *GroEL* specific primers of *Wolbachia* spp. in this study.

In addition, analysis for the presence of *Spiroplasma* using 16S specific primers indicates that 5% (1/20) of female *Musca* spp. were positive for infection, while none of the male samples (0/20) were positive (Figure 2).

The amplified products were sequenced and analyzed by BLAST analysis against available sequence data in the NCBI GenBank NT Bacterial Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). The BLAST results indicate that *Spiroplasma* amplification products, the fragments were sequenced and subjected to BLAST analysis. The closest resulting match of the putative 16S rRNA fragments was to the 16S ribosomal RNA gene from *Spiroplasma* sp. Bratislava 1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100% coverage, 99% identity GenBank accession number KP967685.1).



Figure 1. PCR products of amplified with *Musca* beta-tubulin specific primers

M: DNA ladder (100 bp), 1-4: Positive samples (700 bp)

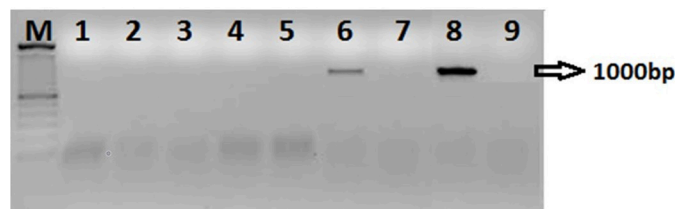


Figure 2. PCR products of amplified with *Spiroplasma* 16S specific primers

M: DNA ladder (100 bp), 1-5, 7: Negative samples, 6: Positive sample, 8: Positive control (1.000 bp), 9: Negative control, PCR: Polymerase chain reaction

DISCUSSION

Several studies have been conducted to investigate endosymbiotic bacteria in various insect species by using molecular methods. Werren et al. (4) detected *Wolbachia* strains in over 16% of neotropical insects. West et al. (14) reported that 22% of Lepidoptera and Aphids were infected with *Wolbachia*. Jeyaprakash and Hoy (6) indicated that 76% of examined 63 arthropod species were positive for *Wolbachia*. Gotoh et al. (15) the first systematic survey of 42 spider mite species in Japan revealed that seven species (16.7%) were infected with *Wolbachia*. Aksoy and Rio (16) and Rio et al. (17) revealed that symbionts including *Wolbachia* can use as a novel tool for control of parasitic diseases. Kyei-Poku et al. (18) screened for *Wolbachia* in populations of arthropods of current interest to biocontrol programs in Canada and infections were detected in 46% of the 105 species tested. Floate et al. (19) prevalence of *Wolbachia* infection were detected in 15 of 21 (71%) species of wasps and three of nine (33%) species of flies. Pourali et al. (7) showed that 14.06% of arthropod colonies and 7.14% of nematode colonies were positive for *Wolbachia* in Iran. The presence of *Wolbachia* spp. was determined in sand flies by many researchers (20-24). Alam et al. (25) reveal that *Wolbachia* infections confer strong CI during embryogenesis in *Wolbachia* free females when mated with *Wolbachia* infected males.

There are few reports regarding bacterial endosymbiont in *Musca* species in the world. Mingchay et al. (8) were detected *Wolbachia* supergroups A or B in 14% (7/51) of filth flies (Diptera: Muscidae, Calliphoridae, and Sarcophagidae) using PCR specific for *wsp*. Bahrndorff et al. (26) *Wolbachia* spp. was found to be in less than 4% of the flies (*Musca domestica*). Pourali et al. (7) showed that 2 of 25 *M. domestica* colonies were positive for *Wolbachia* belonged to A supergroup in Iran. Martin et al. (27) were determined *Wolbachia* (*wsp* gene) on *M. domestica*.

Spiroplasma endosymbionts are maternally transmitted bacteria that often acts as a male-killer and causes female-biased sex ratios

in insects (10,12,13). Previous work indicates that infections with the microbes *Spiroplasma* are common in the drosophilidae (3,10,12,13). However, there are endosymbiont *Spiroplasma* surveys in various insect species, such as bees, mosquitoes, butterflies and ladybirds (28-35). Martin et al. (27) were determined presence of *Spiroplasma* on *M. domestica* and they explained PCR products were of too poor quality to produce a DNA sequence that could be identified.

Literature review shows that currently there are not any data available on the presence of *Wolbachia* and *Spiroplasma* in *Musca* flies in Turkey. There are a few reports on the existence of *Wolbachia* in arthropods (36-41) and there is only one report about *Spiroplasma* in sandflies (40). Molecular studies in Turkey have reported that *Wolbachia* infection was detected in *Trissolcus* species (36), in *Culex pipiens* (37,38) in sandflies (39,40), and in fleas (41). On the other hand, Saki and Şimşek (42) concluded that *Wolbachia* spp. were not present in some Diptera populations. Therefore, the present study was carried out in order to investigate the presence or absence of these bacteria among *Musca* spp. In the study, *Wolbachia* were not detected in *Musca* flies. The results of the study resemble results of research conducted by Saki and Şimşek (42). The present study is the first report of *Spiroplasma* endosymbionts in *Musca* species in Turkey and PCR products of amplified with *Spiroplasma* were sequenced and the closest resulting match of the putative 16S rRNA fragments was to the 16S ribosomal RNA gene from *Spiroplasma* sp. Bratislava 1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence (100% coverage, 99% identity GenBank Accession Number KP967685.1).

CONCLUSION

Our study shows that *Wolbachia* spp. was no found in *Musca* flies. Of the 40 *Musca* samples, only 1 was detected as positive for *Spiroplasma* spp. Because endosymbiotic bacteria are an alternative strategy for controlling fly population, it seems that further studies should be carried out in order to detection the existence and importance of *Wolbachia* spp., *Spiroplasma* spp. and other endosymbionts in different regions of Turkey.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by TUBITAK (The Scientific and Technical Research Council of Turkey) (TUBITAK, BİDEB-2219). The authors are grateful to members of the Aksoy Lab for their contributions to the project especially Dr. Geoffrey M. Attardo for preparing tubulin primers and comments on the manuscript, Maria Gorreti Onyango, Michelle O'Neill and Yineng Yang for helping in Molecular Systematics Laboratory. This study was presented at the 20. National Congress of Parasitology (25-29 September 2017, Eskişehir, Turkey).

* Ethics

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval has not been obtained due to working on *Musca* flies.

Informed Consent: There are no human patients in the study.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

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

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

Financial Disclosure: This study was supported by TUBITAK (The Scientific and Technical Research Council of Turkey) (TUBITAK, BIDEB-2219).

REFERENCES

- Jaenike J, Unckless R, Cockburn SN, Boelio LM, Perlman SJ. Adaptation via symbiosis: recent spread of a *Drosophila* defensive symbiont. *Science* 2010; 329: 212-5.
- Xie J, Vilchez I, Mateos M. *Spiroplasma* bacteria enhance survival of *Drosophila hydei* attacked by the parasitic wasp *Leptopilina heterotoma*. *PLoS One* 2010; 5: e12149.
- Herren JK, Lemaitre B. *Spiroplasma* and host immunity: activation of humoral immune responses increases endosymbiont load and susceptibility to certain Gram-negative bacterial pathogens in *Drosophila melanogaster*. *Cell Microbiol* 2011; 13: 1385-96.
- Werren JH, Windsor D, Guo LR. Distribution of *Wolbachia* in neotropical arthropods. *P R Soc London Ser B* 1995; 262: 197-204.
- Zhou W, Rousset F, O'Neil S. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences. *Proc Biol Sci* 1998; 265: 509-15.
- Jeyaprakash A, Hoy MA. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification: wsp sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect Mol Biol* 2000; 9: 393-405.
- Pourali P, Roayaei Ardakani M, Jolodar A, Razi Jalali MH. PCR screening of the *Wolbachia* in some arthropods and nematodes in Khuzestan province. *Iran J Vet Res* 2009; 10: 216-22.
- Mingchay P, Sai-Ngam A, Phumee A, Bhakdeenuan P, Lorlerthum K, Thavara U, et al. *Wolbachia* supergroups A and B in natural populations of medically important filth flies (diptera: muscidae, calliphoridae, and sarcophagidae) in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2014; 45: 309-18.
- Duron O, Bouchon D, Boutin S, Bellamy L, Zhou L, Engelstädter J, et al. The diversity of reproductive parasites among arthropods: *Wolbachia* do not walk alone. *BMC Biol* 2008; 6: 27.
- Shokal U, Yadav S, Atri J, Accetta J, Kenney E, Banks K, et al. Effects of co-occurring *Wolbachia* and *Spiroplasma* endosymbionts on the *Drosophila* immune response against insect pathogenic and non-pathogenic bacteria. *BMC Microbiol* 2016; 16: 16.
- Regassa LB, Gasparich GE. Spiroplasmas: evolutionary relationships and biodiversity. *Front Biosci* 2006; 11: 2983-3002.
- Ventura IM, Martins AB, Lyra ML, Andrade CA, Carvalho KA, Klaczko LB. *Spiroplasma* in *Drosophila melanogaster* populations: prevalence, male-killing, molecular identification, and no association with *Wolbachia*. *Microb Ecol* 2012; 64: 794-801.
- Anbutsu H, Fukatsu T. Evasion, suppression and tolerance of *Drosophila* innate immunity by a male-killing *Spiroplasma* endosymbiont. *Insect Mol Biol* 2010; 19: 481-8.
- West SA, Cook JM, Werren JH, Godfray HC. *Wolbachia* in two insect host-parasitoid communities. *Mol Ecol* 1998; 7: 1457-65.
- Gotoh T, Noda H, Hong XY. *Wolbachia* distribution and cytoplasmic incompatibility based on a survey of 42 spider mite species (Acari: Tetranychidae) in Japan. *Heredity (Edinb)* 2003; 91: 208-16.
- Aksoy S, Rio RV. Interactions among multiple genomes: tsetse, its symbionts and trypanosomes. *Insect Biochem Mol Biol* 2005; 35: 691-8.
- Rio RV, Wu YN, Filardo G, Aksoy S. Dynamics of multiple symbiont density regulation during host development: tsetse fly and its microbial flora. *Proc Biol Sci* 2006; 273: 805-14.
- Floate KD, Kyei-Poku GK, Coghlin PC. Overview and relevance of *Wolbachia* bacteria in biocontrol research. *Biocontrol Sci Technol*. 2006; 16: 767-88.
- Kyei-Poku GK, Giladi M, Coghlin P, Mokady O, Zchori-Fein E, et al. *Wolbachia* in wasps parasitic on filth flies with emphasis on *Spalangia cameroni*. *Entomol Exp Appl* 2006; 121: 123-35.
- Benlarbi M, Ready PD. Host-specific *Wolbachia* strains in widespread populations of *Phlebotomus perniciosus* and *P. papatasi* (Diptera: Psychodidae), and prospects for driving genes into these vectors of *Leishmania*. *Bull Entomol Res* 2003; 93: 383-91.
- Parvizi P, Benlarbi M, Ready PD. Mitochondrial and *Wolbachia* markers for the sandfly *Phlebotomus papatasi*: little population differentiation between peridomestic sites and gerbil burrows in Isfahan province, Iran. *Med Vet Entomol* 2003; 17: 351-62.
- Parvizi P, Fardid F, Soleimani S. Detection of a New Strain of *Wolbachia pipiens* in *Phlebotomus perfiliewi transcaucasicus*, a Potential Vector of Visceral Leishmaniasis in North West of Iran, by Targeting the Major Surface Protein Gene. *J Arthropod Borne Dis* 2013; 7: 46-55.
- Azpurua J, De La Cruz D, Valderama A, Windsor D. *Lutzomyia* sand fly diversity and rates of infection by *Wolbachia* and an exotic *Leishmania* species on Barro Colorado Island, Panama. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e627.
- Matsumoto K, Izri A, Dumon H, Raoult D, Parola P. First detection of *Wolbachia* spp., including a new genotype, in sand flies collected in Marseille, France. *J Med Entomol* 2008; 45: 466-9.
- Alam U, Medlock J, Brelsfoard C, Pais R, Lohs C, Balmand S, et al. *Wolbachia* symbiont infections induce strong cytoplasmic incompatibility in the tsetse fly *Glossina morsitans*. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002415.
- Bahrndorff S, de Jonge N, Skovgård H, Nielsen JL. Bacterial Communities Associated with Houseflies (*Musca domestica* L.) Sampled within and between Farms. *PLoS One* 2017; 12: e0169753.
- Martin OY, Gubler A, Wimmer C, Germann C, Bernasconi MV. Infections with *Wolbachia* and *Spiroplasma* in the Scathophagidae and other Muscoidea. *Infect Genet Evol* 2012; 12: 315-23.
- Jiggins FM, Hurst GD, Jiggins CD, vd Schulenburg JH, Majerus ME. The butterfly *Danaus chrysippus* is infected by a male-killing *Spiroplasma* bacterium. *Parasitology* 2000; 120: 439-46.
- Sokolova MI, Zinkevich NS, Zakharov IA. Bacteria in ovarioles of females from maleless families of ladybird beetles *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) naturally infected with *Rickettsia*, *Wolbachia*, and *Spiroplasma*. *J Invertebr Pathol* 2002; 79: 72-9.
- Tinsley MC, Majerus ME. A new male-killing parasitism: *Spiroplasma* bacteria infect the ladybird beetle *Anisosticta novemdecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Parasitology* 2006; 132: 757-65.
- Bastian FO, Elzer PH, Wu X. *Spiroplasma* spp. biofilm formation is instrumental for their role in the pathogenesis of plant, insect and animal diseases. *Exp Mol Pathol* 2012; 93: 116-28.
- Meeus I, Vercruysse V, Smagghe G. Molecular detection of *Spiroplasma apis* and *Spiroplasma melliferum* in bees. *J Invertebr Pathol* 2012; 109: 172-4.
- Zheng HQ, Chen YP. Detection of *Spiroplasma melliferum* in honey bee colonies in the US. *J Invertebr Pathol* 2014; 119: 47-9.
- Galal FH, AbuElnasr A, Abdallah I, Zaki O, Seufi A. *Culex* (*Culex*) *pipiens* Mosquitoes Carry and Harbor Pathogenic Fungi during Their Developmental Stages. *Erciyes Med J* 2017; 39: 1-6.
- Smith DA, Gordon LJ, Traut W, Herren J, Collins S, Martins DJ, et al. A neo-W chromosome in a tropical butterfly links colour pattern, male-killing, and speciation. *Proc Biol Sci* 2016; 283: 8-21.
- Guz N, Kocak E, Akpınar AE, Gurkan MO, Kılınc AN. *Wolbachia* infection in *Trissolcus* species (Hymenoptera: Scelionidae). *Eur J Entomol*. 2012; 109: 169-174.
- Yıldırım A, İnci A, Düzüoğlu O, Onder Z, Ciloglu A. Detection and molecular characterization of the *Wolbachia* Endobacteria in the *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) specimens collected from Kayseri province of Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Der* 2013; 60: 189-94.

38. Yetişmiş G, Düzlü Ö, Yıldırım A, Çiloğlu A Önder Z, İnci A. Molecular investigation and genotyping of *Wolbachia* endobacteria in mosquito species in Sultan Marshes region. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2018; 65: 229-37.
39. Karakuş M, Karabey B, Orçun Kalkan Ş, Özdemir G, Oğuz G, Erişöz Kasap Ö, et al. Midgut Bacterial Diversity of Wild Populations of *Phlebotomus (P.) papatasi*, the Vector of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis (ZCL) in Turkey. Sci Rep 2017; 7: 14812.
40. Karatepe B, Aksoy S, Karatepe M. Investigation of *Wolbachia* spp. and *Spiroplasma* spp. in *Phlebotomus* species by molecular methods. Sci Rep 2018; 8: 10616.
41. Onder Z, Ciloglu A, Duzlu O, Yildirim A, Okur M, Yetismis G, et al. Molecular detection and identification of *Wolbachia* endosymbiont in fleas (Insecta: Siphonaptera). Folia Microbiol (Praha) 2019; 64: 789-96.
42. Saki CE, Şimşek S. Investigation of *Wolbachia* spp in Some Flies Species (Order: Diptera) by PCR. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2014; 20: 417-9.

İmport Sıtma: Nadir Görülen Kan Evreleri ile Türkiye’de Bir *Plasmodium falciparum* Sıtma Olgusu

Imported Malaria: A *Plasmodium falciparum* Malaria Case in Turkey with Rarely Seen Blood Stages of Infection

✉ Koray Öncel¹, ✉ Leman Karaağaç², ✉ Ahmet Özbilgin³

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

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

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

Cite this article as: Öncel K, Karaağaç L, Özbilgin A. Imported Malaria: A *Plasmodium falciparum* Malaria Case in Turkey with Rarely Seen Blood Stages of Infection. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):216-219.

ÖZ

Sıtma, 2017 yılındaki verilere göre geneli Afrika kıtasında ve çoğunluğunu Afrikalı çocukların oluşturduğu, yaklaşık 435 bin ölüm ve 219 milyon olgu ile günümüzde halen önemli bir halk sağlığı sorunudur. İnsanda patojen olan *Plasmodium* türleri, enfekte dişi *Anopheles* cinsi sivrisineklerin ısırması ile insanlara bulaşmaktadır. Ülkemizde ise, 2017 Sağlık İstatistikleri Yıllığı’na göre yerli olgu hiç görülmemesine rağmen 214 import olgu bildirilmiş ve geçmiş yıllarda *P. vivax* en sık görülen tür iken, son yıllarda import *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) olguları artış göstermiştir. Olgumuz, iki hafta önce yapmış olduğu ve bir hafta süren Afrika seyahatinden dönen 41 yaşındaki erkek hastadır. Yapılan periferik yayma incelemesinde sınırlı sayıda da olsa parazite ait farklı kan evreleri (olgun trofozoit, genç ve olgun şizont) tespit edilmiş, fakat gametosit görülmemiştir. Olgumuzda da olduğu gibi, periferik kan yaymasında erken evrelerin yanı sıra olgun formların da görülmesi, etkenin *P. falciparum* olma ihtimalini ortadan kaldırmamıştır. Olası bir karma enfeksiyon ayırımı için moleküler yöntemler kullanılarak, hem tanıyı teyit etmek hem de tedavi protokolünü düzenlemek için tiplendirme yapılmıştır. Bu çalışmada, yapılan periferik yayma incelemesinde sınırlı sayıda da olsa farklı kan evrelerinin bulunmasından dolayı, ağır seyreden *P. falciparum* sıtması mı, yoksa diğer *Plasmodium* türlerinden biri ile kombine bir karma sıtma olgusu mu olduğu konusunda tereddütte kalınan bir olguya yaklaşım konusunda farkındalık oluşturmak amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sıtma, *Plasmodium falciparum*, import

ABSTRACT

Malaria is an important public health problem, with about 219 million cases, which account for 435 thousand deaths of children in Africa in 2017. The infection is transmitted by female anopheles mosquito, including *Plasmodium* species pathogen for human. In Turkey, no domestic cases have been reported; however, according to Annual Health Statistics, 214 imported cases were reported in 2017. Although *P. vivax* exactly was reported in previous years, imported *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) cases have increased in the last few years. Herein, we report a case of a 41-year-old male patient who returned two weeks ago from a one-week African journey. A limited number of different blood stages of the parasite (mature trophozoite, young and mature schizont) have been seen in the examination of the peripheral smear; however, the gametocyte stage was not seen. In the present case, detecting mature stages beside the early forms at the peripheral smear could not eliminate the probability of *P. falciparum*. To confirm the diagnosis and regulate the treatment protocol, molecular methods were employed to differentiate the potential mixture of infection. In this case study, we propose how to approach an uncertain case of severe falciparum malaria or mixture of malaria infection combined with another *Plasmodium* species, as a result of limited number of different blood stages of the infection at the peripheral smear.

Keywords: Malaria, *Plasmodium falciparum*, imported

GİRİŞ

Sıtma, 2017 yılında çoğunluğu Afrikalı beş yaş altı çocuklar olmak üzere 435 binden fazla ölümün gerçekleştiği, yaklaşık 219 milyon olgu ile günümüzde

halen önemli bir halk sağlığı sorunudur. İnsanda patojen olan *Plasmodium* türleri (*P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. falciparum*, *P. knowlesi*) ile enfekte dişi *Anopheles* cinsi sivrisineklerin ısırması ile insanlara bulaşmaktadır (1,2).

Geliş Tarihi/Received: 01.06.2020 **Kabul Tarihi/Accepted:** 30.01.2021

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

Tel/Phone: +90 532 557 39 63 **E-Posta/E-mail:** korayoncel@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0002-9570-7636

Olguların büyük bir kısmı Dünya Sağlık Örgütü Afrika Bölgesi'nde (200 milyon/%92) görülmüştür (1). Ülkemizde ise 2017 sağlık istatistikleri yılına göre yerli olgu hiç görülmemesine rağmen 214 import olgu bildirilmiştir (3). Ülkemizde en yaygın tür *P. vivax* olup, son yıllarda yurt dışı kaynaklı *P. falciparum*'un etken olduğu sıtma olgularına da rastlanmaktadır (2).

İntermittant ateş, anemi, splenomegali ile seyreden kronikleşme eğilimi gösteren bir enfeksiyon hastalığıdır (2,4-6).

Bu çalışmada; yapılan periferik yayma incelemesinde sınırlı sayıda da olsa farklı kan evreleri içeren olgunun, ağır seyreden bir falciparum sıtması mı, yoksa diğer *Plasmodium* türlerinden birini de içeren karma bir sıtma olgusu mu olduğu konusunda tereddütte bırakan olguya yaklaşım ile ilgili farkındalık oluşturmak amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU

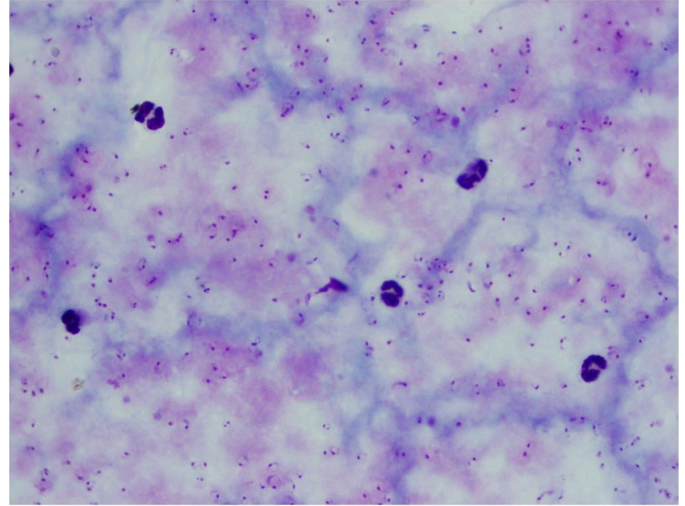
Kırk bir yaşında erkek olgu; halsizlik ile başlayan, ateş, terleme, titreme, genel vücut ağrısı şikayetleri ile Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'ne başvurmuştur. Anamnezinde; iki hafta önce Etiyopya ve Gana'ya içeren bir Afrika seyahati ve Türkiye'ye döndükten yaklaşık bir hafta sonra başlayan hastalık belirtilerinden bahsetmiştir. Seyahat öncesi profilaktik tedavi almamıştır.

Yapılan fizik muayenesinde ateş 39,6 °C, bilinci açık ve koopere idi. Ultrasonografi ile de teyit edilen hepatosplenomegali hariç diğer fizik muayene bulguları normaldi. Kan tetkik sonuçları; beyaz kan hücresi: 5,041($\times 10^3/\mu\text{L}$), kırmızı kan hücresi: 5,075 ($\times 10^6/\mu\text{L}$), hematokrit: 44,10 (%), hemoglobin (HGB): 15,43 (g/dL), trombosit: 52,33($\times 10^3/\mu\text{L}$), alanin aminotransferaz: 35,5 (U/L), aspartat aminotransferaz: 35,6 (U/L), total bilirubin: 1,710 $\uparrow$ (mg/dL), direkt bilirubin: 0,288 (mg/dL), gama glutamil transferaz: 44 (IU/L), C-reaktif protein: 97,54 $\uparrow$ (mg/L) şeklindeydi. Koagülasyon test (protrombin zamanı, uluslararası normalleştirilmiş oran, aktif kısmi tromboplastin zamanı, fibrinojen) değerleri normal sınır aralıklarındaydı. TIT: Eritrosit (+). Hepatit markörleri ve TORCH grubu test sonuçları akut enfeksiyonu gösterir bir değer içermemekteydi. Brucella serolojisi: (-) negatif idi. Alınan kan ve gaita kültür örneklerinde de üreme olmadı.

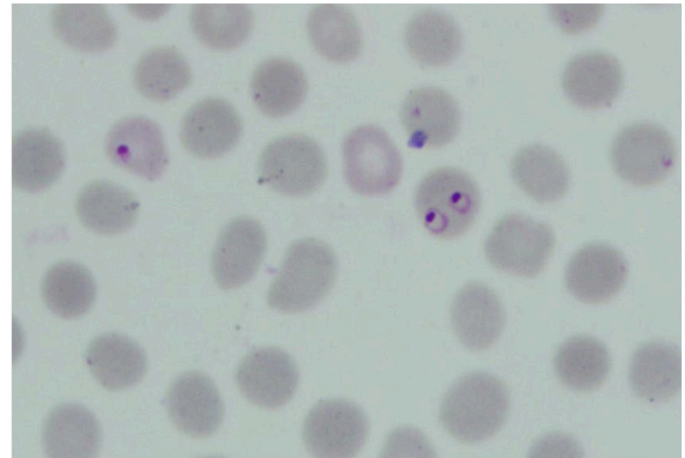
Kalın damla (Şekil 1) ve ince yayma (Şekil 2, 3) kan preparatlarının Giemsa ile boyanmasında sırasıyla; genç trofozoit formları ve %4,1 oranında parazit yoğunluğu ile %0,0004 oranında şizontemi saptandı.

İnce yaymada ağırlıklı olarak genç trofozoit formları, çok nadir olarak da diğer evreler (olgun trofozoit, genç ve olgun şizont) görülmüş fakat gametosit görülmemiştir. Tek bir eritrosit içinde taşlı yüzük şeklinin (ring form) birden fazla görülmesi, yüzük formlarında çiftli kromatin noktalanma (headphone), yüzük formlarının eritrosit büyüklüğüne oranlarının 1/5-1/6 civarında olması etkenin *P. falciparum* olduğunu düşündürmüştür. Fakat sınırlı sayıda da olsa diğer evrelerin bulunması, şiddetli falciparum sıtmasına (nadir de olsa periferik kanda ara formlar görülebilmektedir) ait bir olgu mu yoksa bir karma sıtma olgusu mu olduğu konusunda tereddütte bırakmıştır (Şekil 4-6).

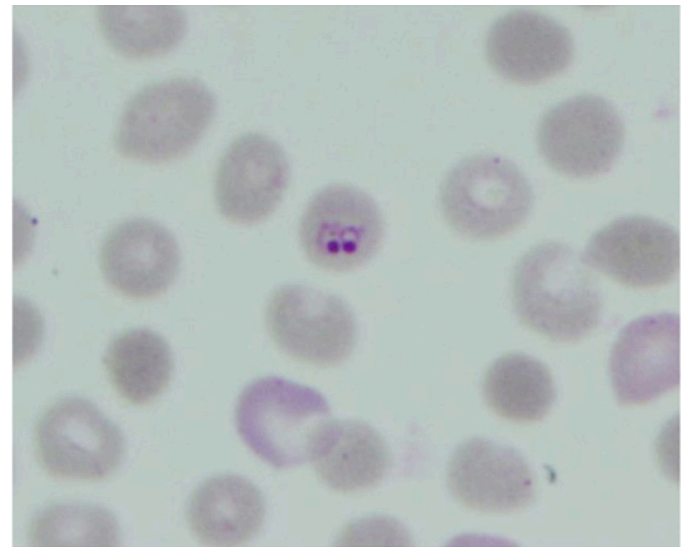
Bu süreçle paralel olarak, olgudan alınan örnekler, hem tekrardan incelenmesi hem de moleküler olarak analiz edilmesi amacıyla Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı'na (CBÜPAD) gönderilmiştir.



Şekil 1. Kalın damla

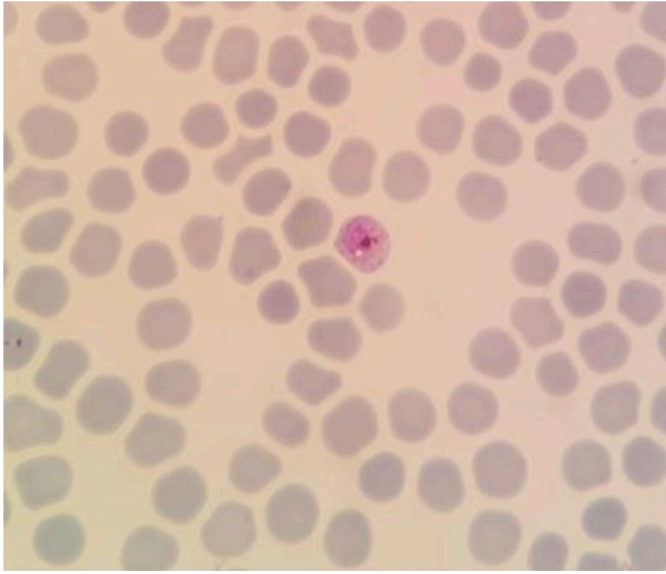


Şekil 2. İnce yayma, genç trofozoit

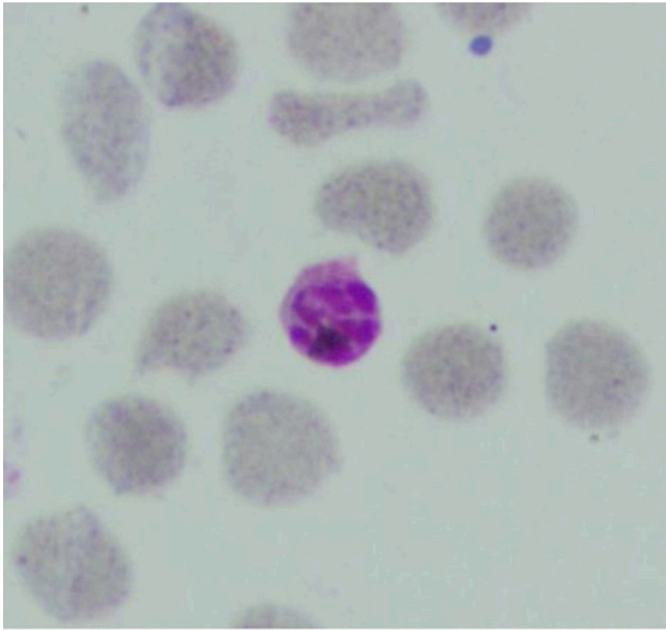


Şekil 3. İnce yayma, genç trofozoit

Olgumuzda, moleküler test sonuçları çıkıncaya kadar ikinci klinik olasılık olarak düşünülen karma enfeksiyona karşı primakin tedavisinin başlamasını takiben PLT değerlerinde yükselme devam ederken HGB, Htc ve kırmızı kan hücre değerleri sırası ile %12, %13,5 ve %12,5 civarında düşüş göstermiştir. Tedavi



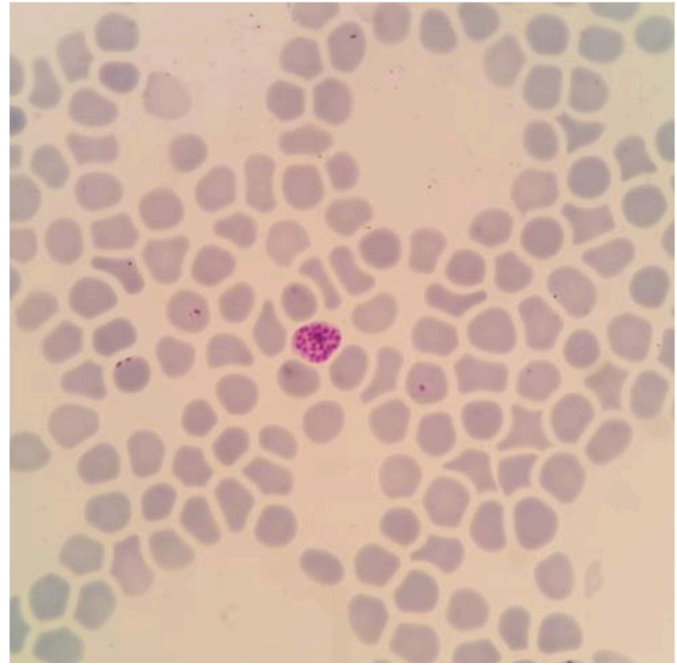
Şekil 4. İnce yayma, olgun trofozoit



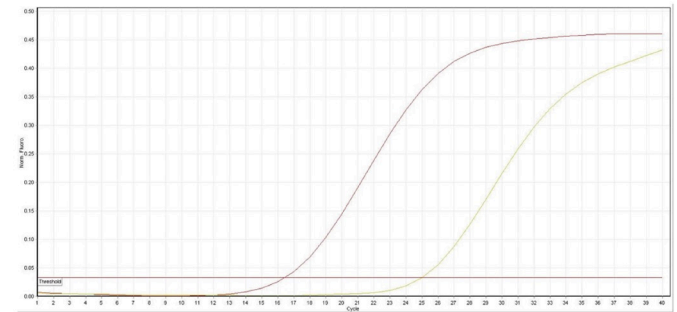
Şekil 5. İnce yayma, genç şizont

devam ettikçe de bu oranlar düşerek değerler azalmaya devam etmiştir. Olgu glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzim eksikliğine yönelik olarak ilaçlar, enfeksiyonlar, kimyasallar sonrası akut hemolitik anemi, uzamış yenidoğan sarılığı ve favizm açısından sorgulanmıştır fakat enzim eksikliğini destekler bir anamnez bulgusu vermemiştir. Olgunun glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (Hb) test sonucu 10,4 (7-20,5 ünite/gram) gelmiştir. Sonuca istinaden moleküler test sonuçları gelinceye kadar tedaviye devam edilmiştir.

İnce yayma örneğinin CBÜPAD'de incelenmesi sonucunda *P. falciparum* ön tanısı koyulan olguda, karma enfeksiyonu ekarte etmek amacıyla *Plasmodium* tür ayrımı için ependorf tüpe alınan 200 µL kan örneğinin DNA izolasyonu high pure PZR template preparation kit (Roche, Basel, Switzerland) kullanılarak yapılmış ve sadece *P. falciparum* türüne ait DNA pozitif (Şekil 7) bulunmuştur.



Şekil 6. İnce yayma, olgun şizont



Şekil 7. Real-time PZR analiz sonucu, *P. falciparum*
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

Olguya 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. Ancak olası karma enfeksiyon ihtimaline karşılık 14 gün boyunca kullanılmak üzere primaquin (15 mg baz) 2x1 tablet tedaviye eklendi ve tedavinin yedinci günü moleküler test sonuçları gelinceye kadar devam edildi.

Üç günlük tedavinin sonrasında yapılan periferik yaymasında parazit görülmedi. Yatışından bir hafta sonra genel durumu düzelen olgu, kontrollere gelme şartı ile taburcu edildi. Tedavi başlangıcından bir hafta ve bir ay sonra yapılan kontrol periferik yaymalarında parazit görülmedi.

TARTIŞMA

Bulaşma düzeyinin düşük olduğu endemik olmayan bölgelerden seyahat eden non-immün (öncesinde geçirilmiş sıtma öyküsü olmayan) olgularda paraziteminin $\geq 2\%$ olması bile bu olgularda şiddetli sıtmaya dönüşme riskini artırmaktadır (7). Paraziteminin 4% 'ün üzerinde olduğu fakat şiddetli sıtma belirtileri içermeyen olgular komplike olmamış hiperparazitemi olguları olarak değerlendirilmekte ve artemisinin bazlı kombine tedaviler (ACT) ile sağaltımının yapılması önerilmektedir (7-9).

ACT kullanımının yaygın olmadığı dönemlerde Tayland'ın kuzeybatı sınırında şiddetli sıtma olmayan, >%4'ten fazla parazitemisi bulunan olgularda %3'lük bir ölüm oranı (düşük yoğunluklu parazitemisi olan komplike olmamış olgulara nazaran 30 kat fazla) ve altı kat daha fazla tedavi başarısızlığı görüldüğü bildirilmiştir (7,8).

Yüksek parazitemi sıklıkla şiddetli sıtma ile ilişkilendirilebilirken, aksi istisnalar (8,9) dışında her zaman mümkün görülmemektedir (9). *P. falciparum* şizontları salgıladıkları *P. falciparum* erythrocyte membrane protein 1 ile eritrositlerin yüzeylerini modifiye ederek damar endoteline, trombositlere ve enfekte olmamış eritrositlere yapıştıkları için, periferik kan ile mikro dolaşımdaki parazit sayıları arasında büyük farklılıklar olabilmekte, iki benzer periferik kan parazit sayımı yüz katlık bir çökelmiş parazit biyokütlesini temsil edebilmektedir (8-11).

Parazit sayısının prognostik değeri, periferik kan incelemesinde parazitlerin gelişim evreleri göz önüne alınarak artırılabilir. Herhangi bir parazitemide olgun parazit evrelerinin baskın hale gelmesi prognozunu kötüleşeceğini göstermektedir (8-10). Genel olarak periferik kandaki parazitlerin %50'sinden fazlası minik yüzük formları (sitoplazma genişliği nükleus yarıçapından az olduğu) tarzında ise prognozunu göreceli iyi olduğu, halbuki parazitlerin %20'den fazlası pigment içeriyorsa (olgun trofozoidler ya da şizontlar) prognozunu göreceli olarak kötü olduğu belirtilmiştir (8).

Seyahat eden import *P. falciparum* sıtmalı olgularda şizontların yokluğu şiddetli hastalığı dışlamak için spesifik bir markır olabileceği gibi, aksine varlığı ise şiddetli hastalık için yüksek pozitif prediktif değer taşımaktadır (12).

Tangpukdee ve ark. (13), 574 komplike olmamış, 26 komplike olmayan fakat sonrasında şiddetli enfeksiyona dönen altı yüz olgulu bir çalışmada sırası ile %0,3 ve %11,5 oranında şizontemili olgu tespit etmişler ve şizontemiyi prognoz ile ilişkilendirmişlerdir.

Tangpukdee ve ark.'nın (14) yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise 250 komplike olmamış, 250 şiddetli sıtma enfeksiyonu olan olguda şizontemi oranlarını sırası ile %0 ve %39,6 bulmuş, şizonteminin şiddetli sıtmanın ek bir indikatörü ve *P. falciparum* sıtmasında prognostik bir markır olabileceğini belirtmişlerdir.

Olgumuzun tedavi öncesi ve sonrası ilk günündeki parazitemik yüküne (%4,1) bakıldığında komplike olmamış hiperparazitemi kriterlerine uymaktaydı (7,9). Görülen sınırlı sayıda olgun evreleri de kliniğin kötüye gideceği konusunda bir erken uyarı olmuş ve hızla ACT içeren tedaviye başlanmıştır. Tedaviden sonraki gün paraziteminin artması (%6,1) biraz daha geç kalınması durumunda daha ciddi klinik bir tablo ile karşılaşabileceğimizi bize göstermiştir. Tedavinin üçüncü ve dördüncü gününde parazit yükü hızlı bir düşüş göstermiştir.

Olgumuzda olduğu gibi, periferik kan yaymasında erken evrelerin yanı sıra olgun formların da görülmesi, etkenin *P. falciparum* olma ihtimalini ortadan kaldırmadığı gibi olası bir karma enfeksiyon ayrımı için moleküler yöntemler kullanılarak tiplendirme yapılmasının hem tanıyı teyit etmek hem de tedavi protokolünü düzenleme açısından yardımcı olacağı aşikardır (15).

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın hazırlanma aşamasında, gönderilen kan örneğinde real-time PZR yöntemi ile moleküler analiz çalışması

yaparak parazitin tiplendirilmesinde değerli katkılarını sunan Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'ndan Biyolog İbrahim Çavuş'a teşekkürlerimi sunarım.

* Etik

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

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

* Yazarlık Katkıları

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

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek bildirilmemiştir.

KAYNAKLAR

1. WHO. World Malaria Report. World Health Organization, Geneva: 2018.
2. Aksoy Gökmen A, Pektaş B, Öncel K, Özdemir OA, Çavuş İ, Özbilgin A. Manisa ilinde 2008-2012 Yılları Arasında Saptanan Sıtma Olgularının Değerlendirilmesi [The investigation of malaria cases in Manisa between 2008-2012]. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2014; 38: 151-4.
3. T.C. Ministry of Health, Health Statistics Annual 2017 Ankara: Turkish Republic Ministry of Health, Directorate General for Health Information Systems; 2018.
4. Altun HU, Gül YK, Vudalı E, Hatipoğlu ÇA, Bulut C, Yağcı S, et al. *Plasmodium falciparum* malaria case originating from Uganda. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2013; 37: 229-32.
5. 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 Parazitoloji Dergisi 2010; 34: 147-51.
6. Akdur R. Malaria Education Notes. T.C. Ministry of Health, Health Project General Coordination Office. Ankara: CEM Web Ofset; 1997.
7. WHO. Guidelines For The Treatment Of Malaria. 2015, 3rd ed. World Health Organization, Geneva.
8. WHO. Severe Malaria. Tropical Medicine and International Health 2014; 19(Suppl 1): 7-131.
9. Lwin KM, Ashley EA, Proux S, Silamut K, Nosten F, McGready R. Clinically uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria with high schizontaemia: a case report. Malar J 2008; 7: 57.
10. Wilairatana P, Tangpukdee N, Krudsood S. Patients with *P. falciparum* shizontemia need close monitoring. Trop Med Surg 2013; 1: 7.
11. Danny A. Milner, Jr. Malaria Pathogenesis. Published by Cold Spring Harbor Laboratory Press (serial online) cited 2017 May 22. Available from: URL: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/early/2017/05/22/cshperspect.a025569.full.pdf+html>
12. van Wolfswinkel ME, de Mendonça Melo M, Vliegthart-Jongbloed K, Koelewijn R, van Hellemond JJ, van Genderen PJ. The prognostic value of schizontaemia in imported *Plasmodium falciparum* malaria. Malar J 2012; 11: 301.
13. Tangpukdee N, Krudsood S, Thanachartwet V, Duangdee C, Paksala S, Chonsawat P, et al. Predictive score of uncomplicated falciparum malaria patients turning to severe malaria. Korean J Parasitol 2007; 45: 273-82.
14. Tangpukdee N, Krudsood S, Wilairatana P. Schizontemia as an indicator of severe malaria. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2013; 44: 740-3.
15. Ok ÜZ, Çavuş İ, Sidal U, Limoncu E, Özbilgin A. Manisa'da 22 yıl sonra moleküler olarak kanıtlanmış yerli *Plasmodium falciparum* ve *Plasmodium vivax* karma enfeksiyonu [A native mixed *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria case molecularly proven after 22 years in Manisa, Turkey]. Mikrobiyol Bul 2019; 53: 239-44.

A Rare Cause of Acute Appendicitis: *Enterobius vermicularis*

Nadir Bir Akut Apandisit Sebebi: *Enterobius vermicularis*

✉ Mehmet Patmano¹, ✉ Tufan Gümüş², ✉ Filiz İlhan Türkel³

¹University of Health Sciences Turkey, Kayseri City Hospital, Clinic of General Surgery, Kayseri, Turkey

²Ege University Faculty of Medicine, Department of General Surgery, İzmir, Turkey

³Tuzla State Hospital, Clinic of Patology, İstanbul, Turkey

Cite this article as: Patmano M, Gümüş T, Türkel Fİ. A Rare Cause of Acute Appendicitis: *Enterobius vermicularis*. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):220-222.

ABSTRACT

Acute appendicitis is the most common intra-abdominal pathology that requires emergency surgery in general surgery clinics. The aetiology of acute appendicitis includes both infectious and non-infectious causes. Although parasitic diseases are rare in developed countries, they are more common in developing countries. The association between acute appendicitis and parasitic infections is unclear, and whether parasites are the cause of acute appendicitis is still under debate. In addition, many appendix parasites are encountered after appendectomy. In this study, we report a rare case of acute appendicitis caused by *Enterobius vermicularis*.

Keywords: Appendicitis, parasite, *Enterobius vermicularis*

ÖZ

Akut apandisit, genel cerrahi kliniklerinde en sık acil cerrahi girişim gerektiren batin içi patolojidir. Akut apandisit etiyolojisinde hem enfeksiyonlar hem de enfeksiyon dışı nedenler yer almaktadır. Paraziter hastalıklar gelişmiş ülkelerde ender görülmesine rağmen gelişmekte olan ülkelere daha sık rastlanılmaktadır. Akut apandisit ile parazit enfeksiyonları arasındaki bağlantı net değildir. Parazitlerin akut apandisit sebebi olup olmadığı konusu halen tartışılmakla beraber, yapılan appendektomi ameliyatları sonrasında apendiks lümeninde çok sayıda parazite rastlandığı da bilinmektedir. Bu çalışmada, patoloji sonucuna göre *Enterobius vermicularis*'in neden olduğu, nadir görülen bir akut apandisit olgusu sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Apandisit, parazit, *Enterobius vermicularis*

INTRODUCTION

Acute appendicitis is the most common intraabdominal pathology requiring urgent surgical intervention in general surgery clinics (1). Patients frequently present with anorexia and abdominal pain localized to the right lower quadrant within hours (2). The etiology of acute appendicitis includes both infections and non-infectious causes. Many non-infectious events in the right lower quadrant may mimic the clinical picture of acute appendicitis. Parasitic infections in the lumen of the appendix may mimic the acute appendicitis clinic by obstructing the lumen without causing an acute inflammation of the appendix (1,3,4). Although parasitic diseases are rare in developed countries, they are more common in developing countries. *Enterobius vermicularis* (*E. vermicularis*) is the most

common human parasite. *E. vermicularis* is both the most common parasitic agent in the gastrointestinal tract and the most common cause of gastrointestinal infection worldwide and it also causes appendicitis among parasitic diseases (5,6).

E. vermicularis is an intestinal parasite that is located in the last part of the small intestine, the first part of the cecum and colon, which is more common in the cold climate regions of the underdeveloped countries and frequently affects children (1,4). The most common spread in humans is the fecal-oral route and the eggs remain alive in the clothes and beds for two to three weeks, making it easy to spread (7). While itching is the most common symptom in perianal region in *E. vermicularis* infections; ileocolitis, enterocutaneous fistula, urinary tract infection,

Received/Geliş Tarihi: 12.12.2019 Accepted/Kabul Tarihi: 20.02.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Mehmet Patmano, University of Health Sciences Turkey, Kayseri City Hospital, Clinic of General Surgery, Kayseri, Turkey

Phone/Tel: +90 555 426 56 65 E-mail/E-Posta: mpatmano@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-1755-614X

appendicitis, and mesenteric abscess may also be encountered (8). While the presence of *E. vermicularis* in the appendix may cause symptoms similar to appendicitis, histological evidence of acute inflammation is often not found (9,10). Although the connection between acute appendicitis and parasitic infections is unclear and whether parasites are the cause of acute appendicitis is still debated, it is known that many appendicectomy luminescent parasites are encountered after appendicectomy operations (2,11). In this case report, we aimed to present a rare case of acute appendicitis caused by *E. vermicularis*.

CASE REPORT

A twenty-five-year-old female patient with no known concomitant disease was admitted to the emergency department with the complaint of abdominal pain that had started 1 day ago. As a result of the examinations performed, we were consulted. Physical examination of the patient revealed tenderness and rebound findings in the right lower quadrant. White blood cell sphere: 11.900/ μ L, hemoglobin: 12.3 g/dL, hematocrit: 37.6, and biochemical values were normal. In the abdominal ultrasonography of the patient, a significant luminal structure was observed in terms of acute appendicitis with a diameter of 7.5 mm adjacent to the cecum. The patient was consulted with anesthesia and laparoscopic appendicectomy was performed. The patient was discharged without any complication on the first postoperative day. On the 3rd day after discharge, she was re-admitted due to abdominal pain anorexia. The patient's hemogram, biochemistry, C-reactive protein and abdominal ultrasonography were normal. Considering the pathology result of the patient, it was thought that abdominal pain may be due to parasites present in the intestine. The pathological result of the patient was reported as reactive lymphoid hyperplasia and parasite egg in the lumen (Figure 1). The patient was treated with infectious diseases for planning medical treatment.

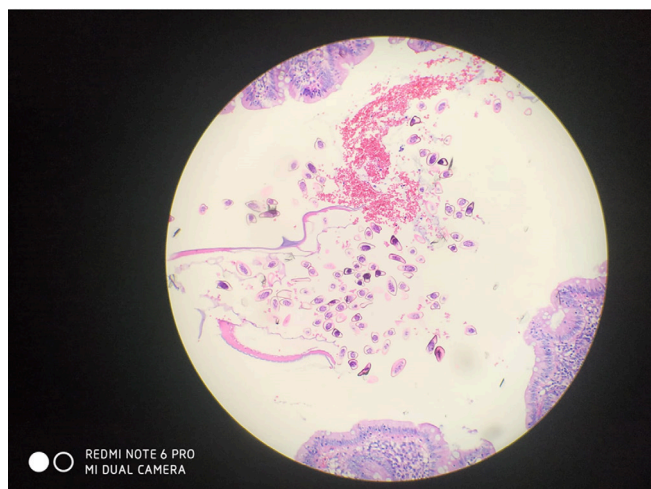


Figure 1. Parasitic eggs of *Enterobius vermicularis* in lumen at 200 magnification in hematoxylin-eosin stained appendicitis sections

DISCUSSION

Acute appendicitis is one of the most common emergency surgical pathologies. Nowadays, this disease can be fully cured

by laparoscopic or open surgery. Parasitic infections are among the reasons that can mimic the acute appendicitis clinic. Acute appendicitis like right lower quadrant pain, nausea and vomiting may be seen clinically. Radiological imaging methods and laboratory findings are not helpful in differentiating the diagnosis of parasitic acute appendicitis. The definitive diagnosis is made by histopathological examination of the appendix and parasite eggs in the lumen. Acute appendicitis is seen more frequently especially in puberty and in males (7-9). Lymphoid hyperplasia in children, faecalitis in adults, tumors in the elderly are the most common causes of obstruction of the appendix lumen (8,9). *E. vermicularis* is a common parasite located worldwide in the cecum and appendix vermiformis. In the study of Yildirim et al. (10) reported that four patients (3.8%) had *E. vermicularis* and one patient (1%) had *Entamoeba histolytica* in the appendix lumen after 104 appendicectomy operations. Pehlivanoglu et al. (11) examined 3.222 appendicectomy materials and the frequency of *E. vermicularis* was 0.74%. Karatepe et al. (12) found normal histology in the histopathologic examination of appendicectomies due to parasitic infection. Gastrointestinal infections due to *E. vermicularis* are among the most common helminth infections worldwide (13). Hasan et al. (14) have extensively examined whether *E. vermicularis* causes appendicitis, and researchers suggest that it is a clinical mimetic of appendicitis but does not produce typical inflammation. This infection is most commonly seen in children aged four to five years, but Kurt et al. (13) reported that appendicectomy was most commonly detected in the 2nd and 4th decades of *E. vermicularis*. A female patient in the third decade (15). The finding of females having higher prevalence of *E. vermicularis* (58.1% of cases) comes in agreement with *E. vermicularis* being more common in girls (16). It is known that the incidence of *E. vermicularis* varies between 0.2% and 41.8% in patients with appendicitis symptoms (17). The role of *E. vermicularis* in the cause of acute appendicitis remains controversial. Appendicectomy alone is not an adequate treatment for patients whose appendicectomies are found to contain *E. vermicularis* since surgery cannot eliminate the cause and will result in only one condition, anti-helminthic drugs should be recommended to patients after surgery (14,18).

In conclusion, it is reported that inflammatory changes are rare in cases where parasite is detected in the appendix lumen (5,10). In our study, the presence of *E. vermicularis* causes acute inflammation of the appendix lumen. It is important because it is a rare cause of acute appendicitis which needs medical treatment.

* Ethics

Informed Consent: Retrospective study.

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: T.G., Concept: M.P., F.İ.T., Design: M.P., T.G., Data Collection or Processing: M.P., T.G., Analysis or Interpretation: T.G., F.İ.T., Literature Search: M.P., F.İ.T., Writing: M.P.

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. Ahmadi MH, Seifmanesh M. Taeniasis Caused Appendicitis Without Local Tenderness: a Rare Case. Hospital Chronicles 2011; 6: 207-9.
2. 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.
3. Çallı G, Özbilgin M, Yapar N, Sarıoğlu S, Özkoç S. Akut apandisit ve enterobiyaz ile taeniyaz: bir olgu sunumu [Acute appendicitis and coinfection with enterobiasis and taeniasis: a case report]. Türkiye Parazitol Derg 2014; 38: 58-60.
4. Lamps LW. Infectious causes of appendicitis. Infect Dis Clin North Am 2010; 24: 995-1018.
5. Özdil K, Karataş N, Zincir H. Halk Sağlığı Uygulamalarının *Enterobius vermicularis*' in Korunma ve Kontrolündeki Önemi. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi 2020; 9: 154-63.
6. Mowlavi GH, Massoud J, Mobedi I, Rezaian M, Solaymani Mohammadi S, Mostoufi NE, et al. *Enterobius vermicularis*: a controversial cause of appendicitis. Iran J Public Health 2004; 33: 27-31.
7. Hashemi SA, Hosseini Teshniz S, Vafaei F, Ganji A, Montazami Sadeghi M, Mizani A, et al. Incidence of *Enterobius vermicularis* in acute appendicitis: A systematic review and meta-analysis. J Acute Dis 2020; 9: 152-6.
8. 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.
9. Humes DJ, Simpson J. Acute appendicitis. BMJ 2006; 333: 530-4.
10. Yıldırım S, Nursal TZ, Tarım A, Kayaselcuk F, Noyan T. A rare cause of acute appendicitis: parasitic infection. Scand J Infect Dis 2005; 37: 757-9.
11. Pehlivanoglu B, Aydın Türk B, İşler S, Özdaş S, Abeş M. Findings in Appendectomies with *Enterobius vermicularis* Infection: Pinworm Is Not A Cause of Appendicitis. Türkiye Parazitol Derg 2019; 43: 21-5.
12. 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.
13. Kurt A, Calik I, Omerogullari Sener E, Akalp Ozmen S, Gelincik I. Appendectomy Materials With *E. Vermicularis*. Van Med J 2012; 19: 51-4.
14. 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.
15. Dahlstrom JE, Macarthur EB. *Enterobius vermicularis*: a possible cause of symptoms resembling appendicitis. Aust N Z J Surg 1994; 64: 692-4.
16. Wendt S, Trawinski H, Schubert S, Rodloff AC, Mössner J, Lübbert C. The Diagnosis and Treatment of Pinworm Infection. Dtsch Arztebl Int 2019; 116: 213-9.
17. Sarıçam G, Karaca G, Pehlivanlı F, Yıldırım K. Nadir bir akut apandisit nedeni: *Enterobius vermicularis*. Van Tıp Dergisi 2014; 21: 114-6.
18. Yabanoğlu H, Aytaç HÖ, Türk E, Karagülle E, Çalışkan K, Belli S, et al. Parasitic infections of the appendix as a cause of appendectomy in adult patients. Türkiye Parazitol Derg 2014; 38: 12-6.

Acute Toxoplasmosis During Pregnancy: A Hard Call

Gebelikte Akut Toksoplazmoz: Zor Karar

✉ Tonay İnceboz¹, ✉ Metin Korkmaz², ✉ Derya Dirim Erdoğan², ✉ Ümit İnceboz³

¹Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Medical Parasitology, İzmir, Turkey

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

³Irenbe Obstetrics, Gynecology and IVF Center, İzmir, Turkey

Cite this article as: İnceboz T, Korkmaz M, Dirim Erdoğan D, İnceboz Ü. Acute Toxoplasmosis During Pregnancy: A Hard Call. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):223-226.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is an obligate intracellular parasite that infects all animals, including humans, and causes toxoplasmosis. If toxoplasmosis occurs during pregnancy, it may affect the foetus owing to transplacental transmission. Such transmission may lead to foetal complications, some of which can be very serious, e.g. hydrocephaly and chorioretinitis; however, not all cases of acute toxoplasmosis during pregnancy result in foetal complications. The decision whether to continue or terminate the pregnancy is a difficult problem for families as well as healthcare professionals, thus making it important. Here we present a case of acute toxoplasmosis at 6 weeks of pregnancy. The patient was directly advised to terminate the pregnancy. However, with detailed laboratory analyses, close follow-up and treatment to prevent transplacental transmission, she successfully completed the pregnancy and eventually delivered a healthy baby. By presenting this case, we aimed to review acute toxoplasmosis during pregnancy.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, pregnancy, risk factors, congenital toxoplasmosis, seroprevalence

ÖZ

Toxoplasma gondii, insanlar dahil tüm hayvanları enfekte edebilen bir zorunlu hücre içi parazittir. *Toxoplasma gondii*'nin yaptığı hastalığa toksoplazmoz denir. Eğer toksoplazmoz gebelikte söz konusu olursa fetus transplasental geçişle etkilenebilir. Her ne kadar bu geçiş, hidrosefali, koryoretinit gibi çok ciddi fetal problemlere yol açsa da, tüm gebelik akut toksoplazmozlarında bu durum mutlaka önemlidir. Çünkü gebeliğe devam etme veya sonlandırma kararı hem aileler için hem de sağlıkçılar için zordur. Burada, akut toksoplazmoz tanısı ile gebeliğin 6. haftasında doğrudan gebelik sonlandırması ile başvuran, gebeliği arzu edilen bir olgu sunuyoruz. Olgu, detaylı laboratuvar testleri, yakın takip ve transplasental geçişi engelleyen tedavi ile gebeliği başarılı bir şekilde sonlandırıp sağlıklı bir bebek sahibi olmuştur. Bu olgu ile, gebelikte akut toksoplazmoz konusunu yeniden gözden geçirmeyi hedefledik.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, gebelik, risk faktörleri, konjenital toksoplazmoz, seroprevalens

INTRODUCTION

Toxoplasmosis is a disease in human and most animals caused by *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), which is an intracellularly protozoa (1,2). It affects reticuloendothelial system and neural system. In most infected-individuals, course of toxoplasmosis is asymptomatic. Nevertheless, in some individuals, it may cause fever, lymphadenopathy, fatigue, headache, anemia. It may also be a life-threatening problem in

immune-suppressed peoples. If the acute infection occurs during pregnancy, transplacental (vertical) transmission may occur and may lead fetal problems such as intracranial calcifications, hydrocephaly and even intrauterine fetal demise. Due to these kind of risks during the pregnancy, serologic testing for toxoplasmosis is being advised or is even mandatory in some countries (3-5).

The acute toxoplasmosis is uncommon during the pregnancy and it is somewhat "tricky"; on one hand

Received/Geliş Tarihi: 02.03.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 21.06.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Tonay İnceboz, Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Medical Parasitology, İzmir, Turkey

Phone/Tel: +90 232 412 45 45 E-mail/E-Posta: tonay.inceboz@deu.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0002-5856-7865

the treatment of the pregnant is important, on the other hand the investigation should be directed to fetus as to whether the fetal transmission is present and if so, the degree of the fetal damage should be searched. However, sometimes it is not as easy as its theory. The role of the healthcare providers is to explain the whole picture in detail and ask the couple decide the fate (4). Serologic testing, ultrasonographic follow-up -especially for the signs of any fetal involvement- are utmost important.

Here we aimed to present the course of a case with acute toxoplasmosis that was diagnosed in very early pregnancy, and ended up with a healthy baby girl. By doing so, we would like to review the knowledge on toxoplasmosis and pregnancy.

CASE REPORT

Twenty-four year-old woman, G1P0 was admitted to our clinic with a six-week pregnancy and the diagnosis of toxoplasmosis. She was advised to have a pregnancy termination with the information of high risk of having an “abnormal baby”. She was anxious because she had a strong desire of continuation of pregnancy, contradicting with the fear of -mentioned risk of having- “abnormal baby”. She had a history of raw-meat consumption. She had no fever but malaise that may be a common feeling during the first months of pregnancy. She had no

lymphadenopathy nor hepatosplenomegaly during the physical examination however she had fatigue. Transient increase in the liver function tests namely aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were present. Transvaginal ultrasonographic examination confirmed viable pregnancy of 6 weeks. Table 1 shows serum anti-toxoplasma antibodies (IgM, IgG, IgG-avidity) analyses of the patient performed in three different laboratories (Table 1). It seems an advantage to have the results from three different laboratories in terms of diagnosis and follow-up. When we consider all serological data and elevated liver function test in the present case, it is most likely for her to have the acute toxoplasmosis 1-2 months just before the pregnancy.

The diagnosis, risk of fetal transmission, importance of follow-ups, repeat laboratory analyses, and adherence to prophylactic medication were explained in detail to the couple but she refused to have amniocentesis. They have decided to continue the pregnancy. To decrease the risk of transplacental fetal transmission spiramycine 3 g/day, orally was started. Follow-up information and was shown in Table 1. Maternal seroconversion was confirmed. Ultrasonographic examinations were all negative for any sign of toxoplasmosis infection. At 39 weeks of pregnancy, she was admitted to the hospital due to rupture of the membranes. Due to cervical dystocia, cesarean section was performed and

Table 1. The patient's serological results for toxoplasmosis during the pregnancy (performed in 3 different labs)

Weeks of pregnancy	Results	Performed lab
6 th week	IgM: 11 IgG: 104	Private lab
7 th week	IgG avidity: 27.77%	Private lab
10 th week	IgG avidity: 29.72%	Private lab
12 th week	IgM: 1.26 IgG: 1/1.024 positive IgG avidity: 55%	University hospital lab
18 th week	IgG Avidity: 35.86%	Private lab
23 th week	IgM: 9.35 IgG: 59	Private hospital lab
27 th week	IgM: 7.81 IgG: 53.6	Private hospital lab
32 th week	IgM: 8.66 IgG: 58.2	Private hospital lab
39 th week	BIRTH	
Postpartum 1 st week	IgM: 1.11 IgG: 1/512 IgG avidity: 57%	University hospital lab
The reference values of different laboratories		Private lab IgG: Negative 0-7.2 U/mL, intermediate values: 7.2-8.8 U/mL, Positive: >8.8 U/mL IgM: negative: 0-10 Avidity. low: < 20%, borderline: 20-30%, high: >30%
		University hospital lab IgG (Dilution series, in house ELISA) IgM (ELFA, bioMérieux diagnostics) negative: <0.55; Intermediate : 0.55-0.65, positive >0.65 Avidity. (In house ELISA) low: <20%; Borderline: 20-30%, high: >30%
		Private hospital lab IgM negative: 0-10 IgG negative: 0-7.2

healthy baby girl (3.190 grams, 50 cm) was delivered. The cord blood analysis for toxoplasmosis was negative for IgM but positive for IgG antibodies. Two weeks later IgG was become negative, pointing out the maternal transmission of IgG antibodies. Baby girl is still very healthy and doing well now.

DISCUSSION

T. gondii is one of the most common parasite that infect around 1/3 of all human in the world (6). The disease caused by *T. gondii* is called toxoplasmosis and may occur in anyone at any age (7-9). The incidence of the acute infection during pregnancy is difficult to investigate since the disease is very widespread. However according to one detailed meta-analysis revealed that prevalence of acute toxoplasmosis during pregnancy was around 1.1% (confidence interval: 0.9-1.2%) (10). Such an acute infection during pregnancy may affect the baby; it has been estimated that 1 in 1.000-1 in 10,000 babies born with intrauterinely acquired toxoplasmosis (11). In another study, it was estimated that around 190,000 new congenital toxoplasmosis cases occur worldwide annually (12).

Most of the pregnant women with acute toxoplasmosis are asymptomatic (13). In symptomatic cases lymphadenopathy, fatigue, fever, flu-like symptoms may be present. In our case there was no symptom or sign of the acute toxoplasmosis. Although fatigue was present it is not certain whether it was one of a common symptom of pregnancy or due to acute infection with toxoplasma. Transient increase in the liver function tests -namely AST and ALT- were the only abnormal finding in our case. There are some clinical as well as experimental studies pointing out the elevated amino-transferases somewhat a sign of hepatic involvement (14-16). During the follow-up of the present case, hepatic function tests decreased to their normal range. Thus, if some hepatic involvement occurred this was just a transient increase.

Diagnosis of acute toxoplasmosis infection during pregnancy is a difficult task, since such a task put too much stress on both physician, doctors in the lab and as well as the couple involved. In our case we have followed her up with ultrasound examinations and serum analyses. Typically, we have seen the seroconversion. Maternal serology may sometimes be confusing. When rheumatoid factor or antinuclear antibody is positive in the blood, serological tests may be falsely positive (17,18). However serological investigation is mandatory (19). When toxoplasma IgM and IgG are tested, if both are negative, this means no present or past infection. In this situation risk factors such as raw-meat consumption must be avoided. If IgM is negative but IgG is positive, this implies past infection with immunity, thus no risk during pregnancy. If IgM is positive and IgG is positive (or negative), this connotes acute infection. IgM antibodies can be detected within the first 2 weeks of infection, however, IgM titers can remain elevated for a year or more; thus, the presence of IgM antibody is not diagnostic of an acute toxoplasmosis infection. To confirm the diagnosis IgG avidity may help, if this value is high. High-avidity IgG antibodies develop at least 12-16 weeks after the infection. Thus, in a pregnant woman in her first months of gestation, regardless of the IgM antibody test result, a high-avidity IgG test result refers that basically there is no risk for the fetal infection. In our case, at first, both toxoplasma IgM

and IgG were both positive. Even if IgG avidity seemed in gray-zone, increased IgG avidity results by time also supports early acute infection with toxoplasmosis. In the present case, there are different lab results from different labs. Although just serum IgG and IgM results from the different labs may be confusing for the clinicians, as in our case, serum IgG avidity is "a good guide" to make a decision for such cases. The follow-up serological tests were confirmed this diagnosis as an acute toxoplasmosis during the early stages of pregnancy.

It has been reported that up to two-thirds of cases of congenital toxoplasmosis may not show any abnormality on ultrasound scans (such as calcifications, microcephaly, hydrocephalus, ventricular dilations, hepatosplenomegaly, ascites, and severe intrauterine growth retardation) (20). We have shared this information with the couple. She refused to have invasive diagnostic method (amniocentesis).

Congenital toxoplasmosis may lead to a wide variety of problems from chorioretinitis to fetal death. Classical triad of the congenital infection is chorioretinitis, cranial calcifications and hydrocephalus, however, 90% of the infants with congenital toxoplasmosis are asymptomatic at birth (21). It should not be forgotten that in the case of being infected with *T. gondii*, it may cause neuropsychological disorders in the future (22-24). Transplacental transmission of toxoplasma infection is tend to be ironically "fetus friendly". Transmission rate of infection is negligible if the acute toxoplasmosis occurs at or during conception (0-0.6%) and still low (3.5%) before 15 weeks of pregnancy, rising steadily, reaching around 80-100% in the 3rd trimester (25). However fetal damage risk is as the opposite; the damage risk higher if the transmission occurs in early pregnancy, whereas it is very small in late pregnancy. In our case, there were no signs of the fetal involvement and again at birth no signs or symptoms, nor serological clue of a congenital toxoplasmosis infection. The baby girl is still healthy at her 2 years of age now.

In conclusion, toxoplasmosis is very common "neglected" parasitary disease with a risk of fetal transmission if acute infection occurred in pregnancy. However when fetal transmission is not certain, the option of pregnancy termination should not be offered before assessment of the situation in all aspects. The importance of both serological as well as the ultrasonographic follow-up should not be overlooked. There is one other important lesson to remember; serological testing for toxoplasmosis should ideally be checked before the "planned" conception.

* Ethics

Informed Consent: Informed consent was obtained.

Peer-review: Externally and internally peer-reviewed.

** Authorship Contributions

Concept: T.İ., M.K., Ü.İ., Design: T.İ., M.K., D.D.E., Ü.İ., Data Collection or Processing: T.İ., M.K., D.D.E., Analysis or Interpretation: T.İ., M.K., D.D.E., Ü.İ., Literature Search: T.İ., M.K., Ü.İ., Writing: T.İ., M.K., Ü.İ.

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

- Montaya JS, Remington JS, Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE: Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th Ed. Churchill Livingstone Inc. New York Chapter 1998. p. 268.
- Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet 2004; 363: 1965-76.
- Many A, Koren G. Toxoplasmosis during pregnancy. Can Fam Physician 2006; 52: 29-32.
- Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. BMJ 2000; 321: 142-7.
- Paquet C, Yudin MH; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Toxoplasmosis in pregnancy: prevention, screening, and treatment. J Obstet Gynaecol Can 2013; 35: 78-81.
- Halonen SK, Weiss LM. Toxoplasmosis. Handb Clin Neurol 2013; 114: 125-45.
- Bamba S, Some DA, Chemla C, Geers R, Guigemé TR, Villena I. Analyse sérologique de la toxoplasmose per gravidique : évaluation des risques et perspectives du dépistage prénatal au Centre Hospitalier Universitaire de Bobo-Dioulasso au Burkina Faso. Pan Afr Med J 2012; 12: 43.
- Simpore J, Savadogo A, Ilboudo D, Nadambega MC, Esposito M, Yara J, et al. Toxoplasma gondii, HCV, and HBV seroprevalence and co-infection among HIV-positive and -negative pregnant women in Burkina Faso. J Med Virol 2006; 78: 730-3.
- Ouermi D, Simpore J, Belem AM, Sanou DS, Karou DS, Ilboudo D, et al. Co-infection of Toxoplasma gondii with HBV in HIV-infected and uninfected pregnant women in Burkina Faso. Pak J Biol Sci 2009; 12: 1188-93.
- Rostami A, Riahi SM, Contopoulos-Ioannidis DG, Gamble HR, Fakhri Y, Shiadeh MN, et al. Acute Toxoplasma infection in pregnant women worldwide: A systematic review and meta-analysis. PLoS Negl Trop Dis 2019; 13: e0007807.
- Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. Toxoplasma gondii: from animals to humans. Int J Parasitol 2000; 30: 1217-58.
- Torgerson PR, Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. Bull World Health Organ 2013; 91: 501-8.
- Van Kessel KA, Eschenbach DA. Toxoplasmosis in pregnancy. In: Gynaecology and Obstetrics. Ed. JJ Sciarrà. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia: 3rd Edition, 2004. Chapter 50.
- Sacks JJ, Delgado DG, Lobel HO, Parker RL. Toxoplasmosis infection associated with eating undercooked venison. Am J Epidemiol 1983; 118: 832-8.
- Ortego TJ, Robey B, Morrison D, Chan C. Toxoplasmic chorioretinitis and hepatic granulomas. Am J Gastroenterol 1990; 85: 1418-20.
- Yarim GF, Nisbet C, Oncel T, Cenesiz S, Ciftci G. Serum protein alterations in dogs naturally infected with Toxoplasma gondii. Parasitol Res 2007; 101: 1197-202.
- Al-Adhroey AH, Mehrass AAO, Al-Shammakh AA, Ali AD, Akabat MYM, Al-Mekhlafi HM. Prevalence and predictors of Toxoplasma gondii infection in pregnant women from Dhamar, Yemen. BMC Infect Dis 2019; 19: 1089.
- Sirin MC, Agus N, Yilmaz N, Bayram A, Derici YK, Samlioglu P, et al. Seroprevalence of Toxoplasma gondii, Rubella virus and Cytomegalovirus among pregnant women and the importance of avidity assays. Saudi Med J 2017; 38: 727-32.
- Petersen E, Borobio MV, Guy E, Liesenfeld O, Meroni V, Naessens A, et al. European multicenter study of the LIAISON automated diagnostic system for determination of Toxoplasma gondii-specific immunoglobulin G (IgG) and IgM and the IgG avidity index. J Clin Microbiol 2005; 43: 1570-4.
- Merz E. Ultrasound in obstetrics and gynecology. Vol. 1: obstetrics. 2nd ed. New York, NY: Thieme; 2004.
- Remington JS, McLeod R, Desmonts G: Toxoplasmosis. In Remington JS, Klein JO (eds): Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infants, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 140-267.
- Tyebji S, Seizova S, Hannan AJ, Tonkin CJ. Toxoplasmosis: A pathway to neuropsychiatric disorders. Neurosci Biobehav Rev 2019; 96: 72-92.
- Feustel SM, Meissner M, Liesenfeld O. Toxoplasma gondii and the blood-brain barrier. Virulence 2012; 3: 182-92.
- Inceboz M, Inceboz T. Toxoplasmosis and Neuropsychological Effects. Türkiye Parazitol Derg 2021; 45: 49-55.
- Foulon W, Naessens A, Lauwers S, De Meuter F, Amy JJ. Impact of primary prevention on the incidence of toxoplasmosis during pregnancy. Obstet Gynecol 1988; 72: 363-6.

Mukozal Tutulumlu Kutanöz Leishmaniasis

Cutaneous Leishmaniasis with Mucosal Involvement

● Mehmet Çabalak¹, ● Gülnaz Çulha², ● Tayibe Bal¹, ● Tuğba Kaya², ● Ebru Çelik³

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

³Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

Cite this article as: Çabalak M, Çulha G, Bal T, Kaya T, Çelik E. Cutaneous Leishmaniasis with Mucosal Involvement. Türkiye Parazitoloj Derg 2021;45(3):227-229.

ÖZ

Leishmaniasis, bir protozoon parazit olan *Leishmania* türlerinin sebep olduğu ve enfekte dişi kum sinekleri tarafından bulaştırılan bir hastalıklar grubudur. Türkiye, yakın sınır komşumuz olan Suriye’de meydana gelen iç savaş ve siyasi istikrarsızlık nedeniyle üç milyonu aşan sayıda göç almıştır. Bu çalışmada, Suriye’den göç ederek Hatay’da yaşayan, iki yurt dışı kaynaklı mukozal tutulumlu kutanöz leishmaniasis olgusu ve tedavileri sunulmaktadır. Enfeksiyon hastalıkları kliniğine yüzünde lezyon nedeniyle başvuran iki olgu, Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarına yönlendirilmiştir. Olguların lezyonlarından yayma preparatlar hazırlanmış ve Giemsa ile boyanarak mikroskop altında incelenmiştir. Aynı zamanda olguların lezyonundan, aspirasyon sıvısı alınarak modifiye edilmiş Novy-MacNeal-Nicolle besiyerine inoküle edilmiştir. Üreme gözlenen örnekler, ITS-1 bölgesini hedefleyen LITSR ve L 5.8S primerleri kullanılarak PZR-RFLP yöntemi ile tiplendirilmiştir. Olguların lezyonlarından hazırlanan yayma preparatların ikisinde de amastigotlar görülerek tanı konmuştur. Besiyerine inoküle edilen klinik örneklerin, birinde promastigotların ürettiği gözlenmiştir. PZR-RFLP ile izolat *Leishmania tropica* olarak tiplendirilmiştir. Olguların ikisi de amfoterisin B ile tedavi edilmiştir. Bir olgu lezyonun tekrar etmesi nedeniyle beş değerli Antimon bileşiği ile tekrar tedavi edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, *Leishmania tropica*, tedavi

ABSTRACT

Leishmaniasis is a protozoan parasitic disease transmitted to humans by infected female sand flies. Turkey has received more than three million immigrants from Syria because of the civil war and political instability. This study reported cases of two patients, who were from Syria and lived in Hatay, with cutaneous leishmaniasis and mucosal involvement. Two patients presented to the infectious diseases clinic with a complaint of facial lesions and were subsequently referred to the parasitology department laboratory. Smears were prepared from the lesions, stained with Giemsa and examined under a microscope. Moreover, aspirates taken from the patients’ lesions were inoculated into the modified Novy-MacNeal-Nicolle medium. The diagnosis was made when amastigotes were detected in both smears. Proliferation of promastigotes was observed in one of the clinical specimens inoculated on the medium. By PZR-RFLP, *Leishmania tropica* were detected in the isolate. Both patients were treated with amphotericin B. One patient was treated again with a pentavalent antimony compound because of the recurrence of the lesion.

Keywords: Leishmaniasis, *Leishmania tropica*, treatment

GİRİŞ

Leishmaniasis, *Phlebotomus* veya *Lutzomyia* kum sineklerinin ısırganıyla bulaşan *Leishmania* türü protozoaların neden olduğu hastalıklardır (1).

Hastalığın 4 ana formu vardır: visseral leishmaniasis (VL, kala-azar), Post-kala-azar dermal leishmaniasis, kutanöz leishmaniasis (KL) ve mukokutanöz leishmaniasis (MKL). KL hastalığın en yaygın ve kendiliğinden de iyileşebilen şekliyken, VL ise oldukça ciddi seyir gösterir ve tedavi edilmezse neredeyse her zaman ölümcüldür (2).

KL lezyon uygunsa öncelikle intralezyonel olarak tedavi edilirken VL ve yeni dünya MKL; amfoterisin B formülasyonları, beş değerli antimon bileşikler ve miltefosin ile paraneural tedavi edilir (1).

Dünya Sağlık Örgütü’nün Doğu Akdeniz Bölgesi ve Avrupa Bölgesi 2018 yılı raporunda; 1,882 yurt dışı kaynaklı KL ve 141 VL olgusu bildirilmiştir. Son 5 yılda Doğu Akdeniz Bölgesi ve Avrupa Bölgesi’nde KL’nin %75’inden fazlasının yurt dışı kaynaklı olduğu belirtilmiş, Türkiye’nin 838 olgu ile en fazla bildirim yapan ülke olduğu vurgulanmıştır (3). Bu çalışmada,

Geliş Tarihi/Received: 07.04.2021 Kabul Tarihi/Accepted: 04.06.2021

Yazar Adresi/Address for Correspondence: Mehmet Çabalak, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

Tel/Phone: +90 536 968 52 43 **E-Posta/E-mail:** mehcab@yahoo.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-1148-2247

yurt dışı kaynaklı iki mukozal tutulumlu KL olgusunun sunulması amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMLARI

Olgu Sunumu 1

Birkaç yıldır burun septumu ve mukozasından üst dudağa uzanan eritemli, krutlu, ağrılı lezyonu bulunan kırk iki yaşındaki Suriye uyruklu erkek olgu, dermatoloji kliniğine başvurmuştur (Resim 1). Alınan anamnezde, olguya daha önce KL tanısı konulduğu, liposomal amfoterisin B ile tedavi edildiği ve tedavi sonrası iyileşme gözlenerek taburcu edildiği öğrenilmiştir. Olgu dört ay sonra tekrar aynı şikayetlerle enfeksiyon hastalıkları kliniğine yatırılmış, lezyondan hazırlanan yaymada Giemsa boyama ile amastigotlar görülerek tanı konulmuştur (Resim 2). Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) besiyerine yapılan ekim sonucunda üreme saptanmamıştır. Olguya lipozomal amfoterisin B 210 mg 1-5 gün daha sonra 14. ve 21. günlerde 1x1/IV ve sekonder enfeksiyona yönelik amipisilin-sulbaktam 4X2 gr IV/ 10 gün tedavisi başlanılmıştır. Tedavi sonunda lezyonun iyileştiği gözlemlenmiştir (Resim 1 B1).

Olgu Sunumu 2

Kırk dört yaşında Suriye uyruklu erkek olgu 15 aydır yüzde, burun ve ağız mukozasında ödemli, skuamli, akıntılı lezyon nedeniyle leishmaniasis ön tanısıyla hastanemize yönlendirilmiştir (Resim 1). Olgu enfeksiyon hastalıkları kliniğine yatırılmıştır. Parazitoloji laboratuvarı tarafından olgunun lezyonundan hazırlanan yaymanın Giemsa boyaması ile amastigot görülerek tanı konulmuştur. NNN besiyerinde de promastigotların ürediği gözlenmiştir. Üreme gözlenen besiyerinden elde edilen promastigotlardan DNA izolasyonu yapılmış ve ITS-1 bölgesini hedefleyen LITSR ve L5.8S primerleri kullanılarak PZR-RFLP

yöntemi uygulanmıştır (4,5). Elde edilen bantlar *L. tropica*, *L. major* ve *L. infantum/donovani* referans şuşları ile karşılaştırılarak tür tayini yapılmıştır. PZR-RFLP sonucunda olguda lezyona neden olan tür *L. tropica* olarak tiplendirilmiştir (Resim 2). Olguya liposomal amfoterisin B 240 mg 1-5 gün daha sonra 14. ve 21. günlerde 1x1/IV ve sekonder enfeksiyona yönelik amipisilin-sulbaktam 4X2 gr IV/ 10 gün tedavisi başlanılmıştır. Tedavi sonunda lezyonun iyileştiği saptanmıştır (Resim 1).

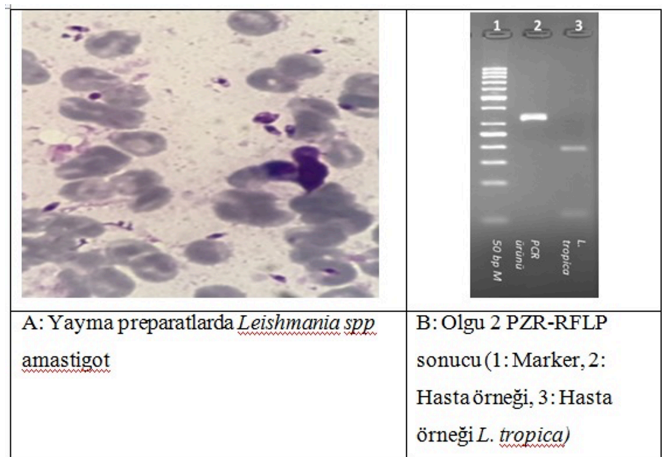
TARTIŞMA

Leishmaniasise yirmiden fazla *Leishmania* türü sebep olmaktadır (1). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, VL etkenlerinin *L. infantum* ve nadiren *L. tropica*; KL etkenlerinin ise *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum* ve *L. donovani* olduğu ortaya konulmuştur (6-8). Bizim çalışmamızda olguların birisinde etken olarak *L. tropica* tespit edilmiştir. Diğer olguda etkenin izole edilmemesinin sebebinin daha önce olgunun tedavi almış olması veya lezyonun birkaç yıldır bulunması nedeniyle kronikleşmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Etken olan leishmaniasis türünün hızlı bir şekilde belirlenmesinin hastalığın değişen epidemiyolojisinin tespit edilmesinde ve hastalığın önlenmesinde önemli olduğunu düşünmekteyiz.

MKL, hastalığın ciddi ve potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bir şeklidir. Genellikle yeni dünyada (Güney Amerika) görülür, eski dünyada ancak import olgular şeklinde görülür. Mukozal tutulum, KL lezyonunun yerleşim yeri ile ilgili olup yaklaşık %5-20'sinde görülebilir. Nazal mukoza en sık etkilenen bölgedir ve diğer mukozal bölgelerin tutulumu nadirdir (9). Dünya Sağlık Örgütü raporunda 2016 yılında, 1,692 yurt dışı kaynaklı KL olgu ve 119 yurt dışı kaynaklı VL olgu bildirimi yapılmıştır (10). Savaş nedeniyle göç ve zorla yerinden edilme, daha önce hiç olgusu olmayan veya çok az olgusu olan ülkelerde leishmaniasis olgularının sayısını artırmaktadır. Türkiye 2016 yılında dünya çapında yurt dışı kaynaklı KL olgularının %90'ından fazlasını bildirmiştir (10). Fakat mukozal tutulumlu KL olgu bildirimleri çok azdır. Literatür taramamızda Ekiz ve ark.'nın (11) Türkiye'de bir mukozal tutulumlu KL olgusu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda her iki olgumuzda da nazal mukoza tutulumu gözlenmiştir. Tanı ve tedavinin gecikmesi nedeniyle mukozal yayılımın olduğu düşünülmektedir. Ülkemizde mukozal tutulumlu KL olgularının



Resim 1. Olguların tedavi öncesi ve sonrası resimleri



Resim 2. Olguya ait (a) Giemsa boyalı yayma preparatta amastigotlar ve (b) PZR-RFLP sonucu

bildirilmelerinin çok az olduğu görülmektedir, bu olguların bildirilmesinin dermatologlar açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Beş değerli antimon bileşikler çoğu leishmaniasis formunun tedavisinde ilk seçenektir ve etkinliği araştırılan yeni ilaçlar için de altın standart olarak kabul edilirler (12). Tedavide ilk seçenek beş değerli antimon bileşikler olarak önerilmesine rağmen, ilaç sağlanmasında yaşanan zorluklar nedeniyle bizim iki olgumuzda da lipozomal amfoterisin B kullanılmıştır. Amfoterisin B tedavisi ile bir olguda relaps gelişmiş ve beş değerli antimon bileşiği ile tekrar tedavi edilmiştir. Mukozal tutulumlu KL olgularında tedavi sonrası relaps olabileceği düşünülerek takiplerin düzenli ve uzun süre yapılmasının önemli olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ

Hatay ilinde KL endemiktir. Özellikle Suriye'den gelen göçmenlerde mukozal tutulumlu KL görülebilmektedir. Tedavide ilk seçenek beş değerli antimon bileşikler olmasına rağmen, ilaç sağlanmasında yaşanan zorluklar nedeniyle lipozomal amfoterisin B alternatif olarak kullanılabilmektedir. Mukozal tutulumlu KL tedavisinde amfoterisin B ile nüks görülebileceğinden bu olguların uzun süre takip edilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

BİLGİLENDİRME

Bu çalışma IV. Güney Anadolu Enfeksiyon Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

TEŞEKKÜR

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'na referans *Leishmania* suşlarının temin edilmesinde sağladıkları katkılardan dolayı teşekkür ederiz.

* Etik

Hasta Onayı: Yazılı hasta onamı çalışmaya katılan olgulardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

** Yazarlık Katkıları

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

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek bildirilmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Alan J. Magill. *Leishmania* Species: Visceral (Kala Azar), Cutaneous, and Mucosal leishmaniasis. In: John E. Bennett, Raphael Dolin, Martin J. Blaser, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. p. 3091-107.
2. Leishmaniasis fact sheet. Geneva: World Health Organization; 2020 (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>, accessed May 2020).
3. World Health Organization. Weekly epidemiological record. Global leishmaniasis surveillance, 2017-2018, and first report on 5 additional indicators 2020;95:265-280.
4. Toz SO, Nasereddin A, Ozbel Y, Ertabaklar H, Culha G, Sevil N, et al. Leishmaniasis in Turkey: molecular characterization of *Leishmania* from human and canine clinical samples. *Trop Med Int Health* 2009; 14: 1401-6.
5. Çulha G, Kaya T, Gülbol Duran G, Urhan Küçük M, Doğramacı AÇ, Tiyekli Çelik D. Mikroskop İncelemesi Negatif Olan Şüpheli Kronik Kutanöz Leishmania Olgularının Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması [Investigation of Polymerase Chain Reaction Method in Patients with Suspected Chronic Cutaneous Leishmania of Negative Microscopy]. *Mikrobiyol Bul* 2019; 53: 408-18.
6. Ozbel Y, Turgay N, Ozensoy S, Ozbilgin A, Alkan MZ, Ozel MA, et al. Epidemiology, diagnosis and control of leishmaniasis in the Mediterranean region. *Ann Trop Med Parasitol* 1995; 89(Suppl 1): 89-93.
7. Özbilgin A, Çulha G, Güray MZ, Zeyrek FY, Akyar I, Töz S, et al. Türkiye'de Kutanöz Leishmaniasis Hastalarından Elde Edilen *Leishmania* İzolatlarındaki Farklılıklar ve Bunların Fare Modeline Klinik Yansıması [Diversity of *Leishmania* Strains Isolated from Cutaneous Leishmaniasis Patients in Turkey and its Reflection to Clinics in Mice Model]. *Mikrobiyol Bul* 2020; 54: 429-443.
8. Özbilgin A, Töz S, Harman M, Günaştı Topal S, Uzun S, et al. The current clinical and geographical situation of cutaneous leishmaniasis based on species identification in Turkey. *Acta Trop* 2019; 190: 59-67.
9. Osorio LE, Castillo CM, Ochoa MT. Mucosal leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) panamensis* in Colombia: clinical characteristics. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 49-52.
10. World Health Organization. Weekly epidemiological record. Surveillance of leishmaniasis in the WHO European Region, 2016. 2018; 93: 521-40.
11. Ekiz O, Kahraman ŞŞ, Şen BB, Serarslan G, Rifaioglu EN, Culha G, et al. Mucocutaneous leishmaniasis with marked facial disfigurement. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2017; 83: 91-3.
12. Blum J, Desjeux P, Schwartz E, Beck B, Hatz C. Treatment of cutaneous leishmaniasis among travellers. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 158-66.

Relationship Between Prevalence of Opisthorchiasis and Incidence of COVID-19: An Observation

Opisthorchiasis Prevalansı ile COVID-19 İnsidansı Arasındaki İlişki: Bir Gözlem

© Rujittika Mungmunpantipantip¹, © Viroj Wiwanitkit²

¹Private Academic Consultant, Bangkok Thailand

²Dr DY Patil University, Pune, India

Cite this article as: Mungmunpantipantip R, Wiwanitkit V. Relationship Between Prevalence of Opisthorchiasis and Incidence of COVID-19: An Observation. Türkiye Parazitol Derg 2021;45(3):230.

Dear Editor,

Parasitic infestation is a common public health in developing country. In tropical country, there is a high incidence of intestinal parasitic disease. In Indochina, the highest incidence of opisthorchiasis is reported (1). This infection is associated with cholangiocarcinogenesis and becomes important local problem. The interrelationship between opisthorchiasis and other infection is an interesting issue. Here, the authors would like to share preliminary data from the area with extremely high incidence of opisthorchiasis, Thailand. The local data showed that there is a lower incidence of Coronavirus disease-2019 (COVID-19) in the area with higher prevalence of opisthorchiasis (Table 1). The clinical relationship between parasitic disease and COVID-19 is little mentioned. In this report, the observation trend is interesting. An underlying pathophysiological process that might cause protective effect against active severe COVID-19 in opisthorchiasis is thioredoxin reductase-1 generating from parasite (2). This bioselenoprotein has

an anti-inflammatory effect and is useful for survival of virus in biliary tract (2) and the anti-inflammatory property might be protective against pathological inflammation process in COVID-19.

Keywords: Opisthorchiasis, COVID-19, incidence

Anahtar Kelimeler: Opisthorchiasis, COVID-19, incidence

* Ethics

Peer-review: Internally peer-reviewed.

* Authorship Contributions

Surgical and Medical Practices: R.M., V.W., Concept: R.M., V.W., Design: R.M., V.W., Data Collection or Processing: R.M., V.W., Analysis or Interpretation: R.M., V.W., Literature Search: R.M., V.W., Writing: R.M., V.W.

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

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

Table 1. Incidence of COVID-19 and prevalence of opisthorchiasis in different regions (data on December 2020)

Region	COVID-19 incidence	Prevalence of opisthorchiasis (%)
Northeastern	124	18.6%
Northern	201	10%
Southern	758	5%
Central	2,449	2%

COVID-19: Coronavirus disease-2019

REFERENCES

1. Kamsa-Ard S, Luvira V, Suwanrungruang K, Kamsa-Ard S, Luvira V, Santong C, et al. Cholangiocarcinoma Trends, Incidence, and Relative Survival in Khon Kaen, Thailand From 1989 Through 2013: A Population-Based Cancer Registry Study. J Epidemiol 2019; 29: 197-204.
2. Suttiprapa S, Loukas A, Laha T, Wongkham S, Kaewkes S, Gaze S, et al. Characterization of the antioxidant enzyme, thioredoxin peroxidase, from the carcinogenic human liver fluke, Opisthorchis viverrini. Mol Biochem Parasitol 2008; 160: 116-22.

Received/Geliş Tarihi: 19.03.2021 Accepted/Kabul Tarihi: 16.06.2021

Address for Correspondence/Yazar Adresi: Rujittika Mungmunpantipantip, Private Academic Consultant, Bangkok Thailand
Phone/Tel: +68328328822 **E-mail/E-Posta:** rujittika@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-0078-7897